FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA DE TECNOLOGÍA MÉDICA

EFECTO DE LAS PLAQUETAS SOBRE EL INMUNOENVEJECIMIENTO CELULAR

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE
LICENCIADO EN TECNOLOGÍA MÉDICA

AUTORA: CATALINA ALIAGA MONCADA
PROFESOR GUÍA: Dr. TM. MARCELO ALARCÓN LOZANO
PROFESORA CO-GUIA: TM. Mg. Cs. CAROLINA ESPINOZA ROBLES

TALCA – CHILE

2022

CONSTANCIA

La Dirección del Sistema de Bibliotecas a través de su unidad de procesos técnicos certifica que el autor del siguiente trabajo de titulación ha firmado su autorización para la reproducción en forma total o parcial e ilimitada del mismo.

Talca, 2023

TABLA DE CONTENIDOS

TABLA DE CONTENIDOS **2**
ÍNDICE DE TABLAS **4**
INDICE DE FIGURAS **5**
RESUMEN **6**
INTRODUCCIÓN **7**
OBJETIVOS **9**
1 OBJETIVO GENERAL **9**
2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS **9**
METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN **10**
MARCO TEÓRICO **11**
1 La piel **11**
1.1 Componentes celulares de la piel 12
1.1.1 Melanocitos 12
1.1.2 Mastocitos 12
1.1.3 Células endoteliales 13
1.1.4 Fibroblastos 13
1.1.5 Queratinocitos 13
1.1.6 Macrófagos 13
1.1.7 Células dendríticas 13
1.1.8 Células T 14
1.1.9 Glándulas sudoríparas 14
1.2 Componentes acelulares de la piel 15
1.2.1 Matriz Extracelular 15
1.3 Estructura y composición molecular de la piel joven 16
1.4 Envejecimiento de la piel 17
2 Factores estresores de la piel **20**
2.1 Fotoenvejecimiento 20
2.2 Estrés oxidativo 24
2.3 Contaminación 26
2.4 Inmunoenvejecimiento 28

3 Rol de las plaquetas 34

3.1 Vesículas extracelulares 40

3.2 Micro ARN 43

3.3 Propiedades proinflamatorias y antiinflamatorias de los factores de crecimiento derivados de plaquetas 44

4 Plasma rico en plaquetas (PRP) 45

CONCLUSIÓN 49

REFERENCIAS 51

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Factores de crecimiento y su función……..……..38

INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Capas y subconjuntos celulares de la piel.…….…….11

Figura 2: Componentes celulares y extracelulares de la piel joven……..……...…16

Figura 3: Esquema de secciones de piel en jóvenes y ancianos….…….....…….…...18

Figura 4: Mecanismo de fotoenvejecimiento producido por UVA en fibroblastos……..…...22

Figura 5: Mitocondrias en el envejecimiento de la piel…….24

Figura 6: Modulación de la inflamación por células Treg……..31

Figura 7: Cuatro áreas de acción de SASP…….32

Figura 8: Inducción de SASP…….33

Figura 9: Esquema de las principales características de la ultraestructura plaquetaria…….34

Figura 10: Formación de las micro vesículas derivadas de plaquetas……..……41

Figura 11: Comparación de contenido del PRP y PRP-EV……..…….47

RESUMEN

La piel es el órgano de mayor extensión en el cuerpo humano y con el paso de los años experimenta una serie de cambios en donde se va perdiendo la homeostasia tisular, entre esos cambios se encuentra el envejecimiento celular el cual se da de manera natural pero que de igual forma puede verse estimulado anticipadamente por la presencia factores, en su mayoría extrínsecos. Hoy en día se conocen muchas terapias antienvejecimiento orientadas a prevenir y revertir los cambios en la piel y entre ellas se encuentra la utilización de concentrados plaquetarios debido a que en las plaquetas están contenidos una variedad de factores de crecimiento los cuales participan en la proliferación y diferenciación celular, además de la presencia de vesículas extracelulares derivadas de plaquetas y microARNs que podrían tener un rol en la diferenciación y proliferación celular y también en la limitación de la respuesta inflamatoria en donde las células Treg son las encargadas de orquestar todo un mecanismo de regeneración a la vez que promueve una respuesta anti-inflamatoria. Finalmente, aunque el procesamiento del plasma rico en plaquetas no está estandarizado, se cree que es prometedor en la medicina regenerativa y que las propiedades de las plaquetas y de sus factores de crecimiento podrían aún más beneficiosas en conjunto con vesículas extracelulares. Esta revisión consideró aquellos artículos publicados en revistas con alto factor de impacto a partir del año 2.000 hasta la fecha y que fueran de acuerdo con el eje central.

Palabras Clave: Plaquetas, piel, envejecimiento, vesículas extracelulares, microRNA, factores de crecimiento plaquetarios, células Treg.

INTRODUCCIÓN

Uno de los grandes retos del siglo XXI es la lucha contra el envejecimiento, definido como un conjunto de mecanismos fisiológicos que alteran las capacidades físicas e intelectuales del organismo. El envejecimiento de la piel es solo una característica visible de este proceso, el cual se asocia a importantes defectos de cicatrización ligados a la alteración de las propiedades biomecánicas de las células cutáneas, principalmente fibroblastos dérmicos. El sistema inmunológico, otro componente clave para mantener la homeostasis de la piel y la correcta cicatrización de las heridas, también sufre los efectos del tiempo: la inmunosenescencia cutánea resultante limitaría la respuesta antiinfecciosa, al tiempo que promovería un entorno pro-tumoral.

El rostro envejecido se ve afectado tanto por el envejecimiento intrínseco como por el extrínseco. El envejecimiento intrínseco está condicionado genéticamente y no se puede modificar, mientras que el envejecimiento extrínseco se ve determinado por una serie de factores como la exposición al sol, agresiones ambientales, estrés, patrones de sueño, tabaquismo y más. La mayoría de los tratamientos disponibles se dirigen contra el envejecimiento extrínseco.

Dentro de los tratamientos antienvejecimiento se encuentra el plasma rico en plaquetas (PRP) que corresponde a un concentrado de plaquetas de sangre humana suspendidas en un pequeño volumen de plasma y su relación con las terapias antienvejecimiento es que en los gránulos de las plaquetas se encuentra una amplia gama de factores de crecimiento y citocinas de los cuales varios participan en el proceso de estimulación de fibroblastos para la síntesis de colágeno. La inyección de PRP busca la activación endógena de las plaquetas y de células que posean receptores para los factores de crecimiento plaquetarios con el fin de mejorar la proliferación y diferenciación celular.

Por tanto, la táctica terapéutica del PRP se fundamentaría en la modulación y aceleración de los procesos cicatriciales a través de los factores de crecimiento presentes en las plaquetas, iniciadores universales de casi todo proceso de regeneración.

Hasta la fecha, existen diversos estudios y revisiones sistemáticas que han reportado el rol protector del PRP frente al envejecimiento celular pero aún no es del todo clara la forma en la que esto ocurre. Por lo que el presente trabajo tiene como objetivo realizar una actualización de los conocimientos en relación con el PRP y su implicancia en el envejecimiento celular, al mismo tiempo esclarecer los mecanismos y componentes relacionados en el proceso, destacando además el rol del sistema inmune frente a daños provocados en la piel frente a factores estresores.

OBJETIVOS

1 OBJETIVO GENERAL

- ✓ Analizar el rol del plasma rico en plaquetas sobre el envejecimiento celular.

2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Definir la composición de la piel y el cambio entre una piel joven y envejecida.
- ✓ Establecer los factores estresores de la piel y el mecanismo de la respuesta inmune frente a ellos.
- ✓ Indicar la ultraestructura plaquetaria y su relación con el envejecimiento celular.
- ✓ Explicar la relación entre el plasma rico en plaquetas y el envejecimiento celular.

METODOLOGÍA DE BÚSQUEDA Y ORGANIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN

La metodología de búsqueda para esta revisión bibliográfica se realizó mediante bases de datos y revistas como PubMed, Wiley, Scopus (ELSEVIER), SCIELO, Web of Science, The New England Journal of Medicine, Nature, las cuales tienen un elevado factor de impacto y pertenecen al Q1; los artículos usados fueron aquellos considerados relevantes de acuerdo con el eje central de esta revisión que es investigar sobre el efecto de factores estresores en la piel, su relación con el sistema inmune y el rol de las plaquetas y su contenido granular en el antienvejecimiento celular.

Para esta búsqueda sistemática de tipo cualitativa, se utilizaron palabras claves en inglés y español tales como platelet, skin-aging, extracellular vesicles, miRNA, growth factors, Treg cell, etc. Se seleccionaron aquellas investigaciones que se hubieran publicado desde el año 2000 hasta la fecha con el fin de que la información recaudada sea actualizada.

MARCO TEÓRICO

1 La piel

La piel es el órgano complejo más grande del cuerpo humano y la primera barrera física protectora contra el medio ambiente (1, 2), entrega protección a los tejidos blandos internos y participa en la respuesta a diversos estímulos exógenos configurando nuestras interacciones con el mundo (3).

Como se muestra en la figura 1, la interacción entre tejidos es fundamental para la multicelularidad (4) y al igual que el resto de los órganos complejos la piel está integrada por varios tipos de células y componentes secretados los que se distribuyen en tres capas histológicas (2) y que incluyen melanocitos, células endoteliales, queratinocitos, fibroblastos y células inmunitarias asociadas a la piel (5). Todos estos componentes se encuentran sostenidos en la matriz extracelular la cual cumple funciones esenciales para el desarrollo y la homeostasis del tejido (4, 5).

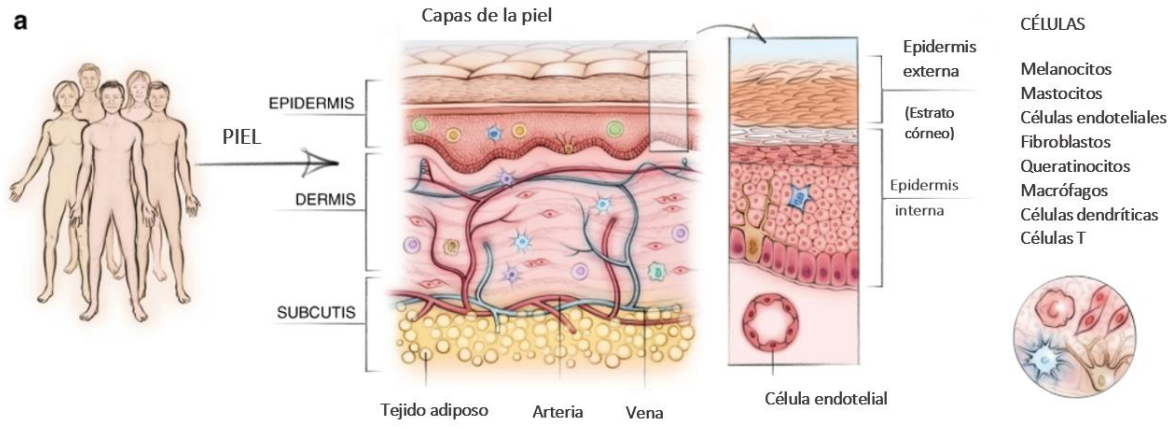

Figura 1: Capas y subconjuntos celulares de la piel. Se pueden apreciar las tres capas de la piel: epidermis, dermis y subcutis con las principales células que las componen. Tomado y adaptado de *Dyring B. et al*, 2020 (5).

La epidermis cutánea estratificada proviene del ectodermo el cual rodea al embrión (6) y es un epitelio estratificado que actúa como barrera protegiendo al cuerpo humano de infecciones, traumatismos y pérdidas de agua (7). El estrato córneo consiste en células cornificadas planas y apiladas con lípidos que llenan los espacios entre ellas y es clave para la función de barrera (8).

Conectada a la epidermis a través de la membrana basal, se encuentra la dermis. La dermis esta subdividida en dos capas, la dermis papilar y la reticular. Está compuesta principalmente por matriz extracelular producida por fibroblastos y el colágeno tipo I y II es su componente proteico más abundante (9).

1.1 Componentes celulares de la piel

Entre los componentes celulares de la piel están los melanocitos, mastocitos, células endoteliales, fibroblastos, queratinocitos, macrófagos, células dendríticas y células T.

1.1.1 Melanocitos

Los melanocitos son células que se encuentran en la epidermis y contienen un pigmento marrón denominado melanina el cual protege al cuerpo humano de la radiación ultravioleta potencialmente nociva (2, 10).

1.1.2 Mastocitos

Los mastocitos son células efectoras multifuncionales que poseen lisosomas especializados, los llamados gránulos secretores, que desempeñan un rol fundamental en las respuestas inmunes tanto innatas como adaptativas, la hipersensibilidad del huésped, la patogenia de las enfermedades alérgicas y también promueven el crecimiento adiposo a través de la liberación de histamina. (11-13).

1.1.3 Células endoteliales

Las células endoteliales son el componente principal de los vasos sanguíneos dérmicos (14) que aportan con la capacidad regenerativa de adaptación y reorganización debido a que existe una población de progenitores endovasculares residentes en vasos, regulando la especificación del linaje celular (15).

1.1.4 Fibroblastos

Los fibroblastos son una población celular morfológica y funcionalmente heterogénea (16) que están estrechamente ligados con las propiedades mecánicas de la piel debido a que son los principales productores de matriz extracelular (17).

1.1.5 Queratinocitos

Los queratinocitos, además de producir queratina (proteína protectora), participan en la biosíntesis de citoquinas, que regulan a las células epidérmicas adyacentes y a las células en la dermis.(2)

1.1.6 Macrófagos

Los macrófagos regulan, sintonizan y modulan las respuestas inflamatorias debido a su plasticidad intrínseca que les permite adquirir un espectro de fenotipos distintos a través de un proceso llamado polarización (18, 19)

1.1.7 Células dendríticas

Las células dendríticas pueden ingerir, procesar y administrar antígenos de manera eficiente y, por lo tanto, desempeñan un papel clave en la inducción de la respuesta inmune mediante la migración a los ganglios linfáticos regionales (2, 20).

