

УДК 616.1+612.08

DOI: 10.37482/2687-1491-Z059

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СИСТЕМЫ CRISPR/Cas9 ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ И МОДЕЛИРОВАНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ (обзор)**

*Е.Д. Намиот*\* ORCID: [0000-0003-3725-6360](https://orcid.org/0000-0003-3725-6360)

*В.С. Кузнецова*\* ORCID: [0000-0003-0404-1531](https://orcid.org/0000-0003-0404-1531)

*Е.В. Куставинова*\* ORCID: [0000-0001-5546-1726](https://orcid.org/0000-0001-5546-1726)

*Н.Л. Карташкина*\* ORCID: [0000-0003-4648-9027](https://orcid.org/0000-0003-4648-9027)

\*Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Москва)

Методы редактирования генетической информации и возможность управлять ей позволили добиться значительного прогресса в медицине, в частности в изучении патогенеза различных заболеваний, в т. ч. сердечно-сосудистой этиологии. Один из методов редактирования – технология CRISPR/Cas9. CRISPR – это ряд последовательностей генома бактерий и других прокариот, тогда как Cas9 – это эндонуклеаза, непосредственно разрезающая целевую чужеродную последовательность. Сердечно-сосудистые заболевания являются одной из лидирующих причин смерти во всем мире. Достаточно большое количество сердечно-сосудистых заболеваний, таких как гипертрофическая кардиомиопатия, синдром удлиненного и укороченного QT-интервала, имеют наследственную природу. Данный факт значительно осложняет процесс лечения таких патологий. Тем не менее это же позволяет применять метод CRISPR/Cas9 в целях обнаружения и редактирования генов для дальнейшего облегчения клинической картины. Однако генетическая инженерия и ее методы в целом являются достаточно малоизученной областью. Более того, несмотря на то, что существует значительное количество экспериментальных работ о воздействии CRISPR на сердечно-сосудистую систему, не хватает комплексных обзоров, которые бы отражали все положительные и отрицательные аспекты использования CRISPR/Cas9 в терапии наследственных сердечно-сосудистых заболеваний. В данной статье рассмотрены различные варианты применения CRISPR-редактирования непосредственно в клинической практике, а также в моделировании сердечно-сосудистых заболеваний. На основе полученных данных был сделан вывод о том, в какой из областей применение CRISPR/Cas9 является наиболее целесообразным и показывает наилучший результат.

**Ключевые слова:** CRISPR/Cas9, сердечно-сосудистые заболевания, генетика, геномное редактирование.

---

**Ответственный за переписку:** Намиот Евгения Дмитриевна, адрес: 119146, Москва, ул. Большая Пироговская, д. 19, стр. 1; e-mail: enamiot@gmail.com

**Для цитирования:** Намиот Е.Д., Кузнецова В.С., Куставинова Е.В., Карташкина Н.Л. Перспективы использования системы CRISPR/Cas9 для лечения и моделирования сердечно-сосудистых заболеваний (обзор) // Журн. мед.-биол. исследований. 2021. Т. 9, № 2. С. 213–225. DOI: 10.37482/2687-1491-Z059

**Использование технологии CRISPR/Cas9 в терапии сердечно-сосудистых заболеваний.** CRISPR – последовательности в геноме прокариот, состоящие из повторяющихся фрагментов, разделенных спейсерами. Спейсеры берутся из чужеродных генетических структур, которые попадают в клетку. Молекулы РНК, считываемые с локусов CRISPR, совместно с эндонуклеазами Cas обеспечивают развитие специфического иммунитета за счет комплементарного связывания РНК с генетическим материалом чужеродных элементов и последующей их деградацией ферментами Cas. Спейсер – последовательность ДНК, не подлежащая считыванию между tandemно повторяющимися генами, как, например, в рРНК эукариот. При исследовании иммунных механизмов в основном используется значение, определяющее спейсер как последовательность, которая была получена из чужеродной ДНК организма, попавшего в клетку [1–4].

Среди всех наследственных сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) преобладают моногенные [5]. За развитие моногенных ССЗ ответственны следующие гены и локусы: синдром Бругада – *SCN5A/3p21-24, 3p22-25*; синдром Вольфа–Паркинсона–Уайта – *PRKAG2/7q3*; синдром слабости синусового узла – *SCN5A/3p21-24*; дилатационная кардиомиопатия – >20 генов; гипертрофическая кардиомиопатия – *MYHCB/14q12, TNNT2/1q32, TPM1/15q22.1, MYBPC3/11p11.2, PRKAG2/7q36, TNNI3/19q13.4, MYL3/3p*; синдром удлиненного интервала QT – *KCNQ1/11p15.5, KCNH2/7q3, SCN5A/3p21-24, CALM1/14q32.11, KCNE1/21q22, KCNE2/21q22, KCNJ2/17q23*; синдром укороченного интервала QT – *KCNQ1/11p15.5, KCNH2/7q3*. При анализе клинических исследований были выбраны наиболее часто встречающиеся ССЗ.

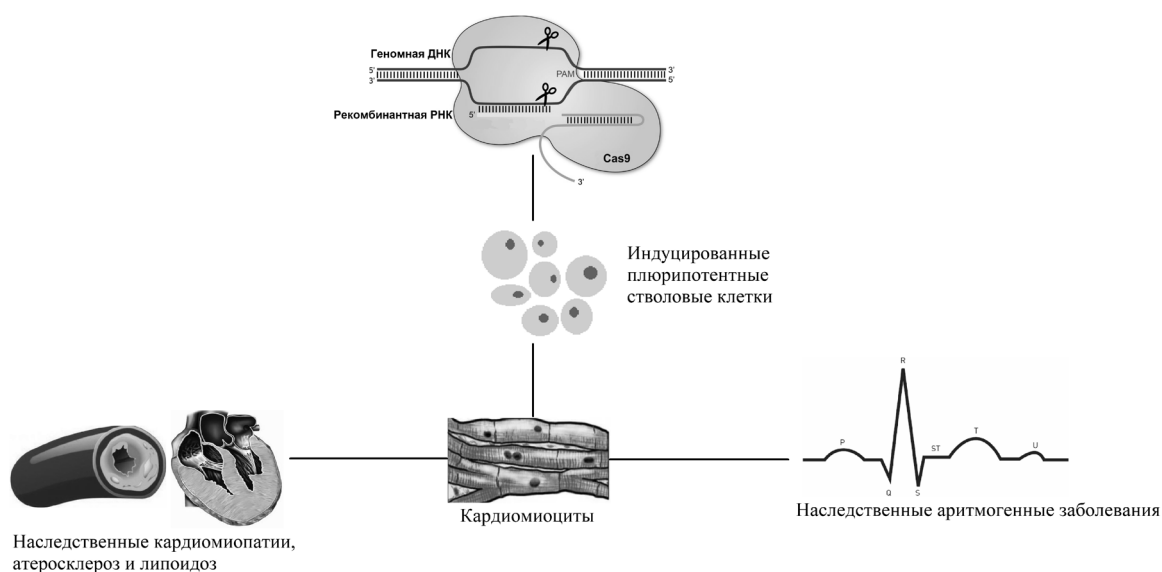
Таким образом, можно сделать вывод, что редактирование мутации даже в одном из генов может облегчить клиническую картину сразу нескольких ССЗ. Так, например, была исправлена мутация в гене кальмодулина (*CALM1*) [6]. Также имеются многочисленные упоминания о положительном терапевтическом эф-

фекте CRISPR/Cas9-технологий в коррекции мутаций в генах *PRKAG2, SCN5A* и *MYBPC3*, которые чаще остальных мутируют при ССЗ [7–9].

