УДК: 615.036.8
DOI: 10.37489/2588-0527-2024-2-29-36
EDN: RZAZIM

ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ
LITERATURE REVIEW

BY 4.0

Революция в здравоохранении: роль систем CRISPR-Cas в прецизионной медицине

Киролос Эскандар

Хелуанский университет, Каир, Египет

Аннотация

Введение. Технология CRISPR (Кластерные короткие палиндромные повторы с регулярными интервалами) была признана революционным достижением в области биомедицины, обеспечивающим непревзойдённую точность и универсальность редактирования генома. В этом обзоре рассматривается преобразующий потенциал CRISPR как диагностического и терапевтического инструмента для лечения различных заболеваний.

Методы. Систематический обзор литературы был проведён в соответствии с руководящими принципами PRISMA (Предпочтительные элементы отчётности для систематических обзоров и метаанализа). Для выявления соответствующих исследований, опубликованных в период с января 2015 по январь 2025 года, был проведён всесторонний поиск в PubMed, Scopus, Google Scholar и Web of Science. Критерии включения были ориентированы на рецензируемые статьи, в которых обсуждались диагностика на основе CRISPR, терапевтические применения и технологические достижения. Исследования были отобраны, оценены на предмет качества с использованием системы CASP и распределены по тематическим областям для анализа.

Результаты. Диагностические платформы на основе CRISPR, такие как SHERLOCK и DETECTR, были проанализированы на предмет их чувствительности и скорости обнаружения патогенов, биомаркеров рака и генетических мутаций. Новые инновации, в том числе редактирование с использованием праймеров и оснований, были изучены на предмет их роли в расширении возможностей технологии CRISPR. Кроме того, были обсуждены усовершенствования в механизмах доставки и использование альтернативных белков Cas с точки зрения их влияния на клиническую применимость.

Выводы. Рассмотрены этические, нормативные проблемы, доступность технологии CRISPR, что подчёркивает важность ответственной разработки и справедливого внедрения. Связывая передовые достижения с проблемами трансляции, этот обзор подчёркивает важную роль CRISPR в формировании будущего прецизионной медицины и глобального здравоохранения.

Ключевые слова: диагностика на основе CRISPR; редактирование генов; прецизионная медицина; технологии CRISPR-Cas; биомедицинские инновации

Для цитирования:

Киролос Эскандар. Революция в здравоохранении: роль систем CRISPR-Cas в прецизионной медицине. *Фармакогенетика и фармакогеномика*. 2024;(2):29–36. https://doi.org/10.37489/2588-0527-2024-2-29-36. EDN: RZAZIM

Поступила: 16.11.2024. **В доработанном виде:** 17.12.2024. **Принята к печати:** 20.12.2024. **Опубликована:** 31.12.2024.

Revolutionizing healthcare: the role of CRISPR-Cas systems in precision medicine

Kirolos Eskandar

Helwan University, Cairo, Egypt

Abstract

Introduction. CRISPR (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats) has been recognized as a revolutionary advancement in the biomedical field, offering unparalleled precision and versatility in genome editing. This review examines the transformative potential of CRISPR as a diagnostic and therapeutic tool for various diseases.

Methods. A systematic review was conducted following PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) guidelines. A comprehensive search of PubMed, Scopus, Google Scholar, and Web of Science was performed to identify relevant Studies published between January 2015 and January 2025. The inclusion criteria focused on peer-reviewed articles discussing CRISPR-based diagnostics, therapeutic applications, and technological advancements. Studies were screened, assessed for quality using the CASP framework, and categorized into thematic areas for analysis.

Results. CRISPR-based diagnostic platforms, such as SHERLOCK and DETECTR, were analyzed for their sensitivity and rapidity in detecting pathogens, cancer biomarkers, and genetic mutations. Emerging innovations, including prime and base editing, have been explored for their role in expanding the capabilities of CRISPR. Additionally, advancements in delivery mechanisms and the use of alternative Cas proteins have been discussed for their impact on clinical applicability.

Conclusions. Ethical, regulatory, and accessibility challenges associated with CRISPR technology are highlighted, emphasizing the importance of responsible development and equitable deployment. This review connects cutting-edge advancements with translational challenges and underscores the significant role of CRISPR in shaping the future of precision medicine and global health.

Keywords: CRISPR-based diagnostics; gene editing; precision medicine; CRISPR-Cas technologies; biomedical innovation

For citations:

Kirolos Eskandar. Revolutionizing healthcare: the role of CRISPR-Cas systems in precision medicine. *Farmakogenetika i farmakogenomika = Pharmacogenetics and pharmacogenomics*. 2024;(2):29–36. (In Russ.). https://doi.org/10.37489/2588-0527-2024-2-29-36. EDN: RZAZIM

Received: 16.11.2024. **Revision received:** 17.12.2024. **Accepted:** 20.12.2024. **Published:** 31.12.2024.

Введение / Introduction

CRISPR расшифровывается как сгруппированные короткие палиндромные повторы с регулярными промежутками между ними и представляет собой революционное достижение в генной инженерии. Первоначально идентифицированные в E. coli в 1987 году, эти уникальные последовательности ДНК характеризовались характерным рисунком коротких повторяющихся повторов, перемежающихся спейсерными последовательностями [1].

