

Atlas transcriptómico de célula única del endometrio humano durante el ciclo menstrual

Single-cell transcriptomic atlas of the human endometrium during the menstrual cycle

Wanxin Wang, Felipe Vilella, Pilar Alama, Inmaculada Moreno, Marco Mignardi, Alina Isakova, Wenying Pan, Carlos Simon y Stephen R. Quake

Nature Medicine 2020 Oct;26(10):1644-1653. www.nature.com/naturemedicine

RESUMEN

Durante el ciclo menstrual humano el endometrio sufre remodelación, descamación y regeneración, todos procesos regulados por cambios sustanciales en la expresión génica en la jerarquía celular subyacente. A pesar de su importancia en la fertilidad humana y en la biología regenerativa, nuestro entendimiento de este tipo único de homeostasis tisular permanece rudimentario. Nosotros caracterizamos la transformación transcriptómica del endometrio humano con resolución de célula única durante el ciclo menstrual y diferenciamos la heterogeneidad celular en múltiples dimensiones. Caracterizamos el comportamiento de siete tipos celulares endometriales, incluido un tipo celular ciliado no caracterizado antes, durante cuatro fases de transformación endometrial, y encontramos firmas características para cada tipo y cada fase celular. Descubrimos que la ventana de implantación humana comienza con una abrupta y discontinua activación transcriptómica en el epitelio, acompañada de una decidualización extendida en los fibroblastos estromales. Nuestro estudio provee una caracterización molecular y celular de la transformación del endometrio humano en alta resolución, durante el ciclo menstrual y aporta nuevos conocimientos sobre este proceso fisiológico esencial.

COMENTARIO

Dra. Rosa Inés Barañao

IBYME-CONICET

En este complejo y extenso estudio, aprovechando la alta resolución de secuenciación del RNA (RNA-seq), se buscó desacoplar y definir los distintos tipos y estados de las células endometriales (con sesgo mínimo unicelular) durante el ciclo menstrual humano.

Los autores hallaron características moleculares de eventos distintivos como la ventana de implan-

tación (VDI), a la vez que demostraron una delimitación transcriptómica unicelular sistemática del endometrio. En el artículo muestran las variaciones en el estado, proliferación, diferenciación y transformación celulares que ocurren en el endometrio durante las distintas fases del ciclo.

Es un hecho conocido que, en un ciclo menstrual humano, el endometrio sufre remodelación, desprendimiento y regeneración, lo cual implica cambios de expresión génica en los distintos tipos celulares que lo componen. Sin embargo, a pesar de su importancia en la fertilidad humana y en la biología regenerativa, hasta el momento la comprensión de este tipo único de homeostasis tisular es bastante limitada. Por ello, el objetivo de este estudio fue caracterizar la transformación del endometrio a través del ciclo menstrual natural humano y, para ello, se recogieron biopsias endometriales de 19 donantes de óvulos sanas (entre los días 4 y 27 después del inicio del sangrado menstrual). Todas las mujeres tenían ciclos menstruales regulares cuando se tomaron las biopsias, sin influencia de hormonas exógenas o de patología ginecológica. Se capturaron células individuales y, mediante estudios de expresión génica, se evaluaron los genes expresados diferencialmente para cada tipo y estado celular.

En el trabajo se caracterizaron siete tipos de células endometriales, incluido un tipo de célula antes no caracterizado, la célula ciliada, durante cuatro fases principales de la transformación endometrial, y se hallaron marcas características para cada tipo y fase celular. Los siete tipos de células son: fibroblastos estromales, células epiteliales no ciliadas (glandulares), epiteliales no ciliadas (luminales), epiteliales ciladas, linfocitos, endoteliales, macrófagos y células de músculo liso. Tomando como referencia los dos tipos celulares principales que contribuyen al endometrio en transformación (las epiteliales no ciliadas y los fibroblastos estromales), los resultados revelaron cuatro fases principales, con lo cual se demostró que la

transformación del endometrio humano consta de cuatro fases a lo largo del ciclo menstrual.

Desde su formalización en la década de 1950, se han caracterizado histológicamente las fases endometriales como fase proliferativa y fase secretora (temprana, media y tardía), y se han utilizado como el criterio de referencia para determinar el estado endometrial.

