Formulacje leków genowych, recepty genowe

Alicja Bieńkowska¹, Żaneta Słyk¹, Edyta Banaczkowska-Duda¹, Maciej Małecki¹

¹ Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny

Adres do korespondencji: Alicja Bieńkowska, Zakład Farmacji Stosowanej, Wydział Farmaceutyczny z Oddziałem Medycyny Laboratoryjnej, Warszawski Uniwersytet Medyczny, ul. Banacha 1, 02-097 Warszawa, e-mail: alicja.bienkowska@wum.edu.pl

Terapia genowa

Terapia genowa opiera się na wykorzystaniu w leczeniu przede wszystkim sekwencji kodujących DNA (mRNA/cDNA). Pulę genów, w kontekście wiedzy farmaceutycznej, można traktować jako zasób „substancji czynnych” użytecznych w terapii opartej na protokołach transferu genów. Od początku wprowadzania terapii genowej do klinik [1] wyzwaniem były identyfikacja i selekcja genów o potencjale terapeutycznym, jak i poszukiwanie unikalnych rozwiązań w zakresie wektologii genowej, czyli opracowywanie nośników, postaci farmaceutycznych dla klonowanych rdzeniowych preparatów genowych. W czasie badań doświadczalnych i prób klinicznych wyselekcjonowano grupy użytecznych klinicznie genów i wektorów. W chwili obecnej większość protokołów klinicznych terapii genowej opiera się na wykorzystaniu genów białek sygnalizacji wewnątrzkomórkowej, cytokin, czynników transkrypcyjnych, białek receptorowych oraz czynników wzrostowych. Wiele badań podstawowych z zakresu biologii eksperymentalnej, definiujących molekularne mechanizmy przebiegu procesów komórkowych, dostarczyło istotnych wskazówek o wyborze genów użytecznych dla terapii genowej. Badania podstawowe i potrzeby kliniczne wyznaczyły strategie terapeutyczne oparte na preparatach genowych [2]. Publikacje z zakresu terapii genowej dowodzą, że jest możliwe klonowanie funkcjonalnych preparatów genowych stymulujących lub wyciszających ekspresję genów o istotnej funkcji biologicznej. Rozpoznawalnymi już przykładami na wielofunkcyjność preparatów genowych są prace poświęcone procesom angiogenezy. Badania wykazały, iż jest możliwa, na drodze metod transferu genów, zarówno stymulacja powstawania nowych

Gene formulations, gene prescriptions · Gene therapy as a modern method of the treatment for diseases, that were considered incurable until recently, sets new directions for the development of present medicine. Despite the increasing number of experimental trials, the challenge for gene therapy is to define genes with therapeutic potential and search for effective carriers, pharmaceutical forms for gene preparations. Currently, the most commonly used vectors are constructs based on viral genomes: adenovirus, retrovirus, AAV – adeno-associated virus. The gene preparations are administered as injections, however *in vitro* and *in vivo* studies indicate the therapeutic efficacy of other formulations: solid and semi-solid forms, moreover, “gene prescriptions” are designed. European Pharmacopoeia 6 (Polish Pharmacopoeia VIII) was the document that established the position of gene products in pharmacy and medicine. The appearance of new gene drugs (Glybera, Strimvelis) indicates the development of gene therapy and the classical pharmacy recipe.

Keywords: gene therapy, gene formulations, gene prescriptions, pharmacopoeia.

© Farm Pol, 2018, 74(10): 611–615

naczyń krwionośnych, jak i hamowanie funkcji naczyń już istniejących. W czasie badań rozwinęły się strategie, odpowiednio proangiogennej, jak i antyangiogennej terapii genowej. Metody oparte na modulacji angiogenezy ekspresją genów znalazły zastosowanie w środowisku klinik naczyniowo-sercowych, onkologicznych i okulistycznych [3–5]. Obecnie w badaniach, w zakresie wektologii genowej, wykorzystuje się przede wszystkim konstrukty klonowane w oparciu o genomy wirusów (retrowirusów, adenowirusów, wirusów związanych z adenowirusami), czyli preparaty pochodzenia wirusowego. Według informacji źródłowych, pochodzących z *The Journal of Gene Medicine* [6], na świecie do chwili obecnej