1.1.8 Células T

Las células T se dividen en colaboradoras (CD4+) y citotóxicas (CD8+). La respuesta del tejido local a las citoquinas producidas por estas células T determina los patrones microscópicos y las expresiones clínicas de las enfermedades cutáneas inflamatorias e infecciosas (2).

1.1.9 Glándulas sudoríparas

Las glándulas sudoríparas protegen frente a variaciones perjudiciales de la temperatura corporal y los folículos pilosos; además de fabricar el tallo del pelo, contienen células madre epiteliales capaces de regenerar estructuras cutáneas epiteliales superficiales dañadas por distintos agentes hostiles externos e internos. (2)

1.2 Componentes acelulares de la piel

1.2.1 Matriz Extracelular

Otro importante componente de la piel es la matriz extracelular (MEC) que como se indicó anteriormente, es la encargada de sostener a todos los componentes celulares ya mencionados (4). La MEC es una red no celular molecular dinámica y compleja que cumple funciones importantes de desarrollo y homeostasis debido a sus características bioquímicas y estructurales distintivas. Además, proporciona nichos de células madre al mismo tiempo que regula el crecimiento y la señalización celular lo que mantiene las funciones fisiológicas de los tejidos (21, 22).

1.3 Estructura y composición molecular de la piel joven.

La función de la piel está mediada principalmente por la estructura de las capas epidérmica y dérmica. Como se muestra en la figura 2, la epidermis altamente celular, aunque avascular, forma una barrera que evita tanto la pérdida de agua y calor como la entrada de organismos patógenos. Por el contrario, la dermis está vascularizada y es relativamente acelular. Las dos capas están unidas por una unión dérmico-epidérmica ondulada de composición compleja en la que los queratinocitos epidérmicos basales se fijan a una membrana basal rica en colágeno tipo IV mediante hemidesmosomas y la dermis está anclada por fibras de colágeno VII y haces de microfibrillas ricas en fibrilina (extensiones del sistema de fibras elásticas denominadas fibras oxitalánicas). Se cree que los fibroblastos dérmicos escasamente distribuidos son responsables de sintetizar los tres grupos principales de proteínas ECM dérmicas y, colectivamente, estos conjuntos ECM no solo dominan la estructura y función de la dermis, sino que, a través de una remodelación aberrante, median la función cambiante del envejecimiento de la piel (23).

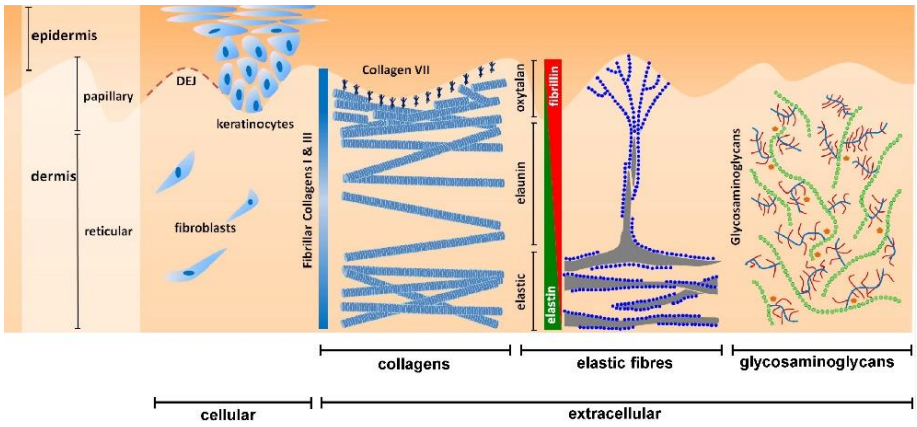

Figura 2: Componentes celulares y extracelulares de la piel joven. Se muestran las diferencias de los componentes entre la epidermis y la dermis y la unión de ellas mediante la unión dérmico-epidérmica. Tomado y adaptado de *Beca T. et al* ,2007 (23).

1.4 Envejecimiento de la piel

El envejecimiento es un proceso complejo y constante en el tiempo que se caracteriza por una disminución de la capacidad normal de los sistemas en general. Por una parte tenemos el envejecimiento intrínseco asociado a cambios funcionales y el envejecimiento extrínseco asociado principalmente a factores del medio ambiente tanto en zonas urbanas como rurales lo que afecta la apariencia, función y comportamiento mecánico de la piel (24-26). La piel envejecida trae como consecuencia una serie de cambios fisiológicos de tipo estructurales y bioquímicos, lo que conlleva a cambios en la percepción neurosensorial, la permeabilidad, la respuesta frente a lesiones y su capacidad de reparación además de una mayor susceptibilidad a enfermedades e infecciones en la piel (3, 27, 28).

En la actualidad, existen estudios clínicos en la línea del envejecimiento celular que identifican una relación entre biomarcadores con el envejecimiento y a su vez con distintos tópicos de este como las arrugas en la piel, la caída del cabello, diabetes, canceres, neurodegeneración, enfermedades, entre otras (29, 30).

A nivel estructural y funcional, las tres capas de la piel se ven afectadas pero es la dermis la que sufre el mayor impacto ya que con los años disminuye su contenido de colágeno y elastina debido a la degradación de las metaloproteinasas, aumento del colágeno reticulado, deterioro de los proteoglicanos, pérdida posterior de agua además de una desregulación en la síntesis de proteínas de la matriz extracelular lo que finalmente trae como consecuencia una piel más rígida, con menos capacidad de retroceso, arrugas, cambios de color, laxitud y falta de elasticidad. (25, 31)

La senescencia ocurre por respuesta a estímulos dañinos como el acortamiento o disfunción de los telómeros o como la activación persistente de la respuesta al daño del ADN. Los cambios a nivel celular incluyen detención estable del ciclo celular, reorganización de la cromatina y también es consecuencia de una expresión génica alterada. Todo lo anterior

dificulta la regeneración fisiológica contribuyendo con el envejecimiento del organismo en general. (32)

A lo largo de este proceso a nivel de componentes de la piel existe una reducción en el número de células epidérmicas, los queratinocitos se vuelven más cortos y anchos, los corneocitos se vuelven más grandes como resultado de una disminución del recambio epidérmico, los melanocitos enzimáticamente activos disminuyen lo cual se expresa en una pigmentación desigual en la piel de los ancianos, se produce una reducción de la emulsión natural de agua y grasa en la piel, disminuyen los mastocitos, disminuyen los fibroblastos lo cual produce una disminución de la síntesis y posterior recambio de colágeno, la cantidad de glicosaminoglicanos disminuye, la elastina disminuye.(27). El grosor de la dermis disminuye con la edad y trae consigo una disminución de la vascularidad y celularidad. La pérdida de la integridad molecular de la dermis conduce a un aumento de la rigidez y una disminución de la extensibilidad y elasticidad de la piel.

Todo lo anterior se representa en la figura 3, en donde se exponen algunas diferencias estructurales y de composición de la piel joven y envejecida.

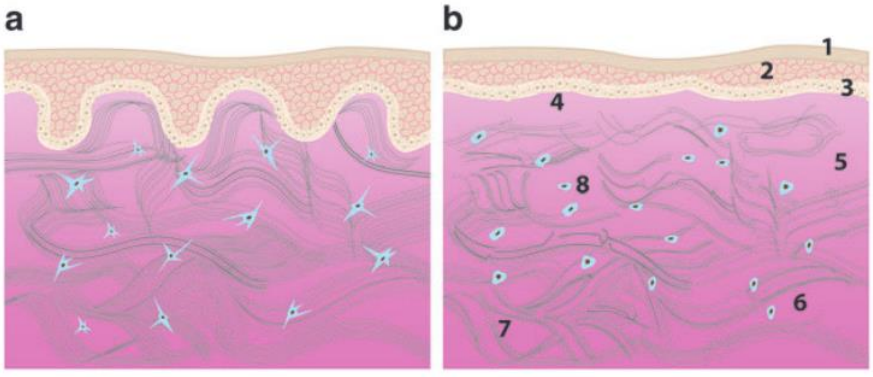

Figura 3. Esquema de secciones de piel en jóvenes (a) y ancianos (b). El estrato córneo (1) se vuelve más grueso con la edad. La epidermis (2) se adelgaza con la edad. Los queratinocitos (3) del estrato basal son más viejos y menos proliferativos. Las crestas epidérmicas y las papilas dérmicas (4) en la unión dérmico-epidérmica se aplanan con la edad

debido a la retracción de las vellosidades. La dermis papilar (5) contiene menos colágeno que la dermis reticular (6), aunque la densidad del colágeno en ambas capas disminuye con la edad. El colágeno (7) en la piel envejecida está más fragmentado y agrupado que en la piel joven. Los fibroblastos tienen un potencial migratorio menor y, debido a la MEC fragmentada, desarrollan menos complejos de adhesión focal y experimentan menos fuerzas externas (8). Los diferentes elementos de este esquema no están necesariamente a escala. ECM, matriz extracelular. Tomado y adaptado de *Farage M. et al,* 2013 (33).

Todos estos cambios ocurridos en la piel envejecida son estimulados en su mayoría por factores extrínsecos. Entre los factores extrínsecos se destacan el fotoenvejecimiento y la contaminación.

2 Factores estresores de la piel

2.1 Fotoenvejecimiento

La piel contiene melanina la cual actúa como un pigmento fotoprotector contra los rayos UVB, UVA y la luz azul visible. Este pigmento corresponde a un agente redox ya que absorbe dichos rayos para que no lleguen directamente sobre el ADN de las células de la epidermis. Además, de forma indirecta la melanina va eliminando las especies reactivas del oxígeno (ROS) producto del estrés oxidativo que produce dicha radiación (34).

La radiación ultravioleta A comprende longitudes de onda más largas que van desde los 320-400 nm, la radiación ultravioleta B abarca un rango de 280-320 nm y la radiación ultravioleta C va desde los 100- 280 nm. Estos son parcialmente filtrados por la atmósfera pero no es suficiente (35).

Los rayos UVB tienen una penetración baja actuando en capas más superficiales de la piel como la epidermis, mientras que los rayos UVA y la luz azul tienen una penetración más profunda logrando afectar la dermis. Esto puede causar envejecimiento a un ritmo más acelerado de la piel, acentuando la producción de ROS, inflamación, apoptosis y lesión en el ADN (36, 37).

En las células de la piel humana existen cromóforos que no corresponden al ADN y estos absorben fotones provenientes de los rayos UVA, llevándolos a un estado de sobreexcitación y la posterior generación de ROS y especies reactivas del nitrógeno (RNS). Entre estos cromóforos se encuentran porfirinas, bilirrubina, melanina, precursores de melanina, pterinas, flavinas, NADPH oxidasa, triptófano, entre otros. Las ROS y RNS provocan un fuerte aumento de la concentración de peroxinitrito el cual degrada la melanina.

La exposición a los rayos UV trae consecuencias para la salud humana, estas pueden ser procesos inflamatorios e inmunosupresores en el tejido epitelial, además de un envejecimiento acelerado y un posible desarrollo tumoral. Aunque no todo es malo, ya que por otro lado al absorber radiación UVB, se estimula la síntesis de la vitamina D lo cual es beneficioso (38).

El fotoenvejecimiento se produce a nivel del genoma de los queratinocitos, fibroblastos, melanocitos y también en el genoma de células madre epidérmicas y mesenquimales. También las ROS generadas por los rayos UV pueden dañar componentes estructurales tales como la actina y el colágeno, perdiendo así la integridad de la dermis y epidermis. La radiación UV produce que la expresión de colágeno tipo VII, que participa en las uniones dermoepidérmicas, disminuya en los queratinocitos y eso se expresa como arrugas visibles. Además, la radiación eleva la expresión de elastina cuatro veces lo que produce un deposición de fibras elásticas truncadas (39).

Como se aprecia en la figura 4, los rayos UV llevan a la acumulación de ROS puesto que promueven una regulación positiva de la proteína kinasa activada por mitógenos (MAPK) ya que hace que se fosforile estimulando las metaloproteinasas de la matriz (MMP) como la colagenasa y la elastasa. Cuando se elevan las MMP se produce una degradación de los componentes de la matriz extracelular y otros componentes de la membrana basal, al favorecer la expresión de la colagenasa se inhibe al factor de crecimiento transformante beta. Las MAPK posee tres vías de señalización que incluyen ERK, JNK y p38 MAPK. La radiación UV también desencadena una respuesta inflamatoria en los fibroblastos mediante la prostaglandina E_2, la ciclooxigenasa-2, la óxido nítrico sintasa inducible, el factor de necrosis tumoral-α, la interleucina- 1β y los receptores de interleucina-6. Las citoquinas inflamatorias como TNF-α, IL-6 e IL-1β también inducen la expresión de colagenasa. Los rayos UVA activan las proteínas JNK y p38, que contribuyen a estabilizar y aumentar los niveles de COX-2 que es responsable de la producción de prostaglandinas ya que oxida al acido araquidónico además de promover tumores luego de inducir IL-8 y factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). Los niveles de colagenasa y citoquinas

proinflamatorias están regulados por las vías de la proteína activadora 1 (AP-1) y NF-κB. Cabe decir además que la producción de citoquinas proinflamatorias debido a radiación UV como IL-1, IL-6, IL-10, IL-12 y TNF-alfa, tienen un importante papel en la inmunosupresión (40, 41).