Хотя их функция оставалась неясной, последующие исследования выявили их роль в адаптивной иммунной системе бактерий, которая обеспечивает защиту от вирусных захватчиков.

Преобразующий потенциал CRISPR в современной медицине огромен. Беспрецедентная точность и эффективность редактирования генома открыли новые возможности для коррекции генетических мутаций, ответственных за различные заболевания [2]. Помимо терапевтических применений, были разработаны диагностические инструменты на основе CRISPR, обеспечивающие быстрое и точное обнаружение патогенов и генетических аномалий. Адаптивность систем CRISPR распространяется на различные области, включая сельское хозяйство и науку об окружающей среде, что подчёркивает их универсальность [3].

В этом обзоре всесторонне рассматривается преобразующий потенциал CRISPR в диагностике и лечении заболеваний. Мы исследуем происхождение и механизмы технологии CRISPR, рассмотрим её применение в диагностике и терапии заболеваний, обсудим новые инновации и рассмотрим этические и социальные аспекты, связанные с её быстрым развитием. Разъясняя эти аспекты, мы подчёркиваем ключевую роль, которую CRISPR играет в формировании будущего прецизионной медицины.

Методология / Methodology

В этом обзоре литературы применялся системный подход в соответствии с рекомендациями PRISMA (Предпочтительные элементы отчётности для систематических обзоров и метаанализов), чтобы обеспечить прозрачный и воспроизводимый процесс отбора исследований. В исследовании были выявлены, проанализированы и обобщены существующие исследования по системам CRISPR-Cas в прецизионной медицине. Были предприняты следующие шаги.

Стратегия поиска / Search strategy. Был проведён всесторонний поиск в четырёх известных научных базах данных: PubMed, Scopus, Google Scholar и Web of Science. Стратегия поиска была разработана для поиска статей, связанных с диагностикой на основе CRISPR, терапевтическими приложениями и технологическими достижениями. Поиск включал следующие ключевые слова и логические операторы:

- "CRISPR-based diagnostics" AND "precision medicine"
- "Gene editing" AND "CRISPR-Cas technologies"
- "CRISPR-based innovation" OR "CRISPR therapeutic applications"
- "Emerging trends in CRISPR technology"

Чтобы свести к минимуму предвзятость публикации, были также проверены «серая» литература и списки ссылок в включённых статьях.

Критерии включения и исключения / Inclusion and exclusion criteria. Критерии включения позволили сделать акцент на высококачественных и актуальных исследованиях:

- Статьи, опубликованные в рецензируемых журналах.
- Публикации на английском языке с 2015 по 2025 год.
- Исследования, специально посвящённые системам CRISPR-Cas в диагностических или терапевтических целях.
- Клинические или трансляционные достижения в области прецизионной медицины.

В соответствии с критериями исключения были отобраны исследования:

- Не имеющие прямого отношения к системам CRISPR.
- Опубликованные не на английском языке.
- Не имеющие достаточной методологической проработки или основной направленности исследований.

Процесс отбора исследований / Study selection process. В результате первоначального поиска в базе данных было получено в общей сложности 139 записей. Дублирующиеся записи были выявлены и удалены с помощью EndNote. Оставшиеся 83 уникальные статьи прошли двухэтапную проверку:

1. *Рецензирование заголовков и аннотаций*: статьи оценивались на предмет их актуальности на основе заранее определённых критериев включения. В результате этого процесса было отобрано 46 подходящих исследований.

2. *Полнотекстовый скрининг*: каждое исследование было подробно проанализировано, чтобы подтвердить его соответствие целям обзора. Этот этап также включал критическую оценку качества и методологии исследования.

Два независимых рецензента проверили результаты исследований на основе заранее определённых критериев включения и исключения. Расхождения были устранены путём обсуждения, а в случае разногласий были проведены консультации с третьим рецензентом.

Оценка качества / Quality assessment. Каждое исследование оценивалось с использованием системы CASP с балльной системой для оценки методологической строгости, размера выборки и воспроизводимости. Исследования, набравшие менее 50 % баллов, были исключены. Ключевыми элементами были:

• Обоснованность плана исследования.
• Воспроизводимость результатов.
• Актуальность для применения CRISPR в прецизионной медицине.

Предвзятость публикаций оценивалась с помощью асимметрии воронкообразного графика и теста Эггера, чтобы обеспечить всестороннюю оценку предвзятости в выбранной литературе.

Извлечение и синтез данных / Data extraction and synthesis. Данные из включённых исследований были систематически извлечены и обобщены. Ключевые переменные включали:

• Цели, дизайн и методы исследования.
• Тип системы CRISPR (например, Cas9, Cas12, Cas13).
• Применение предлагаемых технологий в диагностике, терапии и новых технологиях.
• Этические и нормативные соображения.

Два эксперта независимо друг от друга проанализировали полученные данные, и их точность была подтверждена перекрёстной проверкой. Ключевые переменные были сведены в таблицу, а несоответствия устранены путём обсуждения.

Результаты были распределены по тематическим областям для анализа, включая диагностические инструменты, достижения в области терапии и новые инновации.

