

**DOLNOŚLĄSKIE CENTRUM ZAAWANSOWANYCH
TECHNOLOGII
REGIONALNY PROGRAM NAUKOWO-GOSPODARCZY
„BIOTECH”**

Praca realizowana w ramach projektu pt.: Transfer wiedzy pomiędzy sferą B+R a gospodarką Dolnego Śląska poprzez tworzenie regionalnych sieci naukowo – gospodarczych

Opracował:

Prof. dr hab. Antoni Polanowski
Wydział Biotechnologii U.Wr.

Wrocław 2006/7

SPIS TREŚCI

1. Wykaz ekspertyz.....	3
2. Streszczenie.....	4
3. Wstęp.....	7
4. Biotechnologiczne metody wytwarzania leków i ich postaci	8
5. Uzasadnienie merytoryczne opracowania (tematów badawczych).....	21
6. Podmioty współpracujące	33
7. Wyszczególnienie i opis tematów i zadań gotowych do wdrożenia ze wskazaniem ewentualnego miejsca wdrożenia	38
8. Wyszczególnienie problemów, ważnych społecznie, do wspólnego rozwiązania przez pracowników nauki z podmiotami gospodarczymi (bądź uzasadnienie projektu budowy odpowiedniego zaplecza R&D) łącznie z założeniami projektów badawczych.....	38
9. Możliwości kształcenia w zakresie opracowywanej tematyki badawczo--rozwojowej	39
10. Wnioski.....	40
11. Lista zbiorcza projektów proponowanych do finansowania.....	41
12. Dolnośląskie Centrum Diagnostyczne	42
13. Uzasadnienie merytoryczne opracowania (tematów badawczych)	44
14. Identyfikacja grzybów halucynogennych	51
15. Substancje aktywne występujące w grzybach.....	53
16. Podmioty współpracujące zdolne do współdziałania.....	56
17. Wyszczególnienie i opis tematów i zadań gotowych do wdrożenia ze wskazaniem ewentualnego miejsca wdrożenia	59
18. Wyszczególnienie problemów, ważnych społecznie, do wspólnego rozwiązania przez pracowników nauki z podmiotami gospodarczymi (bądź uzasadnienie projektu budowy odpowiedniego zaplecza R&D) łącznie z założeniami projektów badawczych.....	61
19. Możliwości kształcenia w zakresie opracowywanej tematyki	62
20. Wnioski	63
21. Biotechnologia żywności i pasz	64
22. Uzasadnienie merytoryczne opracowania (tematów badawczych)	64
23. Biosynteza kwasów cytrynowego, bursztynowego i drożdży.....	67
24. Podmioty współpracujące	70
25. Wyszczególnienie i opis tematów i zadań gotowych do wdrożenia ze wskazaniem ewentualnego miejsca wdrożenia	71
26. Wyszczególnienie problemów, ważnych społecznie, do wspólnego rozwiązania przez pracowników nauki z podmiotami gospodarczymi (bądź uzasadnienie projektu budowy odpowiedniego zaplecza R&D) łącznie z założeniami projektów badawczych.....	72
27. Możliwości kształcenia w zakresie opracowywanej tematyki.....	73
28. Wnioski.....	74
29. Agrobiotechnologia i Biotechnologia Ochrony Środowiska	75
30. Monitoring zanieczyszczeń środowiskowych.....	79
31. Potencjał naukowo-badawczy.....	90

Podstawą opracowania niniejszego programu były niżej wymienione ekspertyzy stanowiące nieodłączną jego część: oraz sprawozdania z działalności naukowej następujących Instytutów Uniwersytetu Wrocławskiego: Mikrobiologii, autorstwa prof. dr. hab. Stanisława Ułaszewskiego, Biologii Roślin, autorstwa prof. dr. hab. Grażyny Kłobus oraz Zoologii, autorstwa prof. dr. hab. Janusz Kubrakiewicza

**POTENCJAŁ ŚRODOWISKA W ZAKRESIE UZYSKIWANIA
FARMACEUTYKÓW I AGROCHEMIKALIÓW ZE ŹRÓDEŁ
NATURALNYCH**

**Aleksander A. Kubis, Arkadiusz Kozubek, Eliza Lamer-Zarawska,
Marek Langner, Antoni Polanowski i Aleksander F. Sikorki**

**KONCEPCJA MODELOWEGO DOLNOŚLĄSKIEGO
CENTRUM DIAGNOSTYCZNEGO WYKORZYSTUJĄCEGO
INNOWACYJNE TECHNIKI DIAGNOSTYCZNE**

**Piotr Dziegiel, Julia Bar, Tadeusz Dobosz, Maciej Ugorski, Maciej Zabel,
Michał Zimecki**

**IDENTYFIKACJA GRZYBÓW HALUCYNOGENNYCH ZE WSKAZANIEM
NAJPOWSZECHNIEJ STOSOWANYCH METOD OZNACZANIA
SUBSTANCJI HALUCYNOGENNYCH Z GRZYBÓW WE KRWI**

Izabela Jasicka-Misiak, Piotr Młynarz, Paweł Kafarski

**UŻYCIĘ ODPADÓW ROLNICZYCH DO PRODUKCJI UŻYTECZNYCH
SUBSTANCJI CHEMICZNYCH W PROCESACH ZIELONEJ CHEMII I
BIAŁEJ BIOTECHNOLOGII – OCENA MOŻLIWOŚCI NAUKOWO-
BADAWCZYCH I WDROŻENIOWYCH**

Waldemar Rymowicz, Maria Wojtatowicz, Anna Rodziewicz

**MONITORING ZANIECZYSZCZEŃ ŚRODOWISKOWYCH W ŁAŃCUCHU
POKARMOWYM – POTENCJAŁ NAUKOWY, BADAWCZY I
WDROŻENIOWY”**

Sebastian Opaliński, Zbigniew Dobrzyński, Jerzy Zwoździak

STRESZCZENIE

Zintegrowane działania prowadzone w Regionie obejmują sferę badań o charakterze podstawowym i aplikacyjnym jak i sferę edukacji w zakresie biotechnologii. Prace badawczo-aplikacyjne prowadzone są w następujących grupach tematycznych: 1) biotechnologiczne metody wytwarzania leków i ich postaci; 2) centrum diagnostyczne; 3) biotechnologia żywności i pasz; 4) agrobiotechnologia i biotechnologia w ochronie środowiska

Obecnie powraca się do poszukiwań substancji leczniczych w różnych surowcach naturalnych oraz wykorzystywania, z pomocą technologii chemicznych bibliotek kombinatoryjnych, szkieletu substancji naturalnych do produkcji związków o właściwościach terapeutycznych. Dolnośląskie środowisko naukowe stanowi znaczący potencjał w dziedzinie opracowywania i wdrażania nowych leków opartych na źródłach i surowcach naturalnych. Należą do nich nie tylko substancje czynne pochodzące, najczęściej z roślin, ale także polimery hydrofilowe oraz lipidy stanowiące poważną bazę do konstrukcji nowych postaci znanych leków opartych na nowoczesnych, inteligentnych nośnikach, które poprawiają lub nawet czynią akceptowalnymi właściwości terapeutyków. Szereg placówek naukowych wrocławskich uczelni, posiada znaczący dorobek w zakresie badań białek o znaczeniu terapeutycznym bądź przemysłowym, do otrzymania których zastosowano nowoczesne metody modelowania molekularnego. Niektóre z nich, w oparciu o własne metody preparatywne, mogą być otrzymywane w skali wielkolaboratoryjnej bądź produkcyjnej z przeznaczeniem do leczenia m.in. rozedmy płuc, chorób układu krążenia, nowotworowych, Alzheimerera czy paradontozy. Inne (acylaza penicylanowa, lakkaza i trypsyna, α - i β -amylaza, lipaza) mogą być wykorzystane w reaktorach różnej konfiguracji w przemyśle farmaceutycznym i spożywczym oraz w produkcji biosensorów. Na wymienienie zasługują badania nad zastosowaniem technologii liposomowej do opracowania oryginalnych farmaceutycznych postaci leków przeciwnowotworowych, przeciwzapalnych, a także antybiotyków w celu poprawienia ich efektywności, stabilności i trwałości.

Na podstawie badań epidemiologicznych ustalono, że choroby układu krążenia oraz choroby nowotworowe są przyczyna około 75% wszystkich zgonów w Polsce. Istnieje zatem pilna potrzeba stworzenia systemu zapobiegania oraz wczesnej diagnostyki ww. chorób celem poprawienia wskaźników zdrowotności populacji

zamieszkującej Dolny Śląsk. Diagnostyka molekularna to niezwykle dynamicznie rozwijająca się dziedzina w medycynie i wydaje się nieodzownym stworzenie na terenie Województwa Dolnośląskiego ośrodka o charakterze naukowym i usługowym, którego celem będzie opracowanie i wdrażanie innowacyjnych technik diagnostycznych z zakresu biologii molekularnej i genetyki do wczesnego rozpoznawania i monitorowania chorób układu krążenia oraz zmian nowotworowych. Potencjał naukowy akademickiego ośrodka we Wrocławiu gwarantuje merytoryczne zaplecze w dziedzinie zaawansowanej biologii molekularnej. Ośrodki naukowe zrzeszone w Dolnośląskim Centrum Zaawansowanych Technologii (DCZT): Uniwersytet Wrocławski, Akademia Medyczna, Uniwersytet Przyrodniczy, Politechnika Wroclawska oraz wiele innych, w tym podmioty gospodarcze, dają gwarancje powodzenia zamierzonego przedsięwzięcia. Ta dziedzina badań znajduje bardzo mocne merytoryczne wsparcie działalnością Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu. Wśród zróżnicowanego zakresu prowadzonych przez ten Instytut badań wyróżnić należy działanie Ośrodka Terapii Fagowej, którego celem jest eksperymentalne leczenie przewlekłych, objawowych, opornych na antybiotykoterapię zakażeń bakteryjnych.

Ważnym problemem stojącym przed Centrum jest sprawa diagnozowania uzależnień, szczególnie młodzieży, od różnych naturalnie występujących związków chemicznych. W ciągu jedenastu lat prawie pięciokrotnie powiększyła się grupa uczniów, którzy próbowali nielegalnych substancji odurzających. Wynika stąd pilna potrzeba określenia rodzaju i zawartości związków halucynogennych dostępnych w źródłach biologicznych z terenu Polski oraz metod ich identyfikacji we krwi. Obok tradycyjnych związków wydzielanych z konopi indyjskich i ruteckich (marihuana i haszysz), amfetaminy i *Ecstasy* coraz większym popytem cieszą się grzyby halucynogenne. Rejon Karkonoszy, to jeden z głównych regionów gdzie grzyby te są zbierane. Istnieje zatem potrzeba zdefiniowania tego typu grzybów ze wskazaniem najczęściej używanych, opracowanie przewodnika dla potrzeb policji, identyfikacja głównych składników odpowiedzialnych za efekty narkotyczne, opracowanie metod standardowego oznaczania poziomu tych substancji w materiale biologicznym, w osoczu i moczu (w tym i metod immunologicznych - tzw. testów paskowych).

W obrębie biotechnologii przemysłowej ważną dziedziną jest biotechnologia żywności prowadzona głównie w Uniwersytecie Przyrodniczym we współpracy z innymi uczelniami wrocławskimi. Do badań o znaczącym zaawansowaniu aplikacyjnymi należą prace dotyczące: -biotechnologicznego wykorzystanie różnych

gatunków drożdży do biosyntezy kwasu cytrynowego na substratach węglowodanowych i odpadach, w tym frakcji glicerynowej, z produkcji biopaliw; - produkcja utrwalonych form szczepionkowych z przeznaczeniem do przyspieszenia dojrzewania sera i produkcji jego nowych asortymentów; - optymalizacja i intensyfikacja procesu fermentacji alkoholowej w aspekcie produkcji etanolu jako biopaliwa;- wykorzystania biologicznie aktywnych substancji treści jaja dla celów nutraceutycznych i biomedycznych (cystatyny i lizozym, fosfolipidy);- oddzielną grupę tematyczną w tej sferze zagadnień stanowią badania nad biotransformacjami mikrobiologicznymi i chemiczną syntezą związków biologicznie czynnych.

Agrobiotechnologię można zdefiniować jako dziedzinę, która w oparciu o metody biotechnologiczne, wytwarza prototypy ulepszonych genetycznie roślin i bakterii o podwyższonych cechach użytkowych. Transgeniczne rośliny i bakterie wykorzystuje się w remediacji zdegradowanych chemicznie gruntów, do produkcji białek o znaczeniu terapeutycznym, oraz do produkcji „jadalnych szczepionek” dla ludzi i zwierząt.

Wykorzystując metody inżynierii genetycznej uzyskano m. in.: - zmodyfikowane genetycznie ziemniaki o podwyższonej odporności roślin na infekcje fitopatogenami oraz zwiększonej ilości antyoksydantów i podwyższonym poziomie dopaminy w bulwach; - zmodyfikowany genetycznie len który posiadał włókna o zwiększonej sprężystości i wytrzymałości dla potrzeb przemysłu tekstylnego; a ponadto zmienione włókna wyposażone zostały w antyoksydanty z przeznaczeniem dla medycyny (nici chirurgiczne, opatrunki).

Ważnym problem mającym istotne znaczenie w produkcji „zdrowej” żywności jest poziom koncentracji najważniejszych ksenobiotyków, występujących w środowisku naturalnym (powietrze, woda, gleba, rośliny). Należą do nich m.in.: pierwiastki toksyczne (w tym tzw. metale ciężkie), toksyczne gazy, pestycydy, wielopierścieniowe węglowodory aromatyczne, polichlorowane bifenyle, dioksyne, azotany i azotyny, radionuklidy i inne. Sposoby ich monitorowania oraz detoksykacji uznać należy za kluczowe w eliminacji ich negatywnego wpływu na zdrowie i produktywność zwierząt, a także kumulację w produktach pochodzenia zwierzęcego (mleko, jaja, mięso, tłuszcz, wełna, miód), stwarzając w ten sposób również zagrożenie dla zdrowia człowieka.

WSTĘP

Działania prowadzone w ramach Dolnośląskiego Centrum Zaawansowanych Technologii (DCZT) w zakresie regionalnej sieci naukowo-gospodarczej: „Biotechnologia i zaawansowane technologie medyczne (*Biotech*)” mają na celu przede wszystkim integrację środowiskowych zespołów badawczych i stworzenie warunków współpracy instytucji naukowych z podmiotami gospodarczymi w celu wykorzystania badań naukowych w unowocześnianiu przedsiębiorstw wytwórczych i rozwoju ich konkurencyjności.

Biotechnologia jest jedną z najdynamiczniej rozwijających się dziedzin nauki i gospodarki w Europie i świecie. Prognozy zapotrzebowania na specjalistów w najbliższych latach przewidują, że biotechnolodzy obok informatyków i absolwentów medycyny stanowić będą najbardziej poszukiwaną grupę zawodową. Miasto Wrocław ze swymi 5 uczelniami kształcącymi biotechnologów różnych specjalności (Uniwersytet, Politechnika, Uniwersytet Przyrodniczy, Akademia Medyczna, Akademia Ekonomiczna) to prężny ośrodek o ugruntowanej tradycji akademickiej i dobrze rozwiniętej współpracy jednostek badawczych, które znakomicie wzmacnia Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN. Osiągnięcia naukowe ośrodków Regionu odpowiadają standardom światowym stając się gwarantem efektywności transferu wiedzy ze sfery B+R do gospodarki tworząc równocześnie warunki do rozwoju badań o charakterze aplikacyjnym.

Szereg placówek naukowych posiada już określone doświadczenie w prowadzeniu współpracy z podmiotami gospodarczymi krajowymi i zagranicznymi. Przykładem są wspólne badania o charakterze aplikacyjnym prowadzone np. przez Wydział Biotechnologii U.Wr. i Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN z firmami farmaceutycznymi nad technologią postaci leków (Centrum Agregatów Lipidowych) i nad preparatem Colostrinin[®] do leczenia choroby Alzheimera (ReGen Plc Londyn). Taką współpracę prowadzi również Katedra Technologii Produktów Pochodzenia Zwierzęcego i Zarządzania Jakością U.P. z zakładami przemysłu spożywczego oraz szereg innych placówek naukowych.

Zintegrowane działania prowadzone w Regionie obejmują sferę badań o charakterze podstawowym i aplikacyjnym jak i sferę edukacji w zakresie biotechnologii. Prowadzone prace badawczo-aplikacyjne można ująć w następujące grupy tematyczne:

- biotechnologiczne metody wytwarzania leków i ich postaci,

- centrum diagnostyczne,
- biotechnologia żywności i pasz,
- agrobiotechnologia,
- biotechnologia w ochronie środowiska.

Strategiczne kierunki działania w zakresie biotechnologii koncentrują się wokół problemów zdrowotności i komfortu życia i wykorzystują tematykę badawczą, którą rozwinęli w środowisku wybitni pracownicy nauki, legitymujący się dorobkiem powszechnie znanym w literaturze światowej. Prace ich publikowane są w renomowanych czasopismach o wysokim „współczynniku uznawalności” (IF) z częstotliwością cytowań przekraczającą w szeregu przypadkach 1000. Są wśród nich autorzy publikacji zwanych „słynnymi”, cechujących się ponad 100 krotną częstotliwością cytowań. Środowisko naukowe Wrocławia wydaje dwa angielskojęzyczne, międzynarodowe specjalistyczne czasopisma, znajdujące się na tzw. Liście Filadelfijskie, mianowicie *Cellular and Molecular Biology Letters*, wydawane przez Instytut Biochemii i Biologii Molekularnej Uniwersytetu oraz) i *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis* ponadto *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej* wydawane przez IITD PAN.

Biotechnologiczne metody wytwarzania leków i ich postaci

Dolnośląskie środowisko naukowe stanowi znaczący potencjał w dziedzinie opracowywania i wdrażania nowych leków opartych na surowcach naturalnych. Należą do nich zarówno białkowe substancje czynne pochodzenia roślinnego, zwierzęcego lub mikrobiologicznego jak i polimery hydrofilowe oraz lipidy stanowiące poważną bazę do konstrukcji nowych postaci znanych leków opartych na nowoczesnych, inteligentnych nośnikach poprawiających lub wręcz uzdatniających stosowanie szeregu terapeutyków.

Poszukiwania nowych leków oraz formułowanie ich nowych postaci jest wynikiem postępu w rozwoju nowych technologii. Do najważniejszych, wprowadzonych w latach dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku należą technologie: syntetycznych „bibliotek chemicznych”, chemii kombinatoryjnej oraz wysoko i ultra-wysoko wydajnego testowania (high-throughput and ultra-high-throughput screening).

Pomimo tego z wielu względów natury praktycznej i ekonomicznej, firmy biofarmaceutyczne nie zaprzestają poszukiwań substancji leczniczych zawartych w surowcach naturalnych. Co więcej, obecnym trendem w pracach nad nowymi lekami przy pomocy technologii chemicznych bibliotek kombinatoryjnych jest naśladowanie natury. Zamiast syntetyzować miliony związków konstruuje się zogniskowane biblioteki, których istotą jest szkielet substancji naturalnej, który następnie jest odpowiednio modyfikowany w laboratoriach badawczych [McGee, P. *Drug Discovery & Development*, 9 (5) 18-22, 2006]. Przykładem jest taksol, alkaloid cisa występującego w rejonie Pacyfiku (skuteczny czynnik przeciwnowotworowy), który doczekał się wielu modyfikacji chemicznych. Dzisiejszą wartość sprzedaży jego semisyntetycznej pochodnej, paklitakselu ocenia się na 1,6 miliarda dolarów. Podobnie, naturalne antybiotyki (np. tetracyklina, penicylina) znane od dziesięcioleci są obiektem ciągłych modyfikacji chemicznych dzięki czemu wprowadzane są do produkcji coraz to nowe, ulepszone ich generacje.

Jakkolwiek związki występujące w naturze są w zasadzie „gotowe”, to jednak uzyskanie ich na skalę komercyjną wymaga wielu zabiegów badawczo-rozwojowych. W tej części opracowania przedstawiono krótki przegląd niektórych osiągnięć dolnośląskiego środowiska naukowego w dziedzinie poszukiwania nowych substancji leczniczych, w tym suplementów diety, możliwości ich modyfikacji i uzyskiwania na skalę przemysłową, jak również wykorzystania polimerów i lipidów modyfikowanych i niemodyfikowanych jako nośników substancji leczniczych w udoskonalonych postaciach leków nowej generacji.

Katedra Biologii i Botaniki Farmaceutycznej z Ogrodem Roślin Leczniczych Wydziału Farmaceutycznego A. M. od lat prowadzi badania nad wprowadzeniem do upraw przemysłowych na teren Polski roślin leczniczych pochodzących z innej strefy klimatycznej a w szczególności roślin chińskich. Najbardziej zaawansowane badania naukowe ośrodka wrocławskiego dotyczą zaaklimatyzowanej i wprowadzonej do uprawy przemysłowej w Polsce chińskiej rośliny leczniczej – tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis*, Georgi). Rozdrobniony korzeń tej rośliny (2-3 letniej) – *Scutellariae baicalensis radix* jest surowcem farmakopealnym w Chinach i Japonii. (Leki Współczesnej Terapii” J. K. Podlewski, A. Chwalibogowska-Podlowska, wyd. XVII, Warszawa, 2005). Jest to najbogatszy surowiec flawonoidowy zawierający w korzeniu 15 do ponad 25% aktywnych biologicznie flawonoidów wśród których dominują lipofilne flawony: bajkalina (7-0-β-D-glukoronid bajkaleiny) występująca w

największej ilości (przeciętnie 12-17%), jej aglikon – bajkaleina (5,6,7-trihydroksyflawon) oraz wogonozyd (7-0- β -D-glukoronid wogoniny) i jego aglikon wogonina (5,7-dihydroksy-8-metoksyflawon). Związki te wykazują wielorakie działanie terapeutyczne w tym: antyoksydacyjne i przeciwwolnorodnikowe, przeciwmiażdżycowe i przeciwzkrzepowe, przeciwbakteryjne, przeciwwirusowe (wirusy grypy, zapalenia płuc, zapalenia wątroby typu B, wirusy Epstein-Barra, Burkitta i in.) i przeciwretrowirusowe (wirusy HIV, wirusy zapalenia wątroby typu C), przeciwgrzybicze i przeciwnowotworowe (białaczki, nowotwory prostaty). Efekt przeciwzapalny wyciągów z tarczycy bajkalskiej często porównywany jest z aktywnością przeciwzapalną fenylobutazonu, indometacyny czy celekoksibu – znanych niesteroidowych leków przeciwzapalnych.

Oprócz wymienionych wyżej efektów farmakologicznych, wyciągi z korzenia tarczycy bajkalskiej lub wyizolowane z niego flawonoidy wykazują ponadto działanie na ośrodkowy układ nerwowy, w szczególności hamujące rozwój chorób degeneracyjnych mózgu (choroba Alzheimera) i potraumatycznych stanów uszkodzenia mózgu. Wśród innych badań tego zespołu na szczególną uwagę zasługują prace związane z poszukiwaniem w roślinach substancji polisacharydowych, analogów heparyn pochodzenia zwierzęcego, używanych powszechnie we współczesnej kardiologii (w chorobie zakrzepowo-zatorowej naczyń). Związki o właściwościach podobnych do heparyny wykryto u wielu roślin. Szczególnie bogatą w polimery o charakterze antykoagulantów okazało się powszechnie występujące w naszym Kraju przymiotno kanadyjskie, *Conyza canadensis*(= *Erigeron canadense*).

Kilka placówek naukowych wrocławskich uczelni, na czele z Uniwersytetem będącym pionierem w tej dziedzinie, posiada znaczący dorobek w zakresie badań podstawowych i aplikacyjnych nad enzymami proteolitycznymi i ich inhibitorami. Należą one do grupy tych biopreparatów, które już znalazły zastosowanie w leczeniu niektórych chorób (np. inhibitor trypsyny typu Kunitza, znany jako Trasyloł[®]). Duża tradycja badawcza w tej dziedzinie stwarza wyjątkowe możliwości integracyjne środowiska w prowadzeniu szerokiego wachlarza prac nad zastosowaniem proteaz i ich inhibitorów w medycynie i biotechnologii. W oparciu m.in. o własne metody oczyszczania białek jesteśmy w stanie otrzymywać cały szereg proteinaz zarówno serynowych jak i cysteinowych oraz ich inhibitorów z materiału zwierzęcego i roślinnego. Każde białko może być otrzymywane w stanie wolnym lub

immobilizowanym z przeznaczeniem dla diagnostyki medycznej lub weterynaryjnej i celów biotechnologicznych. Metody umożliwiają otrzymywanie w skali produkcyjnej niektórych enzymów i inhibitorów o znaczeniu terapeutycznym i przemysłowym (szereg patentów) w tym :

1. alfa-1-antytrypsyny z krwi ludzkiej do leczenia rozedmy płuc oraz antytrypsyn z krwi zwierząt do badań podstawowych (zgłoszenie patentowe),
2. różnych inhibitorów z materiału biologicznego z przeznaczeniem do badań podstawowych, analityki klinicznej, terapii (np. zaburzeń krzepnięcia krwi, chorób przyzębia) lub o aktywności bakteriocydnej jako substytutu antybiotyków z możliwością zastosowań zarówno terapeutycznych jak i w ochronie surowców i produktów spożywczych. Ponadto zespół wykorzystując nowoczesne metody stosowane w biotechnologii, w tym biblioteki fagowe do selekcji białek i peptydów o pożądanych właściwościach biologicznych, otrzymuje szereg mutantów inhibitorów enzymów trypsyno-podobnych (BPTI i CMTI I), z których wiele wykazuje mocne i specyficzne hamowanie proteaz serynowych,
3. proteinaz z leukocytów krwi ludzkiej (elastaza i katepsyna G), z przeznaczeniem do badań podstawowych i diagnostyki klinicznej. Enzymy te należące do serprocydyn pełnią ważną funkcję w czasie niszczenia przez granulocyty patogennych mikroorganizmów. Degradują one białka patogenów oraz jako bakteriocyny wiążą się z błonami bakteryjnymi powodując ich fragmentację. Serprocydyny są również zaangażowane w mechanizmy regulacji stanu zapalnego i stanowią „wzór” do syntezy syntetycznych peptydów antybakteryjnych przerywających ciągłość błon komórek patogenów.

Bardzo zaawansowane są prace nad wykorzystaniem nowoczesnych metod biotechnologii oraz modelowania molekularnego do projektowania modyfikowanych białek o aktywności biologicznej, które charakteryzują się podwyższoną swoistością i/lub stabilnością oraz wzmożoną aktywnością biologiczną. Przykładem są:

- a. konstrukcja nowych efektywnych inhibitorów trombiny umożliwiających bardziej racjonalne i skuteczne leczenie chorób układu krążenia,
- b. badania nad doublekortyną i podobnymi do niej kinazami w celu poznania ich roli w generowaniu wrodzonych chorób mózgu - lissencefalii, w celu zaproponowania ewentualnych sposobów ich leczenia,

- c. badania nad białkiem FGF-1 - silnym mitogenem biorącym udział w stymulacji syntezy DNA, odgrywającym kluczową rolę w morfogenezie, angiogenezie oraz zabliznianiu się ran. Poznanie mechanizmu transbłonowego transportu i miejsc oddziaływania wewnątrz komórki tego czynnika oraz jego mutantów otrzymanych metodami inżynierii białka, pozwoliło na zaprojektowanie, otrzymanie i scharakteryzowanie wariantów ludzkiego FGF-1 wykazujących przedłużone działanie biologiczne i podwyższoną stabilność.

