

МІЖРЕГІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ УПРАВЛІННЯ ПЕРСОНАЛОМ
INTERREGIONAL ACADEMY OF PERSONNEL MANAGEMENT



ISSN 2786-7153 (Print)
ISSN 2786-7161 (Online)

**СУЧАСНА МЕДИЦИНА,
ФАРМАЦІЯ
ТА ПСИХОЛОГІЧНЕ ЗДОРОВ'Я**

**MODERN MEDICINE,
PHARMACY
AND PSYCHOLOGICAL HEALTH**

**ВИПУСК 3 (12)
ISSUE 3 (12)**

2023



**Видавничий дім
«Гельветика»
2023**

**Рекомендовано до друку Вченою радою
Міжрегіональної Академії управління персоналом
(протокол № 9 від 18 жовтня 2023)**

Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я / [головний редактор Н. Свиридова]. – Київ: Міжрегіональна Академія управління персоналом, 2023. – Випуск 3 (12). – 80 с.

Журнал «Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я» є науковим рецензованим медичним виданням, в якому здійснюється публікація матеріалів науковців різних рівнів у вигляді наукових статей з метою їх поширення як серед вітчизняних дослідників, так і за кордоном.

Редакційна колегія не обов'язково поділяє позицію, висловлену авторами у статтях, та не несе відповідальності за достовірність наведених даних і посилань.

До 2 вересня 2022 року видання мало назву «Психологічне здоров'я».

**Ідея створення
видання:**

Коляденко Н. В. – д-р мед. наук, доц.,
професор кафедри медичної психології
Інституту медичних та фармацевтичних наук,
Міжрегіональна Академія управління персоналом (Україна).

Головний редактор:

Свиридова Н. К. – д-р мед. наук, проф.,
в.о. директора Інституту медичних
та фармацевтичних наук, Міжрегіональна Академія
управління персоналом (Україна).

Редакційна колегія:

Березнякова Н. Л. – д-р фармац. наук, проф., доцент кафедри медичної хімії, Національний фармацевтичний університет (Україна); **Бєленічев І. Ф.** – д-р біол. наук, проф., завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури з курсом нормальної фізіології, Запорізький державний медичний університет (Україна); **Горчакова Н. О.** – д-р мед. наук, професор кафедри фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (Україна); **Головчанська О. Д.** – д-р мед. наук, доц., доцент кафедри стоматології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (Україна); **Дорошенко А. І.** – канд. фармац. наук, асистент кафедри фармакології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (Україна); **Дорошенко О. М.** – д-р мед. наук, проф., директор Інституту стоматології, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (Україна); **Друзь О. В.** – д-р мед. наук, заслужений лікар України, начальник клініки психіатрії, Національний військово-медичний клінічний центр «Головний військовий клінічний госпіталь» (Україна); **Живаго Х. С.** – канд. мед. наук, доцент кафедри медичної психології, Міжрегіональна Академія управління персоналом (Україна); **Льбіна Т. В.** – д-р фармац. наук, проф., професор кафедри фармакогнозії, Київський медичний університет (Україна); **Карачевський А. Б.** – канд. мед. наук, доц., доцент кафедри загальної, дитячої, судової психіатрії і наркології, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (Україна); **Кіреєв І. В.** – д-р мед. наук, проф., професор кафедри фармакології та фармакотерапії, Національний фармацевтичний університет (Україна); **Мальцев Д. В.** – канд. мед. наук, доц., завідувач лабораторії імунології та молекулярної біології Інституту експериментальної і клінічної медицини, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (Україна); **Михайлов Б. В.** – д-р мед. наук, проф., професор кафедри загальної, дитячої, судової психіатрії і наркології, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (Україна); **Нусейр Мохамед Халед** – д-р мед. наук, проф., завідувач кафедри біохімії, Йорданський університет науки і технологій (Ірбід, Йорданія); **Ольховська А. Б.** – д-р фармац. наук, доц., професор кафедри загальної та клінічної фармації, Міжрегіональна Академія управління персоналом (Україна); **Омельянович В. Ю.** – д-р мед. наук, проф., професор кафедри загальної, дитячої, судової психіатрії і наркології, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (Україна); **Панченко О. А.** – д-р мед. наук, генеральний директор, Державний заклад «Науково-практичний медичний реабілітаційно-діагностичний центр Міністерства охорони здоров'я України» (Україна); **Свиридова Н. К.** – д-р мед. наук, проф., завідувач кафедри неврології і рефлексотерапії, Національний університет охорони здоров'я України імені П. Л. Шупика (Україна); **Соловійов О. С.** – д-р мед. наук, д-р фармац. наук, проф., професор кафедри загальної і клінічної фармації Інституту медичних та фармацевтичних наук, Міжрегіональна Академія управління персоналом (Україна); **Харченко О. В.** – д-р мед. наук, професор кафедри анатомії, клінічної анатомії, оперативної хірургії, патоморфології та судової медицини Медичного інституту, Чорноморський національний університет імені Петра Могили (Україна); **Черненко І. О.** – канд. мед. наук, ординатор клініки психіатрії, Національний військово-медичний клінічний центр «Головний військовий клінічний госпіталь» (Україна); **Черно В. С.** – д-р мед. наук, проф., професор кафедри анатомії, клінічної анатомії, оперативної хірургії, патоморфології та судової медицини Медичного інституту, Чорноморський національний університет імені Петра Могили (Україна); **Чопчик В. Д.** – д-р мед. наук, доц., професор кафедри стоматології, Національний медичний університет імені О. О. Богомольця (Україна).

*Свідчення про державну реєстрацію друкованого засобу масової інформації
«Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я» Серія КВ № 25296-15236ІР від 02.09.2022 р.*

«Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я» включено до Переліку наукових фахових видань України (категорія «Б») відповідно до Наказу МОН України № 530 від 6 червня 2022 року (додаток 2), Наказу МОН України № 1166 від 23 грудня 2022 року (додаток 3) та Наказу МОН України № 491 від 27 квітня 2023 року (додаток 3). Спеціальності: 225 – Медична психологія, 226 – Фармація, промислова фармація, 221 – Стоматологія, 222 – Медицина.

