

9. settembre

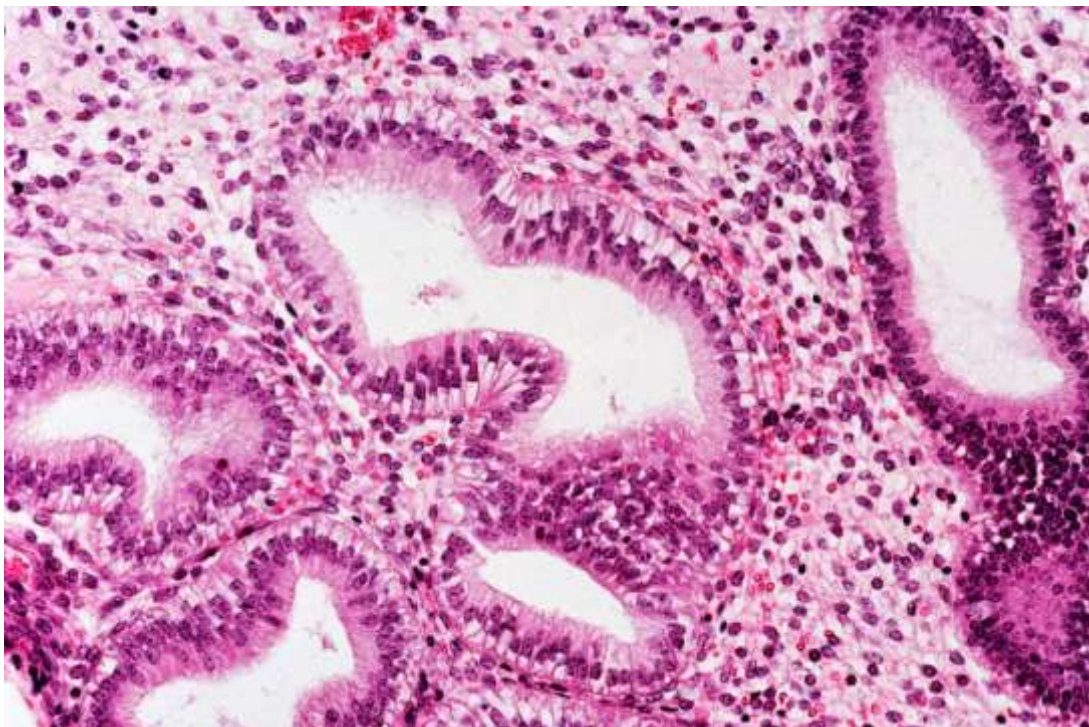
Human Endometrial Cell Atlas (HECA): una risorsa preziosa per studiare la fisiologia e i disturbi dell'endometrio

*La carta geografica, anche se statica,
presuppone un'idea narrativa, è concepita in funzione d'un itinerario, è un'Odissea.*
Italo Calvino

*La virtù delle mappe è proprio questa, di mostrare la riduttibile disponibilità dello spazio,
di pronosticare che tutto vi può succedere. E vi succede.*
José Saramago

*Le mappe incoraggiano l'audacia.
Sono come delle criptiche lettere d'amore. Fanno sembrare tutto possibile.*
Mark Jenkins

L'endometrio è uno dei tessuti più dinamici del corpo. A ogni ciclo mestruale, si ispessisce, creando un cuscinetto in cui un embrione può impiantarsi. Questo fornisce ossigeno e nutrienti al feto durante la gravidanza. Se la gravidanza non avviene, perde lo strato superiore durante le mestruazioni, ricominciando il processo da capo.



Ciò rende l'endometrio un attore cruciale nell'infertilità, nei disturbi mestruali e in altre condizioni come l'endometriosi, quando cellule simili a quelle dell'endometrio crescono altrove. Tuttavia, il ruolo dell'endometrio in queste condizioni non è chiaro, in parte perché non sappiamo come funziona nelle persone senza tali disturbi.