Kolejnym ważnym z medycznego punktu widzenia zagadnieniem jest otrzymanie preparatów zdolnych do leczenia powszechnie występujących u ludzi i zwierząt chorób przyzębia wywołanych najczęściej przez czarno-pigmentowane beztlenowe bakterie *Porphyromonas gingivalis*. Czynnikiem wirulentnym u tych bakterii są głównie specyficzne proteiny sulfhydrylowe a elementem decydującym o ich rozwoju jest dostępność organicznych związków żelaza. Stanowią one około 85 % całkowitej aktywności proteolitycznej komórki *P. gingivalis* i obejmują dwa różniące się specyficznością enzymy mianowicie Arg-gingipainę i Lys-gingipainę. Enzymy, te, jak się uważa, odpowiadają za degradację immunoglobulin G i A, degradację czynników komplementu i wzmożenie przepuszczalności naczyń. Oba enzymy są niezwykle istotne dla komórki bakteryjnej ponieważ eliminując bariery obronne gospodarza, w tym osoczowe inhibitory enzymów proteolitycznych, umożliwiają jej kolonizację kieszonki przyzębnej. Badania wpływu cystatyn na rozwój mikroorganizmów wykazały, że zastosowanie owocystatyny, cystatyny C lub cystatyny S hamowało wzrost *P. gingivalis* lecz nie zaobserwowano inhibicji wzrostu bakterii Gram-ujemnych takich jak *E. Coli*, *P. aeruginose* ani drożdży *Candida albicans*. Cystatyny są jedną z głównych rodzin inhibitorów proteaz tiolowych a jej najlepiej poznanym przedstawicielem jest owocystatyna pochodząca z białka jaja kurzego. Oczyszczona owocystatyna może stać się bazą preparatów leczniczych naturalnego pochodzenia. Z materiału zwierzęcego wydzieliliśmy ponadto inhibitory białkowe zdolne do specyficznego hamowania zarówno Arg-gingipainy jak i Lys-gingipainy mogące stanowić podstawę leku na paradontozę. Opracowano metodę ich oczyszczania w skali makrolaboratoryjnej.

Bakterie *Porphyromonas gingivalis* do swego rozwoju wykorzystują z organizmu gospodarza obok aminokwasów również żelazo i pierścień porfirynowy, zatem zrozumienie mechanizmów przyswajania tych związków *in vivo* jest podstawą w planowaniu kolejnej strategii zapobiegania i leczenia infekcji. Opracowanie związków o

budowie chemicznej opartej na zmodyfikowanej strukturze pierścienia porfirynowego, w których żelazo zastąpiono innymi metalami, przyswajalnych przez bakterie *P. gingivalis*, może stanowić podstawę do opracowania nowych leków stosowanych w leczeniu chorób przyzębia.

W projektowaniu białek o znaczeniu terapeutycznym i ich syntezy metodami inżynierii genetycznej ważnym elementem jest umiejętność specyficznej glikozylacji. Modyfikacja ta nie występuje u bakterii, a jej przebieg u drożdży, roślin i zwierząt jest inny. Stwarza to istotne problemy w biotechnologii przy produkcji ludzkich glikoprotein o znaczeniu terapeutycznym w bakteryjnych, drożdżowych czy roślinnych systemach ekspresji. Aby poznać różnice w mechanizmach glikozylacji między poszczególnymi grupami systematycznymi prowadzone są intensywne badania nad przygotowaniem organizmów transgenicznych, głównie drożdży, zdolnych do ekspresji białka z glikozylacją identyczną z ludzkim wzorem.

Wśród ważnych problemów o znaczeniu podstawowym i aplikacyjnym, rozwiązywanych w ośrodku wrocławskim, są badania dotyczące biologii chorób nowotworowych. Ośrodek wrocławski jest wiodącym w kraju w badaniach nad kompleksami metali, w tym kompleksów wanadu (III) z aminokwasami, opracowanych na Wydziale Chemii naszego Uniwersytetu. Prace koncentrują się z jednej strony nad zastosowaniem tych związków w leczeniu chorób nowotworowych, jako środków kontrastowych i substancji łagodzących ból oraz syntezą nowych ligandów. Z drugiej dotyczą wyjaśnienia wpływu znanych jak i nowych leków przeciwnowotworowych na szkielet komórkowy a szczególnie jego elementy aktynowe. Specjalna uwaga jest skupiana na architekturze mikrofilamentów aktynowych zaangażowanych bezpośrednio w adhezję i migrację komórek nowotworowych w procesie wzrostu nowotworu i tworzeniu jego przerzutów a także w trakcie leczenia. Zagadnienia te rozwiązywane są przez Zespoły Uniwersytetu, Akademii Medycznej i Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN. Spośród szeregu kierunków intensywnie prowadzonych badań przez te same ośrodki, we współpracy z Instytutem Farmaceutycznym w Warszawie, na wymienienie zasługują prace nad wykorzystaniem witaminy D, przedstawiciela grupy hormonów steroidowych, w terapii nowotworowej. Interesuje nas zastosowania analogów witaminy D jako czynników różnicujących i regulujących wzrost komórek nowotworowych, szczególnie komórek leukemicznych. Pochodne witaminy D są wygodnym środkiem w klinicznej aplikacji. Jednym z zagadnień jest zrozumienie złożonego mechanizmu działania pochodnych witaminy D na poziomie komórkowym i

ich kooperatywności w działaniu z innymi lekami. Drugi kierunek to wybór właściwego typu nowotworu poddającego się takiej terapii.

Inny aspekt badań w zakresie biologii nowotworów dotyczy ich aparatu enzymatycznego. Badania mają na celu poznanie subkomórkowej lokalizacji i wewnętrznej struktury wieloskładnikowych kompleksów enzymatycznych zaangażowanych w uzyskiwanie energii w komórkach tkanki nerwowej, mięśniowej, w nabłonkach oddechowych oraz w nowotworach wywodzących się z tych komórek. Komórki transformowane nowotworowo posiadają specyficzny, różny od swoich komórek macierzystych, metabolizm energetyczny (glikoliza, glukoneogeneza itd.) umożliwiający im przeżycie i proliferację w warunkach charakteryzujących się niskim ciśnieniem parcjalnym tlenu. Dotychczasowe dane literaturowe oraz wstępne badania sugerują, iż w nowotworach następuje zarówno zmiana profilu izoenzymatycznego szlaków metabolizmu węglowodanów, jak i zmiana subkomórkowej lokalizacji enzymów zaangażowanych w uzyskiwanie i rozpraszanie energii: enzymy metabolizmu energetycznego wydają się tworzyć wieloskładnikowe kompleksy zlokalizowane w strukturach podbłonowych komórek raka. Taka lokalizacja procesu glikolizy może umożliwiać bardzo szybkie utlenianie wchłoniętej glukozy oraz ułatwiać usuwanie toksycznego produktu glikolizy – mleczanu. Kolokalizacja enzymów tworzących dane ciągi metaboliczne może ponadto znacznie zwiększać szybkość danego szlaku poprzez umożliwienie zajścia procesu tunelowania substratu. Ów specyficzny metabolizm nowotworów wydaje się być dobrym celem dla terapii przeciwnowotworowej (terapia genetyczna bądź „konwencjonalna” terapia związkami destabilizującymi specyficzne dla nowotworów interakcje pomiędzy odpowiednimi enzymami szlaków metabolizmu energetycznego). Poznanie roli enzymów przemian energetycznych w regulacji proliferacji i różnicowania komórek (w tym także w procesie powstawania i rozwoju nowotworów) oraz mechanizmów odpowiedzialnych za zwiększenie szybkości rozpraszania energii przez komórki nowotworowe może umożliwić opracowanie nie tylko prostego i taniego sposobu określania etapu rozwoju choroby nowotworowej, ale także skutecznych terapii przeciwnowotworowych. Prace prowadzone są wspólnie z Dolnośląskim Centrum Chorób Płuc we Wrocławiu.

W badaniach nad strukturą i funkcją szkieletu błony szczególnie interesującym jest mechanizm i rola fizjologiczna oddziaływań typu białko-lipid. Po raz pierwszy wykazano, że oddziaływania spektryny z niektórymi lipidami ulegają zahamowaniu przez ankiryne. Zmapowano miejsce wiązania lipidów w domenie wiązania ankiryny,

spektryny beta a obecnie trwają badania nad strukturą i biologiczną rolą miejsca wiązania lipidów w cząsteczce spektryny szczególnie w aspekcie jej roli i kinazy białkowej Cq w apoptozie indukowanej cytostatykami. W roku 2004 opisano po raz pierwszy, że spektryna oraz kinaza białkowa Cq zmieniają swoją lokalizację w komórkach pacjentów poddanych chemioterapii cytostatykami. Zjawisko to okazało się bardzo wczesnym objawem apoptozy komórek (nowotworowych i także normalnych) i może stać się podstawą testu diagnostycznego pozwalającego na ocenę wczesnych skutków i rokowań chemioterapii u indywidualnych pacjentów.

Również po raz pierwszy w Polsce przeprowadzono badania nad molekularnymi podstawami dziedzicznej sferocytozy, schorzenia dotyczącego wad błony erythrocytu będącego przyczynami anemii hemolitycznej.

Prace pozostające na razie w sferze badań podstawowych dotyczą przyczyn molekularnych mechanizmów prowadzących do rozwinięcia fenotypów chorobowych w grupie chorób genetycznych człowieka określonych terminem „laminopatie”. W ramach tego projektu prowadzone są badania dotyczące poznania molekularnego mechanizmu rozwoju fenotypu chorobowego oraz opracowania skutecznej metody terapii genowej wybranych laminopatii ze szczególnym uwzględnieniem dystrofii mięśniowej typu Emery-Dreifusa, lipodystrofii oraz progerii typu Hutchinsona-Gilforda.

Bardzo zaawansowane aplikacyjnie są badania nad kompleksem peptydów immunostymulacyjnych z siary owcy (peptydy bogate w prolinę - PRP), o właściwościach terapeutycznych wobec chorób neurodegeneracyjnych. Peptydy te wykryte i wyizolowane w IITD pod handlową nazwą Colostrinin[®] przeszły pierwsze badania kliniczne, wykazując swą skuteczność w hamowaniu postępów choroby Alzheimera. Na Wydziale Biotechnologii U.Wr. opracowano nową wydajną, dwustopniową metodę otrzymywania Colostrinin[®] zarówno z colostrum owcy jak i krowy oraz sposoby standaryzacji preparatów otrzymanych z różnych źródeł dla celów terapeutycznych. Przedstawiono projekt technologiczny produkcji na skalę techniczną, który jest podstawą opracowywanego wspólnie z Health Science Center, University of Houston, TX, U.S.A., wdrożenia w Sterling Technology SD, USA. Metoda opracowywana na zlecenie ReGen Therapeutics Plc. w Londynie jest zastrzeżona patentem międzynarodowym o numerze 04719003.8-2405-GB2004001014.

Równie zaawansowane są badania nad nowym nonapeptydem z colostrum, o dużej aktywności biologicznej, który jest przedmiotem międzynarodowego zgłoszenia patentowego.

Obecnie, w związku z narastającymi problemami leczenia chorób infekcyjnych, układu krążenia, chorób nowotworowych czy chorób neurodegeneracyjnych coraz więcej uwagi poświęca się białkom i peptydom skutecznym terapeutycznie dzięki odmiennemu mechanizmowi ich działania. Wiele z tych białek wykazuje zróżnicowaną aktywność antymikrobiologiczną, której specyficzność można regulować metodami chemicznymi i biologicznymi. Ta wielofunkcyjność pozwala na ich wykorzystanie zarówno terapeutyczne jak i przemysłowe. Wiele z nich wykazuje unikalny sposób działania na komórkę patogena dzięki czemu wydają się być również efektywnymi cząsteczkami nośnikowymi dla leków przy całkowitej nietoksyczności wobec komórek eukariotycznych. Niektóre białka spożywcze okazują się być obfitym źródłem peptydów aktywnych, w tym inhibitorów konwertazy angiotensyny I (ACE), skutecznie regulujących ciśnienie tętnicze krwi. Przykładami białek o podwójnym znaczeniu zarówno dla przemysłu jak i medycyny są opisane w dalszej części lizozym i cystatyna.

Ważnym narzędziem w produkcji białek i peptydów biologicznie aktywnych jest biopreparatyka, dzięki której możliwe jest otrzymywanie produktu o niezmienionej aktywności biologicznej. Rozwijanie efektywnych technik preparatywnych białek, prowadzone głównie na Uniwersytecie, Politechnice i Uniwersytecie Przyrodniczym, polega na zastępowaniu wieloetapowych, zbyt kosztownych dla praktyki przemysłowej, metod oczyszczania technikami frakcjonowania z zastosowaniem np. ultrafiltracji i różnego typu chromatografii swoistej sorpcji. Procesy filtracyjne z wykorzystaniem różnego rodzaju membran pozwalają na frakcjonowanie i zagęszczanie preparatów białkowych. Ich skuteczność i efektywność zależy zarówno od m.c. i właściwości fizykochemicznych substancji frakcjonowanych jak i charakteru materiału tworzącego membranę. Od wielu lat celem prowadzonych przez pracowników środowiska wrocławskiego badań, a głównie Politechniki, jest uzyskanie membran wolnych od niekorzystnych oddziaływań elektrostatycznych, hydrofobowych lub hydrofilnych zaburzających procesy filtracyjne w reaktorach membranowych poprzez chemiczną i/lub fizyczną zmianę materiału używanego do formowania membran.

Techniką umożliwiającą stosunkowo szybkie, a równocześnie wysokoselektywne procesy biotechnologiczne, jest wykorzystanie immobilizowanych ligandów głównie enzymów będących podstawą szeregu nowych technologii. Mimo

prostoty skuteczność tej metody zależy od wielu parametrów, których dobór zarówno w odniesieniu do liganda jak i nośnika decyduje o efektywności procesowej. Problemy te są od wielu lat przedmiotem badań zespołów Politechniki i Uniwersytetu.

Łącząc katalizę enzymatyczną z procesami separacji membranowej skonstruowano wiele konfiguracji reaktorów membranowych pozwalających na opracowanie szeregu technologii, w tym hydrolizy penicyliny G z udziałem immobilizowanej acylazy penicylanowej czy inwersji sacharozy i izomeryzacji glukozy. Opracowane procesy obejmują zarówno technologie z wykorzystaniem różnych modułów membranowych jak i reaktorów o innej konfiguracji, w których enzym był kowalencyjnie zimmobilizowany na nośnikach akrylowych. Badania prowadzono na szerokiej gamie enzymów o znaczeniu gospodarczym/przemysłowym, przy czym w doborze kierowano się ich możliwościami aplikacyjnymi w przemyśle farmaceutycznym (acylaza penicylanowa, lakkaza i trypsina), w przemyśle spożywczym (α - i β -amylaza, lipaza, trypsina, izomeraza glukozy, lakkaza) oraz zastosowaniami w produkcji biosensorów (acylaza penicylanowa, lakkaza, trypsina, α - i β -amylaza, lipaza).

Z wieloletnich badań wynika, że w efektywności immobilizacji na nośnikach akrylowych decydujące znaczenie ma rodzaj matrycy polimerowej i trudno wskazać nośnik posiadający cechy matrycy uniwersalnej dla wszystkich enzymów. Stosując jako komonomery związki od hydrofobowych po polarne można zmieniać charakter matrycy, a dodatkowo można go modulować przez wprowadzenie ugrupowań funkcyjnych, np. przez aminolizę tych kopolimerów. Czynnikiem decydującym o aktywności wiązanej białka jest charakter hydrofilowo-hydrofobowy powierzchni nośnika i rodzaj oddziaływań w procesie adsorpcji, natomiast o efektywności immobilizacji w większym stopniu decyduje metoda wiązania, a co za tym idzie wartość pH mieszaniny, w której prowadzona jest immobilizacja. Obiecujące, w sensie aplikacyjnym, wyniki otrzymano w badaniach nad enzymatyczną hydrolizą skrobi z udziałem immobilizowanych amylaz na nośnikach ziarnistych, wykazując zjawisko synergizmu w działaniu enzymów amylolitycznych i przydatność przemysłową stosowanej technologii. Proces zczukrzania skrobi glukoamylazą, w warunkach zbliżonych do przemysłowych, modelowano z wykorzystaniem równań kinetycznych, uwzględniających specyfikę reakcji i inaktywację enzymu. Część prac prowadzono w

ściślejszej współpracy z Uniwersytetem Technicznym w Bratysławie w ramach grantu 6th Framework Program of EU, FOODPRO, No. SNE-2003-1-508374.

Immobilizowane na nośnikach stałych enzymy proteolityczne okazały się bardzo wydajną techniką pozwalającą na wydzielanie i oczyszczanie ich docelowych inhibitorów. Wykazano, że warunki prowadzenia procesu pozwalają na kontrolowaną zmianę specyficzności immobilizowanego enzymu. W warunkach wysokiej siły jonowej (5M NaCl) chymotrypsyna oddziałuje również z inhibitorami trypsyny, pozwalając na efektywne oczyszczanie specyficznych inhibitorów tych enzymów i katepsyny G (zgłoszenie patentowe). Z drugiej strony modyfikacja centrum aktywnego immobilizowanego enzymu pozwala na preparatywne otrzymywanie docelowych inhibitorów w formie natywnej (wiązanie peptydowe centrum reaktywnego w formie niehydrolizowanej).

Bardzo istotną grupę zadań realizowanych w obrębie wytwarzania leków stanowią prace nad nowymi ich postaciami. Do substancji wykorzystywanych w technologii formulacji postaci leków należą polimery hydrofilowe oraz agregaty lipidowe, np. liposomy oraz micelle.

Polimery hydrofilowe pochodzenia naturalnego jak chitozan, kwas alginowy itp. lub półsyntetyczne, o charakterze jonowym lub niejonowym, jak karboksymetyloceluloza, metylceluloza i inne pozwalają na formułacje postaci leku o nowych właściwościach, przystosowaną do sposobu aplikowania (doustnie, parenteralnie, zewnętrznie, dopochwowo itp.). Właściwie dobrana formułacja leku umożliwia sterowanie stężeniem substancji leczniczej w krwi oraz eliminuje działanie niepożądane leku. Zastosowanie np. alkoholi wielowodorotlenowych do solwatacji polimerów korzystnie zmienia ich właściwości fizykochemiczne. Przyspieszona hydratacja solwatowanych polimerów umożliwia otrzymanie leku o nowych właściwościach w postaci hydrożelu lub kserożelu.

Konieczności terapeutycznego stosowania wysoce toksycznych substancji aktywnych (leki przeciwnowotworowe czy przeciwgrzybicze) towarzyszy często występowanie skutków ubocznych, które w znacznym stopniu ograniczają efektywność chemoterapii. Modyfikując parametry farmakokinetyczne substancji aktywnej poprzez zastosowanie preparatów złożonych, można osiągnąć żądany efekt terapeutyczny z równoczesną redukcją skutków ubocznych. Preparaty takie są często agregatami makromolekularnymi uformowanymi z reguły z substancji naturalnych lub syntetycznych podobnych w swej strukturze i właściwościach do naturalnych. Z racji

swojego przeznaczenia preparaty te znane są pod nazwą kierowanych nośników leków. Historycznie, liposomy są najwcześniej zastosowanym kierowanym nośnikiem leku. Pierwsze preparaty oparte na liposomach wprowadzone zostały na rynek już w połowie lat dziewięćdziesiątych ubiegłego wieku. Od tego czasu prowadzone są liczne badania nad ich nowymi zastosowaniami, np. w okulistyce, dermatologii czy onkologii.

Liposomy mogą być stosowane jako nośniki substancji immunomodulujących oraz adjuwanty szczepionek, jako nośniki substancji kontrastujących a przede wszystkim jako nośniki kwasów nukleinowych stosowane w terapiach genowych (polinukleotydy antysensowe, RNAi, DNA). Ze względu na brak aprobaty dla stosowania wektorów pochodzenia wirusowego jako nośników leków genetycznych tzw. lipopleksy zbudowane z lipidów kationowych oraz liposomy stanowią możliwą bezpieczną alternatywę tych nośników. Ogólnie rzecz biorąc, lipidy kationowe ułatwiają przeniesienie DNA lub RNA do komórek chroniąc je przed atakiem enzymów nukleolitycznych. Różne modyfikacje pierwotnych lipopleksów, np. zamykanie ich w liposomach zbudowanych z lipidów anionowych, również w liposomach modyfikowanych glikolem polietylenowych poprawiają znacznie ich właściwości (stabilność, brak toksyczności) jako nośników leków genetycznych.

Badania nad liposomowymi nośnikami leków swoją specyfiką odbiegają od klasycznego procesu badawczego nad lekami niskocząsteczkowymi. Liposomy służą wyłącznie do zmiany farmakokinetyki substancji aktywnej, co oznacza, że wszystkie pozostałe składniki są neutralne, a powstała struktura agregatu powinna posiadać właściwości zapewniające pożądaną dystrybucję, trwałość w organizmie oraz zdolność pokonywania barier tkankowych i błonowych. Złożony charakter preparatów liposomowych wymaga więc specyficznego i interdyscyplinarnego podejścia do procesu opracowywania nowego preparatu. Skuteczny preparat powinien spełniać kryteria, które określone są przez patofizjologię, fizykochemię agregatu oraz właściwości substancji aktywnej.

W ramach tych badań opracowano nowe i unikalne pochodne amfifilowe, które po wprowadzeniu do składu lipidowego nośników liposomowych zasadniczo poprawiały właściwości tych nośników. Odkrycie to stanowi istotę patentu RP Nr. 188497. Współpraca z Instytutem Farmaceutycznym z Warszawy zaowocowała patentami na liposomowe postacie leków antracyklinowych (Patent RP 190077, Patent RP 190078) oraz złożonymi wnioskami w Biurze Patentowym RP oraz USA (9 wniosków). W ramach badań nad innymi supramolekularnymi nośnikami leków

(nanoemulsje) opracowano postacię nowych oryginalnych leków przeciwnowotworowych należących do indolo-chinolin syntetyzowanych w Instytucie Farmaceutycznym. Badania nad liposomami jako potencjalnymi nośnikami leków prowadzone są w zespole w kilku różnych aspektach, z reguły we współpracy z różnymi zespołami wchodzącymi w skład Międzyuczelnianego Centrum Biotechnologii Agregatów Lipidowych, jednostką łączącą zespoły Uniwersytetu, Politechniki Wrocławskiej, Uniwersytetu Przyrodniczego, Akademii Medycznej oraz Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN (IITD PAN). Zespoły te pracują nad zagadnieniami zastosowań supramolekularnych agregatów lipidowych (liposomy, nanoemulsje) jako efektywnych nośników substancji terapeutycznych, w tym również stosowanych w tzw. terapiach genowych. Do najważniejszych osiągnięć należą:

a. - konstrukcja liposomów zawierających zwiększone ilości Koenzymu Q (zgłoszenie patentowe) dla zastosowań terapeutycznych, szczególnie w leczeniu niedokrwiennych udarów mózgu,

b. - badania nad konstrukcją liposomów przenoszących terapeutyczne oligonukleotydy i małe cząsteczki RNA do zastosowań w terapii białaczek i chłoniaków oraz zależność wpływu ekspozycji fosfatydyloseryny na powierzchni komórek na fuzję z liposomami kationowymi (we współpracy z Kliniką Hematologii A.M. we Wrocławiu).

Złożoność zagadnienia powoduje, że skuteczny proces badawczy nad opracowywaniem nowych preparatów powinien obejmować możliwie szerokie spektrum technik i metodologii, co pozwoli na opracowanie procesu badawczo-rozwojowego prowadzącego do maksymalizacji zdolności przewidywania zachowania się preparatu już na poziomie fazy badań przedklinicznych.

Badania nad wieloma nowymi formami leków prowadzone są również w **Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN**. Prowadzone tam prace dotyczą m.in. badań nad efektywnością terapeutyczną (przeciwnowotworową) koniugatów metotreksatu z albuminą, fibrynogenem, dekstranem oraz koniugatów: metotreksat-albumina-mannan. Celem tych prac jest obniżenie dawki cytotoksycznego leku przez adresowanie go wprost do komórki docelowej. Wstępne wyniki wskazują, że aktywność cytotoksyczna tych koniugatów *in vitro* jest, podobnie do koniugatów dekstranowych, niższa w porównaniu z wolnym lekiem. Natomiast w eksperymentach *in vivo* koniugaty metotreksatu z mannanem charakteryzowały się aktywnością przeciwnowotworową wyższą od wolnego leku oraz koniugatów dekstranowych.

Prowadzone są również, na szeroką skalę, prace badawcze, przedkliniczne, dotyczące leków przeciwnowotworowych, takich jak: analogi witamin D, pochodnych indolo[2,3-b]chinoliny, genisteiny i jej analogów.

Zaobserwowano także hamujący wpływ bakteriofagów w przerzutowaniu do płuc komórek czerniaka B16 u myszy. Co interesujące, bakteriofagi mogą wzmacniać działanie cyklofosfamidu.

Kolejny nurt badań prowadzonych w Instytucie dotyczy nowych form szczepionek i adiuwantów. Celem projektu jest próba określenia zależności pomiędzy swoistością przeciwciał antylipopolisacharydowych, wyrażona poprzez identyfikację i charakterystykę interakcji oligocukrowego epitopu na LPS z miejscem wiążącym przeciwciała, a zdolnością tych przeciwciał do neutralizowania niekorzystnej dla zakażonego organizmu biologicznej aktywności endotoksyn. Realizacja projektu obejmuje ustalenie epitopów na cząsteczkach O-antygenów rozpoznawalnych przez swoiste przeciwciała uzyskane przeciwko immunogennym neoglikoproteinom – koniugatam wyizolowanym z LPS oligocukrów z białkami.

Opisano właściwości adiuwantowe laktoferry (LF), która stymuluje swoistą odpowiedź immunologiczną u myszy na antygeny białkowe i bakteryjne (BCG) w sposób porównywalny z pełnym adiuwantem Freund'a. Ponadto uzyskano połączenie LF z monofosforylowanym lipidem A (LF-MPLA), który okazał się bardziej efektywnym adiuwantem niż każdy z tych składników z osobna. Adiuwant ten charakteryzuje się ponadto niską pirogennością i może znaleźć zastosowanie w protokołach immunizacyjnych u ludzi.

1. Uzasadnienie merytoryczne opracowania (tematów badawczych)

A. WYKORZYSTANIE BOGATYCH WE FLAWONY ORAZ KWAŚNE POLISACHARYDY SUROWCÓW ROŚLINNYCH JAKO ŹRÓDŁA SUBSTANCJI LECZNICZYCH

A1. Regulacja wrodzonej odporności przez flawonoidy (bajkalina, bajkaleina, wogonina) izolowane z korzeni tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis* Georgi) jako efekt ich terapeutycznej właściwości w chorobach wirusowych, nowotworowych i neurodegeneracyjnych.

