

Reprogramação celular para obtenção de células-tronco pluripotentes induzidas e sua aplicação na herança genética.

Cellular reprogramming to provide pluripotent stem cells and their application in genetic inheritance.

Rhuan Carlos Coelho Guimarães

Graduando do Curso de Ciências Biológicas do Centro Universitário São Jose.

Luã Cardoso de Oliveira

Prof. Dr. Pesquisa Clínica em Doenças Infecciosas pela Fundação Oswaldo Cruz

RESUMO

Há alguns anos, em 2006 Yamanaka e colaboradores identificaram células com grande potencial para expressão gênica. Semelhantes a células troncos embrionárias poderiam ser geradas in vitro. A terapia genética entre suas possibilidades, possui a capacidade de melhorar ou auxiliar geneticamente o indivíduo por meio de correções de genes alterados, que tenham como objetivo o tratamento terapêutico visando melhores condições. Esse trabalho tem como objetivo revisar e descrever como as células de pluripotência induzida podem contribuir na herança genética. Para a revisão foram utilizadas as bases de dados *Scielo*, *Clinical trials* e *Pubmed* com os descritores: *induced pluripotent stem cell*, *cell reprogramming*, *genetic inheritance* e *gene editing*. Foi utilizado o filtro entre os anos de 2018 e 2024. O avanço das técnicas de edição de gene tornou possível as alterações no genoma das células, o que permitiu a correção de mutações herdadas em pacientes com doenças monogênicas. Com o potencial uso de *IPSC* na medicina regenerativa, para substituir, auxiliar tecidos danificados e ativar processos regenerativos endógenos, pode ser considerar uma promissora aplicação para superar tais problemas. Na abordagem da modelagem de doenças genéticas hereditárias, todo tipo de célula obtida poderá ser utilizado para a reprogramação celular, devido conter as mutações causadoras de doenças. Entretanto, será escolhida a célula principalmente pela disponibilidade e cultivo do tecido. Na abordagem de doenças ocasionadas por mutações em células somáticas e na linhagem não, o tipo de célula utilizado para a reprogramação é a célula de origem da doença e suas descendentes. Com base nas informações desenvolvidas ao longo do trabalho, pôde-se concluir que o avanço das tecnologias que possibilitam o tratamento é de grande valia para a população e pode ser utilizada para o auxílio de condições que antes eram vistas como incuráveis por exemplo, distúrbios genéticos e doenças hereditárias.

Palavras-chave: *induced pluripotent stem cell*, *cell reprogrammin* e *genetic inheritance*

ABSTRACT

A few years ago, in 2006, Yamanaka and collaborators identified cells with significant potential for gene expression. Similar to embryonic stem cells, these could be generated in vitro. Gene therapy, among its various possibilities, has the capacity to genetically improve or assist individuals by correcting altered genes, aiming for therapeutic treatments and better health conditions. This study aims to review and describe how induced pluripotent stem cells (iPSCs) can contribute to genetic inheritance. For this review, databases such as Scielo, Clinical Trials, and PubMed were used with the descriptors: induced pluripotent stem cell, cell reprogramming, genetic inheritance, and gene editing. The filter applied covered the years from 2018 to 2024. The advancement of gene editing techniques has made it possible to alter cell genomes, allowing the correction of inherited mutations in patients with monogenic diseases. With the potential use of iPSCs in regenerative medicine to replace or assist damaged tissues and activate endogenous regenerative processes, this represents a promising application to address such problems. In the approach to modeling hereditary genetic diseases, any type of obtained cell can be used for cell reprogramming, as they contain the disease-causing mutations. However, cells will be chosen mainly based on the availability and cultivation of the tissue. In the approach to diseases caused by mutations in somatic cells and the germline, the type of cell used for reprogramming is the cell of origin of the disease and its descendants. Based on the information developed throughout this study, it can be concluded that advancements in technologies that enable treatment are of great value to the population and can be used to assist with conditions previously deemed incurable, such as genetic disorders and hereditary diseases.

Keywords: induced pluripotent stem cell, cell reprogramming and genetic inheritance

INTRODUÇÃO:

Nos últimos anos, na área da biologia molecular, um dos assuntos muito discutidos é sobre a reprogramação de células tronco induzidas (*Induced Pluripotent Stem Cell* termo na língua inglesa para *IPSC*) e seus benefícios (TAKAHASHI et al., 2007).

Pode se dizer que as células tronco se destacam pelo fato de transformar-se em diversos tipos de celulares, assim, possuindo grande capacidade de auto renovação, originar linhagens de células mais especializadas, proliferação, entre outros. As células tronco estão presente em embriões e em alguns casos em adultos (PEREIRA, L. V, 2008).