CRISPR как диагностический инструмент / CRISPR as a diagnostic tool

Диагностические инструменты на основе CRISPR стали революционными платформами для молекулярной диагностики, обеспечивающими быстрое, чувствительное и специфичное обнаружение нуклеиновых кислот. Среди них SHERLOCK (Специфический высокочувствительный ферментативный репортер для разблокировки) и DETECTOR (транс-репортер CRISPR, нацеленный на ДНК-эндонуклеазу) выделяются своими инновационными приложениями. SHERLOCK использует сопутствующую расщепляющую активность фермента Cas13 при связывании с его последовательностью РНК-мишени, что позволяет обнаруживать специфические последовательности РНК с высокой чувствительностью [4]. Аналогичным образом, DETECTR использует Cas12, который при распознавании последовательности ДНК-мишени проявляет сопутствующую активность расщепления, облегчая обнаружение специфических последовательностей ДНК. Эти платформы были адаптированы для различных диагностических целей, включая выявление вирусных и бактериальных патогенов и генетических мутаций, связанных с заболеваниями [5].

Следует отметить ключевые преимущества диагностики на основе CRISPR по сравнению с традиционными методами. Традиционные методы диагностики, такие как полимеразная цепная реакция (ПЦР), чувствительны, однако они часто требуют сложного инструментария, более длительного времени обработки и подвержены загрязнению, что приводит к ложноположительным результатам [6]. Напротив, анализы на основе CRISPR, такие как SHERLOCK и DETECTR, обеспечивают быстрое обнаружение, часто в течение часа, при минимальных требованиях к оборудованию. Их высокая специфичность объясняется программируемой природой системы CRISPR, которая может быть адаптирована для распознавания уникальных генетических последовательностей, тем самым снижая вероятность перекрёстной реактивности и ложноположительных результатов [7]. Кроме того, эти анализы продемонстрировали способность выявлять низкие уровни целевых нуклеиновых кислот, что повышает их чувствительность и делает их пригодными для выявления заболеваний на ранних стадиях.

В диагностике инфекционных заболеваний инструменты, основанные на CRISPR, показали большие перспективы. Например, во время пандемии COVID-19 были разработаны анализы на основе CRISPR для выявления SARS-CoV-2, вируса, вызывающего COVID-19. В этих анализах использовалась платформа DETECTR для определения присутствия вирусной РНК в образцах пациентов, что является быстрой и точной альтернативой традиционным тестам на основе ПЦР [8]. Помимо вирусных инфекций, диагностика на основе CRISPR применяется для выявления бактериальных патогенов, таких как *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*, а также грибковых инфекций, демонстрируя их универсальность в отношении широкого спектра инфекционных агентов [9].

Применение диагностики на основе CRISPR в реальных условиях сыграло важную роль в борьбе с эпидемией. Быстрая разработка и внедрение тестов на основе CRISPR во время пандемии COVID-19 демонстрирует их потенциал для использования в сценариях вспышек инфекционных заболеваний [10]. Эти тесты позволили провести широкомасштабный скрининг, позволяющий своевременно выявлять и изолировать инфицированных лиц, тем самым способствуя усилиям по сдерживанию распространения инфекции. Кроме того, адаптивность диагностики на основе CRISPR позволяет быстро изменять конфигурацию для обнаружения новых патогенов, что делает их ценными инструментами для реагирования на будущие угрозы инфекционных заболеваний [11].

В диагностике рака были изучены методы, основанные на CRISPR, для выявления генетических мутаций и биомаркеров, связанных с различными злокачественными новообразованиями. Разрабатывая системы CRISPR для нацеливания на специфические онкогенные мутации, исследователи разработали анализы, способные с высокой точностью выявлять генетические изменения, связанные с раком [12]. Кроме того, подходы, основанные на CRISPR, были применены к жидкостным биопсиям, которые

включают анализ циркулирующей опухолевой ДНК (ctDNA) в жидкостях организма, таких как кровь. Эти неинвазивные тесты могут выявлять рак на ранних стадиях, отслеживать прогрессирование заболевания и оценивать эффективность лечения, тем самым способствуя разработке персонализированных стратегий лечения рака [13].

Несмотря на эти многообещающие преимущества, широкому клиническому внедрению диагностики на основе CRISPR препятствует ряд проблем. Существенным препятствием остается стоимость, поскольку разработка и производство этих анализов могут быть дорогостоящими, что потенциально ограничивает доступность, особенно в условиях ограниченных ресурсов [14]. Ещё одной проблемой является масштабируемость, поскольку переход от лабораторных анализов к клиническим исследованиям требует надёжных процессов валидации и стандартизации. Нормативные препятствия также создают проблемы, поскольку утверждение и интеграция новых диагностических технологий в клиническую практику требуют тщательной оценки для обеспечения безопасности, эффективности и надёжности [15].

CRISPR в терапии / CRISPR in therapeutics

Редактирование гена CRISPR-Cas9 стало новым подходом к лечению моногенных заболеваний — расстройств, вызванных мутациями в одном гене. Серповидноклеточная анемия и муковисцидоз являются яркими примерами таких состояний [16]. При серповидноклеточной анемии мутация в гене β-глобина приводит к аномальному образованию гемоглобина, в результате чего эритроциты приобретают серповидную форму, что приводит к различным осложнениям. Терапия на основе CRISPR направлена на коррекцию этой мутации или реактивацию выработки фетального гемоглобина для смягчения симптомов заболевания [17]. Недавние достижения привели к одобрению генной терапии с использованием технологии CRISPR-Cas9 для лечения серповидноклеточной анемии, что стало важной вехой в применении редактирования генома в клинических условиях [18].