Nieliczne dane z piśmiennictwa wskazują, że wyciągi z tarczycy bajkalskiej wykazują działanie lecznicze w chorobach wirusowych, nowotworowych a także łagodzą objawy schorzeń neurodegeneracyjnych. Dotychczasowe badania wskazują, iż obniżonej odporności wrodzonej (innate immunity) często towarzyszą choroby wirusowe, jak i nowotworowe (białaczki). Wykazano, że wyniki leczenia pacjentów chorych na białaczkę zależały od poziomu wrodzonej odporności. Dobra odporność gwarantowała dłuższe przeżycie a być może nawet wyleczenie. Z tego względu wybrane leki roślinne, jako stymulatory tej odporności mogą mieć duże znaczenie jako leki wspomagające w leczeniu chorób wirusowych i w szeroko prowadzonej terapii onkologicznej.

Środowisko wrocławskie, szczególnie Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej dysponuje szerokimi możliwościami badań odporności wrodzonej ze względu na dobre wyposażenie aparaturowe, a także dobrze wyszkoloną kadrę naukową. W oparciu o przeprowadzone badania immunologiczne zostaną zaprojektowane następujące terapeutyki wykorzystujące flawony tarczycy bajkalskiej:

1. **leki i preparaty stomatologiczne** (higieniczno-kosmetyczne) o działaniu przeciwwirusowym i przeciwzapalnym wskazane w stanach zapalnych błony śluzowej jamy ustnej i przyzębia, głównie w chronicznych periodontopatiach, w nawracających infekcjach wirusowych (m.in. opryszczką wargową *Herpes simplex*) oraz w zakażeniach drobnoustrojami patogennymi jamy ustnej powodującymi próchnicę zębów oraz wywołujących przewlekłe stany zapalne śluzówki jamy ustnej.
2. **lek przeciwwirusowy i przeciwzapalny w przewlekłych stanach zapalnych wątroby (m.in. *fibrosis, cirrhosis*) związanych z infekcją wirusową WZW B oraz WZW C.**
3. **preparat farmaceutyczny lub kosmetyczny stosowany dopochwowo, o działaniu przeciwwirusowym (szczególnie przeciwko wirusom onkogennym), wskazany w profilaktyce raka szyjki macicy.**

Według dotychczasowych badań, w patogenezie chorób degeneracyjnych mózgu, jak np. choroba Alzheimera, poważną rolę odgrywają nieprawidłowe procesy wolnorodnikowe związane ze starzeniem się organizmu oraz obniżony stan odporności wrodzonej. Główne flawony korzenia tarczycy bajkalskiej (*Radix Scutellariae*) wykazują silne działanie antyoksydacyjne i przeciwwolnorodnikowe, także wyraźne działanie uspokajające i anksjolityczne (co się wiąże z ich wpływem na receptory

GABA-ergiczne w ośrodkowym układzie nerwowym) Z tego względu surowiec ten brany jest pod uwagę przede wszystkim w profilaktyce chorób degeneracyjnych mózgu w starszym wieku w tym choroby Alzheimera. Zatem przedstawione powyżej przesłanki pozwalają postulować opracowanie preparatu opartego na flawonach korzenia tarczycy bajkalskiej stanowiącego:

4. lek w chorobach neurodegeneracyjnych mózgu (przede wszystkim w początkowym okresie choroby Alzheimera).

A2. Opracowanie z niektórych surowców leczniczych, polifenolowych (głównie flawonoidowych, izoflawonowych i garbnikowych) nutraceutyków i suplementów żywnościowych o działaniu antyoksydacyjnym i przeciwrodnikowym wskazanych w terapii, jako środki pomocnicze i profilaktyczne w:

1. – chorobach układu krążenia, w szczególności choroby zakrzepowej i miażdżycy.
2. – w ochronie wątroby w narażeniu zawodowym lub środowiskowym na związki hepatotoksyczne (węglowodory aromatyczne, alkohole i fluorki, rozpuszczalniki, związki ołowiu).
3. – w chemoprewencji choroby nowotworowej w narażeniu na kancerogeny środowiskowe.

A3. Opracowanie i wdrożenie do produkcji preparatów farmaceutycznych bądź kosmetycznych o działaniu przeciwwakrzepowym (heparynopodobnych) i przeciwgrzybiczym wytwarzanych z rozpoznanych pod względem fitochemicznym, biochemicznym i farmakologicznym, zespołów polisacharydów i polifenoli (preparaty łączone oraz glikokonjugaty izolowane z roślin) otrzymywanych z wybranych roślin leczniczych, w szczególności z rodziny Asteraceae (*Erigeron canadense*) oraz rodzin: Lamiaceae (*Scutellaria bajcalensis*, *S. barbata*, *S. galericulata*) i Rosaceae (*Potentilla alba*, *Agrimonia eupatoria*).

Poszukiwanie nowych substancji izolowanych z roślin o działaniu przeciwwakrzepowym jest aktualnie ważnym problemem lecznictwa, zwłaszcza kardiologii i geriatrici. Choroby układu krążenia są obecnie najczęstszą przyczyną śmiertelności w populacji krajów rozwiniętych. Powikłania zakrzepowo-zatorowe w układzie krążenia, takie jak zawał mięśnia serca czy udar niedokrwienny mózgu są częstymi przyczynami zgonów

lub przewlekłych stanów chorobowych, ograniczających w poważnym stopniu jakość życia chorych i generujących duże koszty dalszego leczenia i opieki.

Mechanizmy krzepnięcia krwi są ściśle powiązane z hemostazą płytkową. *In vivo* co najmniej dwie reakcje prowadzące do aktywacji głównych enzymów w procesie krzepnięcia odbywają się na powierzchni płytek krwi. Płytki są więc głównym inicjatorem powstawania zakrzepów i najważniejszym ich składnikiem. Znanych jest wiele agonistów płytek, zdolnych do ich pobudzenia na drodze receptorowej i w konsekwencji do ich agregacji. Wśród najważniejszych agonistów należy wymienić trombinę, kolagen, ADP, kwas arachidonowy, tromboksan A₂, czynnik aktywujący płytki (PAF), serotoninę, wazopresynę, adrenalinę, kompleksy immunologiczne, wirusy i bakterie. W celu uniknięcia groźnych powikłań zakrzepowych, specjaliści zalecają postępowanie profilaktyczne, m.in. przez podawanie antagonistów płytkowych, tj. środków upośledzających funkcje płytek. Najbardziej znanym lekiem stosowanym profilaktycznie w chorobie zakrzepowo-zatorowej jest kwas acetylosalicylowy (aspiryna). Jednak duże dawki aspiryny lub przyjmowanie jej przez dłuższy czas wiąże się z działaniami niepożądanymi, wśród których najważniejsze to indukowanie astmy i skłonność do krwawień, szczególnie z przewodu pokarmowego. Pożądane są nowe środki lecznicze o działaniu przeciwplatek, nie obciążone działaniami ubocznymi aspiryny.

Na aktywację agregacji płytek krwi ogromny wpływ mają reaktywne formy tlenu – związki wytwarzane w wyniku stresu oksydacyjnego. Reaktywne formy tlenu mogą reagować z lipidami, białkami czy DNA powodując nieodwracalne zmiany w strukturze tych związków. W komórkach stymulowanych różnymi fizjologicznymi agonistami, np. trombiną czy kolagenem, potencjalnymi źródłami reaktywnych form tlenu są procesy związane z metabolizmem kwasu arachidonowego (przy udziale cyklooksygenazy czy 12-lipooksygenazy). Reaktywne formy tlenu mogą zachowywać się jako wtórne przekaźniki informacji w płytkach aktywowanych trombiną czy kolagenem. Odgrywają one znaczącą rolę w patofizjologii chorób układu krążenia, zwłaszcza w powstawaniu płytki miażdżycowej w tętnicach, co w konsekwencji prowadzi do choroby niedokrwiennej serca. Z drugiej strony, płytki krwi same stanowią cel dla reaktywnych form tlenu. Agregaty płytkowe powstające pod wpływem ich działania znacznie zwiększają ryzyko zatoru naczyń wieńcowych.

Badania epidemiologiczne oraz kliniczne prowadzone w ostatnich latach wykazały bezspornie związek pomiędzy dietą bogatą w substancje o właściwościach

przeciwutleniających i zmniejszeniem zachorowalności, a w konsekwencji zgonów, z powodu choroby niedokrwiennej serca. Jednak podstawy mechanizmów działania tych związków nie do końca zostały poznane. Owoce, warzywa, zboża oraz herbata i czerwone wino bogate są w antyoksydanty, takie jak witamina C, tokoferole, tokotrienole, flawonoidy oraz inne substancje fenolowe i karotenoidy, stanowiąc niezbędne składniki diety ludzkiej, działają ochronnie na system naczyniowy organizmu, ponieważ hamują w znacznym stopniu procesy aktywacji płytek oraz regulują metabolizm lipoprotein i lipidów. Niektóre z tych substancji, w dużych stężeniach w krwioobiegu, mogą wykazywać aktywność prooksydacyjną, tak jak jest to w przypadku witaminy C. Istotnym staje się więc znalezienie takich substancji o właściwościach przeciwutleniających, które w małych ilościach wykazywałyby silne działanie antyoksydacyjne a nie działałyby utleniająco w większych stężeniach w organizmie ludzkim (indukując niekorzystne procesy fizjologiczne, w tym aktywację płytek krwi).

W omawianym projekcie badawczym - substancje polifenolowe jak i ich kompleksy z polisacharydami, wydzielone z kilkunastu roślin leczniczych, wykazujące wysoką aktywność przeciwplatek i jednocześnie antyoksydacyjną, stanowią bardzo interesujący temat badawczy związany z poszukiwaniem nowych substancji roślinnych użytecznych w profilaktyce miażdżycy oraz choroby zakrzepowo-zatorowej. Ponadto część cukrowa otrzymanych preparatów przypomina zarówno w budowie chemicznej jak i w działaniu przeciwplatekowym grupę heparyn zwierzęcych (kwaśnych mukopolisacharydów) stosowanych obecnie szeroko w leczeniu kardiologicznym. Jednak otrzymywanie heparyn z materiału zwierzęcego (np. płuc bydłych lub błon śluzowych jelit świni) niesie ze sobą zagrożenia zarażenia chorobami odzwierzęcymi, np. pryszczycą lub BSE. Ponadto, należy podkreślić, że wszystkie metody uzyskiwania heparyn zwierzęcych są bardzo drogie, co wpływa na wysokie koszty leczenia. Stąd, tak aktualne są poszukiwania możliwości pozyskiwania substancji heparynopodobnych (heparynoidów) z nowych źródeł, w tym z roślin wyższych (dotychczas izolowano kilka analogów heparyn z glonów). Badania prowadzone przez naukowców wrocławskich nad substancjami heparynopodobnymi izolowanymi z niektórych roślin leczniczych stwarzają duże możliwości wykorzystania w medycynie nowych preparatów roślinnych pozyskiwanych z łatwo dostępnych surowców.

A4. próby opracowania i wdrożenia do produkcji preparatów (środków ochrony roślin uprawnych) otrzymanych z badanych gatunków roślin (szczególnie *Scutellaria baicalensis*) o działaniu przeciwgrzybiczym wobec fitopatogenów.

Wprowadzenie do uprawy przemysłowej tarczycy bajkalskiej celem pozyskiwania korzeni, jako surowca leczniczego, stwarza szanse wykorzystania również części nadziemnej rośliny (materiał odpadowy). Mianowicie, w ziele tarczycy bajkalskiej oraz innych gatunków z rodzaju *Scutellaria* opisano związki diterpenowe wykazujące silne działanie przeciwgrzybicze wobec patogenów roślin uprawnych, głównie warzyw.

B. CYSTATYNA JAKO AKTYWNY SKŁADNIK LEKÓW

Wydaje się, że główną funkcją inhibitorów enzymów proteolitycznych jest regulacja podstawowych procesów biologicznych, związanych z proteolizą. Wiele jednak inhibitorów lub produktów ich proteolizy, wykazuje szereg innych, niezwykle ważnych aktywności biologicznych: niektóre są czynnikami wzrostu, toksynami, działają jako czynniki przeciwnowotworowe, wykazują aktywność przeciw mikroorganizmom, blokują kanały wapniowe, przejawiają właściwości foto-i radioprotekcyjne a u roślin pełnią również funkcje obronne przed inwazją szkodników. Stwarza to niezwykle możliwości wykorzystania inhibitorów z różnych rodzin w profilaktyce, diagnostyce klinicznej, terapii i regulacji wielu procesów biologicznych nie związanych z proteolizą. Badania wpływu cystatyn na rozwój mikroorganizmów wykazały, że zastosowanie owocystatyny, cystatyny C lub cystatyny S hamowało wzrost *P. gingivalis* lecz nie zaobserwowano inhibicji wzrostu bakterii Gram-ujemnych takich jak *E. Coli*, *P. aeruginosa* ani drożdży *Candida albicans*. Niektórzy autorzy sugerują, że zdolność hamowania wzrostu bakterii przez cystatyny lub jej fragmenty nie jest wynikiem inhibicji proteinaz wydzielanych przez patogen lecz występowaniem w strukturze cystatyn sekwencji aminokwasowej zaburzającej prawidłowe funkcjonowanie systemu transportującego błony bakteryjnej. Z powyższych względów proponuje się wykorzystać cystatynę – mocny inhibitor proteinaz sulfhydrylowych z jaj kurzych – **jako białko o potencjalnym znaczeniu terapeutycznym w leczeniu chorób przyzębia**. Opracowano metodę wydzielania cystatyny z białka jaja a obecnie prowadzone są badania nad otrzymaniem fragmentów biologicznie aktywnych celem ich zastosowania w leczeniu. Do badań należy wykorzystać oczyszczoną do

homogenności cystatynę z jaj kurzych. Podstawowa techniką oczyszczania inhibitora jest frakcjonowanie białek białka jaja etanolem a następnie wydzielenie inhibitora na drodze chromatografii powinowactwa na immobilizowanej, nieaktywnej katalitycznie karboksymetylopapainie. Z dotychczasowych danych wynika, że opracowywany preparat może okazać się;

- a. efektywnym składnikiem leku na choroby przyzębia u dorosłych,
- b. może również być podstawą do projektowania leków dla schorzeń w których powodem patologii jest „nadczynność” proteinaz sulfhydrylowych (nowotwory),
- c. pozwoli na efektywniejsze wykorzystanie pozostającego po produkcji lizozymu materiału odpadowego w Zakładach Jajczarskich.

C. UZYSKIWANIE CZYSTYCH SKŁADNIKÓW LEKÓW NATURALNYCH I ICH CHARAKTERYSTYKA W CELU ZAPEWNIENIA MOŻLIWOŚCI STANDARYZACJI PREPARATÓW LECZNICZYCH I PRODUKTÓW DIETETYCZNYCH

Jednym z ważnych zadań opracowanie produkcji lipidów rezorcynolowych z materiałów zbożowych w celu ich dostarczania, jako materiału certyfikowanego do zainteresowanych laboratoriów krajowych i zagranicznych. Już obecnie istnieje spore zainteresowanie tego typu produkcją. Możliwe jest w najbliższej przyszłości poszerzenie oferty środowiska w tej dziedzinie.

C1. opracowanie produkcji lipidów rezorcynolowych z materiałów zbożowych w celu ich dostarczania, do zainteresowanych laboratoriów krajowych i zagranicznych.

D. ZASTOSOWANIE POLIMERÓW HYDROFILOWYCH POCHODZENIA NATURALNEGO JAKO NOŚNIKÓW SUBSTANCJI LECZNICZEJ W POSTACI HYDROŻELI ORAZ KSEROŻELI

W wyniku podjęcia badań nad zastosowaniem solwatowanych polimerów hydrofilowych oraz ich kompleksów z substancjami leczniczymi uzyskano korzystne efekty terapeutyczne. Preparaty zaprojektowane w oparciu o wyżej omówione założenia były szczególnie przydatne w postępowaniu w schorzeniach nie poddających się leczeniu z zastosowaniem klasycznych postaci leku. W dotychczasowej literaturze nie

znaleziono podobnych rozwiązań technologicznych. Rozwiązania te są efektem badań podstawowych, ich teoretyczne założenia oraz wyniki zostały pozytywnie ocenione przez recenzentów. Zastosowanie omawianych rozwiązań pozwoli na skrócenie czasu leczenia i da wymierne efekty ekonomiczne. Proponujemy następujące projekty badawcze przewidziane do wdrożenia na skalę przemysłową.

D1. Zespół postaci leku do leczenia stanów zapalnych w ginekologii

Opracowane preparaty w postaci zasyпки, hydrożelu oraz globulek hydrofilowych zawierają kompleksy kwasu mlekowego, umożliwiają w stanie zapalnym odtworzenie fizjologicznego odczynu środowiska pochwy. Preparaty służą do stosowania w leczeniu stanów zapalnych pochwy, umożliwiają odtworzenie fizjologicznego odczynu pozwalającego na rozwój fizjologicznej flory bakteryjnej. Wstępne badania kliniczne zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne oraz opracowanie projektu na skalę przemysłową.

D2. Opatrunki kserożelowe przeznaczone do leczenia łuszczycy

Preparat został sporządzony na podłożu kserożelowym. Opracowane podłoże pozwala na przyrządzenie stabilnego preparatu leczniczego zawierającego cignolinę. Preparat zapobiega uszkodzeniu zdrowej skóry na obrzeżu ogniska łuszczycy oraz nie tłuszczy odzieży. Badania podjęto w celu optymalizacji leczenia łuszczycy i podniesienia komfortu pacjenta.

Preparat jest przyrządzany w postaci hydrożelu. Po naniesieniu na ognisko łuszczycy tworzy się kserożel a cignolina nie rozprzestrzenia się na zdrową skórę, wstępne badania kliniczne zostały pozytywnie ocenione. Wymagane są badania kliniczne oraz opracowanie projektu na skalę przemysłową.

D3. Opatrunki kserożelowe do leczenia stanów zapalnych skóry

Opracowane opatrunki kserożelowe pozwalają na przyrządzenie stabilnego preparatu leczniczego zawierającego hydrokortyzon. Preparat jest przyrządzany w postaci żelu hydrofilowego. Po naniesieniu preparatu na skórę tworzy się kserożel. Preparat ten służy do leczenia stanów zapalnych skóry. Badania nad preparatem kserożelowym podjęto celem zminimalizowania działań niepożądanych przez sterydy na skórę. Wstępne badania kliniczne zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne oraz opracowanie projektu na skalę przemysłową.

D4. Opatrunki kserożelowe do leczenia opryszczki

Opracowane podłoże kserożelowe umożliwia przyrządzenie stabilnego preparatu leczniczego zawierającego środek o działaniu przeciwzapalnym. Preparat jest przyrządzany w postaci hydrożelu, po naniesieniu na skórę tworzy się kserożel mający na celu podniesienie efektywności leczenia tego przykrego schorzenia. Preparat służy do leczenia opryszczki. Wstępne badania kliniczne zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne oraz opracowanie projektu na skalę przemysłową.

D5. Opatrunek kserożelowy do przyczynowego leczenia parodontozy

Opracowane preparaty kserożelowe zawierające inhibitor proteaz Kunitza, umożliwiają przyczynowe leczenie parodontozy. Preparat jest sporządzany w postaci opatrunku kserożelowego o przedłużonym działaniu, który utrzymuje się na dziąśle między posiłkami oraz w ciągu nocy. Opatrunek ma właściwości adhezyjne, zwiększa to efektywność leczenia. Wstępne badania kliniczne zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne i opracowanie projektu na skalę przemysłową.

D6. Zasyпка do leczenia grzybicy międzypalcowej na stopach

Zasyпка ma właściwości osuszające i grzybobójcze, służy do leczenia grzybicy na stopach. Badania podjęto celem podniesienia efektywności leczenia tego dokuczliwego schorzenia. Preparat jest przyrządzany w formie zasyпки - wstępne badania kliniczne zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne i opracowanie projektu na skalę przemysłową.

D7. Tabletki zapobiegające zawiązywaniu się kamieni moczowych o składach dla dorosłych oraz dla dzieci

Substancja czynna zapobiega zawiązywaniu się kamieni moczowych poprzez regulację odczynu moczu. Preparaty dla dorosłych oraz dla dzieci mają postać tabletek do połykania o przedłużonym działaniu - wstępne badania kliniczne zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne oraz opracowanie produkcji na skalę przemysłową.

D8. Opatrunek do leczenia suchego zębodołu

Preparat w postaci tabletki zębodołowej zamienia się pod wpływem śliny w hydrożel, wypełnia zębodół, zastępuje naturalny skrzep, chroni to przed infekcją, uśmierza ból i przyspiesza długotrwałe leczenie bolesnego suchego zębodołu. Wstępne badania kliniczne zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne oraz opracowanie projektu na skalę przemysłową.

D9. Preparat do leczenia trądziku pospolitego i różowatego

Preparat ma postać żelu hydrofilowego, służy do nanoszenia na skórę twarzy, na skórze tworzy się kserożel. Substancja lecznicza zawarta w żelu dyfunduje do skóry. Pod wpływem promotorów wchłaniania przenika barierę lipidową na skórze, wykazując działanie przeciwbakteryjne. Wstępne badania kliniczne zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne oraz opracowanie projektu na skalę przemysłową.

D10. Preparat profilaktyczny zapobiegający rozwojowi stanów zapalnych w trądziku pospolitym i młodzieńczym

Preparat ma postać hydrożelu, służy do nanoszenia na skórę ulegającą trądzikowym stanom zapalnym, na skórze tworzy się kserożel. Składniki czynne zawarte w żelu działają oczyszczająco na gruczoły łojowe zapobiegając występowaniu stanów zapalnych - założenia projektu zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne i opracowanie projektu na skalę przemysłową.

D11. Zespół 4 preparatów pielęgnacyjno – leczniczych dla zwierząt

Preparaty mają postać hydrożelu opartych na wyciągach roślinnych przeznaczonych do pielęgnacji sierści i skóry psów, kotów, koni, bydła oraz hodowlanych zwierząt futerkowych. Preparaty poprawiają wygląd sierści, regulują odczyn skóry, zapobiegają grzybicom. Zostały przetestowane na grupach kilku gatunków zwierząt hodowlanych. Wyniki testów zostały ocenione pozytywnie. Opracowano technologię wytwarzania preparatów na skalę produkcyjną.

D12. Preparat przeznaczony do oczyszczania gruczołów okołodbytniczych u psów

Preparat ma postać roztworu zawierającego środki dezynfekcyjno-odkażające przeznaczone do oczyszczania i leczenia stanów zapalnych gruczołów okołodbytniczych u psów. Preparat działa znieczulająco i leczniczo. Został on

przetestowany na grupie psów – wyniki testu zostały ocenione pozytywnie. Opracowano technologię wytwarzania preparatu na skalę produkcyjną.

D13. Preparat do leczenia stanów zapalnych uszu u psów

Preparat ma postać kropli przeznaczonych do leczenia stanów zapalnych uszu u psów. Preparat przetestowano na grupie psów – wyniki testu zostały ocenione pozytywnie. Opracowano technologię wytwarzania preparatu na skalę produkcyjną.

D14. Preparat przeznaczony do leczenia grzybicy u zwierząt hodowlanych

Preparat zawiera zespół substancji o silnym działaniu przeciwgrzybiczym. Zespół substancji działa w warunkach *in vitro* grzybobójczo na szereg grzybów chorobotwórczych. Preparat przetestowano na grupie zwierząt hodowlanych – wyniki testu zostały ocenione bardzo wysoko. Wymagane są badania kliniczne, toksykologiczne oraz technologiczne.

E. NOŚNIKI LEKÓW OPARTE NA AGREGACYJNYCH POSTACIACH LIPIDÓW

Supramolekularne nośniki leków są już stosowane od ponad dziesięciu lat. Powoduje to, że możliwe jest opracowanie zarówno generycznych produktów jak i preparatów innowacyjnych.

E1. Preparaty generyczne.

Pomimo, że znana jest postać i skład tych preparatów to wprowadzenie ich na rynek wymaga wprowadzenia do praktyki procesów technologicznych w odpowiedniej jakości. Wymagać to będzie prac badawczo-wdrożeniowych prowadzonych w ścisłej współpracy jednostek badawczych oraz podmiotów gospodarczych zdolnych wprowadzić opracowane technologie. Jest to warunek konieczny aby podjęcie badań nad oryginalnymi preparatami agregacyjnymi miało uzasadnienie ekonomiczne. Należy więc podjąć próbę uruchomienia produkcji chociaż jednego liposomowego preparatu generycznego (Doxilu lub Ambisomu).

E2. Preparaty znanych leków oparte na oryginalnych agregacyjnych nośnikach lipidowych.

W tym samym czasie można prowadzić prace nad prostszymi rozwiązaniami dotyczącymi nowych generacji preparatów dermatologicznych, które podniosą wydajność wprowadzania do ustroju substancji aktywnych np. anestetyków czy hormonów. Zadanie to choć legislacyjnie prostsze metodycznie jest bardzo złożone.

Opracowanie odpowiednio efektywnych formułacji opartych na semisyntetycznych pochodnych lipidów fenolowych, które zapewnią otrzymanie oryginalnych postaci leków, zbadanie ich stabilności w trakcie przechowywania tak w postaci zawiesiny jak i w postaci liofilizatów wyprodukowanie na skalę ćwierćtechniczną najbardziej obiecujących postaci w celu ich przekazania do dalszych etapów badań, w tym i klinicznych.

E3. Lipidowe nośniki do terapii genowej oraz antysensowej defektów dziedzicznych oraz chorób nowotworowych.

Większość znanych lipidowych nośników leków genetycznych ma w założeniu uniwersalny charakter. Jednym z proponowanych celów jest uzyskanie skutecznego lipidowego nośnika leków genetycznych, przede wszystkim oligonukleotydów antysensowych możliwych do zastosowania w trudnych do transfekcji komórek limfocytów lub mieloidalnych oraz analiza jego skuteczności *in vitro*. Jednym z możliwych rozwiązań jest nośnik, w którym oligonukleotydy skompleksowane z dodatnio naładowanym lipidem zostaną zamknięte wewnątrz pęcherzyka zbudowanego z obojętnych fosfolipidów. Kolejną możliwością jest konstrukcja takich samych liposomów ale zmodyfikowanych glikolem polietylenowym (PEG). Liposomy takie są znacznie stabilniejsze w osoczu. Kolejnym stopniem zaawansowania są liposomy, w których do powierzchniowo umieszczonego PEG przyłącza się przeciwciała dla markera nowotworu, co zapewni swoistość kierowania leku.

Innym celem jest opracowanie wydajnej procedury transformacji komórek macierzystych HSC *in vitro* z zastosowaniem techniki liposomowej oraz procedury ukierunkowanego różnicowania komórek HSC celem zastosowania w terapii genowej chorób monogenowych na przykładzie laminopatii i dystrofii mięśniowych. Proponujemy zaprojektowanie wektora dla terapeutycznego cDNA, opracowanie procedury transformacji komórek HSC *in vitro* oraz ich ukierunkowanego różnicowania w komórki macierzyste mięśni szkieletowych („pierwotne” mioblasty).

Jednym z najważniejszych problemów związanych ze praktycznym zastosowaniem strategii RNAi jest efektywność z jaką wprowadzamy do lub generujemy w komórkach

siRNA i miRNA. W tym celu, do transfekcji stosuje się różnego rodzaju nośniki lipidowe, które w przypadku egzogennych siRNA, różnią się znacznie od klasycznych nośników stosowanych do transfekcji. Podejmiemy próbę konstrukcji takich nośników opartych na technologii agregatów supramolekularnych.

