



Н.С. Покровский¹  
М.А. Водякова¹ 
Е.В. Мельникова¹ 
В.А. Меркулов^{1,2} 

Разработка препаратов, полученных путем редактирования генома: регуляторная практика

¹ Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научный центр экспертизы средств медицинского применения» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация

² Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова» (Сеченовский Университет) Министерства здравоохранения Российской Федерации, Трубецкая ул., д. 8, стр. 2, Москва, 119991, Российская Федерация

✉ Покровский Никита Станиславович; pokrovsky.ns@gmail.com

РЕЗЮМЕ

Новейшим подходом в генной терапии является использование систем редактирования генома соматических клеток для лечения пациентов с наследственными моногенными, онкологическими заболеваниями и инфицированных вирусом иммунодефицита человека. Редактирование генома позволяет изменить дефектный ген или провести его полное удаление с помощью систем «нуклеазы с цинковыми пальцами» (ZFN), «эффакторные нуклеазы, подобные активаторам транскрипции» (TALEN) и «короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами с CRISPR-ассоциированным белком 9» (CRISPR-Cas9).

Цель работы: анализ мирового опыта и нормативных требований к разработке препаратов, полученных с использованием технологии редактирования генома постнатальных соматических клеток.

В работе описаны принципы методов редактирования генов CRISPR, ZFN или TALEN, сравнение преимуществ и недостатков каждого подхода. Разработка, производство и оценка препаратов, полученных с использованием технологий редактирования генома, так же как и этические аспекты их применения, требуют особого подхода со стороны регуляторных и законодательных органов. В настоящее время требования и рекомендации к разработке таких препаратов ограничиваются преимущественно необходимостью оценки возникновения нецелевых эффектов и рисков отложенных по времени нежелательных явлений; возможностью адаптации дизайна клинических исследований в аспекте применения суррогатных конечных точек, исключения из исследований здоровых добровольцев и групп сравнения, выбора начальной дозы для клинических исследований на основе научных данных. Кроме того, должны быть разработаны регуляторные подходы для государственной регистрации препаратов на основе систем редактирования генома.

Ключевые слова: генная терапия; системы редактирования генома; моногенные заболевания; мутации; доклинические исследования; клинические исследования; регистрация препаратов; CRISPR

Для цитирования: Покровский Н.С., Водякова М.А., Мельникова Е.В., Меркулов В.А. Разработка препаратов, полученных путем редактирования генома: регуляторная практика. *Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2023. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-zzz>

N.S. Pokrovsky¹  
M.A. Vodyakova¹ 
E.V. Melnikova¹ 
V.A. Merkulov^{1,2} 

Development of Medicinal Products Based on Gene-Editing Technology: Regulatory Practices

¹ Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products, 8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Sechenov University), 8/2 Trubetskaya St., Moscow 119991, Russian Federation

✉ Nikita S. Pokrovsky; pokrovsky.ns@gmail.com

ABSTRACT

Somatic cell genome-editing systems are the most recent gene therapy technology to treat patients with monogenic hereditary cancer or HIV. Gene editing allows for changing or completely removing a defective gene with regularly interspaced short palindromic repeat (CRISPR), zinc-finger nuclease (ZFN), and transcription activator-like effector nuclease (TALEN) systems.

The aim of the study was to analyse the existing international experience and regulatory requirements relating to the development of medicinal products based on genome editing of postnatal somatic cells.

This article describes the mechanism of action of CRISPR, ZFN, and TALEN systems and compares their advantages and disadvantages. Regulatory and legislative authorities should take a special approach to the development, manufacture, and assessment of medicinal products based on genome editing, as well as to the ethical aspects of their use. Current requirements and recommendations for the development of medicinal products based on genome editing are mostly limited to the need to evaluate the risks of off-target effects and late-onset adverse events and the possibility to adapt clinical trial design to surrogate endpoints, exclude healthy volunteers and comparison groups, and select initial doses for clinical trials based on scientific data. Thus, a regulatory approach should also be developed for the marketing authorisation of medicinal products based on genome-editing systems.

Key words: gene therapy; genome-editing systems; monogenic diseases; mutations; non-clinical trials; clinical trials; marketing authorisation; CRISPR

For citation: Pokrovsky N.S., Vodyakova M.A., Melnikova E.V., Merkulov V.A. Development of medicinal products based on gene-editing technology: regulatory practices. *Bulletin of the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products. Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2023. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-zzz>

В настоящее время проводится множество исследований в области генной терапии с использованием систем редактирования генома соматических клеток [1]. Объектами для изучения эффективных механизмов действия препаратов на основе таких систем обычно являются пациенты с моногенными, онкологическими заболеваниями, а также инфицированные вирусом иммунодефицита человека (ВИЧ) [2–5].

Основным преимуществом инструментов редактирования является контролируемый характер изменений, вносимых в геном, чего невозможно достичь с помощью классических вирусных векторов. Использование систем редактирования генома является актуальным для терапии наследственных моногенных заболеваний, вызванных дефектами в генах, когда ген имеет

слишком большой размер для доставки его правильной копии с помощью вирусных векторов (емкость вирусных векторов ограничена). В этом случае могут быть использованы «редакторы генома» для устранения мутации природного гена и восстановления его функции. Подобная стратегия, например, описана для лечения редкого генетического заболевания, приводящего к потере зрения в детском возрасте, – врожденного амавроза Лебера 10-го типа, вызванного мутацией в гене *CEP290* [6].

Другим распространенным применением «редакторов генома» в терапии является выключение гена: стратегия сайт-специфической модификации гена-рецептора *CCR5* ВИЧ изучается как при непосредственном введении вирусного вектора с «редактором генома» (генная терапия

in vivo), так и при генетической модификации собственных клеток пациента *ex vivo* с последующим возвращением их в организм [7].

Вероятным применением систем редактирования генома в настоящее время считается также их использование в персонализированном лечении отдельных пациентов с заболеваниями, причинами которых являются редкие единичные мутации (N=1) [8].

Необходимо отметить работу, связанную с редактированием генома эмбрионов человека китайским биофизиком Н. Jiankui, в результате которого в 2018 г. родились девочки-двойняшки (отец – положительный по ВИЧ-инфекции) с мутациями в гене *CCR5*, кодирующем белок, позволяющий ВИЧ проникать в клетки [9]. Исследователь имитировал мутацию, приводящую к невосприимчивости к заражению ВИЧ, присутствующую примерно у 10% европейцев [10, 11]. Эта работа вызвала широкий общественный резонанс со стороны всего мирового научного и регуляторного сообщества, обсуждения продолжаются до сих пор. Последствия для жизни самих детей могут быть оценены еще не скоро, поскольку необходимо определить, были ли внесены мутации в другие части генома (нецелевые эффекты), а также насколько нокаут гена *CCR5* критичен для длительного функционирования организма, так как продукт мутации гена имеет функции, связанные с ответом организма на другие инфекции [9].

