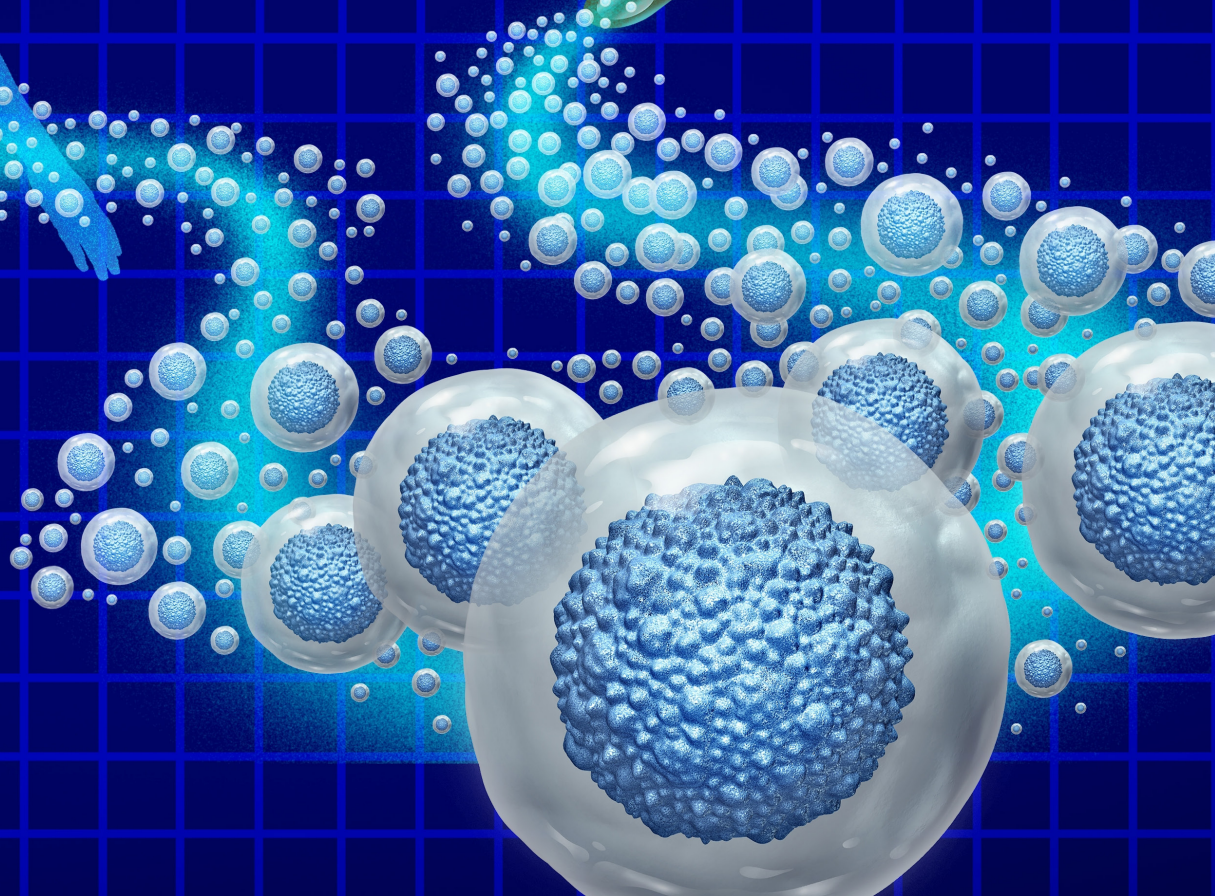
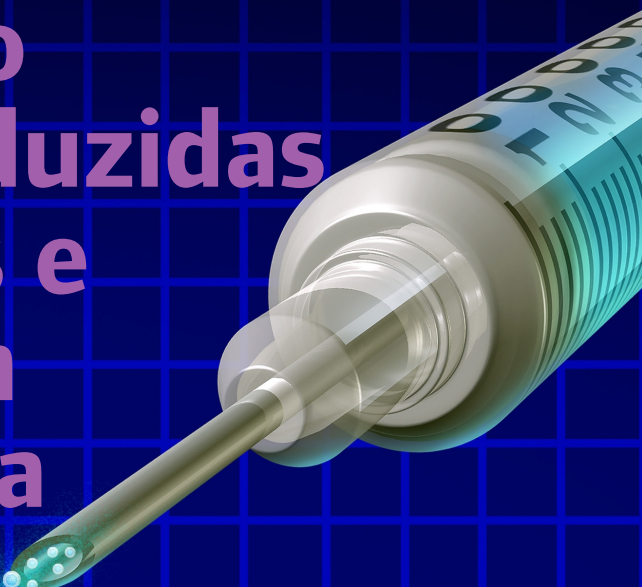
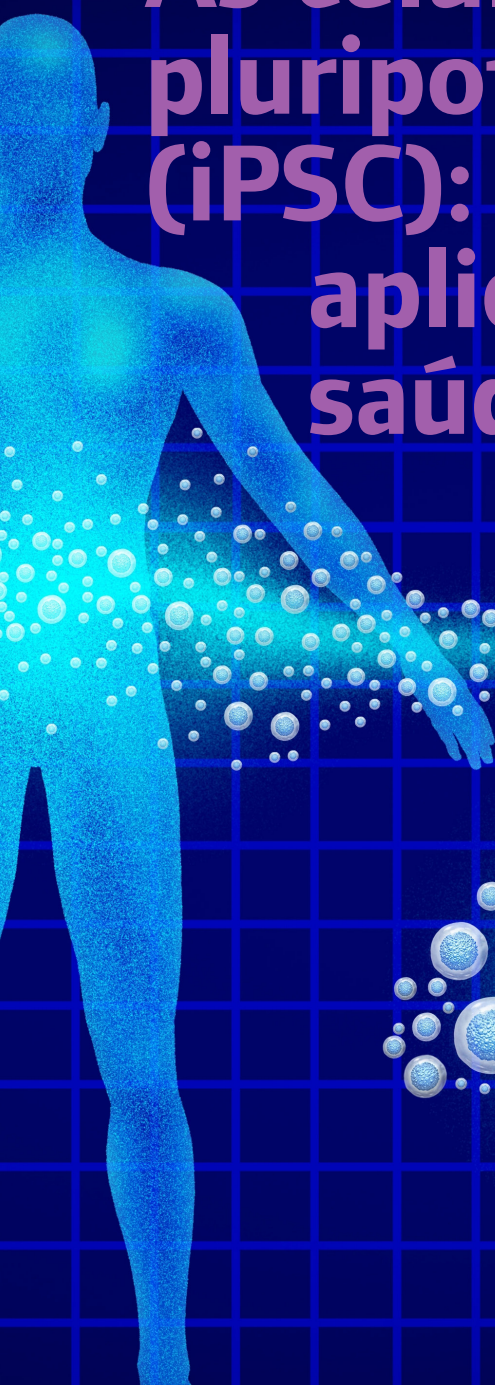