E4. Prowadzenie prac nad metodami HTS do analiz i testów kierowanych nośników leków.

Prace w tym zakresie nie są w chwili obecnej powiązane z żadnym konkretnym podmiotem gospodarczym.

E5. Biosensory

Ciekawym obszarem badań i wdrożeń są biosensory oraz techniki stosowane w farmaceutycznych metodach przesiewowych oraz w diagnostyce. W tym obszarze połączenie nauk technicznych z podstawowymi wydaje się być najbardziej obiecujące. Dodatkowo dochodzi czynnik stosunkowo łatwego procesu wdrażania. Ponieważ w praktyce nie istnieją metody przesiewowe dla leków kierowanych to osiągnięcia środowiska wrocławskiego w tym obszarze mogą być znaczące.

2. PODMIOTY WSPÓŁPRACUJĄCE

- **instytucje naukowe (potencjał naukowy, osiągnięcia w dziedzinie badań podstawowych i aplikacyjnych)**

Uniwersytet Wrocławski – posiada doskonale zaplecze badawcze w zakresie, genetyki, biologii molekularnej i chemii. Doskonała kadra posiadająca wysoki poziom fachowości udokumentowany bogatym dorobkiem naukowym oraz, w niektórych przypadkach, także aplikacyjnym (patenty i wdrożenia). Uczelnia ta posiada linię do produkcji liposomów na skalę póltechniczną, która jest doskonałym rozszerzeniem prowadzonych badań podstawowych na Wydziale Biotechnologii.

Politechnika Wroclawska – posiada bogate zaplecze w zakresie nauk podstawowych oraz inżynierskich, które z powodzeniem mogą być zastosowane do badań farmakokinetycznych, rozwoju metod pomiarowych oraz przy opracowywaniu biosensorów i innych przyrządów opartych na metodach biologii molekularnej.

Akademia Medyczna – posiada niezbędny poziom kompetencji, który może być wykorzystany do testowania i walidowania opracowanych preparatów i metod. Szczególnie znaczący dla projektu jest Wydział Farmacji, którego zespoły mają największe osiągnięcia w tej dziedzinie.

Uniwersytet Przyrodniczy – posiada bogate doświadczenie nad naturalnymi związkami, które mogą być zastosowane jako substancje farmaceutyczne o wielorakim przeznaczeniu, np. jako substancje aktywne albo pomocnicze w agregatach supramolekularnych wykorzystywanych jako kierowane nośniki leków.

Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN – jest to instytucja, która w naturalny sposób wpisująca się w badania nad kierowanymi nośnikami leków. Posiadane przez tą instytucję zaplecze badawcze w zakresie, biologii molekularnej, syntezy polimerów, biologii komórki oraz farmakologii i farmakokinetyce może stać się poważnym wsparciem dla prac nad kierowanymi nośnikami leków.

Międzyuczelniane Centrum Biotechnologii Agregatów Lipidowych – jest to zrzeszenie laboratoriów ze środowiska wrocławskiego deklarujących aktywny udział w pracach nad agregacyjnymi postaciami leków. Powołanie Centrum było znaczącym krokiem w kierunku koordynacji badań nad wybranymi zagadnieniami ważnymi z punktu widzenia aplikacji.

- **podmioty gospodarcze (szczegółowa charakterystyka podmiotów ze szczególnym uwzględnieniem możliwości współdziałania w zakresie badawczo-rozwojowym i wdrożeniowym). Tutaj powinniśmy mieć możliwie pełne rozeznanie Regionu Dolnego Śląska w tym zakresie.**

Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Hasco-Lek – jest to jedno z największych przedsiębiorstw farmaceutycznych Wrocławia. Istniejąca już współpraca z Uczelniami Wrocławia pokazuje wolę tego partnera gospodarczego do angażowania się w łączone projekty badawcze. W chwili obecnej wybrane laboratoria realizują dla Hasco-Lek szereg zadań badawczych.

Novasome Sp. z o.o. – firma typu „spin-off”, która działa w obszarze kierowanych nośników leków. Jej zadaniem jest koordynacja oraz obsługa finansowo-prawna złożonych projektów interdyscyplinarnych. Po okresie transformacji jej działalność rozszerzona będzie o szereg usług świadczonych podmiotom gospodarczym a opartych na własnym zapleczu technicznym.

Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Adamed – jedno z najprężniej rozwijających się przedsiębiorstw farmaceutycznych w kraju. Adamed posiada bogate zaplecze badawcze, które w połączeniu z potencjałem środowiska wrocławskiego jest doskonałym punktem wyjściowym dla rozpoczęcia prac nad złożonymi lekami nowej generacji.

Wrocławskie Zakłady Zielarskie Herbapol są producentem leku BAIKADENT – żel stomatologiczny zaw. 0,57% flawonów z korzenia tarczycy bajkalskiej (*Scutellaria baicalensis*), wskazany w leczeniu parodontozy i stanów zapalnych śluzówki jamy ustnej i przyzębia. Lek produkują w oparciu o ekstrakt suchy z korzeni tarczycy bajkalskiej. W Komisji Rejestrującej Nowe Leki **WZZ „Herbapol”** ma też 3 inne preparaty wyprodukowane w oparciu o ekstrakt suchy surowca (zaw. 75% bajkaliny). Są to: BAIKANIN (kapsułki do stosowania wewnętrznego w chorobach zapalnych wątroby wywołanych WZW B i WZW C), BAIKADERM (maść do stosowania zewnętrznego przeciwtrądzikowa) oraz BAIFEM - żel ginekologiczny w chorobach zapalnych pochwy (obecnie preparat uzyskał prawo obrotu handlowego jako kosmetyk do higieny intymnej).

Przedsiębiorstwo Farmaceutyczne Jelfa S. A. w Jeleniej Górze, ul. Wincentego Pola 21, 58-500 Jelenia Góra

Farmaceutyczna Spółdzielnia Pracy Galena we Wrocławiu, ul. Krucza 62, 50-984 Wrocław

Farmaceutyczno-Chemiczna Spółdzielnia Pracy Labor ul. Długosza 49, Wrocław

Szczegółowa lista zespołów zaangażowanych w realizację poszczególnych tematów

Tematu badawczy A1.

Prof. dr hab. Zofia Błach-Olszewska – kierownik Zakładu Wirusologii w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. Ludwika Hirszfelda, Wrocław, ul. Weigla 12, tel. (0-71) 337-11-72; doc. dr hab. Hubert Krotkiewski – Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN im. L. Hirszfelda we Wrocławiu, Kierownik Laboratorium Immunochemii i Glikokonjugatów; prof. dr hab. Jerzy Leszek – Klinika Psychiatryczna Akademii Medycznej we Wrocławiu, Kierownik Samodzielnej Pracowni Choroby Alzheimera i Genetyki Psychiatrycznej; prof. dr hab. Eliza Lamer-Zarawska – em. prof. zw. AM we Wrocławiu (em. Kierownik Katedry Biologii i Botaniki Farmaceutycznej).

Temat badawczy A2.

Prof. dr hab. Jadwiga Biernat i doc. dr hab. Halina Grajeta – Katedra Bromatologii AM; prof. dr hab. Eliza Lamer-Zarawska i wsp. z Katedry Biologii i Botaniki Farmaceutycznej AM; prof. dr hab. Wojciech Cisowski z Katedry Farmakognozji, Wydział Farmaceutyczny we Wrocławiu (Katedra Technologii Postaci Leku); prof. nadzw. dr hab. Roman Gancarz i dr Izabela Pawlaczyk – Zakład Chemii Medycznej i Mikrobiologii Wydział Chemii Politechniki Wrocławskiej, prof. dr hab. Jan Oszmiański – Katedra Technologii Owoców, Warzyw i Zbóż – Wydział Nauk o Żywności Uniwersytet Przyrodniczy; prof. dr hab. Anna Długosz – Katedra Toksykologii AM, Wydział Farmacji; dr Adam Matkowski z Katedry Biologii i Botaniki Farmaceutycznej AM we Wrocławiu; prof. dr hab. Zofia Błach-Olszewska oraz doc. dr hab. Hubert Krotkiewski z Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej we Wrocławiu.

Temat badawczy A3.

Dr hab. inż. Roman Gancarz, prof. nadzw. Politechniki Wrocławskiej i dr Izabela Pawlaczyk Zakład Chemii Medycznej i Mikrobiologii, Wydział Chemii Politechnika Wroclawska, prof. dr hab. Jan Oszmiański z Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu oraz pracownicy Klinik i Katedr Wydziału Lekarskiego i Farmaceutycznego Akademii Medycznej we Wrocławiu (szczególnie

Kliniki Kardiologicznej, Hematologicznej i z Wydz. Farmacji Katedry Farmacji Stosowanej – Technologii Postaci Leku – prof. dr hab. Janusz Pluta.

Temat badawczy B.

Prof. dr hab. Antoni Polanowski, Zakład Biotechnologii Białek oraz prof. dr hab. Tadeusz Wilusz, Zakład Enzymologii, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski, we współpracy z Katedrą Technologii Produktów Pochodzenia Zwierzęcego i Zarządzania Jakością Uniwersytetu Przyrodniczego (Wydział Nauki o Żywności) oraz Katedrami Farmacji Stosowanej oraz Stomatologii Zachowawczej Akademii Medycznej w zakresie formulacji leku i skuteczności leczenia.

Temat badawczy C.

Prof. dr hab. Arkadiusz Kozubek, Zakład Lipidów i Liposomów, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski.

Tematy badawcze D1-D14.

Prof. dr hab. Aleksander A. Kubis, Katedra i Zakład Technologii Postaci Leku, Akademia Medyczna we Wrocławiu we współpracy z Katedrą i Kliniką Rozrodczości i Położnictwa AM we Wrocławiu, Katedrą i Kliniką Dermatologii Wenerologii i Alergologii AM we Wrocławiu, Katedrą i Kliniką Stomatologii Zachowawczej i Dziecięcej AM we Wrocławiu, Katedrą i Kliniką Nefrologii i Medycyny Transplantacyjnej AM we Wrocławiu, Katedrą i Zakładem Chirurgii Stomatologicznej AM we Wrocławiu Katedrą i Kliniką Chorób Wewnętrznych Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy Katedrą i Zakładem Botaniki Farmaceutycznej AM we Wrocławiu.

Tematy badawcze E1-E5

Zintegrowane w Międzyuczelnianym Centrum Biotechnologii Agregatów Lipidowych zespoły:

Dr hab. Marek Langner, Laboratorium Agregatów Makrocząsteczkowych, Politechnika Wrocławska, Prof. dr hab. Arkadiusz Kozubek, Zakład Lipidów i Liposomów, dr hab. Ryszard Rzepecki, Pracownia Białek Jądrowych i prof. dr hab. Aleksander F. Sikorski, Zakład Cytobiochemii, Wydział Biotechnologii,

Uniwersytet Wrocławski, prof. dr hab. Maciej Ugorski, Wydział Weterynarii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu. We współpracy z Kliniką Hematologii Akademii Medycznej we Wrocławiu.

Wyszczególnienie i opis tematów i zadań gotowych do wdrożenia ze wskazaniem ewentualnego miejsca wdrożenia

- Tematy A: A1.1-3; A2.2-3; A3.
- Temat C1, wymaga tylko optymalizacji technologii do skali produkcji.
- Tematy D1-D10, D14, wstępne badania kliniczne zostały ocenione pozytywnie. Wymagane są badania kliniczne oraz opracowanie projektu na skalę przemysłową.
- Tematy D11-13, Wyniki testów zostały ocenione pozytywnie. Opracowano technologię wytwarzania preparatów na skalę produkcyjną.
- Temat E1. Opracowanie procesu technologicznego oraz uruchomienie produkcji na skalę techniczną dla generyku leku liposomowego. Zadanie to jest realizowane i wdrażane przez Novasome dla podmiotów gospodarczych we współpracy z Uniwersytetem Wrocławskim i Politechniką Wrocławską.
- Temat E2. Opracowanie preparatów dermatologicznych o poprawionych parametrach farmakologicznych. To zadanie jest w trakcie realizacji przez Novasome dla wybranych podmiotów gospodarczych na bazie laboratoriów uczelnianych.

3. Wyszczególnienie problemów ważnych społecznie do wspólnego rozwiązania przez pracowników nauki z podmiotami gospodarczymi (bądź uzasadnienie projektu budowy odpowiedniego zaplecza R&D) łącznie z założeniami projektów badawczych

Długoletnie prace prowadzone w środowisku wrocławskim, które koordynowane były przez Międzyuczelniane Centrum Biotechnologii Agregatów Lipidowych, w zakresie kierowanych nośników leków spowodowały, że Wrocław uzyskał unikalny zakres kompetencji poparty strukturą organizacyjną oraz wypracowanymi kontaktami z podmiotami gospodarczymi. Sytuacja ta sprawia, że możliwe jest rozwinięcie we

Wrocławiu gałęzi przemysłu farmaceutycznego unikalnego na skalę europejską. Rozwinięcie prac nad kierowanymi nośnikami leków oraz rozwinięcie produkcji preparatów nowej generacji stworzy atrakcyjne miejsca pracy dla utalentowanej młodzieży, która w chwili obecnej znajduje zatrudnienie prawie wyłącznie za granicami kraju. Dodatkowo uruchomienie produkcji preparatów farmaceutycznych nowej generacji podniesie znacząco konkurencyjność krajowego przemysłu farmaceutycznego i co niebagatelne udostępni leki nowej generacji dla pacjentów. W chwili obecnej preparaty takie są bardzo rzadko stosowane w naszym kraju ze względu na wysokie koszty terapii.

Złożoność i zawansowanie technologiczne kierowanych nośników wymaga rozwinięcia innowacyjnych technik badawczych, oraz zintegrowanego (połączenie teorii z badaniami doświadczalnymi) i interdyscyplinarnego podejścia. Aby podjąć prace nad kierowanymi nośnikami leków należy stworzyć nowoczesne zaplecze badawcze pracujące w zgodzie z wymogami GLP obsługiwane przez doświadczoną i motywowaną kadrę badawczą.

Stworzenie interdyscyplinarnego ośrodka badawczego opartego na zdrowych zasadach gospodarczych jest w chwili obecnej niezmiernie pożądane. Instytucja taka niewątpliwie zintensyfikowała by prace w rozwijaniu technologii leków agregacyjnych na bazie lub poprzez rozszerzenie i sformalizowanie istniejących już struktur i powiązań.

Możliwości kształcenia w zakresie opracowywanej tematyki badawczo-rozwojowej

Od kilku lat prowadzone są prace nad stworzeniem systemu kształcenia specjalistów dla przemysłu w zakresie kierowanych nośników leków, bio-nanotechnologii, inżynierii biomedycznej oraz szeroko rozumianych nauk biologicznych. Stworzono ścieżkę kształcenia dla studentów Uniwersytetu i Politechniki w systemie studiów indywidualnych wspartych przez staże zagraniczne w laboratoriach zajmującymi się istotnymi dla technologii kierowanych nośników leków zagadnieniami. System ten spowodował, że wybrani absolwenci posiadają unikalną wiedzę, która jest połączeniem kilku dyscyplin naukowych w kontekście zastosowań do zawansowanych technologii.

Istniejąca współpraca z przemysłem stwarza dodatkowo wyjątkowe możliwości nauczania aplikacyjnych aspektów nauczanych dyscyplin i specjalności. Możliwość organizowania staży studenckich w zrzeszonych w powstałej strukturze laboratoriach i podmiotach gospodarczych powoduje, że z jednej strony studenci dostają atrakcyjne na rynku pracy doświadczenie i umiejętności. Z drugiej strony podmioty gospodarcze uzyskują cenna możliwość sprawdzenia potencjalnych kandydatów na pracowników.

Kształtujący się zespół dysponuje odpowiednimi warunkami dla kształcenia na wszystkich poziomach – od studiów licencjackich po studia doktoranckie w zakresie prowadzonej tematyki. Zespół posiada również możliwość kształcenia w postaci wyspecjalizowanych kursów dla absolwentów innych uczelni/pracowników firm farmaceutycznych (biotechnologicznych). Współpraca z zakładami przemysłowymi produkującymi leki i surowce do produkcji leków pozwala na organizowanie praktyk zawodowych pozwalających na bliższą orientację absolwentów w dziedzinie wdrażania i produkcji leków.

Wyszczególnione tematy i ich rozwiązania są wynikiem własnych badań podstawowych zależności między stopniem solwatacji polimerów niejonowych oraz stopnia podstawienia polimerów jonowych a właściwościami hydrożeli oraz kserożeli. Badania te mogą być dalej rozwijane pod kątem poszerzenia preparatów leczniczych o inne substancje lecznicze. Badania kliniczne mogą stanowić pole badawcze np. dotyczące przebiegu procesu leczenia w oparciu o badania mikrobiologiczne.

W chwili obecnej realizowane są prace magisterskie w ramach projektów naukowych realizowanych dla wybranych podmiotów gospodarczych. W przyszłości przewiduje się zwiększenie liczby przewodów doktorskich w tematyce, która związana jest z technologią kierowanych nośników leków i będą prowadzone w ścisłej współpracy i współfinansowaniu z podmiotami gospodarczymi.

4. Wnioski

Powyższe rozważania ilustrują możliwości wrocławskiego (dolnośląskiego) środowiska naukowego w tak ważnej dziedzinie jaką jest rozwój leków i produktów służących zdrowiu człowieka. Zebrane informacje wskazują na istotne możliwości współpracy z przemysłem farmaceutycznym i przemysłem surowców do produkcji leków.

Technologie związane z zaawansowanymi (kierowanymi) nośnikami leków należą do najbardziej zaawansowanych gałęzi przemysłu farmaceutycznego i mogą posłużyć jako

punkt wyjściowy dla rozwoju innych powiązanych z nimi bio-nanotechnologii. Pomimo zawansowania naukowego tej dziedziny wiedzy istnieją realne możliwości wdrażania generycznych oraz oryginalnych produktów wytworzonych przez konsorcja akademicko-przemysłowe, które już istnieją lub są w trakcie tworzenia.

Dziedzina produkcji i rozwoju leków jest dziedziną przemysłu opartego na wiedzy zatrudniającej wysoko kwalifikowaną kadrę farmaceutów, chemików, biotechnologów oraz informatyków. Stanowi zatem potencjalnie jedno z głównych miejsc zatrudnienia młodzieży kształconej we wrocławskich uczelniach wyższych.

Zatem finansowanie badań w tej dziedzinie będzie, oprócz oczywistych korzyści w postaci nowych i nowoczesnych produktów, przyczyni się do wzrostu konkurencyjności lokalnego przemysłu i rozwoju gospodarki opartej na wiedzy.

9. Lista zbiorcza projektów proponowanych do finansowania

A. Wykorzystanie bogatych we flawony oraz kwaśne polisacharydy surowców roślinnych jako źródła substancji leczniczych.

B. Inhibitory proteinaz sulfhydrylowych i serynowych jako aktywny składnik leków.

C. Uzyskiwanie czystych składników leków naturalnych i ich charakterystyka w celu zapewnienia możliwości standaryzacji preparatów leczniczych i produktów dietetycznych.

D. Zastosowanie polimerów hydrofilowych pochodzenia naturalnego jako nośników substancji leczniczej w postaci hydrożeli oraz kserożeli.

E. Nośniki leków oparte na agregacyjnych postaciach lipidów.

Dolnośląskie Centrum Diagnostyczne

Wprowadzenie teoretyczne

Choroby układu krążenia oraz choroby nowotworowe. są główną przyczyną zachorowalności, zgonów oraz inwalidztwa w rozwiniętych krajach świata.

Na Dolnym Śląsku, podobnie jak w Polsce, choroby układu krążenia, (do których należy głównie choroba wieńcowa, udar mózgu, niewydolność krążenia i inne choroby serca) są odpowiedzialne za około 50% wszystkich zgonów. Głównymi czynnikami zwiększającymi ryzyko wystąpienia choroby niedokrwiennej serca są: wysoki poziom cholesterolu (gł. frakcji LDL), palenie tytoniu, nadciśnienie tętnicze, niska aktywność fizyczna oraz otyłość. Co roku w Polsce około 100 tys. mieszkańców zapada na zawał serca z czego mniej więcej 40% zachorowań kończy się zejściem śmiertelnym. Promowanie zachowań prozdrowotnych, eliminujących wcześniej wymienione czynniki ryzyka, wczesne wykrywanie (nowoczesna diagnostyka) w tym badania przesiewowe umożliwiające wyodrębnienie osób predysponowanych (tworzenie grup ryzyka), a także prawidłowe i wczesne postępowanie terapeutyczne, mogą w znacznym stopniu zmienić niekorzystne wskaźniki epidemiologiczne choroby niedokrwiennej serca. Na Dolnym Śląsku trendy zachorowalności i umieralności na nią są stale rosnące. W 2004 roku w Województwie Dolnośląskim schorzenia układu krążenia były przyczyną 47,7% wszystkich zgonów. Ponadto najwyższą umieralność obserwuje się w grupach wiekowych po 50 roku życia. Z tego wynika, że na tego typu schorzenia zapadają ludzie coraz młodsi, będący jeszcze przez pewien okres w wieku produkcyjnym. Jak widać z powyższych danych istnieje pilna potrzeba stworzenia systemu zapobiegania oraz wczesnej diagnostyki chorób układu krążenia, celem poprawienia wskaźników zdrowotności populacji zamieszkującej Dolny Śląsk.

Na Dolnym Śląsku choroby nowotworowe w 2003 roku były powodem 24,9% wszystkich zgonów. Jeżeli uwzględnimy fakt, że obecnie w naszym regionie mamy 35% wyleczalność nowotworów złośliwych, możemy oszacować, że co trzeci mieszkaniec Dolnego Śląska będzie chorował w swoim życiu na tę właśnie chorobę. Podobnie jak w przypadku chorób układu krążenia, największą zachorowalność obserwuje się u ludzi po 40 roku życia, a szczyt tego zjawiska przypada na grupę wiekową między 70 a 74 r.ż. bez względu na płeć. Pomimo tego, że obserwuje się tendencję wzrostową zachorowalności to nie wykazuje ona takiej dynamiki jak w

przypadku chorób układu krążenia. Na Dolnym Śląsku wzrost liczby rejestrowanych zachorowań (w latach 1985 – 2003) wynosił u mężczyzn 2,2% a u kobiet 2,9% rocznie.

Jednym z ważniejszych wskaźników skutecznej, wczesnej diagnostyki oraz efektywności postępowania terapeutycznego w chorobach nowotworowych jest tzw. 5-letnie przeżycie. Biorąc pod uwagę wszystkie typy nowotworów różnie umiejscowionych, leczonych w latach 1992-1995 na Dolnym Śląsku, od czasu rozpoznania choroby przeżyło 28% mężczyzn i 42% kobiet. W dalszym ciągu są to wskaźniki dość znacznie odbiegające od parametrów notowanych w krajach Europy Zachodniej oraz USA. Wśród przyczyn takiego stanu wymienia się:

- małą świadomość pacjentów, która powoduje późne zgłaszanie się do lekarza, a co za tym idzie zbyt późne rozpoznanie i leczenie
- brak skutecznego systemu profilaktyki onkologicznej pozwalającej zapobiegać występowaniu chorób nowotworowych
- brak skutecznego systemu wczesnej diagnostyki, w tym badań genetycznych, umożliwiającego zarówno wcześniej zapobiec chorobie nowotworowej oraz, jeżeli już mamy z nią do czynienia, zastosować skuteczne leczenie
- brak centralnego ośrodka naukowego zajmującego się badaniami dotyczącymi biologii chorób nowotworowych w tym nowoczesnych metod diagnostycznych oraz nowoczesnych metod terapeutycznych.

Mając na uwadze wszystkie wyżej przytoczone dane i informacje, wydaje się nieodzownym utworzenie na terenie regionu Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego wykorzystującego innowacyjne techniki diagnostyczne w chorobach układu krążenia oraz w chorobach nowotworowych. Byłby to ośrodek o charakterze naukowym i usługowym opracowujący i wdrażający innowacyjne metody z zakresu biologii molekularnej i genetyki do wczesnego rozpoznawania i monitorowania ww. schorzeń. Aby usprawnić działanie Centrum w jego obrębie należałoby, być może, uruchomić firmę biotechnologiczną zajmującą się wytwarzaniem i sprzedażą nowatorskich technologii oraz produktów niezbędnych w nowoczesnej diagnostyce i leczeniu chorób układu krążenia oraz chorób nowotworowych oraz poszukiwaniem i identyfikacją markerów wybranych chorób (szczególnie nowotworowych), w tym metodami genomiki i proteomiki; konstrukcją sensorów i mikrosensorów oraz tzw. „czipów” diagnostycznych. Dolnośląskie Centrum Diagnostyczne powinno mieć zróżnicowaną strukturę. Dział typowo naukowy zajmowałby się opracowaniem i wdrażaniem nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych do całokształtu procesu leczenia (łącznie z

profilaktyką – nowoczesne badania skriningowe). Dział usługowo-gospodarczy świadczyłby usługi w zakresie diagnostyki placówkom służby zdrowia oraz wytwarzałby konkretne produkty niezbędne do prowadzenia nowoczesnej diagnostyki i leczenia głównie chorób układu krążenia i chorób nowotworowych (np. swoiste testy diagnostyczne). Z kolei dział dydaktyczny prowadziłby edukację na różnych szczeblach w zakresie szeroko pojętej i stosowanej biotechnologii medycznej.

Potencjał merytoryczny akademickiego ośrodka, jakim jest miasto Wrocław w dziedzinie zaawansowanej wiedzy biologii molekularnej jest wystarczający. Ośrodki naukowe zrzeszone w Dolnośląskim Centrum Zaawansowanych Technologii (DCZT): Uniwersytet Wrocławski, Akademia Medyczna, Uniwersytet Przyrodniczy, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Politechnika Wroclawska oraz wiele innych, w tym podmioty gospodarcze, dają gwarancje powodzenia zamierzonego przedsięwzięcia.

Uzasadnienie merytoryczne

Rosnąca liczba zachorowań i zgonów z powodu chorób układu krążenia oraz nowotworowych, także na Dolnym Śląsku, jak również struktura grup wiekowych populacji, które notują najwyższe ich wskaźniki, świadczy o pilnej potrzebie poprawy tej groźnej sytuacji. Tylko skuteczne działania profilaktyczne oraz wczesna diagnostyka mogą zmienić obraz tego problemu. Istnieje dodatkowe uzasadnienie podjęcia sugerowanych działań. Zarówno profilaktyka, badania przesiewowe jak i wczesna diagnostyka są ważnym elementem poprawy ekonomiki w zakresie leczenia chorób układu krążenia oraz chorób nowotworowych, które należą do najbardziej kapitałochłonnych. Dodatkowe korzyści mogące płynąć z utworzenia modelowego Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego, to zainicjowanie działania firmy biotechnologicznej, opartej o potencjał merytoryczny konsorcjantów DCZT w zakresie ww. tematu. Opracowanie nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych oraz związanych z nimi technologii z zakresu głównie biologii molekularnej z wykorzystaniem genomiki i proteomiki będzie gwarantem nowoczesności i może przynieść wymierne korzyści ekonomiczne.

