

Platelet-Activating Factor Disrupts the Nasal Epithelial Barrier Independently of the Platelet-Activating Factor Receptor Pathway.

El factor activador de plaquetas altera la barrera epitelial nasal, independientemente de la vía del receptor del factor activador de plaquetas.

Juan Tan ^{#1}, Xinling Han ^{#1}, Shenting Li ¹, Qiqi Wang ², Limin Zhao ¹, Ying Li ², Su Duan ³, Luo Zhang ^{1 2 4 5}.

¹ Department of Allergy, Beijing TongRen Hospital, Capital Medical University, Beijing, China.

² Beijing Key Laboratory of Nasal Diseases, Beijing Institute of Otolaryngology, Beijing, China.

³ Department of Allergy, Beijing TongRen Hospital, Capital Medical University, Beijing, China. dssky@163.com.

⁴ Department of Otolaryngology Head and Neck Surgery, Beijing TongRen Hospital, Capital Medical University, Beijing, China.

⁵ Research Unit of Diagnosis and Treatment of Chronic Nasal Disease, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing, China. dr.luozhang@139.com.

[#] Contributed equally.

Tan J, Han X, Li S, Wang Q, Zhao L, Li Y, Duan S, Zhang L. Platelet-Activating Factor Disrupts the Nasal Epithelial Barrier Independently of the Platelet-Activating Factor Receptor Pathway. Allergy Asthma Immunol Res. 2025 Mar;17(2):212-225. doi: 10.4168/aa.2025.17.2.212.

Comentario:

Alfonso del Cuvillo Bernal

Unidad de Rinología y Asma

UGC Otorrinolaringología. Hospital de Jerez. Cádiz

E-mail: dr.cuvillo@comcadiz.es

INTRODUCCIÓN:

La rinosinusitis crónica con pólipos nasales (RSCcPN) es una patología inflamatoria compleja en cuya patogenia se ha implicado una disfunción significativa de la barrera epitelial, lo que facilita la penetración de patógenos y alérgenos que contribuyen a desencadenar y perpetuar la inflamación crónica¹. Las uniones estrechas (tight junctions, TJs), compuestas por proteínas como la zonula occludens-1 (ZO-1), ocludina y claudinas, son fundamentales para mantener la integridad de esta barrera y su alteración es un sello distintivo de la enfermedad¹.

El factor activador de plaquetas (PAF) es un mediador lipídico potente, conocido por inducir la infiltración de eosinófilos y aumentar la permeabilidad vascular, lo que contribuye al edema y la rinorrea. Clásicamente, se asume que el PAF ejerce sus efectos al unirse a su receptor específico acoplado a proteína G (PAFR). Sin embargo, existe una discrepancia clínica relevante: los antagonistas del PAFR (como el WEB-2086 o Apafant) no han demostrado eficacia significativa en ensayos clínicos para reducir la inflamación en asma o rinitis, lo que sugiere la existencia de mecanismos alternativos de señalización.

Estudios recientes han sugerido que el PAF podría activar el inflamasoma NLRP3 de forma independiente al PAFR². El inflamasoma NLRP3 es un complejo multiproteico que, al activarse, desencadena la liberación de citoquinas proinflamatorias como la IL-1 β y la IL-18, elevadas en la RSCcPN y asociadas con daño epitelial². El objetivo de este estudio fue investigar si el PAF daña directamente la barrera epitelial nasal en la RSCcPN y dilucidar si este efecto está mediado por su receptor clásico (PAFR) o por la vía del inflamasoma NLRP3.

MATERIAL Y MÉTODOS:

El artículo describe un estudio experimental *in vitro* en el que se analizaron muestras de biopsia de mucosa nasal de pacientes con RSCcPN (según los criterios diagnósticos de la guía EPOS 2020) y de controles sanos intervenidos por otra causa (septoplastia o concha bullosa). Se cuantificaron los niveles de PAF y PAFR en tejido mediante ELISA y PCR cuantitativa (RT-qPCR), respectivamente. Para evaluar la función de barrera, se establecieron cultivos de células epiteliales nasales humanas (hNECs) en interfase aire-líquido (ALI), un modelo que simula las condiciones fisiológicas del epitelio respiratorio.