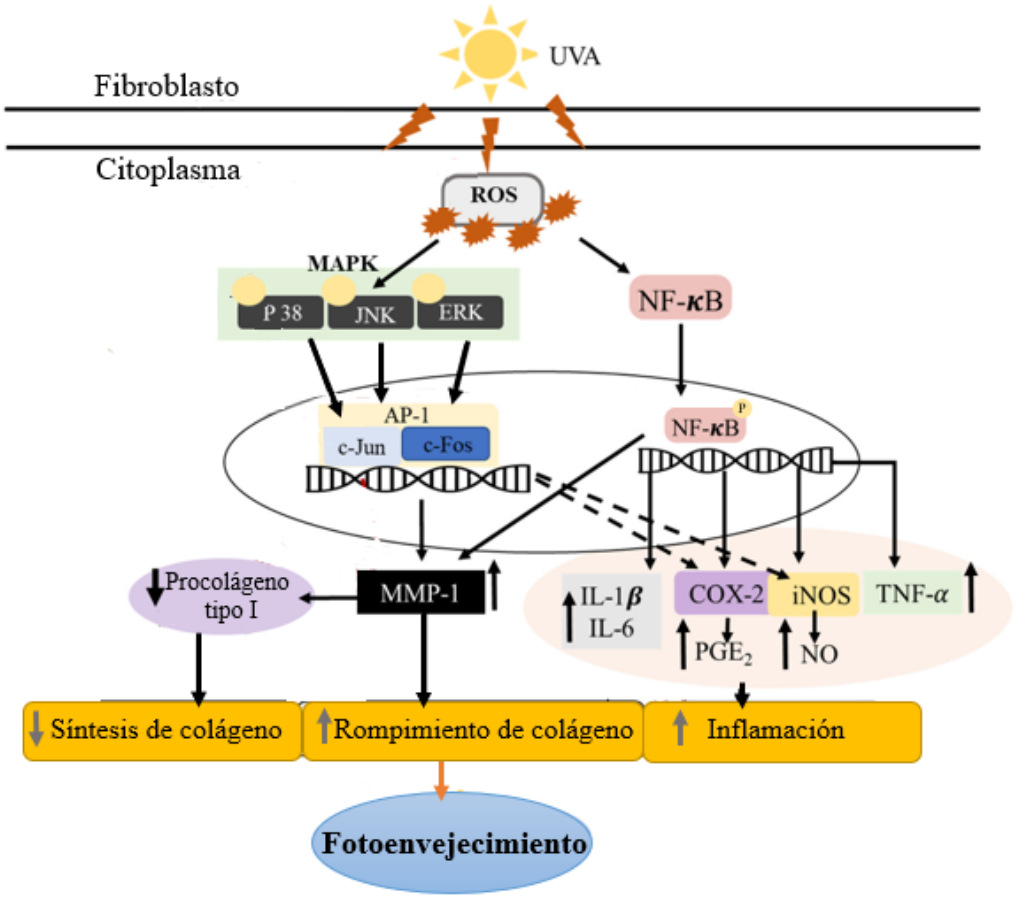

Figura 4: Mecanismo de fotoenvejecimiento producido por UVA en fibroblastos. Se destaca la producción de ROS por UVA, la activación de MAPK y de NF-κB lo que finalmente se traduce en la disminución de síntesis de colágeno y un aumento del rompimiento de las fibras de colágeno y de la inflamación. UVA, rayos ultravioleta A. ROS, especies reactivas del oxígeno. MAPK, proteína kinasa activada por mitógenos. p38, proteína 38. JNK, quinasas c-Jun N-terminal. ERK, quinasas reguladas por señales extracelulares. AP-1, proteína activadora 1. MMP-1, metaloproteinasas-1 de matriz. NF- κB, factor nuclear-κB. COX-2, ciclooxigenasa-2. iNOS, óxido nítrico sintasa inducible. TNF-α, factor de necrosis tumoral-α. PGE_2, prostaglandina E_2. NO, óxido nítrico. Tomado y adaptado de *Ding, C. et al*, 2020 (41).

. La vía p38 responde principalmente cuando hay señales de estrés ambiental y estímulos inflamatorios y también actúa induciendo la detención del ciclo celular y la senescencia (42).

También se ha visto que la melatonina tiene un rol fotoprotector en el tejido cutáneo y en procesos de inflamación y cicatrización. Lo anterior es debido a que la melatonina tiene receptores presentes en la piel, sistema inmune, cerebro, entre otros y son pertenecientes a la familia de receptores transmembrana acoplados a proteína G. Los principales son el receptor MT1 y MT2, encontrándose en mayor cantidad en la piel el MT1 y se han identificado los genes que codifican para ellos en células de la epidermis, queratinocitos y fibroblastos.(43). La melatonina tiene entre sus características el ser altamente lipófila por lo que atraviesa las membranas celulares, nucleares y mitocondriales (37, 44).

El mecanismo de acción de la melatonina consiste en unirse a los receptores MT1 o MT2 el cual como se mencionó anteriormente esta unido a la membrana, luego se activa una cascada que estimula la producción de antioxidantes y también la reparación del DNA. Posterior a eso, interactúa con el complejo calcio/calmodulina que mediado por NQO2 inhibe la generación de especies reactivas del nitrógeno, con una posible inhibición de los niveles de ROS y RNS. A través del transportador de péptidos PEPT1/2 la melatonina ingresa a la mitocondria mejorando el nivel de potencial de membrana mitocondrial mediante la inhibición del poro de transición de permeabilidad mitocondrial (MPTP) y estimulación de las proteínas desacopladoras (UCP). Esto finalmente se traduce en una producción elevada de ATP mediante fosforilación oxidativa (45, 46).

Esta exposición a la radiación aumenta el daño y las mutaciones al DNA ya que cuando se absorbe esta radiación, se reordena la estructura de los nucleótidos produciendo defectos en las cadenas del DNA.

2.2 Estrés oxidativo

Las células progenitoras de la epidermis requieren de ATP para nutrir su metabolismo activo y su alta capacidad proliferativa. El ATP se produce en la mitocondria a través de la fosforilación oxidativa y de la cadena transportadora de electrones. Todo este proceso hace que se generen ROS, y si bien anteriormente se dijo que hay generación de ROS producto de los rayos UV, la generación de ROS endógena en la mitocondria es más alta y en resumen, todo este daño oxidativo promueve el envejecimiento de la piel (47).

Como se muestra en la figura 5, las mitocondrias tienen un papel fundamental en la diafonía entre el metabolismo mitocondrial y la epigenética, lo cual es importante en las células madre ya que puede llevar a la diferenciación fisiológica o a la muerte celular (48).

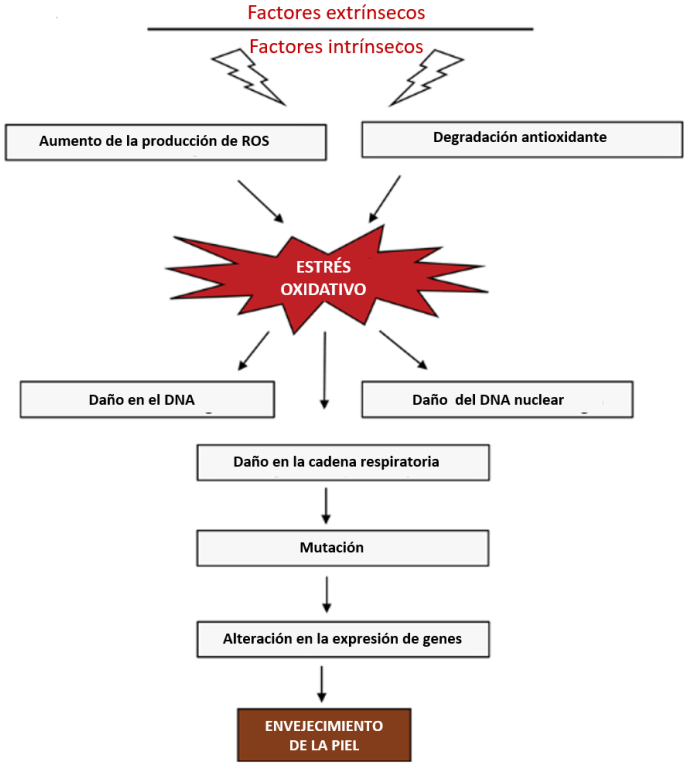

Figura 5: Mitocondrias en el envejecimiento de la piel. Factores extrínsecos e intrínsecos convergen en un aumento del estrés oxidativo que termina produciendo daño en el ADN, envejecimiento de la piel y también daño en el ADN nuclear. Tomado y adaptado de *Sreedhar A. et al* , 2020 (47)

Por otra parte, las ROS pueden participar en la eliminación de receptores de adhesión plaquetaria, reduciendo su expresión y afectando a su vez la función adhesiva de las plaquetas. La acumulación de ROS al interior de la plaqueta además promueve la actividad procoagulante de la misma y la liberación de gránulos lo cual conduce a una función proinflamatoria de las mismas. Muchos estudios también indican que al almacenar las plaquetas las ROS van aumentando presentándose los mayores índices al quinto día (49).

Cuando hay un proceso inflamatorio como parte de una respuesta inmune, aumenta la permeabilidad vascular, exponiéndose colágeno y dando paso a procesos de activación y agregación plaquetaria (50).

2.3 Contaminación

El envejecimiento extrínseco de la piel también está determinado por la contaminación ambiental la cual se comprende de partículas, ozono y rayos ultravioleta, estos últimos ya explicados anteriormente.

El estrato córneo es la capa superior de la piel que está en contacto directo con los contaminantes atmosféricos y resulta dañado producto del estrés oxidativo ejercido por las partículas PM_{10} y $PM_{2,5}$ (51).

Un estudio realizado en China estableció una relación entre la exposición a $PM_{2,5}$ en la contaminación de aire interior y el envejecimiento de la piel, ya que si bien las personas pasan más tiempo al aire libre, no debieran pasarse por alto los contaminantes del aire interior tales como el uso de aire acondicionado, los tipos de combustibles al momento de cocinar, la ventilación, la distancia a carreteras principales, y otras.

El mecanismo de acción sería que las partículas son portadoras de sustancias químicas orgánicas y metales que se localizan en las mitocondrias y generan ROS directamente lo cual como se mencionó anteriormente induce la degradación del colágeno y por consiguiente la formación de arrugas (52).

Varios estudios realizados *in vitro* indican que la citotoxicidad de las PM son producto de una alteración significativa de varios marcadores inflamatorios específicos, como IL-1α, IL-8 o la translocación del núcleo NF-κB inducida por estrés oxidativo. IL-6, S100A8 y S100A9 son reguladores claves y sirven como marcadores de inflamación principales frente a exposición a PM. Las proteínas S100A8 y S100A9 se unen a sus receptores tipo Toll 4, TLR-4 presentes en la superficie celular, iniciando cascadas de

señalización que regulan la inflamación. La activación de TLR-4 y NADPH oxidasa en monocitos y macrófagos por fosfolípidos oxidados median la inflamación sistémica (53, 54).

La contaminación producida por el tabaquismo tiene un mecanismo similar a la radiación UV a través de una mayor expresión de metaloproteinasas MMP-1 y MMP-3, pero no de sus inhibidores específicos, así como por una disminución de colageno tipo I y III (55).

2.4 Inmunoenvejecimiento

Cuando en consecuencia a variados estímulos se altera la homeostasis de la piel, se producen una serie de enfermedades a la piel que producen inflamación. Si el estímulo persiste, se da paso a la inflamación crónica dando como resultado una fibrosis progresiva con acumulación de componentes de la matriz extracelular y una alteración de la función normal de la piel.

Existen mecanismos de respuesta a daños que son a través del control de la inflamación dañina y que se enfocan en la reparación tisular, estos mecanismos son generales y generalmente incluyen componentes de la respuesta inmune tipo 2 y pueden activarse mediante el estímulo de toxinas, venenos, alergenos y a gentes infecciosos como parásitos, bacterias y virus.

Los queratinocitos presentes en la epidermis tienen receptores tipo Toll (TLR) y cuando estos se activan producto de ciertos estímulos patógenos (56), producen citoquinas proinflamatorias que inician una respuesta inmune, tales como IL-1 e IL-8. Además, cuando ocurre un daño en la piel, también liberan citoquinas y quimiocinas inflamatorias que se encargan de reclutar leucocitos (57). Además, los queratinocitos humanos tienen la capacidad de presentar antígenos a las células T de memoria CD4+ y CD8+ e inducir respuestas funcionales (58).

Los fibroblastos dérmicos suprimen (de manera reversible) la proliferación de las células T mediante el metabolismo acelerado del triptófano que hace que estas produzcan citoquinas como IL-10 que tiene una capacidad inmunorreguladora (59). Además, poseen más receptores tipo Toll que los queratinocitos por lo que tienen la capacidad de unirse a más patrones moleculares de patógenos y detectarlos (60).

En la piel también está presente una capa de tejido adiposo dérmico blanco que tiene entre sus funciones contener péptidos antimicrobianos lo que de alguna manera igual contribuye a la inmunidad (61).

En la barrera cutánea también encontramos células inmunes como las células de Langerhans (LC). Las LC se encargan de presentar antígenos a las células T dentro de la epidermis y así iniciar una respuesta inmune localizada, eso lo hacen por la langerina que es un receptor de lectina de tipo c tipo II, llamado gránulo de Birbeck, que participa en la presentación de antígenos no peptídicos a las células T. También pueden migrar a los ganglios linfáticos para continuar esta respuesta inmune (62, 63).