Genomika to nowoczesna dziedzina biologii molekularnej zajmująca się poznawaniem i analizą całych genomów. Poznanie ludzkiego genomu, już w kilka lat po opublikowaniu jego pełnej sekwencji, zaczyna wywierać ogromny wpływ na nauki

biologiczne i medyczne. W medycynie genomikę wykorzystuje się dla celów (i) poznawczych (wykrywanie genów „chorobotwórczych”, poznanie etiopatologii chorób na poziomie molekularnym), (ii) diagnostycznych (poszukiwania nowych markerów, opracowywanie testów opartych na wielu parametrach, charakteryzujących się czułością i swoistością), (iv) leczniczych (farmakogenomika). Stąd, obok medycyny molekularnej, powstało pojęcie **medycyny genomicznej**, która zajmuje się podstawami genetycznymi zróżnicowanych odpowiedzi na różne czynniki środowiskowe, w tym różne formy terapii i leki, oraz osobniczymi różnicami, które mogą predysponować do zapadania na powszechnie występujące schorzenia, jak nowotwory, choroby układu krążenia, choroby metaboliczne jak cukrzyca, otyłość, choroby neurodegeneracyjne. Zadaniem medycyny genomicznej, w tym kontekście, jest również opracowywanie, dopasowanych do pojedynczych pacjentów, zindywidualizowanych programów prewencyjnych i terapii. Wyróżnia się genomikę strukturalną zajmującą się badaniami struktury i organizacji samego genomu oraz genomikę funkcjonalną obejmującą głównie badania dotyczące ekspresji genów. Badania tego typu prowadzi się z użyciem mikromacierzy DNA i analiza taka obejmuje takie podstawowe etapy jak; (i) pozyskanie materiału biologicznego, (ii) izolacja DNA lub RNA, (iii) hybrydyzacja DNA lub cDNA z wzorcowym DNA, (iii) analiza sekwencji korzystająca z bioinformatyki i istniejących baz danych.

Z rozwojem genomiki wiąże się również powstanie innej, nowej dziedziny wiedzy nazwanej **proteomiką**. Proteomika zajmuje się badaniem struktury, funkcji i wzajemnymi zależnościami wszystkich białek występujących w danej komórce, tkance czy organizmie. Stąd przedmiotem jej badań jest **proteom**, pod pojęciem którego rozumiemy wszystkie białka pojawiające się w danym organizmie podczas kompletnego cyklu życiowego. Liczba tych białek jest znacznie większa w porównaniu z liczbą kodujących je genów. U człowieka stwierdza się obecność około 30 tys genów, podczas gdy liczbę białek ocenia się na 200 – 400 tys. (6 – 12 razy więcej). Jest to spowodowane zjawiskiem alternatywnego splicingu i potranslacyjnych modyfikacji. Wskazuje to, że **genomika** zajmująca się badaniami całych genomów nie jest w stanie dostarczyć wszystkich informacji pozwalających na pełne opisanie ludzkiego (oczywiście nie tylko) organizmu w stanie zdrowia i choroby. Stąd proteomika, mimo tego, że jako gałąź nauki wyodrębniła się dopiero w połowie lat 90-tych, wywiera coraz większy wpływ na nauki biomedyczne. I jak się uważa w niedługim czasie powinna, podobnie jak genomika, zrewolucjonizować medycynę, np. zmieniając sposób podejścia

do diagnostyki chorób, oceny ryzyka, określenia prognozy i wreszcie sposobu leczenia opartego na ukierunkowanych terapiach dla zindywidualizowanych pacjentów. Takie podejście miałyby znaleźć zastosowanie w chorobach o najróżniejszych etiologiach, włączając te które stanowią najważniejsze problemy we współczesnej medycynie, jak wspomniane już powyżej choroby układu krążenia, nowotwory, cukrzyca, choroby neurodegeneracyjne. O znaczeniu genomiki i proteomiki dla współczesnej medycyny niech świadczy fakt, że w 6PR Unii Europejskiej jako priorytetowe obszary badawcze wymienia się „Genomikę i biotechnologią dla zdrowia z budżetem 2,255 mld euro i „Zaawansowaną genomikę i jej zastosowanie w medycynie” z budżetem 1,100 mld euro. Tymczasem, w tak dużym ośrodku naukowym jak Wrocław brak jest zespołów zajmujących się tymi problemami, w odróżnieniu od innych polskich centrów naukowych. Stąd, stworzenie laboratoriów zajmujących się genomiką i proteomiką powinno stać się jednym z głównych celów wrocławskich naukowców zajmujących się problematyką biomedyczną. Ich powstanie powinno umożliwić realizację następujących celów strategicznych:

- włącznie się w jeden z najnowocześniejszych kierunków badań biomedycznych z możliwością pozyskiwania środków z funduszy europejskich i pozaeuropejskich,
- wykorzystanie wyników badań w praktyce medycznej, np. przy opracowywaniu nowych testów diagnostycznych czy leków we współpracy z istniejącymi firmami przemysłu biotechnologicznego i farmaceutycznego,
- kształcenia młodych kadr naukowych w zakresie zaawansowanych technologii badawczych, z możliwością utworzenia w środowisku wrocławskim nowej specjalności naukowej jaką jest bioinformatyka.

Ogromne ilości informacji zawarte w sekwencjach nukleotydowych DNA i RNA, sekwencjach aminokwasowych białek, czy dotyczące oddziaływań między biologicznie ważnymi cząsteczkami wymagają tworzenia odpowiednio dużych baz danych, z których korzystanie zmienia zasadniczo klasyczne podejście do problemów biologicznych. Eksperyment, podstawowa strategia stosowana w naukach biologicznych, w tych nowych warunkach wymaga wsparcia ze strony informatyki, co zaowocowało, w ciągu ostatnich kilkunastu lat, powstaniem nowej gałęzi nauki o nazwie bioinformatyka. Wprowadzenie metod komputerowych pozwala na lepsze planowanie eksperymentów laboratoryjnych.

Choroby układu krążenia należą do grupy zaburzeń wieloczynnikowych, dla których prócz wpływów środowiskowych istotne znaczenie mają indywidualne cechy dziedziczne. Ponieważ dość dobrze poznane są czynniki środowiskowe wywołujące schorzenia, niezwykle istotne wydaje się zbadanie czynników genetycznych warunkujących występowanie choroby. W chwili obecnej istnieją dwie alternatywne drogi badań pozwalające na zidentyfikację wariantów genów związanych z chorobami układu krążenia. Pierwsza polega na badaniu genów, których produkty białkowe zaangażowane są w patofizjologię choroby a druga polega na skanowaniu całego genomu w celu wykrycia ważnych grup genów powiązanych ze schorzeniem, których do tej pory opisano ponad 50.

Ponieważ statystycznie 12% wszystkich zgonów ogółem jest spowodowanych chorobą niedokrwienną serca, badania w celu ustalenia genetycznych podstaw wystąpienia choroby ma szczególne uzasadnienie. W dotychczasowych badaniach uwagę poświęcono genom, których produkty związane są z metabolizmem lipidów, układem krzepnięcia i trombolizy, glikoproteinami płytkowymi, układem renina– angiotensyna – aldosteron, czynnikami wazoaktywnymi, czynnikami adhezyjnymi i migracyjnymi dla monocytów i makrofagów, czynnikami zapalnymi i czynnikami proliferacji komórek mięśni gładkich. W chwili obecnej zwraca się uwagę na komponenty zapalne w procesie miażdżycy i stąd kierunek badań genów powiązanych z fibroproliferacyjnym procesem zapalnym. Ważne jest również rozszerzenie badań nad genami, dla których określone polimorfizmy są silnie statystycznie powiązane z chorobą niedokrwienną, mimo nieznamości biologicznego mechanizmu leżącego u podstaw tego związku.

W związku z podjętymi próbami stworzenia komercyjnego testu określającego indywidualne genetyczne predyspozycje do zawału serca (Celera Diagnostics- przewidywany termin rok 2007) uzasadnione wydaje się podjęcie badań nad haplotypami w populacji polskiej, które sprzyjają rozwojowi chorób układu krążenia. W chwili obecnej Celer Diagnostics podaje ponad 20 genetycznych wariantów powiązanych z rozwojem choroby. Zbadanie polimorfizmów genów pozwoliłoby na stworzenie profilu genetycznego populacji, skojarzonego ze zwiększonym ryzykiem zawału serca (geny wybrano ze względu na wysoki OR w badanych grupach chorych).

Podobnie w chorobach nowotworowych rozpoznanie jak i lokalizacja narządowa nowotworu jest ciągle istotnym wyzwaniem diagnostycznym i stwarza wiele problemów metodycznych. Konwencjonalne histochemiczne barwienia są mało

przydatne a oceny cytologiczne komórek są niejednoznaczne z uwagi na biologiczną heterogenność nowotworów, wyrażającą się obecnością odmiennych morfologicznie i immunofenotypowo subpopulacji komórek nowotworowych. Ponadto występowanie komórek międzybłonka dodatkowo utrudnia diagnostykę różnicową i stanowi istotną przyczynę pomyłek diagnostycznych w ocenie komórek nowotworowych płynów wysiękowych. W diagnostyce różnicowej komórek pochodzących z płynów z jamy otrzewnowej lub opłucnowej istnieje możliwość zastosowania odpowiednio dobranego panelu przeciwciał monoklonalnych, które umożliwiają potwierdzenie lub wykluczenie procesu nowotworowego oraz ułatwiają określenie pochodzenia tkankowego i lokalizację narządową nowotworu. Obecnie do różnicowej immunocytydiagnostyki pierwotnych i przerzutowych litych nowotworów złośliwych stosuje się przeciwciała monoklonalne, wykrywające antygeny charakterystyczne dla danego nowotworu (tumor associated antigens), takie jak: cytokertyny, wimentyna, desmina, pozwalające określić pochodzenie tkankowe nowotworu.. W immunofenotypowej diagnostyce raków przewodu pokarmowego ustaloną wartością diagnostyczną posiada komplementarne zastosowanie dwóch przeciwciał to jest: CEA i CA19-9 wykazujących wysoką reaktywność w stosunku do komórek nowotworowych wywodzących się z nowotworów przewodu pokarmowego. Ważny z punktu klinicznego problem diagnostyczny stanowią nowotwory przerzutowe do płuc. Najczęściej są to raki jajnika, sutka oraz żołądka. W immunodiagnostyce różnicowej zmian przerzutowych wykorzystuje się przeciwciała rozpoznające antygeny związane z nowotworami, charakterystyczne dla określonych nowotworów np. dla raka jajnika - OC125, dla raka sutka - CA15.3 i BRST-2 oraz receptory steroidowe (ER, PR), dla raka żołądka – CEA i CA19-9.

Dodatkowe możliwości diagnostyczne stworzył rozwój biologii molekularnej, zwłaszcza wykrywanie produktów białkowych kodowanych przez onkogeny lub geny supresorowe. Wyniki badań immunohistochemicznych jednoznacznie wykazały, że stwierdzenie jądrowej obecności białka p53 w znacznym odsetku komórek wskazuje na obecność procesu złośliwego u chorego. Wprowadzenie badań immunohistochemicznych do diagnostyki histologicznej nowotworów układu nerwowego stanowi w około 20% przypadków podstawę rozpoznania procesu nowotworowego. Zastosowanie swoistych przeciwciał monoklonalnych pozwala na prowadzenie diagnostyki różnicowej w obrębie pierwotnych nowotworów ośrodkowego układu nerwowego, a także na

różnicowanie między zmianami pierwotnymi w mózgu, a przerzutami raka sutka, płuc, żołądka, jajnika oraz czerniaka do mózgu.

Inna możliwość wykorzystania badań immunohistochemicznych to oznaczanie produktów białkowych wybranych genów celem określenia przebiegu klinicznego choroby nowotworowej oraz możliwości zastosowania alternatywnej metody leczenia. Biologiczna heterogenność ludzkich nowotworów złośliwych jest jednym z czynników określających ich odmienny przebieg kliniczny. Wyodrębniono grupę klasycznych parametrów kliniczno-patologicznych (takich jak: typ histologiczny nowotworu, stopień zróżnicowania, stopień klinicznego zaawansowania choroby), które pozwalają określić rokowanie kliniczne i ustalić wskazanie do leczenia. Obok uznanych parametrów klinicznych wyodrębniono grupę białek – biomarkerów, których obecność lub brak w komórkach nowotworowych koreluje z przebiegiem klinicznym choroby i stanowi podstawę do zastosowania terapii celowanej.

Funkcjonowanie planowanego Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego znajdzie bardzo mocne merytoryczne wsparcie w działalności Instytutu Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN (IITD PAN) we Wrocławiu. Instytut prowadzi zarówno badania o charakterze podstawowym jak i wspomniane już działania o znaczeniu aplikacyjnym i diagnostycznym w terapii i prewencji chorób oraz poszukiwania nowych metod badawczych. Specjalności naukowe IITD obejmują: immunologię doświadczalną i kliniczną, immunogenetykę, transplantologię, biochemię, immunochemię, biotechnologię, immunologię nowotworów, immunologię infekcyjną, mikrobiologię, fagoterapię zakażeń bakteryjnych, wirusologię, biologię molekularną i terapię doświadczalną.

Instytut posiada Polską Kolekcję Mikroorganizmów (PCM), największą w kraju wchodzącą w skład Europejskiej (ECCO) i Światowej (WFCC) Federacji Kolekcji Mikroorganizmów. Kolekcja ta obejmuje około 3000 szczepów bakterii. Gromadzone szczepy to w dużej mierze szczepy typowe – otrzymane ze znanych światowych kolekcji (ATCC, NCTC, CIP, CCM, JCM, DSM, CNCC, CCUG, NRRL i inne). Szczepy są konserwowane (liofilizacja), przechowywane i dostarczane w miarę potrzeby pracownikom Instytutu oraz zainteresowanym laboratoriom krajowym i zagranicznym. Szczepy kolekcji służą jako referencyjny materiał badawczy. Kolekcja obejmuje zestawy szczepów do badania aktywności antybiotyków, środków dezynfekcyjnych, związków rakotwórczych, lizozymu i fagocytów. Dysponujemy m.

innymi szczepami znanymi z produkcji antybiotyków, enzymów, białka A, etanolu, substancji czynnych immunologicznie oraz szczepami znanymi z degradacji fenolu, toluenu i cyjanków. Zainteresowanym udziela się informacji na temat źródeł, cech i wymogów drobnoustrojów oraz udostępnia się nasz Katalog Drobnoustrojów.

Kolekcja Linii Komórkowych: Kolekcja zgromadziła, w ciągu ponad 25-letniej działalności, ponad 200 referencyjnych linii komórkowych, około 30 linii wariantowych, klonów i selektantów, kilkanaście linii hybrydoma produkujących przeciwciała monoklinalne, oraz ponad 20 linii mysich nowotworów, pasażowanych *in vivo*. Kolekcja prowadzi też hodowle pierwotne i krótkoterminowe komórek ludzkich i zwierzęcych oraz ustala i charakteryzuje nowe linie komórkowe m. in. za pomocą transfekcji odpowiednio onkogenami lub genami wirusowymi. Z zasobów Kolekcji korzystają wszystkie zakłady Instytutu. Ponadto, Kolekcja przekazuje przechowywany materiał innym ośrodkom krajowym oraz współpracującym z Instytutem ośrodkom zagranicznym.

Działające w Instytucie Laboratorium Dawców Szpiku Kostnego otrzymało akredytację z Europejskiej Federacji Immunogenetyki. Jest to jedyne w kraju laboratorium, które otrzymało tego rodzaju akredytację dla typowania antygenów HLA i oznaczania zgodności tkankowej dla celów transplantacji organów. W uznaniu wyróżniającej się pozycji IITD Komisja Europejska przyznała Instytutowi status Centre of Excellence (2002). Instytut dysponuje ponadto nowoczesną zwierzętarnią, spełniającą standardy UE.

Do najważniejszych metod opracowanych w ostatnim czasie, o znaczeniu aplikacyjnym, można zaliczyć: nową metodę oznaczania endotoksyn w surowicy (zgłoszenie patentowe), która jest alternatywna dla jedynego na świecie testu biologicznego – *Limulus ameocyte* assay, badania nad zastosowaniem glejowych komórek węchowych w leczeniu urazowych uszkodzeń rdzenia kręgowego u ludzi, oryginalna metoda wydajnej hodowli cząstek fagowych i oczyszczania aktywnych fagów (zgłoszenie patentowe), a na wyróżnienie zasługuje działanie Ośrodka Terapii Fagowej.

Instytut od kilkudziesięciu lat prowadzi badania nad właściwościami biologicznymi i zastosowaniem terapeutycznym bakteriofagów – wirusów bakteryjnych niszczących swoiście różne szczepy bakteryjne. Instytut dysponuje metodami izolacji bakteriofagów oraz przygotowania preparatów fagowych. Z uwagi na narastający problem antybiotykooporności bakterii Instytut utworzył w 2005 roku Ośrodek Terapii

Fagowej, którego zadaniem jest w szczególności prowadzenie terapii fagowej w oparciu o typowanie fagowe i przygotowywane w Instytucie Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN preparaty fagowe. Jest to drugi ośrodek na świecie, obok Tbilisi (Gruzja), zajmujący się tego rodzaju terapią i pozycja IITD w tej dziedzinie znajduje duże uznanie w literaturze fachowej i prasie zagranicznej. Ponieważ dotychczas nie są dostępne wyniki standardowych badań klinicznych preparatów fagowych ta forma terapii dostępna jest wyłącznie w ramach eksperymentu leczniczego.

Obecnie w Ośrodku Terapii Fagowej we współpracy z Laboratorium Bakteriofagowym Instytutu realizowany jest projekt: „Eksperymentalna terapia fagowa infekcji bakteryjnych opornych na antybiotykoterapię, w tym zakażeń MRSA” (kierownik prof. dr hab. med. Andrzej Górski), który uzyskał pozytywną opinię Komisji Bioetycznej. Celem projektu jest eksperymentalne leczenie przewlekłych, objawowych, opornych na antybiotykoterapię zakażeń bakteryjnych za pomocą bakteriofagów. Leczenie bakteriofagami może dotyczyć także zwierząt hodowlanych.

Instytut wykonuje także wiele ekspertyz naukowych w zakresie m. in.: typowania antygenów zgodności tkankowej HLA dla Regionalnego Ośrodka Przeszczepiania Nerek, Centrum Transplantologii POLTRANSPLANT w Warszawie, Szpitala Klinicznego Dzieciątka Jezus w Warszawie, Ośrodka Przeszczepiania Szpiku we Wrocławiu i innych ośrodków w Polsce; izolacji i identyfikacji patogennych drobnoustrojów z powierzonego materiału, oznaczania wrażliwości tych drobnoustrojów na swoiste bakteriofagi, wyboru bakteriofagów do terapii i przygotowania swoistych lizatów fagowych do terapii prowadzonych w szpitalach klinicznych w całej Polsce; wykonywania ekspertyz sądowych w sprawie o dochodzenie ojcostwa metodą polimorfizmu minisatelitarnego DNA i na podstawie analizy antygenów HLA.

Identyfikacja grzybów halucynogennych ze wskazaniem najpowszechniej stosowanych metod oznaczania substancji halucynogennych z grzybów we krwi

Obecnie powszechnym problemem społecznym jest sprawa uzależnień, szczególnie młodzieży, od różnych związków chemicznych występujących naturalnie. Wynika stąd pilna potrzeba określenia rodzaju i zawartości związków halucynogennych dostępnych w źródłach biologicznych z terenu Polski oraz metod ich identyfikacji we krwi. Od kilku lat obserwuje się stały wzrost liczby ujawnianych przestępstw ściganych

na podstawie ustawy o przeciwdziałaniu narkomanii, w tym przemytu i nielegalnego wytwarzania narkotyków. Na terenie spokojnych dotąd województw (w tym województw dolnośląskie i opolskie) dynamicznie wzrasta przestępczość narkotykowa. Z danych statystycznych wynika, że na terenie całego kraju w dalszym ciągu utrzymuje się wzrost podaży narkotyków i popytu na te środki, szczególnie wśród młodych ludzi. Narkotyki dostępne są już praktycznie nie tylko w dużych miastach, ale także w mniejszych miejscowościach, a co najgorsze również na terenie szkół. W ciągu jedenastu lat prawie pięciokrotnie powiększyła się grupa uczniów, którzy próbowali nielegalnych substancji odurzających. Pochodne konopi indyjskich i ruteckich (marihuana i haszysz) to zdecydowanie najbardziej powszechnie stosowany nielegalny narkotyk (w Polsce używa go stale 6,3% młodzieży w ogóle, a w Czechach aż 22,1%). Następnym narkotykiem najczęściej konsumowanym jest amfetamina i jej pochodne, w tym głównie *Ecstasy*. Zaznacza się spadek zainteresowania LSD, który rekompensowany jest popytem na grzyby halucynogenne (np. łysiczka lancetowata) oraz inne halucynogeny pochodzenia roślinnego. Choć rozpowszechnienie stosowania „magicznych grzybków” jest stosunkowo niewielkie, są one najczęściej stosowanym środkiem halucynogennym w 12 Państwach Członkowskich UE (w Polsce ok. 20% odurzeń - według badań sieci „*Znaczenie i użytkowanie grzybów trujących w tym halucynogennych na terenie Polski i krajów ościennych*”).

Dolny Śląsk, a szczególnie rejon Karkonoszy, to jeden z głównych regionów gdzie grzyby te są zbierane. Zjawisko narkotyzowania się grzybami halucynogennymi ma w Polsce coraz szerszy zasięg. Istnieje zatem potrzeba zdefiniowania tego typu grzybów ze wskazaniem najczęściej używanych, opracowanie przewodnika dla potrzeb policji, identyfikacja głównych składników odpowiedzialnych za efekty narkotyczne, opracowanie metod standardowego oznaczania poziomu tych substancji w materiale biologicznym, w osoczu i moczu (w tym i metod immunologicznych - tzw. testów paskowych).

Pod względem prawnym aktualnie obowiązująca ustawa z dnia 29 lipca 2005 r. „*O przeciwdziałaniu narkomanii*” nie precyzuje dokładnie, które gatunki grzybów zaliczone są do kategorii grzybów halucynogennych. Mówi ona jedynie, iż „*grzyby halucynogenne, są to grzyby zawierające substancje psychotropowe*”. Taki stan prawny pozostawia wiele miejsca do subiektywnej interpretacji zapisów tej ustawy. Przykładem takiej interpretacji może być przypadek muchomora czerwonego, który posiada dobrze poznane właściwości halucynogenne. Substancje czynne tego grzyba – kwas ibotenowy

i muscimol, nie zostały umieszczone w wykazie środków psychotropowych we wspomnianej ustawie.

Brak jest jednoznacznych informacji, które precyzują sposoby określania zawartości substancji halucynogennych w grzybach oraz informacji, które gatunki należy bezsprzecznie zaliczyć do kategorii halucynogennych.

Grzyby halucynogenne („magiczne grzyby”, „grzybki-halucynki”), to grupa grzybów, które zawierają substancje psychoaktywne powodujące doznania narkotyczne. Grzyby te należą do grupy trzeciego typu toksyczności określanego neurologicznym oraz ze względu na działanie na człowieka sklasyfikowane są do szóstej grupy toksyczności (halucynogenne). Obecnie znanych jest ok. 80 gatunków grzybów posiadających właściwości halucynogenne. należące głównie do rodzaju *Psilocybe*, sporadycznie do rodzajów *Gymnopilus* i *Panaeolus* [NUGENT I SAVILLE, 2004]. W Europie rośnie kilkanaście gatunków *Psilocybe*, jednakże działanie halucynogenne wykazuje tylko kilka z nich. Najczęściej wymienia się: *Psilocybe semilanceata* (Fr.) Quel., *Psilocybe bohemica*, *Psilocybe montana*, *Psilocybe cyanescens* Wakef.

W naszej strefie klimatycznej oprócz powszechnej wśród zbieraczy łąszki lancetowatej, na łąkach rośnie kilkadziesiąt podobnych gatunków grzybów, praktycznie nierozróżnialnych dla laików. Gatunki te stanowią poważne zagrożenie życia dla amatorów odurzania, którzy przez niewiedzę konsumują silnie trujące grzyby, jak na przykład stożogłówki (*Conocybe*), czy hełmówki (*Galerina*). Grzyby te powodują pobudzenie psychoruchowe, halucynacje, uczucie niepokoju. Przy niewłaściwym stosowaniu może dojść nawet do ostrej psychozy. Człowiek w takim stanie traci świadomość i może być bardzo niebezpieczny dla siebie i innych. Osoby często zażywające substancje halucynogenne wykazują podwyższony poziom agresji [<https://hyperreal.info/>].

SUBSTANCJE AKTYWNE WYSTĘPUJĄCE W GRZYBACH

Głównymi substancjami o właściwościach halucynogennych występującymi w grzybach są **psylocybina** (4-fosfonyloksy-N,N-dimetylotryptamina) i towarzyszący jej drugi alkaloid **psylocyna** (4-hydroksy-N,N-dimetylotryptamina). Oprócz tych związków, w grzybach stwierdzono również obecność **baeocystyny** (4-fosforyloksy-N-metylotryptaminy) będącej pochodną psylocybiny, a różniąca się od niej jedynie

brakiem podstawnika metyloвого przy azocie w łańcuchu bocznym, oraz **norbaeocestyny** (4-fosforyloksytryptaminy) występującej zazwyczaj w ilościach śladowych.

Wśród metod stosowanych do analizy jakościowej i ilościowej substancji o właściwościach narkotycznych wyróżnia się:

Metody immunochemiczne nie wymagające dodatkowych technik izolacji z materiału biologicznego (krew, mocz) wykorzystujące zdolność organizmu do wytwarzania przeciwciał dowolnych leków.

Metody analizy instrumentalnej, z których najbardziej przydatną i efektywną do oznaczeń substancji psychoaktywnych zarówno ilościowych jak i jakościowych obecnie wysokosprawna chromatografia cieczowa (HPLC). Zastosowanie tej metody do celów identyfikacyjnych wzrosło szczególnie po wprowadzeniu techniki detekcji typu *diode-array*. Ten typ detekcji pozwala uzyskać obok sygnału piku danego związku na chromatografie jego widmo UV (200-350 nm) w układzie trójwymiarowym, potwierdzające jego jednorodność. Ta właściwość detektora *diode-array* znacznie podnosi możliwości identyfikacji związków [BOGUSZ I WU, 1991; FERARA I IN., 1992; LOGAN I IN., 1990].

Wykorzystanie HPLC z możliwością użycia innych detektorów: UV, fluorescencyjnym, chemiluminescencyjnym, elektrochemicznym, woltametrycznym i masowym, pozwala na uzyskanie wysokiego stopnia odzysku substancji halucynogennych, wysoką selektywność pomiaru oraz niewielki nakład czasu niezbędny do wykonania pomiarów. Metoda ta została z powodzeniem użyta do badania obecności i stężenia psylocyny w próbkach krwi, poziomu psylocyny i psylocybiny w suszu grzybowym, oraz poziomu kwasu ibotenowego w sporach i kapeluszach muchomora czerwonego.