zaaprobowano 2597 protokołów klinicznych terapii genowej (dane z listopada 2017 r.) z czego większość oparta jest na wektorologii wirusowej (ponad 65%) i dotyczy pacjentów onkologicznych (ponad 60%). Warto zauważyć, że wśród wykorzystywanych wektorów wirusowych szczególnego znaczenia nabierają preparaty klonowane w oparciu o genom wirusów z rodziny *Parvoviridae*, rodzaju *Dependovirus* – rekombinowane wektory wirusowe związane z adenowirusami (ang. *recombinant adeno-associated viruses*, rAAV). Znane od co najmniej lat 60. [7] wirusy związane z adenowirusami zaliczane są do najmniejszych (średnica ok. 20 nm) i najbezpieczniejszych, w kontekście protokołów terapii genowej, nośników terapeutycznych genów. Nie bez znaczenia jest również występowanie serotypów rAAV o zdefiniowanym tropizmie narządowym oraz możliwość klonowania wariantów mozaikowych rAAV o zwiększonej penetracji komórkowej [8, 9]. Obecnie ponad 7% wszystkich prób terapii genowej na świecie opartych jest na wektorologii rAAV [6]. Do jednych z najbardziej spektakularnych należą prace poświęcone przywracaniu projekcji wzrokowej u osób niewidzących od urodzenia z zespołem Lebera, wykonane przez zespół Ali R i wsp. [10, 11]. W oparciu o wektory rAAV wprowadzono (pełna rejestracja w Europejskiej Agencji Leków; ang. *European Medicines Agency*, EMA) również do leczenia produkt genowy (Glybera) dla pacjentów cierpiących na wrodzoną hiperlipoproteinemię typu I [12]. Wzrasta zainteresowanie środowiska naukowego opracowywaniem formułacji farmaceutycznych zawierających rAAV. Formułacje genowe z rAAV projektuje się głównie do prób klinicznych terapii genowej oraz badań doświadczalnych w zakresie leków eksperymentalnych. Preparaty rAAV mogą być również podstawą innowacyjnych rozwiązań w diagnostyce molekularnej nowotworów usprawniającej chirurgiczne leczenie chorych (genowe znakowanie nowotworów).

Geny w Farmakopei

Istotnym udokumentowaniem badań nad preparatami genowymi było opublikowanie treści związanych z terapią genową, metodologią transferu genów oraz wektorologią w farmakopei. Informacje dotyczące metod transferu genów i preparatów genowych zostały zawarte w Farmakopei Europejskiej 6 (Farmakopei Polskiej VIII) bezpośrednio pod nazwą „Produkty lecznicze przenoszenia genu do stosowania u ludzi”, rozdział 5.14. Obowiązująca obecnie Farmakopea Polska XI również zawiera przekaz genowy pod tym samym tytułem, jednak w postaci wzbogaconej pod względem liczby opisanych wektorów w porównaniu do

FP VIII. Uzupełniające dane dotyczące metod biologicznych, preparatów biologicznych zawarte są również w rozdziałach: 2.6. „Biologiczne metody badania”, 2.7. „Oznaczanie zawartości metodami biologicznymi”, 5.2. „Wymagania ogólne dla produktów biologicznych”. Obecność informacji z zakresu preparatów genowych w farmakopei normalizuje w środowisku naukowym użyteczność farmaceutyczną genoterapii i pozwala przewidywać dalszy rozwój dyscypliny w zakresie zarówno eksperymentalnym, jak i klinicznym. Analizując „genową zawartość” farmakopei można zauważyć przede wszystkim charakterystykę dróg dostarczenia kwasów nukleinowych do modyfikacji materiału genetycznego w komórkach, opisy wybranych grup wektorów (plazmidowe, pDNA; adenowirusy; pokswirusy; retrowirusy; wirusy związane z adenowirusami, AAV) oraz wybiórczą, ale uniwersalną metodologię standardowych badań wykonywanych w laboratorium inżynierii genowej / komórkowej. W farmakopei przedstawione są odpowiednie definicje, sposoby wytwarzania konstrukcji wektorów, pośrednie produkty wytwarzania, metody oczyszczania, przygotowywania serii końcowych, badania tożsamości, zawartości oraz propozycje oznakowania, etykiet dla finalnego preparatu genowego [13–15]. Większość zawartych w farmakopei procedur otrzymywania, jak i kontroli ilościowo-jakościowej charakteryzowanych preparatów genowych jest reprezentatywna dla powszechnie stosowanych metod w laboratoriach badawczo-rozwojowych zajmujących się inżynierią genową.