Il team di Roser Vento-Tormo del Wellcome Sanger Institute nel Regno Unito



ha creato la mappa più dettagliata dell'endometrio fino ad oggi, incluso il modo in cui cambia durante il ciclo mestruale. Sebbene l'atlante sia ben lungi dall'essere completo, getta le basi su cui altri ricercatori possono costruire. Ha già scoperto nuovi tipi di cellule e fornito indizi sull'endometriosi, di cui puoi leggere di più

Studi come questo sono tra i più entusiasmanti per me. Mi ricordano quanto ancora dobbiamo imparare su noi stessi e che, nel farlo, possiamo potenzialmente sviluppare nuovi trattamenti per condizioni poco comprese.

A livello globale, milioni di donne sono affette da disturbi endometriali/uterini, tuttavia l'endometrio e il ruolo della sua eterogeneità cellulare in queste patologie sono stati ampiamente poco studiati rispetto ad altri tessuti e malattie umane

Mercuri, N. D. & Cox, B. J. Meta-research: the need for more research into reproductive health and disease. eLife 11, e75061. <https://doi.org/10.7554/eLife.75061> (2022).

Il report pubblicato a fine agosto

Marečková M, Garcia-Alonso L, Moullet M, Lorenzi V, Petryszak R, Sancho-Serra C, Oszlanczi A, Icoresi Mazzeo C, Wong FCK, Kelava I, Hoffman S, Krassowski M, Garbutt K, Gaitskell K, Yancheva S, Woon EV, Male V, Granne I, Hellner K, Mahbubani KT, Saeb-Parsy K, Lotfollahi M, Prigmore E, Southcombe J, Dragovic RA, Becker CM, Zondervan KT, Vento-Tormo R.

An integrated single-cell reference atlas of the human endometrium.

Nat Genet. 2024 Aug 28.

Di fatto è la base per la costruzione di HECA un atlante cellulare completo dell'endometrio umano assemblato per individui con/senza endometriosi fino ad oggi.

