

Section: Biology and Microbiology

DOI 10.70286/EOSS-01.12.2025.018

СИСТЕМА CRISPR–CAS9 ЯК ІНСТРУМЕНТ РЕДАГУВАННЯ ГЕНОМУ У СУЧАСНІЙ МЕДИЧНІЙ ГЕНЕТИЦІ: ЕТИЧНІ ТА БІОМЕДИЧНІ АСПЕКТИ

Соловйова Анастасія

здобувачка вищої медичної освіти

Погоріла Ірина

доцент кафедри біології, к. пед. н., доцент

Кафедра біології

Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Україна

Анотація. У статті розглянуто молекулярні основи функціонування системи CRISPR–Cas9, її застосування в медичній генетиці та сучасні досягнення у клінічних дослідженнях. Особливу увагу приділено біомедичним ризикам, зокрема off–target ефектам та імуногенності. Підіймається питання щодо етичних аспектів, що виникають при редагуванні соматичних і зародкових клітин. Проаналізовано перспективи використання CRISPR–Cas9 у лікуванні спадкових захворювань, а також наголошено на необхідності міжнародного регулювання технології.

Ключові слова. CRISPR–Cas9, генотерапія, редагування геному, off–target ефекти, імуногенність, етичні аспекти, медична генетика.

Введення. Генетичні захворювання є актуальною проблемою для системи охорони здоров'я. За статистикою, понад 7 % населення світу страждає на спадкові патології, які часто проявляються у ранньому дитячому віці та мають хронічний, інвалідизуючий або летальний перебіг. Серед них – муковісцидоз, дистрофія Дюшенна, серповидноклітинна анемія та інші. Традиційна фармакотерапія здебільшого є паліативною і не впливає на першопричину хвороби – мутацію в геномі [1].

Мета та задачі дослідження. Дослідити принцип дії, клінічні можливості та обмеження системи CRISPR–Cas9, а також проаналізувати етичні і біомедичні аспекти її використання у сучасній медичній генетиці; у межах роботи передбачено охарактеризувати механізм функціонування системи CRISPR–Cas9, узагальнити результати новітніх доклінічних і клінічних досліджень, проаналізувати ключові біомедичні ризики, зокрема off–target ефекти, імуногенність та можливі епігенетичні зміни, розглянути етичні виклики, пов'язані із застосуванням технології для редагування соматичних та зародкових клітин, а також визначити перспективи її подальшого розвитку та напрямки вдосконалення безпеки.

Результати дослідження і їх обговорення. Розвиток технологій молекулярної біології створив передумови для виникнення нової парадигми медицини – генотерапії, що передбачає виправлення або заміну дефектного гена. Особливу увагу в цьому контексті привертає технологія CRISPR–Cas9 (Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats – кластеризовані регулярно розташовані короткі паліндромні повтори), яка дозволяє швидко, відносно дешево та з високою точністю здійснювати модифікацію геному [2]. З моменту відкриття у 2012 році CRISPR–Cas9 розглядається як одна з найбільш перспективних систем редагування ДНК [3].

Проте широке використання цієї технології ставить перед науковою спільнотою низку етичних, соціальних та біомедичних викликів, що визначає актуальність даної роботи.

Система CRISPR–Cas9 була вперше описана у бактеріях як елемент адаптивного імунітету проти бактеріофагів. У природному середовищі вона функціонує за принципом «імунної пам'яті»: бактерія вбудовує фрагменти вірусної ДНК у власний геном, а потім використовує їх як матрицю для розпізнавання та знищення повторних інфекцій [4].

У лабораторних умовах ця система була модифікована для редагування геному еукаріотичних клітин. Основними компонентами є: Cas9 – ендонуклеаза, яка розрізає ДНК у визначеному місці та sgRNA (single–guide RNA) – направляюча РНК, що задає специфічність системи, «вказуючи» Cas9 ділянку геному для розрізу [5].

Після утворення дволанцюгового розриву у ДНК клітина активує власні механізми репарації: негомологійне з'єднання кінців (NHEJ) – спричиняє випадкові мутації (корисно для інактивації гена); гомологійно спрямоване відновлення (HDR) – дає можливість внести точкові зміни або вставити нову генетичну інформацію [6].

Таким чином, CRISPR–Cas9 забезпечує універсальний і гнучкий інструмент для модифікації геному.