Há alguns anos, em 2006 Yamanaka e colaboradores identificaram células com grande potencial para expressão gênica. Essas, eram semelhantes a células troncos embrionárias, que poderiam ser geradas in vitro a partir de células somáticas, misturando quatro fatores conhecidos como “fatores Yamanaka”. Essas células geradas foram chamadas de *Induced Pluripotent Stem Cell (IPSC)*.

As pesquisas com *IPSC* ao longo dos anos foram evoluindo e atualmente, é discutido que ainda há muito o que explorar. Contudo, estudos mostram que a aplicação pode ser feita em várias áreas da saúde, como medicina regenerativa, descoberta de medicamentos, modelagem de doenças, entre outros (SHI, YANHONG, et al., 2017).

O tipo de célula utilizado é um aspecto importante devido a capacidade de interferir diretamente na eficiência do processo, assim deverá ser considerado a suscetibilidade a reprogramação, estabilidade para armazenamento e a facilidade de obtenção (BROUWER, et al., 2016).

Podemos notar que algumas das vantagens nas células tronco pluripotente induzidas incluem a facilidade em acessibilidade e capacidade de expansão. Além disso, somando o uso da tecnologia de *CRISPR/CAS9*, na área da genética tem ficado em evidência devido os promissores avanços na modelagem de doenças genéticas (SHI, YANHONG, et al., 2017).

CRISPR (Clustered regularly interspaced palindromic repeats) é uma tecnologia de edição de genes que possibilita a correção de erros no genoma, ativação e inativação de genes nas células dos organismos de forma “veloz” e relativamente fácil. Cas9 é a

endonuclease associada a técnica utilizada para modificações no genoma (M, REDMAN., et al., 2016).

A informação genética pode ser vista como um código que tem o potencial de ser alterado com as ferramentas adequadas e conhecimento necessário (CHU, et al., 2015).

Melody Redman (2016) aponta em seu estudo *What is CRISPR/Cas9?* que foi possível reparar o DNA com falhas em camundongos, assim, os curando de distúrbios genéticos, também descreve que os embriões humanos podem ser modificados de forma semelhante, o que poderia incluir terapia genética, doenças infecciosas, câncer e outros. A terapia genética em entre suas possibilidades, possui a capacidade de melhorar ou auxiliar geneticamente o indivíduo por meio de correções de genes alterados, que tenham como objetivo o tratamento terapêutico visando melhores condições para o paciente (TEBAS P, et. al., 2014).

Objetiva-se com esse trabalho apresentar como as células induzidas podem contribuir na herança genética, alterando condições prejudiciais ao indivíduo e mudar a cenário de saúde atual.

Metodologia

Este trabalho se propõe a revisar as literaturas específicas acerca de células tronco e terapias genéticas, para tal foram utilizadas as bases de dados *Scielo*, *Clinical trials* e *Pubmed* com os seguintes descritores: *induced pluripotent stem cell* (célula tronco pluripotentes induzida) *and cell reprogramming* (reprogramação celular) *and genetic inheritance* (herança genética) *and gene editing* (edição de gene). Foi utilizado o filtro para recuperação dos artigos publicados entre os anos de 2018 2024. Foram incluídos os trabalhos que abordam a temática escolhida para a revisão e excluídos artigos que não estão dentro da temática citada anteriormente, totalizando 45 artigos. Na base de dados *Clinical Trials*, devido ser uma plataforma direcionada a ensaios clínicos, existem alguns filtros adicionais que podem ser selecionados para melhor busca de trabalhos. Os marcadores utilizados foram: estudos completos, não aplicável em fase, e os anos assim

como nas demais bases de dados foram de 2018 a 2024. Além disso foi feito busca ativa por trabalhos de relevância para a confecção incluindo *CRISPR*, fatores de reprogramação e os estudos “principais” como o de Takahashi e colaboradores devido a sua importância no tema.

Resultados

Após a escolha das produções que atenderam aos critérios de inclusão e exclusão foi elaborado a tabela 1. Dessa forma constatou-se que os trabalhos encontrados estavam focados em alterações genéticas contendo as informações de relevância sobre célula tronco pluripotente induzida (*IPSC*), reprogramação celular e fatores de reprogramação.