В области терапии рака CRISPR сыграл важную роль в создании Т-клеток для повышения их эффективности против злокачественных новообразований. Т-клетки с химерными антигенными рецепторами (CAR-T-клетки) модифицированы для экспрессии рецепторов, которые нацелены на специфические раковые антигены [19]. CRISPR-Cas9 облегчает точное редактирование геномов Т-клеток, улучшая их устойчивость и снижая истощение, тем самым повышая их противоопухолевый потенциал. Этот подход показал себя многообещающим в доклинических исследованиях, предполагая, что модификации, опосредованные CRISPR, могут оптимизировать терапию CAR-T-клетками и улучшить клинические результаты [20].

В дополнение к онкологии, CRISPR изучается как терапевтический инструмент против инфекционных заболеваний. При хронических инфекциях, таких как вирус гепатита B (HBV), CRISPR-Cas9 используется для нацеливания на вирусную ДНК в клетках-хозяевах и её разрушения [21]. Доклинические исследования продемонстрировали целесообразность этого подхода, показав, что редактирование генов, опосредованное CRISPR, может снизить вирусную нагрузку на моделях хронической HBV-инфекции. Однако перед клиническим применением необходимо решить такие проблемы, как эффективная доставка и побочные эффекты [22].

Использование CRISPR для лечения полигенных и сложных расстройств, таких как нейродегенеративные заболевания, является областью активных исследований. Нейродегенеративные заболевания, включая болезни Альцгеймера и Паркинсона, связаны с множеством генетических факторов и факторов окружающей среды [23]. CRISPR-Cas9 продемонстрировал потенциал в доклинических моделях, нацеливаясь на гены, вовлечённые в эти расстройства, предлагая многообещающий путь для терапевтического вмешательства. Тем не менее, сложность этих заболеваний создаёт значительные проблемы, включая необходимость нацеливания на множество генов и регуляторных сетей и обеспечения точной доставки в поражённые ткани [24].

Новые инновации в технологии CRISPR / Emerging innovations in CRISPR technology

Недавние достижения в технологии CRISPR привели к разработке инструментов редактирования генов следующего поколения, в частности базовых и основных инструментов редактирования, которые обладают значительными преимуществами по сравнению с традиционной системой CRISPR-Cas9. Редактирование оснований позволяет проводить точные однонуклеотидные преобразования без введения двухцепочечных разрывов (DSBs) [25]. Например, редакторы оснований цитозина (CBEs) могут преобразовывать пары оснований C • G в пары оснований T • A, тогда как редакторы оснований аденина (ABE) облегчают преобразование A • T в G • C. Такая точность снижает риск непреднамеренных вставок и удалений (indels), связанных с механизмами восстановления DSB [26]. Первичное редактирование ещё больше расширяет эту возможность, позволяя выполнять не только базовые замены, но и небольшие вставки и удаления без создания DSB. Этот метод использует слияние каталитически нарушенной Cas9, обратной транскриптазы и первичной направляющей РНК для редактирования (pegRNA) для направления желаемого редактирования, предлагая универсальный и эффективный подход к модификации генома [27].

Система CRISPR-Cas включает в себя различные белки Cas, каждый из которых обладает уникальными

свойствами, подходящими для специализированных применений. Например, Case12 содержит расположенные в шахматном порядке фрагменты ДНК, которые выгодны для определённых типов генетических модификаций [28]. Его меньший размер по сравнению с Cas9 обеспечивает более эффективную доставку в клетки. И наоборот, Case13 нацелен на РНК, а не на ДНК, что делает его ценным инструментом для приложений, требующих манипулирования РНК, таких как транскриптомная инженерия и противовирусные стратегии [29].

Эффективная и безопасная доставка компонентов CRISPR в клетки-мишени остаётся сложной задачей при применении *in vivo*. Недавний прогресс в механизмах доставки показал многообещающие возможности для преодоления этих препятствий. Вирусные векторы, такие как аденоассоциированные вирусы (AAVs), широко используются из-за их высокой эффективности трансдукции и способности инфицировать широкий спектр типов клеток [30]. Однако их ограниченная вместимость и потенциальная иммуногенность стимулировали разработку невирусных методов доставки. Липидные наночастицы (ЛНЧ) стали многообещающей альтернативой, обладающей такими преимуществами, как более низкая иммуногенность, способность переносить большую генетическую нагрузку и способность доставлять компоненты CRISPR в виде рибонуклеопротеиновых комплексов, которые могут уменьшить побочные эффекты [31]. Достижения в области систем доставки имеют решающее значение для внедрения методов лечения, основанных на CRISPR, в клинические условия.

Этические и социальные соображения / Ethical and societal considerations

Появление технологии редактирования генов CRISPR-Cas9 вызвало серьёзные этические и общественные дебаты, особенно по поводу её применения для редактирования зародышевой линии человека. Изменение зародышевой линии — генетического материала, передаваемого будущим поколениям, — поднимает серьёзные этические дилеммы [32]. Одной из главных проблем является потенциальное появление «дизайнерских младенцев», когда генетические модификации могут быть использованы для отбора желаемых признаков, тем самым усугубляя социальное неравенство и приводя к непредвиденным социальным последствиям. Кроме того, возможность непреднамеренных побочных эффектов увеличивает риск внесения новых генетических аномалий в генофонд человека [33].