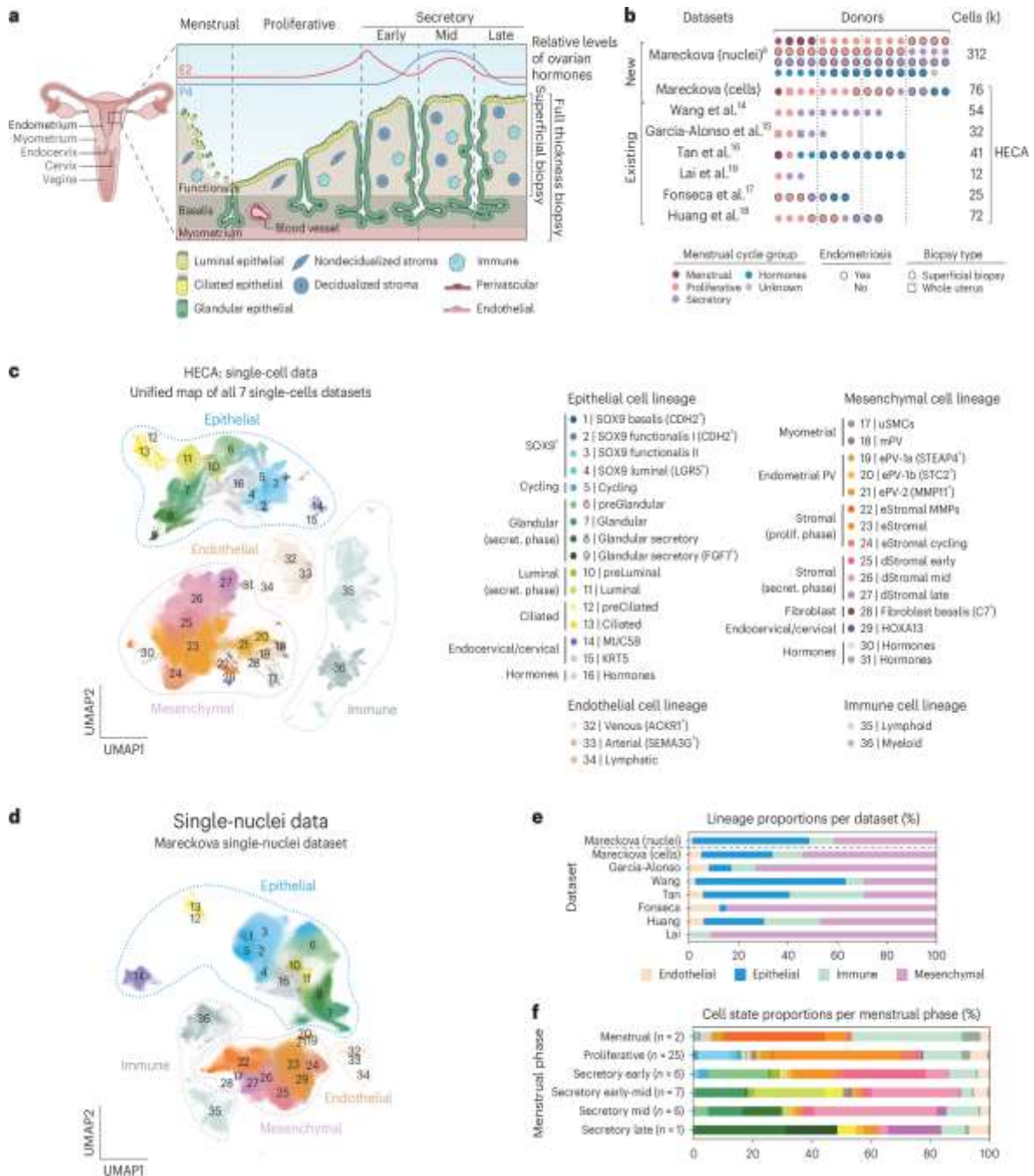


L'HECA fornisce un passo cruciale verso il miglioramento della nostra comprensione dell'eterogeneità delle cellule endometriali in salute e malattia poiché:

- 1- incorpora il maggior numero di cellule e individui;**
- 2- presenta l'annotazione delle cellule di consenso tra gli studi;**
- 3- fornisce l'annotazione dello stato cellulare più granulare e la posizione spaziale delle cellule in situ;**
- 4-offre una piattaforma per l'annotazione facile e rapida di futuri studi scRNA-seq dell'endometrio;**
- 5- consente la contestualizzazione degli screening di associazione genetica per i disturbi endometriali/uterini.**

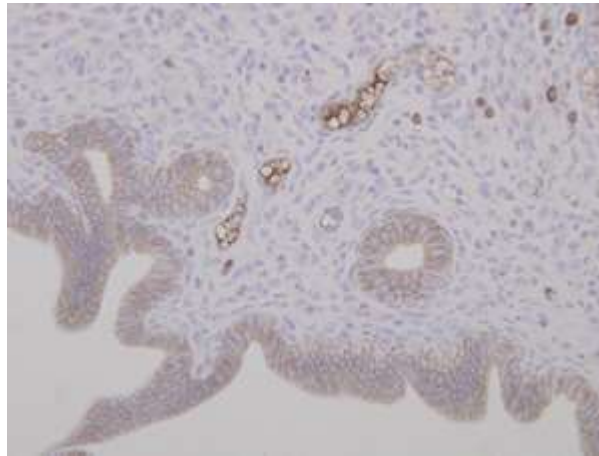
Sono state analizzate e mappate spazialmente in modo completo ~614.000 cellule e nuclei di alta qualità da 121 individui superando così sostanzialmente il numero di donatori e cellule profilati dagli studi iniziali e pionieristici sulle singole cellule endometriali