Инновационный подход к лечению тяжелых жизнеугрожающих заболеваний в отсутствие других эффективных методов лечения, предполагающий непосредственное воздействие на геном пациента, подразумевает необходимость рассмотрения особенностей разработки, изучения в доклинических (ДКИ) и клинических исследованиях (КИ), дополнительной оценки последствий медицинского применения таких препаратов. В настоящее время опубликованы рекомендации Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), описывающие лишь некоторые аспекты применения технологий редактирования генома, риски и возможные последствия, ассоциированные с ними. В документе обращается внимание на необходимость формирования этических принципов и установления международных стандартов и механизмов контроля применения технологий редактирования генома в медицинской практике и создания для этих целей комитета для регулярного мониторинга

КИ; обмена информацией между регуляторными органами на международном уровне; создания реестров КИ и одобрения экспертами таких исследований до начала их проведения; разработки протоколов оценки КИ для выявления потенциально опасных случаев¹. Подходы к разработке группы препаратов на основе систем редактирования генома также частично описаны в руководствах регуляторных органов Европейского союза (ЕС), США, Японии, Китая, Южной Кореи по препаратам генной терапии. В России в настоящее время только готовится проект регламентирующих решений для разработки препаратов генной терапии в рамках законодательной базы Евразийского экономического союза (ЕАЭС), однако особенностям разработки препаратов на основе систем редактирования генома так же, как и в руководствах ЕС, будет уделено небольшое внимание.

Цель работы – анализ мирового опыта и нормативных требований к разработке препаратов, полученных с использованием технологии редактирования генома постнатальных соматических клеток. В статье не рассматривается применение технологии редактирования генома для репродуктивных технологий (эмбрионов и половых клеток).

Системы редактирования генома

Системы редактирования генома активно стали изучаться только в последние два десятилетия (табл. 1). Методы редактирования генома эволюционировали от трансфекции путем совместного культивирования, электропорации и микроинъекции ДНК внутрь клетки до широко используемых в настоящее время систем ZFN (zinc-finger nucleases, «нуклеазы с цинковыми пальцами»), TALEN (transcription activator-like effector nucleases, эффекторные нуклеазы, подобные активаторам транскрипции) и CRISPR-Cas9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats, короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами с CRISPR-ассоциированным белком 9) (рис. 1, табл. 2) [12–15]. Все системы редактирования генома используют встроенные в клетку механизмы для репарации разрывов ДНК. Таким образом, внося направленный разрыв на определенном участке генома, встроенные в клетку механизмы помогают сшить два конца цепи после удаления нежелательного участка либо встроить между ними новую целевую последовательность. Внесение разрывов

¹ WHO Expert Advisory Committee on developing global standards for governance and oversight of human genome editing. Human genome editing: recommendations. Geneva: World Health Organisation; 2021.

Таблица 1. Количество статей, посвященных изучению методов редактирования генома, индексирующихся в «PubMed»**Table 1.** Number of papers on genome-editing techniques indexed in PubMed

Год Year	Количество статей по запросу в «PubMed» Number of papers retrieved from PubMed		
	CRISPR-Cas9	Zinc-finger nucleases	TALEN
2010	0	88	8
2012	3	113	60
2014	368	193	294
2016	1612	153	353
2018	3048	130	244
2020	4138	92	195
2022 (июнь/ June)	2249	32	77

Примечание. CRISPR-Cas9 – короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами с CRISPR-ассоциированным белком 9; TALEN – эффекторные нуклеазы, подобные активаторам транскрипции; zinc-finger nucleases – «нуклеазы с цинковыми пальцами».

PubMed – <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>

Note. CRISPR-Cas9, clustered regularly interspaced short palindromic repeats with CRISPR-associated protein 9; TALEN, transcription activator-like effector nucleases.

осуществляется нуклеазами специфично и с высокой эффективностью. Результатом редактирования может быть замена мутантного гена на его функциональный аналог, удаление нежелательных участков из генома, а также встраивание нового участка в геном.

В настоящее время ни один генотерапевтический препарат на основе систем редактирования генома не разрешен в мире регуляторными органами для применения в медицинской практике, однако в 2020–2021 гг. Европейское агентство по лекарственным средствам (European Medicines Agency, EMA) присвоило статус препарата приоритетной медицины PRIME препарату для лечения серповидно-клеточной анемии и β-талассемии, представляющему собой редактированные CRISPR аутологичные гемопоэтические клетки (autologous CD34⁺ haematopoietic stem cells with a CRISPR-edited erythroid enhancer region of the *BCL11A* gene) на основе представленных данных доклинических исследований и клинического исследовательского опыта².

Состав препаратов на основе технологий редактирования генома в качестве активной фармацевтической субстанции может включать отредактированные клетки (генная терапия *ex vivo*) либо конструкции (экспрессирующие вирусные векторы и плазмиды; РНК и белок), несущие «редакторы генома» для редактирования генов целевых клеток непосредственно в организме человека (генная терапия *in vivo*).

Исследования в области разработки лекарственных препаратов на основе систем редактирования генома

Наиболее распространенными заболеваниями, при которых возможно применение препаратов на основе технологий редактирования генома, являются моногенные заболевания, поражающие около 250 млн человек в мире. Современные генетические технологии позволяют довольно быстро проводить скрининг уже известных или новых мутаций в геноме человека, а также проводить исследования на моделях связанных с такими мутациями заболеваний (Дополнительные материалы, табл. 3 «Примеры изучения потенциала систем редактирования генома для лечения заболеваний *in vitro* и *in vivo*» см. на сайте журнала³). По мнению одного из создателей системы редактирования генома CRISPR J. Doudna, подходящими моделями для данной терапии являются серповидно-клеточная анемия и миодистрофия Дюшенна [20, 21]. Основным подходом в лечении серповидно-клеточной анемии является *ex vivo* редактирование гемопоэтических стволовых клеток пациента и последующее их возвращение в организм, причем может быть применено две стратегии: исправление вызывающей заболевание мутации в β-глобине (А-Т, приводящая к замене глутамата на валин) либо активирование экспрессии γ-глобина, фетальной формы гемоглобина, который может функционально заменить дефектный β-глобин. Стратегия и дизайн

² List of medicines currently in PRIME scheme, 23 May 2022. EMA/521657/2016.

³ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-zzz-tabl3>

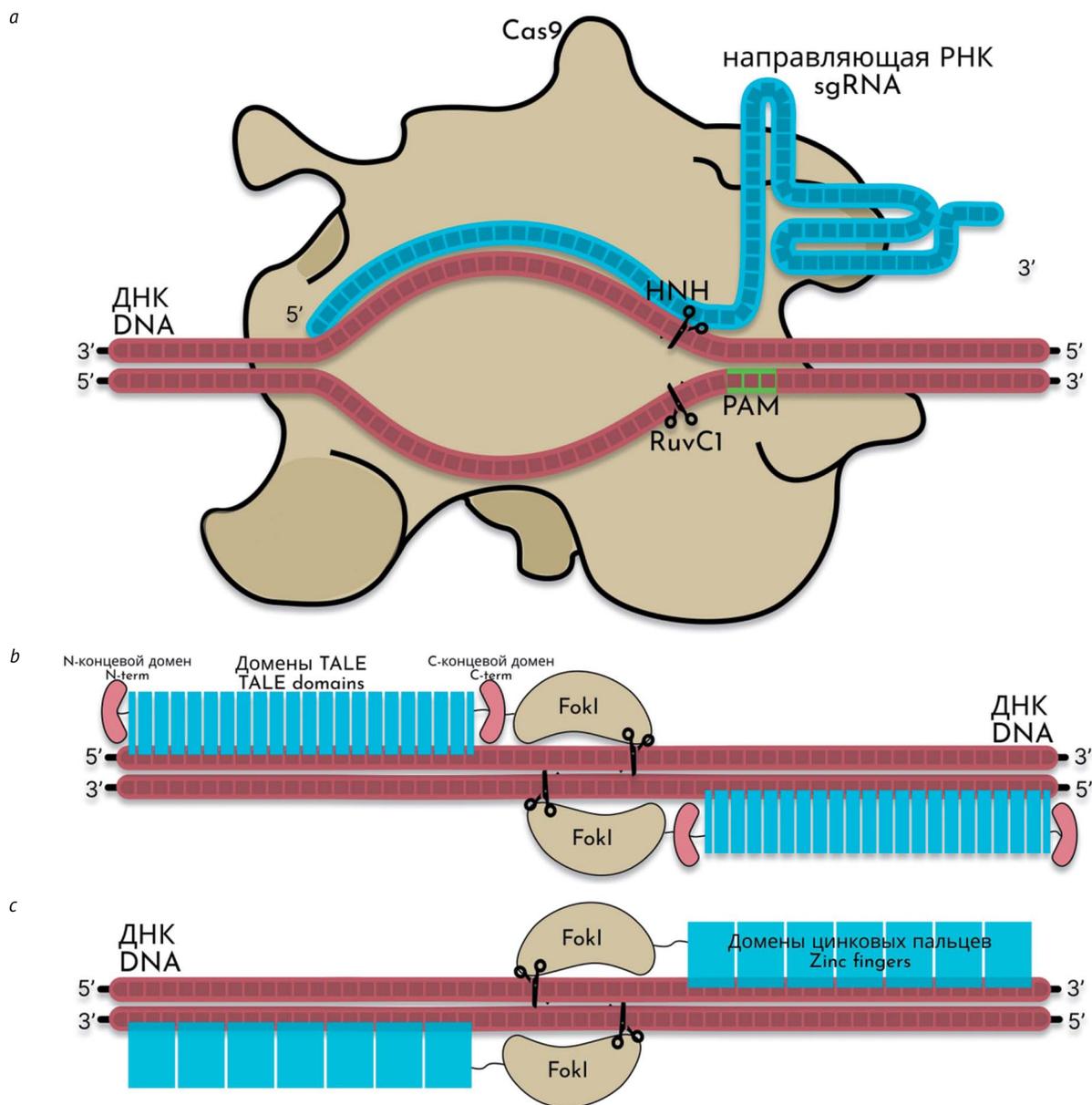


Рис. 1. Схематичное изображение механизма действия: (а) системы CRISPR-Cas9. Направляющая (гибкая) РНК, прикрепленная к белку Cas9, находит комплементарный участок ДНК вблизи мотива, смежного с протоспейсером (PAM – protospacer adjacent motif), и вносит двухцепочечный разрыв с помощью RuvC1 и HNH; (б) системы TALEN. Повторяющиеся домены TALE, с двух концов ограниченные концевыми доменами, комплементарны определённому основанию и связываются с соответствующим участком ДНК, внося двухцепочечный разрыв доменом FokI в димерной форме в каждую из цепей ДНК; (в) системы «цинковых пальцев» (ZFN). «Пальцы» связываются с комплементарными им триплетами на обеих цепочках ДНК, после чего FokI вносит двухцепочечный разрыв цепи

Fig. 1. Schematic mechanisms of action of (a) the CRISPR-Cas9 system: a Cas9-sgRNA complex finds a complementary DNA site next to a protospacer adjacent motif (PAM) domain and induces a double-strand break with the help of RuvC1 and HNH domains; (b) the TALEN system: TALE repeats with terminal domains at both chain ends each have nucleotide complementarity and bind to the corresponding DNA site, inducing a double-strand break with the help of the dimeric FokI domain; and (c) the ZFN system: zinc fingers bind to complementary nucleotide triplets on both DNA chains, allowing the FokI domain to induce a double-strand break

разработки препаратов на основе систем редактирования генома при серповидноклеточной анемии позволят применить препарат у большинства пациентов, поскольку заболевание вызвано в большинстве случаев одной и той же мутацией.

При мышечной дистрофии Дюшенна разработка препаратов осложняется генетическим разнообразием мутаций среди пациентов: более 3000 различных мутаций могут вызвать заболевание, хотя большинство из них затрагивают определенные локусы гена дистрофина. С одной

Таблица 2. Характеристики систем редактирования генома

Table 2. Characteristics of different genome-editing techniques

Наименование <i>Name</i>	Система редактирования <i>Editing system</i>		
	CRISPR-Cas9	Zinc-finger nucleases (ZFN)	TALEN
Год открытия <i>Year of discovery</i>	2012 [16]	1996 [17]	2010 [18]
Нуклеазный домен <i>Nuclease domain</i>	RuvC1, HNH	FokI	FokI
Участок узнавания <i>Recognition site</i>	Гидовая РНК, PAM <i>sgRNA, PAM</i>	«Цинковый палец» <i>Zinc finger</i>	TAL-эффектор <i>TAL-effector</i>
Разрыв цепи <i>Chain break</i>	Двухцепочечный <i>Double-strand</i>		
Использование в клинических исследованиях <i>Use in clinical trials</i> [19]	+++	++	+
Возможности диагностики <i>Diagnostic utility</i> [19]	+++	+	+
Достоинства <i>Advantages</i> [19]	Высокая специфичность и эффективность, низкая стоимость <i>Highest specificity and effectiveness, low cost</i>	Низкая стоимость <i>Low cost</i>	Меньше нецелевых узнаваний по сравнению с ZFN <i>Less off-target recognitions compared to ZFN</i>
Недостатки <i>Disadvantages</i>	Необходимость наличия PAM участка вблизи мишени <i>Requires PAM to be located near the target</i>	Менее специфична из-за связывания трех нуклеотидов одним «пальцем», сравнительно высокая цитотоксичность <i>Less specific as 1 zinc finger binds to 3 nucleotides, relatively high cytotoxicity</i>	Высокая стоимость <i>High cost</i> [19]

Примечание. PAM – мотив, смежный с протоспейсером; +, ++, +++ – условные показатели (низкий, средний и высокий соответственно).

Note. PAM, protospacer adjacent motif; +, ++, and +++ are arbitrary comparative indicators (low, medium, and high, respectively).

