

# Перспективы применения системы CRISPR/Cas9 с позиции клинической фармакологии

А.С. Колбин<sup>1,2</sup>, Ю.М. Гомон<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени акад. И.П. Павлова, <sup>2</sup>Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург

**Для корреспонденции:**  
А.С. Колбин. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6-8.  
alex.kolbin@mail.ru.

**Для цитирования:**  
Колбин А.С., Гомон Ю.М. Перспективы применения системы CRISPR/Cas9 с позиции клинической фармакологии. Клин фармакол тер 2024; 33(2):7-15 [Kolbin AS, Gomon YuM. The use of the CRISPR/Cas9 system from the perspective of clinical pharmacology. Klinicheskaya farmakologiya i terapiya = Clin Pharmacol Ther 2024; 33(2):7-15 (In Russ.). DOI 10.32756/0869-5490-2024-2-7-15.

Система CRISPR/Cas9 является инструментом редактирования генома и может быть использована у человека для лечения широкого круга заболеваний. В обзоре описаны этапы открытия системы CRISPR/Cas9 и первые случаи клинического применения, основные элементы системы и механизм ее действия, варианты платформ доставки систем редактирования в клетку, а также этические аспекты редактирования генома. Рассмотрены вопросы фармакокинетики, фармакодинамики, дозирования и безопасности. Приведены примеры применения CRISPR/Cas9 *ex vivo* и *in vivo* в клинических исследованиях.

**Ключевые слова.** CRISPR/Cas9, редактирование генов, клиническая фармакология.

Одним из современных подходов к классификации лекарственных средств в клинической фармакологии является их распределение в зависимости от таких факторов, как “зрелость” процессов производства, клинический опыт применения или готовность к клиническому применению, рентабельность производства и законодательно установленные механизмы возмещения прямых затрат [1]. Еще один важный критерий – возможность мониторинга нежелательных явлений и их предотвращения через систему управления рисками в рамках работы системы фармаконадзора [2]. Исходя из совокупности указанных факторов, выделяют “состоявшиеся лекарства (*mature*)”, к которым относят низкомолекулярные молекулы и биотехнологические препараты, и “развивающиеся лекарства (*advancing*)”, к которым прежде всего относятся медицинские продукты передовой терапии (*advanced therapy medicinal products*). Особый интерес вызывает третья группа – “зарождающиеся лекарства (*emerging*)”, одним из представителей которой счи-

тают систему редактирования генома CRISPR (*clustered regulatory interspaced short palindromic repeats*). Лекарства на основе систем редактирования генома относят к “генной терапии 2.0”, так как их применение позволяет отказаться от доставки в клетку здоровых генов, а напротив, обеспечить удаление или восстановление собственных генов [3]. Система редактирования генома с использованием CRISPR получила дополнительное развитие после присуждения J. Doudna и E. Charpentier в 2020 году Нобелевской премии по химии за метод редактирования генома. Обоснование CRISPR как “генетических ножниц” рассматривается как одно из важнейших научных достижений столетия (рис. 1) [4]. Существуют и другие методы редактирования генома, в частности с помощью нуклеаз (*zinc finger nucleases, ZFN*, или *transcription activator-like effector protein nucleases, TALEN*), которые могут распознавать любую последовательность ДНК длиной около 18–21 пары оснований [5,6]. Однако их использование является более сложным и дорогостоящим, чем применение системы CRISPR [7].

С целью систематизации данных о возможностях и перспективах применения CRISPR/Cas9 в клинической фармакологии был проведен поиск в базах Pubmed и Elibrary по ключевым словам [CRISPR/Cas9] AND [gene editing] OR [gene therapy], [редактирование генов] ИЛИ [генная терапия] ИЛИ [клиническая фармакология]. В результате были найдены 2703 научных публикации в период с 2013 по 2024 г., в том числе поисковые и доклинические исследования – 1570, клинические исследования – 90, статьи, посвященные совершенствованию технологии CRISPR, – 1043. Результаты анализа этих публикаций представлены в настоящем обзоре.

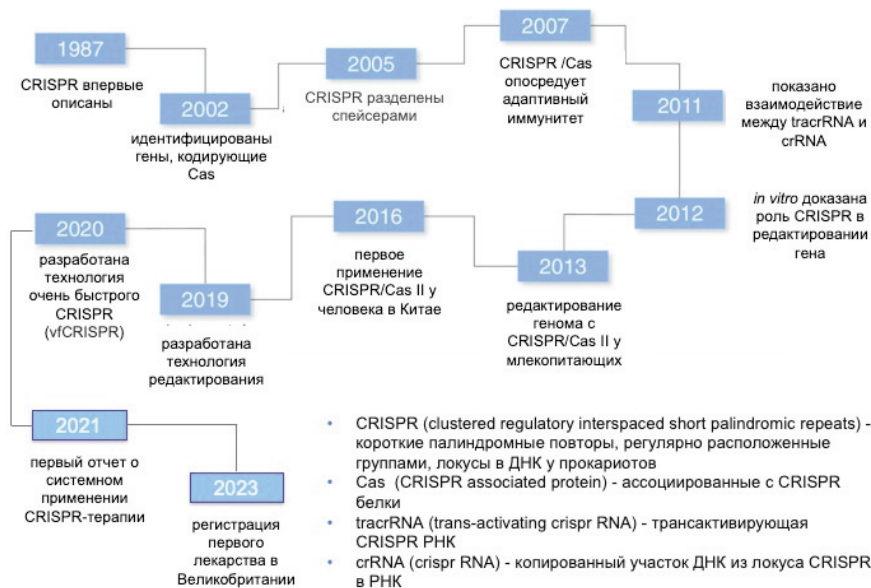


Рис. 1. Краткая история разработки системы CRISPR/Cas9 и связанных с ней инструментов редактирования генов [10]

### Открытие системы CRISPR/Cas9 и первое ее клиническое применение

В 1987 г. Y. Ishino и соавт. обнаружили повторяющиеся локусы в ДНК архей и бактерий, которые позднее были названы CRISPR – “короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами” (рис. 1) [8]. В 2002 г. был идентифицирован CRISPR-ассоциированный ген, расположенный рядом с локусом CRISPR и кодирующий ассоциированные с CRISPR белки (CRISPR-associated protein – Cas) [9]. Всего известно четыре таких гена и около 92 белков Cas, наиболее изученным среди которых считают Cas9, выделенный из *Streptococcus pyogenes*.