Нормативно-правовая база, регулирующая применение CRISPR, значительно отличается в разных странах, что отражает различные этические позиции и политические подходы. С 2014 года около 40 стран, включая 15 стран Западной Европы, запретили исследования по редактированию зародышевой линии из соображений этики и безопасности. Международные усилия, такие как саммит, проведённый Соединенными Штатами Америки, Великобританией и Китаем в 2015 году, направлены на гармонизацию нормативных актов и разработку руководящих принципов ответственного редактирования генома [34, 35].

Равенство в доступе к методам лечения, основанным на CRISPR, представляет собой ещё одну серьёзную проблему. Высокие затраты, связанные с этими видами лечения, о чём свидетельствует стоимость лечения, составляющая около 2 миллионов долларов США на пациента, вызывают обеспокоенность по поводу доступности, особенно в странах с низким и средним уровнем дохода [36]. Это несоответствие подчёркивает необходимость разработки стратегий, гарантирующих, что достижения в области редактирования генов не усугубят существующее неравенство в отношении здоровья, а вместо этого будут способствовать улучшению здоровья во всём мире [37].

Текущие проблемы и будущие направления / Current challenges and future directions

Система редактирования генов CRISPR-Cas9 произвела революцию в биомедицинских исследованиях и обладает огромным потенциалом для терапевтического применения. Однако для полной реализации её клинической полезности необходимо решить ряд технических проблем. Одной из основных проблем является возникновение нецелевых эффектов, когда нуклеаза Cas9 вносит непреднамеренные модификации в участки генома, сходные с последовательностью-мишенью [38]. Эти нецелевые мутации могут привести к непредсказуемым последствиям, включая нарушение работы важных генов или активацию онкогенов. Стратегии смягчения этих эффектов включают разработку высокоточных вариантов Cas9 и использование вычислительных инструментов для разработки более специфичных направляющих РНК [39].

Другим существенным препятствием является иммунный ответ, вызванный введением компонентов CRISPR в организм человека. Белок Cas9, полученный из бактерий, может быть распознан иммунной системой человека как чужеродный, что потенциально может привести к иммунным реакциям, снижающим эффективность терапии или вызывающим побочные эффекты. Продолжаются исследования по разработке белков Cas9 с пониженной иммуногенностью и изучению временных методов доставки, которые сводят к минимуму активацию иммунитета [40, 41].

Расширение масштабов применения CRISPR создаёт дополнительные проблемы, особенно в контексте производства и доставки компонентов для редактирования генов для широкого клинического применения. Эффективные системы доставки имеют решающее значение для обеспечения того, чтобы компоненты

CRISPR достигали клеток-мишеней в достаточных количествах, не вызывая токсичности. В настоящее время изучаются достижения в области методов доставки на основе наночастиц и вирусных векторов для повышения эффективности и масштабируемости доставки [12, 42].

Перевод технологии CRISPR из сферы лабораторных исследований в сферу реальной терапии и диагностики предполагает преодоление ряда узких мест. Доклинические исследования должны тщательно оценивать безопасность и эффективность вмешательств на основе CRISPR, что требует разработки надёжных моделей на животных и комплексного геномного анализа для выявления побочных эффектов [43]. Нормативно-правовая база для терапии генным редактированием всё ещё развивается, что требует чётких руководящих принципов для обеспечения безопасности пациентов при одновременном стимулировании инноваций. Кроме того, необходимо наладить крупномасштабные производственные процессы для производства компонентов CRISPR клинического качества в соответствии с требованиями надлежащей производственной практики (GMP) [44].

Несмотря на эти многообещающие достижения, остаётся ряд проблем, включая риск побочных эффектов при применении CRISPR, этические соображения и ограничения при широкомасштабном клиническом интегрировании. Будущие исследования должны быть направлены на устранение этих пробелов с помощью повышения специфичности и нормативно-правовой базы.

В следующем десятилетии технология CRISPR окажет значительное влияние на персонализированную медицину и глобальное здравоохранение. В персонализированной медицине CRISPR может использоваться для разработки методов лечения, основанных на индивидуальной генетической структуре, что позволяет корректировать специфические мутации, ответственные за заболевание [45]. Например, редактирование полученных от пациента клеток *ex vivo* с последующей аутологичной трансплантацией оказалось успешным для лечения некоторых заболеваний крови. В сфере глобального здравоохранения диагностика на основе CRISPR предлагает быстрые, чувствительные и экономически эффективные инструменты для выявления инфекционных заболеваний, которые особенно ценны в условиях ограниченных ресурсов. Кроме того, потенциал CRISPR по модификации переносчиков болезней, таких как комары, открывает возможности для борьбы с трансмиссивными болезнями, такими как малярия [46].