[Queckbörner S et al. Stromal Heterogeneity in the Human Proliferative Endometrium-A Single-Cell RNA Sequencing Study. J Pers Med. 2021 May 22;11\(6\):448..](#)



a, Illustrazione schematica dell'utero umano e della composizione cellulare dell'endometrio mentre subisce cambiamenti morfologici durante il ciclo mestruale. **b**, Elenco dei set di dati analizzati e contributo del numero di donatori, cellule/nuclei, istologia endometriale e stato dell'endometriosi di tutti i campioni profilati per set di dati. **c**, Proiezioni UMAP dei dati scRNA-seq HECA da un totale di 63 individui e 313.527 cellule colorate in base allo stato cellulare. **d**, Proiezioni UMAP dei dati snRNA-seq da un totale di 63 individui e 312.246 nuclei colorati in base allo stato cellulare. Il colore dei punti corrisponde agli stati cellulari descritti in **c**. **e**, Grafico a barre che mostra il contributo di ciascuno dei set di dati scRNA-seq ai principali lignaggi cellulari (lignaggio endoteliale, epiteliale, immunitario e mesenchimale) come mostrato in **c**. **f**, Grafico a barre che mostra la composizione cellulare di un totale di 47 biopsie endometriali dalle fasi mestruale ($n = 2$), proliferativa ($n = 25$), secretoria precoce ($n = 6$), secretoria precoce/media ($n = 7$), secretoria media ($n = 6$) e secretoria tardiva ($n = 1$) del ciclo mestruale per i dati scRNA-seq presentati in **c**. Le biopsie da donatrici sottoposte a terapia ormonale ($n = 14$) e i campioni assegnati come fase secretoria senza sottocategorizzazione disponibile in secretoria precoce/media/tardiva ($n = 2$) sono mostrati nella Figura 1d dei dati estesi. Il colore delle barre corrisponde agli stati cellulari descritti in **c**. a Cinque donatrici sono condivise tra i set di dati scRNA-seq e snRNA-seq di Mareckova. ePV, cellule PV endometriali; mPV, cellule PV miometriali; proliferativa; secreta, secretiva.

L'ampia dimensione del campione ha consentito permesso di identificare stati cellulari non segnalati in precedenza a livello di singole cellule, inclusa una popolazione di **cellule epiteliali CDH2 + (ovvero, N-caderina)**.



L'espressione genica marcatore di questa popolazione la localizzazione all'interno delle ghiandole basali e la comunicazione cellula-cellula prevista con una popolazione di fibroblasti basali hanno indicato che queste cellule potrebbero essere le cellule staminali/progenitrici epiteliali descritte in precedenza.

[Cousins FL et al. The Elusive Endometrial Epithelial Stem/Progenitor Cells. Front Cell Dev Biol. 2021 Apr 9;9:640319.](#)

La definizione del profilo trascrittomico di queste cellule apre nuove strade per esplorare il loro ruolo nella riparazione e rigenerazione endometriale, così come nella fisiopatologia della malattia.

Inoltre, sono stati "catturati" (identificati) molteplici **stati cellulari transitori non segnalati in precedenza** (ad esempio, preLuminale, preGlandulare, sottoinsiemi di cellule stromali decidualizzate) durante la fase secretoria precoce/media, un periodo dinamico cruciale per la preparazione della recettività endometriale in risposta ai crescenti livelli di progesterone.

Una risposta cellulare strettamente regolata ai livelli mutevoli di ormoni ovarici è essenziale per la progressione del ciclo mestruale, il mantenimento dell'omeostasi tissutale e la fertilità.

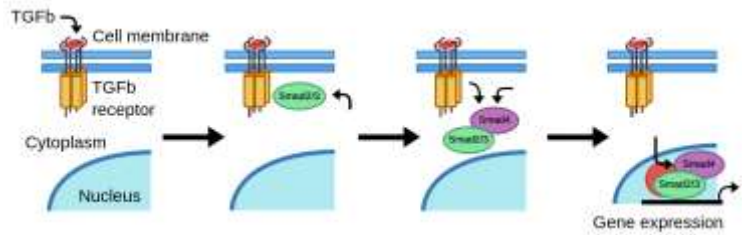
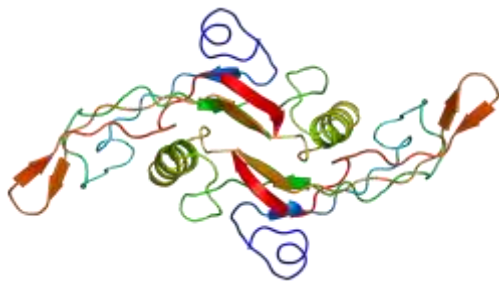
Pertanto, gli stati cellulari identificati potrebbero presentare promettenti obiettivi per la terapia nei disturbi endometriali/uterini che sono caratterizzati dall'interruzione della segnalazione a valle dipendente dagli ormoni e dalle risposte cellulari