Kolejną metodą identyfikacji oraz analizy ilościowej związków o aktywności halucynogennej jest metoda chromatografii gazowej i spektrofotometrii masowej (GC-MS) z równoczesną możliwością korzystania z biblioteki widm masowych np. systemu HP 5997 OC MS/MD Chemstation. Wśród możliwych technik analitycznych w tym układzie, zastosowanie znalazła techniki SIR (*selected ion recording*) oraz SIM (*selected ion monitoring*) stosowane dla niższych stężeń związków halucynogennych. Techniki te pozwalają na monitorowanie zmian intensywności wybranych

specyficznych fragmentów cząsteczki tworzących widmo masowe. Dane uzyskane dla materiału badawczego, mogą znaleźć potwierdzenie w komputerowym układzie porównawczym z odpowiednim wzorcem wybranym z banku widm. Metoda GC-MS znajduje również zastosowanie w analizie ilościowej. Rutynowo, z uwagi na oznaczalność, stosuje się technikę SIM z równoczesnym użyciem wzorca wewnętrznego, którym jest pochodna deuterowana oznaczanego związku. Metoda ta została z powodzeniem zastosowana do identyfikacji psylocyny, zarówno w materiale grzybowym, jak również w próbkach krwi i moczu.

W rutynowych badaniach toksykologicznych zastosowanie znajdują również programy systematycznej analizy ksenobiotyków, wśród których wymienić można system Remedi HS (Bio-Rad). Program Remedi HS oparty jest na zasadach wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC) i detekcji UV. System ten, który umożliwia szybką analizę około 500 leków i ich metabolitów w układzie wielopunktowego pomiaru UV (*multiwavelength ultrafiolet detection*), znalazł również zastosowanie w analizie substancji psychotropowych zawartych w grzybach halucynogennych. Metodą tą zidentyfikowano psylocynę w moczu

Najnowszym rozwiązaniem analitycznym jest zastosowanie chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią masową (LC-MS). Osiągane progi detekcji dla oznaczeń wielu związków w tym układzie są niższe aniżeli uzyskane w systemie GC-MS i najczęściej występują w zakresie od 10 ng/ml. Z zastosowaniem techniki chromatografii cieczowej sprzężonej ze spektrometrią mas z jonizacją przez rozpylanie w polu elektrycznym (LC/MS-ESI), opracowano szybką identyfikację wielu substancji o właściwościach narkotycznych, takich jak amfetamina, LSD oraz psylocybina.

Metodą służącą najczęściej do rozdziału związków o niewielkich masach cząsteczkowych jest strefowa elektroforeza kapilarna (CZE). Znalazła ona również zastosowanie w identyfikacji i określeniu zawartości substancji o właściwościach halucynogennych w grzybach. Pomiary psylocybiny zostały przeprowadzone w systemie P/ACE 5000 i pozwoliły na dokładne określenie zawartości psylocybiny oraz baeocestyny w próbkach grzybów. [PEDERSEN-BJERGAARD I IN., 1997].

Inne metody

W ostatnich kilkudziesięciu latach nastąpił znaczny rozwój technik analitycznych opartych o zastosowanie metod biologii molekularnej. Metody te w oparciu o techniki PCR są również wykorzystywane do identyfikacji grzybów halucynogennych. bez konieczności mikroskopowej analizy zarodników, czy też makroskopowego rozpoznania materiału w postaci zasuszonej. Metoda pozwala na identyfikację gatunkową bezpostaciowej grzybni oraz pozwala na wykazywanie obecności np. łysiczki w mieszaninach suszu różnych gatunków grzybów.

W zakresie diagnostyki molekularnej ważne są badania mechanizmów oporności patogennych mikroorganizmów, w tym grzybów, na związki metali ciężkich i inne inhibitory oraz poszukiwanie nowych fungicydów w aspekcie medycznym i ochrony środowiska naturalnego. Badając te zależności opracowano nową metodę diagnostyczną pozwalającą na identyfikację patogennych mikroorganizmów. Do tej pory we współpracy z Akademią Medyczną, Politechniką Wrocławską i Zakładem Chemii i Ochrony Środowiska U.Wr. wyjaśniono molekularne mechanizmy oporności komórek eukariotycznych na związki arsenu.

Wyjaśniono środowiskowe uwarunkowania pasożytów oraz przebadano immunologiczne aspekty oddziaływań pasożyt-żywiciel. Opracowano metody mikrobiologiczne w ochronie zdrowia i środowiska. Aktualnie prowadzone są prace nad wektorową rolą kleszczy oraz komarów w zakażeniach krętkami *Borrelia burgdorferi*. Ponadto, charakteryzuje się środowiskowe entomopatogeny szczepów *Bacillus thuringiensis* wykorzystywanych do zwalczania szkodliwych i uciążliwych owadów.

PODMIOTY WSPÓLPRACUJĄCE

(podmioty gospodarcze z rejonu Dolnego Śląska, potencjalnie zdolne do współdziałania w zakresie badawczo-rozwojowym i wdrożeniowym)

Na terenie Dolnego Śląsk zlokalizowanych jest kilkanaście firm farmaceutycznych, które mogą być zainteresowane współpracą w zakresie nowych technologii, leków czy testów diagnostycznych. Niektóre z nich posiadają nowoczesne zaplecze aparaturowe oraz duże doświadczenie w wytwarzaniu produktów farmaceutycznych. Wydaje się, że zarówno lokalizacja jak i potencjał wytwórczy sprzyjają podjęciu działań zmierzających do zainteresowania tych firm planowanym

projektem w ramach DCZT. Zasady współpracy oraz formy dalszej działalności w ramach Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego należy określić indywidualnie, dopasowując profil produkcyjny poszczególnych firm.

Firmy farmaceutyczne zajmujące się produkcją leków i parafarmaceutyków oraz środków higienicznych, zlokalizowane na terenie Dolnego Śląska:

1. AVICENNA-ÖIL – parafarmaceutyki (Wrocław)
2. GALENA, Farmaceutyczna Spółdzielnia Pracy – leki, parafarmaceutyki (Wrocław)
3. HASCO-LEK – leki, parafarmaceutyki (Wrocław)
4. HERBAPOL-WROCLAW S.A. – leki, parafarmaceutyki (Wrocław)
5. LABOR Farmaceutyczno-Chemiczna Spółdzielnia Pracy - parafarmaceutyki (Wrocław)
6. ORGANIQUE – higiena osobista, środki toaletowe (Wrocław)
7. PFO VETOS – FARMA - leki, parafarmaceutyki (Wrocław)
8. PRZEDSIĘBIORSTWO FARMACEUTYCZNE JELFA S.A. – leki, parafarmaceutyki (Jelenia Góra)
9. S-LAB Laboratoria Biotechnologiczne - parafarmaceutyki (Wrocław)
10. SCA HYGIENE PRODUCTS – artykuły higieniczne i toaletowe (Oława)
11. TORF CORPORATION Fabryka Leków – wyroby farmaceutyczne (Kąty Wrocławskie)
12. US PHARMACIA - leki (Wrocław)
13. 3M - parafarmaceutyki (Wrocław)

MOŻLIWOŚCI IDENTYFIKACJI I OZNACZANIA SUBSTANCJI HALUCYNOGENNYCH W LABORATORIACH DOLNEGO ŚLĄSKA

Badania strukturalne substancji halucynogennych za pomocą metody NMR i HPLC:

Zakład Chemii Bioorganicznej Politechniki Wrocławskiej

Kierownik: Prof. Paweł Kafarski (Tel.: +713203458)

Wybrzeże Wyspiańskiego 27

50-370 Wrocław

Rozdział i identyfikacja chemicznych substancji halucynogennych metodą chromatografii gazowej, HPLC i elektroforezy kapilarnej:

Zakład Chemii Ekologicznej Uniwersytetu Opolskiego

Kierownik: dr hab. Piotr Wieczorek (tel.: +774545841 w. 2545; 2550)
ul Oleska 48, 45-052 Opole

Badania materiału biologicznego za pomocą PCR:

Zakład Techniki Molekularnych A.M.

Kierownik: Dr hab. Tadeusz Dobosz (Tel.: +717841588)
ul. M. Curie-Skłodowskiej 52, 50-368 Wrocław

Opracowanie metody immunologicznej oznaczania substancji halucynogennych:

Zakład Immunologii Chorób Zakaźnych IITD. PAN

Kierownik: Prof. dr hab. Andrzej Gamian (Tel.: +71 370 99 86)
ul. Rudolfa Weigla 12, 53-114 Wrocław

Jak widać z powyższego zestawienia na Dolnym Śląsku brak jest typowych firm biotechnologicznych zajmujących się produkcją środków i materiałów diagnostycznych. Stworzenie takiej firmy w ramach proponowanego projektu wypełniłoby istniejącą lukę w strukturze tej gałęzi przemysłu na Dolnym Śląsku.

**WYSZCZEGÓLNIENIE I OPIS TEMATÓW ORAZ ZADAŃ GOTOWYCH DO
WDROŻENIA ZE WSKAZANIEM EWENTUALNEGO MIEJSCA
WDROŻENIA**

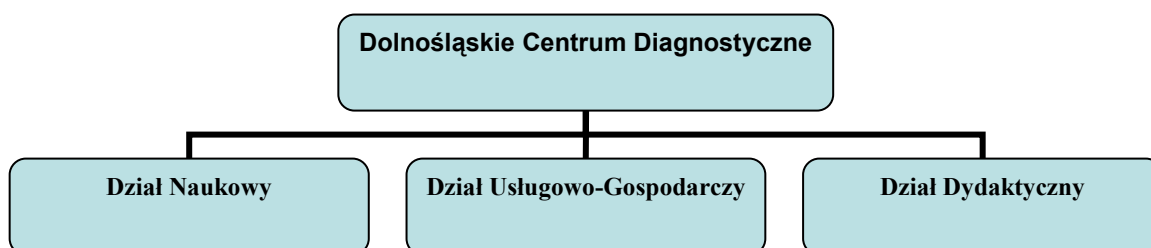
**Utworzenie Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego wykorzystującego
innowacyjne techniki diagnostyczne**

W ramach ww. placówki miałyby powstać trzy jej podjednostki merytorycznie i personalnie powiązane ze sobą:

1. **Dział Naukowy** – opracowywanie i wdrażanie nowych metod diagnostycznych i terapeutycznych w procesie leczenia głównie chorób układu krążenia oraz chorób nowotworowych.
2. **Dział Usługowo-Gospodarczy** – świadczenie usług w zakresie nowoczesnej diagnostyki molekularnej dla placówek służby zdrowia oraz wytwarzanie komercyjnych produktów (np. testy diagnostyczne, przeciwciała do diagnostyki i badań naukowych itp.) wykorzystywanych w diagnostyce i leczeniu przede wszystkim chorób układu krążenia oraz chorób nowotworowych.

3. **Dział Dydaktyczny** – prowadzenie edukacji (kursy, szkolenia, seminaria, sympozja itp.) w zakresie nowoczesnych metod badawczych i diagnostycznych z wykorzystaniem instrumentów biologii molekularnej.

**Proponowana struktura organizacyjna
Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego**



Dolnośląskie Centrum Diagnostyczne może być zorganizowane na bazie już istniejących obiektów (prace adaptacyjne) lub wybudowane na terenie zlokalizowanym w bezpośrednim sąsiedztwie kompleksów uczelni: Akademia Medyczna – Uniwersytet Przyrodniczy – Uniwersytet Wrocławski – Politechnika Wrocławska. Wydaje się, że lokalizacja obejmująca teren miasta Wrocławia jest warunkiem przesądzonym i koniecznym z punktu widzenia potrzeb całego regionu Dolnego Śląska, który w przyszłości ma być objęty tym przedsięwzięciem. Co do lokalizacji szczegółowej, to sąsiedztwo wiodących placówek naukowych, będących bezpośrednimi udziałowcami ww. projektu jest korzystne pod kilkoma względami:

- koncentracja potencjału merytorycznego (kadra pracowników naukowych ww. uczelni)
- koncentracja zaplecza badawczego (aparatura, laboratoria, bazy danych itp.)
- koncentracja zaplecza dydaktycznego (sale wykładowe, seminaryjne itp.)
- bliskość ww. spowoduje większą integrację oraz efektywność działań podejmowanych w ramach Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego.

Następnym niezbędnym warunkiem, którego spełnienie jest nieodzowne do utworzenia Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego, będzie wyposażenie go w odpowiednią aparaturę badawczą. Jest to duży koszt zważywszy, że dotyczy on sprzętu z zakresu biologii molekularnej, a w tym genetyki. Oczywiście częściowo można bazować na już posiadanej aparaturze poszczególnych placówek naukowych, ale do pełnego funkcjonowania Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego nieodzowne jest własne bogate zaplecze aparaturowe, tym bardziej, że ma ono służyć także działalności usługowej.

Kolejnym istotnym etapem, a zarazem składową przyszłego Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego jest dział zajmujący się gospodarczym wykorzystaniem opracowanych technologii medycznych oraz produktów diagnostycznych i leczniczych. Zadanie to nie może obyć się bez udziału podmiotów gospodarczych istniejących już na Dolnym Śląsku (np. przemysł farmaceutyczny), które mogą wejść z tym działem w współpracę ekonomiczną (spółki) oraz technologiczną i naukową. Wykorzystanie ich doświadczenia, zaplecza naukowo-badawczego, zaplecza aparaturowego oraz środków finansowych, pozwoliłoby na wdrożenie w szybkim tempie działalności planowanej placówki oraz dystrybucji i sprzedaży wytwarzanych produktów.

Dział Dydaktyczny Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego będzie bazował na merytorycznym zapleczu konsorcjantów przedsięwzięcia (pracownicy naukowci) oraz (przynajmniej na wstępie) na zapleczu lokalowym niezbędnym do prowadzenia działalności dydaktycznej (sale wykładowe, seminaryjne itp.).

Wszystkie te założenia są tylko pewną koncepcją, która musi być poddana wnikliwej ocenie i twórczej krytyce, zarówno pod względem merytorycznym jak i pod względem możliwości, jakimi będziemy dysponować do przeprowadzenia tego zamierzenia.

WYSZCZEGÓLNIENIE PROBLEMÓW, WAŻNYCH SPOŁECZNIE, DO WSPÓLNEGO ROZWIĄZANIA PRZEZ PRACOWNIKÓW NAUKI Z

PODMIOTAMI GOSPODARCZYMI ŁĄCZNIE Z ZAŁOŻENIAMI PROJEKTÓW BADAWCZYCH

Jak już wspomniano na wstępie tego opracowania, choroby układu krążenia oraz choroby nowotworowe są głównymi przyczynami zachorowalności i umieralności populacji nie tylko w Polsce i na Świecie, ale także w makroregionie Dolnego Śląska. Prawie trzy milionowa społeczność Woj. Dolnośląskiego corocznie umiera na blisko 20 tysięcy schorzeń układu krążenia i chorób nowotworowych. Tendencje wzrostowe przytoczonej statystyki są ciągle niepokojące, tym bardziej, że chorują i umierają ludzie coraz młodsi, będący największym potencjałem rozwijającego się społeczeństwa. Jednym z działań mogących poprawić zaistniałą sytuację może być wdrożenie kompleksowych przedsięwzięć. Dolnośląskie Centrum Diagnostyczne w założeniach jest taką inicjatywą. Jego zadaniem będzie stworzenie systemu projektów badawczych, mających na celu opracowanie nowych metod diagnostycznych przede wszystkim w chorobach układu krążenia oraz chorobach nowotworowych. Metody te powinny w miarę szybko znaleźć zastosowanie zarówno w diagnostyce przesiewowej (wyodrębnienie grup ryzyka z populacji), jak też w rutynowej wczesnej diagnostyce. Pozwoliłoby to na wcześniejsze podjęcie działań zapobiegawczych i terapeutycznych w przypadku ww. schorzeń.

Obok metod diagnostycznych niezbędnym jest również podjęcie kroków mających na celu stworzenie nowych leków, które skuteczniej niż dotychczas oraz z mniejszą toksycznością pozwalałyby na prowadzenie terapii głównie chorób układu krążenia oraz chorób nowotworowych.

Także szeroko pojęta działalność edukacyjna na każdym szczeblu (uczniowie szkół, potencjalni pacjenci, lekarze pierwszego kontaktu, lekarze specjaliści, personel pomocniczy) jest potrzebna do zmiany mentalności w zakresie stosowania profilaktyki oraz wczesnego leczenia. Polska, a w tym także Dolny Śląsk jest w dalszym ciągu regionem, w którym zbyt późna wizyta u lekarza skutkuje skąpym efektem terapeutycznym. Potwierdzają to m. in. wcześniej prezentowane 5-letnie przeżycia w chorobach nowotworowych.

W zakresie prac nad środkami halucynogennymi dla celów diagnostycznych zaplanowano badania, których celem jest:

- a. we współpracy z mykologami określenie występujących na terenie Polski gatunków grzybów halucynogennych i opracowanie ilustrowanego poradnika (dla policjantów),
- b. zdefiniowanie substancji halucynogennych i toksycznych,
- c. zdefiniowanie poziomu zagrożenia (współpraca z policją, badania socjologiczne, współpraca ze lecznicami),
- d. opracowanie metody szybkiej detekcji (najlepiej immunologicznej lub GC/MS) najgroźniejszych związków i udostępnienie jej centrum diagnostycznemu.

Kompleksowe przedsięwzięcie pt. „Dolnośląskie Centrum Diagnostyczne” może być zrealizowane wyłącznie przy współudziale zaplecza naukowego regionu Dolnego Śląska oraz jego potencjału gospodarczego. Dodatkowe korzyści ekonomiczne (nowe miejsca pracy, eksport nowych technologii i produktów) są kolejnym argumentem przemawiającym za inicjatywą wdrożenia tego projektu, szczególnie mając na uwadze rozwój społeczny i gospodarczy makroregionu Dolny Śląsk.

MOŻLIWOŚCI KSZTAŁCENIA W ZAKRESIE OPRACOWYWANEJ TEMATYKI BADAWCZO-ROZWOJOWEJ

We wcześniejszych rozdziałach niniejszego opracowania wskazano na możliwości w ramach Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego, stworzenia Działu Dydaktycznego, który miałby za zadanie prowadzenia szeroko pojętej edukacji w zakresie profilaktyki i diagnostyki najważniejszych schorzeń cywilizacyjnych Dolnego Śląska (choroby układu krążenia i choroby nowotworowe). Oprócz działań typowo edukacyjnych dla szerokiego grona odbiorców, dział ten zajmowałby się również szkoleniem kadry fachowej w nowoczesnej diagnostyce i terapii. Działania w tej dziedzinie mogłyby być realizowane poprzez organizację specjalistycznych kursów i szkoleń dla personelu medycznego zaangażowanego w leczenie ww. schorzeń.

Następnym elementem działalności dydaktycznej mogłoby być prowadzenie szkoleń i kursów w zakresie metod biologii molekularnej wykorzystywanej w medycynie. Tego typu zajęcia podnosiłyby kwalifikacje młodych pracowników naukowych, będących w późniejszym okresie zapleczem merytorycznym dla samego

Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego, jak również dla innych placówek naukowo-badawczych i gospodarczych.

Prowadzenie działalności naukowej jest ściśle związane z upowszechnianiem wyników prowadzonych badań, stąd konieczność organizacji i prowadzenia przez Dolnośląskie Centrum Diagnostyczne cyklicznych seminariów i sympozjów naukowych o tematyce zbieżnej z projektami realizowanymi przez samo Centrum. Integralną częścią całego procesu kształcenia w ramach Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego jest naukowa wymiana zagraniczna, która również musi być brana pod uwagę w nowocześnie funkcjonującej placówce naukowo-badawczej.

WNIOSKI

Z przytoczonego powyżej opracowania pt.: „Koncepcja modelowego Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego wykorzystującego innowacyjne techniki diagnostyczne” nasuwają się następujące wnioski:

1. Przedsięwzięcie Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego może być zrealizowane jedynie przy ścisłej współpracy placówek naukowych Wrocławia (Akademia Medyczna, Uniwersytet Przyrodniczy, Uniwersytet Wrocławski, Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, Politechnika Wrocławska)
2. Do realizacji ww. projektu niezbędne jest wykorzystanie potencjału merytorycznego biorących udział w przedsięwzięciu placówek naukowych.
3. Celem stworzenia podmiotu gospodarczego w ramach Dolnośląskiego Centrum Diagnostycznego, prowadzącego działalność usługową i produkcyjną, należy nawiązać współpracę z już istniejącymi firmami na Dolnym Śląsku, głównie z branży farmaceutycznej i biotechnologicznej.
4. Jedynie poparcie i zaangażowanie w planowane przedsięwzięcie odpowiedniego lobby, skupiającego władze wojewódzkie oraz odpowiednie organizacje na czele z Dolnośląskim Centrum Zaawansowanych Technologii, może stworzyć możliwości na pełną realizację przedstawionego projektu.
5. Należy zabiegać o dodatkowe środki finansowe umożliwiające prowadzenie prób klinicznych oraz zabezpieczenie patentowe innowacyjnych prac. Z braku środków finansowych w Polsce nie wprowadzono do terapii w ciągu ostatnich 25 lat ani jednego oryginalnego, krajowego leku.

BIOTECHNOLOGIA ŻYWNOŚCI I PASZ

Uzasadnienie merytoryczne

Generowane przez zieloną chemię oraz rolnictwo produkty odpadowe stanowią cenne substraty, dla bioprocessów będących podstawą tzw. **białej biotechnologii (biotechnologii przemysłowej)**. Dzięki biotechnologii odnawialne surowce pochodzenia rolnego, przy użyciu komórek pleśni, drożdży, bakterii lub enzymów przez nie produkowanych, są przekształcane w cenne chemikalia, leki, materiały polimerowe, czynniki energetyczne, dodatki konsumpcyjne, specyficzne chemikalia, chiralne prekursorzy farmaceutyków, antybiotyki, witaminy, składniki żywności i pasz, środki zapachowe i smakowe, słodziki, kosmetyki, detergenty, materiały użytkowe, środki spożywcze, biopaliwa etc.

W 2004 roku 5% rynku opanowanego przez przemysł chemiczny był udziałem białej biotechnologii. Przewiduje się jednak, że w roku 2010 udział ten wzrośnie 10% - 20% a w następnych dziesięcioleciach produkty wytwarzane dzięki bioprocessom zdominują rynki światowe.

Wykorzystanie zdobyczy białej biotechnologii umożliwi utylizację odpadów rozwijającego się przemysłu spożywczego oraz produkcji biopaliw (bioetanol, biodiesel) szczególnie odpadowej gliceryny i wywaru gorzelniczego.

Ta sfera badań prowadzona jest głównie w Uniwersytecie Przyrodniczym we współpracy z innymi uczelniami wrocławskimi wyróżnia się znaczącymi osiągnięciami aplikacyjnymi dzięki współpracy z podmiotami gospodarczymi regionu. Do badań o dużym stopniu zaawansowania należą prace dotyczące:

- 1) biotechnologicznego wykorzystania drożdży (*Yarrowia lipolytica*, *Debaryomyces hansenii*, *Kluyveromyces* sp., *Geotrichum* sp.) do biosyntezy kwasu cytrynowego na substratach węglowodanowych i odpadach z produkcji biopaliw. Prace obejmują skrining i doskonalenie szczepów, optymalizację podłoży i parametrów procesowych w systemie ciągłym i półciągłym z wykorzystaniem komórek wolnych jak i unieruchomionych,
- 2) otrzymywania enzymów proteolitycznych pochodzenia mikrobiologicznego (w tym głównie z niekonwencjonalnych drożdży *Yarrowia lipolytica*), charakterystyka ich właściwości i ocena możliwości wykorzystania w przetwórstwie mleka (m.in. do przyspieszania dojrzewania serów i

otrzymywania biopeptydów) oraz w innych branżach przemysłu żywnościowego. Celem prac jest otrzymanie stabilnego preparatu proteolitycznego z tych drożdży oraz ocena jest jego przydatność m.in. do przyspieszania dojrzewania serów i otrzymywania biopeptydów,

- 3) wykorzystania przemysłowego frakcji glicerolu, powstającego jako produkt uboczny przy produkcji biodiesla, oraz innych odpadów przemysłu spożywczego i rolnictwa do produkcji drożdży paszowych wzbogacanych w biopierwiastki,
- 4) produkcji utrwalonych form szczepionkowych z przeznaczeniem do przyspieszenia dojrzewania sera i produkcji jego nowych asortymentów, biologicznej kontroli grzybów toksynotwórczych podczas słodowania ziarna zbóż oraz dezaktywacji odpadów i remediacji gleby,
- 5) mikrobiologicznej syntezy pozakomórkowych hydrolaz bakteryjnych (proteinyazy, keratynazy, amylazy) i grzybowych (beta-glukanazy, ksylanazy, pektynazy, fitazy) i ich zastosowanie do degradacji odpadów roślinnych i zwierzęcych,
- 6) biosyntezy kwasu szczawiowego na olejach roślinnych i produktach ubocznych przemysłu tłuszczowego z udziałem szczepów *Aspergillus niger*. Wykorzystanie surowych płynów pofermentacyjnych zawierających kwas szczawiowy do bioługowania metali,
- 7) optymalizacji i intensyfikacji procesu fermentacji alkoholowej w aspekcie produkcji etanolu jako biopaliwa:
 - a) badania kinetyki fermentacji alkoholowej,
 - b) poszukiwanie nowych rozwiązań konstrukcyjnych bioreaktorów z unieruchomionymi komórkami drożdży na nośnikach naturalnych (alginiany) i porowatych spiekach ceramicznych,
 - c) dobór kultur drobnoustrojów do konwersji skrobi i celulozy zawartej w surowcach odnawialnych,
 - d) przygotowania surowca do procesu fermentacji (bezcisnieniowe uwalnianie skrobi, wykorzystanie procesu ekstruzji).
- 8) poszukiwania nowych surowców dla browarnictwa (np. ziarno pszenżyta, ziarno jęczmienia nieoplewionego) oraz efektywnych i bezpiecznych metod ochrony ziarna przed aktywnością niepożądaną mikroflorą toksynotwórczą.

Zagospodarownie produktów odpadowych z produkcji biopaliw napewno należy do najważniejszych przedsięwzięć w sensie ekonomicznym. Według zaleceń Unii Europejskiej, do roku 2010 każde paliwo powinno zawierać 5,75% estrów lub innego odnawialnego paliwa. W roku 2005 pojawił się w Polsce pierwszy przemysłowy producent biodiesla (Rafineria Trzebinia z Grupy Orlen), która produkuje obecnie około 100 tys. ton rocznie biodiesla, a w planach na najbliższe 3 lata planowany jest wzrost zdolności produkcyjnej do 350 tys.t/rok. Firm zainteresowanych rozpoczęciem tego typu produkcji jest coraz więcej i również na Dolnym Śląsku mają powstać biorafinerie między innymi w Giełbutowie (firma Womarex), w Chruście Nyskiej (Duda) oraz we Wrocławiu (Brasco-Wratislavia). W ramach przygotowywanych przedsięwzięć przewiduje się produkowanie w Polsce ponad 1 mln ton biodiesla rocznie. Krajowe zdolności produkcyjne biodiesla do roku 2010 powinny wynosić zgodnie z dyrektywą 2003/30/EC około 400 tys. t/rok.

W procesie produkcji biodiesla powstaje frakcja glicerynowa w ilości do 20% masy użytego oleju, która zawiera około 40-50% glicerolu. Przy założeniu produkcji estrów w Polsce na poziomie 1 mln/rok, otrzymywać będziemy ponad 100 tys. ton odpadowej gliceryny a w Europie, według prognoz, pod koniec 2010 roku ilość tego odpadu będzie bliska 1mln ton/rok. Przy takich ilościach powstaje problem racjonalnego jej zagospodarowania. O znaczeniu problemu gliceryny niech świadczy fakt, że w 7PR Unii Europejskiej jako priorytetowe obszary badawcze wymienia się temat 3.3.2. „*New uses for glycerol in biorafineries*” - RTD CP S-M.