Recepturowe formułacje genowe

W chwili obecnej preparaty genowe podawane są w warunkach klinicznych pacjentom przede wszystkim w postaci roztworów plazmidowego DNA lub rekombinowanych wektorów wirusowych. Dominują formy iniekcyjne. Preparat genowy podawany jest pacjentom między innymi domięśniowo, dożylnie, dajamowo, śródskórnym, a także doguzowo. W laboratoriach doświadczalnych inżynierii genowej prowadzone są badania w kierunku opracowania nowych formułacji farmaceutycznych dla rdzeniowych preparatów genowych. Badania eksperymentalne wskazują na skuteczność wprowadzania preparatów genowych, również z innych niż postaci iniekcyjne, form farmaceutycznych. Podkreśla się użyteczność terapeutyczną opracowywania np. donosowych / inhalacyjnych leków genowych [16, 17]. Poprawność koncepcyjną zamysłu uzyskiwania nowych formułacji genowych zawsze weryfikują badania podstawowe. W Zakładzie Farmacji Stosowanej WUM projektowane są i uzyskiwane

recepturowe formuły genowe do stosowania zarówno wewnętrznego, jak i zewnętrznego. Preparaty związane są z prowadzonymi badaniami w środowisku onkologii doświadczalnej, głównie w zakresie nowotworów skóry, jajnika, jelita grubego oraz mózgu. Charakterystykę projektowanych i wykonywanych „recept genowych” przedstawiono w tabeli 1. W trakcie badań opracowano składy recepturowych formuły farmaceutycznych przeznaczonych do dożylnego, donosowego oraz dośrodkowego wprowadzania genów. Jak podaje tabela 1, „recepty genowe” zostały opracowane zgodnie z kanonem receptury aptecznej, a także w oparciu o zasób substancji charakterystycznych i niezbędnych do przygotowania preparatu genowego. Z uwagi na wstępny, nowatorski charakter prac, w składach formuły celowo ograniczono zawartość substancji pomocniczych oraz korzystano z referencyjnych, reporterowych preparatów genowych, głównie rAAV oraz pDNA. Do stosowania wewnętrznego przygotowano recepty

w zakresie podstawowych tabletek niepowleka-nych z mikrocelulozą oraz kapsulek żelatynowych. Preparaty iniekcyjne (formy dożylne, doguzowe, śródskórne) przygotowywano w postaci roztworów opartych na 0,9% roztworze NaCl. Do stosowania zewnętrznego opracowano recepty genowe na roztwory do podania donosowego oraz w postaci formuły półstałych. Opracowane formy pozwalają wprowadzać za pośrednictwem zawartych w formułach wektorów geny markerowe / terapeutyczne do wybranych narządów prawidłowych, jak i zmienionych nowotworowo. Doświadczenia z zakresu przygotowywania formuły wskazują, że możliwe jest uzyskiwanie funkcjonalnych postaci farmaceutycznych dla preparatów genowych. Badania przeprowadzone *in vitro* definiują profile uwalniania, np. rAAV, z uzyskiwanych postaci. Z prac z udziałem zwierząt laboratoryjnych wynika, że uzyskane formuły są użyteczne *in vivo*, ale efektywność biologiczna jest bezpośrednio w funkcji składu, obecności substancji