As células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC): conceitos e aplicações em saúde humana



**Beatriz Cristina de Oliveira^{1*}, Maísa Ganz Sanchez Sennes^{2*},
Ana Cristina Victorino Krepischi³, Laura Machado Lara Carvalho⁴**

¹Mestranda do Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo

²Doutoranda do Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo

³Docente do Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo

⁴Pós-doutoranda do Departamento de Genética e Biologia Evolutiva, Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo

*As autoras Beatriz Cristina de Oliveira e Maísa Ganz Sanchez Sennes contribuíram igualmente para o artigo.

Autor para correspondência - lauralara@usp.br

Palavras-chave: reprogramação celular, iPSC, células-tronco, doenças genéticas

Imagine um grupo de pesquisadores dedicados a estudar a síndrome de Down, condição genética causada pela presença de uma cópia extra do cromossomo 21. Para compreender melhor os mecanismos **neurológicos** da síndrome, é necessário analisar os neurônios e outros tipos celulares do cérebro dos pacientes. No entanto, como poderíamos obter essas células dos pacientes sem prejudicar seu bem-estar ou violar diretrizes éticas? Uma solução inovadora encontrada para estudar essa e outras doenças genéticas que afetam tecidos de difícil acesso é o uso de células-tronco de pluripotência induzida (iPSC, do inglês “*induced pluripotent stem cells*”), obtidas por meio de um processo chamado de reprogramação celular. Atualmente, essa técnica tem sido muito utilizada para estudar os tipos celulares relevantes para as mais diversas doenças e, em alguns casos, o desenvolvimento de tratamentos. Neste artigo, exploramos essa técnica e sua relevância, bem como suas aplicações.

Células-tronco – o que são?

Quando um espermatozoide fecunda o ovócito, forma-se o zigoto, a primeira célula de um novo indivíduo que, após uma série de divisões celulares concomitantes ao processo de diferenciação celular, dará origem às trilhões de células do corpo. A informação genética contida no DNA do zigoto carrega as instruções para a geração e o funcionamento de todos os tipos celulares. À medida que as divisões celulares ocorrem, as células vão se diferenciando e se especializando em tipos diferentes, como os neurônios (um dos tipos celulares do sistema nervoso central), os fibroblastos (células de sustentação da pele e dos tendões), os hepatócitos (células do fígado) e outros. Esse processo é chamado de diferenciação celular.

Embora todas as células de um indivíduo contenham o mesmo conjunto de informações genéticas, registrado no DNA, elas não utilizam todas essas informações ao mesmo tempo. O DNA pode ser imaginado como um grande manual de instruções, porém cada tipo celular “lê” capítulos diferentes desse manual. Cada capítulo corresponde a um

conjunto de genes, que podem estar ativados ou inativados num determinado tipo de célula. Essa seleção de quais genes são utilizados determina quais funções a célula poderá exercer. Assim, o padrão de genes ativos em cada célula define sua identidade molecular e explica como células tão diferentes, como neurônios e células do fígado, podem se formar a partir das mesmas informações contidas no DNA do zigoto.

Uma célula diferenciada possui funções especializadas, bem como aparência característica, e perde a capacidade de dar origem a outros tipos celulares. Quanto menos diferenciada é uma célula, maior é sua **plasticidade**, ou seja, mais variados são seus possíveis destinos de diferenciação. Tais células, com capacidade de diferenciação, são chamadas de células-tronco. Para saber mais sobre esses e outros tipos de células-tronco, consulte publicações anteriores desta revista: Mingroni Netto, R. C., & Dessen, E. M. B. (2006). Células tronco: o que são e o que serão?. *Genética Na Escola*, 1(1), 12–15. <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2006.4>; Nardi, N. B. (2007). Células tronco: fatos, ficção e futuro. *Genética Na Escola*, 2(2), 25–29. <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2007.43>.

Neurológicos - Referente ao sistema nervoso. Condições neurológicas podem afetar a aprendizagem, o comportamento e outras funções do corpo.

Plasticidade - Capacidade de uma célula de mudar seu tipo e função em resposta a sinais do ambiente. Essa flexibilidade é essencial em processos como regeneração e reprogramação celular.

Células-tronco pluripotentes – o que são?

Durante o desenvolvimento embrionário inicial, as primeiras células-tronco são as totipotentes, assim chamadas por terem capacidade de se diferenciarem em qualquer tipo celular, incluindo os tecidos embrionários e extraembrionários. Entre o quinto e

o sétimo dia após a fecundação do ovócito humano, forma-se uma estrutura chamada de blastocisto, que tem uma camada externa, o trofoblasto, e uma massa celular interna, o embrioblasto (Figura 1). Enquanto o trofoblasto dará origem aos **anexos embrionários**, o embrioblasto dará origem ao embrião.