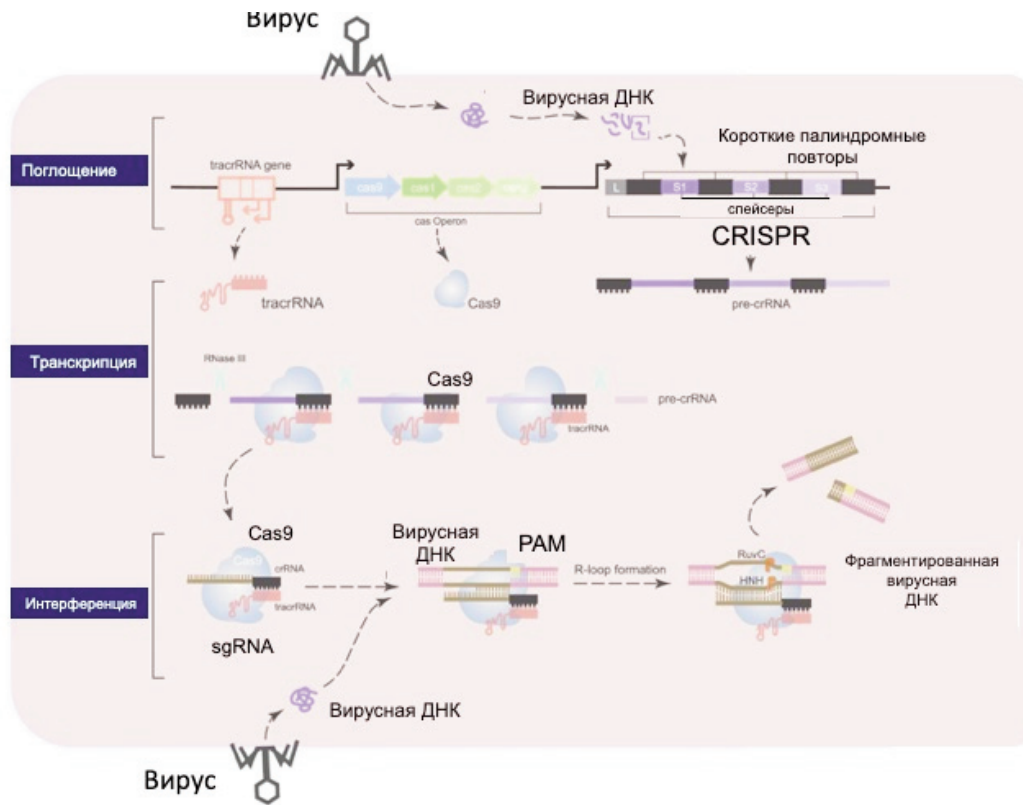
В 2005 г. было обнаружено, что CRISPR разделены уникальными последовательностями в виде спейсеров (рис. 2). Спейсеры, разделяющие CRISPR, соответствуют последовательности генов бактериофагов и плазмид. Функция указанного локуса была установлена через 2 года, когда было показано, что система CRISPR/Cas опосредует адаптивный иммунитет прокариот к бактериофагам. Так, после инфицирования бактериальной клетки вирусом бактерия интегрирует короткие отрезки вирусной ДНК в свой геном, что в будущем предотвращает их повторное заражение данными вирусами (рис. 2). В 2011 г. было описано взаимодействие между разными РНК в системе CRISPR в процессе адаптивного иммунитета у бактерий. Через год в знаковой статье M. Jinek и соавт. (2012 г.) сообщалось, что CRISPR-ассоциированные нуклеазы можно запрограммировать на выполнение точного разреза в определенных участках ДНК [4]. В 2013 г. с помощью системы CRISPR/Cas II типа было осуществлено редактирование эндогенных участков генома в клетках млекопитающих [11]. Уже через 3 года система редакти-

рования генов CRISPR/Cas9 была впервые применена у человека (рис. 1). У пациента с метастатическим немелкоклеточным раком легкого из крови были выделены иммунные клетки, в которых с помощью CRISPR/Cas9 был выключен ген, кодирующий белок PD-1 (*programmed cell death 1*). После культивирования отредактированные клетки были введены обратно пациенту [12].

Первый отчет о системном применении CRISPR терапии был опубликован в 2021 г.: у 6 пациентов с наследственным транстретинновым амилоидозом применение системы редактирования генов *in vivo* привело к снижению концентрации транстретина в плазме за счет выключения соответствующего гена (NCT04601051) [13]. В 2023 г. в Великобритании и Европейском союзе, а в 2024 г. в США компаниями Vertex Pharmaceuticals и CRISPR Therapeutics был зарегистрирован первый лекарственный препарат на основе CRISPR под торговым наименованием Casgevy (эксагамглоген аутотемцел) для лечения серповидноклеточной анемии и трансфузионно-зависимой бета-талассемии [14]. Носителем данного лекарственного средства является лентивирус. Компоненты редактирования CRISPR вводятся в гемопоэтические стволовые клетки, выделенные из костного мозга пациентов. Лекарство не устраняет мутацию гена при серповидноклеточной анемии, но индуцирует отключающийся вскоре после рождения ген фетального гемоглобина, являющегося основным переносчиком кислорода у плода. Это происходит за счет отключения гена *BCL11A*, который подавляет транскрипцию гена  $\gamma$ -глобина, образующего тетрамерный белок вместе с  $\alpha$ -глобином. Возобновление синтеза фетального гемоглобина позволяет уменьшить последствия образования аномальной формы гемоглобина.

### Структура и механизм действия CRISPR/Cas9

CRISPR/Cas9 представляют собой комплекс рибонуклеопротеина, способный совершать разрывы в двуспиральной ДНК (*double-stranded breaks, DSBs*). Выделяют три основных типа рибонуклеопротеинов и еще 12 подтипов [7,10,15,16]. По сравнению с типами I и III, система II опирается на один белок Cas для точного нацеливания на определенную последовательность ДНК, поэтому она стала наиболее часто используемым инструментом редактирования генома [4]. При инфицировании бактериальной клетки вирусом процесс взаимодействия вирусной ДНК и ДНК бактерий происходит в 3 стадии: поглощение, транскрипция и интерференция (рис. 2) [10,15-19].



**Рис. 2. Механизм действия системы CRISPR/Cas9 типа II [10].** CRISPR (clustered regulatory interspaced short palindromic repeats) – короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами, ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота, Cas (CRISPR associated protein) – ассоциированные с CRISPR белки, tracrRNA (trans-activating crisper RNA) – трансктивирующая CRISPR РНК, crRNA (crisper RNA) – копированный участок ДНК из локуса CRISPR в РНК, sgRNA (single guide RNA) – одна направляющая РНК, PAM (protospacer adjacent motif) – мотив, примыкающий к протоспейсеру

На стадии поглощения при первом попадании вируса в бактериальную клетку вирусная ДНК интегрируется в область спейсеров (протоспейсера), что позволяет бактериям запоминать вторгшийся вирус (рис. 2). При повторном заражении вирусом того же типа запускается стадия транскрипции. РНК-полимераза копирует участок ДНК из спейсерных областей CRISPR с образованием незрелой CRISPR РНК (*pre-crRNA*). Параллельно с *pre-crRNA* происходит транскрипция трансктивирующей CRISPR РНК (*trans-activating CRISPR RNA* – *tracrRNA*). Системам CRISPR/Cas типа II требуется *tracrRNA*, которая играет роль в созревании *crRNA*. Каждая *crRNA* состоит из повторяющейся последовательности и спейсерной последовательности комплементарной ДНК вируса. Затем происходит образование комплекса *tracrRNA* и зрелой *crRNA*, который загружается на белок Cas9, образуя активный комплекс рибонуклеопротеина.