Коррекция мутации в гене *PRKAG2* значительно облегчает клиническое течение синдрома Вольфа–Паркинсона–Уайта [10], а также, в перспективе, позволит улучшить клиническую картину при лечении гипертрофической кардиомиопатии. Аналогично, при коррекции мутации в гене *SCN5A* появляется возможность полного излечения таких заболеваний, как синдром слабости синусового узла (СССУ), синдром Бругада [11], также коррекция в гене *SCN5A* позволит облегчить клинические проявления синдрома удлиненного QT-интервала.

В терапии ССЗ можно выделить несколько перспективных направлений использования CRISPR-технологий (рис. 1). На данный момент уже описаны несколько успешных случаев применения редактирования генома с помощью CRISPR/Cas9 в кардиологии, например в лечении различных видов кардиомиопатий, в частности гипертрофической [12, 13].

Гипертрофическая кардиомиопатия – это поражение миокарда, которое приводит к гипертрофии желудочков и повышает склонность к аритмиям, обморокам и сердечной недостаточности [14–17]. Мутации в гене *MYBPC3* вызывают развитие кардиомиопатий, в т. ч. гипертрофической, дилатационной и некомпактной [18]. Таким образом, коррекция мутации в данном гене может предупредить развитие сразу группы ССЗ. В работе [19] был описан случай успешной коррекции мутации *MYBPC3* в половых клетках человека. Были искусственно созданы рекомбинантная эндонуклеаза и рРНК с соответствующей ДНК, которые затем были микроинъекцированы для устранения мутации у гетерозигот. В результате проделанной работы 66,7 % гомозиготных форм не имели мутации в гене *MYBPC3*. Однако в 24 % случаев было отмечено проявление мозаицизма, а у 9,3 % сохранилась мутация в целевом гене [19]. При дальнейшем анализе аналогичных статей был сделан вывод о невозможности исключения



**Рис. 1.** Области применения генной терапии с помощью CRISPR/Cas9 в кардиологии. Генетически модифицированные с помощью CRISPR/Cas9 кардиомиоциты, полученные направленной дифференцировкой индуцированных плюрипотентных стволовых клеток, наиболее информативны для изучения наследственных аритмогенных заболеваний, а также кардиомиопатий и атеросклерозов

**Fig. 1.** Application areas of gene therapy using CRISPR/Cas9 in cardiology

мозаичного проявления признака у зигот, однако во многих других исследованиях упоминалось, что редактирование именно в половых клетках до слияния полностью исключает мозаицизм. Возможной причиной мозаицизма является невозможность коррекции CRISPR всех мутантных генов после деления клеток [19–21]. Когда исследователи вводили Cas9 в ооциты М-фазы, 72,4 % полученных зигот демонстрировали гомозиготный генотип и полное отсутствие мозаичных форм. Отсутствие мозаицизма в данном случае могло быть объяснено введением CRISPR/Cas9-системы до того, как оплодотворенная яйцеклетка начала делиться. Интересно, что при дальнейшем секвенировании не было выявлено побочных эффектов редактирования генома на клетки [22]. Обобщая, можно сказать, что во всех работах исследователи искусственно создавали набор для редактирования генома, основанного на CRISPR/Cas9-структурах, базируясь на конкретном частном случае заболевания, что, безусловно,

усложняет составление общих методик для использования в терапии. Несмотря на некоторые ограничения, данные методы являются наиболее перспективными для терапии гипертрофической кардиомиопатии и других возможных моногенных патологий, за возникновение которых являются ответственными мутации в *MYBPC3*. Применение CRISPR наиболее оптимально в отношении заболеваний, для которых характерно постепенное развитие клинических симптомов и признаков. Стоит отметить, что редактирование генома целесообразно применять лишь на ранних стадиях ССЗ [22–24].

Одним из самых серьезных затруднений при терапии ССЗ с помощью редактирования генома является нахождение универсального способа доставки созданной конструкции CRISPR/Cas9 непосредственно в клетки. На сегодняшний день существует большое количество различных способов доставки генетического материала в клетки, а также других способов интеграции CRISPR-системы в орга-

низм человека, однако ни один из методов не считается универсальным. Во многих работах [12, 13, 18, 23] отмечается, что необходимо использование такого материала, интеграция CRISPR-системы в который осуществлялась бы гораздо более легким способом, а также при использовании которого возможно было бы непосредственно отслеживать процесс без какого-либо вмешательства в организм человека. В связи с этим чаще всего применяются индуцированные плюрипотентные стволовые клетки (ИПСК), в которые заранее вводится эндонуклеаза с комплементарной РНК [25]. ИПСК с исправленными заранее мутациями затем предлагается вводить в организм человека. Кроме стволовых клеток, зачастую для доставки генетического материала в клетку используют вирусные векторы [26]. Например, в статье [27] было получено более 60 % гомозиготных форм, т. е. форм, не несущих мутацию в своем генотипе. А в исследовании [28] вводили CRISPR/Cas9-структуру в ген *MYBPC3* мышам через вектор AAV (в частности, AAV9 – наиболее кардиотропный серотип AAV) и обнаружили, что эта терапия успешно увеличивала экспрессию гена гомозиготного типа (без соответствующей мутации). Это предотвратило дальнейшее развитие таких симптомов, как гипертрофия миокарда и нарушение функциональных особенностей сердца у мышей. Основной проблемой использования аденоассоциированных вирусных векторов является то, что они зачастую слишком малы для упаковки эндонуклеазы, поэтому необходимо выбирать ряд других ферментов Cas9, что значительно осложняет процесс создания конструкции для редактирования генома [29]. Несколько других встречающихся в природе и сконструированных ферментов Cas9 имеют меньший размер, что может облегчать такую вирусную доставку [30]. В свою очередь, общий алгоритм использования пациент-специфичных стволовых клеток представляется в виде определенной последовательности действий: сначала получают пациент-специфичные клетки, которые близки по своим характеристикам к стволовым клет-

кам, а далее производят их индуцирование и в дальнейшем получают кардиомиоциты.

При анализе полученных результатов выявлено, что эффективность обоих методов не имеет статистически значимых различий: при использовании стволовых клеток (в случае конкретного исследования – половых клеток) 66,7 % не имело мутации в генотипе (таким образом, они относились к гомозиготам), а при использовании аденоассоциированного вирусного вектора 60 % имели гомозиготный генотип [30–33].

К наследственным аритмогенным ССЗ также относят синдром удлинённого QT-интервала [34]. Наиболее частым осложнением данного синдрома является развитие полиморфной желудочковой тахикардии, которая, в свою очередь, приводит к летальному исходу [31]. В исследовании A. Di Toro et al. [35] удалось успешно скорректировать мутацию в гене кальмодулина 2 (*CALM2*) в ИПСК, дифференцированных в кардиомиоциты, что привело к значительному облегчению клинического течения заболевания. Кальмодулинопатии возникают за счет мутаций, происходящих в одном из трех возможных генов: *CALM1*, *CALM2* и *CALM3*. Таким образом, создание способа коррекции мутации в генах кальмодулина поможет, как и в случае кардиомиопатий, вылечить сразу же группу ССЗ. В эксперименте была выбрана стратегия CRISPR-интерференции для специфической коррекции только мутированного аллеля. Ингибируя только мутантный аллель, был успешно продемонстрирован подход, который, в принципе, применим не только к другим кальмодулинопатиям, таким как катехоламинергическая полиморфная желудочковая тахикардия, но также к различным кардиологическим и сосудистым заболеваниям, характеризующимся наличием пораженных *CALM*-генов [35].