Obecnie, ze względu na niską cenę (nawet po 15 groszy za kg) staje się ona atrakcyjnym źródłem węgla w procesach biotechnologii przemysłowej. Przetwarzanie gliceryny odpadowej w użyteczne produkty w procesach biotechnologicznych znajduje się dopiero w fazie badań laboratoryjnych nie mniej ich rezultaty są bardzo obiecująca zarówno z powodów ekologicznych jak ekonomicznych.

Do najważniejszych osiągnięć w zakresie wykorzystania gliceryny w procesach białej biotechnologii należy zaliczyć jej biotransformacje do **1,3 propanodiolu oraz kwasów organicznych, głównie cytrynowego i szczawiowego.**

Choć proces biosyntezy 1,3-propanodiolu na drodze fermentacyjnej z wykorzystaniem glicerolu i z użyciem wydajnych szczepów rekombinowanych bakterii jest najbardziej znanym **to transformacja tego odpadu do kwasów organicznych wydaje się być specjalnością ośrodka wrocławskiego i jest unikalna w skali światowej.** Do tej pory jedynie badacze Uniwersytetu w Atenach, przedstawili wstępne

badaniach świadczące o możliwości wykorzystania odpadowej gliceryny z produkcji biodiesla do biosyntezy kwasu cytrynowego.

Biosynteza kwasu cytrynowego. W Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu zastosowano jako producentów tego kwasu wysokowydajne mutanty octanowe drożdży *Yarrowia lipolytica*, uzyskując wysokie końcowe stężenia kwasu cytrynowego (około 200 g/L). W procesie periodycznym-zasilanym, z 200 g/L gliceryny można otrzymać od 140 do 155 g/L jednowodnego kwasu cytrynowego w czasie 128-145 godzin, z wydajnością 70-78%. Są to wartości porównywalne lub nawet wyższe od uzyskiwanych w procesie z udziałem *Aspergillus niger*, powszechnie stosowanym procesem otrzymywania tego kwasu w skali przemysłowej. Tak wysokie wydajności predysponują proces do podjęcia badań aplikacyjnych na skalę przemysłową. Niewątpliwą zaletą zastosowania mutantów octanowych w takim procesie biosyntezy jest bardzo niska produkcja ubocznego kwasu izocytrynowego, którego stężenie w płynie poodowlanym nie przekracza 3,0 g/L

W związku z powyższymi faktami, biosynteza kwasu cytrynowego, z taniego surowca, jakim jest obecnie gliceryna odpadowa, jak również atrakcyjny, z paszowego punktu widzenia, produkt uboczny-biomasa drożdży, pozwala przypuszczać, że ten kierunek zagospodarowania odpadowej gliceryny ma duże szanse aplikacji przemysłowej ze względu na rosnące zapotrzebowanie kwasu cytrynowego i jego soli. Realną przesłanką świadczącą o realności realizacji tego projektu jest fakt podpisania wstępnego porozumienia pomiędzy Katedrą Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu, a angielsko-słowacką firmą „Biotechconsult”, na wyłączność takiej technologii. Prowadzone rozmowy z kilkoma znaczącymi producentami kwasu cytrynowego w Europie, mają zaowocować wdrożeniem takiej technologii w skali przemysłowej.

Biosynteza kwasu szczawiowego Frakcja glicerynowa, kwasy tłuszczowe oraz gliceryna mogą być wykorzystane do bardzo wydajnej i efektywnej biosyntezy kwasu szczawiowego przez grzyby z gatunku *Aspergillus niger*. Niewątpliwym osiągnięciem biotechnologicznym jest uzyskiwanie do 75 g/L kwasu szczawiowego z kwasów tłuszczowych, z wydajnością przekraczającą 150%. Są to w obecnej chwili najlepsze parametry technologiczne na świecie uzyskane na drodze biosyntezy tego kwasu organicznego. Zespół w składzie Waldemar Rymowicz i Maria Wojtatowicz złożyli w

roku 2001 zgłoszenie patentowe na produkcję kwasu szczawiowego z surowców lipidowych z użyciem szczepu produkcyjnego *A. niger* XP.

Obecnie kwas szczawiowy produkuje się metodami chemicznymi, które nie należą do tzw. zielonej chemii, a największym producentem tego kwasu są Chiny. Metoda biologiczna jest metodą wysoce selektywną, w której nie powstają żadne produkty uboczne jak kwas cytrynowy czy glukonowy. Metoda ta może być realnie rozpatrywana jako metoda alternatywna do metody chemicznej.

Produkcja drożdży paszowych W jednostopniowej hodowli ciągłej możliwe jest uzyskiwanie w stanie ustalonym wysokich stężeń kwasu cytrynowego oraz biomasy drożdżowej jako produktu odpadowego, która może być wykorzystana na cele paszowe jako komponent do mieszanek paszowych dla zwierząt monogastrycznych. Biomasa drożdży uzyskana po procesie biosyntezy kwasu cytrynowego zawiera od 19 do 24% białka charakteryzującego się wysoką zawartością aminokwasów egzogennych. Wartość biologiczna białka tych drożdży obliczona metodą chemiczną według Osera stanowi 67% standartowego białka jaja kurzego. Opracowany proces produkcji biomasy drożdży z frakcji glicerynowej jest tani i bezpieczny dla środowiska naturalnego. Tą metodą produkcji zainteresowana jest firma Womarex z Giebułtowa na Dolnym Śląsku, która przygotowuje się do produkcji estrów etylowych.

Gliceryna jest z powodzeniem wykorzystywana także w innych bioprocessach między innymi do biosyntezy kwasów bursztynowego, propionowego i poli γ -glutaminowego oraz produkcji oleju z organizmów jednokomórkowych tzw. Single-Cell-Oil.

Zastosowanie się Polski do wytycznych dyrektywy 2003 / 30 / EC, zalecającej stopniowy wzrost dodatku etanolu do paliw aż do osiągnięcia w 2010 roku pułapu 5,75%, spowoduje znaczny wzrost popytu na przemysłowy alkohol etylowy. Stwarza to szansę rozwoju gorzelnictwa, ale z drugiej strony spowoduje wzrost produkcji **wywaru gorzelniczego**, który jako uciążliwy dla otoczenia musi być racjonalnie zagospodarowany. Ten problem omówiono w rozdziale Agrobiotechnologia i Biotechnologia w ochronie środowiska.

Kolejny kierunek badań dotyczy biologicznie aktywnych substancji występujących w treści jaja w aspekcie ich wykorzystania dla celów nutraceutycznych, biomedycznych oraz w rozwoju innowacyjności w przemyśle żywnościowym. Jaja poza swoją tradycyjną funkcją żywieniową są dobrym surowcem substancji biologicznie

czynnych przydatnych w farmacji, kosmetyce, gospodarce paszowej. Tendencja niekonwencjonalnego wykorzystania tego surowca rozwija się bardzo dynamicznie dzięki możliwości izolacji substancji takich jak: lizozym, awidyna, immunoglobuliny, fosfolipidy, cystatyna, biopeptydy i szereg innych inhibitorów. Substancje te znajdują zastosowanie w lecznictwie, weterynarii oraz utrwalaniu żywności. Szczególną uwagę poświęca się lizozymowi i cystatynie oraz bioaktywnym peptydom o aktywności bakteriocydnej i inhibitorowej wobec wybranych enzymów (m.in. konwertazy angiotensyny) uzyskiwanym na drodze hydrolizy enzymatycznej białek jaj. Otrzymane peptydy mogą być wykorzystane jako nowa generacja związków o właściwościach biocydnych w terapii i ochronie środków spożywczych. Wykorzystanie skojarzonej aktywności preparatów cystatyny i lizozymu w produkcji powłok ochronnych i opakowań umożliwi przedłużenia trwałości oraz zwiększy bezpieczeństwo żywności. W oparciu o ww. projekty opracowano technologię pozyskiwania preparatów białkowych z treści jaja o wysokim standardzie mikrobiologicznym oraz wdrożono technologię odzyskiwania lizozymu z białka jaja w ZJ Ovopol w Nowej Soli. Aktualnie zakład ten produkuje lizozym, który jest wykorzystywany w przemyśle mleczarskim. Powyższe badania, oprócz około 250 publikacji, są przedmiotem 11 patentów lub zgłoszeń patentowych.

Prowadzone badania nad cystatyną na liniach komórkowych wskazują również na jej aktywność antynowotworową, co poszerza wachlarz jej zastosowań terapeutycznych.

Od kilkunastu lat powraca problem roli naturalnych składników w dietetyce człowieka. Szczególnie ostatnie badania dobitnie dowodzą, że związki zwane alkilorezorcynolami a będące długołańcuchowymi pochodnymi orcynolu (1,3-dihydroksybenzenu posiadające łańcuchy od C15 do C27) i występujące szczególnie w pełnoziarnistych produktach zbożowych mogą istotnie obniżyć ryzyko zapadania na nowotwory, w tym szczególnie nowotwory układu pokarmowego. Związki te, mimo swojej wysokiej hydrofobowości ulegają wchłanianiu z przewodu pokarmowego do krwi. Hamując syntezę triglicerydów w adipocytach, mogą działać jako jeden ze składników diety zapobiegającej otyłości a ponadto są induktorami procesu apoptozy w komórkach nowotworowych wątroby. Ponadto wykazano, że pełnią one rolę naturalnych fungicydowych i bakteriocydowych składników uczestniczących w ochronie gospodarza przed inwazją patogenów. W tym ostatnim aspekcie prowadzona jest współpraca z Queensland Government (Australia) oraz Department of Postharvest

Science of Fresh Produce, Agricultural Research Organization (Israel) nad rolą lipidów fenolowych w ochronie owoców mango przed infekcją patogenów grzybowych. W ramach tych badań opracowano procedurę efektywnej ekstrakcji tych związków przy użyciu superkrytycznego ciekłego dwutlenku węgla (SFC) oraz chromatograficznej izolacji poszczególnych homologów z mieszaniny.

Obecność w paszach pochodzenia roślinnego, szczególnie wysokobiałkowych, substancji hamujących enzymy trawienne bywa powodem ich niskiej strawności. Z przeznaczeniem dla przemysłu paszowego określono gatunkowo specyficzną podatność proteinaz trawiennych trzutek różnych gatunków zwierząt hodowlanych na hamowanie obecnymi w paszach inhibitorami, z propozycją wykorzystania tych danych w recepturach doboru najkorzystniejszych składników paszy.

Oddzielną grupę tematyczną w tej sferze zagadnień stanowią badania nad biotransformacjami mikrobiologicznymi i chemiczną syntezą związków biologicznie czynnych. Dotyczą one:

- 1) wykorzystania żywych organizmów do prowadzenia kontrolowanych reakcji chemicznych (biotransformacje) steroidów i proleków w kulturach tkankowych lub wybranych organizmów,
- 2) syntezy związków regulujących rozwój i zachowanie owadów,
- 3) mikrobiologicznej i chemicznej syntezy izoprenoidowych związków zapachowych jako potencjalnych dodatków do żywności,
- 4) chemicznej i mikrobiologicznej modyfikacji lecytyn.

Z tego zakresu badań opublikowanych zostało około 30 publikacji i uzyskano około 40 patentów.

PODMIOTY WSPÓLPRACUJĄCE

(Podmioty gospodarcze z rejonu Dolnego Śląska, które mogą współpracować w zakresie badawczo-rozwojowym i wdrożeniowym)

Na terenie województwa dolnośląskiego zlokalizowane są firmy, które mogą być zainteresowane wprowadzaniem nowych procesów biotechnologicznych w zagospodarowaniu różnorodnych odpadów pochodzących z rolnictwa i przemysłu:

1. Akwawit S.A. Przedsiębiorstwo Przemysłu Fermentacyjnego w Lesznie – producent etanolu,

2. Kompania Spirytusowa Wratislavia Polmos we Wrocławiu – producent bezwodnego etanolu, w budowie nowe instalacje do produkcji biopaliw,
3. Cargill S.A. w Kobierzycach – producent hydrolizatów skrobiowych,
4. Womarex S.A. w Giebułtowiu – przyszły producent biodiesla,
5. Poltegor we Wrocławiu – utylizacja odpadów,
6. Gorzelnie na terenie Dolnego Śląska w liczbie 13 zakładów zlokalizowanych w : Jędrzychowie, Orsku, Miliczu, Okmianach, Radzikowie, Grodźcu, Oleśnicy, Granowie, Wilczkowie, Ogrodnicy, Suchej Dolnej i Wrocławiu.
7. PPH Ubój i Przetwórstwo Indyka, J. Giżewska, Zakład Produkcyjny Słupia Kapitulna,
8. Zakład Przetwórstwa Mięsnego Sp. jawna Dworaczy, Golejewo,
9. Duda Polski Koncern Mięсны, Grąbkowo,
10. Zakład Przetwórstwa Mięsnego Ostrzeszów.
11. Zakłady mleczarskie (Kamienna Góra, Grodków, Ciepłowody, Bolesławiec, Dzierżoniów).

Jak widać z powyższego zestawienia, na Dolnym Śląsku brak jest typowych firm biotechnologicznych mogących wdrażać osiągnięcia biotechnologii przemysłowej.

WYSZCZEGÓLNIENIE I OPIS TEMATÓW ORAZ ZADAŃ BADAWCZYCH GOTOWYCH DO WDROŻENIA ZE WSKAZANIEM EWENTUALNEGO MIEJSCA WDROŻENIA

Na terenie Dolnego Śląska nie funkcjonuje przemysł biotechnologiczny. Szereg opracowań z zakresu zagospodarowania odpadów metodami biologicznymi jest znana. Problem polega na przeniesieniu badań ze skali laboratoryjnej do skali przemysłowej. Brak jest firm biotechnologicznych, w których można by przetestować daną technologię w skali wielkolaboratoryjnej, skali pilotowej czy w skali technicznej. Dopiero wyniki uzyskane w takich warunkach dadzą odpowiedź, czy jest to proces opłacalny od strony ekonomicznej, co w rezultacie może spowodować wdrożenie danego bioprocessu w skali przemysłowej. W obecnej chwili nie ma na terenie naszego województwa fabryk do bezpośredniego wdrożenia bioprocessów wskazanych w niniejszym opracowaniu.

Można jedynie wskazać miejsca do doskonalenie bioprocessów w skali laboratoryjnej w następujących ośrodkach naukowych:

1. Biosynteza kwasów organicznych (cytrynowy, szczawiowy, itakonowy) z odpadowego glicerolu – Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności,
2. Produkcja drożdży paszowych z frakcji glicerynowej - Akademia Rolnicza we Wrocławiu, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności,
3. Produkcja szczepionek bakteryjnych i drożdżowych do bioremediacji gleby i do kompostowania - Akademia Rolnicza we Wrocławiu, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, Poltegor Wrocław,
4. Tlenowa biodegradacja wywaru gorzelniczego – Akademia Ekonomiczne we Wrocławiu, Katedra Bioinżynierii Procesowej.

WYSZCZEGÓLNIENIE PROBLEMÓW, WAŻNYCH SPOŁECZNIE, DO WSPÓLNEGO ROZWIĄZANIA PRZEZ PRACOWNIKÓW NAUKI Z PODMIOTAMI GOSPODARCZYMI ŁĄCZNIE Z ZAŁOŻENIAMI PROJEKTÓW BADAWCZYCH

Zagospodarowanie odpadów z przemysłu spożywczego, z produkcji biopaliw jest jednym z głównych problemów do rozwiązania w Polsce, a także w regionie Dolnego Śląska. Generowane odpady, ich składowanie, oraz brak koncepcji ich racjonalnego zagospodarowania stanowi zagrożenie dla środowiska naturalnego. Osiągnięcia ze strony placówek naukowych Wrocławia, dotyczących wykorzystania nowoczesnych procesów biotechnologicznych w celu zagospodarowania odpadów, stwarza realne możliwości zwiększenia aktywności zarówno ośrodków naukowych, przemysłu, a także wykształconych młodych absolwentów uczelni, co wiąże się z szeroko rozumianym zrównoważonym rozwojem regionu. Wynikiem takich aktywności mogą być zapewne nowe miejsca pracy, ochrona środowiska naturalnego i edukacja społeczeństwa w zakresie jego ochrony oraz pozyskiwanie środków finansowych z różnych źródeł dla realizacji tych zamierzeń.

Stworzenie małych jednostek technologicznych (stacje laboratoryjne przy uczelniach, Centrach Doskonałości, Centrach Zaawansowanych Technologii w Parkach Technologicznych) promujących zdobycze biotechnologii przemysłowej i oferujących gotowe technologie bioprocessów w małej skali dla potencjalnego wdrożenia

przemysłowego jest jedną z dróg rozwiązania problemu przepływu informacji i zdobyczy nauki do przemysłu.

MOŻLIWOŚCI KSZTAŁCENIA W ZAKRESIE OPRACOWYWANEJ TEMATYKI BADAWCZO-ROZWOJOWEJ

We Wrocławiu, w czterech ośrodkach akademickich (Akademia Rolnicza, Politechnika Wroclawska, Uniwersytet Wroclawski, Akademia Ekonomiczna), istnieją kierunki kształcenia studentów w zakresie biotechnologii, w tym także w zakresie biotechnologii przemysłowej głównie w Akademii Rolniczej. Wyżej wymienione uczelnie posiadają kadre, która ma duże doświadczenie w tej dziedzinie, pogłębione licznymi stażami zagranicznymi w europejskich ośrodkach biotechnologicznych. Corocznie wyżej wymienione uczelnie opuszcza rzesza absolwentów wykształcona w tym zakresie. Tylko nieliczni mają szansę pracy w zawodzie. Brak firm biotechnologicznych na terenie Dolnego Śląska pogłębia proces bezrobocia.

Utworzenie małych instalacji biotechnologicznych przy uczelniach lub innych placówkach może być dobrym miejscem pogłębiania swojej wiedzy z zakresu biotechnologii w sferze praktyki. Odbycie krótkoterminowych praktyk technologicznych w takich ośrodkach, które są ujęte w minimach programowych studiów na kierunkach biotechnologicznych, może spełniać pozytywną rolę w kształceniu od strony praktycznej przyszłych absolwentów. Organizowanie specjalistycznych konferencji naukowych dotyczących możliwości wykorzystania białej biotechnologii w zagospodarowaniu np. odpadów może spełniać także pozyteczną rolę dla ośrodków naukowych i zakładów biotechnologicznych. Tylko całościowe rozwiązania bioprocessu, w którym muszą brać udział specjaliści z różnych dziedzin nauki (mikrobiolodzy, chemicy, biochemicy, mechanicy ekonomiści i inni) i przemysłu mogą kompleksowo przygotować ofertę bioprocessu dla wdrożenia w skali przemysłowej.

WNIOSKI

Na podstawie niniejszego opracowania pt. „**Użycie odpadów rolniczych do produkcji użytecznych substancji chemicznych w procesach zielonej chemii i białej technologii - ocena możliwości naukowo- badawczych i wdrożeń**”, można sformułować następujące wnioski:

1. Użycie odpadowej gliceryny z produkcji biodiesla do biosyntezy kwasu cytrynowego, produkcji drożdży paszowych lub do biosyntezy innych użytecznych związków chemicznych wykorzystującej możliwości, jakie oferuje biotechnologia przemysłowa (biała biotechnologia) jest ważnym kierunkiem zagospodarowania takiego odpadu.
2. Podstawowym i najbardziej racjonalnym kierunkiem utylizacji wywaru gorzelniczego jest jego przetwarzanie na produkty paszowe o różnym przeznaczeniu i trwałości.
3. Przetwórstwo serwatki powinno szeroko angażować techniki membranowe i obejmować wykorzystanie wszystkich jej składników, tj. białek serwatkowych, laktozy i soli mineralnych. Przemysł biotechnologiczny, o ile zostanie w Polsce odbudowany, będzie mógł aktywnie uczestniczyć w zagospodarowaniu odcieku po odbiałczaniu serwatki oraz innych produktów jej przetwarzania jako składników podłoży do produkcji rozmaitych wartościowych związków chemicznych przy użyciu drobnoustrojów.
4. Najbardziej perspektywicznym kierunkiem zagospodarowania odpadów ligninocelulozowych wydaje się ich przetwarzanie na paliwa ciekłe, głównie etanol oraz na paszę. Jednak jest kilka problemów czekających na rozwiązanie, tj. konieczność obniżenia kosztów produkcji enzymów celulolitycznych oraz kosztów zabiegów przygotowujących substraty celulozowe do hydrolizy; zwiększenie dynamiki hydrolizy celulozy, limitującej szybkość tworzenia etanolu; *skonstruowanie szczepów efektywnie fermentujących heksozy i pentozy i jednocześnie posiadających aktywność celulolityczną.
5. Problem pełnego zagospodarowania odpadów zwierzęcych na Dolnym Śląsku dotychczas nie jest rozwiązany, gdyż nie produkuje się biogazu z odpadów miękkich, kości oraz odpadów keratynowych, brak jest kompostowni odpadów stałych, obornika i odpadów keratynowych. Odpady keratynowe wykorzystane są do otrzymania maczek, są składowane lub zaorywane.

6. Technologie kompostowania obornika w mieszaninie z odpadami keratynowymi, szczepionkami bakteryjnymi lub drożdżowymi, przyspieszają ich biologiczną degradację.
7. Biotechnologia przemysłowa wymaga bardzo wysokich nakładów finansowych na etapie przygotowania technologii produkcji, wiąże się z dużym ryzykiem finansowym, tylko bioprocessy, które przeszły wstępne etapy przygotowania (skala laboratoryjna, pilotowa) mają realne szanse na ich komercjalizację. W obecnej chwili szereg opracowań jest potwierdzonych jedynie w skali laboratoryjnej, do bezpośredniego wdrożenia

Stworzenie na terenie Dolnego Śląska dobrego przepływu informacji pomiędzy nauką i przemysłem w zakresie rozwoju nowych biotechnologii oraz utworzenie infrastruktury wspomagającej rozwój bioprocessów (np. Centra Zaawansowanych Technologii, Centra Doskonałości, laboratoria technologiczne na uczelniach posiadające linie technologiczne w poszczególnych skalach) mogą spełniać funkcję integrującą i przyczynić się do wdrożeń nowych procesów biotechnologicznych wykorzystującej generowane przez przemysł odpady. Utworzenie takich linii związane jest jednak z pozyskaniem dużych środków finansowych na zakup niezbędnych urządzeń.

Reasumując, duży potencjał intelektualny środowiska wrocławskiego oraz jego bogate zaplecze laboratoryjne, jak również współprace w skali międzynarodowej, krajowej i lokalnej, dają w wyniku wyróżniający się produkt naukowy, zarówno w sferze podstawowych badań naukowych jak i badań o charakterze aplikacyjnym. Wymienione problemy wymagają zaprojektowania oryginalnych rozwiązań technologicznych celem ich transferu do sfery produkcyjnej.

AGROBIOTECHNOLOGIA I BIOTECHNOLOGIA W OCHRONIE ŚRODOWISKA

Przyszłościowym kierunkiem rozwoju gospodarczego jest wykorzystywanie organizmów transgenicznych w tym bakterii nie tylko do produkcji białek o znaczeniu terapeutycznym ale również w remediacji zdegradowanych chemicznie gruntów oraz wprowadzeniu metod biotechnologicznych do uzyskiwania prototypów ulepszonych dla potrzeb przemysłowych i farmakologicznych roślin. Wdrażanie innowacyjnych technologii remediacji skażonych gruntów wymaga otrzymywanie mikroorganizmów

modyfikowanych genetycznie w kierunku podwyższonych zdolności do degradacji konkretnych ksenobiotyków. Kierunek ten wymaga zdefiniowania zagrożeń jakie przyniosła w regionie gospodarcza aktywność człowieka, zdefiniowania substancji stanowiących potencjalne zagrożenie i opracowanie rutynowych technik badania ich poziomu (poziomu metali, polichlorowanych węglowodorów, dioksyn itp.).

Tworzenie i analiza roślin transgenicznych o wzmożonej odporności na infekcje patogenne i podwyższonym plonowaniu jest podstawowym zamierzeniem tych prac. (Wydział Biotechnologii U.Wr.). Głównym i przeważnie już osiągniętym celem jest uzyskanie prototypów ulepszonych dla potrzeb przemysłowych i farmakologicznych roślin ziemniaka i lnu metodami inżynierii genetycznej. Ich efektami są:

- a. zmodyfikowane genetycznie ziemniaki o podwyższonej odporności roślin na infekcje fitopatogenami oraz zwiększonej ilości antyoksydantów i podwyższonym poziomie dopaminy oraz jej pochodnych w bulwach. Przy okazji tych badań udało się wyjaśnić molekularne podstawy syntezy etylenu w liniach transgenicznych ziemniaków. Rośliny te mogą służyć do rekultywacji gleby zanieczyszczonej metalami ciężkimi a ekstrakty bulw mogą być źródłem dopaminy i jej pochodnych dla celów leczniczych (parkinsonizm) oraz. antyoksydantów do ochrony środków spożywczych przed utlenieniem np. oleju przed jełczeniem.
- b. zmodyfikowany len, charakteryzujący się zwiększoną sprężystością i wytrzymałością włókien o podwyższonej ilości antyoksydantów dla potrzeb medycyny (nici chirurgiczne, opatrunki). Podwyższenie ilości antyoksydantów w nasionach sprzyja przechowywaniu oleju dla celów kosmetycznych, zwiększa odporność roślin na infekcję patogenną i usprawnia proces rozenia lnu.

Wyniki badań są przedmiotem dwóch patentów oraz kilku zgłoszeń patentowych.

W nawiązaniu do włókien, z przeznaczeniem dla potrzeb medycyny wykazano przydatność pokrywania jonami srebra, znanych z właściwości antybakteryjnych, materiałów włókienniczych wykorzystanych w produkcji środków opatrunkowych i odzieży ochronnej używanej w placówkach służby zdrowia. Prace prowadzone są we współpracy z Instytutem Inżynierii Materiałów Włókienniczych w Łodzi, Politechniką Wrocławską i Instytutem Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN we Wrocławiu.

W obliczu ekosystemów narażonych na przemysłowe i agrarne skażenia problemem ważnym z gospodarczego punktu widzenia jest efektywne oczyszczanie powstających ścieków. Rozwiązanie tego problemu wymaga z jednej strony wdrażanie

innowacyjnych technologii umożliwiających, tam gdzie jest to możliwe, przerób odpadów jako wtórnych surowców przemysłowych bądź takie ich przetworzenie, by stały się dla środowiska obojętne. Z drugiej strony koniecznością staje się zdefiniowanie substancji stanowiących potencjalne zagrożenie i ciągły monitoring ich poziomu w powietrzu, wodzie, glebie i produktach spożywczych.

Jak wspomniano w poprzednim rozdziale rozwój produkcji biopaliw spowoduje znaczny wzrost popytu na przemysłowy alkohol etylowy. Stwarza to szansę rozwoju gorzelnictwa ale również przyczyni się do wzrostu produkcji **wywaru gorzelniczego**, który należy do bardzo uciążliwych dla środowiska ścieków, o wysokim wskaźniku ChZT wynoszącym 10 – 180 g O₂ / L. Istnieją dwa główne kierunki jego zagospodarowania mianowicie jako pasza i jako nawóz.