стороны, это осложняет клиническую разработку из-за требуемой персонализации препарата и набора необходимого количества пациентов для тестирования, с другой – показывает преимущества платформ технологии редактирования генома по созданию персонализированных препаратов по одной схеме для разных мутаций [22].

КИ с использованием платформы CRISPR также проводятся для повышения эффективности Т-клеток с химерным антигенным рецептором (CAR), лечения других наследственных заболеваний крови, а также для предотвращения прогрессирования или лечения моногенных заболеваний в офтальмологии (*Дополнительные материалы, табл. 4. Примеры использования систем редактирования генома в клинической практике*⁴) [23].

Лечение ВИЧ является одним из приоритетных направлений в исследованиях лекарственных препаратов на основе редактирования генома [24]. Существует несколько подходов к лечению ВИЧ путем редактирования генома: дезактивация генов *CCR5/CXCR4*, приводящая к снижению восприимчивости клеток для ВИЧ [25], непосредственное разрушение генома вируса в клетках организма путем лигирования его длинных концевых повторов [26] и инактивация вируса в зараженных клетках [27]. Другие методы редактирования также активно исследуются и используются в разработке подходов к лечению ВИЧ [28–30].

При создании препаратов на основе технологий редактирования генома необходимо обосновать систему и тип редактирования, требуемый способ доставки клеток с отредактированным

⁴ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-zzz-tabl4>

геномом или непосредственно конструкций, степень нокаута или восстановления структуры гена, которые обеспечат терапевтическую эффективность. Например, было показано, что при миодистрофии Дюшенна восстановление экспрессии дистрофина на уровне ~15% от нормального уровня приводит к снижению клинических проявлений заболевания вплоть до полного исчезновения [31].

Что касается государственной регистрации препаратов на основе технологии редактирования генома, то необходимо отметить, что, обладая потенциалом для удовлетворения существующих медицинских потребностей, клиническое использование редактирования генома в настоящее время требует разработки рекомендаций регуляторных органов по проведению ДКИ и КИ.

Государственное регулирование обращения препаратов, получаемых с помощью технологий редактирования генома

Регулирование обращения препаратов, получаемых с помощью технологий редактирования генома, осуществляется согласно нормативным документам по генной терапии (*Дополнительные материалы, табл. 5*). Примеры нормативных документов, регулирующих разработку препаратов на основе технологии редактирования генома соматических клеток⁵).

В декабре 2018 г. ВОЗ учредила многопрофильный Консультативный комитет экспертов по разработке глобальных стандартов управления и надзора за редактированием генома человека для изучения научных, этических, социальных и юридических проблем, связанных с редактированием генома человека (соматических клеток, эмбрионов и половых клеток), включающий 18 экспертов из каждого региона ВОЗ. Результатом работы данного комитета явилась разработка руководств⁶. В компетенцию комитета не входило рассмотрение вопросов, связанных с безопасностью и эффективностью применения препаратов. Потенциальными преимуществами редактирования генома человека были определены новые стратегии диагностики, лечения и профилактики генетических нарушений; новые способы лечения бесплодия; новые способы повышения устойчивости к болезням;

вклад в разработку вакцин и получение новых знаний о биологии человека. Основными аспектами неопределенности в отношении ожидаемой пользы к возможному риску применения редактирования генома указаны нецелевые эффекты и отложенные риски применения этой технологии.

Редактирование генома *in vivo* сопряжено, главным образом, с такой технической проблемой, как определение эффективной дозы (количество копий вирусного(ых) вектора(ов), несущего(их) компоненты редактирования генома) для соблюдения следующих условий: обеспечение адресного действия на определенную последовательность генома; исправление генетического дефекта в достаточной доле клеток для обеспечения клинической пользы; отсутствие неблагоприятных целевых эффектов (незапланированные изменения последовательности нуклеотидов в сайтах редактирования) и нецелевых эффектов; отсутствие иммунного ответа на компоненты редактирования генома, включая вирусный вектор.

Также документ ВОЗ⁷ описывает некоторые особенности возможных сценариев изучения препаратов на основе технологий редактирования генома, например КИ препаратов, использующихся для терапии серповидноклеточной анемии, целесообразно проводить в странах Западной Африки, поскольку именно там данное заболевание наиболее распространено. В рекомендациях по проведению КИ препаратов для терапии поздних стадий хорей Хантингтона отмечена целесообразность применения в качестве конечных точек суррогатных маркеров, свидетельствующих об улучшении качества или продолжительности жизни пациентов (например, могут использоваться клинические маркеры, демонстрирующие уменьшение симптомов проявления заболевания, или молекулярные, гистологические, рентгенологические или физиологические биомаркеры, которые, как ожидается, будут коррелировать с долгосрочными клиническими результатами). В этом случае необходимо рассмотреть вопрос о том, насколько хорошо суррогатные конечные точки коррелируют с долгосрочными клиническими исходами и подтверждаются ими. Дизайн исследования, включая количество участников исследования, должен быть тщательно продуман,

⁵ <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2023-13-zzz-tabl5>

⁶ WHO Expert Advisory Committee on developing global standards for governance and oversight of human genome editing. Human genome editing: recommendations. Geneva: World Health Organization; 2021.

WHO Expert Advisory Committee on developing global standards for governance and oversight of human genome editing. Human genome editing: a framework for governance. Geneva: World Health Organization; 2021.

⁷ WHO Expert Advisory Committee on developing global standards for governance and oversight of human genome editing. Human genome editing: a framework for governance. Geneva: World Health Organization; 2021.

чтобы ответить на вопрос об эффективности при существующих отсроченных по времени нежелательных явлениях. Сценарий применения редактирования генома в терапии хорей Хантингтона также учитывает тот факт, что это лечение может быть единственным возможным вариантом в настоящее время.

Рекомендации по характеристике качества препаратов на основе систем редактирования генов наиболее четко и сжато представлены в руководстве по оценке качества таких лекарственных препаратов Республики Корея⁸ (рис. 2).

В США заявки на проведение КИ нового разрабатываемого ЛП⁹ могут классифицироваться как коммерческие или исследовательские. Такие заявки на препараты, полученные с помощью инновационных технологий, включая редактирование генома, как правило, сначала классифицируют как исследовательские.

Среди необходимых ДКИ, которые должны быть выполнены до первого применения у человека: исследования биологической активности (оценка внесенных изменений в геном клеток, экспрессии эндогенного гена, экспрессии трансгенов; активности трансгенных продуктов), обоснование доз, исследования абсорбции ЛП (если применимо) и биораспределения на моделях *in vivo*, а также токсикологические исследования *in vivo* (помимо стандартных исследований – токсичность, связанная с экспрессией трансгена; риск инсерционного мутагенеза; векторная мобилизация и рекомбинация; для препаратов на основе систем редактирования генома обязательной является оценка нецелевых эффектов исследуемого препарата)¹⁰ [1].