**Моделирование кардиологических заболеваний с помощью CRISPR/Cas9.** Неотъемлемой частью любой терапии при лечении ССЗ является ранняя профилактика данного заболевания. С развитием персонализированной медицины термин «профилактика» на-

чал включать создание моделей заболеваний. Анализ научных источников показал, что все модели можно разделить на модели общей клинической картины и модели, показывающие функционирование отдельных клеточных структур кардиомиоцитов [36]. Для моделирования ССЗ используются ИПСК. ИПСК часто применяются в создании моделей заболеваний благодаря их особой способности к дифференцировке в любые интересующие нас клетки организма, в т. ч. и в кардиомиоциты. Данные клетки чаще всего получают из фибробластов или мононуклеарных клеток крови, забор которых производится с помощью биопсии. Также кардиомиоциты можно получить непосредственно с помощью биопсии тканей миокарда, что является достаточно долгой, затратной и, что более важно, травматичной процедурой. В свою очередь, кардиомиоциты, полученные с помощью дифференцировки ИПСК, демонстрируют другие характеристики в отличие от кардиомиоцитов, полученных из миокарда. В связи с этим представляет особый интерес улучшение направленной дифференцировки ИПСК и нахождение наиболее простых в ис-

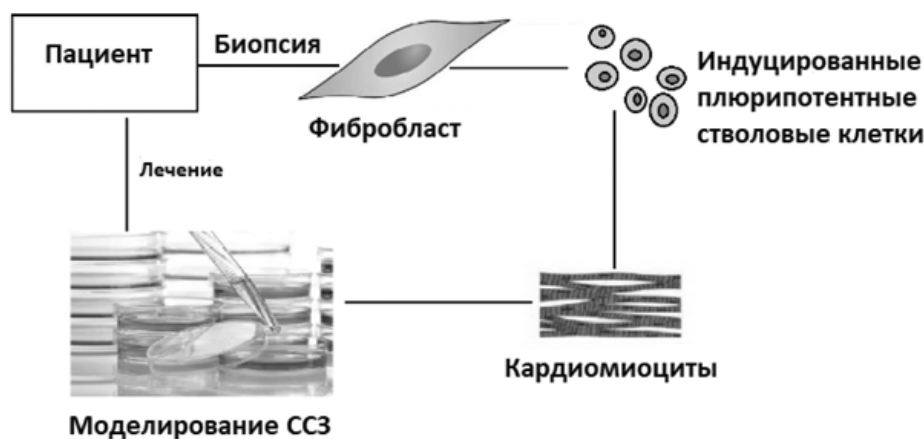
пользовании методов моделирования [37–39]. Прогресс в редактировании генома с использованием ИПСК в настоящее время дает возможность изучать патогенетические причины возникновения наследственных заболеваний сердца и сосудов непосредственно на клеточных моделях.

В качестве примера приведем модель синдрома удлиненного QT-интервала, включающую в себя несколько стадий:

- 1) проведение биопсии (забор мононуклеарных клеток крови или фибробластов);
- 2) перепрограммирование полученных клеток в ИПСК и дальнейшая направленная дифференцировка в кардиомиоциты;
- 3) введение мутаций в целевые гены при помощи CRISPR/Cas9-системы.

Описанная выше тактика применяется в создании большинства моделей ССЗ. В случае синдрома удлиненного QT-интервала модель была использована для подробного изучения патогенеза заболевания и, как результат, разработки тактики дальнейшего лечения [40].

На рис. 2 схематично показан процесс моделирования ССЗ при помощи ИПСК.



**Рис. 2.** Схема моделирования ССЗ при помощи индуцированных плюрипотентных стволовых клеток. Полученные в ходе биопсии фибробласты могут быть преобразованы в индуцированные стволовые клетки и в дальнейшем использованы для моделирования конкретного заболевания. На основе полученной модели представляется возможным создание эффективной схемы лечения

**Fig. 2.** Diagram of cardiovascular disease modelling using induced pluripotent stem cells



В связи с описанными выше недостатками применения ИПСК был предложен более выгодный и простой способ моделирования – использование рыб вида *Danio rerio* [41]. Этот вид является оптимальным в моделировании ССЗ в основном из-за относительной простоты их разведения и схожести биохимических и биофизических характеристик их сердца и сердца человека. Например, сердце *Danio rerio* обладает биоэлектрическими характеристиками, аналогичными человеческому сердцу [42]. В частности, оно имеет синусо-предсердную узлоподобную область, а желудочковые кардиомиоциты демонстрируют значения потенциала действия, схожие с таковыми у человеческого сердца. Также у сердца *Danio rerio* высокий регенераторный потенциал, который отсутствует у других позвоночных, например у грызунов, которых чаще всего используют в качестве биологических моделей [43]. Более высокая способность к регенерации дает возможность вносить практически любые мутации в гены кардиомиоцитов рыб, что ранее было недоступно. Модели *Danio rerio* были созданы не только для изучения развития сердца на молекулярном уровне, но и для более глубокого понимания ССЗ. Примечательно, что модели нокдауна, полученные стандартным морфолиновым методом, были не настолько точными по сравнению с подходом, основанным на редактировании генома с помощью CRISPR/Cas9. Исходя из этого, можно сделать вывод, что создание моделей ССЗ с помощью CRISPR/Cas9 является одним из самых многообещающих направлений исследований.

На сегодняшний день известны несколько методов, основанных на CRISPR/Cas9-моделировании ССЗ при помощи вида *Danio rerio*. Так, в исследовании [44] была введена мутация С.А2987Т (N996I) в целевой ген *KCNH2*, ответственный за возникновение синдрома удлиненного QT-интервала второго типа. Введенная мутация была скорректирована в ИПСК пациента с данным заболеванием. Также она вводилась и в эмбриональные стволовые клетки. Изучение кардиомиоцитов, по-

лученных из дифференцированных изогенных плюрипотентных стволовых клеток, показало участие данной мутации в развитии патологии и электрофизиологических аномалий, а также то, что эта модель является подходящей для дальнейшей разработки и тестирования лекарственных средств.

Большое количество мутаций в генах, ответственных за возникновение ССЗ, приводит к значительной вариабельности времени появления заболевания и тяжести его протекания. Такое количество мутаций значительно осложняет возможность полноценного исследования вклада некоторых генов в развитие патологии заболевания. Поэтому особенно важна разработка именно моделей функционирования целевых генов, а не заболевания в целом.

Также большое количество патофизиологических проявлений на молекулярном и организменном уровне у пациентов с аналогичным диагнозом является причиной неэффективности использования лекарственных средств в лечении ССЗ.

Создание моделей ССЗ необходимо также, как упоминалось ранее, для тестирования новых лекарственных препаратов. В данном пункте стоит опять упомянуть о важности выбора биологической модели. В частности, предлагаемой нами, на основе анализа данных, *Danio rerio*. Это связано с тем, что экспериментальная медицина на сегодняшний день моделирует ССЗ на грызунах. Несмотря на наличие большого количества информации о развитии ССЗ, существуют ограничения, связанные с различием в патофизиологии ССЗ между грызунами и человеком, что не дает до конца изучить важные генетические аспекты проявления некоторых заболеваний.

На сегодняшний день наиболее перспективно изучение отдельных генов, нарушения в нуклеотидных последовательностях которых приводят к ряду заболеваний. Недостаточное количество информации о молекулярных механизмах развития ССЗ значительно тормозит терапию данных заболеваний и подчеркивает важность более подробного их изучения при помощи моделирования.

В целом, несмотря на большое количество экспериментальных работ с применением CRISPR/Cas9-системы для коррекции ССЗ, наиболее перспективным на сегодняшний день является моделирование заболеваний. Стоит учитывать, что CRISPR/Cas-структуры – только инструмент, поэтому необходимы дальнейшие исследования в таких направлениях, как улучшение направленной дифференцировки плюрипотентных стволовых клеток, а также нахождение новых способов доставки эндонуклеазы в клетку или же улучшение существующих методов в связи с наличием достаточно большого количества ограничений. Однако в сравнении со всеми остальными способами редактирования генома CRISPR/Cas9 является одним из ведущих. Также пока невозможно сделать вывод о том, что редактирование генома CRISPR/Cas9 способно полностью излечить существующие ССЗ, однако уже точно

можно сказать, что в случае, например, дилатационной кардиомиопатии представляется возможным значительно облегчить клинические симптомы заболевания на ранних стадиях. В связи с наибольшей эффективностью методов редактирования генома именно на ранних стадиях, важным направлением является также разработка способов ранней диагностики ССЗ.