Починаючи з 2016 року було проведено низку доклінічних і клінічних випробувань. У 2020 році вперше повідомлено про успішне застосування CRISPR для лікування пацієнтів із серповидноклітинною анемією та бета – таласемією [7]. Модифіковані стовбурові клітини відновили вироблення фетального гемоглобіну, що дозволило нормалізувати гематологічні показники [8]. У дослідженні, що було проведене Editas Medicine у США, застосовано CRISPR–Cas9 in vivo для корекції вродженої амаврозії Лебера [9], що відкриває перспективи лікування спадкової сліпоти. А у Китаї та США проводяться випробування щодо редагування Т–лімфоцитів пацієнтів із метою підвищення їх цитотоксичності проти пухлинних клітин [3]. Терапія exa–cel (Exagamglogene Autotemcel – Ексагамглоген Автотемцел) продемонструвала усунення кризів у 97 % пацієнтів протягом 12 місяців [9].

Ці приклади демонструють реальний потенціал CRISPR–Cas9 як терапевтичного засобу.

Попри очевидні успіхи, використання CRISPR–Cas9 пов'язане з низкою ризиків, наприклад, втручання у геном ембріонів несе ризик передачі змін наступним поколінням. Дослідження на мишах показали, що деякі зміни можуть мати непередбачувані наслідки для розвитку органів та їхньої поведінки. Також білок Cas9, який походить від бактерій *S. pyogenes*, може викликати сильну імунну відповідь. Скринування ембріонів обмежене або заборонене в багатьох країнах, але дослідження на вже сформованих клітинах проводяться [10], [11]. У дослідженні Simhadri V. L. показано, що близько 2,5 % людей мають антитіла до SpCas9, а 10 % – до SaCas9 [12]. Крім того, Toral M. A. продемонстрували, що клітинний імунітет проти Cas9 спостерігається у понад 60 % осіб [13].

Великою проблемою можуть стати off–target ефекти – за даними Kalter N., у 10–20 % випадків CRISPR може розрізати ДНК у небажаних ділянках. Це особливо небезпечно при онкологічних захворюваннях, де випадкові мутації можуть стимулювати ріст пухлин. Наприклад, редагування гена TP53, який контролює апоптоз, може призвести до неконтрольованого поділу клітин. Нові варіанти Cas9 (high fidelity Cas9, prime editing) знижують частоту таких ефектів [4].

Внесення змін у ДНК може порушити регуляторні елементи геному, які впливають на експресію інших генів, що в свою чергу, може спричинити епігенетичні зміни, які важко передбачити [5]. А також CRISPR–терапії ще не мають достатньо довгострокових клінічних даних. Наприклад, у пацієнтів, які отримали редагування клітин для лікування серповидноклітинної анемії, ефективність зберігається понад 3 роки, але невідомо, чи не виникнуть пізні ускладнення [6].

Застосування CRISPR–Cas9 у медицині викликає гострі дискусії. Виникає питання, чи допустимо застосовувати технологію, яка має потенціал змінити людську природу, без повного розуміння її наслідків. Це особливо актуально у контексті терапії ембріонів. У 2018 році китайський науковець Хе Цзянькуй оголосив про народження дітей із модифікованим геном CCR5 [14]. Цей випадок спричинив широкий осуд і став підставою для перегляду міжнародних етичних стандартів. Етичною проблемою можуть стати «дизайнерські діти», тобто з'явиться можливість використання технології для створення бажаних фенотипів (наприклад, колір очей, інтелект), що виходить за межі лікування хвороб. Нині у світі відсутній єдиний міжнародний механізм контролю за використанням CRISPR–Cas9, хоча окремі країни запроваджують власні обмеження [10], [11], [15].

У найближчі роки наукові дослідження мають зосереджуватися на вдосконаленні специфічності системи та зменшенні off–target ефектів, створенні варіантів Cas–білків із нижчою імуногенністю, розробці альтернативних систем (Cas12, Cas13), які працюють із РНК, формуванні міжнародних етичних та

правових норм, що регламентують редагування геному людини. Експертами очікується, що CRISPR стане важливим елементом персоналізованої медицини, де лікування підбиратиметься з урахуванням індивідуального генетичного профілю пацієнта.