Tabela 1. Recepturowe formuły genowe – postaci płynne, stałe i półstałe. Przykłady „recept genowych”. rAAV – rekombinowane wirusy związane z adenowirusami; DJ – serotyp mozaikowy wektora rAAV; G – gen białka zielonej fluorescencji; CAG – promotor hybrydowy; cmv – promotor cytomegalowirusowy

Recepta		Receptura płynnych preparatów genowych	Receptura stałych preparatów genowych do stosowania wewnętrznego	Receptura półstałych preparatów genowych
Świadczeniodawca				
Pacjent	Oddział NFZ			
PESEL	Uprawnienia dodatkowe			
Rp	Odpłatność			
<p>10¹³ rAAV/DJ/G/CAG 1,0 µl</p> <p>0,9% Sol. Natrii chlorati 9,0 µl</p> <p>3% Sepineo ad 1,5</p> <p>M.f. ung.</p> <p>D.S. Zewnętrznie</p>		<p>Rp.</p> <p>10¹³ rAAV/DJ/G/CAG 1,0 µl</p> <p>0,9% Sol. Natrii chlorati ad 100,0 µl</p> <p>M.f. sol.</p> <p>D.S. Inj intravenosus</p>	<p>Rp.</p> <p>10¹³ rAAV/DJ/G/CAG 1,0 µl</p> <p>0,9% Sol. Natrii chlorati 9,0 µl</p> <p>Lactosi 0,18</p> <p>M.f. pulv.</p> <p>D.A.d. No 20, D. ad caps. gel.</p>	<p>Rp.</p> <p>10¹³ rAAV/DJ/G/CAG 1,0 µl</p> <p>0,9% Sol. Natrii chlorati 9,0 µl</p> <p>3,0% Sepineo ad 1,5</p> <p>M.f. ung.</p> <p>D.S. Ad usum externum</p>
		<p>Rp.</p> <p>10¹³ rAAV/2/2/G/cmv 1,0 µl</p> <p>0,9% Sol. Natrii chlorati ad 100,0 µl</p> <p>M.f. sol.</p> <p>D.S. Inj. intratumoral</p>		<p>Rp.</p> <p>10¹³ rAAV/DJ/G/CAG 0,01 µl</p> <p>Aquae pro injectione 0,12 µl</p> <p>Vasellini albi 0,02</p> <p>M.f. ung.</p> <p>D.S. Ad usum externum</p>
		<p>Rp.</p> <p>10¹³ rAAV/2/6/G/CAG 1,0 µl</p> <p>0,9% Sol. Natrii chlorati ad 30,0 µl</p> <p>M.f. sol.</p> <p>D.S. Intranasal</p>	<p>Rp.</p> <p>0,5% pAAV/G/cmv 10,0 µl</p> <p>Lactosi 0,18</p> <p>M.f. pulv.</p> <p>D.A.d. No 20, D. ad caps. gel.</p>	<p>Rp.</p> <p>Hydroxyethylcellulosi 2,25</p> <p>Propylenglycoli 5,0</p> <p>Aquae ad 50,0</p> <p>M.f. ung. HEC1</p> <p>Rp.</p> <p>10¹³ rAAV/DJ/G/CAG 0,01 µl</p> <p>Aquae pro injectione 0,12 µl</p> <p>Ung. HEC1 0,02</p> <p>M.f. ung.</p> <p>D.S. Ad usum externum</p>
Data wystawienia:	Dane i podpis lekarza			
Data realizacji „od dnia”:	Dane podmiotu drukującego			

pomocniczych. Stosując formułacje dożylnie znajdowano kopie wektorów w celowanych zmianach nowotworowych w płucach zwierząt, a aplikując preparaty do stosowania zewnętrznego znajdowano kopie wektora w skórze zwierząt [18]. Każda z uzyskanych recept genowych zawierająca geny reporterowe jest podstawą do opracowywania składu genowych formułacji terapeutycznych, przykładowo opartych na genach hamujących angiogenezę nowotworową (rozpuszczalny receptor typu pierwszego dla naczyniowo-śródbłonkowego czynnika wzrostu, sFLT-1; siRNA wyciszające naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu, siVEGF; angiostatyna; endostatyna).