Tabela 1 - Tabela com os estudos localizados

AUTOR	DATA	TÍTULO	BASE DE DADOS
KAZUTOSHI TAKAHASHI, SHINYA YAMANAKA	2006	Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors	Pubmed
KEISUKE OKITA, TOMOKO ICHISAKA, SHINYA YAMANAKA	2007	Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells	Pubmed
KAZUTOSHI TAKAHASHI, KOJI TANABE, MARI OHNUKI, MEGUMI NARITA, ET AL.,	2007	Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors	Pubmed
LYGIA DA VEIGA PEREIRA	2008	A importância do uso das células tronco para a saúde pública	Scielo

MATTHIAS STADTFELD, ET AL.,	2008	Induced pluripotent stem cells generated without viral integration	Pubmed
NOEMI FUSAKI, HIROSHI BAN, ET AL.,	2009	Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome	Pubmed
SUNG-LIM LEE, EUN-JU KANG, ET AL.,	2010	Developmental ability of miniature pig embryos cloned with mesenchymal stem cells	Pubmed
POLLYANNA A TAT, HUSEYIN SUMER, ET AL.,	2010	The efficient generation of induced pluripotent stem (iPS) cells from adult mouse adipose tissue-derived and neural stem cells	Pubmed
MICHAEL R LIEBER	2010	The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway	Pubmed
MAHENDRA S RAO, NASIR MALIK	2012	Assessing iPSC reprogramming methods for their suitability in translational medicine	Pubmed
MINGYAN LIN, ANASTASIA HRABOVSKY, ET AL.,	2012	Allele-biased expression in differentiating human neurons: implications for neuropsychiatric disorders	Pubmed
S BOROOAH, M J PHILLIPS, ET AL.,	2013	Using human induced pluripotent stem cells to treat retinal disease	Pubmed
PABLO TEBAS, DAVID STEIN, ET AL.,	2014	Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV	Pubmed

KEJIN HU	2014	All roads lead to induced pluripotent stem cells: the technologies of iPSC generation	Pubmed
VIMAL K SINGH, MANISHA KALSAN, ET AL.,	2015	Induced pluripotent stem cells: applications in regenerative medicine, disease modeling, and drug discovery	Pubmed
FABIELE B RUSSO, FERNANDA R CUGOLA, ET AL.,	2015	Induced pluripotent stem cells for modeling neurological disorders	Pubmed
CHAE-SEOK LIM, JUNG-EUN YANG,	2015	Understanding the molecular basis of autism in a dish using hiPSCs-derived neurons from ASD patients	Pubmed
MARTA GŁADYCH, ANASTAZJA ANDRZEJEWSKA, ET AL.,	2015	Epigenetic mechanisms of induced pluripotency	Pubmed
VAN TRUNG CHU, TIMM WEBER, ET AL.,	2015	Increasing the efficiency of homology-directed repair for CRISPR-Cas9-induced precise gene editing in mammalian cells	Pubmed
MARINKA BROUWER, HUIQING ZHOU, NAEL NADIF KASRI	2016	Choices for Induction of Pluripotency: Recent Developments in Human Induced Pluripotent Stem Cell Reprogramming Strategies	Pubmed
PATRICIA C B BELTRÃO-BRAGA, ALYSSON R MUOTRI	2017	Modeling autism spectrum disorders with human neurons	Pubmed
BÁRBARA CRISTINA MARTINS FERNANDES PAES, PABLO DIEGO MOÇO, ET AL.,	2017	Ten years of iPSC: clinical potential and advances in vitro hematopoietic differentiation	Pubmed

YANHONG SHI, HARUHISA INOUE, ET AL.,	2017	Induced pluripotent stem cell Pubmed technology: a decade of progress
KATHERINE CHUANG, MARK A FIELDS, LUCIAN V DEL PRIORE	2017	Potential of Gene Editing and Pubmed Induced Pluripotent Stem Cells (iPSCs) in Treatment of Retinal Diseases
MARTA TREVISAN, GUALTIERO ALVISI, VANESSA BARBARO, ET AL.,	2018	Oral Mucosa-Derived Induced Pubmed Pluripotent Stem Cells from Patients with Ectrodactyly-Ectodermal Dysplasia-Clefting Syndrome
RONEN BEN JEHUDA, YUVAL SHEMER, OFER BINAH	2018	Genome Editing in Induced Pubmed Pluripotent Stem Cells using CRISPR/Cas9
MARIA GEORGOMANOLI, EIRINI P PAPAPETROU	2019	Modeling blood diseases with Pubmed human induced pluripotent stem cells
HAMID DOLATSHAD, ET AL.,	2019	Application of induced pluripotent Pubmed stem cell technology for the investigation of hematological disorders
A DONADA, F BASSO-VALENTINA, ET AL.,	2020	Induced pluripotent stem cells and Pubmed hematological malignancies: A powerful tool for disease modeling and drug development
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MEDICAS Y NUTRICION SALVADOR ZUBIRAN	2020	Effect of Dietary Protein and Energy Clinical Restriction in the Improvement of Trials Insulin Resistance in Subjects With Obesity