Oltre agli ormoni ovarici, i fattori paracrini prodotti localmente sono essenziali per la progressione del ciclo mestruale. Viene fornita una mappa dettagliata (e una piattaforma interattiva) della comunicazione cellula-cellula in vivo prevista durante il ciclo, che rappresenta un'importante aggiunta al corpo di conoscenze esistenti derivate prevalentemente da colture cellulari in vitro

[Makieva S et al. Inside the Endometrial Cell Signaling Subway: Mind the Gap\(s\). Int J Mol Sci. 2018 Aug 21;19\(9\):2477.](#)

Di particolare interesse è il modo in cui **l'attività del TGFβ** è controllata da vari stati delle cellule epiteliali e mesenchimali sia nello spazio che nel tempo. L'identificazione e la descrizione dettagliata dei percorsi di segnalazione in vivo coinvolti nella progressione del ciclo mestruale potrebbero ora essere utilizzati per perfezionare i terreni utilizzati per la coltura di organoidi endometriali, attualmente integrati con inibitori del **TGFβ**.

[Boretto M et al. Development of organoids from mouse and human endometrium showing endometrial epithelium physiology and long-term expandability. Development. 2017 May 15;144\(10\):1775-1786.](#)



L'incorporazione della segnalazione spaziale e temporale del **TGFβ** potrebbe migliorare la risposta fisiologica e la differenziazione di queste cellule quando trattate con ormoni che imitano il ciclo mestruale e quindi ridurre alcune delle differenze precedentemente osservate tra cellule endometriali in vivo e in vitro

Garcia-Alonso L et al. Mapping the temporal and spatial dynamics of the human endometrium in vivo and in vitro. Nat Genet. 2021 Dec;53(12):1698-1711.

Sono state identificate e descritte una serie di interazioni tramite le quali gli uM possono aiutare il processo di rigenerazione endometriale senza cicatrici, supportando la ricerca precedente che proponeva un ruolo per gli uM in questo processo. Le interazioni tra gli uM e le cellule stromali erano più evidenti intorno alle mestruazioni, sottolineando il ruolo cruciale degli uM durante questa fase. Per analizzare ulteriormente il dialogo tra macrofagi e cellule stromali durante la riparazione e la rigenerazione endometriale, dovrebbero essere analizzati campioni aggiuntivi dalla fase mestruale.

Comprendere se l'interruzione di queste interazioni macrofagi-stromali contribuisca a disturbi mestruali ampiamente comuni (ad esempio, sanguinamento uterino anomalo) potrebbe aprire nuove strade per lo sviluppo di trattamenti basati sull'immunologia.

E' evidente l'utilità dell'HECA per fornire un contesto cellulare a una meta-analisi GWAS su larga scala dell'endometriosi

Sostate infatti identificati sottotipi di cellule stromali decidualizzate e macrofagi come rilevanti per l'endometriosi.

La disregolazione osservata dell'omeostasi delle cellule immunitarie stromali è in linea con i precedenti report

McKinnon BD et al. Altered differentiation of endometrial mesenchymal stromal fibroblasts is associated with endometriosis susceptibility. Commun Biol. 2022 Jun 20;5(1):600.

ma, nel complesso, i risultati sono stati incoerenti.