Усі електронні версії статей журналу оприлюднюються на офіційній сторінці видання
<http://journals.maup.com.ua/index.php/psych-health>

Статті у виданні перевірені на наявність плагіату за допомогою програмного забезпечення
StrikePlagiarism.com від польської компанії Plagiat.pl.

© Міжрегіональна Академія управління персоналом, 2023
© Автори статей, 2023

ЗМІСТ

МЕДИЦИНА

Сергій ГУР'ЄВ, Павло ТАНАСІЄНКО, Євген СКОБЕНКО РЕАКЦІЯ ПОКАЗНИКІВ ПЕРИФЕРИЧНОЇ КРОВІ У ПАЦІЄНТІВ З ПЕРЕЛОМАМИ ДОВГИХ КІСТОК НА ТЛІ COVID-19.....	6
Іван КЛИМЕНКО, Марія ГАЛАДЗА РЕДАГУВАННЯ ГЕНОМУ: CLUSTERED REGULARLY INTERSPACED SHORT PALINDROMIC REPEAT (CRISPR/CAS9).....	11
Володимир НОВОШИЦЬКИЙ, Геннадій ЧУПРИНА, Віталій СЕРЕДА, Володимир КРАСНОВ ЗАСТОСУВАННЯ РЕФЛЕКСОТЕРАПІЇ ЗА МЕТОДОМ «БАЛАНСУВАННЯ ГЕКСАГРАМ» В КОМПЛЕКСНІЙ РЕАБІЛІТАЦІЇ ПРИ ПАРОКСОЗМАЛЬНІЙ ГЕМІКРАНІЇ.....	18
Наталія СВИРИДОВА, Геннадій ЧУПРИНА, Віталій СЕРЕДА ЗАСТОСУВАННЯ РЕФЛЕКСОТЕРАПІЇ ЗА МЕТОДОМ «БАЛАНСУВАННЯ ГЕКСАГРАМ» ПРИ ЦЕФАЛГІЯХ СКРОНЕВОЇ ОБЛАСТІ	24
Геннадій ЧУПРИНА, Віталій СЕРЕДА, Володимир КРАСНОВ, Володимир НОВОШИЦЬКИЙ ЗАСТОСУВАННЯ РЕФЛЕКСОТЕРАПІЇ ЗА МЕТОДОМ «БАЛАНСУВАННЯ ГЕКСАГРАМ» В КОМПЛЕКСНІЙ РЕАБІЛІТАЦІЇ ХРОНІЧНОГО ХОЛЕЦЕСТИТУ З ЦЕФАЛГІЧНИМ СИНДРОМОМ.....	31

СТОМАТОЛОГІЯ

Олександр БІЛИНСЬКИЙ, Євген КОСТЕНКО ОСОБЛИВОСТІ ВЗАЄМОЗВ'ЯЗКІВ КЛІНІЧНИХ, ГІГІЄНІЧНИХ ТА МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПАРАМЕТРІВ ДЛЯ ПРОГНОЗУВАННЯ РІВНІВ ІНТЕНСИВНОСТІ КАРІЕСУ СЕРЕД МОНОЗИГОТНИХ БЛИЗНЮКІВ ВІКОМ 18–25 РОКІВ.....	36
Мирослав ГОНЧАРУК-ХОМИН, Микола БОЙЧУК ФЕНОМЕН НАПОВЗАЮЧОГО ПРИКРІПЛЕННЯ (CREEPING ATTACHMENT) І ЙОГО ЗНАЧУЩІСТЬ В СТОМАТОЛОГІЧНІЙ ПРАКТИЦІ: АНАЛІЗ ДАНИХ КЛІНІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	44
Мирослав ГОНЧАРУК-ХОМИН, Сергій КРІЧФАЛУШІЙ ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИБАКТЕРІАЛЬНОГО СУПРОВОДУ ДЛЯ ПРОФІЛАКТИКИ РАННЬОЇ ВТРАТИ ТА ПОРУШЕННЯ ОСТЕОІНТЕГРАЦІЇ ДЕНТАЛЬНИХ ІМПЛАНТАТІВ: ДАНІ СИСТЕМАТИЧНИХ ОГЛЯДІВ ТА МЕТА-АНАЛІТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ	53

МЕДИЧНА ПСИХОЛОГІЯ

Іван КЛИМЕНКО, Наталія ТВЕРДОХЛІБ, Марина ЗІНЧЕНКО ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ СТРЕСОСТІЙКОСТІ ВІЙСЬКОВОСЛУЖБОВЦІВ У ПЕРІОД РЕАБІЛІТАЦІЇ.....	59
Аліна САЛЬНИКОВА АЛЕКСИТИМІЧНИЙ РАДИКАЛ У СТРУКТУРІ ОСОБИСТОСТІ ЯК ЧИННИК СХИЛЬНОСТІ ДО ГЕМБЛІНГУ: ПСИХОЛОГІЧНІ МЕХАНІЗМИ ТА ЕФЕКТИ ВПЛИВУ	64

ФАРМАЦІЯ, ПРОМИСЛОВА ФАРМАЦІЯ

Олена ТОЗЮК, Олена КРИВОВ'ЯЗ, Юлія ТОМАШЕВСЬКА, Василь КОВАЛЬ СИНЕРГІЗМ ОБОВ'ЯЗКОВИХ І ВИБІРКОВИХ ОСВІТНІХ КОМПОНЕНТІВ У НАБУТТІ ЗДОБУВАЧАМИ СПЕЦІАЛЬНОСТІ 226 ФАРМАЦІЯ, ПРОМИСЛОВА ФАРМАЦІЯ ФАХОВИХ КОМПЕТЕНТНОСТЕЙ З ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ.....	74
--	----