As células do embrioblasto são células-tronco chamadas de pluripotentes, capazes de se diferenciar em qualquer tipo celular do embrião e do indivíduo adulto, mas não dos anexos embrionários.

Anexos embrionários -

Estruturas formadas durante o desenvolvimento do embrião que não fazem parte do corpo do futuro organismo, como a placenta, o saco vitelino e o âmnio. Eles ajudam na nutrição, proteção e troca de substâncias.

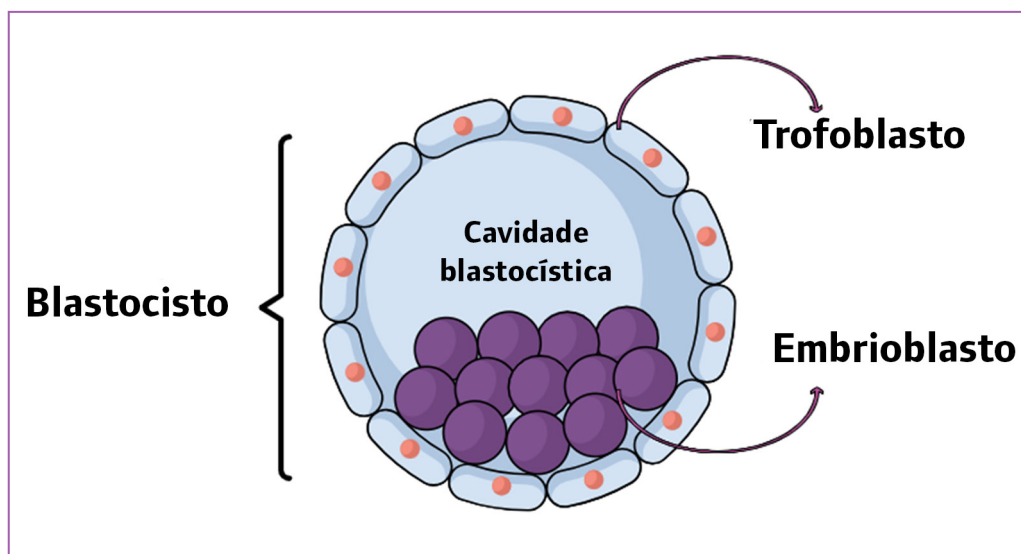


Figura 1.

Estrutura do blastocisto humano. Esquema ilustrativo do blastocisto, estágio embrionário precoce, destacando três componentes principais: cavidade blastocística, trofoblasto e embrioblasto.

O processo de diferenciação celular ocorre em resposta a sinais do ambiente ao redor da célula. Esses sinais são mediados por morfógenos, moléculas produzidas e liberadas por células específicas durante o desenvolvimento embrionário que orientam a formação dos diferentes tipos celulares. Os morfógenos podem ser moléculas de diferentes tipos: proteínas, lipídeos ou derivados de vitaminas. A sua ação varia em função do tipo de molécula e da sua concentração no **microambiente**. Esses fatores determinam como cada célula interpreta o sinal recebido, e, em resposta,

ativa ou silencia genes específicos por meio de **cascatas de sinalização**.

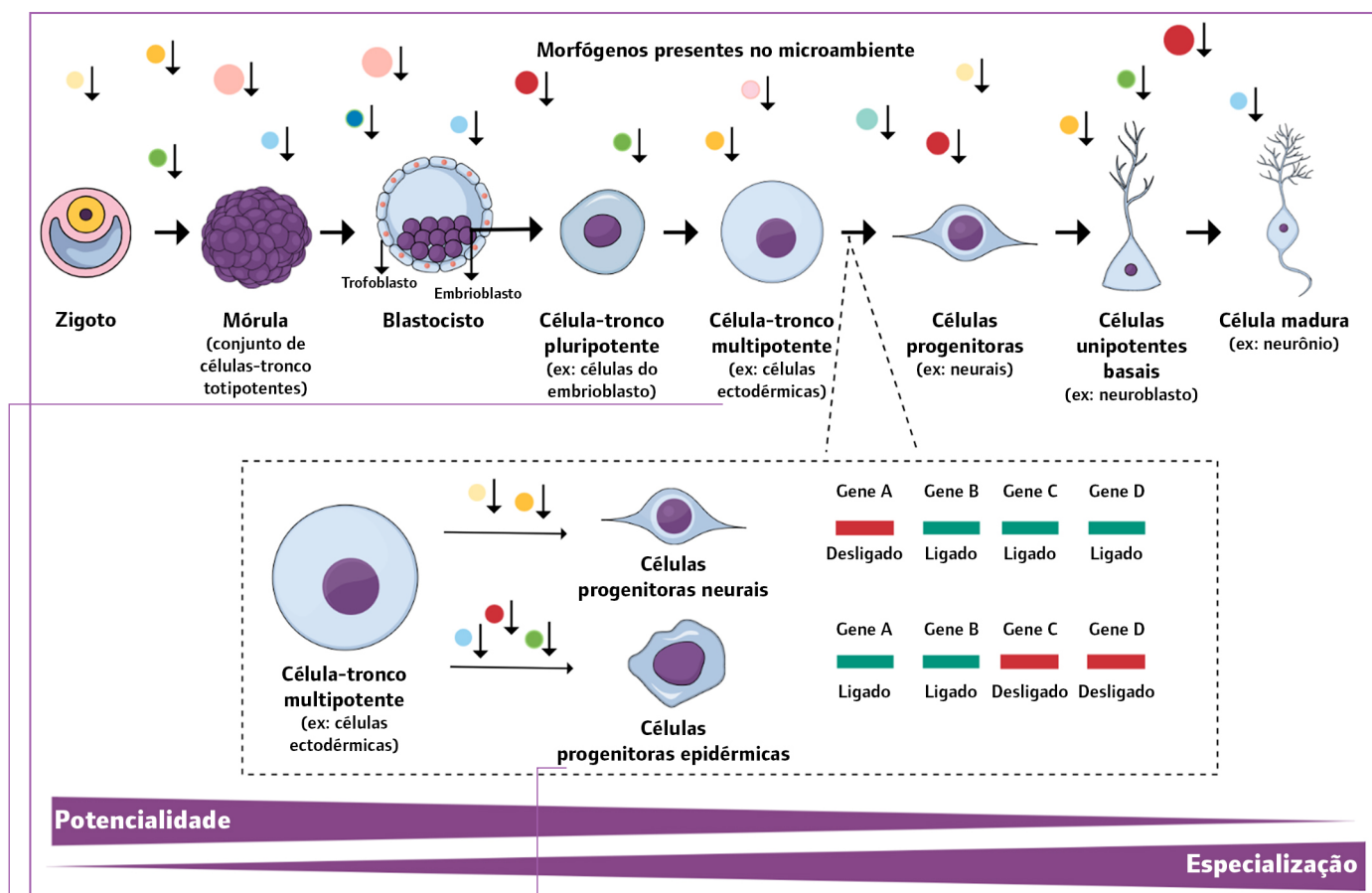
Essas cascatas levam à ativação de fatores de transcrição, proteínas celulares que controlam quais genes são ativados ou inibidos, funcionando como “interruptores” que determinam o destino da célula. Células expostas a níveis diferentes de um mesmo morfógeno podem ativar conjuntos distintos de fatores de transcrição, o que resulta na ativação de diferentes genes e, consequentemente, na especialização celular e na formação organizada de tecidos durante o desenvolvimento embrionário (Figura 2).