Dentro de la barrera pero a nivel de dermis, se encuentran las células dendríticas y macrófagos dérmicos. Las células dendríticas, al igual que las LC, presentan antígenos a las células T y también pueden migrar a los ganglios linfáticos para iniciar la respuesta inmune (64). Por su parte los macrófagos también presentan antígenos e inician la respuesta inmune y además sirven para estimular los mecanismos antiinflamatorios cuando estos sean requeridos (65). En la piel, también hay células T de memoria residentes que inician una respuesta inmune cuando ocurre una infección. Estas células T, son más potentes que las que están en circulación. También hay células que normalmente no se encuentran en la piel pero que en respuesta a estimulo o injurias en la piel, migran y se infiltran en la piel, como por ejemplo, los neutrófilos.

Las células Treg reguladoras son un conjunto de células que regulan la inflamación de los tejidos ya que expresan el factor de crecimiento epidérmico anfirregulina (66). Además, estas expresan CD103 del cual el ligando es la E-cadherina que se expresa en los queratinocitos epiteliales de la piel.

Las células Treg se encuentran más concentradas a nivel del folículo piloso que en la dermis o epidermis, claramente en un contexto de piel sana. Cuando las células Treg son activadas, migran en la piel de manera paralela a las fibras de colageno, acumulándose. Estas expresan el factor de crecimiento epidérmico y promueven la cicatrización y reepitelización mediante la inducción de macrófagos proinflamatorios (67).

Como se muestra en la figura 6, después de la lesión tisular, se desencadena una cascada de eventos inmunitarios que finalmente termina con un tejido nuevo. En un inicio, las células Treg neutralizan la secreción de citoquinas inflamatorias como IL-6, IFN-γ, TNF-α e IL-1β, esto ocurre porque inhiben la extravasación de los neutrófilos mediante IL-10. También, las células Treg pueden inducir la apoptosis de los neutrófilos y estimular la fagocitosis de los neutrófilos muertos por parte de los macrófagos. En cuanto a los monocitos, las células Treg inhibe la actividad y supervivencia de ellos, estimulando la polarización de los macrófagos a su fenotipo antiinflamatorio M2 (67) mediante la liberación de citoquinas antiinflamatorias como IL-4, IL-10 e IL-13. También las células Treg pueden suprimir la inflamación que es mediada por las células TCD4 y CD8 mediante IL-10, TGF-β e IL-35. Todo esto, finalmente da como resultado el favorecimiento de la regeneración y reparación tisular a través de la inhibición de neutrófilos (68), de los macrófagos con fenotipo inflamatorio y de la actividad de las células T CD4 y CD8 (69).

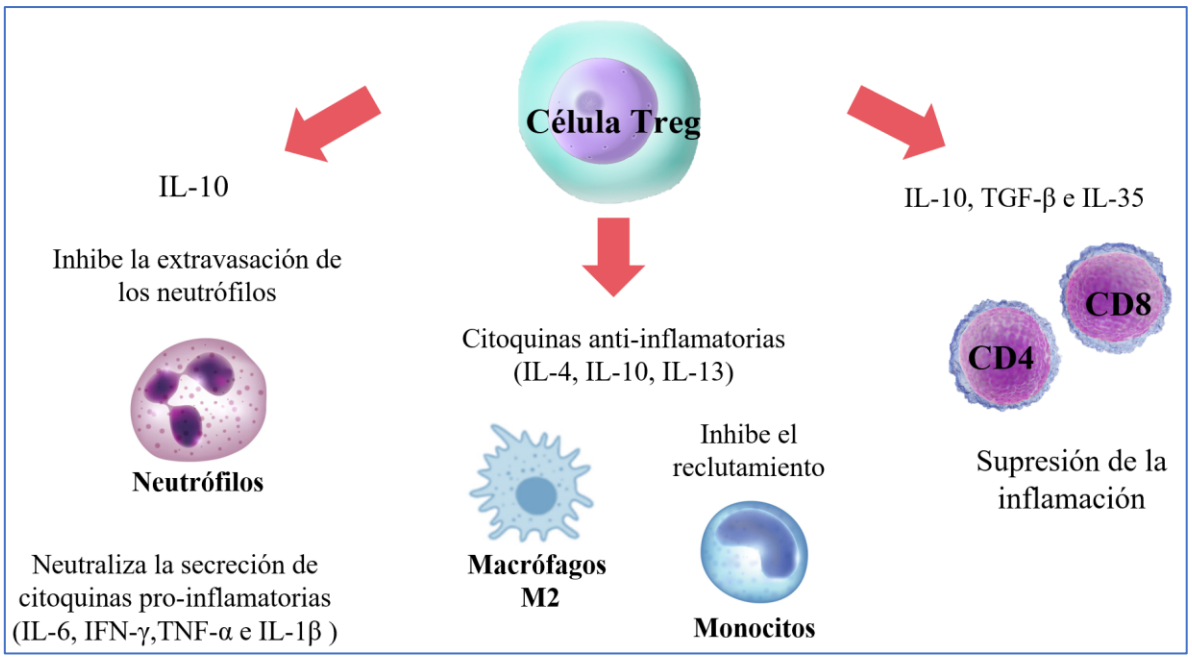

Figura 6: Modulación de la inflamación por células Treg. Elaboración propia, Aliaga, C., 2022.

Con el paso del tiempo, factores como la alteración de la función mitocondrial, el acortamiento de los telómeros, la acumulación del daño del DNA y el debilitamiento de la respuesta de reparación del DNA, impulsan la senescencia celular.

Los telómeros son secuencias de nucleótidos repetitivas que tapan y protegen los extremos de los cromosomas de la degradación y las recombinaciones anormales. Este acortamiento se produce cada vez que existe división celular dando como resultado que las divisiones celulares sean limitadas y por consiguiente da paso a la senescencia celular (39).

La senescencia celular se define como un estado de detención estable del ciclo celular asociado con alteraciones macromoleculares y secreción de citoquinas y moléculas proinflamatorias. Si bien tiene una doble participación en el envejecimiento, una positiva y una negativa, en este capítulo se desarrollará su rol como impulsor del envejecimiento (70, 71).

Las células senescentes son activas desde el punto de vista metabólico e interfieren en el microambiente celular mediante una variedad de factores secretados a los cuales se les denomina fenotipo secretor asociado a la senescencia (SASP). Como se muestra en la figura 6, SASP se subdivide en cuatro áreas (72):

1. Función autocrina que refuerza el desarrollo de la senescencia dentro de la célula secretora.

2. Efecto prooncogénico que en las células premalignas o transformadas circundantes.

3. Efecto inflamatorio que impulsa la filtración de los componentes del sistema inmunitario innato y adaptativo.

4. Función paracrina que impulsa el desarrollo de la senescencia dentro de las células que la rodean.

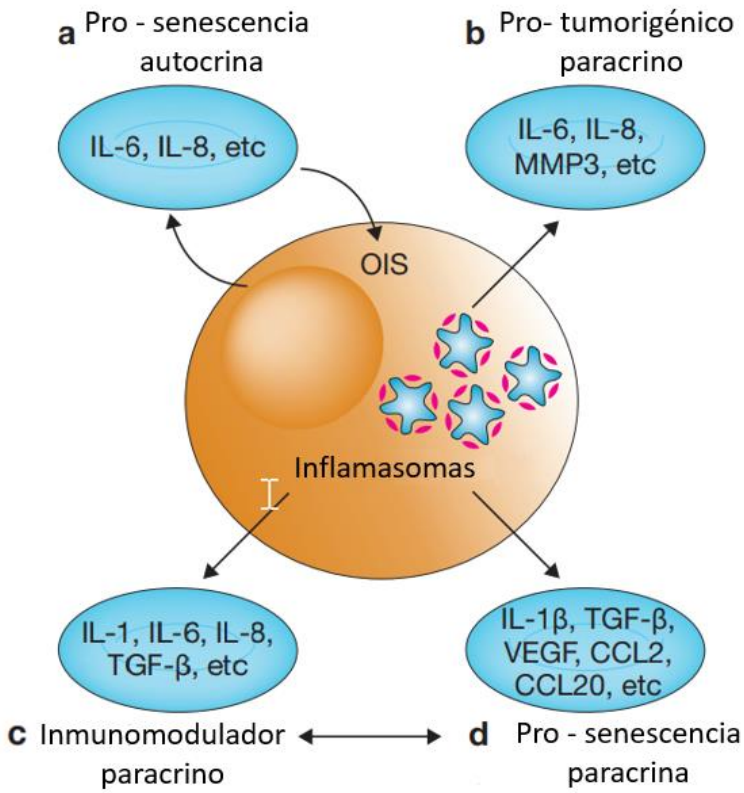

Figura 7: Cuatro áreas de acción de SASP. Las funciones de SASP se subdividen en 4 áreas. Tomado y adaptado de *Hoare M. et al* , 2013 (72).

En las células, en ADN propio debe estar contenido en el núcleo y mitocondrias. Cuando las células se vuelven senescentes, hay una salida de material genético nuclear hacia el citoplasma lo que hace que sensores de activación aberrante de ADN citoplasmático cGAS y STING, mediante la elevación de interferón (IFN)-β que es una citoquina proinflamatoria, activen por fosforilación a NF-κB que es un factor de transcripción necesario para la expresión de factores SASP. Se piensa que las DNAsas citoplasmáticas como DNasa2 y TREX1 (DNasa3), cuando se encuentran en una baja regulación, activan a las ADN citoplasmático (73).

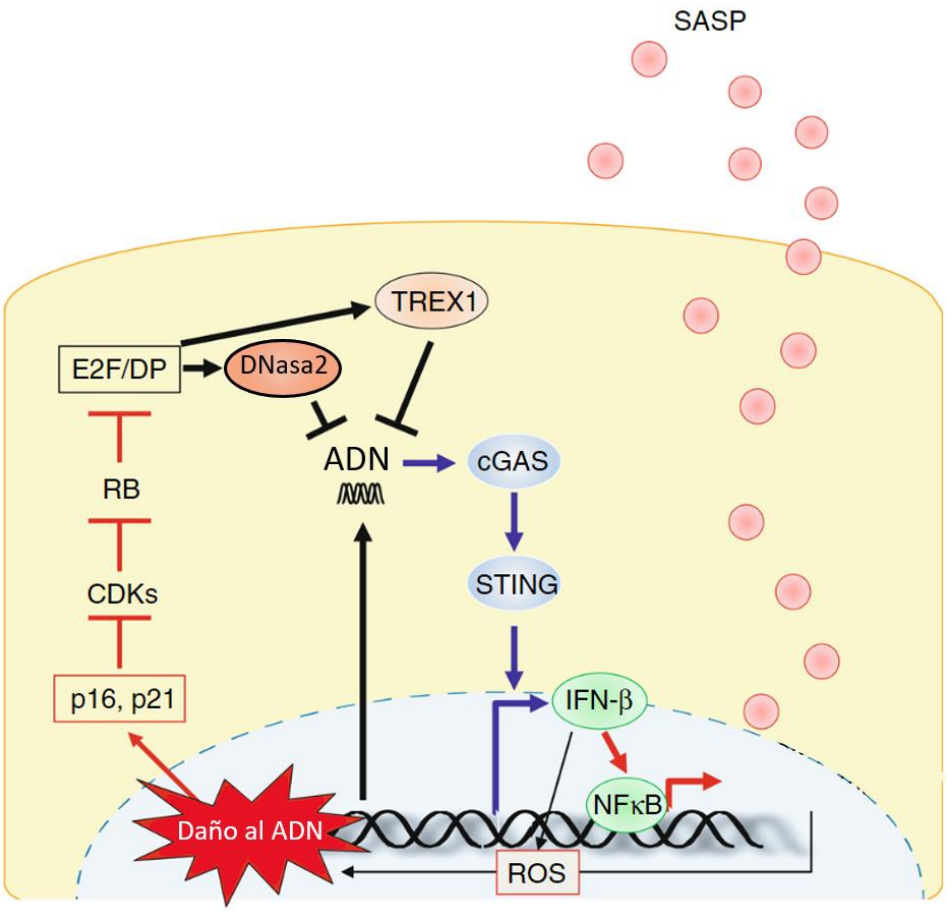

Figura 8: Inducción de SASP. A partir de un daño en el ADN, se muestran marcadores de senescencia celular y la acumulación de ADN citoplasmático que se detecta y provoca SASP mediante la via IFN- β. Tomado y adaptado de *Takahashi A. et al*, 2018 (73).

3 Rol de las plaquetas

Los primeros autores en describir las plaquetas fueron el anatomista alemán Max Schultze en 1865 quien las reconoció como un constituyente de la sangre y posteriormente en 1882 el médico e investigador italiano Giulio Bizzozero demostró mediante experimentos que eran el primer componente en adherirse a las paredes de los vasos sanguíneos dañados *in vitro* e *in vivo* además de identificar la médula ósea como el sitio de producción de las células sanguíneas (74, 75).

Las plaquetas, también llamadas trombocitos son elementos sanguíneos anucleados derivados de la fragmentación de los megacariocitos. Su forma es de disco biconvexo con un diámetro de 2-3 µm. Se encuentran en circulación periférica en un orden de 150-400 $x10^9$ plaquetas por litro y su vida media es de entre 7 a 10 días (76-78)

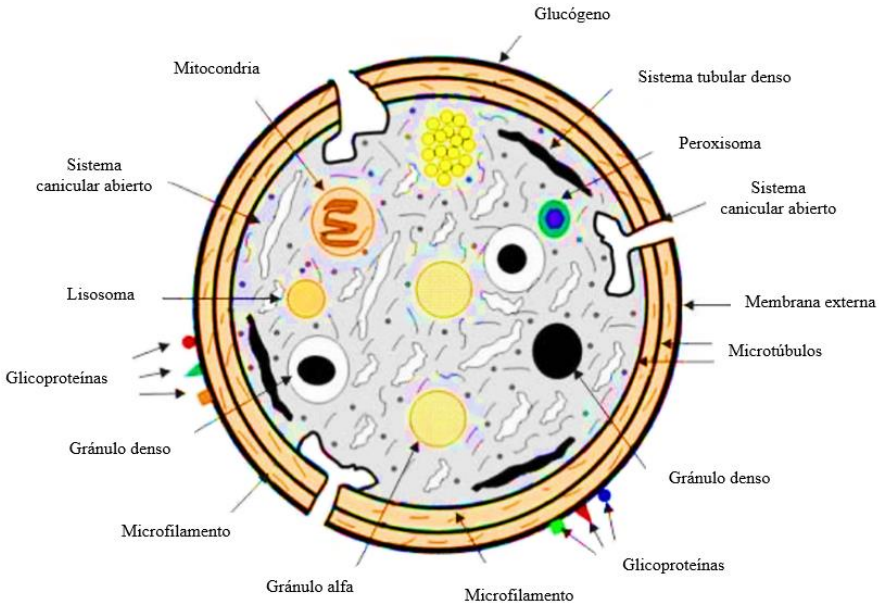

Figura 9: Esquema de las principales características de la ultraestructura plaquetaria. Tomado y adaptado de *Fernández-Delgado N., et al*. 2012 (79).