Для генетически модифицированных клеток с отредактированным геномом необходимо подтверждать *in vitro* точность и специфичность редактирования для целевой геномной последовательности в соответствующих клетках при использовании модифицирующего фермента или направляющей (гидовой) РНК. Кроме прогнозирования потенциальной нецелевой активности, которое может включать анализ *in silico*, также необходимо оценивать нецелевую активность по всему геному *in vitro*. Наконец,

следует оценить предсказуемость доклинических данных о нецелевой активности, например с учетом видоспецифических различий, различий в (пато-) физиологическом состоянии клеток или особенностей различных типов клеток. Влияние редактирования генома на фенотип клеток и физиологические функции следует также анализировать. Большое внимание должно быть уделено выбору соответствующей модели животного для тестирования токсичности. Выбранная модель животного и продолжительность исследований токсичности должны позволить оценить последствия токсичности, вызванной нецелевыми эффектами, и потенциальной иммуногенности в отношении клеток с отредактированным геномом¹¹.

Среди особенностей КИ препаратов на основе технологии редактирования генома необходимо отметить следующие.

1. Неопределенность нормативных требований в отношении персонализированных препаратов, полученных с использованием одной технологии редактирования для пациентов с одним заболеванием, но разными мутациями, его вызывающими (редактирование направлено на разные участки генома). В настоящее время не ясно, можно ли рассматривать персонализированные препараты с одним редактором как один исследовательский продукт.
2. Исследовательская терапия препаратами, созданными с привлечением технологии редактирования генов, преимущественно будет применяться для лечения редких заболеваний, поскольку многие из них имеют моногенную этиологию, при этом эффективная терапия иными препаратами отсутствует [47]. Таким образом, привлечение здоровых добровольцев к КИ таких препаратов недопустимо из-за сопутствующего риска токсичности и/или возможности необратимых последствий¹². Выборка участников КИ также может быть ограничена кругом пациентов, у которых присутствуют признаки и симптомы плохо контролируемого заболевания, несмотря на лечение одобренными методами лечения. Для облегчения взаимодействия исследователей и пациентов могут быть созданы реестры пациентов с редкими заболеваниями [48].

⁸ Guideline on quality assessment for gene-editing based advanced therapy medicinal products. Ministry of Food and Drug Safety, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation; 2020.

⁹ Chemistry, manufacturing, and control (CMC) information for human gene therapy Investigational New Drug applications (INDs). Guidance for industry. FDA; 2020.

¹⁰ Guidance for industry. Preclinical assessment of investigational cellular and gene therapy products (FDA-2012-D-1038). FDA; 2013.

¹¹ Guideline on quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells (EMA/CAT/GTWP/671639/2008 Rev. 1. Corr.). EMA; 2020.

¹² Guidance for industry. Preclinical assessment of investigational cellular and gene therapy products (FDA-2012-D-1038). FDA; 2013.

¹² Human gene therapy for rare diseases: Guidance for industry (FDA-2018-D-2258). FDA; 2020.

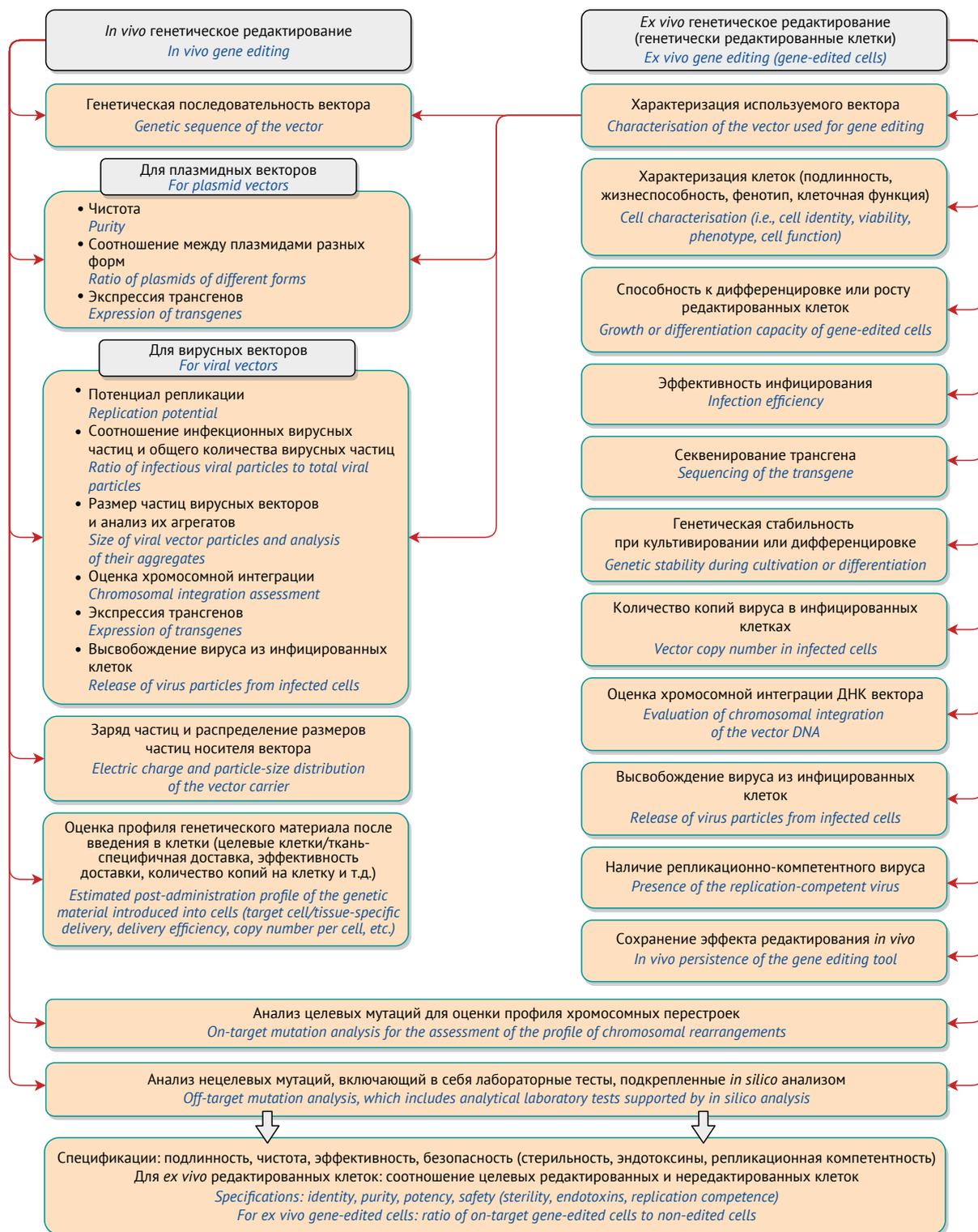


Рис. 2. Оценка характеристик качества препаратов, полученных на основе систем редактирования генома (по материалам Guideline on quality assessment for gene-editing based advanced therapy medicinal products. Ministry of Food and Drug Safety, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation; 2020)

Fig. 2. Assessment of quality characteristics of products based on gene-editing systems (based on the Guideline on quality assessment for gene-editing based advanced therapy medicinal products. Ministry of Food and Drug Safety, National Institute of Food and Drug Safety Evaluation; 2020)

3. Выбор конечных точек при использовании группы сравнения не всегда возможен для КИ препаратов для лечения редких заболеваний, поэтому эффективность лечения и клиническая польза могут быть оценены в рамках первого КИ без группы сравнения. Эффективность препарата на основе технологии редактирования генов должна быть связана с конечными точками, которые основаны на демонстрации клинической пользы (улучшение самочувствия, функций или выживаемости пациента), однако могут быть использованы и суррогатные конечные точки при условии предварительного их согласования с регуляторными органами¹³.