На стадии интерференции *crRNA* направляет рибонуклеопротеин к участку протоспейсера вторгающейся ДНК вируса. Однако Cas9 не будет расщеплять последовательность протоспейсера, если не существует соседней последовательности PAM (*protospacer adjacent motif*, мотив, примыкающий к протоспейсеру). PAM представляет собой короткую последовательность нуклеотидов (2–5 пар оснований) вторгающейся в клетку

вирусной ДНК, примыкающих к последовательности, нацеленной на *crRNA* [20]. При этом спейсер в бактериальных локусах CRISPR не содержит последовательность PAM, что защищает его от действия нуклеазы Cas9 [21].

Важным является то, что структура *tracrRNA* и зрелой *crRNA* может представлять собой одну направляющую РНК (*single guide RNA*, *sgRNA*) (рис. 2 и 3). Таким образом, изменение мишени CRISPR/Cas9 требует только модификации последовательности *sgRNA*. Это позволило адаптировать систему редактирования генома CRISPR/Cas9 в качестве инструмента для модификации генетического материала в различных типах клеток в отношении различных мишеней [4]. Такой подход называют CRISPR терапией.

### Платформы доставки CRISPR/Cas9

CRISPR/Cas9 используют *ex vivo* (вне организма) для модификации генома и культивирования клеток пациента в лаборатории перед возвращением их пациенту и непосредственно *in vivo*. Чтобы в полной мере использовать потенциал редактирования генов CRISPR/Cas9, необходимо эффективно ввести систему редактирования в клетки-мишени с использованием соответствующих векторов [22,23]. Выделяют вирусные и невирусные векторы.

**Вирусные векторы.** Среди многих вирусных векторов для доставки систем редактирования генома в доклинических и клинических исследованиях чаще всего используют аденоассоциированный вирус (*adenoassociated virus, AAV*) и лентивирус [24-26].

**Невирусные векторы.** Невирусные векторы обладают рядом преимуществ по сравнению с вирусными векторами, в частности, низкой иммуногенностью, высокой биосовместимостью, хорошей переносимостью, а также низкой стоимостью [27,28]. Системы доставки лекарств, основанные на нанотехнологиях (липидные, полимерные, золотые наночастицы), потенциально расширяют возможности применения терапии CRISPR/Cas9 и повышают ее безопасность. Прежде всего изучают роль липидных наночастиц (*lipid-based nanoparticles, LNP*).

Преимущества и недостатки каждого из видов векторов представлены в табл. 1.

### Фармакокинетика CRISPR/Cas9 in vivo

Основными средствами доставки CRISPR/Cas9 *in vivo* на 2023 г. являются векторы LNP и AAV [7,29].

**Векторы на основе липидных наночастиц (LNP).** Фармакокинетика LNP при внутривенном введении в значительной степени определяется характеристиками наночастиц. После внутривенного введения наночастицы подвергаются воздействию множества клеток и биомолекул, присутствующих в сосудистой системе, по мере их распространения в ткани и органы. На поверхности наночастиц может адсорбироваться белок [30]. Наночастицы могут выводиться из кровообращения системой мононуклеарных фагоцитов, почками и гепатобилиарной системой [31]. Более крупные частицы, не подвергающиеся фагоцитозу, выводятся печенью с

калом. Наночастицы, которые остаются в крови, поглощаются клетками и высвобождают нуклеиновую кислоту в цитозоле. Способность наночастиц достигать органа-мишени в первую очередь определяется перфузией тканей. Считается, что наночастицы проникают в сосуды либо путем транспорта через внутриклеточные фенестрации, либо посредством трансцитоза. После экстравазации наночастица становится доступной для клеточного поглощения, чаще всего путем эндоцитоза (рис. 3). Благодаря высокой перфузии и фенестрации эндотелия печень особенно хорошо подходит в качестве органа-мишени для системной доставки наночастиц и для генной терапии.

**Векторы на основе аденоассоциированного вируса (AAV).** Показатели фармакокинетики препаратов на основе AAV подробно описаны N. Chen и соавт. (2022 г.) [32]. Важным фактором, определяющим тропизм AAV, а также путь элиминации, является его серотип. При использовании AAV следует учитывать риск инфицирования пациентов, поэтому в клинических исследованиях оценивают инфицированность секретов, например, мочи, кала, слюны, а также крови и спермы [29]. При применении в качестве переносчика рекомбинантного AAV, не способного к репликации, риск инфицирования пациентов сводится к минимуму.

### Фармакодинамика

В результате работы CRISPR/Cas9 происходит двухцепочечный разрыв ДНК клетки-мишени с последующей репарацией эндогенной ДНК (рис. 3). Репарация может осуществляться двумя механизмами: посредством негомологического соединения концов (*non-homologous end joining, NHEJ*) и гомологической репарации (*homology-directed repair, HDR*). Последний вариант позволяет

**ТАБЛИЦА 1. Преимущества и недостатки стратегий доставки систем редактирования генома [23]**

Стратегия доставки	Объект доставки	Ограничения	Преимущества	Применение
Лентивирус	CRISPR/Cas9 и sgRNA	Риск нецелевых мутаций и ограниченная загрузочная способность в 10 кб оснований	Доставка CRISPR в клетки за одну трансфекцию и высокая способность к клонированию. Низкая иммуногенность и стоимость	<i>In vitro</i>
Аденоассоциированный вирус	CRISPR/Cas9	Включает фрагмент размером 4,7 кб, который легко интегрируется в геном хозяина	Структурная гибкость, разнообразие серотипов и легкая адаптация для подавления иммунного ответа.	<i>In vitro</i> и <i>in vivo</i>
Аденовирус	CRISPR/Cas9	Упаковка ограничена фрагментами размером 8 кб, иммунные реакции при наличии антител к аденовирусу, сложность производства	Более низкий риск нежелательных лекарственных реакций и мутагенеза, а также лучшие клинические исходы	<i>In vivo</i>
Вирусоподобные наночастицы	PHK	Ограниченные возможности использования в практике вследствие нестабильности	Превосходная биозащита, низкая иммуногенность и пластичность	<i>In vivo</i>
Липосомы	CRISPR/Cas9	Высокие требования к условиям хранения и транспортировки, ограничения по объему доставляемой ДНК	Высокая эффективность загрузки, безопасность редактирования, точность и специфичность	<i>In vivo</i>
Экзосомы	CRISPR/Cas9	Сложная технология производства, экстремальные условия хранения и транспортировки, а также нестабильность	Естественная способность к нацеливанию, сниженный иммунный ответ и превосходная биозащита	<i>In vivo</i>
Полимеры	CRISPR/Cas9 sgRNA	Может накапливаться, а также дестабилизироваться	Малый размер, контролируемое высвобождение, способность к биологическому разложению, более низкая иммуногенность	<i>In vivo</i>
Неорганические наночастицы	CRISPR/Cas9	Медленная деградация <i>in vivo</i> , накопление в печени и специфическая токсичность <i>in vivo</i>	Малый размер, высокая эффективность доставки, замедленное контролируемое высвобождение, целенаправленное действие и способность покидать клетку	<i>In vivo</i>