Cascata de sinalização -

Sequência de reações dentro da célula iniciadas por um sinal (ex.: morfógeno) que gera uma resposta, como ligar/desligar genes e orientar a diferenciação celular

Microambiente -

Fatores físicos, químicos e biológicos ao redor das células que influenciam seu comportamento. Incluem temperatura, pH, nutrientes, sinais moleculares e interação com outras células.



Ectodérmicas - dão origem a células da pele, sistema nervoso e olhos, por exemplo.

Progenitoras epidérmicas - originam células da pele.

Figura 2. Os tipos de células-tronco e a progressão da diferenciação celular. Estágios de especialização celular a partir de uma célula-tronco totipotente, passando pela pluripotência, multipotência e progenitoras, até alcançar células maduras ou diferenciadas. O microambiente é ilustrado com morfógenos, cuja variabilidade é representada por círculos preenchidos por cores diferentes, que determinam ativação ou silenciamento gênico. A trajetória indica o aumento da especialização e a redução da potencialidade conforme o processo de diferenciação avança. Note que a diferenciação ocorre concomitante com divisões celulares, gerando células em estágios progressivos de uma via de diferenciação celular.

Células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC)

Como antes mencionado, a diferenciação resulta em tipos celulares especializados, que já não têm a plasticidade necessária para dar origem a células diferentes. Contudo, em ambientes laboratoriais, é possível “desdiferenciar” uma célula somática, induzindo seu retorno ao estado de célula-tronco pluripotente, com capacidade de se transformar em vários tipos de células diferentes. Esse processo é chamado de reprogramação celular e as células pluripotentes resultantes são chamadas de células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC, do inglês *induced pluripotent stem cells*), por ter sido um processo realizado em laboratório; em outras palavras, um processo artificial.

O modelo de Waddington

O modelo de Waddington (Figura 3) ilustra o fenômeno da diferenciação celular e os estágios de plasticidade. Ao propor que as células podem ser vistas como navegantes em um terreno topográfico com diferentes “vales”, ele cria uma metáfora visual fundamental para compreender como as células se diferenciam durante o desenvolvimento, apesar de carregarem a mesma informação genética. Nos vales inferiores estão as células diferenciadas, como neurônios, células cardíacas e outras linhagens especializadas, enquanto as elevações no terreno refletem estados anteriores, ou seja, com capacidade de se diferenciar em múltiplos tipos celulares.