Las plaquetas derivan de los megacariocitos los cuales, al igual que el resto de las células sanguíneas provienen de las células madre hematopoyéticas, a este proceso de diferenciación hematopoyética se le conoce como megacariopoyesis y es regulado por múltiples factores de transcripción como Runx1, Gata1, Fli1 y c-Myb. Los megacariocitos miden entre 50 y 150 um de diámetro, tienen un solo núcleo multilobulado y poliploide ya que puede llegar a tener hasta 64n en donde cada lóbulo del núcleo tiene 2n (80). Es un proceso que dura entre 5 a 7 días y se lleva a cabo en la médula ósea roja, aunque muchos autores han descrito que también se lleva a cabo en el pulmón.

La megacariopoyesis es lenta y puede tardar días en completarse, consiste básicamente en una proliferación nuclear, agrandamiento del citoplasma, síntesis de varios componentes como proteínas del citoesqueleto, gránulos específicos plaquetarios y de membrana para la posterior división. A medida que ocurre este proceso los megacariocitos van perdiendo su capacidad de división volviéndose células poliploides, a esta variación del ciclo celular se le conoce como endomitosis y la utilidad de este sería facilitar la síntesis plaquetaria. Posterior a esto le sigue un proceso de maduración citoplasmática dando lugar a las proplaquetas que son el resultado de múltiples empaquetamientos internos. Por cada megacariocito de producen alrededor de 10 a 20 proplaquetas. En este proceso de maduración citoplasmática ocurre la formación la membrana y de gránulos alfa, delta o densos y lambda o lisosomas. En esos gránulos se almacenarán proteínas producidas tanto en el intra como el extracelular y que fueron incorporadas mediante endomitosis y pinocitosis (80).

La célula troncal hematopoyética da origen a un progenitor mieloide común (PMC) y este a su vez origina un progenitor eritroide-megacariocítico (PEM) o un progenitor megacariocítico unipotencial. Los progenitores megacariocíticos se dividen (por mitosis común) y avanzan en la maduración convirtiéndose en pro-megacarioblastos, que son células diploides (2n). La progresión al estadio de maduración siguiente, de promegacarioblasto a megacarioblasto, se produce porque estas células cambian del proceso mitótico al endomitótico (80).

Cuando comienza la maduración del citoplasma plaquetario, los gránulos lambda, más conocidos como lisosomas son los primeros gránulos en formarse y poseen una composición mucho más heterogénea. Se forman a través de la vía RER-Golgi-endosomas y contienen enzimas hidrolíticas como glucosidasas, proteasas y lipasas involucradas en la degradación de carbohidratos, proteínas y lípidos. También contienen fosfatasa ácida, aril sulfatasa y catepsinas D y E. Además de esas proteínas, contienen proteínas de la membrana lisosomal como LAMP-1, LAMP-2 y LAMP-3 (80).

Los gránulos alfa y delta (o densos) son altamente especializados y su síntesis tiene lugar en el complejo de Golgi producto de interacciones vesiculares. Los gránulos alfa se encuentran en mayor proporción y contienen factores claves para la adhesión plaquetaria, angiogénesis, inflamación, factores de crecimiento para la reparación y regeneración tisular y remodelación del tejido óseo. A medida que los megacariocitos van madurando, aumenta la cuantificación de estos factores. En relación a los gránulos densos contienen una variedad de factores de importancia hemostática, predominantemente para la activación y reclutamiento de plaquetas en los sitios de daño vascular, incluyendo sustancias que se secretan al medio extracelular durante la activación plaquetaria, tales como la serotonina, catecolaminas, entre otros (80).

La trombopoyesis es el proceso mediante el cual se producen las plaquetas e incluye los últimos eventos de la maduración de los megacariocitos, es rápida y solo tiene una duración de horas y consiste en generar primero proplaquetas y luego preplaquetas las cuales se van a fisionar generando finalmente las plaquetas discoides las cuales serán liberadas a circulación.

Se desarrolla en el nicho vascular de la médula ósea, en los sinusoides, donde el microambiente favorece el proceso debido a la presencia de factores de crecimiento como SCF (factores de células madre), IL-3, IL-6, IL-11 y el factor inhibidor de leucemia. El megacariocito cambia su morfología ya que forma prolongaciones del citoplasma llamadas

proplaquetas lo cual es gracias a los microtúbulos. Aquí el flujo sanguíneo ayuda al desprendimiento mecánico de plaquetas a partir de las proplaquetas, terminando libres en circulación alrededor de 2.000 a 5.000 plaquetas nuevas por cada megacariocito. El núcleo remanente y desnudo de los megacariocitos es fagocitado por macrófagos de la médula ósea (80).

Está establecido que las plaquetas cumplen un rol fundamental en la hemostasia primaria y en la formación del trombo por medio de su adhesión y activación en el sitio de lesión vascular y, aunque se sabe que las plaquetas no son consideradas "células" debido a su carencia de núcleo, en el último tiempo muchos autores las describen como células del sistema inmune debido a que tienen la capacidad de interactuar con diversas células inmunitarias mediante receptores y la secreción de mediadores proinflamatorios. (78, 81)

Las plaquetas cumplen un rol central en las respuestas inflamatorias e inmunes del huésped ya que son el primer tipo de células que llegan al sitio de la lesión tisular y son particularmente activas en las primeras fases inflamatorias del proceso de curación. (82, 83). Desempeñan un papel en la homeostasis, a través de la adherencia de la membrana celular, la agregación, la formación de coágulos y la liberación de sustancias que promueven la reparación tisular e influyen en la reactividad de los vasos sanguíneos y los tipos de células sanguíneas involucradas en la angiogénesis y la inflamación.(82, 84).

Diversos preparados plaquetarios contienen elevadas concentraciones de diversos factores de crecimiento los cuales se exponen en la tabla 1 (85) y gracias a la desgranulación median estos efectos a través del factor de crecimiento de origen plaquetario (PDGF), el factor de crecimiento transformación -beta (TGF-B), el factor de crecimiento fibroblástico (FGF), el factor de crecimiento similar a la insulina (IGF), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el factor de crecimiento epidérmico (EGF) se liberan de los gránulos alfa(23, 76, 83).

Las plaquetas también almacenan proteínas antibacterianas y fungicidas, metaloproteasas, factores de coagulación y glicoproteínas de membrana, que pueden influir en la inflamación al inducir la síntesis de otras integrinas, interleucinas y quimiocinas. Los gránulos densos en las plaquetas almacenan y liberan ADP, ATP, iones de calcio, histamina, serotonina y dopamina, que son activos en la modulación y regeneración de los tejidos. La desgranulación plaquetaria comienza dentro de los 10 minutos posteriores a la exposición a factores de la cascada de coagulación (como la trombina) o, en su ausencia, al contacto con la membrana basal expuesta. La mayor parte de la secreción de GF ocurre dentro de la primera hora, aunque la liberación continua ocurre durante el período de viabilidad plaquetaria (7 días) (83).

Tabla 1: Factores de crecimiento y su función. Elaboración propia.

Factor de Crecimiento	Función	Referencias
PDGF	Promueve indirectamente la angiogénesis a través de los macrófagos, por un mecanismo de quimiotaxis. Activador de macrófagos. Mitógeno de células mesenquimales. Inhibe la apoptosis y presenta efectos citoprotectores. Facilita la formación de colageno tipo I.	(23, 86, 87)
TGF-B	Quimiotaxis. Proliferación y diferenciación de células mesenquimales. Síntesis de colageno por los osteoblastos. Pro-angiogénesis. de Inhibe la formación de osteoclastos. Inhibe la proliferación de células epiteliales en presencia de otros factores.	(23, 86)
FGF	Proliferación y diferenciación de los osteoblastos. Inhiben los osteoclastos. Proliferación de fibroblastos e inducción de la secreción de fibronectina por estos. Pro-angiogénesis por acción quimiotáctica sobre células endoteliales vasculares.	(23, 86, 88)
IGF	Proliferación y diferenciación de células mesenquimales y de revestimiento. Síntesis de osteocalcina, fosfatasa alcalina y colágeno I por los osteoblastos.	(1, 23, 86)
VEGF	Quimiotaxis y proliferación de células endoteliales. Hiperpermeabilidad de los vasos sanguíneos.	(23, 86)
EGF	Mitógeno, proapoptótico, quimiotaxis y diferenciación de células epiteliales, renales, gliales y fibroblastos.	(23, 86)

3.1 Vesículas extracelulares

Las vesículas extracelulares derivadas de plaquetas (PDEV), dentro de las vesículas extracelulares presentes en circulación, son las más abundantes. Son ricas en fosfolípidos cargados negativamente, lo que hace que participen en procesos como la inflamación, comunicación celular, coagulación y metástasis. La estimulación de su liberación ocurre tras eventos de activación plaquetaria, estrés, envejecimiento e inflamación, pero estas tienen una vida útil muy corta. Las vesículas extracelulares usualmente se clasifican según su tamaño en exosomas (30–150 nm), microvesículas (100–1000 nm) y cuerpos apoptóticos (1000–3000 nm) (89).

Cuando las plaquetas se activan, se produce un intercambio entre los fosfolípidos que dan al exterior con los que dan hacia el interior. En este caso, son la fosfatidilserina y la fosfatidiletanolamina los que pasan a la cara exterior de la membrana cargándola negativamente para apoyar ciertos procesos, entre ellos la cascada de la coagulación (90).

Existen distintas vías para la formación de microvesiculas derivadas de plaquetas (PMV). Una es a través de la activación plaquetaria como respuesta a ciertos agonistas como la elevación del calcio intracelular. Otra es cuando las plaquetas no están activadas, entonces liberan PMV mediante señalización de GPIIb/IIIa.

La composición de las PMV, como se representa en la figura 8, incluye glicoproteínas, factores tisulares, selectinas y factores de la coagulación V y VII (91). Además, se ha descrito que estas PMV sirven como transporte para muchas moléculas, ADN, ARN e incluso mitocondrias. Este hallazgo de las mitocondrias extracelulares ocurrió debido a que se encontraron en los concentrados de plaquetas utilizados en transfusiones y en mayor cantidad cuando las personas transfundidas presentaban reacciones adversas a la transfusión tales como reacción febril no hemolítica lo cual se explica por la hidrolisis de la membrana

mitocondrial que produce mediadores inflamatorios como ácidos grasos, lisofosfolípidos, entre otros (92). Luego de la activación plaquetaria, se produce un aumento muy alto y sostenido de calcio citosólico (Ca^{+2}) lo que inhibe a la flipasa, activa la flopasa y también activa la scramblasa, eso provoca el cambio de lado de los fosfolípidos ya mencionados cargando negativamente la membrana (93). El mismo aumento de calcio también produce una reorganización en el citoesqueleto haciendo que las vesículas extracelulares sean expulsadas.

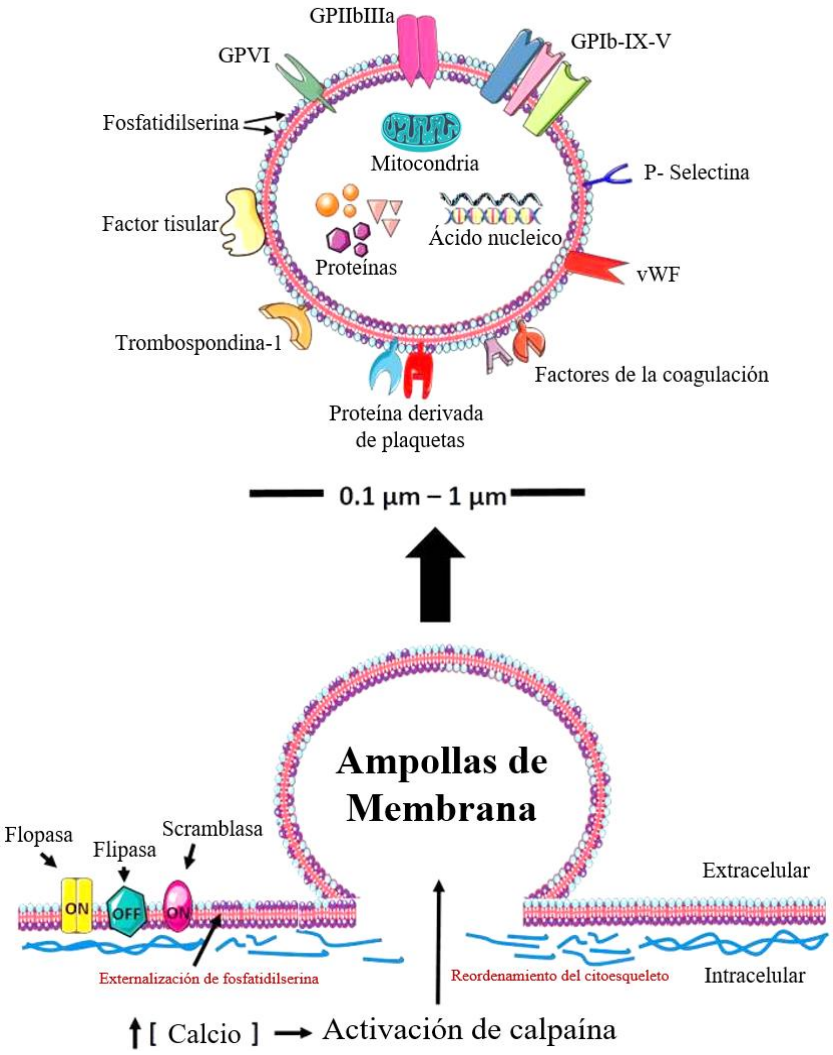

Figura 10: Formación de las microvesículas derivadas de plaquetas. Un aumento de calcio intracelular producto de la activación plaquetaria produce la externalización de la fosfatidilserina y también produce la activación de la calpaína y la generación de ampollas de membrana y liberándolas a circulación. Las PMV comparten muchas proteínas de su superficie con las plaquetas y sirven como transporte de proteínas, mitocondrias y ácidos nucleicos. Tomado y adaptado de *Zaldivia M. et al*, 2017 (94).