Заключение / Conclusion

В заключение следует отметить, что технология CRISPR, несомненно, изменила ландшафт современной медицины, обеспечив беспрецедентную точность и универсальность диагностики и лечения заболеваний. Потенциал CRISPR огромен –– от революционной диагностики с помощью таких инструментов, как SHERLOCK и DETECTR, до прорывных методов лечения моногенных заболеваний, рака и инфекционных болезней. Новые инновации, такие как первичное редактирование (prime-editing) и новые системы доставки, продолжают совершенствовать его возможности и расширять область применения. Однако необходимо решить значительные проблемы, включая побочные эффекты, иммунные реакции и доступность, чтобы превратить лабораторные достижения в справедливые решения, применяемые в реальном мире. По мере развития технологии CRISPR междисциплинарное сотрудничество между исследователями, клиницистами, специалистами по этике и политиками становится всё более актуальным. Эти совместные усилия обеспечат ответственную и всеобъемлющую реализацию глубоких преимуществ CRISPR и сформируют будущее, в котором прецизионная медицина и достижения глобального здравоохранения станут реальностью для всех.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Конфликт интересов
Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Финансирование
Исследование не имело финансирования.

ADDITIONAL INFORMATION

Conflict of interests
The author declares that there is no conflict of interest.

Funding
The study had no funding.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Киролос Эскандар — Хелуанский университет, факультет медицины и хирургии, Каир, Египет
Автор, ответственный за переписку
e-mail: kiroloss.eskandar@gmail.com
ORCID ID: 0000-0003-0085-3284

ABOUT THE AUTHORS

Kirolos Eskandar — Helwan University, Faculty of Medicine and Surgery, Cairo, Egypt
Corresponding author
e-mail: kiroloss.eskandar@gmail.com
ORCID ID: 0000-0003-0085-3284

Список литературы / References

1. Pastori D, Cormaci VM, Marucci S, et al. A Comprehensive Review of 1. Li T, Li S, Kang Y, Zhou J, Yi M. Harnessing the evolving CRISPR/Cas9 for precision oncology. *Journal of Translational Medicine*. 2024;22(1). https://doi.org/10.1186/s12967-024-05570-4

2. Aljabali AA, El-Tanani M, Tambuwala MM. Principles of CRISPR-Cas9 technology: Advancements in genome editing and emerging trends in drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 2024;92:105338. https://doi.org/10.1016/j.jddst.2024.105338

3. Wani AK, Akhtar N, Mir TUG, Chopra C, Singh R, Hong JC, Kadam US. CRISPR/Cas12a-based biosensors for environmental monitoring and diagnostics. *Environmental Technology & Innovation*. 2024;34:103625. https://doi.org/10.1016/j.eti.2024.103625

4. Puig-Serra P, Casado-Rosas MC, Martinez-Lage M, Olalla-Sastre B, Alonso-Yanez A, Torres-Ruiz R, Rodriguez-Perales S. CRISPR Approaches for the Diagnosis of Human Diseases. *Int J Mol Sci*. 2022 Feb 3;23(3):1757. doi: 10.3390/ijms23031757.

5. Baig MMFA, Chair SY, Chien WT. CRISPR/Cas systems for genomic Editing, biochemical Sensing, Bioanalysis, and diagnostics. *Microchemical Journal*. 2025;112638. https://doi.org/10.1016/j.microc.2024.112638

6. Ghouneimy A, Mahas A, Marsic T, Aman R, Mahfouz M. CRISPR-Based Diagnostics: Challenges and Potential Solutions toward Point-of-Care Applications. *ACS Synth Biol*. 2023 Jan 20;12(1):1-16. doi: 10.1021/acssynbio.2c00496.

7. Kaminski MM, Abudayyeh OO, Gootenberg JS, Zhang F, Collins JJ. CRISPR-based diagnostics. *Nat Biomed Eng*. 2021 Jul;5(7):643-656. doi: 10.1038/s41551-021-00760-7.

8. Ebrahimi S, Khanbabaei H, Abbasi S, Fani M, Soltani S, Zandi M, Najafimemar Z. CRISPR-Cas System: A Promising Diagnostic Tool for Covid-19. *Avicenna J Med Biotechnol*. 2022 Jan-Mar;14(1):3-9. doi: 10.18502/ajmb.v14i1.8165.

9. Wang J, Liu F, Long J, Jin Y, Chen S, Duan G, Yang H. The application of CRISPR-Cas system in Staphylococcus aureus infection. *Heliyon*. 2024$10(14):e34383. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e34383

10. Deol P, Madhwal A, Sharma G, Kaushik R, Malik YS. CRISPR use in diagnosis and therapy for COVID-19. *Methods Microbiol*. 2022;50:123-150. doi: 10.1016/bs.mim.2022.03.002.

11. Hadi R, Poddar A, Sonnaila S, Bhavaraju VSM, Agrawal S. Advancing CRISPR-Based Solutions for COVID-19 Diagnosis and Therapeutics. *Cells*. 2024 Oct 30;13(21):1794. doi: 10.3390/cells13211794.

12. Chehelgerdi M, Chehelgerdi M, Khorramian-Ghahfarokhi M, Shafieizadeh M, Mahmoudi E, Eskandari F, Rashidi M, Arshi A, Mokhtari-Farsani A. Comprehensive review of CRISPR-based gene editing: mechanisms, challenges, and applications in cancer therapy. *Mol Cancer*. 2024 Jan 9;23(1):9. doi: 10.1186/s12943-023-01925-5. Erratum in: Mol Cancer. 2024 Feb 27;23(1):43. doi: 10.1186/s12943-024-01961-9.