УДК 575.111

DOI <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2023-3-2>

Іван КЛИМЕНКО

кандидат психологічних наук, доцент кафедри психології Навчально-наукового інституту психології та соціальних наук, виконуючий обов'язки завідувача кафедри медичної психології Інституту медичних та фармацевтичних наук, Міжрегіональна академія управління персоналом, вул. Фрометівська 2, м. Київ, Україна, індекс 02000 (neffalimm@gmail.com)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3119-7494>

Марія ГАЛАДЗА

студентка кафедри медичної психології Інституту медичних і фармацевтичних наук, ПрАТ «ВНЗ «Міжрегіональна Академія управління персоналом», вул. Фрометівська, 2, м. Київ, Україна, індекс 02000 (haladzamariia@gmail.com)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-3748-9914>

Ivan KLYMENKO

PhD of Psychological Sciences, Associate Professor at the Department of Psychology of Educational and Scientific Institute of Psychology and Social Sciences, Acting Head of the Medical Psychology Department of Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences Interregional Academy of Personnel Management, 2, Frometivska str., Kyiv, Ukraine, postal code 02000 (neffalimm@gmail.com)

Mariia HALADZA

Student at the Department of Medical Psychology of the Institute of Medical and Pharmaceutical Sciences, Interregional Academy of Personnel Management, , 2, Frometivska str., Kyiv, Ukraine, postal code 02000 (haladzamariia@gmail.com)

Бібліографічний опис статті: Клименко І., Галадза М., Редагування геному: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR/Cas9). *Сучасна медицина, фармація та психологічне здоров'я*. 2023. Вип. 3 (12). С. 11–17. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2023-3-2>

Bibliographic description of the article: Klymenko, I. & Haladza, M. (2023). Redaguvanya genomu: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR/Cas9) [Genome editing: Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR/Cas9)]. *Suchasna medytsyna, farmatsiia ta psykhologichne zdorovia – Modern medicine, pharmacy and psychological health*, 3 (12), 11–17. DOI: <https://doi.org/10.32689/2663-0672-2023-3-2>

РЕДАГУВАННЯ ГЕНОМУ: CLUSTERED REGULARLY INTERSPACED SHORT PALINDROMIC REPEAT (CRISPR/CAS9)

Анотація. Збільшення відсотку розповсюдженості онкологічних захворювань та генетичних хвороб серед світового населення, залишається відкритим проблематичним питанням наукового світу, пов'язане з необхідністю розробки сучасних методів лікування. Основною метою проведення досліджень є зниження загального показника смертності та інвалідизації серед світового населення. Однією із перспективних технологій генної інженерії є технологія Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR/Cas9), котра дозволяє цілеспрямовано редагувати геном. Застосування цієї методики дозволяє вирішити питання лікування таких патологій як: онкологічні захворювання, серповидно-клітинна анемія, β-таласемія, амілоїдоз, нанотехнології, м'язова дистрофія Дюшена, хвороба Паркінсона зумовлена генетичними причинами, дигенна та моногенна втрата слуху, тощо. На даному етапі розвитку даної технології, вона не є доступною для лікування генетичних та онкологічних захворювань на загальнолікарському напрямку. Проводяться клінічні випробування, розробка стратегій застосування та попередження побічної дії при лікуванні з використанням молекулярних ножниць. Питання безпечного застосування CRISPR/Cas9 пов'язано з можливістю виникнення небажаних мутацій в генетичному матеріалі, з відсутністю повноцінного прогнозування наслідків. Не менш актуальним питанням залишається вибір оптимального способу доставки CRISPR/Cas9 до мішені та розробка й удосконалення технології з метою запобігання виникнення небажаних інделів. Перспективи застосування цієї технології дає надію на зниження смертності та інвалідизації хворих патологіями, які на даний момент важко піддаються лікуванню, або ж є невиліковними. З урахуванням відсотку ефективності застосування технології CRISPR/Cas9 на відміну від ZFN (Zinc-Finger Nucleases) або TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases) є більш оптимальним.

Ключові слова: Молекулярні ножниці, CRISPR/Cas9, геном, ДНК, РНК, онкологія, серповидно-клітинна анемія, β-таласемія, амілоїдоз, нанотехнології, м'язова дистрофія Дюшена, хвороба Паркінсона, дигенна глухота, моногенна глухота.

GENOME EDITING: CLUSTERED REGULARLY INTERSPACED SHORT PALINDROMIC REPEAT (CRISPR/CAS9)

Abstract. The increase in the prevalence of oncological diseases and genetic diseases among the world population remains an open problematic issue of the scientific world, connected with the need to develop modern methods of treatment. The main goal of conducting research is to reduce the overall rate of mortality and disability among the world population. One of the promising technologies of genetic engineering is the Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat (CRISPR/Cas9) technology, which allows targeted editing of the genome. The use of this technique allows to solve the treatment of such pathologies as: oncological diseases, sickle cell anemia, β -thalassemia, amyloidosis, nanotechnology, Duchenne muscular dystrophy, Parkinson's disease caused by genetic causes, digenic and monogenic hearing loss, etc. At this stage of the development of this technology, it is not available for the treatment of genetic and oncological diseases in general medicine. Clinical trials, development of application strategies and prevention of side effects in treatment using molecular scissors are being conducted. The question of the safe use of CRISPR/Cas9 is related to the possibility of unwanted mutations in the genetic material, with the lack of full prediction of the consequences. Choosing the optimal way to deliver CRISPR/Cas9 to the target and developing and improving the technology to prevent the occurrence of unwanted indels are no less urgent issues. The prospects of using these technologies give hope for reducing the mortality and disability of patients with pathologies that are currently difficult to treat or are incurable. Taking into account the percentage of efficiency, the use of CRISPR/Cas9 technology, in contrast to ZFN (Zinc-Finger Nucleases) or TALEN (Transcription Activator-Like Effector Nucleases), is more optimal.

Key words: Molecular scissors, CRISPR/Cas9, genome, DNA, RNA, oncology, sickle cell anemia, β -thalassemia, amyloidosis, nanotechnology, Duchenne muscular dystrophy, Parkinson's disease, digenic tinnitus, monogenic deafness.