Las vesículas extracelulares también tienen un rol importante en la inflamación ya que, como se mencionó, pueden transportar inmunoglobulinas, antígenos, factores de crecimiento, citoquinas, y quimiocinas que terminan regulando la respuesta inmune. Además, existen bacterias gramnegativas y grampositivas que secretan vesículas extracelulares con antígenos bacterianos lo que produce una respuesta inmune a la vez que también regulan la respuesta inflamatoria en las células diana (94).

Minutos después de ocurrida la activación plaquetaria, estas sintetizan eicosanoides a partir del ácido araquidónico lo que contribuye a la inflamación (95). La entrega de estos metabolitos por parte de las vesículas extracelulares derivadas de plaquetas a las plaquetas y células endoteliales adyacentes produce el inicio de la cascada a través de la generación de tromboxano A y de ciclooxigenasa 2 (96).

3.2 Micro ARN

Son pequeños ARN no codificantes con funciones reguladoras de la expresión de genes y se encuentran circulando al interior de exosomas. Inducen la degradación del ARNm o la inhibición de la traducción al dirigirse a la región 3' no traducida de los ARNm (97). Entre sus funciones se encuentra el unirse con un efecto agonista a receptores tipo toll (TLR8) de las células inmunes circundantes y activando así la vía de señalización NF-κB y la secreción de interleucina (IL)-6 y TNF-α (98) que contribuyen con la inflamación (96). Estudios han demostrado que los microARN (miARN) tienen un potencial como biomarcadores de enfermedades asociadas a plaquetas como la trombosis vascular (97, 99).

La fase de inflamación está regulada en primera instancia por moléculas y señales proinflamatorias y luego por señales antiinflamatorias. Hay miARN como miR-146 y miR-155 que son inducidos por TNF-α e IL-1β, miR-21 es inducido por IL-6, miR-146 silencia COX2, etc (100).

La génesis de los miARN empieza en el núcleo donde se sintetiza el transcrito primario (pri-microARN), estas transcripciones luego son escindidas por la ARNasa III-tipo nucleasa, lo que conduce a la formación de estructuras de horquilla (pre-microARN) de 60-70 nucleótidos que interactúan con la exportina translocándose al citoplasma donde la enzima Dicer forma un dúplex de miARN asimétrico que entra en contacto con el complejo de silenciamiento inducido por ARN (RISC) y una parte del dúplex se convierte en miARN maduro (101, 102).

Uno de los miARN más estudiados en la piel es miR-203 presente en la epidermis, el cual tiene propiedades que inhiben el potencial de proliferación de las células madre de la piel. Cuando su expresión aumenta, se produce una salida del ciclo celular y se reduce la capacidad de formación de colonias (103). Esto sucede porque reprime la expresión del factor de transcripción p53 quien promueve la proliferación (104).

3.3 Propiedades proinflamatorias y antiinflamatorias de los factores de crecimiento derivados de plaquetas

Se requiere un delicado equilibrio entre las respuestas inmunitarias proinflamatorias y antiinflamatorias (105). Como ya se mencionó, el plasma rico en plaquetas es una fuente rica en factores de crecimiento. Se sugiere que el PRP puede suprimir la liberación de citoquinas, limitar la inflamación y promover la regeneración tisular. Los factores de crecimiento se depositan en la matriz extracelular, se liberan durante la degradación de la matriz, y su interacción posterior con los receptores de superficie en las células diana activa las vías de señalización intracelular que inducen la transcripción de ARNm y proteínas necesarias para el proceso regenerativo(86) , son las proteínas de unión al ARN son componentes principales de los circuitos de retroalimentación reguladora que mantienen la tolerancia inmune y limitan la inflamación (105).

En la etapa inicial de la inflamación, los macrófagos promueven el desarrollo de tejido de granulación y secretan citocinas proinflamatorias y factores de crecimiento como la interleucina-6 (IL-6), el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF) y el PDGF, que regulan la angiogénesis al afectar la proliferación, migración y diferenciación de células endoteliales vasculares. Durante la etapa de proliferación y maduración, los fibroblastos y miofibroblastos generan colágeno y componentes de la matriz extracelular y forman un puente entre los bordes de la herida. Los fibroblastos y sus factores de crecimiento asociados juegan un papel clave en el proceso de reparación de heridas. Por lo tanto, los niveles de expresión de FGF-2 y PDGF-BB / PDGFR-β pueden reflejar con precisión la progresión de la cicatrización de heridas, y estas moléculas son objetivos importantes para la investigación de los efectos de los fármacos en la cicatrización de heridas (88).

4 Plasma rico en plaquetas (PRP)

El plasma rico en plaquetas es un componente sanguíneo autólogo caracterizado por un aumento de 3 a 7 veces la concentración de plaquetas y factores de crecimiento plaquetarios en comparación con la sangre periférica, lo que le otorga un papel vital en la cicatrización de heridas (106, 107). Además de plaquetas, el PRP contiene glóbulos blancos y algunas proteínas. Algunos autores indican que los neutrófilos y monocitos permiten que ocurra un efecto inflamatorio localizado que facilita la cicatrización de heridas (108).

El uso del plasma rico en plaquetas se viene utilizando desde la década de 1950, siendo más popular a partir de 1990 para tratar afecciones tales como alopecia, acné, cicatrices traumáticas, cicatrices contráctiles, arrugas, estrías, ulceras crónicas, terapia con láser y heridas post quirúrgicas ya que se utiliza para mejorar y acortar el proceso de curación (109).

En el último tiempo se ha ido usando cada vez más la inyección de PRP en el campo de rejuvenecimiento facial debido a las altas concentraciones de factores de crecimiento plaquetarios (110).

Con el tiempo también han ido surgiendo distintos protocolos y métodos de preparación del PRP incluida la existencia de kits de PRP disponibles comercialmente, los que presentan variaciones según su marca y la indicación del tratamiento. En los kits comerciales las variaciones se originan debido al tiempo y la fuerza centrífuga relativa lo que se traduce posteriormente en distintas concentraciones de plaquetas y leucocitos (108, 111).

El PRP autólogo se obtiene mediante la recolección de sangre completa de una persona a través de una venopunción periférica en donde se recogen entre 10 a 60 mL el mismo día del tratamiento, esto luego sufre una primera centrifugación para separar y

eliminar los glóbulos rojos de la muestra y luego se realiza una segunda centrifugación para concentrar las plaquetas y finalmente se realiza la adición de un agonista plaquetario para activar la muestra. Este agonista plaquetario es clave ya que permite la activación y la liberación del contenido granular y de los factores de crecimiento plaquetarios, factores claves contra el envejecimiento; estos pueden ser la adición de colageno, cloruro de calcio y/o trombina.

Dicha activación de los factores de crecimiento plaquetarios ocurre dentro de los siguientes 10 minutos post activación pero no se sabe por cuanto tiempo dichos factores permanecen activados y viables. Las pautas actuales de la Administración de Drogas y alimentos de los EE.UU. (FDA) indican que las plaquetas no deben usarse después de 5 días después de su recolección ya que ocurre una proliferación de contaminación bacteriana ocurrida durante la venopunción.

La concentración final de plaquetas a la que se puede llegar varía según el volumen inicial de sangre recolectada, la técnica de preparación, la edad de la persona y las comorbilidades que esta posea. Además, se indica que la concentración idónea de plaquetas es de $1,5 \times 10^6$ plaquetas por microlitro (106, 110, 112).

El envejecimiento facial es causado por alteraciones en la matriz extracelular y también por una mala proliferación de los fibroblastos. Kim et al. demostraron que el PRP estimula la proliferación de fibroblastos dérmicos, la síntesis de colageno y la expresión de metaloproteinasas de matriz lo cual ayuda con el rejuvenecimiento facial.

Después de la centrifugación, se pueden identificar en el tubo diferentes capas caracterizadas por una composición diferente de células sanguíneas. Dependiendo de las capas que se recolecten se pueden obtener 4 tipos de preparación: (106)

1. Plasma rico en plaquetas puro (Plaquetas-PRP): esto corresponde a un PRP pobre en leucocitos con una red de fibrina de baja densidad después de la activación.
2. Plasma rico en leucocitos y plaquetas (L-PRP): es un PRP rico en leucocitos y con baja red de fibrina.
3. Fibrina rica en plaquetas pura (Plaquetas-PRF): con pobre contenido celular y densa en fibrina.
4. Fibrina rica en leucocitos y plaquetas (L-PRF): rica en células y con una red de fibrina de alta densidad.

Como se mencionó anteriormente, las vesículas extracelulares son producidas por diversos tipos celulares pero las más estudiadas son las derivadas de plaquetas ya que son las que se presentan en mayor cantidad en circulación. Estudios han demostrado que vesículas extracelulares provenientes de plaquetas activadas tienen un potencial en la regeneración de tejidos (113).

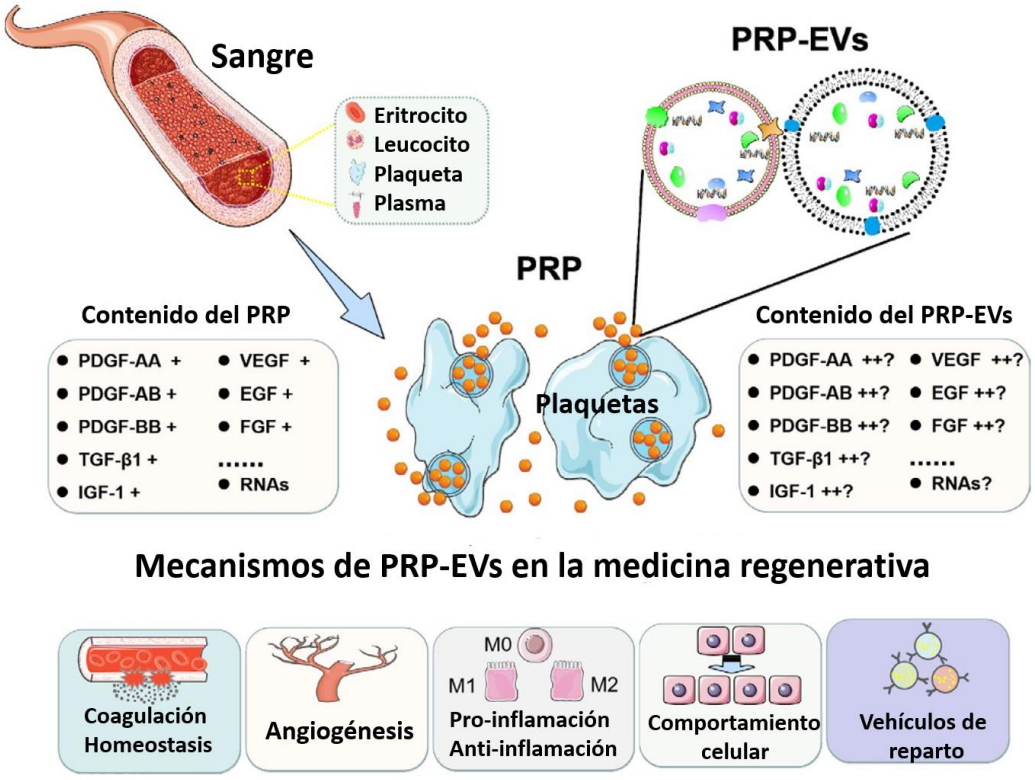

Figura 11: Comparación de contenido del PRP y PRP-EV. Tomado y adaptado de *Wu J. et al*, 2021 (114)

Las vesículas extracelulares son más eficientes que el plasma rico en plaquetas (previamente activadas) ya que supera las limitaciones que el PRP porque pueden atravesar barreras tisulares, pudiendo actuar más allá de la sangre, por ejemplo en las capas de la piel (115). Además, PRP-EV aumentan la proliferación y migración de los fibroblastos dérmicos y muchos microARN son transportados por las vesículas extracelulares, al igual que las mitocondrias que como se explicó previamente, tienen un rol importante en el estrés oxidativo.

CONCLUSIÓN

Con el paso de lo años, surgen distintos cambios a nivel estructural de la piel lo cual va condicionando una piel envejecida. Estos cambios son en su mayoría apresurados por factores extrínsecos entre los cuales el más estudiado es el producido por la radiación UV. Estos factores estresores desencadenan respuestas moleculares a nivel de la piel debido al estrés oxidativo que producen, liberando una serie de citoquinas y quimiocinas. Todo eso genera un daño en el ADN y en estructuras claves de las células como las mitocondrias.