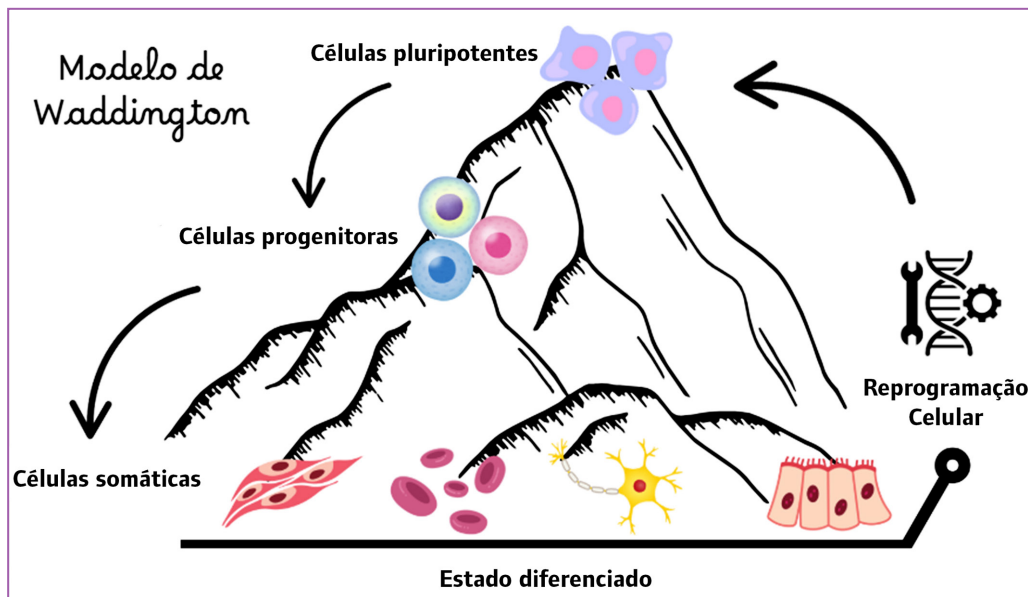


Figura 3. Esquema representativo do modelo de Waddington: a paisagem da diferenciação celular. Proposto por Conrad Waddington, este modelo retrata o desenvolvimento celular como uma bola rolando por uma colina com diversos caminhos possíveis (ou vales), representando os potenciais destinos celulares. À medida que a célula se especializa, seu caminho se torna cada vez mais restrito. A reprogramação celular “empurra” ou encaminha essas células de volta à parte superior da colina, restaurando a pluripotência.

Proposto na década de 1950, o modelo de Waddington surgiu do interesse em entender como os processos de diferenciação acontecem ao nível celular. De acordo com esse modelo, existem vários caminhos que uma célula pode tomar ao longo de sua jornada de desenvolvimento. Inicialmente, as células pluripotentes têm capacidade de seguir múltiplos caminhos ou vias de diferenciação; no entanto, à medida que se “movimentam” em direção à base do terreno, suas opções se restringem de forma unidirecional, sem retorno natural.

Com a reprogramação celular para obter iPSC, as células somáticas retomam o estado pluripotente, isto é, voltam ao topo do terreno no modelo de Waddington. Com a retomada do potencial de diferenciação, as iPSC podem originar uma ampla gama de tipos celulares, dependendo das condições do microambiente.

Breve histórico da técnica de reprogramação celular

A reprogramação celular começou a ganhar destaque em 1962, quando John Gurdon substituiu o núcleo de um ovócito de rã fer-

tilizado pelo núcleo de uma célula intestinal de girino e observou o desenvolvimento normal do embrião, originando uma nova rã. Esse experimento mostrou que a especialização celular não era irreversível e que a célula somática proveniente do intestino de girino ainda continha toda a informação genética de uma célula-tronco, contrariando o pensamento dominante da época. Décadas depois, em 1996, Ian Wilmut comprovou que a “desdiferenciação” de células somáticas também ocorria em mamíferos ao clonar a ovelha Dolly, utilizando o núcleo de uma célula adulta de glândula mamária. A clonagem de Dolly reforçou a ideia de que o núcleo de uma célula diferenciada ainda possui todo o potencial genético para gerar um organismo completo.

Esses dois marcos - o de Gurdon com anfíbios e o de Wilmut com mamíferos - foram fundamentais para impulsionar a busca pelos fatores moleculares responsáveis pela reprogramação celular. Em 2006, Shinya Yamanaka e sua equipe publicaram um artigo descrevendo, pela primeira vez, a obtenção de iPSC a partir de fibroblastos de camundongos. Eles identificaram quatro fatores de transcrição (Oct3/4, Sox2, Klf4 e c-Myc) capazes de induzir o estado pluripotente em células somáticas, os chamados fatores de Yamanaka. Quando se induz a produção destes fatores dentro de uma célula diferenciada, ela volta ao estado pluripotente.

Os fatores de Yamanaka são codificados por genes que estão naturalmente ativos apenas no início das vias de diferenciação celular. Oct3/4 e Sox2 são essenciais para manutenção da pluripotência celular, controlando a expressão de diversos genes associados ao desenvolvimento embrionário. Klf4 e c-Myc estão associados com a proliferação celular, criando um equilíbrio entre ativação e supressão dessa via, importante para gerar as iPSC. Em 2007, o mesmo grupo descreveu a obtenção de iPSC a partir de fibroblastos humanos (Figura 4).

O trabalho de Yamanaka, assim como as contribuições significativas de John Gurdon na área de células-tronco, foi reconhecido em 2012 com o Prêmio Nobel de Medicina e Fisiologia (Figura 4). Essa premiação ressalta a importância do desenvolvimento da técnica de reprogramação celular, que não só desafiou o **paradigma** unidirecional de plasticidade celular, como também marcou um avanço significativo na pesquisa sobre células-tronco.

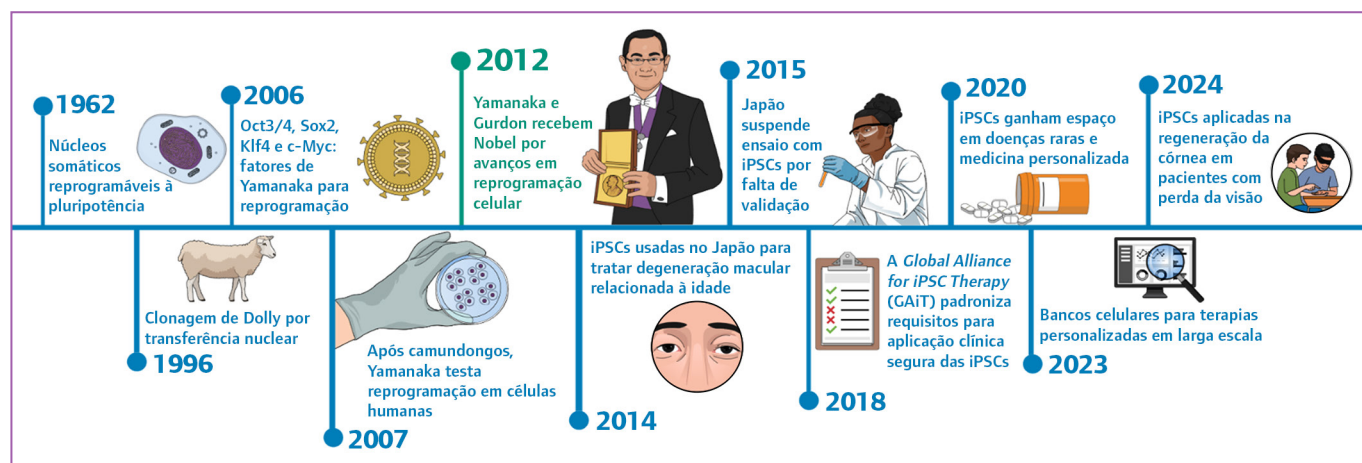
A partir de 2012, a trajetória avançou rapidamente, consolidando-se como uma