Leki genowe w leczeniu

Reprezentatywne przykłady zarejestrowanych leków genowych zebrano w tabeli 2. Obecnie dobrze opisanym preparatem genowym zarejestrowanym w UE przez EMA (2012–2017) jest lek Glybera (*Alipogene tiparvovec*). Formułacja Glybera opracowana przez firmę UniQure [12] jest preparatem iniekcyjnym (domięśniowym) zawierającym wektor rAAV2/1 z wklonowanym genem ludzkiej lipazy lipoproteinowej (ang. *lipoprotein lipase*, LPL), który koduje prawidłową formę białka LPL. Lek przeznaczony jest dla pacjentów cierpiących na wrodzony, powodowany dysfunkcją genu *LPL*, niedobór lipazy lipoproteinowej diagnozowany jako rodzinny niedobór lipazy lipoproteinowej (ang. *lipoprotein lipase deficiency*, LPLD), hiperlipoproteinemia typu I, rodzinna chylomikronemia (choroba rzadka). Dysfunkcja genu przekładająca się na dysfunkcję białka LPL powoduje zagrażające życiu zaburzenia w metabolizmie

lipidów i funkcjonowaniu kluczowych narządów jak wątroba i trzustka. Choroba do epoki terapii genowej była nieuleczalna. W 2016 r. EMA dopuściła do obrotu na terenie całej Unii Europejskiej kolejny preparat genowy – Strimvelis (Glaxo-SmithKline) [19]. Lek stosowany jest u pacjentów z ciężkim złożonym niedoborem odporności (ang. *severe combined immunodeficiency*, SCID; choroba rzadka) spowodowanym dysfunkcją genu białka enzymatycznego deaminazy adenozyny (ang. *adenosine deaminase*, ADA). Postać opracowanej formułacji wiąże się z przewidzianym przebiegiem protokołu terapii, tj. z zastosowaniem terapii genowej *ex vivo*. Formułacją jest zawiesina do infuzji oparta na autologicznych komórkach CD34+ transdukowanych w warunkach *ex vivo* wektorem retrowirusowym, wnoszącym prawidłowy gen *ADA*. Kolejnym przykładem leku genowego zatwierdzonego przez Agencję Żywności i Leków (ang. *Food and Drug Administration*, FDA), z przeznaczeniem do stosowania u pacjentów okulistycznych jest lek Luxturna (*Voretigene neparvovec-rzyl*, Spark Therapeutics) [20]. Lek oparty jest na wektorologii rAAV: formułacja iniekcyjna zawiera rAAV2 z prawidłową sekwencją genu *RPE65* kodującego białko RPE65 (izomerohydrolaza syntetyzowana przez nabłonek barwnikowy siatkówki; ang. *retinal pigment epithelium*) pełniące kluczową rolę w projekcji wzrokowej. Dysfunkcja genu *RPE65* jest przyczyną ślepoty u osób z zespołem Lebera. Lek przewidziany jest do podań podsiatkówkowych. Ponadto, w ostatnim czasie EMA wyraziła pozytywną opinię o dwóch lekach genowych (Kymriah, Yescarta) stosowanych w nowotworach krwi (tabela 2), zatwierdzonych przez FDA w 2017 r. [20, 21].