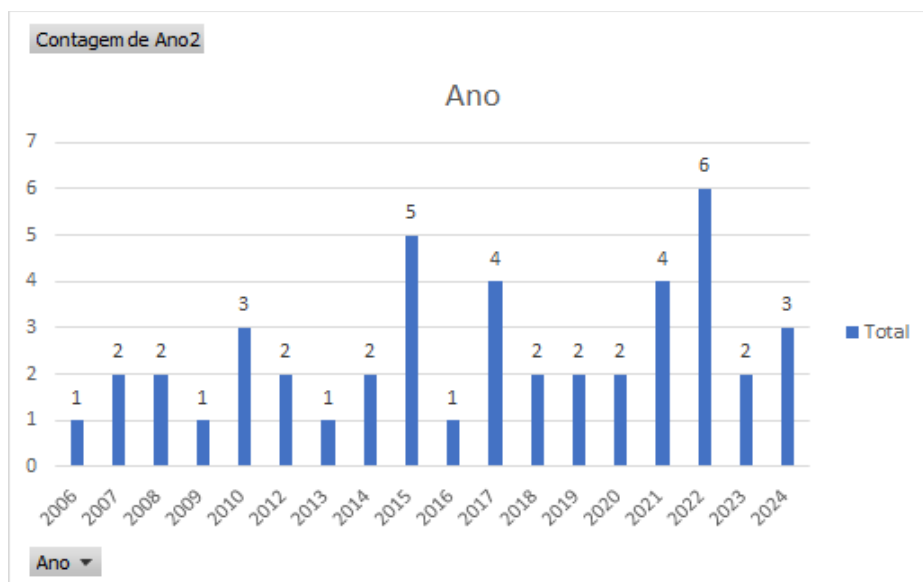
JAMES K NUÑEZ, JIN CHEN, ET AL.,	2021	Genome-wide programmable transcriptional memory by CRISPR-based epigenome editing	Pubmed
MIHAELA ZABULICA, TOMAS JAKOBSSON, ET AL.,	2021	Gene Editing Correction of a Urea Cycle Defect in Organoid Stem Cell Derived Hepatocyte-like Cells	Pubmed
ALIA ARSLANOVA, SANAM SHAFAT TALAB, ET AL.,	2021	Using hiPSC-CMs to Examine Mechanisms of Catecholaminergic Polymorphic Ventricular Tachycardia	Pubmed
EKATERINA KONDRATEVA, ANNA DEMCHENKO, ET AL.,	2021	Derivation of iPSC line (RCMGi002-A) from dermal fibroblasts of a cystic fibrosis female patient with homozygous F508del mutation	Pubmed
AMY LEUNG, ALMUDENA SACRISTAN-REVIRIEGO, ET AL.,	2022	Investigation of PTC124-mediated translational readthrough in a retinal organoid model of AIPL1-associated Leber congenital amaurosis	Pubmed
DANIELA BENATI, AMY LEUNG, ET AL.,	2022	Induced Pluripotent Stem Cells and Genome-Editing Tools in Determining Gene Function and Therapy for Inherited Retinal Disorders	Pubmed
AB BIOTEK	2022	Efficacy and Tolerability of ABBC1 in Volunteers Receiving the Influenza or Covid-19 Vaccine	Clinical Trials
INSTITUT PASTEUR	2022	Evaluation of the Post-vaccination Immune Response to COVID-19 in the New Caledonian Population (COVCAL)	Clinical Trials
SHANGHAI BDGENE CO., LTD.	2022	Safety and Efficacy of CRISPR/Cas9 mRNA Instantaneous Gene	Clinical Trials

		Editing Therapy to Treat Refractory Viral Keratitis	
UNIVERSITY OF AARHUS	2022	Acute Studies on the Glycemic Index After Intake of Different Sorts of Barley in Subjects With Type 2 Diabetes	Clinical Trials
GIACOMO ROMAN, BENEDICTE STAVIK, ET AL.,	2023	iPSC-derived liver organoids and inherited bleeding disorders: Potential and future perspectives"	Pubmed
UNIVERSITY OF BRITISH COLUMBIA	2023	Evaluation of Low-cost Techniques for Detecting Sickle Cell Disease and β -thalassemia in Nepal and Canada	Clinical Trials
VI PHAM, LIVIA SERTORI FINOTI, MARGARET M CASSIDY, ET AL.,	2024	A novel iPSC model reveals selective vulnerability of neurons in multiple sulfatase deficiency	Pubmed
BIORAY LABORATORIES	2024	PD1-CD19-CART in Patients With r/ r B-cell Lymphoma	Clinical Trials
BIORAY LABORATORIES	2024	Safety and Efficacy Evaluation of γ -globin Reactivated Autologous Hematopoietic Stem Cells	Clinical Trials

Discussão

Ao longo da pesquisa tornou-se necessário buscar trabalhos mais específicos incluindo informações sobre *CRISPR/CAS9* e materiais relevantes fora do período citado na metodologia, portanto, os trabalhos citados nas referências e fora da tabela foram introduzidos devido sua importância para a confecção deste.