das frentes mais promissoras das ciências biomédicas. Em 2015, no Japão, pesquisadores realizaram a primeira aplicação clínica das iPSC no tratamento da degeneração macular relacionada à idade - uma condição que afeta a parte central da retina e pode causar perda de visão em pessoas mais velhas.

No entanto, esse ensaio foi posteriormente suspenso devido à necessidade de validações mais robustas a longo prazo, evidenciando os desafios éticos e técnicos envolvidos na aplicação terapêutica das iPSC. Em resposta à crescente demanda por segurança e padronização, a *Global Alliance for iPSC Therapy* (GAIiT) foi criada com o objetivo de estabelecer critérios de qualidade para o uso clínico dessas células.

Paralelamente, o uso de iPSC para estudo de doenças e teste de medicamentos aumentou significativamente. Por fim, em 2024, tivemos a utilização bem-sucedida de iPSC para regenerar a córnea de quatro pacientes com deficiência visual, demonstrando seu potencial de aplicação clínica.

Paradigma - Modelo ou ideia amplamente aceita pela comunidade científica, mas que pode ser transformado ou substituído à luz de novos conhecimentos sobre o fenômeno.



Do ponto de vista ético, a técnica de reprogramação celular representou uma verdadeira revolução. Antes da utilização dessa metodologia, a obtenção de células-tronco pluripotentes exigia a retirada da massa celular interna de blastocistos (Figura 1) de embriões humanos, uma prática que levantava debates sobre o uso de embriões em pesquisa. Os críticos argumentavam que esse procedimento implicava a destruição de uma poten-

cial vida humana, suscitando objeções de ordem moral, filosófica e religiosa. A obtenção de células adultas reprogramadas contornou esse dilema, oferecendo uma alternativa capaz de fornecer células-tronco pluripotentes sem a necessidade de embriões. Ao se criar uma alternativa eticamente aceitável para a obtenção de células pluripotentes, ampliou-se significativamente as possibilidades de pesquisas nessa área.

Figura 4. Marcos nos avanços técnicos relacionados à reprogramação celular e suas aplicações. Na figura estão contemplados alguns dos principais marcos na história da reprogramação celular no que diz respeito aos avanços técnicos e aplicações.

A diversificação de protocolos de reprogramação celular

A reprogramação celular para obtenção de iPSC se inicia com a coleta de células somáticas de doadores (indivíduos que podem

ou não apresentar alguma doença). Já foram descritos protocolos de reprogramação utilizando muitos tipos celulares diferentes (Figura 5), como células do sangue, do rim (presentes na urina), dos dentes de leite e outras. Uma vez obtidas, os fatores de Yamanaka devem ser introduzidos nas células. Isso pode ser feito de diferentes formas: por **vetores virais**, por **plasmídeos** de DNA, na forma de RNAm ou **proteínas recombinantes**.

Protocolos - Conjunto de etapas padronizadas que orientam experimentos ou procedimentos laboratoriais. No contexto de iPSC, são usados para guiar a reprogramação, o cultivo e a diferenciação celular.

Vetores virais - Vírus modificados que introduzem nas células sequências de DNA com instruções para produção dos fatores de interesse pela própria célula.

Plasmídeos - DNA circular, originalmente presente em bactérias, usado em engenharia genética para carregar genes com instruções para produção de fatores de interesse em outras células.

Proteínas recombinantes - Proteínas produzidas e purificadas em laboratório, que depois podem ser diretamente introduzidas nas células. Em reprogramação celular, essa abordagem elimina a necessidade de transcrição ou tradução, pois as proteínas são fornecidas diretamente.