При сравнении с существующими методами генной инженерии, именно CRISPR/Cas9-технологии показывают наилучшие результаты. Однако редактирование генома с помощью CRISPR/Cas9 на данный момент не до конца изучено, поэтому невозможно полностью применять данный метод в клинике. Таким образом, CRISPR более востребован именно при моделировании заболеваний, чем при терапии.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## Список литературы

1. Kim J.G., Garrett S., Wei Y., Graveley B.R., Terns M.P. CRISPR DNA Elements Controlling Site-Specific Spacer Integration and Proper Repeat Length by a Type II CRISPR–Cas System // *Nucl. Acids Res.* 2019. Vol. 47, № 16. P. 8632–8648. DOI: [10.1093/nar/gkz677](https://doi.org/10.1093/nar/gkz677)
2. Marraffini L.A., Sontheimer E.J. CRISPR Interference Limits Horizontal Gene Transfer in Staphylococci by Targeting DNA // *Science*. 2008. Vol. 322, № 5909. P. 1843–1845. DOI: [10.1126/science.1165771](https://doi.org/10.1126/science.1165771)
3. Pougach K., Semenova E., Bogdanova E., Datsenko K.A., Djordjevic M., Wanner B.L., Severinov K. Transcription, Processing and Function of CRISPR Cassettes in *Escherichia coli* // *Mol. Microbiol.* 2010. Vol. 77, № 6. P. 1367–1379. DOI: [10.1111/j.1365-2958.2010.07265.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07265.x)
4. Sander J.D., Joung J.K. CRISPR–Cas Systems for Editing, Regulating and Targeting Genomes // *Nat. Biotechnol.* 2014. Vol. 32, № 4. P. 347–355. DOI: [10.1038/nbt.2842](https://doi.org/10.1038/nbt.2842)
5. Nabel E.G. Cardiovascular Disease // *N. Engl. J. Med.* 2003. Vol. 349, № 1. P. 60–72. DOI: [10.1056/NEJMra035098](https://doi.org/10.1056/NEJMra035098)
6. Silas S., Makarova K.S., Shmakov S., Páez-Espino D., Mohr G., Liu Y., Davison M., Roux S., Krishnamurthy S.R., Fu B.X.H., Hansen L.L., Wang D., Sullivan M.B., Millard A., Clokie M.R., Bhaya D., Lambowitz A.M., Kyrpidis N.C., Koonin E.V., Fire A.Z. On the Origin of Reverse Transcriptase-Using CRISPR–Cas Systems and Their Hyperdiverse, Enigmatic Spacer Repertoires // *mBio*. 2017. Vol. 8, № 4. Art. № e00897-17. DOI: [10.1128/mBio.00897-17](https://doi.org/10.1128/mBio.00897-17)
7. Xie C., Zhang Y.P., Song L., Luo J., Qi W., Hu J., Lu D., Yang Z., Zhang J., Xiao J., Zhou B., Du J.L., Jing N., Liu Y., Wang Y., Li B.L., Song B.L., Yan Y. Genome Editing with CRISPR/Cas9 in Postnatal Mice Corrects PRKAG2 Cardiac Syndrome // *Cell Res.* 2016. Vol. 26. P. 1099–1111. DOI: [10.1038/cr.2016.101](https://doi.org/10.1038/cr.2016.101)
8. Ben Jehuda R., Shemer Y., Binah O. Genome Editing in Induced Pluripotent Stem Cells Using CRISPR/Cas9 // *Stem Cell Rev. Rep.* 2018. Vol. 14, № 3. P. 323–336. DOI: [10.1007/s12015-018-9811-3](https://doi.org/10.1007/s12015-018-9811-3)
9. Ledford H. CRISPR Fixes Disease Gene in Viable Human Embryos // *Nature*. 2017. Vol. 548, № 7665. P. 13–14. DOI: [10.1038/nature.2017.22382](https://doi.org/10.1038/nature.2017.22382)