Tabela 2. Preparaty genowe w leczeniu

Lek	Substancja czynna	Formułacja, dawka	Zastosowanie, aplikacja terapeutyczna	Podmiot odpowiedzialny	Ref.
Glybera	<i>Alipogene tiparvovec</i> rAAV2/1/LPL	Roztwór do iniekcji domięśniowych, 3×10 ¹² kopi genu/ml	Rodzinny niedobór lipazy lipoproteinowej, LPLD	UniQure	[12]
Strimvelis	Autologiczna frakcja komórek CD34+ transdukowanych <i>ex vivo</i> wektorem retrowirusowym kodującym ADA	Zawiesina komórek do infuzji dożylnych, 1–10×10 ⁶ komórek/ml	Ciężki złożony niedobór odporności w wyniku niedoboru deaminazy adenozynowej, ADA–SCID	GlaxoSmithKline	[19]
Luxturna	<i>Voretigene neparvovec-rzyl</i> rAAV2/RPE65	Zawiesina do iniekcji podsiatkówkowych, 5×10 ¹² kopi genu/ml	Dystrofia siatkówki związana z mutacją genu <i>RPE65</i>	Spark Therapeutics	[20]
Kymriah	<i>Tisagenlecleucel</i> Autologiczna frakcja limfocytów T transdukowanych <i>ex vivo</i> wektorem lentivirusowym kodującym chimeryczny receptor antygenowy (ang. <i>chimeric antigen receptor</i> , CAR)	Zawiesina komórek do infuzji dożylnych, 1,2×10 ⁵ –6×10 ⁶ komórek/kg masy ciała	Nawrotowa ostra białaczka limfoblastyczna (ang. <i>acute lymphoblastic leukemia</i> , ALL), chłoniak rozlany z dużych limfocytów B (ang. <i>diffuse large B-cell lymphoma</i> , DLBCL)	Novartis Pharmaceuticals	[21]
Yescarta	<i>Axicabtagene ciloleuce</i> Autologiczna frakcja limfocytów T transdukowanych <i>ex vivo</i> wektorem retrowirusowym kodującym chimeryczny receptor antygenowy (ang. <i>chimeric antigen receptor</i> , CAR)	Zawiesina komórek do infuzji dożylnych, 0,4–2×10 ⁶ komórek/kg masy ciała	Chłoniak rozlany z dużych limfocytów B, pierwotny chłoniak śródpiersia z dużych limfocytów B (ang. <i>primary mediastinal large B-cell lymphoma</i> , PMBCL)	Kite Pharma	[22]

Podsumowanie

Obecność leków genowych w leczeniu wskazuje na dynamiczny rozwój strategii transferu genów. Postęp widoczny jest w badaniach eksperymentalnych i klinicznych ukierunkowanych zarówno na odkrywanie genów o potencjale terapeutycznym, jak i zmierzających w kierunku projektowania i przygotowywania nowych postaci farmaceutycznych dla klonowanych genów. Charakter, postać formułacji farmaceutycznych dostępnych w badaniach podstawowych i klinicznych oddają stan funkcjonalny preparatów genowych i ich dostępność bezpośrednio dla pacjenta. Obecność w leczeniu uniwersalnej substancji czynnej – DNA – może zdecydowanie rozszerzyć znaczenie i możliwości klasycznej receptury aptecznej.

Praca powstała w zakresie realizacji grantu NCBiR (Strategmed1/233264/4/NCBR/2014, MentorEYE).