Esos estímulos no solo desencadenan una respuesta de tipo inflamatoria, sino que muchas veces requieren de la participación del sistema inmune que mediante las células T reguladoras modulan una respuesta que frena la inflamación al mismo tiempo que estimula la diferenciación y proliferación celular que conlleva la generación de tejido nuevo.

En los últimos años, se han realizado diversos estudios para comprender la ultraestructura plaquetaria y han ido saliendo a la luz ciertos elementos como las vesículas extracelulares que si bien no son exclusivas de las plaquetas, son las derivadas de plaquetas las que se encuentran en mayor proporción en circulación y que comparten muchos antígenos y receptores de membrana con ellas. Estas vesículas han llamado mucho la atención debido a que pueden atravesar barreras pudiendo llegar a lugares donde las plaquetas no, además de que poseen la capacidad de transportar en su interior proteínas, mitocondrias y también ácidos nucleicos.

En cuanto a los ácidos nucleicos que transportan las vesículas extracelulares derivadas de plaquetas, se encuentran los microARN que como se menciona en esta revisión, tienen la competencia de modular, estimular e inhibir muchas señales celulares y varios de ellos se relacionan con las células presentes en la piel lo cual los vuelve un interesante foco de estudio.

Por último, la inyección del plasma rico en plaquetas se ha ido volviendo cada vez más popular dentro de los tratamientos antienvejecimiento ya que al activarlas estas liberan los factores plaquetarios contenidos en los gránulos y liberación de estos factores conlleva a cambios visibles tales como el mejoramiento de la apariencia de la piel en cuanto a textura, líneas y un aumento del grosor de la piel. Pero como se menciona, se podría aprovechar aún más las propiedades de las plaquetas y sus factores de crecimiento si se usaran el conjunto con vesículas extracelulares. Y aunque el PRP como tratamiento tiene desventajas puesto que la técnica en sí y su preparación no están estandarizadas y presentan variabilidades, si es una propuesta prometedora el relacionarlas con vesículas extracelulares e incluso microARN que sean dirigidos a células de la piel para así poder revertir los cambios del envejecimiento.

REFERENCIAS

1. Cheng S, Lv R, Xu J, Hirman AR, Du L. IGF-1-Expressing Placenta-Derived Mesenchymal Stem Cells Promote Scalding Wound Healing. Journal of Surgical Research. 2021;265:100-13.
2. Robbins L, Cotran S, Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster J. Patología Estructural y Funcional 8a ed. ed. España ELSEVIER; 2010.
3. Zhang W, Wu B, Sun S, Wu P. Skin-like mechanoresponsive self-healing ionic elastomer from supramolecular zwitterionic network. Nature Communications. 2021;12(1).
4. Tsutsui K, Machida H, Nakagawa A, Ahn K, Morita R, Sekiguchi K, et al. Mapping the molecular and structural specialization of the skin basement membrane for inter-tissue interactions. Nature Communications. 2021;12(1).
5. Dyring-Andersen B, Løvendorf MB, Coscia F, Santos A, Møller LBP, Colaço AR, et al. Spatially and cell-type resolved quantitative proteomic atlas of healthy human skin. Nature Communications. 2020;11(1).
6. Damen M, Wirtz L, Soroka E, Khatif H, Kukat C, Simons BD, et al. High proliferation and delamination during skin epidermal stratification. Nature Communications. 2021;12(1).
7. Aragona M, Dekoninck S, Rulands S, Lenglez S, Mascré G, Simons BD, et al. Defining stem cell dynamics and migration during wound healing in mouse skin epidermis. Nature Communications. 2017;8(1):14684.
8. Ohno K, Kobayashi Y, Uesaka M, Gotoda T, Denda M, Kosumi H, et al. A computational model of the epidermis with the deformable dermis and its application to skin diseases. Scientific Reports. 2021;11(1).
9. Shirshin EA, Gurfinkel YI, Priezzhev AV, Fadeev VV, Lademann J, Darvin ME. Two-photon autofluorescence lifetime imaging of human skin papillary dermis in vivo: assessment of blood capillaries and structural proteins localization. Scientific Reports. 2017;7(1).
10. Prinke P, Haueisen J, Klee S, Rizqie MQ, Supriyanto E, König K, et al. Automatic segmentation of skin cells in multiphoton data using multi-stage merging. Scientific Reports. 2021;11(1).
11. Bian G, Gu Y, Xu C, Yang W, Pan X, Chen Y, et al. Early development and functional properties of tryptase/chymase double-positive mast cells from human pluripotent stem cells. Journal of Molecular Cell Biology. 2021;13(2):104-15.
12. Kobayashi T, Tsutsui H, Shimabukuro-Demoto S, Yoshida-Sugitani R, Karyu H, Furuyama-Tanaka K, et al. Lysosome biogenesis regulated by the amino-acid transporter SLC15A4 is critical for functional integrity of mast cells. International Immunology. 2017;29(12):551-66.
13. Shimbori C, De Palma G, Lu J, Verdu E, Collins SM, Reed DE, et al. A50 MICROBIOTA-MAST CELL INTERACTIONS IN A HUMANIZED MOUSE MODEL OF IBS. Journal of the Canadian Association of Gastroenterology. 2019;2(Supplement_2):99-100.
14. Choi DH, Jeon B, Lim MH, Lee DH, Ye S-K, Jeong S-Y, et al. 3D cell culture using a clinostat reproduces microgravity-induced skin changes. npj Microgravity. 2021;7(1).

15. Zhao J, Patel J, Kaur S, Sim S-L, Wong HY, Styke C, et al. Sox9 and Rbpj differentially regulate endothelial to mesenchymal transition and wound scarring in murine endovascular progenitors. Nature Communications. 2021;12(1).
16. Deng C-C, Hu Y-F, Zhu D-H, Cheng Q, Gu J-J, Feng Q-L, et al. Single-cell RNA-seq reveals fibroblast heterogeneity and increased mesenchymal fibroblasts in human fibrotic skin diseases. Nature Communications. 2021;12(1).
17. Wietecha MS, Pensalfini M, Cangkrama M, Müller B, Jin J, Brinckmann J, et al. Activin-mediated alterations of the fibroblast transcriptome and matrisome control the biomechanical properties of skin wounds. Nature Communications. 2020;11(1).
18. Griffoni C, Neidhart B, Yang K, Groeber-Becker F, Maniura-Weber K, Dandekar T, et al. In vitro skin culture media influence the viability and inflammatory response of primary macrophages. Scientific Reports. 2021;11(1).
19. Atcha H, Jairaman A, Holt JR, Meli VS, Nagalla RR, Veerasubramanian PK, et al. Mechanically activated ion channel Piezo1 modulates macrophage polarization and stiffness sensing. Nature Communications. 2021;12(1).
20. Liu K, Tao Y, Wang L, Lei J, Liu J, Liu Q. A novel multifunctional vaccine platform with dendritic cell-targeting and pH-responsive for cancer immunotherapy: Antigen-directed biomimetic fabrication of a cabbage-like mannatide-zinc-antigen hybrid microparticles. Chemical Engineering Journal. 2021;426:130867.
21. Pietilä EA, Gonzalez-Molina J, Moyano-Galceran L, Jamalzadeh S, Zhang K, Lehtinen L, et al. Co-evolution of matrisome and adaptive adhesion dynamics drives ovarian cancer chemoresistance. Nature Communications. 2021;12(1).
22. Yin H, Wang J, Li H, Yu Y, Wang X, Lu L, et al. Extracellular matrix protein-1 secretory isoform promotes ovarian cancer through increasing alternative mRNA splicing and stemness. Nature Communications. 2021;12(1).
23. Beca T, Hernández G, Morante S, Bascones A. Plasma rico en plaquetas: Una revisión bibliográfica. Avances en Periodoncia e Implantología Oral. 2007;19(1).
24. Wang-Evers M, Casper MJ, Glahn J, Luo T, Doyle AE, Karasik D, et al. Assessing the impact of aging and blood pressure on dermal microvasculature by reactive hyperemia optical coherence tomography angiography. Scientific Reports. 2021;11(1).
25. Lynch B, Bonod-Bidaud C, Ducourthial G, Affagard J-S, Bancelin S, Psilodimitrakopoulos S, et al. How aging impacts skin biomechanics: a multiscale study in mice. Scientific Reports. 2017;7(1).
26. Araviiskaia E, Berardesca E, Bieber T, Gontijo G, Sanchez Viera M, Marrot L, et al. The impact of airborne pollution on skin. Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology. 2019;33(8):1496-505.
27. Naylor EC, Watson REB, Sherratt MJ. Molecular aspects of skin ageing. Maturitas. 2011;69(3):249-56.
28. Chambers ES, Vukmanovic-Stejic M, Shih BB, Trahair H, Subramanian P, Devine OP, et al. Recruitment of inflammatory monocytes by senescent fibroblasts inhibits antigen-specific tissue immunity during human aging. Nature Aging. 2021;1(1):101-13.
29. Lee H-Y, Jeon Y, Kim YK, Jang JY, Cho YS, Bhak J, et al. Identifying molecular targets for reverse aging using integrated network analysis of transcriptomic and epigenomic changes during aging. Scientific Reports. 2021;11(1).
30. Acosta-Rodríguez VA, Rijo-Ferreira F, Green CB, Takahashi JS. Importance of circadian timing for aging and longevity. Nature Communications. 2021;12(1).

31. Diridollou S, Vabre V, Berson M, Vaillant L, Black D, Lagarde JM, et al. Skin ageing: changes of physical properties of human skinin vivo. International Journal of Cosmetic Science. 2001;23(6):353-62.
32. Rübe CE, Bäumert C, Schuler N, Isermann A, Schmal Z, Glanemann M, et al. Human skin aging is associated with increased expression of the histone variant H2A.J in the epidermis. npj Aging and Mechanisms of Disease. 2021;7(1).
33. Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. Characteristics of the Aging Skin. Advances in Wound Care. 2013;2(1):5-10.
34. Díaz Murillo H, Pedemonte Campos C. Aparición de Melanina como Pigmento Protector en el Encéfalo de Xenopus laevis para Protegerlo de los Efectos de la Radiación Ultravioleta. International Journal of Morphology. 2013;31(3):1120-3.
35. Wäster P, Eriksson I, Vainikka L, Rosdahl I, Öllinger K. Extracellular vesicles are transferred from melanocytes to keratinocytes after UVA irradiation. Scientific Reports. 2016;6(1):27890.
36. Solano F. Photoprotection and Skin Pigmentation: Melanin-Related Molecules and Some Other New Agents Obtained from Natural Sources. Molecules. 2020;25(7):1537.
37. Rusanova I, Martínez-Ruiz L, Florido J, Rodríguez-Santana C, Guerra-Librero A, Acuña-Castroviejo D, et al. Protective Effects of Melatonin on the Skin: Future Perspectives. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(19):4948.
38. El-Sharkawy A, Malki A. Vitamin D Signaling in Inflammation and Cancer: Molecular Mechanisms and Therapeutic Implications. Molecules. 2020;25(14):3219.
39. Zhang S, Duan E. Fighting against Skin Aging. Cell Transplantation. 2018;27(5):729-38.
40. Pasaglia A, Cestari N, Jacques N, Martín C, Carriao C. Sunlight damage to cellular DNA: Focus on oxidatively generated lesions. Free Radical Biology and Medicine. 2017;107:110-24.
41. Ding Y, Jiratchayamaethasakul C, Lee S-H. Protocatechuic Aldehyde Attenuates UVA-induced Photoaging in Human Dermal Fibroblast Cells by Suppressing MAPKs/AP-1 and NF-κB Signaling Pathways. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(13):4619.
42. Lee S, Rauch J, Kolch W. Targeting MAPK Signaling in Cancer: Mechanisms of Drug Resistance and Sensitivity. International Journal of Molecular Sciences. 2020;21(3):1102.
43. Slominski RM, Reiter RJ, Schlabritz-Loutsevitch N, Ostrom RS, Slominski AT. Melatonin membrane receptors in peripheral tissues: Distribution and functions. Molecular and Cellular Endocrinology. 2012;351(2):152-66.
44. Milani M, Sparavigna A. Antiaging efficacy of melatonin-based day and night creams: a randomized, split-face, assessor-blinded proof-of-concept trial. Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology. 2018;Volume 11:51-7.
45. Slominski AT, Hardeland R, Zmijewski MA, Slominski RM, Reiter RJ, Paus R. Melatonin: A Cutaneous Perspective on its Production, Metabolism, and Functions. Journal of Investigative Dermatology. 2018;138(3):490-9.
46. Nosjean O, Ferro M, Cogé F, Beauverger P, Henlin J-M, Lefoulon F, et al. Identification of the Melatonin-binding SiteMT 3 as the Quinone Reductase 2. Journal of Biological Chemistry. 2000;275(40):31311-7.
47. Sreedhar A, Aguilera-Aguirre L, Singh KK. Mitochondria in skin health, aging, and disease. Cell Death & Disease. 2020;11(6).