Figura 1 - Gráfico com as datas dos trabalhos utilizados



A baixa disponibilidade de doadores somado com as rejeições imunológicas, limita o uso da terapia baseada em células-tronco, o que faz aumentar a demanda por novas abordagens (SINGH et al., 2015).

O avanço das técnicas de edição de gene tornou possível as alterações no genoma das células, o que permitiu a correção de mutações herdadas em pacientes com doenças monogênicas. (CHUANG, et al., 2017).

Com o potencial uso de *IPSC* na medicina regenerativa, para substituir, auxiliar tecidos danificados e ativar processos regenerativos endógenos, pode ser considerar uma promissora aplicação para superar tais problemas (SINGH et al., 2015).

Dessa forma é possível utilizar as *IPSC* como modelo para identificação de alterações na expressão gênica, função neuronal e morfologia dos pacientes alvo (LIN, M. et al., 2012). Conforme Tat e colaboradores (2010) afirma que as células tronco derivadas do tecido adiposo são de grande serventia para se trabalhar, devido as células somáticas derivadas desse tecido possuir grandes qualidades para obtenção de *IPSC*. Essas características incluem: rápida proliferação e linhas de *IPSC* eficientes quando comparados a outros tipos de tecido como fibroblasto embrionários.

De acordo com Maria Georgomanoli, (2019) pares isogênicos são de grande serventia e importância para a modelagem de doenças utilizando *IPSC*, bem como utilizados em

experimentos que tenham a necessidade de reprodução em grande escala. Essas linhagens podem ser geradas através da introdução de mutações específicas ou pela correção utilizando células derivadas dos próprios pacientes.

Na abordagem da modelagem de doenças genéticas hereditárias, todo tipo de célula obtida poderá ser utilizado para a reprogramação celular, devido conter as mutações causadoras de doenças. Entretanto, será escolhida a célula principalmente pela disponibilidade, relativa facilidade de processamento e cultivo do tecido (M, GEORGOMANOLI., et al. 2019).

As células mais comuns para o cultivo, são fibroblastos derivados da pele e células do sangue periférico e as menos comuns utilizadas são de outras fontes, tais como células estromais da medula óssea e fibroblastos de fontes diferentes da derme (PAPAPETROU et al., 2011).

Ao escolher o tipo celular, é necessário selecionar os fatores transcricionais que serão utilizados para a reprogramação. Entretanto, os fatores Yamanaka são os mais frequentemente explorados (OCT-4, SOX-2, KLF4 E c-MYC). Porém, não são os únicos utilizados (BROUWER, et al., 2016).

Os fatores de transcrição utilizados para gerar a pluripotência nas células possibilitam a capacidade de proliferação em grandes números, diferenciação e isso pode ser incluindo em células neuronais (KRASKOVSKAYA, et al., 2023). Bem como a capacidade de desenvolvimento, bloqueio na expressão da proteína p53, o que promove a diferenciação da célula embrionária e desenvolvimento normal, induzindo acetilação global de histonas (BELTRÃO-BRAGA et al., 2017).

Esses fatores podem ser adicionados nas células por métodos de integração ao genoma, sendo esses, através dos vetores: retrovirais, lentivirais e não integrativos fazendo uso de vetores como vírus, Sendai ou Adeno (LIM et al., 2015).

Segundo Takahashi e colaboradores (2006) os vetores retrovirais possuem a capacidade de integrar o genoma de células em divisão, sendo os primeiros a ser utilizados para reprogramação de *IPSC* e se mostrando eficaz.

Os lentivirais possuem a capacidade de infectar células em proliferação e as que estão em processo de divisão (M.S. Rao, et al., 2012). Com isso a aplicação torna-se mais apta para a utilização em células somáticas. Tornando-se uma característica importante

devido a variação na expressão de fatores de transcrição, proporcionando maior facilidade na diferenciação com o tipo celular utilizado (BOROOAH, et al., 2013).

Por tratar-se de vírus integrativos, os vetores baseados em retrovírus e lentivírus possuem elevadas taxas de eficiência na reprogramação (K, HU. 2014) e expressão dos fatores de transcrição integrados (M.S. RAO, et al., 2012).

Enquanto os adenovírus permitem a expressão transitória de genes exógenos, com a ausência de integração no genoma do hospedeiro, entretanto com baixa eficiência se comparado com os vetores integrativos (STADTFELD et al., 2008). Embora considerados vetores não integrativos, sua utilização é mais limitada pelo fato de ineficiência e necessidade de títulos virais elevados, aumentando o risco de desenvolvimento de tumores, entre outros. (K. Okita, et al., 2007)

Os vírus sendai possuem a capacidade de produção eficiente de *IPSC*. São considerados vetores seguros, permitem substituir retrovírus que se replicam no citoplasma após a reprogramação celular, caso necessário (FUSAKI, et al., 2009).