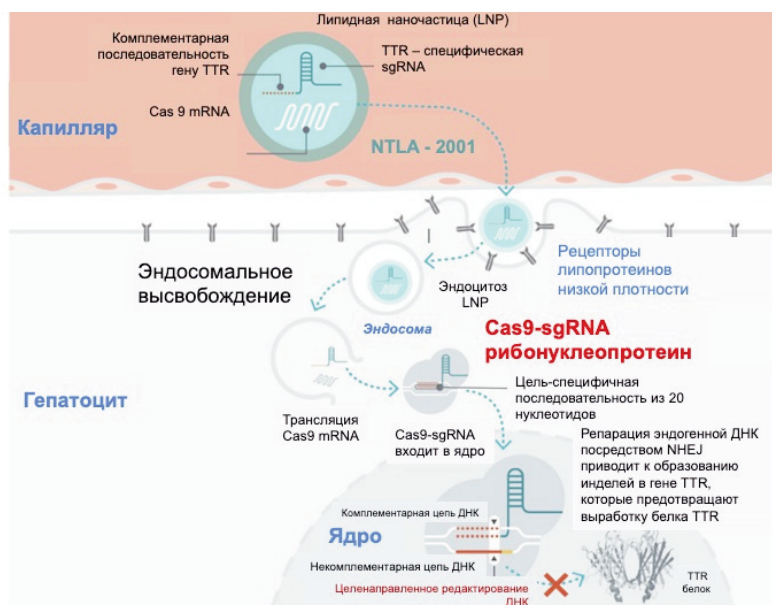


Рис. 3. Механизм действия NTLA-2004 при ATTR-амилоидозе [29]

искусственно сконструировать гомологичный фрагмент ДНК-матрицы (донорскую) и интегрировать его в геномную ДНК клетки для выключения гена [33]. HDR характеризуется более высокой точностью и предполагает наличие матрицы, обеспечивающей правильную последовательность исходной цепи ДНК [38]. Для осуществления DSB в правильном положении и запуска последовательности событий репарации ДНК используют программируемые нуклеазы.

В процессе NHEJ возможна потеря или выключение отдельных генов из-за сдвига матрицы [34–37]. Такой вариант репарации подвержен ошибкам, которые могут привести к накоплению небольших удалений и вставок в месте DSB. Ожидаемым результатом терапевтического редактирования генома является необратимое изменение последовательности ДНК, которое приводит к снижению продукции белка [29].

На рис. 3 изображен механизм действия CRISPR терапии с помощью лекарственного средства для лечения транстиретинового амилоидоза NTLA-2001, которое состоит из липидных наночастиц (LNP), содержащих молекулы CRISPR/Cas9 и одну молекулу направляющей РНК (sgRNA), специфичную для гена человека, кодирующего транстиретин [29]. После внутривенного введения NTLA-2001 поглощается печенью за счет взаимодействия с рецепторами липопротеинов низкой плотности с последующим эндоцитозом. мРНК Cas9 и sgRNA высвобождаются в цитоплазму, где мРНК Cas9 с помощью рибосом клетки хозяина транслируется в белок Cas9. Затем sgRNA связывается с белком Cas9, образуя рибонуклеопротеиновый комплекс Cas9-sgRNA. Комплекс проникает в ядро и распознает мотив, примыкающий к протоспейсеру (PAM) на некомплементарной цепи ДНК клетки человека. sgRNA связывается с целевым сайтом, что приводит к измене-

ниям в белке Cas9 и, в конечном итоге, к двухцепочечному разрыву ДНК. Эндогенные механизмы обеспечивают восстановление разреза и создание вставок или делеций (инделов), что приводит к снижению выработки транстиретирина.

### Выбор дозы

При CRISPR терапии, как и при генной терапии, имеются сложности с выбором эффективной терапевтической дозы [39]. Разработке CRISPR терапии предшествовала разработка малых интерферирующих РНК (*small interfering RNA*, siRNA), поэтому накопленный опыт их применения послужил отправной точкой при выборе дозы лекарственных средств CRISPR терапии. Примером расчета дозы CRISPR терапии *in vivo* является расчет дозы лекарственного средства NTLA-2001 для лечения пациентов с транстиретиновым амилоидозом [29]. Доклинические исследования на мышах и яванских макаках

показали, что однократное введение NTLA-2001 хорошо переносится и приводит к выраженному снижению сывороточного содержания транстиретирина. Доза NTLA-2001, не вызывавшая нежелательных реакций у яванских макак, составила 3 мг/кг. Максимальная рекомендуемая начальная доза NTLA-2001 была определена как 0,1 мг/кг на основе масштабирования общей площади поверхности тела и коэффициента безопасности 10. В открытом многоцентровом исследовании “доза-эффект” были изучены результаты введения NTLA-2001 в дозах 0,1–1,0 мг/кг. В дозах 0,7 и 1,0 мг/кг препарат вызывал снижение содержания транстиретирина более чем на 90% через 28 дней, а достигнутый эффект сохранялся в течение 4–6 месяцев. Лекарство в указанных дозах хорошо переносилось, что в сочетании с фармакокинетическими данными указывало на отсутствие необходимости в дополнительной коррекции дозы по площади поверхности тела [40]. Для дальнейшего изучения эффективности была выбрана фиксированная доза 55 мг, эквивалентная 0,7 мг/кг.

### Примеры применения системы CRISPR/Cas9 в исследованиях

В обзоре В. Серси и соавт. (2023 г.) представлена подробная информация о 28 исследованиях, в которых CRISPR/Cas9 вводили *ex vivo*, и 6 исследованиях – *in vivo* [7].

### Исследования, в которых CRISPR/Cas9 использовали *ex vivo*

**ВИЧ-инфекция.** В настоящее время в лечении пациентов с ВИЧ-инфекцией рассматривается сочетание технологии CRISPR с высокоактивной антиретровирусной терапией, которое потенциально позволит одновременно ингибировать репликацию вируса и удалять фраг-

менты ДНК вируса иммунодефицита человека, интегрированные в геном человека [41]. В настоящее время большинство исследований, предполагавших редактирование генома ВИЧ-инфицированных клеток, проведены *in vitro*, в то время как внедрение этого метода в клиническую практику требует проведения дальнейших экспериментов *in vivo* [42].

**Мышечная дистрофия Дюшенна** — X-сцепленное рецессивное генетическое заболевание, характеризующееся мутациями в гене дистрофина и сопровождающееся прогрессирующим поражением скелетных мышц в сочетании с кардиомиопатией [43]. Потенциальное направление разработки генной терапии мышечной дистрофии Дюшенна — использование системы CRISPR/Cas для вставки гена *Dys* [23,44]. В доклиническом исследовании у собак показано, что замена гена приводит к увеличению экспрессии дистрофина и клиническому улучшению [45]. Результаты лечения зависели от возраста животных и тяжести мышечной патологии на момент вмешательства.

**Гемофилия** — наследственное нарушение свертывания крови в результате дефицита факторов VIII (гемофилия А) или IX (гемофилия В). В эксперименте J. Lee и соавт. (2023 г.) с помощью системы CRISPR/Cas9 был введен ген человеческого фактора IX в ген антитромбина. В результате было достигнуто снижение уровня антитромбина и увеличение продукции фактора IX, что привело к улучшению функции свертывания крови [46].