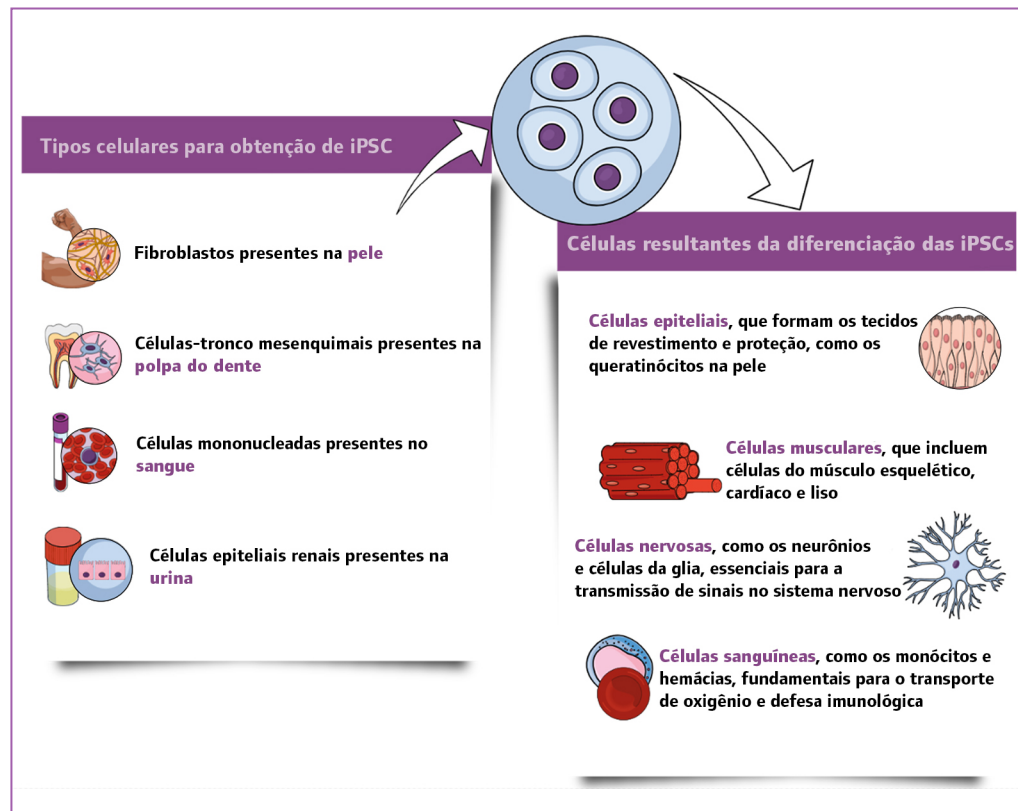


Figura 5. Origem e destino das iPSC. Diferentes tipos de células do corpo, como fibroblastos da pele, células da polpa dentária, do sangue ou até da urina, podem ser reprogramadas em laboratório para obter iPSC e depois ser diferenciadas no tipo celular de interesse.

Alternativas aos fatores de Yamanaka foram propostas por outros pesquisadores, com adição ou substituição de alguns fatores de transcrição usados no processo original de reprogramação. Esses conjuntos alternativos de fatores ficaram conhecidos como fatores de Thomson (SOX2, OCT3, LIN28 e NANOG) e fatores de Okita (OCT3-4, SOX2, KLF4, L-MYC e LIN28), que também são capazes de reprogramar células somáticas em iPSC. A retirada de c-MYC em ambos os

trabalhos reduziu o risco de formação de tumores, morte celular e diferenciação celular indesejada. A inclusão de NANOG, associado à proliferação celular, e LIN28 e L-MYC, ambos importantes para a manutenção da pluripotência, contribuiu para aumento da eficiência do processo de reprogramação, com redução nas taxas de morte celular. No estudo de Thomson, os quatro fatores descritos foram suficientes para a reprogramação, sem necessidade de adição de KLF4.

Como diferenciar células em laboratório?

Para a diferenciação celular em laboratório, as células são colocadas em um microambiente controlado que imita os sinais do desenvolvimento embrionário. São ajustados diversos fatores: a composição do meio de cultura, a superfície de adesão celular e são adicionadas proteínas chamadas fatores de crescimento. Esses fatores incluem moléculas sinalizadoras que, em certas condições, funcionam como os morfógenos citados anteriormente. Ou seja, os morfógenos podem ser adicionados ao meio pelos pesquisadores.

Existem protocolos bem definidos para converter iPSC em diferentes tipos celulares, como neurônios ou células do fígado. Durante esse processo, as células passam por etapas que imitam o desenvolvimento natural do organismo. Ao final, é necessário verificar se a diferenciação foi bem-sucedida, avaliando a forma das células, como elas funcionam, e se estão produzindo proteínas específicas daquele tipo celular - os chamados **marcadores celulares**.

Quais são as aplicações dos estudos com iPSC?

Conforme ilustrado na Figura 6, uma aplicação das iPSC muito importante para a pesquisa atualmente é a modelagem de doenças genéticas, ou seja, o uso de células derivadas de pacientes como modelos biológicos para estudar essas doenças em laboratório. As células desses indivíduos apresentam mutações que causam a doença (mutações causais) e que são preservadas ao longo de todo o processo de reprogramação celular. Com isso, é possível diferenciar as iPSC em células de

diferentes tecidos, a depender do objetivo da pesquisa, de modo que as células obtidas ao final também carregam as mesmas mutações causais. Assim, os cientistas podem estudar as doenças a partir de células representativas do tecido afetado na pessoa.

Por exemplo, para entender os mecanismos genéticos que causam a síndrome de Down, na qual os indivíduos afetados apresentam **deficiência intelectual**, é importante que os pesquisadores estudem os neurônios desses pacientes. Para isso, é possível obter células de sangue dos pacientes, reprogramá-las em iPSC e, em seguida, diferenciá-las em neurônios. Essas células finais terão as mesmas características genéticas dos pacientes, funcionando como modelos da síndrome.

As iPSC também abriram um novo horizonte para as **terapias celulares e regenerativas**. Por exemplo, em doenças como diabetes tipo 1 ou doenças cardíacas, as iPSC são geradas a partir de células dos pacientes e diferenciadas em células funcionais para serem transplantadas de volta ao mesmo indivíduo, com a finalidade de reparar ou substituir o tecido danificado pela doença genética. Ou seja, elas permitem que a abordagem dos tratamentos seja individual para cada paciente, uma área da saúde chamada de medicina personalizada.

Outra aplicação importante das iPSC é no teste de compostos farmacêuticos. Antes de serem disponibilizados à população, esses compostos devem ser avaliados em animais e em humanos para garantir sua eficácia e segurança. Com as iPSC, foi possível adicionar uma etapa anterior: os testes podem ser feitos diretamente em células humanas do tecido-alvo da terapia. Ademais, como as iPSC podem ser derivadas de células somáticas do próprio paciente, testes farmacológicos podem revelar como um indivíduo específico reage a determinado tratamento, sendo particularmente útil para o tratamento de **doenças complexas** e heterogêneas, cuja resposta é variável em diferentes indivíduos.