13. Wang X, Wang L, Lin H, Zhu Y, Huang D, Lai M, Xi X, Huang J, Zhang W, Zhong T. Research progress of CTC, ctDNA, and EVs in cancer liquid biopsy. *Front Oncol*. 2024 Jan 25;14:1303335. doi: 10.3389/fonc.2024.1303335.

14. Hassan YM, Mohamed AS, Hassan YM, El-Sayed WM. Recent developments and future directions in point-of-care next-generation CRISPR-based rapid diagnosis. *Clinical and experimental medicine*. 2025;25(1):33. https://doi.org/10.1007/s10238-024-01540-8.

15. Carpenter Rob E. Navigating the new norm: The FDA's final rule on laboratory developed tests (LDTs) and its impact on clinical laboratory operations. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2024;48:Pages 1-8. https://doi.org/10.1016/j.clinmicnews.2024.09.001.

16. Abdelnour SA, Xie L, Hassanin AA, Zuo E, Lu Y. The Potential of CRISPR/Cas9 Gene Editing as a Treatment Strategy for Inherited Diseases. *Front Cell Dev Biol*. 2021 Dec 15;9:699597. doi: 10.3389/fcell.2021.699597.

17. Lattanzi A, Camarena J, Lahiri P, Segal H, Srifa W, Vakulskas CA, Frock RL, Kenrick J, Lee C, Talbott N, Skowronski J, Cromer MK, Charlesworth CT, Bak RO, Mantri S, Bao G, DiGiusto D, Tisdale J, Wright JF, Bhatia N, Roncarolo MG, Dever DP, Porteus MH. Development of β-globin gene correction in human hematopoietic stem cells as a potential durable treatment for sickle cell disease. *Sci Transl Med*. 2021 Jun 16;13(598):eabf2444. doi: 10.1126/scitranslmed.abf2444.

18. Tariq H, Khurshid F, Khan MH, Dilshad A, Zain A, Rasool W, Jawaid A, Kunwar D, Khanduja S, Akbar A. CRISPR/Cas9 in the treatment of sickle cell disease (SCD) and its comparison with traditional treatment approaches: a review. *Ann Med Surg (Lond)*. 2024 Aug 14;86(10):5938-5946. doi: 10.1097/MS9.0000000000002478.

19. Tao R, Han X, Bai X, Yu J, Ma Y, Chen W, Zhang D, Li Z. Revolutionizing cancer treatment: enhancing CAR-T cell therapy with CRISPR/Cas9 gene editing technology. *Front Immunol*. 2024 Feb 21;15:1354825. doi: 10.3389/fimmu.2024.1354825.

20. Lei T, Wang Y, Zhang Y, Yang Y, Cao J, Huang J, Chen J, Chen H, Zhang J, Wang L, Xu X, Gale RP, Wang L. Leveraging CRISPR gene editing technology to optimize the efficacy, safety and accessibility of CAR T-cell therapy. *Leukemia*. 2024 Dec;38(12):2517-2543. doi: 10.1038/s41375-024-02444-y.

21. Zahedipour F, Zahedipour F, Zamani P, Jaafari MR, Sahebkar A. Harnessing CRISPR technology for viral therapeutics and vaccines: from preclinical studies to clinical applications. *Virus Res*. 2024 Mar;341:199314. doi: 10.1016/j.virusres.2024.199314.

22. Stone D, Long KR, Loprieno MA, De Silva Feelixge HS, Kenkel EJ, Liley RM, Rapp S, Roychoudhury P, Nguyen T, Stensland L, Colón-Thillet R, Klouser LM, Weber ND, Le C, Wagoner J, Goecker EA, Li AZ, Eichholz K, Corey L, Tyrrell DL, Greninger AL, Huang ML, Polyak SJ, Aubert M, Sagartz JE, Jerome KR. CRISPR-Cas9 gene editing of hepatitis B virus in chronically infected humanized mice. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2020 Nov 26;20:258-275. doi: 10.1016/j.omtm.2020.11.014.

23. Nouri Nojadeh J, Bildiren Eryilmaz NS, Ergüder BI. CRISPR/Cas9 genome editing for neurodegenerative diseases. *EXCLI J*. 2023 Jul 3;22:567-582. doi: 10.17179/excli2023-6155.

24. Kolanu ND. CRISPR-Cas9 Gene Editing: Curing Genetic Diseases by Inherited Epigenetic Modifications. *Glob Med Genet*. 2024 Mar 29;11(1):113-122. doi: 10.1055/s-0044-1785234.

25. Zeballos C MA, Gaj T. Next-Generation CRISPR Technologies and Their Applications in Gene and Cell Therapy. *Trends Biotechnol*. 2021 Jul;39(7):692-705. doi: 10.1016/j.tibtech.2020.10.010.

26. Rees HA, Liu DR. Base editing: precision chemistry on the genome and transcriptome of living cells. *Nat Rev Genet*. 2018 Dec;19(12):770-788. doi: 10.1038/s41576-018-0059-1. Erratum in: Nat Rev Genet. 2018 Dec;19(12):801. doi: 10.1038/s41576-018-0068-0.

27. Chen PJ, Liu DR. Prime editing for precise and highly versatile genome manipulation. *Nat Rev Genet*. 2023 Mar;24(3):161-177. doi: 10.1038/s41576-022-00541-1.