**Муковисцидоз** — аутосомно-рецессивное моногенное наследственное заболевание, характеризующееся поражением всех экзокринных желез, а также жизненно важных органов и систем и связанное с мутациями гена регулятора трансмембранной проводимости (*Transmembrane Conductance Regulator, CFTR*), которые вызывают нарушение транспорта ионов хлора. S. Amistadi и соавт. (2023 г.) использовали стратегию редактирования адениновых оснований на основе CRISPR для коррекции мутаций без индуцирования двухпочечных разрывов ДНК. Эффективность метода достигала 70% [47]. В настоящее время генная терапия муковисцидоза с использованием системы редактирования CRISPR/Cas9 была успешно использована на нескольких моделях заболевания у животных [48].

**$\beta$ -талассемия.** Талассемия — это группа аутосомно-рецессивных гемоглобинопатий, сопровождающихся нарушением синтеза альфа- или бета-глобиновых цепей, входящих в состав гемоглобина, которое приводит к неэффективному эритропоэзу, преждевременному разрушению эритроцитов и развитию анемии с формированием зон экстрамедуллярного кроветворения [49]. В 2021 г. сообщалось об эффективном использовании системы CRISPR/Cas9 для модификации генов аутологичных гемопоэтических стволовых клеток, выделенных у пациентов с талассемией [50,51], а в 2023 г. был зарегистрирован первый лекарственный препарат на основе CRISPR для лечения трансфузионно-зависимой бета-талассемии [14].

**Семейная гиперхолестеринемия** — моногенное заболе-

вание с преимущественно аутосомно-доминантным типом наследования, сопровождающееся значительным повышением уровня холестерина липопротеидов низкой плотности в крови, и как следствие, ранним развитием и прогрессирующим течением атеросклероза. Для лечения семейной гиперхолестеринемии (СГХС) применяют статины, эзетемиб и ингибиторы PCSK9. H. Okada с соавт. (2019 г.) использовали индуцированные плюрипотентные стволовые дифференцированные гепатоцитоподобные клетки. Для получения гомозиготного и двух гетерозиготных клонов использовали редактирование гена с помощью CRISPR/Cas9. Полученные клетки обладали низкой иммуногенностью, что позволяет предположить возможность применения генно-скорректированных гепатоцитоподобных клеток, полученных из индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, для лечения СГХС [52].

**CAR-T терапия злокачественных опухолей.** Для терапии Т-клетками с химерным рецептором антигена (*chimeric antigen receptor T-cells, CAR-T*) используют собственные генетически модифицированные Т-клетки пациента, экспрессирующие синтетический рецептор, который распознает специфические антигенные мишени на опухолевых клетках [53,54]. Несмотря на эффективность, терапия аутологичными CAR-T-клетками имеет ограничения, включая высокую стоимость и истощение Т-клеток пациента. Редактирование CRISPR/Cas9 может быть использовано для разработки аллогенной терапии CAR-T-клетками, которая решит многие проблемы, связанные с применением аутологичных CAR-T-клеток. Редактирование клональных мастер-линий потенциально позволит получить возобновляемый источник клеток, который можно многократно использовать для массового производства однородных CAR-T, что позволит снизить стоимость терапии. В настоящее время в клинических исследованиях изучаются многочисленные варианты терапии с использованием CRISPR/Cas9 для генетической модификации аутологичных или аллогенных Т-клеток или CAR-T-клеток против различных гематологических и солидных раковых заболеваний [7].

**Сахарный диабет.** Сахарный диабет 1 типа представляет собой аутоиммунное заболевание, характеризующееся прогрессирующим иммуноопосредованным разрушением  $\beta$ -клеток в островках поджелудочной железы, которое приводит к абсолютному дефициту инсулина уже в детском или подростковом возрасте [55]. Хотя трансплантация островковых клеток оказалась успешной у некоторых пациентов с сахарным диабетом 1 типа, ее широкое применение ограничено нехваткой доноров островковых клеток и необходимостью пожизненной иммуносупрессии. Стратегия инкапсуляции, которая может предотвратить отторжение ксеногенных островков или аллогенных островков, полученных из стволовых клеток, потенциально может устранить оба этих барьера. Несмотря на то, что технология инкапсуляции столкнулась с рядом проблем, объединение опыта в области материалов, нанотехнологий,

биологии стволовых клеток и иммунологии позволяет нам приблизиться к цели – терапии инкапсулированными островковыми клетками [56]. К сожалению, клиническая эффективность ее ограничена из-за снижения жизнеспособности клеток, а *in vivo* секреция инсулина у пациентов с сахарным диабетом 1 типа не увеличивалась. В недавно опубликованном клиническом испытании исследователи обеспечили жизнеспособность трансплантированных клеток, разработав систему инкапсуляции, но пациентам требовалась иммуносупрессивная терапия [57]. Для предотвращения необходимости в иммуносупрессивной терапии перспективен нокаут генов *B2M* и *PD-L1* с помощью системы CRISPR/Cas9 в стволовых клетках пациента перед трансплантацией [58].

#### Клинические исследования, в которых CRISPR/Cas9 вводили *in vivo*

*Врожденный амавроз Лебера 10 типа* обуславливает дистрофию сетчатки, которая приводит к потере зрения в первый год жизни. Мутации, вызывающие заболевание, в основном возникают в гене *CEP290*. В клиническом исследовании EDIT-101 впервые выполнена субретинальная инъекция лекарственного препарата, предназначенного для восстановления мутантного аллеля *CEP290 IVS26* [59]. Препарат представляет собой плазмиды, содержащие гены, которые кодируют две направляющие РНК. В качестве вектора выбран AAV5.

*Герпетический вирусный кератит*. Вирус простого герпеса 1 типа (ВПГ-1) – это наиболее часто встречающийся подтип вируса герпеса. Первое клиническое исследование для оценки безопасности и эффективности терапии CRISPR/Cas9 у больных герпетическим вирусным кератитом было начато в 2022 г. [60]. Это открытое исследование лекарственного средства BD111 с однократной возрастающей дозой у взрослых пациентов в возрасте от 18 до 70 лет с рефрактерным герпетическим вирусным кератитом. BD111 – это новый продукт для редактирования генов, разработанный для уничтожения ВПГ-1.

*Наследственный транстриетиновый амилоидоз*. Редкое заболевание, вызываемое мутациями в гене *TTR*, кодирующем белок транстриетин, который в основном вырабатывается печенью. В клиническом исследовании фазы 1 изучали безопасность, переносимость, фармакокинетику и фармакодинамику лекарственного средства NTLA-2001, предназначенного для разрушения аллели *TTR* в гепатоцитах у пациентов с наследственным транстриетиновым амилоидозом [61]. Недавно опубликованные промежуточные результаты этого клинического исследования показали, что внутривенное введение NTLA-2001 шести пациентам привело к снижению уровня транстриетина в сыворотке крови на 28-й день в среднем на 52% (47–56%) при применении низкой дозы и на 87% (80–97%) при назначении высокой дозы [7]. Планируется 24-месячное наблюдение для оценки безопасности и клинических результатов лечения NTLA-2001 у пациентов с наследственным транстри-

етиновым амилоидозом.