Вступ. Стійкість рослинних культур до шкідників та хімікатів, створення популяції комарів із несприйнятливості малярійного плазмодія, імунітет до вірусу імунодефіциту у людини, лікування онкологічних захворювань за допомогою модифікованих Т-лімфоцитів - це все перспективи сучасності за умов використання технології CRISPR/Cas 9.

Розробка системи CRISPR/Cas 9 почалися з 2012 року, Дженіфер Дудна та Еммануель Шарпантьє вперше виявили що ця система може бути досить ефективною для зміни генетичного коду еукаріотичних клітин. Звісно що питання використання CRISPR/Cas 9 полягає в його адаптації та чіткому спрямуванні системи на певні ділянки генетичного коду, це питання вдалось вирішити за рахунок використання CRISPR РНК (crRNA) та транскрипуючої CRISPR РНК (tracrRNA), або ж в іншому варіанті - штучною єдиною напрямною РНК (sgRNA). Остаточна презентація методу відбулася в 2013 році [1]. За своє відкриття, у 2020 році, Дженіфер Дудна та Еммануель Шарпантьє були нагороджені Нобелівською премією з хімії [2]. У 2020 році розвиток системи дозволив створити ще більш точну технологію з дослідження репаративної функції ДНК з досить високою швидкістю та точністю, дозволяє створювати на субмікрометрових та секундному рівнях DSB- дволанцюговий розрив. Цю вдосконалену систему назвали як дуже швидкий CRISPR [3].

Виклад основного матеріалу. Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeat в перекладі на українську це кластеризована система коротких паліндромних повторів із регулярним інтервалом. Ці паліндромні повтори вперше були виявлені в якості адаптивної імунної системи бактерій, її основна роль була ніщо інше, як захист від бактеріофагів. Аббревіатуру для нововиявлених повторів у генетичному коді бактерій, функція яких на той час була не вивчена, дав у 2002 році Янсен.

Пізніше, у 2005 році було виявлено що наявність повторів що є гомологічними до генетичного коду певного вірусу захищає бактерію від нього. Таким чином зберігаючи коротку білкову характеристику вірусу в цілях розпізнавання та знищення трансмісивних генетичних елементів [1]. За історичними відомостями, відкриття цих повторів сталося в 1987 році при дослідженні *Escherichia coli* [4]. В цій системі важливим елементом є ДНК-ендонуклеаза Cas9, саме її дія дозволяє створювати дволанцюговий розрив ДНК [5]. Структура локусу CRISPR складається зі спейсерів котрі відокремлені один від одного послідовностями що повторюються та кодуються короткими неінформативними РНК. Основною функцією цих ділянок в генетичному коді бактерії - це попередження деструктивного впливу бактеріофагів. Механізм заключається в інтегруванні короткої послідовності нуклеотидів з геному бактеріофагу після вірусної атаки. Відповідно, при появі нових нових специфічних спейсерів посилює стійкість бактерії. Дана вбудована система захисту бактерії містить в собі окрім локусу CRISPR, чотири CRISPR-асоційовані (cas) гени. При детальному розгляді послідовності реалізації процесів захисту бактерії, можна виділити три етапи:

1. Під час першого етапу, після контакту бактерії з плазмідами або ж вірусом, відбувається створення клітинної пам'яті. Полягає цей процес у створення спейсерних масивів з генетичним «портретом»загрожуючого об'єкту, далі ці масивні спейсери інтегруються в локус CRISPR.

2. На другому етапі відбувається утворення пре-CRISPR РНК, на основі завантажених спейсерних ділянок в локус CRISPR. Одночасно з цим процесом проходить транскрипція tracrRNA, основна мета котрої полягає в:

а) забезпеченні індукції дозрівання pre-crRNA ферменту RNase III;

б) активації розщеплення ДНК, за рахунок керуваної crRNA.

Наступним етапом йде завантаження комплексу tracrRNA:crRNA на Cas9 (CRISPR-асоційовану нуклеазу 9). І як результат утворюється активний комплекс RNP (ribonucleoprotein).

3. Якщо перші два етапи були підготовчими та характеризуються утворенням необхідних компонентів та активних комплексів, то третій етап є безпосереднім активним етапом, мета якого це утворення дволанцюгового ДНК розриву. Cas9 за рахунок дволанцюгової РНК спрямовано утворює дволанцюговий розрив ДНК в ділянці що комплементарна спейсерній послідовності crRNA.

Основним моментом спонування до створення системи редагування геному CRISPR/Cas9, полягала в ідеї керованої зміни послідовності направляючої РНК людиною [3].

Саме система CRISPR/Cas9, що відноситься до одного з типів другого класу системи CRISPR/Cas є найбільш ефективною завдяки своїй простоті використання. Ця простота використання полягає в тому що на відміну від першого класу системи CRISPR/Cas, де потребується використання декількох білків, в системі другого класу потрібен лише один білок, і найкраще на цю роль підходить ДНК-ендонуклеаза Cas9 [6].

У 2012 році вчені детально встановили схему дії адаптованої системи CRISPR–Cas9 Spyogenes Class II (SpCas9), до якої крім ендонуклеази Cas9 входить одностороння РНК- sgRNA. Механізм взаємодії між цими двома компонентами полягає в тому що нативна crRNA, яка є першою складовою двоконпонентного комплексу направляючої РНК, направляє ДНК-ендонуклеазу до відповідного об'єкту та до другого компоненту, яким є активуюча crRNA (tracrRNA) роль якої створити надійний каркас для зв'язування Cas9. SgRNA, містить в собі напрямний домен (gRNA) він є комплементарний цільовому ланцюгу, та містить постійну tracrRNA, і з рахунок простого синтезу що відбувається між всіма елементами йде отримання точності досягнення цілі білком Cas9 [4].