28. Paul B, Montoya G. CRISPR-Cas12a: Functional overview and applications. *Biomed J*. 2020 Feb;43(1):8-17. doi: 10.1016/j.bj.2019.10.005.

29. Gupta R, Ghosh A, Chakravarti R, Singh R, Ravichandiran V, Swarnakar S, Ghosh D. Cas13d: A New Molecular Scissor for Transcriptome Engineering. *Frontiers in cell and developmental biology*. 2022;10:866800. https://doi.org/10.3389/fcell.2022.866800.

30. Asmamaw Mengstie M. Viral Vectors for the in Vivo Delivery of CRISPR Components: Advances and Challenges. *Front Bioeng Biotechnol*. 2022 May 12;10:895713. doi: 10.3389/fbioe.2022.895713.

31. Wei PS, Thota N, John G, Chang E, Lee S, Wang Y, Ma Z, Tsai YH, Mei KC. Enhancing RNA-lipid nanoparticle delivery: Organ- and cell-specificity and barcoding strategies. *J Control Release*. 2024 Nov;375:366-388. doi: 10.1016/j.jconrel.2024.08.030.

32. Ayanoğlu FB, Elçin AE, Elçin YM. Bioethical issues in genome editing by CRISPR-Cas9 technology. *Turk J Biol*. 2020 Apr 2;44(2):110-120. doi: 10.3906/biy-1912-52.

33. Lau PL. Evolved Eugenics and Reinforcement of "Othering": Renewed Ethico-Legal Perspectives of Genome Editing in Reproduction. *BioTech (Basel)*. 2023 Jul 11;12(3):51. doi: 10.3390/biotech12030051.

34. National Human Genome Research Institute. (n.d.). Ethical concerns about genome editing. Retrieved January 25, 2025, from https://www.genome.gov/about-genomics/policy-issues/Genome-Editing/ethical-concerns

35. Genetic Literacy Project. (n.d.). EU germline and embryonic gene editing regulations. Retrieved January 25, 2025, from https://crispr-gene-editing-regs-tracker.geneticliteracyproject.org/eu-germline-embryonic/

36. Rueda J, de Miguel Beriain Í, Montoliu L. Affordable Pricing of CRISPR Treatments is a Pressing Ethical Imperative. *CRISPR J*. 2024 Oct;7(5):220-226. doi: 10.1089/crispr.2024.0042.

37. Subica AM. CRISPR in Public Health: The Health Equity Implications and Role of Community in Gene-Editing Research and Applications. *Am J Public Health*. 2023 Aug;113(8):874-882. doi: 10.2105/AJPH.2023.307315.

38. Liu W, Li L, Jiang J, Wu M, Lin P. Applications and challenges of CRISPR-Cas gene-editing to disease treatment in clinics. *Precis Clin Med*. 2021 Jul 10;4(3):179-191. doi: 10.1093/pcmedi/pbab014.

39. Zhang L, He W, Fu R, Wang S, Chen Y, Xu H. Guide-specific loss of efficiency and off-target reduction with Cas9 variants. *Nucleic Acids Res*. 2023 Oct 13;51(18):9880-9893. doi: 10.1093/nar/gkad702.

40. Mehta A, Merkel OM. Immunogenicity of Cas9 Protein. *J Pharm Sci*. 2020 Jan;109(1):62-67. doi: 10.1016/j.xphs.2019.10.003.

41. Ewaisha R, Anderson KS. Immunogenicity of CRISPR therapeutics-Critical considerations for clinical translation. *Front Bioeng Biotechnol.* 2023 Feb 16;11:1138596. doi: 10.3389/fbioe.2023.1138596.

42. Du Y, Liu Y, Hu J, Peng X, Liu Z. CRISPR/Cas9 systems: Delivery technologies and biomedical applications. *Asian J Pharm Sci.* 2023 Nov;18(6):100854. doi: 10.1016/j.ajps.2023.100854.

43. Zhang H, Qin C, An C, Zheng X, Wen S, Chen W, Liu X, Lv Z, Yang P, Xu W, Gao W, Wu Y. Application of the CRISPR/Cas9-based gene editing technique in basic research, diagnosis, and therapy of cancer. *Mol Cancer.* 2021 Oct 1;20(1):126. doi: 10.1186/s12943-021-01431-6.

44. Drago D, Foss-Campbell B, Wonnacott K, Barrett D, Ndu A. Global regulatory progress in delivering on the promise of gene therapies for unmet medical needs. *Mol Ther Methods Clin Dev.* 2021 Apr 5;21:524-529. doi: 10.1016/j.omtm.2021.04.001.

45. Watters KE, Kirkpatrick J, Palmer MJ, Koblentz GD. The CRISPR revolution and its potential impact on global health security. *Pathog Glob Health.* 2021 Mar;115(2):80-92. doi: 10.1080/20477724.2021.1880202.

46. Morshedzadeh F, Ghanei M, Lotfi M, Ghasemi M, Ahmadi M, Najari-Hanjani P, Sharif S, Mozaffari-Jovin S, Peymani M, Abbaszadegan MR. An Update on the Application of CRISPR Technology in Clinical Practice. *Mol Biotechnol.* 2024 Feb;66(2):179-197. doi: 10.1007/s12033-023-00724-z.