Após a soma dos fatores, ocorre a mudança epigenética das células somáticas até a obtenção de *IPSC*, incluindo alteração das histonas e a metilação do DNA, assim, redefinindo sua expressão gênica e estabilização da capacidade de auto renovação, com isso, não ocorre a proliferação excessiva, gerando patologia pelo excesso de célula (M. GLADYCH, et al., 2015).

A eficiência relacionada a reprogramação de célula pode variar significativamente entre os tipos de células coletadas, sendo assim mais rápida e eficiente em células adultas. Menos especializadas, mais lenta e difícil a reprogramação de células altamente diferenciadas (LEE, et al., 2010).

Os queratinócitos obtidos dos folículos capilares possuem menor tempo para reprogramação e eficiência. As células de polpa dentária podem ser excelente fonte de *IPSC* para modelagem de doenças neuropsiquiátricas, isso ocorre devido a sua origem na crista neural (RUSSO, et al., 2015).

A reprogramação é um processo relativamente demorado, que pode levar entre dias e meses, esse período vai variar de acordo com interesses como por exemplo a linhagem desejada (M.S. RAO, et al., 2012).

Na abordagem de doenças ocasionadas por mutações em células somáticas e na linhagem não germinativa, como o câncer, o tipo de célula utilizado para a reprogramação é a célula de origem da doença e suas descendentes (PAPAPETROU et al., 2011).

Com o auxílio do *CRISPR* no local-alvo, há dois métodos de reparação do DNA. A célula pode unir as não homólogas das extremidades, onde a quebra é selada pela junção das extremidades soltas do DNA, nesse caso, pode interromper a função de um gene (LIEBER, 2010). Para alterar a função do gene ou corrigir variantes relacionadas a doenças, é necessário a reparação homóloga direcionada. Com *CRISPR*, o DNA doador pode ser introduzido em conjunto o DNA doador homólogo na região circundante a quebra de fita dupla e relacionado ao sequenciamento desejado para assim reparar o gene mutado (CHU, et al., 2015).

Apesar dos avanços da tecnologia, um dos problemas com a terapia gênica e o uso do *CRISPR*, é a possibilidade de efeitos fora de alvo. Esse problema foi reduzido com o avanço tecnológico e são menos comuns atualmente (M, GEORGOMANOLI., et al. 2019).

O transplante utilizando células tronco hematopoiéticas (HSCs) tornou-se um dos tratamentos padrões em algumas doenças hereditárias bem como distúrbios sanguíneos devido a sua eficácia (DOLATSHAD, H., et al. 2019).

Ao combinar a tecnologia de edição do genoma para a alteração e correção de mutações que ocasionam doenças, as *IPSC* oferecem grande possibilidade terapêutica, visto que as células contaminadas com a doença do paciente, podem ser alteradas, diferenciadas e reintroduzidas (PAES et al., 2017).

Embora ainda ocorra desconfiança com o tratamento relacionado a *IPSC*, alguns autores como Turhan (2021), apresentam justificativas e evidências que o tratamento é de muita importância e abrange diversas áreas até mesmo com organoides.

Os testes feitos nas primeiras fases de vida do indivíduo são importantes para diagnóstico de doenças hereditárias. Nesses casos, a reprogramação celular auxilia no tratamento precoce e em situações que no futuro podem prejudicar os indivíduos.

A reprogramação celular do próprio indivíduo é benéfica pois, além de superar as barreiras legislativas, também podem ajudar com questões éticas e imunológicas, facilitando todo o processo de tratamento (SINGH et al., 2015).

Apesar da reprogramação celular possuir diversos sistemas de introdução dos fatores de reprogramação é valido destacar os mais comuns utilizados sendo esses: vírus integrativos e não integrativos como método de introdução:

Tabela 2 - Quadro dos métodos de introdução virais

Método	Vetor	Pontos Positivos	Pontos negativos
Viral			
Integrativo	Retrovírus	Boa eficiência, “fácil” de implementar, validado para vários tipos de células, expressão duradoura.	Silenciando prematuro, transdução múltipla, mutagênese de inserção, tropismos limitados.
	Lentivírus	Reprogramação confiável e consistente, boa eficiência, fácil de implementar.	Expressão residual e reativação de transgenes, deixam marca genética mesmo quando excisados, representa perigo biológico.
Não integrativo	Adenovírus	Não deixam marca genética, sem mutagênese insercional.	Integração espontânea elevada, baixa eficiência de reprogramação.
	Vírus Sendai	Elevada eficiência de reprogramação, aplicável em vários tipos de células.	imunogênico, Requer preparação e medidas adicionais para a remoção viral, representa perigo biológico, pode gerar problemas de licenciamento.