Спрямована дія Cas9 спричинює до дволанцюгового розриву (DSB) у визначеній дослідником частині генетичного коду. Надалі відбувається поладження DSB розриву, що може проходити за декількома варіантами. Саме через взаємодію обраних послідовностей з керівними РНК, яка відбувається за рахунок сполучення основ Уотсона-Кріка, виникає декілька варіантів подальшого розвитку змін в генетичній інформації. Репарація може бути спрямована на гомологічне з'єднання (HDR), або ж на негомологічне з'єднання (NHEJ) кінців що утворилися внаслідок DSB [7]. Негомологічне з'єднання (NHEJ) кінців виділяють за рахунок частоти помилок що виникають в процесі такого типу репарації, до цих помилок відноситься видалення пар основ (інделі) та створення випадкових вставок у генетичний

матеріал, до його особливостей також варто віднести що негомологічне з'єднання кінців відбувається на всіх стадіях розвитку циклу клітини. Цей метод репарації призводить до створення пулу редагованих клітин, що можуть використовуватися у відборі у генному нокауті [5]. Дослідники дійшли до висновку, що точні нуклеотидні заміни, або ж вставки до ~8,0 кб у місці розриву або поблизу нього, можуть досягатися шляхом гомологічної репарації при умові надання одноланцюгового або ж дволанцюгового донора ДНК. Також було проведено експерименти в ході яких було виявлено що використання нуклеазного комплексу Cas9/gRNA для специфічного розщеплення яке генерує різноманітність інделів у локусах рибок даніо є досить вдалим, та навіть простішим у використанні на відміну від систем ZFN або TALEN [8].

Важливим аспектом застосування системи CRISPR/Cas9 є питання транспорту, ця система діє без перешкод у прокаріотів, але в організмі еукаріотів вона наштовхується на перешкоду у вигляді ядра. Для цього розробляються системи доставки CRISPR/Cas9 через бар'єри. Найбільш поширеним методом є доставка системи через вірус опосередкований механізм, який полягає у включенні у вірусний геном послідовностей що кодуються системи CRISPR/Cas9, та подальше вивільнення закодованої інформації у клітини досліджуваного прокаріоту. Досить ефективний спосіб, але він містить свій ряд недоліків таких як можливість лише мінімального навантаження вірусу закодованою інформацією, імунна відповідь організму прокаріота на введення вірусу, виникнення мутацій та канцерогенез.

Сучасні дослідження спрямовані на розробку нових методів доставки матеріалу, серед яких є метод з використанням наноматеріалів які показали свою ефективність використання *in vivo* та *in vitro*. Список цих наноматеріалів включає в себе наночастинки золота, везикули, катіонні ліпосоми, LNP (ліпідні наночастинки), катіонні полімери [2].

Система CRISPR/Cas9 не є досконалою та має небажані ефекти, які активно досліджуються, можна простежити певні розбіжності між дослідженнями різних вчених. Ці розбіжності викликані різноманітними факторами серед яких є різна концентрація Cas9, різноманітні способи доставки матеріалу, деякі з них були приведені вище, використання різних прокаріотичних організмів, тощо [9]. Велика кількість небажаних ефектів було виявлено при застосування системи редагування геному при лікуванні різноманітних мозкових захворювань. Цей орган завжди цікавив вчених не тільки через неймовірно широкий спектр функцій, але й через не менш об'ємну частину захворювань що його вражають, тому досить логічним є те що було вирішено провести дослідження із застосуванням CRISPR/Cas9. В залежності від способу доставки матеріалу виникали різноманітні побічні ефекти, наприклад при застосування вірус опосередкованого методу виникали

проблеми пов'язані з інфікуванням через застосування внутрішньомозкових інвазивних ін'єкцій та виникнення небажаних генетичних мутацій, імуногенності методу. При застосуванні методу наночастинок при перенасиченні мозку ними виникали небажані токсичні ефекти та інші порушення. Однією із проблем доставки системи редагування геному у мозкові тканини є необхідність подолання гематоенцефалічного бар'єру, тому вченими було запропоновано метод доставки матеріалу шляхом пакування його в полімерну дисульфідно-зшити оболонку [10].

Одним із аспектів котрі полягають у проблематиці застосування CRISPR/Cas є його залежність від дволанцюгового розриву, внаслідок якого може відбутися неконтрольовані та небажані мутації за рахунок видалення великої кількості основ та створення нової нуклеотидної послідовності. Один із прикладів виникнення небажаних ефектів від застосування «молекулярних ножиць» є генерування мутацій p53 у плюрипотентних стовбурових клітинах, що має значний негативний вплив на спектр можливостей застосування CRISPR/Cas для замісної клітинної терапії. Проте, враховуючи, що більшість мутацій, в тому числі в організмі людини відносяться до SNP (single nucleotide polymorphisms), удосконаленні системи на основі CRISPR/Cas спрямовані на заміну лише однієї пари основ, що дозволяє уникати DSB.

Серед сучасних базових редакторів існує два типи систем для внесення точкових мутацій без DSB:

1. CBE (cytosine base editor) – до складу даного базового редактору входить: інгібітор урацил ДНК-глікозилази (UDG) (UGI), частково неактивний Cas9 (nCAs9) або dCas9 та цитидиндезаміназа. Розроблений у 2016 році редактор основ цитозину використовує цитидиндезаміназу з метою каталізації реакції дезамінування та заміни цитозину на урацил, за рахунок зв'язування з гомологічною основою, в результаті чого невідповідна пара основ U-G замінюється на пару T-A в процесі активації відновлюючих механізмів ДНК. Основана проблема використання CBE полягає в різниці ефективності успішного застосування даного базового редактора в умовах *in vitro* та в при редагуванні людських клітин (успішність редагування в 5–36 разів нижча ніж *in vitro*).

2. ABE (adenine base editor) – цей редактор за механізмом дії подібний до CBE, але в цьому випадку цитидиндезаміназу замінили на денозидеазаміназу. В ході використання ABE відбувається заміна пари основ C-G на T-A. Під час дезамінування аденозину відбувається утворення інозину, котрий може зчитуватися як гуанін за рахунок протікання процесів реплікації та транскрипції.