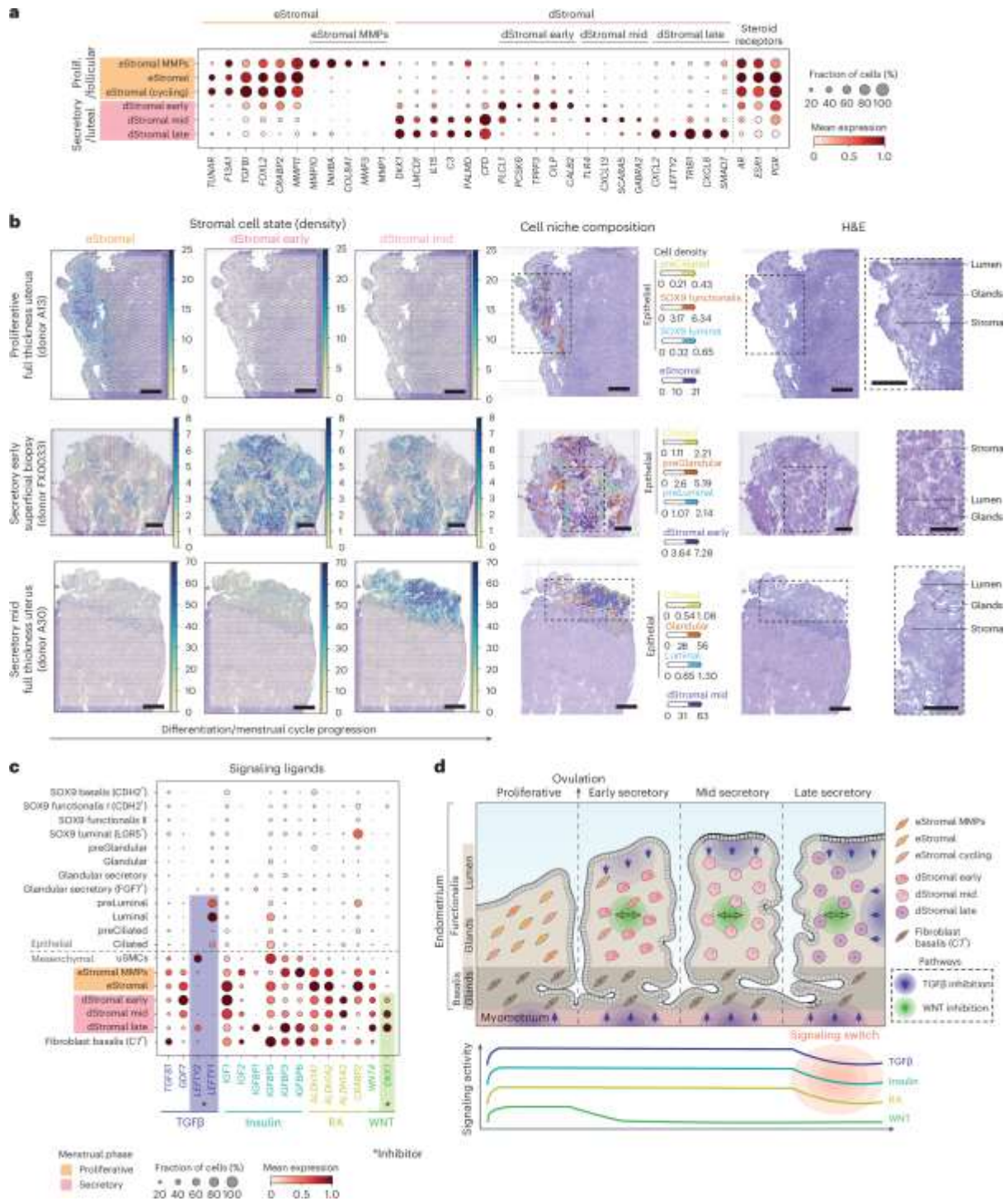
I risultati attuali suggeriscono un ruolo delle popolazioni di macrofagi uM1 e uM2 nel contribuire a un ambiente infiammatorio anomalo all'interno dell'endometrio di pazienti con endometriosi.