4. Дизайн КИ препаратов для терапии на основе технологии редактирования генов будет в значительной степени зависеть от способа доставки (например, редактирование *in vivo* или *ex vivo*, аутологичный или аллогенный клеточный продукт) [1].

5. Выбор начальной дозы для КИ может быть основан на научно-исследовательских данных, например, для *ex vivo* аутологичной терапии гемопоэтическими клетками может быть принята доза клеток, способная восстановить гемопоэз хозяина [49], в то время как другие способы доставки могут потребовать разработки схемы увеличения дозы на ранней стадии КИ.

6. Оценка безопасности терапии, основанной на редактировании генов, должна включать понимание потенциальных рисков, определенных на основе анализа неклинических токсикологических данных, включая нецелевые эффекты, конкретный способ доставки и состояние основного заболевания. Учитывая возможность необратимых изменений геномов клеток-хозяев и отсроченных побочных эффектов, клинические протоколы по редактированию генов должны включать долгосрочные периоды наблюдения за безопасностью, которые могут длиться до 15 лет¹⁴.

В настоящее время клинические доказательства, основанные на *ex vivo* генетической модификации клеток (особенно для технологии редактирования генома), являются недостаточными для того, чтобы сформулировать четкие требования проведения КИ¹⁵. Тем не менее должен

соблюдаться единый принцип КИ – положительное соотношение «польза–риск» применения таких препаратов. Дизайн КИ должен быть построен таким образом, чтобы наилучшим образом обеспечить возможность оценки соотношения «польза–риск».

Важным преимуществом использования систем редактирования генома является возможность создания производственных платформ, позволяющих получать персонализированные препараты с учетом конкретных мутаций у каждого пациента. Однако в этом случае возникает вопрос регулирования разработки препаратов на основе редактирования генома при использовании платформы одной технологии редактирования генома для создания персонализированных препаратов терапии одного и того же заболевания, но вызванного мутациями в разных генах или локусах гена, когда редактирование должно быть направлено на разные участки генома. До настоящего времени ни один регуляторный орган в мире не рассматривал регистрацию препарата, произведенного по одной технологии, но с разными адресными мишенями его действия. Этот случай может быть рассмотрен по аналогии с регистрацией аутологичных препаратов клеточной терапии, при производстве которых используется одна производственная платформа, но исходный материал клеток индивидуален для каждого пациента. Другим возможным решением внедрения технологий редактирования генома в клиническую практику могут стать механизмы, подобные «hospital exemptions»¹⁶ (ЕС), когда лекарственный препарат изготавливается на нерутинной основе для одного пациента и применяется в медицинской организации, или «expanded access»¹⁷ (США), когда исследуемый препарат предназначен для лечения пациентов с серьезными или жизнеугрожающими заболеваниями при отсутствии альтернатив терапии. При применении препаратов, основанных на технологии редактирования генома, следует учитывать недостаточные на сегодняшний день данные об их эффективности и безопасности в плане отсроченных по времени нежелательных явлений, в связи с чем возникает вопрос ответственности такого применения.

¹³ Human gene therapy for rare diseases: Guidance for industry (FDA-2018-D-2258). FDA; 2020.

Demonstrating substantial evidence of effectiveness for human drug and biological products. Guidance for industry (FDA-2019-D-4964). FDA; 2019.

¹⁴ Long term follow-up after administration of human gene therapy products. Guidance for industry (FDA-2018-D-2173). FDA; 2020.

¹⁵ Quality, non-clinical and clinical aspects of medicinal products containing genetically modified cells (EMA/CAT/GTWP/671639/2008 Rev. 1. Corr.). EMA; 2021.

¹⁶ Directive 2001/83/EC of the European Parliament and of the Council of 6 November 2001 on the Community code relating to medicinal products for human use (2001L0083). EMA; 2001.

¹⁷ Expanded access to investigational drugs for treatment use – questions and answers. Guidance for industry. FDA; 2016.

Заключение

Несмотря на существующие перспективы применения технологии редактирования генома соматических клеток для терапии тяжелых жизнеугрожающих заболеваний, связанных, главным образом, с нарушениями структуры генов, в настоящее время регуляторными органами не сформулированы четкие требования или рекомендации по обращению таких препаратов на фармацевтическом рынке.

Основными факторами неопределенности отношения ожидаемой пользы к возможному риску применения метода редактирования генома признаны нецелевые эффекты и отложенные по времени риски применения этой технологии. Основной проблемой разработки препаратов на основе технологии редактирования генома *in vivo* является определение оптимальной