Базові редактори за рахунок відсутності дволанцюгового розриву у механізмі редагування генетичного коду, зменшують вірогідність утворення

інделів, що підвищує відсоток безпечного застосування даного методу генної інженерії. Оглядаючи перспективи застосування базових редакторів важливо зазначити, що близько 70% SNP, що викликають захворювання, піддаються редагуванню за допомогою даного методу. Проте технологія потребує детального вивчення задля вирішення проблематики виникнення нецільових ефектів, котрі можуть сприяти пухлиногенезу [3].

Система CRISPR/Cas9 вражає своїми перспективами для лікування різноманітних захворювань, серед яких є генетичні захворювання. Застосування методу має безліч напрямків, найбільш звертаючими на себе увагу є створення клітинних та тваринних зразків для дослідження та лікування захворювань людини; виведення нових зразків тварин з відредагованим генетичним кодом; створення генетично модифікованих пухлинних та стовбурових клітин, тощо. Перспективи застосування цієї технології поширюється на такі захворювання, як гемофілія; серповидно-клітинна анемія; β -таласемія; лікування онкологічних захворювань; Синдром набутого імунодефіциту (СНІД); вірус папіломи людини (ВПЛ), серед якого наявні онкогенні штами, тощо [11].

CRISPR/Cas9 має можливість для застосування якості інструменту для вивчення структури та змісту генетичного коду людини, прикладом є дослідження проведені з плацентою за допомогою системи. В дослідженні зазначається що CRISPR/Cas9 дозволяє виявляти та охарактеризувати різноманітні гени що контролюють процеси в утворенні організму, в цьому експерименті було застосовано об'єднаний загальною геномний нокаут-скрін CRRISPR/Cas9. В результаті цього дослідження було виявлено що за допомогою системи CRISPR/Cas9 були ініційовані певні генні послідовності що мали здатність обмежувати ріст у клітинах трофобласту людини [12].

У випадку підбору захворювання що здатне піддатися терапії на основі системи CRISPR/Cas9 важливо враховувати кількість генів що кодують патологію, чим їх більше тим менш ефективною буде терапія системою редагування геному та тим більше вона буде давати ускладнень. Ідеальним прикладом захворювання у випадку якого терапія системою редагування геному буде максимально ефективною - є амілоїдоз ATTR. Внаслідок того що це захворювання кодується лише одним геном, CRISPR/Cas9 є досить ефективним в застосуванні *in vivo*. Запропонована науковцями терапія проводиться у вигляді внутрішньовенних інфузій, основною метою яких є редагування білка транстиретину TTR у гепатоцитах, вже з першого введення є помітний результат у вигляді значного зниження білка TTR. При проведенні експериментального до-

слідження та приматах та мишах було встановлено, що одноразова інфузія зменшувала рівень білка в сироватці крові на 95%, що на даний момент часу є найкращим показником серед різних видів терапії амілоїдозу [13].

Дослідження ефективності системи редагування геному проводилася також з метою лікування таких захворювань як ерповидно-клітинна анемія та β -таласемія. В експерименті використовували гемопоетичні стовбурові клітини та клітини-попередники (HSPC) у еритроїдному специфічному енхансерному регіоні BCL11A, метою цього дослідження була спроба відтворити фенотип спадкової персистенції фетального гемоглобіну. В результаті дослідження було створено препарат який ввели двом пацієнтам: дівчині 19 років та жінці 33 річного віку, одна пацієнтка була з трансфузійно-залежною β -таласемією (TDT), а інша з серповидно-клітинною анемією (SCD). Після введення CTH001 (автологічні CRISPR-Cas9-відредаговані CD34+ HSPCs) динаміка стану обох пацієнток змінилась на краще за рахунок значного та стійкого підвищення рівня фетального гемоглобіну з панцелюлярністю понад 99% на протязі 12-ти місяців. Ці висновки, які вказують на те, що HSPC, відредаговані за CRISPR-Cas9 прижилися на тривалий термін, що підтримувався, узгоджується з очікуваною перевагою виживання еритроцитів з високим рівнем фетального гемоглобіну. Експеримент з двома пацієнтками довело, що CTH001, який було розроблено за допомогою системи CRISPR/Cas9, імітує фенотип спадкової персистенції рівнів фетального гемоглобіну [14].

В іншому дослідженні з CRISPR-Cas9 проводилось редагування гена енхансера BCL11A для педіатричної β 0 / β 0 залежної від трансфузії β -таласемії. Метою цього експерименту було отримання незалежності пацієнтів від переливання крові на максимальний термін, кінцеві результати показали ефективність цього методу оскільки обидва пацієнта які приймали участь в експерименті досягли незалежності від переливання на термін більше ніж 18 місяців їхній гемоглобін підвищився з 8,2 і 10,8 г/дл-1 під час скринінгу до 15,0 і 14,0 г/дл-1 під час останнього скринінгу, відповідно, з 85,46% і 89,48% стійкістю редагування в клітинах кісткового мозку. Також важливо зазначити, що додаткові скринінги не виявили побічних ефектів від лікування [15].

Другим нейродегенеративним розладом за поширеністю у світі є хвороба Паркінсона. Характеризуються хвороба Паркінсона зменшенням кількості дофамінергічних нейронів та утворенням тілець Леві, котрі містять α -syn (агрегований α -синуклеїн). Поділяють хворобу Паркінсона на спорадичну та сімєну. Питання остаточного дослідження причини розвитку спорадичної форми хвороби, не досліджене та залишається відкритим, на відміну від

сімєної форми, яка має генетичне підґрунтя. Причиною хвороби Паркінсона пов'язують з мутаціями в BX07, DNAJC1, PLA2G634, ATR13A2 і SYNJ. Мутації в локусі SNCA (synuclein alpha) є найбільш значущими при поясненні розвитку хвороби Паркінсона, разом зі змінами котрі пов'язані з LRRK2 (кіназа повторів лейцину 2). Технологія CRISPR/Cas9 дозволяє проводити дослідження спрямовані на вивчення етіологічної значимості залучення кіназ LRRK2, PINK1, PARKIN, AMP-активована протеїнкіназа (AMPK) і протеїнкіназа C-дельта. типу (PKC δ), в процес розвитку хвороби Паркінсона. За рахунок можливості точного редагування спрямованості застосування технології «молекулярні ножиці» на обрані ділянки генетичного коду, виникає питання можливості терапевтичного застосування технології [16].