*Наследственный ангионевротический отек*. Потенциально фатальное аутосомно-доминантное заболевание, связанное со снижением активности белка-ингибитора C1 (C1-INH), которое приводит к увеличению выработки калликреина и брадикинина. В 2021 г. разработан метод редактирования гена калликреина B1 для снижения уровня этого медиатора в плазме (лекарственное средство NTLA-2002). Эффективность препарата изучается в клиническом исследовании фазы 1/2 у пациентов с наследственным ангионевротическим отеком [62].

*Дислипидемия*. Гомеостаз липидов в плазме представляет собой многофакторный процесс, опосредованный регуляцией синтеза холестерина, секрецией липопротеинов и реабсорбцией печенью. В клиническом исследовании VERVE-101 изучается технология редактирования оснований, предназначенная для снижения экспрессии гена PCSK9 в печени и снижения уровня циркулирующего PCSK9 и липопротеинов низкой плотности у пациентов с семейной гиперхолестеринемией и сердечно-сосудистыми заболеваниями [63].

#### Нежелательные явления

*Иммуногенность*. Иммуногенность CRISPR терапии обусловлена преимущественно природой носителя (AAV и LNP) и трансгенного продукта, включая белок Cas9. Как врожденные, так и адаптивные иммунные реакции могут влиять на безопасность и эффективность переноса генов, опосредованного прежде всего вектором AAV, и в некоторых случаях приводят к развитию инфузионных реакций, гепатотоксичности и тромботической микроангиопатии [29]. Если мРНК кодирует белок с высоким уровнем экспрессии, особенно у пациентов, у которых нет эндогенного белка из-за генетических мутаций, необходим мониторинг антител к продукту трансгена. Если трансген содержит мРНК Cas9 бактериального происхождения, белок Cas9 может вызывать как Т-, так и В-клеточный иммунный ответ в дополнение к ранее существовавшему иммунитету, обусловленному предшествующим воздействием *Streptococcus* или *Staphylococcus*. Пациентам, получающим мРНК Cas9, рекомендуется мониторировать образование антител против белка Cas9, а также проводить дополнительную оценку их потенциального влияния на фармакокинетику, фармакодинамику и безопасность. Остается неясным вопрос, как данную технологию применять в условиях реальной клинической практики.

*Неточное, или “нецелевое” редактирование генома* потенциально может привести к генотоксичности и развитию других непредвиденных последствий. Основной причиной нецелевых мутаций, возникающих под действием программируемых нуклеаз, является наличие в других частях генома последовательностей ДНК, которые очень похожи на предполагаемый целевой локус. Выяснение причин нецелевого эффекта является ключом к снижению риска развития нежелательных лекарственных реакций. Когда направляющая sgРНК распознает ДНК-мишень путем комплементар-



ного спаривания оснований, возможно ошибочное распознавание участка ДНК, который в высокой степени гомологичен последовательности ДНК-мишени, но им не является. Нецелевой эффект CRISPR/Cas9 был продемонстрирован в исследованиях генома растений и при использовании систем редактирования генов в клинической практике [29,64].

Существуют два основных вида несоответствий между направляющей sgPНК и ДНК-мишенью: длина последовательности sgPНК такая же, как и у нецелевого участка ДНК, но с несколькими несовпадающими основаниями; отличные по длине, но сходные по нуклеотидным последовательностям на определенных отрезках sgPНК [65,66]. Возможность появления нецелевого эффекта серьезно ограничивает применение технологии CRISPR/Cas9.

### Этические аспекты редактирования генома

Появление технологии CRISPR/Cas9 с ее простотой, точностью и эффективностью значительно усовершенствовало процесс редактирования генов. В то же время значительные достижения в разработке технологии CRISPR/Cas9 привели к возникновению проблем в регулировании ее безопасного и этичного использования [67-69]. Первый Международный саммит по редактированию генома человека состоялся в декабре 2015 года. В нем приняли участие более 500 исследователей, политиков, специалистов по этике, представителей медицинских и научных сообществ и групп пациентов. Обсуждались потенциальные преимущества и риски редактирования генома человека, культурные и этические аспекты, вопросы регулирования, а также работа с общественностью. В принятом заявлении была отмечена необходимость в интенсивных фундаментальных и доклинических исследованиях методов редактирования генома в соответствии с надлежащими правовыми и этическими нормами. В целом отношение экспертов к модификациям соматической ДНК отдельного человека является более терпимым, чем отношению к редактированию клеток зародышевой линии, результаты которого могут передаваться потомству [70,71]. В некоторых странах проведение генетических модификаций клеток зародышевой линии запрещено, а преимущества и риски этого подхода недостаточно изучены [72].

### Заключение

Система CRISPR/Cas9 является инструментом редактирования генома, который имеет крайне широкое потенциальное применение во многих областях, начиная от фундаментальной биологии и заканчивая терапией различных заболеваний человека. Выделяют клинико-фармакологические показатели, отличающие CRISPR терапию от предыдущих классов лекарственных средств. Во-первых, успешное клиническое применение CRISPR терапии во многом зависит от выбора средства доставки. Первоначально для этого использовали вирусные векторы, однако в последних исследованиях чаще изучаются средства на основе LNP.

Показатели фармакокинетики средств доставки могут влиять на характеристики препарата на основе CRISPR, особенно до его поглощения целевой популяцией клеток. Во-вторых, для достижения терапевтически значимых эффектов, опосредованных стойким исключением соответствующего гена, возможно однократное введение препарата, в отличие от других классов лекарственных средств, в частности малых молекул, которые приходится назначать на длительный срок.

Широкому внедрению CRISPR терапии в клиническую практику препятствуют риск нецелевого редактирования генома, иммуногенности нуклеаз Cas9 и канцерогенных эффектов компонентов CRISPR. Также необходимо учитывать, что в большинстве постмитотических эукариотических клеток DSB в основном восстанавливаются посредством NHEJ, что приводит к накоплению ошибок. Недавно были разработаны новые варианты CRISPR/Cas, которые в меньшей степени оказывают нецелевое действие и вызывают HDR, сопровождающихся меньшим риском ошибок [7]. Одним из основных направлений развития системы CRISPR/Cas9 являются повышение эффективности и снижение риска нецелевого редактирования. Работы по совершенствованию CRISPR терапии направлены на оптимизацию внутренней последовательности системы CRISPR/Cas9 и направляющей sgPНК, снижение рисков нецелевого редактирования, усовершенствование систем доставки и изменение стратегии репарации ДНК [34,73].