otrzymano: 2018.09.25 · zaakceptowano: 2018.10.15

Piśmiennictwo

1. Blaese R.M., Culver K.W., Miller A.D., Carter C.S., Fleisher T., Clerici M., Shearer G., Chang L., Chiang Y., Tolstoshev P., Greenblatt J.J., Roesnberg S.A., Klein H., Berger M., Mullen C.A., Ramsey W.J., Muul J., Morgan R.A., Anderson W.F.: T lymphocyte-directed gene therapy for ADA-SCID: initial trial results after 4 years. *Science*. 1995, 270: 475–480.
2. Naldini L.: Gene therapy returns to centre stage. *Nature*. 2015, 526(7573): 351–360.
3. Liu S., Romano V., Steger B., Kaye S.B., Hamill K.J., Willoughby C.E.: Gene-based antiangiogenic applications for corneal neovascularization. *Surv Ophthalmol*. 2018, 63: 193–213.
4. Malecki M., Kolsut P., Proczka R.: Angiogenic and antiangiogenic gene therapy. *Gene Ther*. 2005, 12: 159–169.
5. Kukula K., Chojnowska L., Dądrowski M., Witkowski A., Chmielek Z., Skwarek M., Kądziała J., Teresińska A., Malecki M., Janik P., Lewandowski Z., Kłopotowski M., Wnuk J., Rużyłło W.: Intramyocardial plasmid-encoding human vascular endothelial growth factor A165/basic fibroblast growth factor therapy using percutaneous transcatheter approach in patients with refractory coronary artery disease (VIF-CAD). *Am Heart J*. 2011, 161: 581–589.
6. Gene Therapy Clinical Trials Worldwide, Provided by the Journal of Gene Medicine (stan z 16.09.2018). <http://www.abedia.com/wiley/index.html>.
7. Hoggan M.D., Blacklow N.R., Rowe W.P.: Studies of small DNA viruses found in various adenovirus preparations: physical, biological, and immunological characteristics. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1966, 55: 1467–1474.
8. Lipiec A., Malecki M., Hajdukiewicz K.: Serotypy wirusów związanych z adenowirusami. *Post Bioch*. 2009, 55: 95–102.
9. Wang J., Faust S.M., Rabinowitz J.E.: The next step in gene delivery: Molecular engineering of adeno-associated virus serotypes. *J Mol Cell Cardiol*. 2011, 50(5): 793–802.
10. Bainbridge J.W., Mehat M.S., Sundaram V., Robbie S.J., Barker S.E., Ripamonti C., Georgiadis A., Mowat F.M., Beattie S.G., Gardner P.J., Feathers K.L., Luong V.A., Yzer S., Balaggan K., Viswanathan A., de Ravel T.J., Casteels I., Holder G.E., Tyler N., Fitzke F.W., Weleber R.G., Nardini M., Moore A.T., Thompson D.A., Petersen-Jones S.M., Michaelides M., van den Born L.L., Stockman A., Smith A.J., Rubin G., Ali R.R.: Long-term effect of gene therapy on Leber's congenital amaurosis. *N Engl J Med*. 2015, 372(20):1887–1897.
11. Georgiadis A., Duran Y., Ribeiro J., Abelleira-Hervas L., Robbie S.J., Sünkel-Laing B., Fourali S., Gonzalez-Cordero A., Cristante E., Michaelides M., Bainbridge J.W., Smith A.J., Ali R.R.: Development of an optimized AAV2/5 gene therapy vector for Leber congenital amaurosis owing to defects in RPE65. *Gene Ther*. 2016, 23(12): 857–862.
12. Charakterystyka Produktu Leczniczego Glybera https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20160512134907/anx_134907_pl.pdf [dostęp: 09.2018].
13. European Pharmacopoeia 6, Strasbourg: Council of Europe, 2007.
14. Farmakopea Polska VIII. Warszawa: Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, 2009.
15. Farmakopea Polska XI. Warszawa: Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, 2017.
16. Aly A.E., Waszczak B.L.: Intranasal gene delivery for treating Parkinson's disease: overcoming the blood-brain barrier. *Expert Opin Drug Deliv*. 2015, 12(12): 1923–1941.
17. Podolska K., Stachurska A., Hajdukiewicz K., Malecki M.: Gene therapy prospects-intranasal delivery of therapeutic genes. *Adv Clin Exp Med*. 2012, 21(4): 525–34.
18. Hajdukiewicz K., Stachurska A., Proczka R., Malecki M.: Study of angiogenic gene ointments designed for skin neovascularization. *Med Wieku Rozwoj*. 2013, 17: 31–36.
19. Charakterystyka Produktu Leczniczego Strimvelis https://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2016/20160526134818/anx_134818_pl.pdf [dostęp: 09.2018].
20. Informacje dotyczące produktu leczniczego Luxturna <https://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/CellularGeneTherapy-Products/ApprovedProducts/UCM589541.pdf> [dostęp: 09.2018].
21. Charakterystyka Produktu Leczniczego Kymriah http://ec.europa.eu/health/documents/community-register/2018/20180823142108/anx_142108_pl.pdf [dostęp: 09.2018].
22. Charakterystyka Produktu Leczniczego Yescarta http://www.ema.europa.eu/docs/pl_PL/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/004480/WC500254958.pdf [dostęp: 09.2018].