Las células diferenciadas de los cultivos fueron estimuladas con PAF comercial a distintas concentraciones. Para determinar el mecanismo de acción, los cultivos fueron pretratados con Apafant (un antagonista selectivo del PAFR) o con MCC950 (un inhibidor específico del inflamasoma NLRP3).

Las variables principales de resultado fueron:

1. La resistencia eléctrica transepitelial (TER) para medir la integridad de la barrera.
2. La permeabilidad al flujo de FITC-dextrano (4 kDa).
3. La expresión génica y proteica de componentes de las uniones estrechas (ZO-1, ocludina, claudina-1 y claudina-4) mediante RT-qPCR para ARNm e inmunofluorescencia (IF) para la proteína y de marcadores del inflamasoma (NLRP3, caspasa-1, IL-1 β , IL-18) mediante ELISA en el sobrenadante del cultivo celular.

El estudio fue revisado y autorizado por el comité de ética de la investigación biomédica del Hospital de Beijing TongRen, y todos los pacientes incluidos firmaron un consentimiento informado previo a su inclusión.

RESULTADOS:

Se obtuvieron muestras de mucosa nasal de 47 pacientes con RSCcPN y 30 controles sanos, de edad similar y sin diferencias demográficas relevantes entre los grupos, excluyéndose a los fumadores y a aquellos que habían recibido tratamiento que pudiera interferir en los resultados durante las 4 semanas previas a la cirugía nasosinusal.

El estudio confirmó que los niveles de PAF y la expresión de su receptor (PAFR) están significativamente elevados en los tejidos de pólipos nasales en comparación con la mucosa control. En los cultivos celulares, la estimulación con PAF provocó una disrupción dosis-dependiente de la barrera epitelial, evidenciada por una disminución significativa de la TER y un aumento de la permeabilidad al FITC-dextrano. A nivel molecular, el PAF indujo una reducción significativa en la expresión de ARNm y de las proteínas ZO-1, ocludina, claudina-1 y claudina-4, lo que se asoció con una desorganización estructural observada en la inmunofluorescencia.

El hallazgo más relevante y novedoso surgió al intentar bloquear este efecto. El pretratamiento con Apafant (antagonista selectivo de PAFR) no logró revertir el daño en la barrera epitelial ni restaurar la expresión de las proteínas de unión estrecha inducida por el PAF. Por el contrario, el uso de MCC950 (inhibidor de NLRP3) atenuó significativamente la caída de la TER, redujo la permeabilidad y preservó la expresión de las proteínas de unión

estrecha. Además, se observó que el PAF incrementaba la activación de NLRP3 y la liberación de IL-1 β e IL-18, efectos que fueron bloqueados eficazmente por MCC950.

COMENTARIO FINAL:

Este estudio presenta una investigación mecanística elegante y de alta relevancia clínica para comprender la fisiopatología de la RSCcPN. La principal fortaleza del trabajo radica en el uso de cultivos primarios en interfase aire-líquido (ALI), que constituyen el estándar oro actual para estudios *in vitro* del epitelio respiratorio, y en el abordaje directo de una paradoja farmacológica conocida: la ineficacia de los antagonistas del PAFR.

La conclusión central es que el PAF es capaz de alterar la integridad de la barrera epitelial nasal, pero lo hace a través de una vía no canónica que implica la activación del inflammasoma NLRP3, y no a través de su receptor clásico PAFR. Esto supone un cambio de paradigma, ya que desplaza el foco terapéutico del bloqueo del receptor de superficie hacia la modulación de las vías inflamatorias intracelulares, como la vía NLRP3⁴.