### Конфликт интересов: нет.

1. Fraterman S, et al. New drug modalities offer promise and peril. 2023. <https://www.bcg.com/publications/2023/benefits-and-risks-of-new-drug-modalities>.
2. Фармаконадзор. Под ред. Колбина А.С., Зырянова С.К., Белоусова Д.Ю. М. Издательство ОКИ: Букки Веди, 2019, 248 с.:
3. Gene Therapy: A New Age. From the Editors of Scientific American, 2022. p.94.
4. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, et al. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science* 2012;337(6096):816-21.
5. Urnov F, Rebar E, Holmes M, et al. Genome editing with engineered zinc finger nucleases. *Nat Rev Genet* 2010;11:636-46.
6. Li T, Huang S, Zhao X, et al. Modularly assembled designer TAL effector nucleases for targeted gene knockout and gene replacement in eukaryotes. *Nucleic Acids Res* 2011;39(14):6315-25.
7. BerHi B, Uzay I, Kara M, DinHer P. Clinical trials and promising preclinical applications of CRISPR/Cas gene editing. *Life Sci* 2023;312:121204.
8. Ishino Y, Shinagawa H, Makino K, et al. Nucleotide sequence of the IAP gene, responsible for alkaline phosphatase isozyme conversion in *Escherichia coli*, and identification of the gene product. *J Bacteriol* 1987;169(12):5429-33.
9. Tang T, Bachelier J, Rozhdvestvsky T, et al. Identification of 86 candidates for small non-messenger RNAs from the archaeon *Archaeoglobus fulgidus*. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:7536-41.
10. Wang S, Gao C, Zheng Y, et al. Current applications and future perspective of CRISPR/Cas9 gene editing in cancer. *Mol Cancer* 2022;21(1):57.
11. Sontheimer E, Barrangou R. The bacterial origins of the CRISPR genome-editing revolution. *Human Gene Ther* 2015;26(7):413-24.
12. Cyranoski D. CRISPR gene-editing tested in a person for the first time. *Nature* 2016;539:479.
13. Gillmore J, et al. CRISPR-Cas9 *in vivo* gene editing for transthyretin amyloidosis. *N Engl J Med* 2021;385(6):493-502.
14. Sheridan C. The world's first CRISPR therapy is approved: who will receive it? *Nat Biotechnol* 2023 Nov 21. doi: 10.1038/d41587-023-00016-6.
15. Shah S, Rehman A, Nasir H, et al. Advances in research on genome editing Crispr-Cas9 technology. *J Ayub Med Coll* 2019;31:108-22
16. Ma Y, Zhang L, Huang X. Genome modification by CRISPR/Cas9. *FEBS J* 2014;281(23):5186-93.
17. Wang F, Wang L, Zou X, et al. Advances in CRISPR-Cas systems for RNA targeting, tracking and editing. *Biotechnol Adv* 2019;37(5):708-29.
18. Davidson A, Lu W, Stanley S, et al. Anti-CRISPRs: protein inhibitors of CRISPR-Cas systems. *Ann Rev Biochem* 2020;89:309-32.
19. Mojica F, Díez-Villaseñor C, García-Martínez J, Soria E. Intervening sequences of regularly spaced prokaryotic repeats derive from foreign genetic elements. *J Mol Evol* 2005;60(2):174-82.