48. Lisowski P, Kannan P, Mlody B, Prigione A. Mitochondria and the dynamic control of stem cell homeostasis. EMBO reports. 2018;19(5):e45432.
49. Hosseini E, Hojjati S, Afzalniaye Gashti S, Ghasemzadeh M. Collagen-dependent platelet dysfunction and its relevance to either mitochondrial ROS or cytosolic superoxide generation: a question about the quality and functional competence of long-stored platelets. Thrombosis Journal. 2020;18(1).
50. Grandl G, Wolfrum C. Hemostasis, endothelial stress, inflammation, and the metabolic syndrome. Seminars in Immunopathology. 2018;40(2):215-24.
51. Misra N, Clavaud C, Guinot F, Bourokba N, Nouveau S, Mezzache S, et al. Multi-omics analysis to decipher the molecular link between chronic exposure to pollution and human skin dysfunction. Scientific Reports. 2021;11(1).
52. Ding A, Yang Y, Zhao Z, Hüls A, Vierkötter A, Yuan Z, et al. Indoor PM2.5 exposure affects skin aging manifestation in a Chinese population. Scientific Reports. 2017;7(1).
53. Kampfrath T, Maiseyeu A, Ying Z, Shah Z, Deiuliis JA, Xu X, et al. Chronic Fine Particulate Matter Exposure Induces Systemic Vascular Dysfunction via NADPH Oxidase and TLR4 Pathways. Circulation Research. 2011;108(6):716-26.
54. Kim HS, Na H-W, Jang Y, Kim SJ, Kee NG, Shin DY, et al. Integrative analysis to explore the biological association between environmental skin diseases and ambient particulate matter. Scientific Reports. 2022;12(1).
55. Vierkötter A, Krutmann J. Environmental influences on skin aging and ethnic-specific manifestations. Dermato-Endocrinology. 2012;4(3):227-31.
56. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. Nature Reviews Immunology. 2001;1(2):135-45.
57. Kennedy-Crispin M, Billick E, Mitsui H, Gulati N, Fujita H, Gilleaudeau P, et al. Human Keratinocytes' Response to Injury Upregulates CCL20 and Other Genes Linking Innate and Adaptive Immunity. Journal of Investigative Dermatology. 2012;132(1):105-13.
58. Black APB, Ardern-Jones MR, Kasprowicz V, Bowness P, Jones L, Bailey AS, et al. Human keratinocyte induction of rapid effector function in antigen-specific memory CD4+ and CD8+ T cells. European Journal of Immunology. 2007;37(6):1485-93.
59. Haniffa MA, Wang X-N, Holtick U, Rae M, Isaacs JD, Dickinson AM, et al. Adult Human Fibroblasts Are Potent Immunoregulatory Cells and Functionally Equivalent to Mesenchymal Stem Cells. The Journal of Immunology. 2007;179(3):1595-604.
60. Yao C, Oh J-H, Lee DH, Bae J-S, Jin CL, Park C-H, et al. Toll-like receptor family members in skin fibroblasts are functional and have a higher expression compared to skin keratinocytes. International Journal of Molecular Medicine. 2015;35(5):1443-50.
61. Chen SX, Zhang L-J, Gallo RL. Dermal White Adipose Tissue: A Newly Recognized Layer of Skin Innate Defense. Journal of Investigative Dermatology. 2019;139(5):1002-9.
62. Yan B, Liu N, Li J, Li J, Zhu W, Kuang Y, et al. The role of Langerhans cells in epidermal homeostasis and pathogenesis of psoriasis. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2020;24(20):11646-55.
63. Hunger RE, Sieling PA, Ochoa MT, Sugaya M, Burdick AE, Rea TH, et al. Langerhans cells utilize CD1a and langerin to efficiently present nonpeptide antigens to T cells. 2004;113(5):701-8.
64. Collin M, Bigley V. Human dendritic cell subsets: an update. Immunology. 2018;154(1):3-20.

65. Kolter J, Feuerstein R, Zeis P, Hagemeyer N, Paterson N, D'Errico P, et al. A Subset of Skin Macrophages Contributes to the Surveillance and Regeneration of Local Nerves. Immunity. 2019;50(6):1482-97.e7.
66. Burzyn D, Kuswanto W, Kolodin D, Shadrach L, Jennifer, Cerletti M, Jang Y, et al. A Special Population of Regulatory T Cells Potentiates Muscle Repair. Cell. 2013;155(6):1282-95.
67. Ali N, Rosenblum MD. Regulatory T cells in skin. Immunology. 2017;152(3):372-81.
68. Mathur AN, Zirak B, Boothby IC, Tan M, Cohen JN, Mauro TM, et al. Treg-Cell Control of a CXCL5-IL-17 Inflammatory Axis Promotes Hair-Follicle-Stem-Cell Differentiation During Skin-Barrier Repair. Immunity. 2019;50(3):655-67.e4.
69. Lui PP, Cho I, Ali N. Tissue regulatory T cells. Immunology. 2020;161(1):4-17.
70. Borghesan M, Hoogaars WMH, Varela-Eirin M, Talma N, Demaria M. A Senescence-Centric View of Aging: Implications for Longevity and Disease. Trends in Cell Biology. 2020;30(10):777-91.
71. Sun J, Liu X, Shen CA, Zhang W, Niu Y. Adiponectin receptor agonist AdipoRon blocks skin inflamm-ageing by regulating mitochondrial dynamics. Cell Proliferation. 2021;54(12).
72. Hoare M, Narita M. Transmitting senescence to the cell neighbourhood. Nature Cell Biology. 2013;15(8):887-9.
73. Takahashi A, Loo TM, Okada R, Kamachi F, Watanabe Y, Wakita M, et al. Downregulation of cytoplasmic DNases is implicated in cytoplasmic DNA accumulation and SASP in senescent cells. Nature Communications. 2018;9(1).
74. Brewer DB. Max Schultze (1865), G. Bizzozero (1882) and the discovery of the platelet. British Journal of Haematology. 2006;133(3):251-8.
75. Mazzarello P, Calligaro AL, Calligaro A. Giulio Bizzozero: a pioneer of cell biology. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2001;2(10):776-81.
76. Fernández-Delgado N, Hernández-Ramírez P, Forrellat-Barrios M. Espectro funcional de las plaquetas: de la hemostasia a la medicina regenerativa. Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia. 2012;28:200-16.
77. Machlus KR, Italiano JE. The incredible journey: From megakaryocyte development to platelet formation. Journal of Cell Biology. 2013;201(6):785-96.
78. Geddis AE. Megakaryopoiesis. Seminars in Hematology. 2010;47(3):212-9.
79. Fernández-Delgado N, Hernández-Ramírez P, Forrellat M. Espectro funcional de las plaquetas: de la hemostasia a la medicina regenerativa Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia 2012;28:200-16
80. González Villalva A, Bizarro-Nevares P, Rojas-Lemus M, López-Valdés N, Ustarroz-Cano M, Barbosa-Barrón F, et al. The megakaryocyte: a very original cell. Revista de la Facultad de Medicina. 2019;62(1):6-18.
81. Koupenova M, Clancy L, Corkrey HA, Freedman JE. Circulating Platelets as Mediators of Immunity, Inflammation, and Thrombosis. Circulation Research. 2018;122(2):337-51.
82. Jenne CN, Urrutia R, Kubes P. Platelets: bridging hemostasis, inflammation, and immunity. International Journal of Laboratory Hematology. 2013;35(3):254-61.
83. Cole BJ, Seroyer ST, Filardo G, Bajaj S, Fortier LA. Platelet-Rich Plasma: Where Are We Now and Where Are We Going? Sports Health: A Multidisciplinary Approach. 2010;2(3):203-10.

84. Semple JW. Platelets have a role as immune cells. ISBT Science Series. 2012;7(1):269-73.
85. Huang Z, Zhao Z, Lang J, Wang W, Fu Y, Wang W. Therapeutic Study of Thermosensitive Hydrogel Loaded with Super-Activated Platelet Lysate Combined with Core Decompression Technology for the Treatment of Femoral Head Necrosis. Stem Cells International. 2021;2021:1-7.
86. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, et al. Platelet-Rich Plasma: Growth Factors and Pro- and Anti-Inflammatory Properties. Journal of Periodontology. 2007;78(4):661-9.
87. Zhu P, Wang Z, Sun Z, Liao B, Cai Y. Recombinant platelet-derived growth factor-BB alleviates osteoarthritis in a rat model by decreasing chondrocyte apoptosis in vitro and in vivo. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 2021.
88. Zhang L, Hu Q, Jin H, Yang Y, Yang Y, Yang R, et al. Effects of ginsenoside Rb1 on second-degree burn wound healing and FGF-2/PDGF-BB/PDGFR-β pathway modulation. Chinese Medicine. 2021;16(1).
89. Tripisciano C, Weiss R, Eichhorn T, Spittler A, Heuser T, Fischer MB, et al. Different Potential of Extracellular Vesicles to Support Thrombin Generation: Contributions of Phosphatidylserine, Tissue Factor, and Cellular Origin. Scientific Reports. 2017;7(1).
90. Ferreira PM, Bozbas E, Tannetta SD, Alroqaiba N, Zhou R, Crawley JTB, et al. Mode of induction of platelet-derived extracellular vesicles is a critical determinant of their phenotype and function. Scientific Reports. 2020;10(1).
91. Müller I, Klocke A, Alex M, Kotzsch M, Luther T, Morgenstern E, et al. Intravascular tissue factor initiates coagulation via circulating microvesicles and platelets. The FASEB Journal. 2003;17(3):1-20.
92. Boudreau LH, Duchez A-C, Cloutier N, Soulet D, Martin N, Bollinger J, et al. Platelets release mitochondria serving as substrate for bactericidal group IIA-secreted phospholipase A2 to promote inflammation. Blood. 2014;124(14):2173-83.
93. Millington-Burgess SL, Harper MT. Epigallocatechin gallate inhibits release of extracellular vesicles from platelets without inhibiting phosphatidylserine exposure. Scientific Reports. 2021;11(1).
94. Zaldivia M, McFadyen J, Lim B, Wang X, Peter K, 2,4 *. Platelet-Derived Microvesicles in Cardiovascular Diseases cardiovasculares. Frontiers in Cardiovascular Medicine [Internet]. 2017; 4.
95. Lindemann S, Tolley ND, Dixon DA, Mcintyre TM, Prescott SM, Zimmerman GA, et al. Activated platelets mediate inflammatory signaling by regulated interleukin 1β synthesis. Journal of Cell Biology. 2001;154(3):485-90.
96. Buzas EI, György B, Nagy G, Falus A, Gay S. Emerging role of extracellular vesicles in inflammatory diseases. Nature Reviews Rheumatology. 2014;10(6):356-64.
97. Nagalla S, Shaw C, Kong X, Kondkar AA, Edelstein LC, Ma L, et al. Platelet microRNA-mRNA coexpression profiles correlate with platelet reactivity. Blood. 2011;117(19):5189-97.
98. Fabbri M. TLRs as miRNA Receptors. Cancer Research. 2012;72(24):6333-7.
99. Simon LM, Edelstein LC, Nagalla S, Woodley AB, Chen ES, Kong X, et al. Human platelet microRNA-mRNA networks associated with age and gender revealed by integrated plateletomics. Blood. 2014;123(16):e37-e45.
100. Banerjee J, Sen C. MicroRNAs in Skin and Wound Healing. second edition ed2013. 343-56 p.

101. Ruksha TG, Komina AV, Palkina NV. MicroRNA in skin diseases. European Journal of Dermatology. 2017;27(4):343-52.
102. Ying S-Y, Chang DC, Lin S-L. The MicroRNA (miRNA): Overview of the RNA Genes that Modulate Gene Function. Molecular Biotechnology. 2008;38(3):257-68.
103. Yi R, Poy MN, Stoffel M, Fuchs E. A skin microRNA promotes differentiation by repressing 'stemness'. Nature. 2008;452(7184):225-9.
104. Yi R, Fuchs E. MicroRNA-mediated control in the skin. Cell Death & Differentiation. 2010;17(2):229-35.
105. Liu B, Huang J, Ashraf A, Rahaman O, Lou J, Wang L, et al. The RNase MCPIP3 promotes skin inflammation by orchestrating myeloid cytokine response. Nature Communications. 2021;12(1).
106. Mercuri SR, Paolino G, Di Nicola MR, Vollono L. Investigating the Safety and Efficacy of Platelet-Rich Plasma (PRP) Treatment for Female Androgenetic Alopecia: Review of the Literature. Medicina. 2021;57(4):311.
107. Yamaguchi, Shams, Silva, Stilhano. PRP and BMAC for Musculoskeletal Conditions via Biomaterial Carriers. International Journal of Molecular Sciences. 2019;20(21):5328.
108. Shahid M, Kundra R. Platelet-rich plasma (PRP) for knee disorders. EFORT Open Reviews. 2017;2(2):28-34.
109. Charles-De-Sá L, Gontijo-De-Amorim N, Sbarbati A, Benati D, Bernardi P, Borojevic R, et al. Photoaging Skin Therapy with PRP and ADSC: A Comparative Study. Stem Cells International. 2020;2020:1-13.
110. Mijiritsky E, Assaf HD, Peleg O, Shacham M, Cerroni L, Mangani L. Use of PRP, PRF and CGF in Periodontal Regeneration and Facial Rejuvenation—A Narrative Review. Biology. 2021;10(4):317.
111. Sharara FI, Lelea L-L, Rahman S, Klebanoff JS, Moawad GN. A narrative review of platelet-rich plasma (PRP) in reproductive medicine. Journal of Assisted Reproduction and Genetics. 2021;38(5):1003-12.
112. Mercuri SR, Vollono L, Paolino G. The Usefulness of Platelet-Rich Plasma (PRP) for the Treatment of Vitiligo: State of the Art and Review . Drug Design, Development and Therapy. 2020;Volume 14:1749-55.
113. Guo S-C, Tao S-C, Yin W-J, Qi X, Yuan T, Zhang C-Q. Exosomes derived from platelet-rich plasma promote the re-epithelization of chronic cutaneous wounds via activation of YAP in a diabetic rat model. Theranostics. 2017;7(1):81-96.
114. Wu J, Piao Y, Liu Q, Yang X. Platelet-rich plasma-derived extracellular vesicles: A superior alternative in regenerative medicine? Cell Proliferation. 2021;54(12).
115. Puhm F, Boilard E, Machlus KR. Platelet Extracellular Vesicles. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 2020.