Deficiência intelectual

- Limitações significativas no funcionamento intelectual (como raciocínio e aprendizagem) e nas habilidades adaptativas, como comunicação, autocuidado, interação social e tomada de decisões. Para saber mais: TOLEZANO, G. C., CARVALHO, L. M. L., KREPISCHI, A. C. V., & ROSENBERG, C. (2020). Inteligência e deficiência intelectual: bases genéticas e fatores ambientais. *Genética Na Escola*, 15(1), 18–25. <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2020.332>

Terapias celulares e regenerativas

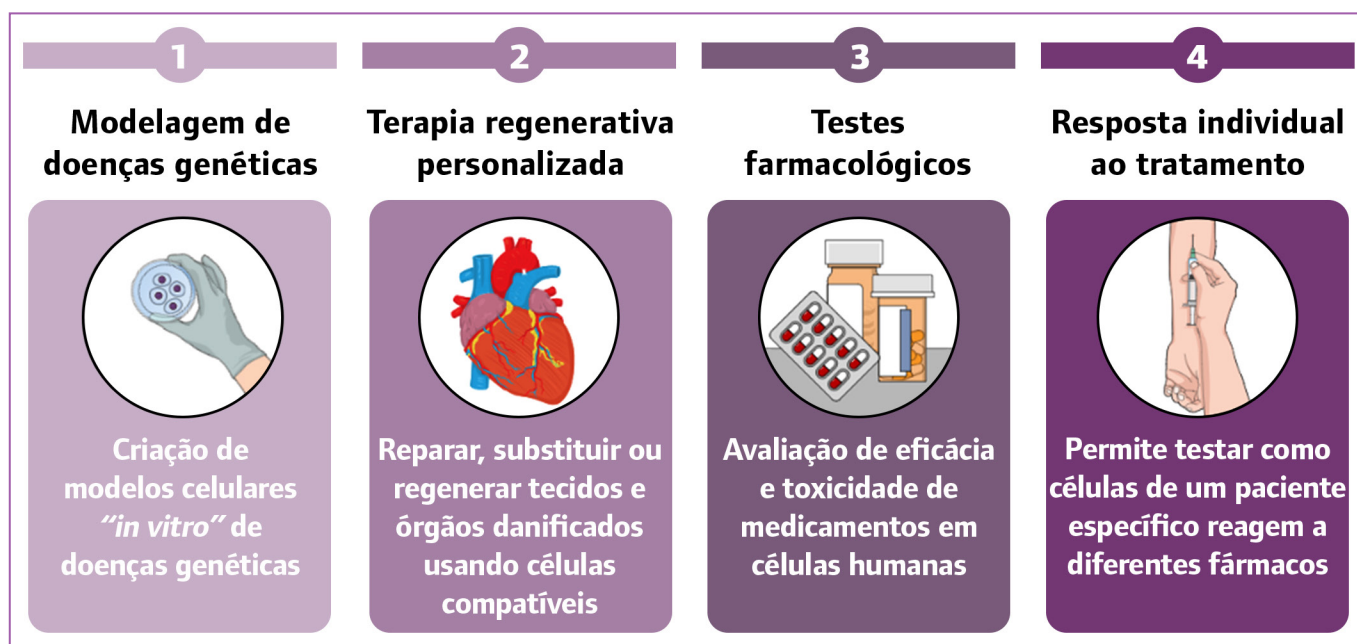
- Técnicas que utilizam células para reparar, substituir ou regenerar tecidos danificados, como no uso de células-tronco.

Marcadores celulares

- Moléculas que permitem aos pesquisadores identificar células, tecidos ou processos biológicos específicos.

Doenças complexas

- Condições causadas por múltiplos fatores genéticos e ambientais. Diferente das doenças monogênicas (causadas por um único gene), as complexas envolvem vários genes e influências externas, como estilo de vida, alimentação, exposição a toxinas etc.



Por que as iPSC ainda não são amplamente utilizadas em tratamentos?

O desenvolvimento das iPSC foi uma verdadeira revolução no âmbito das terapias. Por exemplo, o fato de serem geradas a partir das células do paciente reduz consideravelmente a chance de rejeição imunológica, no caso de terapias que retornam as células (após modificação) ao mesmo indivíduo. As iPSC também representam ferramentas promissoras para o teste de fármacos. Entretanto, seu uso enfrenta limitações expressivas. O processo de reprogramação celular é complexo, com baixa eficiência e há a tendência de gerar populações celulares heterogêneas, dificultando sua aplicação terapêutica. Além disso, a produção de iPSC exige etapas prolongadas e técnicas refinadas, o que resulta em alto custo e limitações para uso em larga escala. A padronização dos protocolos permanece um desafio técnico, afetando a reprodutibilidade entre laboratórios.

Para saber mais

G1 - Fantástico. Experimento de cientistas brasileiros leva minicérebros à Estação Espacial Internacional. G1, 28 jul. 2019. Disponível em: <https://g1.globo.com/fantastico/noticia/2019/07/28/experimento-de-cientistas-brasileiros-leva-minicerebros-a-estacao-espacial-internacional.ghtml>.

NARDI, N. B. Células-tronco: fatos, ficção e futuro. *Genética na Escola*, v. 2, n. 2, p. 25–29, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.55838/1980-3540.ge.2007.43>

PEREIRA, L. da V. *Células-tronco: Promessas e realidades*. 1. ed. São Paulo: Moderna Literatura (Moderna – Literatura), 2013. 120 p. ISBN 978-85-1608-508-7.

TAKAHASHI, K.; YAMANAKA, S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*, v. 126, n. 4, p. 663–676, 2006. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18035408>.

Financiamento

As autoras são gratas às agências de fomento que financiam seus estudos: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo - FAPESP (2025/00171-7, 2024/20118-0, 2023/09879-7 e 2022/03980-5) e Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES (88887.110909/2025-00).

Figura 6.

Aplicações biomédicas das células-tronco pluripotentes induzidas (iPSC).