эффективной дозы, введение которой обеспечит адресное действие препарата, получение достаточного количества клеток с отредактированным геномом для проявления терапевтического эффекта, минимальный риск возникновения нецелевых эффектов и иммунного ответа организма пациента на препарат. В доклинических исследованиях выбор моделей животных должен быть обоснован с учетом возможности оценки последствий нецелевой токсичности, потенциальной иммуногенности и достаточной продолжительности исследований токсичности. Среди особенностей клинических исследований препаратов на основе технологии редактирования генома можно отметить ограниченное число пациентов (часто с редкими заболеваниями или плохо контролируемым заболеванием), возможное отсутствие группы сравнения и использование суррогатных конечных точек.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Rees HA, Minella AC, Burnett CA, Komor AC, Gaudelli NM. CRISPR-derived genome editing therapies: progress from bench to bedside. *Mol Ther*. 2021;29(11):3125–39. <https://doi.org/10.1016/j.yymthe.2021.09.027>
2. Howard HC, van El CG, Forzano F, Radojkovic D, Rial-Sebbag E, de Wert G, et al. One small edit for humans, one giant edit for humankind? Points and questions to consider for a responsible way forward for gene editing in humans. *Eur J Hum Genet*. 2018;26(1):1–11. <https://doi.org/10.1038/s41431-017-0024-z>
3. Reardon S. Leukaemia success heralds wave of gene-editing therapies. *Nature*. 2015;527(7577):146–7. <https://doi.org/10.1038/nature.2015.18737>
4. Tebas P, Stein D, Tang WW, Frank I, Wang SQ, Lee G, et al. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV. *N Engl J Med*. 2014;370(10):901–10. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1300662>
5. Orkin SH, Bauer DE. Emerging genetic therapy for sickle cell disease. *Annu Rev Med*. 2019;70:257–71. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-041817-125507>
6. Ledford H. CRISPR treatment inserted directly into the body for first time. *Nature*. 2020;579(7798):185. <https://doi.org/10.1038/d41586-020-00655-8>
7. Sather BD, Romano Ibarra GS, Sommer K, Curinga G, Hale M, Khan IF, et al. Efficient modification of CCR5 in primary human hematopoietic cells using a megaTAL nuclease and AAV donor template. *Sci Transl Med*. 2015;7(307):307ra156. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aac5530>
8. Urnov FD. Imagine CRISPR cures. *Mol Ther*. 2021;29(11):3103–6. <https://doi.org/10.1016/j.yymthe.2021.10.019>
9. Cyranoski D. The CRISPR-baby scandal: what's next for human gene-editing. *Nature*. 2019;566(7745):440–2. <https://doi.org/10.1038/d41586-019-00673-1>
10. Jessen H, Allen TM, Streeck H. How a single patient influenced HIV research – 15-year follow-up. *New Engl J Med*. 2014;370(7):682–3. <https://doi.org/10.1056/NEJMc1308413>
11. Lederman MM, Penn-Nicholson A, Cho M, Mosier D. Biology of CCR5 and its role in HIV infection and treatment. *JAMA*. 2006;296(7):815–26. <https://doi.org/10.1001/jama.296.7.815>
12. Горяев АА, Савкина МВ, Мефед КМ, Бондарев ВП, Меркулов ВА, Тарасов ВВ. Редактирование генома и биомедицинские клеточные продукты: современное состояние, безопасность и эффективность. *БИОпрепараты. Профилактика, диагностика, лечение*. 2018;18(3):140–9. Goryaev AA, Savkina MV, Mefed KM, Bondarev VP, Merkulov VA, Tarasov VV. Genome-editing and biomedical cell products: current state, safety and efficacy. *BIOpreparations. Prevention, Diagnosis, Treatment*. 2018;18(3):140–9 (In Russ.). <https://doi.org/10.30895/2221-996X-2018-18-3-140-149>
13. Doudna JA, Charpentier E. The new frontier of genome engineering with CRISPR-Cas9. *Science*. 2014;346(6213):1258096. <https://doi.org/10.1126/science.1258096>
14. Joung JK, Sander JD. TALENs: a widely applicable technology for targeted genome editing. *Nat Rev Mol Cell Biol*. 2013;14(1):49–55. <https://doi.org/10.1038/nrm3486>
15. Urnov FD, Rebar EJ, Holmes MC, Zhang HS, Gregory PD. Genome editing with engineered zinc finger nucleases. *Nat Rev Genet*. 2010;11(9):636–46. <https://doi.org/10.1038/nrg2842>
16. Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, Hauer M, Doudna JA, Charpentier E. A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity. *Science*. 2012;337(6096):816–21. <https://doi.org/10.1126/science.1225829>

17. Kim YG, Cha J, Chandrasegaran S. Hybrid restriction enzymes: zinc finger fusions to Fok I cleavage domain. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996;93(3):1156–60. <https://doi.org/10.1073/pnas.93.3.1156>
18. Christian M, Cermak T, Doyle EL, Schmidt C, Zhang F, Hummel A, et al. Targeting DNA double-strand breaks with TAL effector nucleases. *Genetics*. 2010;186(2):757–61. <https://doi.org/10.1534/genetics.110.120717>
19. Khan SH. Genome-editing technologies: concept, pros, and cons of various genome-editing techniques and bioethical concerns for clinical application. *Mol Ther Nucleic Acids*. 2019;16:326–34. <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.02.027>
20. Doudna JA. The promise and challenge of therapeutic genome editing. *Nature*. 2020;578(7794):229–36. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-1978-5>
21. Min YL, Bassel-Duby R, Olson EN. CRISPR correction of Duchenne muscular dystrophy. *Annu Rev Med*. 2019;70:239–55. <https://doi.org/10.1146/annurev-med-081117-010451>
22. Wilson RC, Carroll D. The daunting economics of therapeutic genome editing. *CRISPR J*. 2019;2(5):280–4. <https://doi.org/10.1089/crispr.2019.0052>
23. Porteus MH. A new class of medicines through DNA editing. *N Engl J Med*. 2019;380(10):947–59. <https://doi.org/10.1056/NEJMr1800729>
24. Saayman S, Ali SA, Morris KV, Weinberg MS. The therapeutic application of CRISPR/Cas9 technologies for HIV. *Expert Opin Biol Ther*. 2015;15(6):819–30. <https://doi.org/10.1517/14712598.2015.1036736>
25. Allers K, Schneider T. CCR5Δ32 mutation and HIV infection: basis for curative HIV therapy. *Curr Opin Virol*. 2015;14:24–29. <https://doi.org/10.1016/j.coviro.2015.06.007>
26. Ebina H, Misawa N, Kanemura Y, Koyanagi Y. Harnessing the CRISPR/Cas9 system to disrupt latent HIV-1 provirus. *Sci Rep*. 2013;3:2510. <https://doi.org/10.1038/srep02510>
27. Hu W, Kaminski R, Yang F, Zhang Y, Cosentino L, Li F, et al. RNA-directed gene editing specifically eradicates latent and prevents new HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2014;111(31):11461–6. <https://doi.org/10.1073/pnas.1405186111>
28. Benjamin R, Berges BK, Solis-Leal A, Igbinedion O, Strong CL, Schiller MR. TALEN gene editing takes aim on HIV. *Hum Genet*. 2016;135(9):1059–70. <https://doi.org/10.1007/s00439-016-1678-2>
29. Didigu CA, Wilen CB, Wang J, Duong J, Secreto AJ, Danet-Desnoyers GA, et al. Simultaneous zinc-finger nuclease editing of the HIV coreceptors *ccr5* and *cxcr4* protects CD4+ T cells from HIV-1 infection. *Blood*. 2014;123(1):61–9. <https://doi.org/10.1182/blood-2013-08-521229>
30. Yuan J, Wang J, Crain K, Feams C, Kim KA, Hua KL, et al. Zinc-finger nuclease editing of human *cxcr4* promotes HIV-1 CD4(+) T cell resistance and enrichment. *Mol Ther*. 2012;20(4):849–59. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.310>
31. Long C, McAnally JR, Shelton JM, Mireault AA, Bassel-Duby R, Olson EN. Prevention of muscular dystrophy in mice by CRISPR/Cas9-mediated editing of germline DNA. *Science*. 2014;345(6201):1184–8. <https://doi.org/10.1126/science.1254445>
32. Wang L, Yang Y, Breton C, Bell P, Li M, Zhang J, et al. A mutation-independent CRISPR-Cas9-mediated gene targeting approach to treat a murine model of ornithine transcarbamylase deficiency. *Sci Adv*. 2020;6(7):eaax5701. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aax5701>
33. Estève J, Blouin JM, Lalanne M, Azzi-Martin L, Dubus P, Bidet A, et al. Targeted gene therapy in human-induced pluripotent stem cells from a patient with primary hyperoxaluria type 1 using CRISPR/Cas9 technology. *Biochem Biophys Res Commun*. 2019;517(4):677–83. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.07.109>
34. Zuris JA, Thompson DB, Shu Y, Guilinger JP, Bessen JL, Hu JH, et al. Cationic lipid-mediated delivery of proteins enables efficient protein-based genome editing *in vitro* and *in vivo*. *Nat Biotechnol*. 2015;33(1):73–80. <https://doi.org/10.1038/nbt.3081>
35. Pavel-Dinu M, Wiebking V, Dejene BT, Srifa W, Mantri S, Nicolas CE, et al. Gene correction for SCID-X1 in long-term hematopoietic stem cells. *Nat Commun*. 2019;10(1):5624. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-09614-y>
36. Park H, Oh J, Shim G, Cho B, Chang Y, Kim S, et al. In vivo neuronal gene editing via CRISPR-Cas9 amphiphilic nanocomplexes alleviates deficits in mouse models of Alzheimer's disease. *Nat Neurosci*. 2019;22(4):524–28. <https://doi.org/10.1038/s41593-019-0352-0>
37. Bengtsson NE, Hall JK, Odom GL, Phelps MP, Andrus CR, Hawkins RD, et al. Muscle-specific CRISPR/Cas9 dystrophin gene editing ameliorates pathophysiology in a mouse model for Duchenne muscular dystrophy. *Nat Commun*. 2017;8:16007. <https://doi.org/10.1038/ncomms14454>
38. Alapati D, Zacharias WJ, Hartman HA, Rossidis AC, Stratigis JD, Ahn NJ, et al. *In utero* gene editing for monogenic lung disease. *Sci Transl Med*. 2019;11(488):eaav8375. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aav8375>
39. Brusson M, Miccio A. Genome editing approaches to β-hemoglobinopathies. *Progress in Molecular Biology and Translational Science*. 2021;182:153–83. <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2021.01.025>
40. Modarai SR, Kanda S, Bloh K, Opdenaker LM, Kmiec EB. Precise and error-prone CRISPR-directed gene editing activity in human CD34+ cells varies widely among patient samples. *Gene Ther*. 2021;28:105–13. <https://doi.org/10.1038/s41434-020-00192-z>
41. Palmer DC, Guittard GC, Franco Z, Crompton JG, Eil RL, Patel SJ, et al. *Cish* actively silences TCR signaling in CD8+ T cells to maintain tumor tolerance. *J Exp Med*. 2015;212(12):2095–113. <https://doi.org/10.1084/jem.20150304>
42. Osborn MJ, Webber BR, Knipping F, Lonetree C, Tenis N, DeFeo AP, et al. Evaluation of TCR gene editing achieved by TALENs, CRISPR/Cas9, and megaTAL nucleases. *Mol Ther*. 2016;24(3):570–81. <https://doi.org/10.1038/mt.2015.197>
43. Tran E, Ahmadzadeh M, Lu YC, Gros A, Turcotte S, Robbins PF, et al. Immunogenicity of somatic