10. Ben Jehuda R., Eisen B., Shemer Y., Mekies L.N., Szantai A., Reiter I., Cui H., Guan K., Haron-Khun S., Freimark D., Sperling S.R., Gherghiceanu M., Arad M., Binah O. CRISPR Correction of the PRKAG2 Gene Mutation in the Patient's Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Eliminates Electrophysiological and Structural Abnormalities // *Heart Rhythm*. 2018. Vol. 15, № 2. P. 267–276. DOI: [10.1016/j.hrthm.2017.09.024](https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2017.09.024)
11. Liang P., Sallam K., Wu H., Li Y., Itzhaki I., Garg P., Zhang Y., Vermglinchan V., Lan F., Gu M., Gong T., Zhuge Y., He C., Ebert A.D., Sanchez-Freire V., Churko J., Hu S., Sharma A., Lam C.K., Scheinman M.M., Bers D.M., Wu J.C. Patient-Specific and Genome-Edited Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Elucidate Single-Cell Phenotype of Brugada Syndrome // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2016. Vol. 68, № 19. P. 2086–2096. DOI: [10.1016/j.jacc.2016.07.779](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.07.779)
12. Watkins H., Ashrafian H., Redwood C. Inherited Cardiomyopathies // *N. Engl. J. Med.* 2011. Vol. 364, № 17. P. 1643–1656. DOI: [10.1056/NEJMr0902923](https://doi.org/10.1056/NEJMr0902923)
13. van der Velden J., Tocchetti C.G., Varricchi G., Bianco A., Sequeira V., Hilfiker-Kleiner D., Hamdani N., Leite-Moreira A.F., Mayr M., Falcão-Pires I., Thum T., Dawson D.K., Balligand J.L., Heymans S. Metabolic Changes in Hypertrophic Cardiomyopathies: Scientific Update from the Working Group of Myocardial Function of the European Society of Cardiology // *Cardiovasc. Res.* 2018. Vol. 114, № 10. P. 1273–1280. DOI: [10.1093/cvr/cvy147](https://doi.org/10.1093/cvr/cvy147)
14. Green E.M., Wakimoto H., Anderson R.L., Evanchik M.J., Gorham J.M., Harrison B.C., Henze M., Kawas R., Oslob J.D., Rodriguez H.M., Song Y., Wan W., Leinwand L.A., Spudich J.A., McDowell R.S., Seidman J.G., Seidman C.E. A Small-Molecule Inhibitor of Sarcomere Contractility Suppresses Hypertrophic Cardiomyopathy in Mice // *Science*. 2016. Vol. 351, № 6273. P. 617–621. DOI: [10.1126/science.aad3456](https://doi.org/10.1126/science.aad3456)
15. Cirino A.L., Seidman C.E., Ho C.Y. Genetic Testing and Counseling for Hypertrophic Cardiomyopathy // *Cardiol. Clin.* 2019. Vol. 37, № 1. P. 35–43. DOI: [10.1016/j.ccl.2018.08.003](https://doi.org/10.1016/j.ccl.2018.08.003)
16. Murphy S.L., Anderson J.H., Kapplinger J.D., Kruisselbrink T.M., Gersh B.J., Ommen S.R., Ackerman M.J., Bos J.M. Evaluation of the Mayo Clinic Phenotype-Based Genotype Predictor Score in Patients with Clinically Diagnosed Hypertrophic Cardiomyopathy // *J. Cardiovasc. Transl. Res.* 2016. Vol. 9, № 2. P. 153–161. DOI: [10.1007/s12265-016-9681-5](https://doi.org/10.1007/s12265-016-9681-5)
17. Marian A.J., Braunwald E. Hypertrophic Cardiomyopathy: Genetics, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Therapy // *Circ. Res.* 2017. Vol. 121, № 7. P. 749–770. DOI: [10.1161/CIRCRESAHA.117.311059](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311059)
18. Singer E.S., Ingles J., Semsarian C., Bagnall R.D. Key Value of RNA Analysis of MYBPC3 Splice-Site Variants in Hypertrophic Cardiomyopathy // *Circ. Genom. Precis. Med.* 2019. Vol. 12, № 1. Art. № e002368. DOI: [10.1161/CIRCGEN.118.002368](https://doi.org/10.1161/CIRCGEN.118.002368)
19. Kaul S., Heitner S.B., Mitalipov S. Sarcomere Gene Mutation Correction // *Eur. Heart J.* 2018. Vol. 39, № 17. P. 1506–1507. DOI: [10.1093/eurheartj/ehy179](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy179)
20. Grassmann F., Kiel C., den Hollander A.I., Weeks D.E., Lotery A., Cipriani V., Weber B.H.F.; International Age-Related Macular Degeneration Genomics Consortium (IAMDGC). Y Chromosome Mosaicism Is Associated with Age-Related Macular Degeneration // *Eur. J. Hum. Genet.* 2019. Vol. 27, № 1. P. 36–41. DOI: [10.1038/s41431-018-0238-8](https://doi.org/10.1038/s41431-018-0238-8)
21. Mehravar M., Shirazi A., Nazari M., Banan M. Mosaicism in CRISPR/Cas9-Mediated Genome Editing // *Dev. Biol.* 2019. Vol. 445, № 2. P. 156–162. DOI: [10.1016/j.ydbio.2018.10.008](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.10.008)
22. Tanihara F., Hirata M., Nguyen N.T., Le Q.A., Hirano T., Otoi T. Effects of Concentration of CRISPR/Cas9 Components on Genetic Mosaicism in Cytoplasmic Microinjected Porcine Embryos // *J. Reprod. Dev.* 2019. Vol. 65, № 3. P. 209–214. DOI: [10.1262/jrd.2018-116](https://doi.org/10.1262/jrd.2018-116)
23. Lander E.S., Baylis F., Zhang F., Charpentier E., Berg P., Bourgain C., Friedrich B., Joung J.K., Li J., Liu D., Naldini L., Nie J.B., Qiu R., Schoene-Seifert B., Shao F., Terry S., Wei W., Winnacker E.L. Adopt a Moratorium on Heritable Genome Editing. 2019. Vol. 567, № 7747. P. 165–168. DOI: [10.1038/d41586-019-00726-5](https://doi.org/10.1038/d41586-019-00726-5)
24. Strecker J., Jones S., Koopal B., Schmid-Burgk J., Zetsche B., Gao L., Makarova K.S., Koonin E.V., Zhang F. Engineering of CRISPR-Cas12b for Human Genome Editing // *Nat. Commun.* 2019. Vol. 10. Art. № 212. DOI: [10.1038/s41467-018-08224-4](https://doi.org/10.1038/s41467-018-08224-4)
25. Papasavva P., Kleanthous M., Lederer C.W. Rare Opportunities: CRISPR/Cas-Based Therapy Development for Rare Genetic Diseases // *Mol. Diagn. Ther.* 2019. Vol. 23, № 2. P. 201–222. DOI: [10.1007/s40291-019-00392-3](https://doi.org/10.1007/s40291-019-00392-3)
26. Berns K.I., Srivastava A. Next Generation of Adeno-Associated Virus Vectors for Gene Therapy for Human Liver Diseases // *Gastroenterol. Clin. North Am.* 2019. Vol. 48, № 2. P. 319–330. DOI: [10.1016/j.gtc.2019.02.005](https://doi.org/10.1016/j.gtc.2019.02.005)



27. Prondzynski M., Mearini G., Carrier L. Gene Therapy Strategies in the Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy // Pflüg. Archiv-Eur. J. Physiol. 2019. Vol. 471, № 5. P. 807–815. DOI: [10.1007/s00424-018-2173-5](https://doi.org/10.1007/s00424-018-2173-5)
28. Domenger C., Grimm D. Next-Generation AAV Vectors – Do Not Judge a Virus (Only) by Its Cover // Hum. Mol. Genet. 2019. Vol. 28, № R1. P. R3–R14. DOI: [10.1093/hmg/ddz148](https://doi.org/10.1093/hmg/ddz148)
29. Recchia A. AAV-CRISPR Persistence in the Eye of the Beholder // Mol. Ther. 2019. Vol. 27, № 1. P. 12–14. DOI: [10.1016/j.ymthe.2018.12.007](https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.12.007)
30. Giulitti S., Pellegrini M., Zorzan I., Martini P., Gagliano O., Mutarelli M., Ziller M.J., Cacchiarelli D., Romualdi C., Elvassore N., Martello G. Direct Generation of Human Naive Induced Pluripotent Stem Cells from Somatic Cells in Microfluidics // Nat. Cell Biol. 2019. Vol. 21, № 2, pp. 275–286. DOI: [10.1038/s41556-018-0254-5](https://doi.org/10.1038/s41556-018-0254-5)
31. Bruntraeger M., Byrne M., Long K., Bassett A.R. Editing the Genome of Human Induced Pluripotent Stem Cells Using CRISPR/Cas9 Ribonucleoprotein Complexes // Methods Mol. Biol. 2019. Vol. 1961. P. 153–183. DOI: [10.1007/978-1-4939-9170-9\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9170-9_11)
32. Loskill P., Huebsch N. Engineering Tissues from Induced Pluripotent Stem Cells // Tissue Eng. Part A. 2019. Vol. 25, № 9–10. P. 707–710. DOI: [10.1089/ten.TEA.2019.0118](https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0118)
33. Woltjen K. Precision Genome Editing in Human-Induced Pluripotent Stem Cells // Medical Applications of iPSC Cells / ed. by H. Inoue, Y. Nakamura. Singapore: Springer, 2019. P. 113–130. DOI: [10.1007/978-981-13-3672-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-13-3672-0_7)
34. Shinnawi R., Shaheen N., Huber I., Shiti A., Arbel G., Gepstein A., Ballan N., Setter N., Tijssen A.J., Borggreffe M., Gepstein L. Modeling Reentry in the Short QT Syndrome with Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Cell Sheets // J. Am. Coll. Cardiol. 2019. Vol. 73, № 18. P. 2310–2324. DOI: [10.1016/j.jacc.2019.02.055](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.02.055)
35. Di Toro A., Giuliani L., Favalli V., Di Giovannantonio M., Smirnova A., Grasso M., Arbustini E. Genetics and Clinics: Current Applications, Limitations, and Future Developments // Eur. Heart J. Suppl. 2019. Vol. 21, suppl. B. P. B7–B14. DOI: [10.1093/eurheartj/suz048](https://doi.org/10.1093/eurheartj/suz048)
36. Motta B.M., Pramstaller P.P., Hicks A.A., Rossini A. The Impact of CRISPR/Cas9 Technology on Cardiac Research: From Disease Modelling to Therapeutic Approaches // Stem Cells Int. 2017. Vol. 2017. Art. № 8960236. DOI: [10.1155/2017/8960236](https://doi.org/10.1155/2017/8960236)
37. Funakoshi S., Miki K., Takaki T., Okubo C., Hatani T., Chonabayashi K., Nishikawa M., Takei I., Oishi A., Narita M., Hoshijima M., Kimura T., Yamanaka S., Yoshida Y. Enhanced Engraftment, Proliferation, and Therapeutic Potential in Heart Using Optimized Human iPSC-Derived Cardiomyocytes // Sci. Rep. 2016. Vol. 6. Art. № 19111. DOI: [10.1038/srep19111](https://doi.org/10.1038/srep19111)
38. Chetty S., Pagliuca F.W., Honore C., Kweudjeu A., Rezanian A., Melton D.A. A Simple Tool to Improve Pluripotent Stem Cell Differentiation // Nat. Methods. 2013. Vol. 10, № 6. P. 553–556. DOI: [10.1038/nmeth.2442](https://doi.org/10.1038/nmeth.2442)
39. Malan D., Zhang M., Stallmeyer B., Müller J., Fleischmann B.K., Schulze-Bahr E., Sasse P., Greber B. Human iPSC Cell Model of Type 3 Long QT Syndrome Recapitulates Drug-Based Phenotype Correction // Basic Res. Cardiol. 2016. Vol. 111, № 2. Art. № 14. DOI: [10.1007/s00395-016-0530-0](https://doi.org/10.1007/s00395-016-0530-0)
40. Zhang G., Truong L., Tanguay R.L., Reif D.M. A New Statistical Approach to Characterize Chemical-Elicited Behavioral Effects in High-Throughput Studies Using Zebrafish // PLoS One. 2017. Vol. 12, № 1. Art. № e0169408. DOI: [10.1371/journal.pone.0169408](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169408)
41. Hodgson P., Ireland J., Grunow B. Fish, the Better Model in Human Heart Research? Zebrafish Heart Aggregates as a 3D Spontaneously Cardiomyogenic *in vitro* Model System // Progr. Biophys. Mol. Biol. 2018. Vol. 138. P. 132–141. DOI: [10.1016/j.pbiomolbio.2018.04.009](https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.04.009)
42. Cao J., Navis A., Cox B.D., Dickson A.L., Gemberling M., Karra R., Bagnat M., Poss K.D. Single Epicardial Cell Transcriptome Sequencing Identifies Caveolin 1 as an Essential Factor in Zebrafish Heart Regeneration // Development. 2016. Vol. 143, № 2. P. 232–243. DOI: [10.1242/dev.130534](https://doi.org/10.1242/dev.130534)
43. Morales E.E., Wingert R.A. Zebrafish as a Model of Kidney Disease // Kidney Development and Disease / ed. by R. Miller. Cham: Springer, 2017. Vol. 60. P. 55–75. DOI: [10.1007/978-3-319-51436-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-51436-9_3)
44. Bournele D., Beis D. Zebrafish Models of Cardiovascular Disease // Heart Failure Rev. 2016. Vol. 21, № 6. P. 803–813. DOI: [10.1007/s10741-016-9579-y](https://doi.org/10.1007/s10741-016-9579-y)