Sin embargo, en este trabajo, sobre la base de que la mitosis celular es una de las características más distintivas del endometrio en la fase proliferativa se evaluó el estado del ciclo celular durante el ciclo menstrual y se constató –tanto en las células epiteliales no ciliadas como en los fibroblastos estromales– que la división celular se elevó en las fases 1 y 2, y cesó en las fases posteriores. Este hecho indica que la transición de la fase proliferativa a la secretora ocurrió entre las fases 2 y 3. Además, con este límite identificado y el ancla proporcionada por la VDI, la fase 3 se puede asociar a la fase secretora temprana, y las fases 1 y 2 pueden identificarse como fase proliferativa temprana y tardía, respectivamente. Por lo tanto, los autores describen que a nivel transcriptómico, el endometrio proliferativo se puede dividir en dos fases distintas.

Se observó también que la VDI se abre con una abrupta y discontinua activación transcriptómica en epitelios no ciliados, acompañada de una transición más continua en los fibroblastos del estroma. Este hecho es muy importante, puesto que esta brusca transición sugiere que debería ser posible diagnosticar la apertura de la VDI con mayor precisión para la fertilización *in vitro* y la transferencia de embriones.

Asimismo, se halló que durante la VDI se produce una decidualización generalizada en los fibroblastos estromales.

También se corroboró que hay una interacción directa entre las células inmunocompetentes y las células del estroma endometrial, ya que los linfocitos infiltrantes cumplen una función esencial durante el embarazo, al actuar en la angiogénesis decidual y en la regulación de la invasión trofoblástica. Particularmente en este estudio, se advirtió que en el endometrio decidualizante, además de la presencia de linfocitos T, tiene lugar un aumento de la expresión de los marcadores característicos de las células NK (*natural killer cell*) uterinas y se expresa un repertorio más diverso de receptores activadores e inhibidores NK (NKR), responsables del reconocimiento de las moléculas de clase I del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).

Inversamente a lo que ocurre durante la apertura de la VDI, esta se cierra con transiciones transcriptómi-

cas continuas y, además, los reguladores transcripcionales son característicos en la apertura y en el cierre.

Lo destacable de este artículo es que, a diferencia de otros estudios recientes sobre el endometrio humano, limitados a la investigación de un solo tipo de célula o bien de estudios *in vitro* sobre muestras provenientes de una única paciente ginecológica, aquí se han realizado estudios moleculares de distintos tipos celulares de tejidos de un grupo de mujeres saludables y cada uno de los fenotipos biológicos informados fue apoyado por múltiples réplicas. Además, los datos se recopilaron en plataformas para controlar los artefactos técnicos.

Los autores demostraron la existencia de células epiteliales ciliadas que son transcriptómicamente distintas de las conocidas hasta el momento. Estas están constantemente presentes en el endometrio sano, pero su abundancia cambia de manera dinámica durante el ciclo menstrual. Si bien se ha especulado sobre la existencia de células ciliadas en el endometrio humano a partir de los estudios microscópicos desde fines del siglo XIX, hasta ahora no se contaba con una información precisa.

Aún no está claro cómo la decidualización que ocurre durante el ciclo natural se modifica durante el principio del embarazo, en especial si se tiene en cuenta que en el endometrio se produce una importante remodelación después de la implantación. Sin embargo, se muestran datos que indicarían la presencia de una jerarquía celular diferente de fibroblastos estromales decidualizantes en los ciclos naturales, menos heterogénea que la observada en el embarazo. Estos hallazgos apoyan el paradigma de que un embrión implantado impulsa aún más diferenciación en los subtipos de fibroblastos estromales.

En el futuro, será importante evaluar las características transcriptómicas e histológicas del endometrio durante la VDI para obtener una mayor comprensión de este evento.

En conclusión, este artículo muestra una caracterización molecular y celular de alta resolución de la transformación del endometrio humano a lo largo del ciclo menstrual; describe siete tipos de células endometriales, incluido un tipo de célula no caracterizada previamente, la célula ciliada, durante cuatro fases principales del ciclo menstrual, y refiere las características para cada tipo y fase celular. Los datos aportados proporcionan valiosos conocimientos acerca de este proceso fisiológico esencial, que pueden ser de utilidad en la clínica ginecológica y sientan las bases para realizar nuevos estudios sobre la fertilidad.