20. Doudna J, Charpentier E. Genome editing. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science* 2014;346:1258096.
21. Shah S, Erdmann S, Mojica F, Garrett R. Protospacer recognition motifs: mixed identities and functional diversity. *RNA Biol* 2013;10(5):891-9.
22. Wilbie D, Walther J, Mastrobattista E. Delivery aspects of CRISPR/Cas for *in vivo* genome editing. *Acc Chem Res* 2019;52:1555-64
23. Lu X, Zhang M, Li G, et al. Applications and research advances in the delivery of CRISPR/Cas9 systems for the treatment of inherited diseases. *Int J Mol Sci* 2023;24(17):13202.
24. Bessis N, GarciaCozar F, Boissier M. Immune responses to gene therapy vectors: influence on vector function and effector mechanisms. *Gene Ther* 2004;11(Suppl 1):S10-7.
25. Samulski R, Zhu X, Xiao X, et al. Targeted integration of adeno-associated virus (AAV) into human chromosome 19. *EMBO J* 1991;10:3941-45.
26. Kay M, Glorioso J, Naldini L. Viral vectors for gene therapy: the art of turning infectious agents into vehicles of therapeutics. *Nat Med* 2001;7:33-40.
27. Pack D, Hoffman A, Pun S, Stayton P. Design and development of polymers for gene delivery. *Nat Rev Drug Discov* 2005; 4:581-93.
28. Pahle J, Walther W. Vectors and strategies for nonviral cancer gene therapy. *Expert Opin Biol Ther* 2016;16:443-61.
29. Abdelhady A, Phillips J, XuY, et al. Clinical pharmacology and translational considerations in the development of CRISPR-based therapies. *Clin Pharmacol Ther* 2023;114(3):591-603.
30. Tomak A, Csmeli S, Hanoglu BD, et al. Nanoparticle-protein corona complex: understanding multiple interactions between environmental factors, corona formation, and biological activity. *Nanotoxicology* 2021;15:1331-57.
31. Dilliard S, Siegwart D. Passive, active and endogenous organ-targeted lipid and polymer nanoparticles for delivery of genetic drugs. *Nat Rev Mater* 2023;8:1-19.
32. Chen N, Sun K, Chemuturi N, et al. The perspective of DMPK on recombinant adeno-associated virus-based gene therapy: past learning, current support, and future contribution. *AAPS J* 2022; 24:31.
33. Menchaca A, Santos-Neto P, Mulet A. CRISPR in livestock: from editing to printing. *Theriogenology* 2020;150:247-54.
34. Zhu Y. Advances in CRISPR/Cas9. *Biomed Res Int* 2022;2022:9978571.
35. Wyman C, Kanaar R. DNA double-strand break repair: all's well that ends well. *Ann Rev Genet* 2006;40(1):363-83.
36. Jo D, Kim J, Kim J. CRISPR genome surgery in stem cells and disease tissues. Academic Press; 2022. 101-110.
37. Maeder M, Gersbach C. Genome-editing technologies for gene and cell therapy. *Mol Ther* 2016;24:430-46.
38. Takata M, Sasaki MS, Sonoda E, et al. Homologous recombination and non-homologous end-joining pathways of DNA double-strand break repair have overlapping roles in the maintenance of chromosomal integrity in vertebrate cells. *EMBO J* 1998;17(18):5497-508.
39. McIntosh A, Sverdlow O, Yu L, et al. Clinical design and analysis strategies for the development of gene therapies: considerations for quantitative drug development in the age of genetic medicine. *Clin Pharmacol Ther* 2012;110:1207-15.
40. Kotit S. Lessons from the first-in-human *in vivo* CRISPR/Cas9 editing of the TTR gene by NTLA-2001 trial in patients with transthyretin amyloidosis with cardiomyopathy. *Glob Cardiol Sci Pract* 2023;2023(1):e202304.
41. Herrera-Carrillo E, Gao Z, Berkhout B. CRISPR therapy towards an HIV cure. *Brief Funct Genomics* 2020;19(3):201-8.
42. Bhowmik R, Chaubey B. CRISPR/Cas9: a tool to eradicate HIV-1. *AIDS Res Ther* 2022;19(1):58.
43. Duan D, Goemans N, Takeda S, et al. Duchenne muscular dystrophy. *Nat Rev Dis Primers* 2021;7(1):13.
44. Birch S, Lawlor M, Conlon T, et al. Assessment of systemic AAV-microdystrophin gene therapy in the GRMD model of Duchenne muscular dystrophy. *Sci Transl Med* 2023;15:eabo1815.
45. Bengtsson N, Crudele J, Klaiman J, et al. Comparison of dystrophin expression following gene editing and gene replacement in an aged preclinical DMD animal model. *Mol Ther* 2022; 30:2176-85.
46. Lee J, Han J, Song D, et al. *In vivo* genome editing for hemophilia B therapy by the combination of rebalancing and therapeutic gene knockin using a viral and non-viral vector. *Mol Ther Nucleic Acids* 2023;32:161-72.
47. Amistadi S, Maule G, Ciciani M, et al. Functional restoration of a CFTR splicing mutation through RNA delivery of CRISPR adenine base editor. *Mol Ther* 2023;31:1647-60.
48. Wang G. Genome editing for cystic fibrosis. *Cells* 2023; 12:1555.
49. Baird D, Batten S, Sparks S. Alpha- and beta-thalassemia: rapid evidence review. *Am Fam Physician* 2022;105(3):272-80.
50. Ali G, Tariq M, Shahid K, et al. Advances in genome editing: The technology of choice for precise and efficient  $\beta$ -thalassemia treatment. *Gene Ther* 2021;28:6-15.
51. Xu S, Luk K, Yao Q, et al. Editing aberrant splice sites efficiently restores  $\beta$ -globin expression in  $\beta$ -thalassemia. *Blood* 2019;133:2255-62.
52. Okada H, Nakanishi C, Yoshida S, et al. Function and immunogenicity of gene-corrected iPSC-derived hepatocyte-like cells in restoring low density lipoprotein uptake in homozygous familial hypercholesterolemia. *Sci Rep* 2019;9:4695.
53. Dimitri A, Herbst F, Fraietta J. Engineering the next-generation of CAR T-cells with CRISPR-Cas9 gene editing. *Mol Cancer* 2022;21(1):78.
54. Braendstrup P, Levine B, Ruela M. The long road to the first FDA-approved gene therapy: chimeric antigen receptor T cells targeting CD19. *Cytotherapy* 2020;22:57-69.
55. Warshauer J, Bluestone J, Anderson M. New frontiers in the treatment of type 1 diabetes. *Cell Metab* 2020;31:46-61.
56. Desai T, Shea L. Advances in islet encapsulation technologies. *Nat Rev Drug Discov* 2017;16:338-50.
57. Shapiro A, Thompson D, Donner T, et al. Insulin expression and C-peptide in type 1 diabetes subjects implanted with stem cell-derived pancreatic endoderm cells in an encapsulation device. *Cell Reports Med* 2021;2:100466.
58. Sluch V, Swain D, Whipple W, et al. CRISPR-editing of hESCs allows for production of immune evasive cells capable of differentiation to pancreatic progenitors for future type 1 diabetes therapy. 55th EASD Annu Meet Eur Assoc. Study Diabetes, Springer, Barcelona; 2019, 7-8.
59. Zhang X, Zhang D, Thompson JA, et al. Gene correction of the *CLN3 c.175G>A* variant in patient-derived induced pluripotent stem cells prevents pathological changes in retinal organoids. *Mol Genet Genomic Med* 2021;9(3):e1601.
60. Safety and Efficacy of CRISPR/Cas9 mRNA Instantaneous Gene Editing Therapy to Treat Refractory Viral Keratitis. NCT04560790. <https://clinicaltrials.gov/study/NCT04560790?cond=NCT04560790&rank=1>.
61. Study to evaluate safety, tolerability, pharmacokinetics, and pharmacodynamics of NTLA-2001 in patients with hereditary transthyretin amyloidosis with polyneuropathy (ATTRv-PN) and patients with transthyretin amyloidosis-related cardiomyopathy (ATTR-CM), NCT04601051.
62. Riedl MA, Bordone L, Revenko A, et al. Clinical progress in hepatic targeting for novel prophylactic therapies in hereditary angioedema. *J Allergy Clin Immunol Pract* 2024;12(4):911-8.
63. A Study of VERVE-101 in patients with familial hypercholesterolemia and cardiovascular disease, NCT05398029
64. Zhang X, Tee L, Wang X, et al. Off-target effects in CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. *Mol Ther Nucl Acids* 2015;4:e264.
65. Fu Y, Foden J, Khayter C, et al. High-frequency off-target mutagenesis induced by CRISPR-Cas nucleases in human cells. *Nature Biotechnol* 2013;31(9):822-6.
66. Lin Y, Cradick T, Brown M, et al. CRISPR/Cas9 systems have off-target activity with insertions or deletions between target DNA and guide RNA sequences. *Nucl Acids Res* 2014;42(11):7473-85.
67. Janik E, Niemcewicz M, Ceremuga M, et al. Various aspects of a gene editing system-CRISPR-Cas9. *Int J Mol Sci* 2020;21(24):9604.
68. Memi F, Ntokou A, Papangelis I. CRISPR/Cas9 gene-editing: research technologies, clinical applications and ethical considerations. *Semin Perinatol* 2018;42(8): 487-500.
69. Collier B. Ethics of human genome editing. *Annu Rev Med* 2019; 70:289-305.
70. Brokowski C, Adli M. CRISPR ethics: moral considerations for applications of a powerful tool. *J Mol Biol* 2019; 431:88-101.
71. Tozzo P, Zullo S, Caenazzo L. Science runs and the debate brakes: somatic gene-editing as a new tool for gender-specific medicine in Alzheimer's disease. *Brain Sci* 2020;10:421.
72. National Academies of Sciences. In: International Summit on Human Gene Editing: A Global Discussion. Olson S, editor. The National Academies Press; Washington, DC, USA: 2015
73. Pickar-Oliver A, Gersbach C. The next generation of CRISPR-Cas technologies and applications. *Biomed Res Int* 2022;2022:9978571.

## The use of the CRISPR /Cas9 system from the perspective of clinical pharmacology

A.S. Kolbin<sup>1,2</sup>, Yu.M. Gomon<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Pavlov First St. Petersburg State Medical University, <sup>2</sup>St. Petersburg State University, St. Petersburg, Russia

The authors review the data on the use of the CRISPR/Cas9 system in clinical pharmacology. The discovery of the CRISPR/Cas9 system and the first clinical application, structure and mechanism of action, delivery platforms, and ethical aspects of genome editing are described. Issues of pharmacokinetics, pharmacodynamics, dosing and safety are considered. Examples of the *ex vivo* and *in vivo* use of CRISPR/Cas9 in clinical trials are provided. The indicators that distinguish CRISPR therapy from previous classes of drugs are highlighted.

**Keywords:** CRISPR/Cas9, gene editing, clinical pharmacology.

**Conflict of interest:** none declared.

**Correspondence to:** A.S. Kolbin. Lev Tolstoy, 6-8, St. Petersburg 197022, Russia. alex.kolbin@mail.ru.

**To cite:** Kolbin AS, Gomon YuM. The use of the CRISPR /Cas9 system from the perspective of clinical pharmacology. *Klinicheskaya farmakologiya i terapiya = Clin Pharmacol Ther* 2024;33(2):7-15 (In Russ.). DOI 10.32756/0869-5490-2024-2-7-15.