## References

1. Kim J.G., Garrett S., Wei Y., Graveley B.R., Terns M.P. CRISPR DNA Elements Controlling Site-Specific Spacer Integration and Proper Repeat Length by a Type II CRISPR–Cas System. *Nucl. Acids Res.*, 2019, vol. 47, no. 16, pp. 8632–8648. DOI: [10.1093/nar/gkz677](https://doi.org/10.1093/nar/gkz677)
2. Marraffini L.A., Sontheimer E.J. CRISPR Interference Limits Horizontal Gene Transfer in Staphylococci by Targeting DNA. *Science*, 2008, vol. 322, no. 5909, pp. 1843–1845. DOI: [10.1126/science.1165771](https://doi.org/10.1126/science.1165771)
3. Pougach K., Semenova E., Bogdanova E., Datsenko K.A., Djordjevic M., Wanner B.L., Severinov K. Transcription, Processing and Function of CRISPR Cassettes in *Escherichia coli*. *Mol. Microbiol.*, 2010, vol. 77, no. 6, pp. 1367–1379. DOI: [10.1111/j.1365-2958.2010.07265.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2010.07265.x)
4. Sander J.D., Joung J.K. CRISPR–Cas Systems for Editing, Regulating and Targeting Genomes. *Nat. Biotechnol.*, 2014, vol. 32, no. 4, pp. 347–355. DOI: [10.1038/nbt.2842](https://doi.org/10.1038/nbt.2842)
5. Nabel E.G. Cardiovascular Disease. *N. Engl. J. Med.*, 2003, vol. 349, no. 1, pp. 60–72. DOI: [10.1056/NEJMra035098](https://doi.org/10.1056/NEJMra035098)
6. Silas S., Makarova K.S., Shmakov S., Páez-Espino D., Mohr G., Liu Y., Davison M., Roux S., Krishnamurthy S.R., Fu B.X.H., Hansen L.L., Wang D., Sullivan M.B., Millard A., Clokie M.R., Bhaya D., Lambowitz A.M., Kyrpides N.C., Koonin E.V., Fire A.Z. On the Origin of Reverse Transcriptase-Using CRISPR–Cas Systems and Their Hyperdiverse, Enigmatic Spacer Repertoires. *mBio*, 2017, vol. 8, no. 4. Art. no. e00897-17. DOI: [10.1128/mBio.00897-17](https://doi.org/10.1128/mBio.00897-17)
7. Xie C., Zhang Y.P., Song L., Luo J., Qi W., Hu J., Lu D., Yang Z., Zhang J., Xiao J., Zhou B., Du J.L., Jing N., Liu Y., Wang Y., Li B.L., Song B.L., Yan Y. Genome Editing with CRISPR/Cas9 in Postnatal Mice Corrects PRKAG2 Cardiac Syndrome. *Cell Res.*, 2016, vol. 26, pp. 1099–1111. DOI: [10.1038/cr.2016.101](https://doi.org/10.1038/cr.2016.101)
8. Ben Jehuda R., Shemer Y., Binah O. Genome Editing in Induced Pluripotent Stem Cells Using CRISPR/Cas9. *Stem Cell Rev. Rep.*, 2018, vol. 14, no. 3, pp. 323–336. DOI: [10.1007/s12015-018-9811-3](https://doi.org/10.1007/s12015-018-9811-3)
9. Ledford H. CRISPR Fixes Disease Gene in Viable Human Embryos. *Nature*, 2017, vol. 548, no. 7665, pp. 13–14. DOI: [10.1038/nature.2017.22382](https://doi.org/10.1038/nature.2017.22382)
10. Ben Jehuda R., Eisen B., Shemer Y., Mekies L.N., Szantai A., Reiter I., Cui H., Guan K., Haron-Khun S., Freimark D., Sperling S.R., Gherghiceanu M., Arad M., Binah O. CRISPR Correction of the PRKAG2 Gene Mutation in the Patient's Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Eliminates Electrophysiological and Structural Abnormalities. *Heart Rhythm*, 2018, vol. 15, no. 2, pp. 267–276. DOI: [10.1016/j.hrthm.2017.09.024](https://doi.org/10.1016/j.hrthm.2017.09.024)
11. Liang P., Sallam K., Wu H., Li Y., Itzhaki I., Garg P., Zhang Y., Vermglinchan V., Lan F., Gu M., Gong T., Zhuge Y., He C., Ebert A.D., Sanchez-Freire V., Churko J., Hu S., Sharma A., Lam C.K., Scheinman M.M., Bers D.M., Wu J.C. Patient-Specific and Genome-Edited Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiomyocytes Elucidate Single-Cell Phenotype of Brugada Syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2016, vol. 68, no. 19, pp. 2086–2096. DOI: [10.1016/j.jacc.2016.07.779](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2016.07.779)
12. Watkins H., Ashrafian H., Redwood C. Inherited Cardiomyopathies. *N. Engl. J. Med.*, 2011, vol. 364, no. 17, pp. 1643–1656. DOI: [10.1056/NEJMra0902923](https://doi.org/10.1056/NEJMra0902923)
13. van der Velden J., Tocchetti C.G., Varricchi G., Bianco A., Sequeira V., Hilfiker-Kleiner D., Hamdani N., Leite-Moreira A.F., Mayr M., Falcão-Pires I., Thum T., Dawson D.K., Balligand J.L., Heymans S. Metabolic Changes in Hypertrophic Cardiomyopathies: Scientific Update from the Working Group of Myocardial Function of the European Society of Cardiology. *Cardiovasc. Res.*, 2018, vol. 114, no. 10, pp. 1273–1280. DOI: [10.1093/cvr/cvy147](https://doi.org/10.1093/cvr/cvy147)
14. Green E.M., Wakimoto H., Anderson R.L., Evanchik M.J., Gorham J.M., Harrison B.C., Henze M., Kawas R., Oslob J.D., Rodriguez H.M., Song Y., Wan W., Leinwand L.A., Spudich J.A., McDowell R.S., Seidman J.G., Seidman C.E. A Small-Molecule Inhibitor of Sarcomere Contractility Suppresses Hypertrophic Cardiomyopathy in Mice. *Science*, 2016, vol. 351, no. 6273, pp. 617–621. DOI: [10.1126/science.aad3456](https://doi.org/10.1126/science.aad3456)
15. Cirino A.L., Seidman C.E., Ho C.Y. Genetic Testing and Counseling for Hypertrophic Cardiomyopathy. *Cardiol. Clin.*, 2019, vol. 37, no. 1, pp. 35–43. DOI: [10.1016/j.ccl.2018.08.003](https://doi.org/10.1016/j.ccl.2018.08.003)
16. Murphy S.L., Anderson J.H., Kapplinger J.D., Kruisselbrink T.M., Gersh B.J., Ommen S.R., Ackerman M.J., Bos J.M. Evaluation of the Mayo Clinic Phenotype-Based Genotype Predictor Score in Patients with Clinically Diagnosed Hypertrophic Cardiomyopathy. *J. Cardiovasc. Transl. Res.*, 2016, vol. 9, no. 2, pp. 153–161. DOI: [10.1007/s12265-016-9681-5](https://doi.org/10.1007/s12265-016-9681-5)