- mutations in human gastrointestinal cancers. *Science*. 2015;350(6266):1387–90.
<https://doi.org/10.1126/science.aad1253>
44. Hu Z, Ding W, Zhu D, Yu L, Jiang X, Wang X, et al. TALEN-mediated targeting of HPV oncogenes ameliorates HPV-related cervical malignancy. *J Clin Invest*. 2015;125(1):425–36.
<https://doi.org/10.1172/JCI78206>
45. DiGiusto DL, Cannon PM, Holmes MC, Li L, Rao A, Wang J, et al. Preclinical development and qualification of ZFN-mediated CCR5 disruption in human hematopoietic stem/progenitor cells. *Mol Ther Methods Clin Dev*. 2016;3:16067.
<https://doi.org/10.1038/mtm.2016.67>
46. Choi M, Han E, Lee S, Kim T, Shin W. Regulatory oversight of gene therapy and cell therapy products in Korea. *Adv Exp Med Biol*. 2015;871:163–79.
https://doi.org/10.1007/978-3-319-18618-4_9
47. Claussnitzer M, Cho JH, Collins R, Cox NJ, Dermitzakis ET, Hurles ME, et al. A brief history of human disease genetics. *Nature*. 2020;577(7789):179–89.
<https://doi.org/10.1038/s41586-019-1879-7>
48. Turro E, Astle WJ, Megy K, Gräf S, Greene D, Shamardina O, et al. Whole-genome sequencing of patients with rare diseases in a national health system. *Nature*. 2020;583(7814):96–102.
<https://doi.org/10.1038/s41586-020-2434-2>
49. Frangoul H, Altshuler D, Cappellini MD, Chen YS, Domm J, Eustace BK, et al. CRISPR-Cas9 gene editing for sickle cell disease and β -thalassemia. *New Engl J Med*. 2021;384(3):252–60.
<https://doi.org/10.1056/NEJMoa2031054>

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: Н.С. Покровский – сбор и систематизация данных, написание текста; М.А. Водякова – анализ и обобщение данных, написание и доработка текста; Е.В. Мельникова – идея, концепция и дизайн исследования, написание и доработка текста; В.А. Меркулов – интерпретация результатов, окончательное утверждение версии рукописи для публикации.

Благодарности. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-23-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 121021800098-4).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. *Nikita S. Pokrovsky* collected and collated data and drafted the manuscript. *Marina A. Vodyakova* analysed and summarised the data, drafted and revised the manuscript. *Ekaterina V. Melnikova* elaborated the idea, design, and concept of the study, drafted and revised the manuscript. *Vadim A. Merkulov* interpreted the results and approved the final version of the manuscript for publication.

Acknowledgements. The study reported in this publication was carried out as part of publicly funded research project No. 056-00001-23-00 and was supported by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products (R&D public accounting No.121021800098-4).

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest requiring disclosure in this article.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Покровский Никита Станиславович

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2355-0879>

pokrovsky.ns@gmail.com

Водякова Марина Андреевна

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6008-0554>

vodyakova@expmed.ru

Мельникова Екатерина Валерьевна, канд. биол. наук

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9585-3545>

MelnikovaEV@expmed.ru

Меркулов Вадим Анатольевич, д-р мед. наук, проф.

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

merkulov@expmed.ru

Статья поступила 07.07.2022

После доработки 13.09.2022

Принята к печати 21.11.2022

Nikita S. Pokrovsky

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-2355-0879>

pokrovsky.ns@gmail.com

Marina A. Vodyakova

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-6008-0554>

vodyakova@expmed.ru

Ekaterina V. Melnikova, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9585-3545>

MelnikovaEV@expmed.ru

Vadim A. Merkulov, Dr. Sci. (Med.), Professor

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4891-973X>

merkulov@expmed.ru

Received 7 July 2022

Revised 13 September 2022

Accepted 21 November 2022