(Tabela adaptada de RAO &

MALIK, 2012)

A escolha dos vetores de integração é um passo importante para reprogramação celular, bem como as nucleases que serão utilizadas para esse processo, a escolha por vezes

pode variar de acordo com a futura utilização das iPSC, contudo as nucleases embora promissoras, por vezes podem apresentar vantagens ou não para o indivíduo durante o processo de reprogramação celular. A tabela a seguir traz vantagens e desvantagens para esse processo.

Tabela 3 - Quadro nucleases

Nucleases programáveis	Pontos Positivos	Pontos negativos
ZFNs	Podem ser aplicadas em células tronco pluripotentes ou células somáticas. Podem ser usadas para reparar o genoma.	O desenho é trabalhoso, caro e requer o uso de regiões com grande quantidade de guanina que raramente ocorre na maioria dos alvos desejados.
TALENs	Podem ser usadas para reparar o genoma. Maior liberdade de alteração	Devido ao tamanho do complexo, possui maior dificuldade de construir plasmídeos que os codificam.
Cas9	O sistema é de simples escalonamento e confecção custo relativamente baixo.	Pode induzir a rearranjos e mutações fora do alvo desejado.

(Adaptado de: LISTIK, E. et al., 2017)

As doenças genéticas anteriormente identificada como algo irreparável, atualmente, com o auxílio das células tronco induzidas e a tecnologia *CRISPR/CAS9* são alternativas valiosas para o tratamento dos indivíduos.

Na atualidade, é conhecido publicamente que a avaliação realizada nas fases iniciais da vida pode ser crucial para identificar doenças hereditárias. Nessas circunstâncias, a reprogramação celular desempenha um papel significativo no tratamento precoce, abordando potenciais preocupações futuras para a saúde dos indivíduos.

Embora muitos afirmam que as iPSC possuem o necessário para a correção nos genes diversos autores concordam que ainda há a necessidade de evoluir a tecnologia e

material para que o tratamento adequado seja utilizado. No entanto, muitos possuem estudos de casos de sucesso em diversos grupos de seres vivos.

Conclusão

Com base nas informações desenvolvidas ao longo do trabalho, pode-se concluir que o avanço das tecnologias que possibilitam o tratamento é de grande serventia para a população e pode ser utilizada para o auxílio de condições que antes eram vistas como incuráveis por exemplo, distúrbios genéticos e doenças hereditárias. Apesar das limitações, muitas vezes éticas em um futuro a qual se torne possível utilizar essa tecnologia de grande importância para alteração nos genes, seja para terapia celular, lesões ou correções de maneira mais acessível para todos é possível dizer que relacionando testes de doenças herdadas geneticamente podem ser tratadas nas primeiras fases de vida do indivíduo, assim, gerando uma qualidade de vida para o próprio. Para isso, ainda no presente é ideal que mais trabalhos possam colaborar para o avanço de algo que ainda tem muito a evoluir, como no caso da tecnologia e conhecimento sobre a reprogramação celular.

Referências

BELTRÃO-BRAGA, Patricia CB; MUOTRI, Alysson R. Modeling autism spectrum disorders with human neurons. **Brain research**, v. 1656, p. 49-54, fev, 2017.

BOROOAH, S. et al. Using human induced pluripotent stem cells to treat retinal disease. **Progress in retinal and eye research**, v. 37, p. 163-181, out, 2013.

BROUWER, Marinka, et al. Choices for induction of pluripotency: recent developments in human induced pluripotent stem cell reprogramming strategies. **Stem Cell Reviews and Reports**, v. 12, p. 54-72, fev, 2016.

CHU, Van Trung et al. Increasing the efficiency of homology-directed repair for CRISPR-Cas9-induced precise gene editing in mammalian cells. **Nature biotechnology**, v. 33, n. 5, p. 543-548, 2015.

CHUANG, Katherine, et al. Focus: Genome editing: Potential of gene editing and induced pluripotent stem cells (iPSCs) in treatment of retinal diseases. **The Yale journal of biology and medicine**, v. 90, n. 4, p. 635, dez, 2017.

DOLATSHAD, Hamid et al. Application of induced pluripotent stem cell technology for the investigation of hematological disorders. **Advances in biological regulation**, v. 71, p. 19-33, jan, 2019.

FUSAKI, Noemi et al. Efficient induction of transgene-free human pluripotent stem cells using a vector based on Sendai virus, an RNA virus that does not integrate into the host genome. **Proceedings of the Japan Academy, Series B**, v. 85, n. 8, p. 348-362, jan, 2009.