17. Marian A.J., Braunwald E. Hypertrophic Cardiomyopathy: Genetics, Pathogenesis, Clinical Manifestations, Diagnosis, and Therapy. *Circ. Res.*, 2017, vol. 121, no. 7, pp. 749–770. DOI: [10.1161/CIRCRESAHA.117.311059](https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.117.311059)
18. Singer E.S., Ingles J., Semsarian C., Bagnall R.D. Key Value of RNA Analysis of MYBPC3 Splice-Site Variants in Hypertrophic Cardiomyopathy. *Circ. Genom. Precis. Med.*, 2019, vol. 12, no. 1. Art. no. e002368. DOI: [10.1161/CIRCGEN.118.002368](https://doi.org/10.1161/CIRCGEN.118.002368)
19. Kaul S., Heitner S.B., Mitalipov S. Sarcomere Gene Mutation Correction. *Eur. Heart J.*, 2018, vol. 39, no. 17, pp. 1506–1507. DOI: [10.1093/eurheartj/ehy179](https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy179)
20. Grassmann F., Kiel C., den Hollander A.I., Weeks D.E., Lotery A., Cipriani V., Weber B.H.F.; International Age-Related Macular Degeneration Genomics Consortium (IAMDGC). Y Chromosome Mosaicism Is Associated with Age-Related Macular Degeneration. *Eur. J. Hum. Genet.*, 2019, vol. 27, no. 1, pp. 36–41. DOI: [10.1038/s41431-018-0238-8](https://doi.org/10.1038/s41431-018-0238-8)
21. Mehrovar M., Shirazi A., Nazari M., Banan M. Mosaicism in CRISPR/Cas9-Mediated Genome Editing. *Dev. Biol.*, 2019, vol. 445, no. 2, pp. 156–162. DOI: [10.1016/j.ydbio.2018.10.008](https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2018.10.008)
22. Tanihara F., Hirata M., Nguyen N.T., Le Q.A., Hirano T., Otoi T. Effects of Concentration of CRISPR/Cas9 Components on Genetic Mosaicism in Cytoplasmic Microinjected Porcine Embryos. *J. Reprod. Dev.*, 2019, vol. 65, no. 3, pp. 209–214. DOI: [10.1262/jrd.2018-116](https://doi.org/10.1262/jrd.2018-116)
23. Lander E.S., Baylis F., Zhang F., Charpentier E., Berg P., Bourgain C., Friedrich B., Joung J.K., Li J., Liu D., Naldini L., Nie J.B., Qiu R., Schoene-Seifert B., Shao F., Terry S., Wei W., Winnacker E.L. Adopt a Moratorium on Heritable Genome Editing. *Nature*, 2019, vol. 567, no. 7747, pp. 165–168. DOI: [10.1038/d41586-019-00726-5](https://doi.org/10.1038/d41586-019-00726-5)
24. Strecker J., Jones S., Koopal B., Schmid-Burgk J., Zetsche B., Gao L., Makarova K.S., Koonin E.V., Zhang F. Engineering of CRISPR-Cas12b for Human Genome Editing. *Nat. Commun.*, 2019, vol. 10. Art. no. 212. DOI: [10.1038/s41467-018-08224-4](https://doi.org/10.1038/s41467-018-08224-4)
25. Papisavva P., Kleantous M., Lederer C.W. Rare Opportunities: CRISPR/Cas-Based Therapy Development for Rare Genetic Diseases. *Mol. Diagn. Ther.*, 2019, vol. 23, no. 2, pp. 201–222. DOI: [10.1007/s40291-019-00392-3](https://doi.org/10.1007/s40291-019-00392-3)
26. Berns K.I., Srivastava A. Next Generation of Adeno-Associated Virus Vectors for Gene Therapy for Human Liver Diseases. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 2019, vol. 48, no. 2, pp. 319–330. DOI: [10.1016/j.gtc.2019.02.005](https://doi.org/10.1016/j.gtc.2019.02.005)
27. Prondzynski M., Mearini G., Carrier L. Gene Therapy Strategies in the Treatment of Hypertrophic Cardiomyopathy. *Pflugers Arch.*, 2019, vol. 471, no. 5, pp. 807–815. DOI: [10.1007/s00424-018-2173-5](https://doi.org/10.1007/s00424-018-2173-5)
28. Domenger C., Grimm D. Next-Generation AAV Vectors – Do Not Judge a Virus (Only) by Its Cover. *Hum. Mol. Genet.*, 2019, vol. 28, no. R1, pp. R3–R14. DOI: [10.1093/hmg/ddz148](https://doi.org/10.1093/hmg/ddz148)
29. Recchia A. AAV-CRISPR Persistence in the Eye of the Beholder. *Mol. Ther.*, 2019, vol. 27, no. 1, pp. 12–14. DOI: [10.1016/j.ymthe.2018.12.007](https://doi.org/10.1016/j.ymthe.2018.12.007)
30. Giulitti S., Pellegrini M., Zorzan I., Martini P., Gagliano O., Mutarelli M., Ziller M.J., Cacchiarelli D., Romualdi C., Elvassore N., Martello G. Direct Generation of Human Naive Induced Pluripotent Stem Cells from Somatic Cells in Microfluidics. *Nat. Cell Biol.*, 2019, vol. 21, no. 2, pp. 275–286. DOI: [10.1038/s41556-018-0254-5](https://doi.org/10.1038/s41556-018-0254-5)
31. Bruntraeger M., Byrne M., Long K., Bassett A.R. Editing the Genome of Human Induced Pluripotent Stem Cells Using CRISPR/Cas9 Ribonucleoprotein Complexes. *Methods Mol. Biol.*, 2019, vol. 1961, pp. 153–183. DOI: [10.1007/978-1-4939-9170-9\\_11](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9170-9_11)
32. Loskill P., Huebsch N. Engineering Tissues from Induced Pluripotent Stem Cells. *Tissue Eng. Part A*, 2019, vol. 25, no. 9-10, pp. 707–710. DOI: [10.1089/ten.TEA.2019.0118](https://doi.org/10.1089/ten.TEA.2019.0118)
33. Woltjen K. Precision Genome Editing in Human-Induced Pluripotent Stem Cells. Inoue H., Nakamura Y. (eds.). *Medical Applications of iPS Cells*. Singapore, 2019, pp. 113–130. DOI: [10.1007/978-981-13-3672-0\\_7](https://doi.org/10.1007/978-981-13-3672-0_7)
34. Shinnawi R., Shaheen N., Huber I., Shiti A., Arbel G., Gepstein A., Ballan N., Setter N., Tijssen A.J., Borggrefe M., Gepstein L. Modeling Reentry in the Short QT Syndrome with Human-Induced Pluripotent Stem Cell-Derived Cardiac Cell Sheets. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2019, vol. 73, no. 18, pp. 2310–2324. DOI: [10.1016/j.jacc.2019.02.055](https://doi.org/10.1016/j.jacc.2019.02.055)
35. Di Toro A., Giuliani L., Favalli V., Di Giovannantonio M., Smirnova A., Grasso M., Arbustini E. Genetics and Clinics: Current Applications, Limitations, and Future Developments. *Eur. Heart J. Suppl.*, 2019, vol. 21, suppl. B, pp. B7–B14. DOI: [10.1093/eurheartj/suz048](https://doi.org/10.1093/eurheartj/suz048)
36. Motta B.M., Pramstaller P.P., Hicks A.A., Rossini A. The Impact of CRISPR/Cas9 Technology on Cardiac Research: From Disease Modelling to Therapeutic Approaches. *Stem Cells Int.*, 2017, vol. 2017. Art. no. 8960236. DOI: [10.1155/2017/8960236](https://doi.org/10.1155/2017/8960236)