Висновки. Розкрито механізм дії CRISPR–Cas9, що є системою редагування геному, яка має значний потенціал для лікування генетичних захворювань. Клінічні дослідження підтверджують можливість її використання у гематології, офтальмології та онкології. Біомедичні ризики, такі як off-target ефекти та імуногенність, а також етичні дилеми обмежують швидке впровадження технології. Подальший розвиток CRISPR–Cas9 потребує вдосконалення молекулярних підходів і створення міжнародної правової бази, що дозволить забезпечити безпечне та етичне застосування цієї технології у медицині. Таким чином, хоча CRISPR–Cas9 відкриває значні можливості для медицини, її біомедичні ризики вимагають обережного підходу, ретельного тестування та етичного регулювання.

Список використаних джерел

1. Kalter N., Zhou X., Patel R. 2025. Off-target effects in CRISPR–Cas genome editing for clinical applications: a review. *Molecular Therapy*. Vol. 36, I. 3.
DOI: <https://tinyDOI.com/4sh9v9dj>
2. Ewaisha R., Smith C., Huang T. 2023. Immunogenicity of CRISPR therapeutics – Critical considerations for clinical translation. *Front. Bioeng. Biotechnol., Sec. Cell and Gene Therapy*. Vol. 11.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1138596>
3. Jinek M., Chylinski K., Fonfara I. 2012. A programmable dual–RNA–guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. Vol. 337, I. 6096, P. 816–821.
DOI: <https://doi.org/10.1126/science.1225829>
4. Ewaisha R., Smith C., Huang T. 2023. Immunogenicity of CRISPR therapeutics – Critical considerations for clinical translation. *Front. Bioeng. Biotechnol., Sec. Cell and Gene Therapy*. Vol. 11.
DOI: <https://doi.org/10.3389/fbioe.2023.1138596>
5. Kalter N., Zhou X., Patel R. 2025. Off-target effects in CRISPR–Cas genome editing for clinical applications: a review. *Molecular Therapy*. Vol. 36, I. 3.
DOI: <https://tinyDOI.com/4sh9v9dj>
6. Tariq H., Khan A., Rehman M. 2024. CRISPR/Cas9 in the treatment of sickle cell disease: safety, efficacy, long-term outcome comparison. *Annals of Medicine and Surgery*. P. 5938–5946.
DOI: <https://tinyDOI.com/2rp2jeu3>
7. Frati G., Lucarelli B., Testa A. 2024. Safety and efficacy studies of CRISPR–Cas9 treatment of sickle cell disease. *Molecular Therapy*. Vol. 32, I. 12.
DOI: <https://shorturl.at/9zgQE>

8. Canver M. C., Smith E. C., Sher F. 2015. BCL11A enhancer dissection by Cas9-mediated in situ saturating mutagenesis. *Nature*. Vol. 527, P. 192–197.
DOI: <https://doi.org/10.1038/nature15521>
9. Sharma A., Gupta R., Singh P. 2023. CRISPR–Cas9 Editing of the HBG1 and HBG2 Promoters to Treat Sickle Cell Disease. *The new England journal of medicine*. Vol. 389, P. 820–832.
DOI: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2215643>
10. Guttinger, S. 2018. Trust in Science: CRISPR–Cas9 and the Ban on Human Germline Editing. *Sci Eng Ethics* 24. Vol. 24, P. 1077–1096.
DOI: <https://doi.org/10.1007/s11948-017-9931-1>
11. Sebastian S., Hans–Georg D. 2020. Human germline editing in the era of CRISPR–Cas: risk and uncertainty, inter–generational responsibility, therapeutic legitimacy. *BMC Med Ethics*. Article number: 87.
DOI: <https://doi.org/10.1186/s12910-020-00487-1>
12. Simhadri V. L., McGill J., McMahon M. A. 2018. Prevalence of Pre-existing Antibodies to CRISPR–Cas9 in the USA Population. *Molecular Therapy*. Vol. 10, P. 105–112.
DOI: <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2018.06.006>
13. Marcus A. Toral, Carsten T. Charlesworth. 2022. Investigation of Cas antibodies in the human eye. *Nature communications*. Article number: 1053.
DOI: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-28674-1>
14. Henry T Greely. 2019. CRISPR'd babies: human germline genome editing in the 'He Jiankui affair'. *Journal of Law and the Biosciences*. Vol. 6, I. 1, P. 111–183.
DOI: <https://doi.org/10.1093/jlb/lbz010>
15. Callaway, E. 2016. UK scientists gain licence to edit genes in human embryos. *Nature*. Article number: 19270.
DOI: <https://doi.org/10.1038/nature.2016.19270>