GEORGOMANOLI, Maria, et al. Modeling blood diseases with human induced pluripotent stem cells. **Disease Models & Mechanisms**, v. 12, n. 6, p. dmm039321, jun, 2019.

GŁADYCH, Marta et al. Review epigenetic mechanisms of induced pluripotency. **Contemporary Oncology/Współczesna Onkologia**, v. 2015, n. 1, p. 30-38, out, 2015.

HU, Kejin. All roads lead to induced pluripotent stem cells: the technologies of iPSC generation. **Stem cells and development**, v. 23, n. 12, p. 1285-1300, jun, 2014.

KRASKOVSKAYA, Nina et al. Protocol optimization for direct reprogramming of primary human fibroblast into induced striatal neurons. **International journal of molecular sciences**, v. 24, n. 7, p. 6799, abril, 2023.

LEE, Sung-Lim et al. Developmental ability of miniature pig embryos cloned with mesenchymal stem cells. **Journal of Reproduction and Development**, v. 56, n. 2, p. 256-262, abril, 2010.

LIM, Chae-Seok et al. Understanding the molecular basis of autism in a dish using hiPSCs-derived neurons from ASD patients. **Molecular Brain**, v. 8, n. 1, p. 1-17, set, 2015.

LIEBER, Michael R. The mechanism of double-strand DNA break repair by the nonhomologous DNA end-joining pathway. **Annual review of biochemistry**, v. 79, p. 181-211, ago, 2010.

LIN, Mingyan et al. Allele-biased expression in differentiating human neurons: implications for neuropsychiatric disorders. **Library of Science**, v. 7, p. 1-10, ago, 2012.

LISTIK, Eduardo; CARMO, Ana Carolina Viegas. As características dos mecanismos e sistemas de edição genômica. **Revista Acadêmica Oswaldo Cruz**, v. 10, 2017.

OKITA, Keisuke; ICHISAKA, Tomoko; YAMANAKA, Shinya. Generation of germline-competent induced pluripotent stem cells. **nature**, v. 448, n. 7151, p. 313-317, 2007.

PAES, Bárbara Cristina Martins Fernandes et al. Ten years of iPSC: clinical potential and advances in vitro hematopoietic differentiation. **Cell biology and toxicology**, v. 33, p. 233-250, jun, 2017.

PAPAPETROU, Eirini P, et al. Generation of transgene-free human induced pluripotent stem cells with an excisable single polycistronic vector. **Nature protocols**, v. 6, n. 9, p. 1251-1273, ago, 2011.

PEREIRA, Lygia da Veiga. **A importância do uso das células tronco para a saúde pública**. Ciência & Saúde Coletiva, v. 13, p. 07-14, fev, 2008.

RAO, Mahendra S.; MALIK, Nasir. Assessing iPSC reprogramming methods for their suitability in translational medicine. **Journal of cellular biochemistry**, v. 113, n. 10, p. 3061-3068, out, 2012.

REDMAN, Melody et al. **What is CRISPR/Cas9?**. Archives of Disease in Childhood-Education and Practice, v. 101, n. 4, p. 213-215, ago, 2016.

RUSSO, Fabiele B. et al. Induced pluripotent stem cells for modeling neurological disorders. **World journal of transplantation**, v. 5, n. 4, p. 209, dez, 2015.

SHI, Yanhong et al. Induced pluripotent stem cell technology: a decade of progress. **Nature reviews Drug discovery**, v. 16, n. 2, p. 115-130, fev, 2017.

SINGH, Vimal K. et al. Induced pluripotent stem cells: applications in regenerative medicine, disease modeling, and drug discovery. **Frontiers in cell and developmental biology**, v. 3, p. 2, fev, 2015.

STADTFELD, Matthias et al. Induced pluripotent stem cells generated without viral integration. **Science**, v. 322, n. 5903, p. 945-949, set, 2008.

TAT, Pollyanna A. et al. The efficient generation of induced pluripotent stem (iPS) cells from adult mouse adipose tissue-derived and neural stem cells. **Cell transplantation**, v. 19, n. 5, p. 525-536, fev, 2010.

TAKAHASHI, Kazutoshi; YAMANAKA, Shinya. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. **cell**, v. 126, n. 4, p. 663-676, ago, 2006.

TAKAHASHI, Kazutoshi et al. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. **cell**, v. 131, n. 5, p. 861-872, nov, 2007.

TEBAS, Pablo et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. **New England Journal of Medicine**, v. 370, n. 10, p. 901-910, mar, 2014.

TURHAN, Ali G. et al. iPSC-derived organoids as therapeutic models in regenerative medicine and oncology. **Frontiers in Medicine**, v. 8, p. 728543, abr, 2021.