Вченими було проведено експеримент in vivo із застосуванням CRISPR/Cas9, в ході якого було проведено редагування мутацій в гені Atp2b2, котрі спричиняють втрату слуху. Для проведення даного дослідження використовувалась мишача модель гену, а саме Atp2b2 Obl /+. В ході проведення дослідження було виявлено масивні делеції пов'язані з локусом Obl, та інделями. Застосування CRISPR/Cas9 дає можливість відновлення слуху за рахунок сприяння відновленню волоскових сенсорних клітин. Розвиток сучасних технологій дозволяє спрямувати дію CRISPR/Cas9 одночасно на мутацію в гені Tmc1 Beethoven та Atp2b2 Oblivion, що має позитивний терапевтичний ефект при дигенній генетичній втраті слуху. Актуальність проведення вищеприписаного експерименту пояснюється поширеністю глухоти серед світового населення. Близько 6% людей страждає від втрати слуху, близько половини з усіх клінічних випадків пов'язані з вродженою сенсорно-невральною втратою слуху (SNHL) асоційованою генетичними причинами. При розгляді патогенезу даної патології варто враховувати, що зміни відбуваються у слуховому нерві або ж внутрішньому вусі, на даний момент лікування неможливе. Останні дослідження що проводились на мишах, дозволили створити генетичну стратегію котра полягає в заміні пошкодженого гена за рахунок AAV (аденоасоційованих векторів), які доставляють microRNA або ж antisense oligonucleotides, та інактивують дію домінуючих генів провокуючих глухоту. Не дивлячись на високий відсоток успішності застосування вище вказаної технології, даний метод потребує додаткових досліджень пов'язаних із попередженням небажаних ефектів пов'язаних зі складністю урахування розміру гени котрий має переноситися AAV, та можливим виникненням ускладнень пов'язаних з застосуванням вірусних векторів [17].

Питання дослідження утворення ненавмисних мутацій пов'язаних із застосуванням CRISPR/Cas9 виникло при розробці методики втручання

в генетичний код з терапевтичною метою спрямованої на лікування м'язової дистрофії Дюшена. Під час проведення досліджено вченими було вивчено перспективність застосування різноманітних методів доставки комплексу CRISPR/Cas9 до мішеней, серед досліджених методів було розглянуто застосування: вірусних векторів, наночастинок та електропорацію. Однієї з проблем застосування вірусних векторів є імунна відповідь на дану технологію, що значно обмежує її застосування та ефективність з оглядом на урахування безпечності використання даного методу. Патогенетично, м'язова дистрофія Дюшена полягає в порушенні можливості експресувати білок дистрофік м'язовими клітинами. Тому, відповідно до патогенезу захворювання, застосування CRISPR/Cas9 спрямоване на відновлення вищеописаної експресії дистрофіну. Дистрофін- це білок котрий з'єднує саркомеру з F-актином, окрім м'язів даний білок, в менших кількостях, присутній в сітківці ока та головному мозку, чим можна пояснити неврологічну симптоматику при даному захворюванні. Особливість розташування гену дистрофіну в X-хромосомі пояснює більший відсоток розповсюдженості хвороби серед чоловіків, дана генетична патологія у жінок здебільшого перебігає безсимптомно. Розглядаючи точну локалізацію довгого гену, варто вказати що він розміщений на короткому плечі X-хромосоми та має

N-кінцевий актинзв'язуючий домен, домен багатий цистеїном, центральний стрижневий домен та C-кінцевий домен. Він відіграє важливу роль у формуванні дистрофін-глікопротеїнового комплексу, і відсутність цього гену є причиною м'язової дистрофії Дюшена. При розгляді та порівнянні ефективності використання різноманітних методів генної інженерії, вченими було встановлено що ефективність застосування CRISPR/Cas9 значно вища в порівнянні з технологіями ZNF та TALEN. Різниця ефективності полягає в більшому проміжку часу необхідного для синтезування нового білка для конкретної цільової ДНК [18].

Висновки. Беручи до уваги сучасні дослідження системи CRISPR/Cas9 ми можемо зробити висновок що відкриття цього способу редагування геному є важливим кроком в розвитку медицини. Лікування онкологічних та генетичних захворювань дає шанс на значне зниження ризиків смертності та безробіття серед цих груп людей. Застосування молекулярних ножиць є ще недостатньо дослідженим, є суттєві недоліки у виборі та застосування різноманітних методів транспорту, до клітин мішеней, матеріалу системи редагування. Проте, це цікавий метод, який варто досліджувати та пізнавати, адже можливо саме завдяки CRISPR/Cas9 будуть створені нові, кардинально змінені погляди на лікування тяжких захворювань, це плацдарм для науки та медицини майбутнього.

Список використаних джерел:

1. Zhang, Song, et al. "Strategies in the delivery of Cas9 ribonucleoprotein for CRISPR/Cas9 genome editing." *Theranostics* 11.2 (2021): 614.
2. Duan, Li, et al. "Nanoparticle delivery of CRISPR/Cas9 for genome editing." *Frontiers in Genetics* 12 (2021): 673286.
3. Wang, Si-Wei, et al. "Current applications and future perspective of CRISPR/Cas9 gene editing in cancer." *Molecular Cancer* 21.1 (2022): 1-27.
4. Konstantakos, Vasileios, et al. "CRISPR-Cas9 gRNA efficiency prediction: an overview of predictive tools and the role of deep learning." *Nucleic Acids Research* 50.7 (2022): 3616-3637.
5. Dimitri, Alexander, Friederike Herbst, and Joseph A. Fraietta. "Engineering the next-generation of CAR T-cells with CRISPR-Cas9 gene editing." *Molecular Cancer* 21.1 (2022): 78.
6. Xu, Xiaoyu, et al. "Nanotechnology-based delivery of CRISPR/Cas9 for cancer treatment." *Advanced Drug Delivery Reviews* 176 (2021): 113891.
7. Selvakumar, Sushmaa Chandralekha, et al. "CRISPR/Cas9 and next generation sequencing in the personalized treatment of Cancer." *Molecular Cancer* 21.1 (2022): 83.
8. Chang N. et al. Genome editing with RNA-guided Cas9 nuclease in zebrafish embryos // *Cell research*. 2013. T. 23. №. 4. C. 465-472.
9. Höijer, Ida, et al. "CRISPR-Cas9 induces large structural variants at on-target and off-target sites in vivo that segregate across generations." *Nature Communications* 13.1 (2022): 627.
10. Zou, Yan, et al. "Blood-brain barrier-penetrating single CRISPR-Cas9 nanocapsules for effective and safe glioblastoma gene therapy." *Science advances* 8.16 (2022): eabm8011.
11. Bhattacharjee, Gargi, et al. "Current approaches in CRISPR-Cas9 mediated gene editing for biomedical and therapeutic applications." *Journal of Controlled Release*, 2022.
12. Dong, Chen, et al. "A genome-wide CRISPR-Cas9 knockout screen identifies essential and growth-restricting genes in human trophoblast stem cells." *Nature communications* 13.1 (2022): 2548.
13. Gillmore, Julian D., et al. "CRISPR-Cas9 in vivo gene editing for transthyretin amyloidosis." *New England Journal of Medicine* 385.6 (2021): 493-502.
14. Frangoul, Haydar, et al. "CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia." *New England Journal of Medicine* 384.3 (2021): 252-260.

15. Fu, Bin, et al. "CRISPR-Cas9-mediated gene editing of the BCL11A enhancer for pediatric $\beta 0/\beta 0$ transfusion-dependent β -thalassemia." *Nature Medicine* 28.8 (2022): 1573-1580.
16. Mansour, Heba M., and Aiman S. El-Khatib. "Exploring Parkinson-associated kinases for CRISPR/Cas9-based gene editing: beyond alpha-synuclein." *Ageing Research Reviews* (2023): 102114
17. Tao, Yong, et al. "Treatment of monogenic and digenic dominant genetic hearing loss by CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery in vivo." *Nature Communications* 14.1 (2023): 4928.
18. Agrawal, Pooja, et al. "Role of CRISPR/Cas9 in the treatment of Duchenne muscular dystrophy and its delivery strategies." *Life Sciences* (2023): 122003.

References:

1. Zhang, Song, et al. "Strategies in the delivery of Cas9 ribonucleoprotein for CRISPR/Cas9 genome editing." *Theranostics* 11.2 (2021): 614.
2. Duan, Li, et al. "Nanoparticle delivery of CRISPR/Cas9 for genome editing." *Frontiers in Genetics* 12 (2021): 673286.
3. Wang, Si-Wei, et al. "Current applications and future perspective of CRISPR/Cas9 gene editing in cancer." *Molecular Cancer* 21.1 (2022): 1-27.
4. Konstantakos, Vasileios, et al. "CRISPR-Cas9 gRNA efficiency prediction: an overview of predictive tools and the role of deep learning." *Nucleic Acids Research* 50.7 (2022): 3616-3637.
5. Dimitri, Alexander, Friederike Herbst, and Joseph A. Fraietta. "Engineering the next-generation of CAR T-cells with CRISPR-Cas9 gene editing." *Molecular Cancer* 21.1 (2022): 78.
6. Xu, Xiaoyu, et al. "Nanotechnology-based delivery of CRISPR/Cas9 for cancer treatment." *Advanced Drug Delivery Reviews* 176 (2021): 113891
7. Selvakumar, Sushmaa Chandralekha, et al. "CRISPR/Cas9 and next generation sequencing in the personalized treatment of Cancer." *Molecular Cancer* 21.1 (2022): 83.
8. Chang N. et al. (2013). Genome editing with RNA-guided Cas9 nuclease in zebrafish embryos //Cell research. T. 23. №. 4. C. 465-472.
9. Höijer, Ida, et al. "CRISPR-Cas9 induces large structural variants at on-target and off-target sites in vivo that segregate across generations." *Nature Communications* 13.1 (2022): 627.
10. Zou, Yan, et al. "Blood-brain barrier-penetrating single CRISPR-Cas9 nanocapsules for effective and safe glioblastoma gene therapy." *Science advances* 8.16 (2022): eabm8011.
11. Bhattacharjee, Gargi, et al. (2022). "Current approaches in CRISPR-Cas9 mediated gene editing for biomedical and therapeutic applications." *Journal of Controlled Release*.
12. Dong, Chen, et al. "A genome-wide CRISPR-Cas9 knockout screen identifies essential and growth-restricting genes in human trophoblast stem cells." *Nature communications* 13.1 (2022): 2548
13. Gillmore, Julian D., et al. "CRISPR-Cas9 in vivo gene editing for transthyretin amyloidosis." *New England Journal of Medicine* 385.6 (2021): 493-502
14. Frangoul, Haydar, et al. "CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia." *New England Journal of Medicine* 384.3 (2021): 252-260.
15. Fu, Bin, et al. "CRISPR-Cas9-mediated gene editing of the BCL11A enhancer for pediatric $\beta 0/\beta 0$ transfusion-dependent β -thalassemia." *Nature Medicine* 28.8 (2022): 1573-1580.
16. Mansour, Heba M., and Aiman S. El-Khatib. "Exploring Parkinson-associated kinases for CRISPR/Cas9-based gene editing: beyond alpha-synuclein." *Ageing Research Reviews* (2023): 102114
17. Tao, Yong, et al. "Treatment of monogenic and digenic dominant genetic hearing loss by CRISPR-Cas9 ribonucleoprotein delivery in vivo." *Nature Communications* 14.1 (2023): 4928.
18. Agrawal, Pooja, et al. "Role of CRISPR/Cas9 in the treatment of Duchenne muscular dystrophy and its delivery strategies." *Life Sciences* (2023): 122003.