Sin embargo, el estudio no está exento de limitaciones. Al ser un estudio *in vitro*, carece de la complejidad sistémica propia de un organismo vivo. Aunque se demuestra que el PAF activa NLRP3 independientemente del PAFR, el mecanismo exacto de transducción de señal inicial (cómo el PAF "habla" con NLRP3 si no es vía PAFR) no queda totalmente resuelto, aunque los autores sugieren la posible implicación de la proteinquinasa C (PKC) o la señalización de calcio. Además, el tamaño muestral, aunque adecuado para un estudio celular, resulta limitado para generalizar sobre fenotipos clínicos específicos³.

Por otro lado, una limitación metodológica relevante afecta a los datos cuantitativos del PAF tisular, que deben tomarse con reserva debido al uso de ELISA en lugar de espectrometría de masas, ya que se ha demostrado que el PAF es una molécula extremadamente lábil en tejido^{5,6}, y es posible que lo que se detecte con ELISA sea no sólo PAF sino también sus metabolitos.

A pesar de ello, aunque la metodología del estudio es débil en la caracterización lipidómica del tejido, es robusta en el modelo celular, por lo que el artículo aporta evidencia valiosa que justifica la exploración de inhibidores del inflammasoma NLRP3 como potenciales dianas terapéuticas para restaurar la barrera epitelial en pacientes con rinosinusitis crónica⁷, ofreciendo una explicación plausible del fracaso previo de los tratamientos dirigidos exclusivamente al receptor de PAF.

BIBLIOGRAFÍA RECOMENDADA:

1. Kohanski MA, Cohen NA, Barrett NA. Epithelial dysregulation in chronic rhinosinusitis with nasal polyposis (CRSwNP) and aspirin-exacerbated respiratory disease (AERD). *J Allergy Clin Immunol*. 2021;148(5):1161-1164.
2. Deng M, Guo H, Tam JW, Johnson BM, Brickey WJ, New JS, Lenox A, Shi H, Golenbock DT, Koller BH, McKinnon KP, Beutler B, Ting JP. Platelet-activating factor (PAF) mediates NLRP3-NEK7 inflammasome induction independently of PAFR. *J Exp Med*. 2019 Dec 2;216(12):2838-2853.
3. Yang Y, Chen H, Zhong J, Shen L, Zheng X. Role of NLRP3 Inflammasome on Different Phenotypes of Chronic Rhinosinusitis. *Am J Rhinol Allergy*. 2022 Sep;36(5):607-614. doi: 10.1177/19458924221101218. Epub 2022 Jun 23. PMID: 35746845.
4. Leszczyńska K, Jakubczyk D, Górka S. The NLRP3 Inflammasome as a New Target in Respiratory Disorders Treatment. *Front Immunol*. 2022;13:1006654.
5. Roca-Ferrer J, Pérez-González M, Alobid I, Tubita V, Fuentes M, Bantulà M, Muñoz-Cano R, Valero A, Izquierdo I, Mullol J. Upregulation of Platelet-Activating Factor Receptor Expression and Lyso-Platelet-Activating Factor Isoforms in Human Nasal Polyp Tissues. *J Clin Med*. 2023 Nov 28;12(23):7357.
6. Ishino T, Oda T, Kawasumi T, Takemoto K, Nishida M, Horibe Y, Chikui N, Taruya T, Hamamoto T, Ueda T, Takeno S. Severe Type 2 Inflammation Leads to High Platelet-Activating-Factor-Associated Pathology in Chronic Rhinosinusitis with Nasal Polyps-.A Hierarchical Cluster Analysis Using Bulk RNA Barcoding and Sequencing. *Int J Mol Sci*. 2024 Feb 9;25(4):2113.
7. Duan S, Han X, Jiao J, et al. Histone deacetylase activity is a novel target for epithelial barrier defects in patients with eosinophilic chronic rhinosinusitis with nasal polyps. *Clin Exp Allergy*. 2023;53(4):443-454.