37. Funakoshi S., Miki K., Takaki T., Okubo C., Hatani T., Chonabayashi K., Nishikawa M., Takei I., Oishi A., Narita M., Hoshijima M., Kimura T., Yamanaka S., Yoshida Y. Enhanced Engraftment, Proliferation, and Therapeutic Potential in Heart Using Optimized Human iPSC-Derived Cardiomyocytes. *Sci. Rep.*, 2016, vol. 6. Art. no. 19111. DOI: [10.1038/srep19111](https://doi.org/10.1038/srep19111)
38. Chetty S., Pagliuca F.W., Honore C., Kweudjeu A., Rezanian A., Melton D.A. A Simple Tool to Improve Pluripotent Stem Cell Differentiation. *Nat. Methods*, 2013, vol. 10, no. 6, pp. 553–556. DOI: [10.1038/nmeth.2442](https://doi.org/10.1038/nmeth.2442)
39. Malan D., Zhang M., Stallmeyer B., Müller J., Fleischmann B.K., Schulze-Bahr E., Sasse P., Greber B. Human iPSC Cell Model of Type 3 Long QT Syndrome Recapitulates Drug-Based Phenotype Correction. *Basic Res. Cardiol.*, 2016, vol. 111, no. 2. Art. no. 14. DOI: [10.1007/s00395-016-0530-0](https://doi.org/10.1007/s00395-016-0530-0)
40. Zhang G., Truong L., Tanguay R.L., Reif D.M. A New Statistical Approach to Characterize Chemical-Elicited Behavioral Effects in High-Throughput Studies Using Zebrafish. *PLoS One*, 2017, vol. 12, no. 1. Art. no. e0169408. DOI: [10.1371/journal.pone.0169408](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169408)
41. Hodgson P., Ireland J., Grunow B. Fish, the Better Model in Human Heart Research? Zebrafish Heart Aggregates as a 3D Spontaneously Cardiomyogenic *in vitro* Model System. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, 2018, vol. 138, pp. 132–141. DOI: [10.1016/j.pbiomolbio.2018.04.009](https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2018.04.009)
42. Cao J., Navis A., Cox B.D., Dickson A.L., Gemberling M., Karra R., Bagnat M., Poss K.D. Single Epicardial Cell Transcriptome Sequencing Identifies Caveolin 1 as an Essential Factor in Zebrafish Heart Regeneration. *Development*, 2016, vol. 143, no. 2, pp. 232–243. DOI: [10.1242/dev.130534](https://doi.org/10.1242/dev.130534)
43. Morales E.E., Wingert R.A. Zebrafish as a Model of Kidney Disease. Miller R. (ed.). *Kidney Development and Disease*. Cham, 2017. Vol. 60, pp. 55–75. DOI: [10.1007/978-3-319-51436-9\\_3](https://doi.org/10.1007/978-3-319-51436-9_3)
44. Bournele D., Beis D. Zebrafish Models of Cardiovascular Disease. *Heart Fail. Rev.*, 2016, vol. 21, no. 6, pp. 803–813. DOI: [10.1007/s10741-016-9579-y](https://doi.org/10.1007/s10741-016-9579-y)

DOI: 10.37482/2687-1491-Z059

**Evgeniya D. Namiot\*** ORCID: [0000-0003-3725-6360](https://orcid.org/0000-0003-3725-6360)  
**Varvara S. Kuznetsova\*** ORCID: [0000-0003-0404-1531](https://orcid.org/0000-0003-0404-1531)  
**Ekaterina V. Kustavinova\*** ORCID: [0000-0001-5546-1726](https://orcid.org/0000-0001-5546-1726)  
**Nataliya L. Kartashkina\*** ORCID: [0000-0003-4648-9027](https://orcid.org/0000-0003-4648-9027)

\*I.M. Sechenov First Moscow State Medical University  
of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation  
(Moscow, Russian Federation)

## PROSPECTS OF USING THE CRISPR/Cas9 SYSTEM FOR TREATING AND MODELLING CARDIOVASCULAR DISEASES (Review)

Methods of genetic editing and the ability to control it have made it possible to achieve significant progress in medicine, in particular, in the study of the pathogenesis of various diseases, including those of cardiovascular aetiology. One of the editing methods is the CRISPR/Cas9 technology. CRISPR is a family of DNA sequences found in the genomes of bacteria and other prokaryotes, while Cas9 is an endonuclease that cleaves the target foreign sequence. It should be noted that cardiovascular disease is one of the leading causes of death worldwide. A fairly large number of cardiovascular diseases, such as hypertrophic cardiomyopathy and long and short QT syndromes, are hereditary. This fact significantly complicates the process of treating these pathologies. However, it also allows us to use CRISPR/Cas9



to detect and edit genes in order to alleviate the clinical picture. At the same time, genetic engineering and its methods in general are a rather poorly studied area. Moreover, in spite of a significant number of experimental works on the effects of CRISPR on the cardiovascular system, there is a profound lack of comprehensive reviews that would combine all the positive and negative aspects of the use of CRISPR/Cas9 in the treatment of hereditary cardiovascular diseases. This article discusses various options of using CRISPR editing directly in clinical practice, as well as in modelling cardiovascular diseases. Based on the data obtained, we were able to identify the areas in which application of CRISPR/Cas9 is the most appropriate and shows the best result.

**Keywords:** *CRISPR/Cas9, cardiovascular diseases, genetics, genome editing.*

Поступила 02.09.2020

Принята 08.02.2021

Received 2 September 2020

Accepted 8 February 2021

---

**Corresponding author:** Evgeniya Namiot, *address:* ul. Bol'shaya Pirogovskay 19, str. 1, Moscow, 119146, Russian Federation; *e-mail:* enamiot@gmail.com

**For citation:** Namiot E.D., Kuznetsova V.S., Kustavinova E.V., Kartashkina N.L. Prospects of Using the CRISPR/Cas9 System for Treating and Modelling Cardiovascular Diseases (Review). *Journal of Medical and Biological Research*, 2021, vol. 9, no. 2, pp. 213–225. DOI: 10.37482/2687-1491-Z059