A livello di RNA messaggero, i dati attuante disponibili indicano che WNT sostenuto e segnalazione disregolata dell'insulina sono una caratteristica delle popolazioni dStromali precoci/medie nei casi di endometriosi. Ciò è in linea con precedenti osservazioni di downregulation di *IGF2* e compromissione dell'inibizione di WNT nell'endometrio di donne con endometriosi durante la fase secretoria

Pazhohan A et al. The Wnt/β-catenin signaling in endometriosis, the expression of total and active forms of β-catenin, total and inactive forms of glycogen synthase kinase-3β, WNT7a and DICKKOPF-1. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol. 2018 Jan;220:1-5.

L'inibizione della segnalazione WNT da parte delle cellule stromali in risposta al progesterone è fondamentale per supportare la differenziazione dell'epitelio ghiandolare

Garcia-Alonso L et al. Mapping the temporal and spatial dynamics of the human endometrium in vivo and in vitro. Nat Genet. 2021 Dec;53(12):1698-1711.



Dot plot che mostra l'espressione normalizzata, trasformata in logaritmo e in scala di varianza dei geni (asse x) caratteristici degli stati delle cellule stromali identificati (asse y) nei dati scRNA-seq. **b** , Sono mostrati i dati di trascrittoma spaziale Visium e un'immagine H&E della stessa sezione di tessuto. Il colore spot indica la densità stimata dello stato cellulare per una popolazione cellulare specifica in ogni spot Visium come calcolato da cell2location. La mappatura spaziale delle popolazioni di cellule eStromali, dStromali precoci e dStromali medie è mostrata in una sezione di una biopsia dell'utero intero del donatore A13 (pannello superiore, fase proliferativa; un'immagine rappresentativa di $n = 2$ campioni indipendenti dallo stesso donatore), una sezione di una biopsia superficiale del donatore FX0033 (pannello centrale, fase secretoria precoce; un'immagine rappresentativa di $n = 2$ campioni biologicamente indipendenti) e una sezione di una biopsia dell'utero intero del donatore A30 (pannello inferiore, fase secretoria media; un'immagine rappresentativa di $n = 2$ campioni indipendenti dallo stesso donatore). La mappatura delle popolazioni di cellule epiteliali rilevanti per la fase del ciclo mestruale è mostrata anche nel pannello della composizione della nicchia. Barre di scala, 1 mm. **c** , Diagramma a punti che mostra l'espressione normalizzata, trasformata in logaritmo e su scala di varianza dei geni che codificano per i ligandi coinvolti nella segnalazione di TGF β , insulina, acido retinoico e WNT (asse x) negli stati delle cellule epiteliali e mesenchimali (asse y) nei dati scRNA-seq. **d** , Illustrazione schematica della complessità temporale delle cellule stromali endometriali e dei percorsi di segnalazione attraverso le fasi proliferative e secretorie. RA, acido retinoico.

I risultati attuali suggeriscono che questo processo può essere alterato nell'endometriosi. Tuttavia, le differenze osservate nell'espressione erano sottili (vale a dire, i singoli geni mostravano piccoli cambiamenti di piega probabilmente dovuti al loro contributo combinatorio), richiedendo ulteriore convalida. Il coinvolgimento dei percorsi WNT e insulina nelle risposte cellulari mediate dal progesterone potrebbe ora essere testato utilizzando modelli tridimensionali in vitro dell'endometrio che comprendono sia cellule stromali che epiteliali

In sintesi, l'HECA è un atlante di riferimento integrato su larga scala dell'endometrio umano, che fornisce un quadro concettuale su cui possono essere costruiti studi futuri. Con tutte le risorse disponibili al pubblico in un formato interattivo di facile accesso, l'HECA offre una piattaforma/strumento per far progredire la ricerca sulla fisiologia e i disturbi dell'endometrio, nonché per guidare lo sviluppo di sistemi modello in vitro fisiologicamente rilevanti dell'endometrio umano.