Wywar jako pasza. Dominujący w Polsce wywar żytni oraz ziemniaczany charakteryzuje się korzystnym stosunkiem białka do jednostek skrobiowych, wynoszący odpowiednio 1:2,75 i 1:198, stanowi zatem cenną paszę, zwłaszcza dla bydła opasowego, krów i owiec. Ze względu na dużą zawartość wody skarmianie świeżego wywaru jest ekonomicznie uzasadnione jedynie w promieniu do 10 - 15 km od gorzelnii. Nieskarmioną porcję wywaru należy zabezpieczyć przed mikrobiologiczną degradacją. Znane są rozmaite rozwiązania mające na celu przedłużenie mikrobiologicznej trwałości wywaru. Najczęściej stosuje się jego frakcjonowanie i zagęszczanie oraz kiszenie.

Biodegradacja wywaru. W Polsce badania nad wysokotemperaturowymi tlenowymi procesami biodegradacji ścieków ziemniaczanych i wywarów gorzelnicznych prowadzone są w Katedrze Inżynierii Bioprocessowej AE we Wrocławiu oraz w Zakładzie Fermentacji i Biosyntezy Instytutu Technologii Żywności Pochodzenia Roślinnego AR w Poznaniu. Oba te ośrodki podjęły tą tematykę w 2000 roku, w ramach V Programu Ramowego UE i mają duże doświadczenie i osiągnięcia z tego zakresu.

Trudniejszymi od poprzedniego do zagospodarowania są odpady ligninocelulozowe. Perspektywnym kierunkiem ich zagospodarowania wydaje się przetwarzanie na paliwa ciekłe, głównie etanol oraz na paszę. Jednak wysoki koszt produkcji enzymów celulolitycznych oraz kosztów związanych z przygotowaniem substratów celulozowych do hydrolizy jest czynnikiem limitującym. Proces wymaga skonstruowania transgenicznych szczepów grzybów lub bakterii efektywnie fermentujących heksozy i pentozy i jednocześnie posiadających aktywność celulolityczną.

Również zagospodarowania odpadów zwierzęcych na Dolnym Śląsku dotychczas nie jest rozwiązane, gdyż nie produkuje się biogazu z odpadów miękkich, kości oraz odpadów keratynowych, brak jest kompostowni odpadów stałych, obornika i odpadów keratynowych. Odpady keratynowe wykorzystane są do otrzymania maczek, są składowane lub zaorywane.

Jedną z metod biologicznego oczyszczania jest zastosowanie struktur włókienniczych jako nośników błony biologicznej. Celem badań, realizowanych we współpracy z Instytutem Inżynierii Materiałów Włókienniczych w Łodzi, Politechniką Wrocławską i Instytutem Niskich Temperatur i Badań Strukturalnych PAN we Wrocławiu, jest nowe rozwiązanie polegające na zaprojektowanie materiału włókienniczego, tak by w sposób optymalny spełniał rolę nośnika biofilmu, zwiększając efektywność oczyszczania ścieków. Odpowiedni dobór i zróżnicowanie struktur nośników powinno w wyniku badań i analiz porównawczych umożliwić określenie, które parametry struktury mają decydujący wpływ na szybkość i jakość tworzenia się biofilmu. Dotyczy to takich podstawowych parametrów struktur jak: wielkość masy powierzchniowej i liniowej, gęstość właściwa, powierzchnia właściwa, powierzchnia czynna itd. Poznanie relacji materiał włókienniczy – formujący się na nim biofilm umożliwi stworzenie nowej struktury tekstylnej mogącej stanowić nośnik błony biologicznej i być wykorzystany do budowy złóż biologicznych stosowanych w oczyszczalniach ścieków.

Otrzymane w ramach projektu, tanie nośniki tekstylne instalowane w małogabarytowych reaktorach nowych lub istniejących, umożliwią MŚP podczyszczanie ścieków do poziomu stawianego ściekom wprowadzanym do kanalizacji komunalnej. Efektem projektu może być także zwiększone zapotrzebowania na tanie przydomowe oczyszczalnie ścieków wykorzystujące w swojej pracy złoża biologiczne. Opracowany materiał włókienniczy może stanowić ofertę dla zakładów włókienniczych jako nowy kierunek produkcji.

Dużym osiągnięciem było zaprojektowanie filtrów dla Kontenerowej Stacji Uzdatniania Wody, przeznaczonej do zaopatrywania w wodę pitną wojska, ludności i obiektów w czasie działań bojowych, awarii i klęsk żywiołowych. Aktualne badania mają na celu udoskonalanie filtrów i określania parametrów mikrobiologicznych uzdatnianej wody (współpraca z Wojskowym Instytutem Techniki Inżynierskiej we Wrocławiu).

Monitoring zanieczyszczeń środowiskowych.

Określeniem źródeł szkodliwych emisji, stopnia ich realnego zagrożenia i sposobów doraźnego i perspektywicznego oddziaływania na środowisko naturalne oraz organizmy roślin, zwierząt i ludzi zajmuje się **ekotoksykologia** (toksykologia środowiskowa).

Większość skażeń środowiskowych należy do substancji toksycznych pochodzących ze źródeł antropogenicznych, emitowanych do atmosfery oraz przedostających się ze ściekami i odpadami do wód, gleb i roślin. Najczęstszym źródłem skażeń środowiskowych jest spalanie paliw stałych, płynnych i gazów oraz przemysł chemiczny (w tym nawozowy), metalurgiczny, wydobywczy, elektrotechniczny, celulozowo-papierniczy, cementowy, szklarski, ceramiczny, rafinerie ropy naftowej, zakłady utylizacyjne i in. Obecnie duży udział w bilansie emisji mają skażenia komunikacyjne, wynikające z nasilonego ruchu samochodowego ale również samo rolnictwo, a szczególnie jego intensywne formy przyczyniają się do wzrostu stężenia ksenobiotyków w środowisku.

W niniejszym opracowaniu przedstawiono w układzie łańcucha troficznego: powietrze/gleba/woda- rośliny-zwierzęta (i ich produkty), niektóre ważniejsze ksenobiotyki, występujące w środowisku naturalnym, głównie Dolnego Śląska, mogące prowadzić do zaburzeń zdrowia i produktywności zwierząt, a także do kumulacji ich w produktach pochodzenia zwierzęcego (mleko, jaja, mięso, tłuszcze, wełna, miód). Należą do nich m.in.: pierwiastki toksyczne (w tym tzw. metale ciężkie), pestycydy, węglowodory aromatyczne, polichlorowane bifenyle, dioksyny, azotany i azotyny, radionuklidy i inne.

Surowce pochodzenia roślinnego. Z uwagi na fakt, że rośliny stanowią główne ogniwo w łańcuchu pokarmowym, istnieje wymóg ciągłego monitorowania stopnia zanieczyszczenia surowców pochodzenia roślinnego ponieważ ich jakość ściśle zależy od stanu zanieczyszczenia środowiska.. Wszelkie zmiany zachodzące w środowisku znajdują swoje odbicie w składzie chemicznym roślin. Najistotniejsze z punktu widzenia zdrowotności ludzi i zwierząt są zanieczyszczenie metalami ciężkimi, środkami ochrony roślin, azotanami, a w przypadku zbóż mykotoksynami, ponieważ poprzez paszę mogą przechodzić do żywności pochodzenia zwierzęcego. Prezentowane dane dotyczą albo całego kraju (wg Raportu opracowanego przez Radę Monitoringu

Jakości Gleb, Roślin, Produktów Rolniczych i Spożywczych w roku 2000) albo rejonu Dolnego Śląska (wyniki Zakładu Higieny Zwierząt i Środowiska Uniwersytetu Przyrodniczego we Wrocławiu).

Zawartość metali ciężkich i arsenu

Z badań przeprowadzonych w 2000 roku na terenie Dolnego Śląska obejmujących takie surowce jak truskawki, jabłka, ogórki, kapusta, marchew, ziemniaki, pszenica i żyto wynika, że 90 % ocenianych próbek charakteryzowało się niskimi zawartościami metali ciężkich, a tylko w 7 % płodów rolnych wykazano przekroczenia norm zawartości pierwiastków toksycznych. W grupie tej najlepszą jakość pod tym względem wykazywały ogórki, jabłka oraz kapusta. Natomiast najwięcej przekroczeń dopuszczalnych zawartości metali ciężkich stwierdzono w truskawkach, marchwi oraz ziarnie pszenicy i żyta. Najwyższe wartości odnotowano dla kadmu i ołowiu. Dane te dotyczą również produktów z zakupów rynkowych (owoce, warzywa i ich przetwory, przetwory zbożowe). Warto podkreślić, że z badań przeprowadzonych w latach 2001 – 2005 w regionie przemysłu miedziowego na terenie Dolnego Śląska wynika, iż brak jest zagrożenia dla produktów roślinnych ze strony toksycznych metali ciężkich. Koncentracja badanych pierwiastków (Cd, Hg i Pb) była zróżnicowana przestrzennie jednak średnie wartości nie przekraczały dopuszczalnych stężeń i materiały paszowe takie jak siano, zboże czy ziemniaki były całkowicie bezpieczne w żywieniu zwierząt monogastrycznych oraz przeżuwaczy.

Zawartość siarki ogólnej

Wyniki badań przeprowadzonych w latach 1998 – 2000 wskazują, iż problem zanieczyszczenia roślin siarką staje się coraz mniej istotny. Liczba roślin uprawnych zanieczyszczonych siarką sukcesywnie spada. Spośród 1874 próbek marchwi, ziemniaka, kapusty oraz pszenicy i żyta pobranych w 2000 roku tylko 2,6 % badanych próbek wykazywało przekroczenia wartości progowych opracowanych przez IUNG. W grupie roślin o największej liczbie przekroczeń znalazły się głównie kapusta i marchew.

Zawartość azotanów

Wśród objętych badaniami wybranych gatunków warzyw w 27 % próbek odnotowano ilości przekraczające dopuszczalne normy. Najwyższymi średnimi zawartościami azotanów charakteryzowały się rzodkiewka, burak ćwikłowy, kapusta biała oraz sałata. Natomiast najmniejsze zawartości stwierdzono w pomidorach i ogórkach. Potwierdza to tendencję niektórych gatunków warzyw do nadmiernej kumulacji azotanów.

Zawartość pestycydów

Pozostałości 9 spośród 42 poszukiwanych związków stwierdzono w 92 próbkach surowców roślinnych, co stanowiło 11,5 % wszystkich przebadanych próbek. Najczęściej pestycydy wykrywano w jabłkach, truskawkach, marchwi i ogórkach. Spośród badanych związków najczęściej stwierdzano obecność pozostałości ditiokarbaminianów, pochodnych DDT oraz linuronu.

Zawartość mykotoksyn

Wyniki badań wskazują na istnienie realnego problemu skażenia ochratoksyną A (OTA) zbóż uprawianych na terenie Dolnego Śląska oraz przetworów zbożowych i pieczywa. Rozmiar tego skażenia jest zmienny w zależności od średnich warunków klimatycznych w danym roku. W roku 2000 obecność OTA wykryto w 41 % próbek pszenicy i 57 % próbek żyta oraz we wszystkich próbkach owsa. Rozporządzenie Ministra Zdrowia (Dz. U. 2004, nr 120 poz. 1257 z późn. zm.) ustala dopuszczalny poziom dla zawartości OTA w ziarnie zbóż na 5 µg/kg. Okazuje się, że wartość ta przekroczona była w 21,7 % próbek pszenicy, 24,0 % próbek żyta i aż 92,9 % próbek owsa.

Jeśli chodzi o zanieczyszczenie soku jabłkowego patuliną to badania z lat 1998-2000 wykazały, że corocznie około 17 % badanych próbek zawiera te mykotoksynę, ale zawartości znajdują się na poziomie poniżej 30 µg/l soku jabłkowego, czyli poniżej progu dopuszczalnego w Polsce.

Surowce pochodzenia zwierzęcego Wyniki badań pochodzą z tych samych źródeł z których korzystano w przypadku surowców roślinnych. Badania pozostałości chemicznych i biologicznych obejmowały pestycydy chloroorganiczne, kongenery polichlorowanych bifenyli (PCB), pierwiastki toksyczne (As, Cd, Hg, Pb) oraz substancje hamujące. Brak obowiązujących w Polsce aktów prawnych określających maksymalne dopuszczalne zawartości kongenerów PCB w produktach pochodzenia zwierzęcego.

Zawartość metali ciężkich i arsenu

W większości analizowanych próbek mięśni świń i bydła stwierdzono obecność ołowiu i kadmu była niska i nie stanowiąc istotnego zagrożenia dla człowieka. Wyższe stężenia Cd i Pb stwierdzono w nerkach badanych zwierząt a dopuszczalny poziom dla kadmu 1 mg/kg został przekroczony w 4 % próbek nerek świń i 15 % próbek nerek bydła.

Średnie stężenia rtęci i arsenu w analizowanych mięśniach i wątrobach świń czy bydła również nie przekraczały progów kryterialnych.

Korzystnie wypadła ocena zawartości pierwiastków toksycznych w analizowanym mleku krowim. Stwierdzone koncentracje As, Cd, Hg i Pb w znacznym odsetku analizowanych próbek oscylowały wokół granicy wykrywalności stosowanych metod, a tylko 1 % analizowanych próbek zawierał rtęć i to w stężeniu nie przekraczającym 0,001 mg/kg.

Bardzo ciekawych wyników dostarczają badania monitoringowe surowców pochodzenia zwierzęcego przeprowadzone w rejonie oddziaływania przemysłu miedziowego w latach 2001 – 2005.

Średnia zawartość metali toksycznych w mleku od krów utrzymywanych systemem ekstensywnym (pastwiskowym), w większości przypadków nie przekraczała najwyższych dopuszczalnych stężeń. Jedynie w przypadku ołowiu, którego koncentracja w 50 % prób pobranych w roku 2005 przekraczała NDS podobnie jak średnie koncentracje w latach 2001 – 2004, można mówić o realnym zagrożeniu dla zdrowia ludzi, chociaż przekroczenia były minimalne.

Koncentracja badanych metali ciężkich w mięśniach kur z chowu przyzagrodowego była dosyć mocno zróżnicowana przestrzennie (nawet w obrębie jednej wsi). W większości badanych próbek nie stwierdzono przekroczenia wartości NDS dla Cd i Hg. W roku 2005 zostały przekroczone wartości NDS w 18 % próbek dla rtęci i w 9 % próbek dla kadmu. W przypadku ołowiu sytuacja przedstawia się nieco gorzej. Średnia koncentracja Pb w mięśniach kur w latach 2000 – 2002 oraz w roku 2005 przekraczała wartość NDS dla tego pierwiastka, a w roku 2005 wartość ta została przekroczone w 36 % próbek.

Niepokoić może wysokie średnie stężenie kadmu odnotowane w roku 2000, a także fakt, iż w 27 % próbek pobranych w 2005 stwierdzono przekroczenia wartości NDS dla tego pierwiastka. Podobnie w przypadku koncentracji ołowiu odnotować należy wysokie, przekraczające wartość NDS, stężenia średnie zanotowane w latach 2000 – 2001 oraz 2004 – 2005. W roku 2005 w 36 % próbek wątrób kurzych stwierdzono stężenia Pb przekraczające wartość najwyższego dopuszczalnego stężenia.

W latach 2000 – 2005 większość próbek jaj kurzych (z chowu przyzagrodowego) stężenia kadmu, ołowiu i rtęci były poniżej wartości NDS dla tych pierwiastków. Jedynie w 18,3 % próbek pobranych w 2005 roku stwierdzono przekroczenia, ale

wartości średnich stężeń dla lat 2000 – 2005 znajdowały się poniżej progu dopuszczalnego.

W podsumowaniu należy stwierdzić, iż odnotowane stężenia badanych metali (Cd, Hg, Pb) w produktach pochodzenia zwierzęcego z rejonu oddziaływania przemysłu miedziowego nie stanowiły zagrożenia toksykologicznego dla ludzi, wyjątkiem mogą być wysokie stężenia ołowiu w mleku, wątrobach i mięśniach kurzych.

Zawartość pestycydów chloroorganicznych i polichlorowanych bifenyli (PCB)

W przeważającej większości próbek (94,6 %) tkanki tłuszczowej świń, tkanki tłuszczowej bydła i mleka krowiego stwierdzono bardzo niskie poziomy pozostałości pestycydów chloroorganicznych. Jedynie w 1,0 % wszystkich próbek tłuszczu od świń zawartość DDT przekraczała NDP (Najwyższa Dopuszczalna Pozostałość) dla tego związku, (1 mg/kg). W mleku krowim i w tłuszczu nie wykryto przekroczeń NDP pestycydów. Podobnie bardzo niskie stężenia HCB (heksachlorobenzenu), oraz izomerów HCH i PCB stwierdzono w tych surowcach.

Zawartość substancji hamujących w mleku

Badania monitoringowe przeprowadzone w latach 1998 – 2000 na obecność substancji hamujących (antybiotyki, leki, detergenty) w mleku, pokazują, że rokrocznie około 5 % pobranych próbek wykazuje wynik dodatni. Należy dodać, że zgodnie z normą PN-95/A-86002: w żadnej z klas mleka nie dopuszcza się występowania tego typu związków. Dlatego też, uzyskane wyniki potwierdzają istotną skalę zagrożenia zdrowia konsumentów pozostałościami substancji hamujących.

Prace mogące rzutować na pewne aspekty badań aplikacyjnych dotyczą mechanizmów regulacyjnych przemian komórkowych. Jednym z tematów jest analiza funkcji białek szkieletu jądrowego w organizacji przestrzennej jądra komórkowego i chromatyny, ze szczególnym uwzględnieniem lamin, topoizomerazy II i białek z nimi oddziałujących. Prowadzone są porównawcze eksperymenty nad identyfikacją konkretnych miejsc fosforylacji lamin *in vivo*, modulujących funkcje lamin w cyklu komórkowym na dwóch organizmach modelowych: *Drosophila melanogaster* i *Xenopus laevis* i ich transgenicznym mutantach z nadekspresją lamin i zmienionymi miejscami fosforylacji. Z wykorzystaniem tego samego modelu, we współpracy z Durham University (Durham, UK), prowadzone są badania nad identyfikacją,

klonowaniem, charakterystyką oraz analizą funkcji nowych białek szkieletu jądrowego ze szczególnym uwzględnieniem białek z domeną LEM oraz SUN. Dotyczą one poznania molekularnego mechanizmu oddziaływań międzybiałkowych, prowadzącego do odtworzenia struktury jądra komórkowego po mitozie. Prace prowadzone są z zastosowaniem techniki odtwarzania haploidalnych jąder komórkowych *in vitro* („*in vitro nuclear assembly*”).

Na wyróżnienie zasługują wielokierunkowe badania prowadzone z zakresu biologii funkcjonalnej roślin, których wyniki pozwolą na zrozumienie niedocenianej roli mitochondriów roślinnych w regulacji procesów wewnątrzkomórkowych. Przedmiotem intensywnych prac są enzymy kontrolujące ilość i jakość białek wchodzących w skład kompleksów umożliwiających produkcję energii w mitochondriach. Jako pierwszy na świecie, metodami biologii molekularnej, zespół badawczy Wydziału Biotechnologii U.Wr. wykazał obecność oraz wstępnie scharakteryzował proteazy tego typu w mitochondriach roślin. Wskazano na udział tych proteaz w biogenezie mitochondriów, programowanej śmierci komórki oraz przekazywaniu sygnałów w komórce. Drugi nurt prowadzonych eksperymentów związany jest z molekularnymi podstawami zmienności mitochondrialnego DNA u roślin. Zespół opisał mechanizm ewolucyjny, który doprowadził do powstania roślin fasoli wykazujących ważną z punktu widzenia rolnictwa cechę - cytoplazmatyczną męskosterylność. Prowadzone są również prace dotyczące transferu horyzontalnego między organizmami eukariotycznymi z wykorzystaniem najnowocześniejszych techniki zarówno *in vitro* jak i *in vivo* poprzez tworzenie i analizę roślin transgenicznych.

Przedmiotem zainteresowań naukowców są także białka aparatu fotosyntetycznego roślin wpływające na ich plenność poprzez wyjaśnienie ich biosyntezy i zależności funkcji od struktury. Badania białek kompleksu *b₆f* (cytochrom *b₆f* i białka Rieskego) mają na celu poznanie mechanizmów wbudowywania tych kompleksów w błonę biologiczną oraz centrum 2Fe-2S do białka Rieskego. Prowadzone są również badania nad dokładną charakterystyką i wyjaśnieniem roli cytochromów *c₆* (PetJ1 i PetJ2) występujących w sinicy *Synechococcus sp.* PCC7002. Więcej uwagi poświęca się badaniom karboksylazy rybulozo-1,5-bisfosforanu z termofilnej sinicy *Thermosynechococcus elongatus*, mającym na celu dokładne poznanie zależności współczynnika specyficzności od budowy tego enzymu. Efektem tych eksperymentów ma być polepszenie parametrów kinetycznych enzymu, a co za

tym idzie ostatecznie polepszenie wydajności fotosyntezy. W tym celu przeprowadzane są prace nad możliwością ekspresji tego enzymu w termofilnej sinicy o lepszych parametrach kinetycznych w organizmach mezofilnych.

Prace badawcze prowadzone w zakresie biologii roślin, mające charakter zarówno podstawowy jak i aplikacyjny z zakresu agrobiotechnologii i biotechnologii w ochronie środowiska, służą z jednej strony wyjaśnieniu systematyczno-taksonomicznych przeobrażeń flory i dynamiki naturalnych ekosystemów, z drugiej zaś poznaniu uniwersalnych mechanizmów regulujących metabolizmem, wzrostem i rozwojem roślin. Dodatkowym aspektem badań jest określenie specyficznych adaptacji organizmów roślinnych do czynników abiotycznych w kontekście zmian środowiskowych. Badania obejmujące siedliska naturalne oraz ściśle kontrolowane, laboratoryjne hodowle roślinne realizowane są z użyciem szerokiej gamy klasycznych metod badawczych oraz nowoczesnych technik analitycznych i molekularnych, wykorzystujących bogate zaplecze aparaturowe. Wszystkie badania wpisują się w aktualną, światową problematykę badawczą, a w ich realizacji uczestniczy pięć zespołów badawczych o różnorodnych specjalnościach (Bioróżnorodność i Ochrona Szaty Roślinnej, Cytogenetyka i Specjacja Roślin, Ekologia i Ochrona Przyrody, Fizjologia Roślin oraz Morfologia i Rozwój Roślin).

Szerokie grono naukowców U.Wr. zajmuje się problematyką ekologii i biologii rozwoju porostów, grzybów, śluzowców, mszaków i roślin wyższych, mechanizmami zrzeszania się tych organizmów oraz badaniem struktury ich ugrupowań. Główny obiekt badań stanowi flora południowo-zachodniej Polski, jednak w wielu przypadkach uzyskane wyniki mają charakter uniwersalnych, ponadregionalnych osiągnięć, na kanwie których zespół tworzy i wdraża innowacyjne metody w zakresie ochrony przyrody i środowiska. Jednym z najważniejszych osiągnięć jest ocena stanu zachowania i stopnia zagrożenia 640 gatunków flory naczyniowej Dolnego Śląska, a ocena zagrożenia gatunków endemicznych podana w skali globalnej jest osiągnięciem o randze światowej (monografia „Zagrożone gatunki flory naczyniowej Dolnego Śląska” pod red. Z. Kąckiego). Opracowano „Czerwoną listę zagrożonych porostów Dolnego Śląska” oraz „Czerwoną listę porostów zagrożonych w polskiej części Sudetów”; opublikowano także krytyczną listę śluzowców Polski.

Ponadto, w zakresie wszystkich badanych grup systematycznych odkryto wiele nowych dla regionu Polski, a nawet Europy gatunków roślin, a także szereg nowych stanowisk gatunków rzadkich i zagrożonych. W ramach przygotowań systemowych

wytucznych dla ochrony różnorodności zbiorowisk i gatunków roślin na obszarach chronionych, Natura 2000, i na obszarach mogących ulec negatywnym przemianom podczas różnych inwestycji, opracowano kompleksowe plany ochrony kilkudziesięciu rezerwatów przyrody, również parków krajobrazowych i parków narodowych. Przygotowano także szereg projektów ochrony czynnej gatunków i zbiorowisk nieleśnych w Karkonoskim i Słowińskim Parku Narodowym. Ważnym osiągnięciem jest opracowanie i wdrożenie zintegrowanego monitoringu środowisk leśnych w kraju, a także monitoringu zmian w środowisku przyrodniczym, z wykorzystaniem biowskaźników (m.in. w Karkonoskim Parku Narodowym).

Do najważniejszych naukowych osiągnięć zaliczyć należy również odkrycie wzorów zmienności i dziedziczenia cech ziarniaka pszenic tetraploidalnych. Wzory te są warunkowane między innymi przestrzenną separacją genomów, co ustalono dla heksaploidalnej pszenicy zwyczajnej oraz imprintingiem genomowym odkrytym u allopoliploidów plemienia *Triticeae*. Analizy specjacji roślin przyniosły odkrycie nowych mechanizmów funkcjonowania łuszczyk traw, zaś badania cytogenetyczne nowe dane o niestabilności loci rDNA w modelowym gatunku traw *Brachypodium distachyon*. Z kolei studia w obszarze taksonomii roślin dowiodły oryginalności wzorów współmienności osi ordynacyjnych w opisie operacyjnej jednostki taksonomicznej (takson).

Prowadzone są również badania o znaczeniu praktycznym, będące podstawą efektywnych działań w zakresie ochrony środowiska. Zespół zajmujący się chemiczną ekologią roślin wodnych i lądowych, bioindykacją skażeń chemicznych środowiska, ekologicznymi podstawami ochrony roślin rzadkich i zagrożonych wyginięciem oraz matematycznym opisem zjawisk ekologicznych określił wrażliwości i zakres tolerancji różnych gatunków mchów, wątrobowców i roślin wyższych na pierwiastki toksyczne i wybrane związki organiczne.

Obok szczegółowego opisu reakcji osobniczych i populacyjnych rozmaitych gatunków, szczególnie istotnym, aplikacyjnym osiągnięciem zespołu było wykazanie przydatności wybranych gatunków w bioindykacji chemicznego skażenia gleb i wód, także w warunkach miejskich. I tak, wskazano gatunki mszaków lądowych i porostów przydatne w bioindykacji skażenia gleby metalami ciężkimi, ropą naftową i radionuklidami. Udokumentowano ponadto możliwość skutecznego stosowania transplantantów mchów dla bioindykacji.

Innym istotnym osiągnięciem zespołu jest wskazanie możliwości wykorzystania mszaków wodnych w poszukiwaniach biogeochemicznych, między innymi złóż arsenu i złóż polimetalicznych, a także wytypowanie gatunków roślin najbardziej przydatnych w procesie samooczyszczania wód. Pozwoliło to na opracowanie i wdrożenie hydrobotanicznego systemu oczyszczania ścieków (Oczyszczalnia Ścieków – Rogowiec KWB Bełchatów). Ten bezpieczny dla środowiska przyrodniczego system, o niskich kosztach utrzymania może być wdrożony także w innych sferach gospodarki i przemysłu.

Z kolei, szerokie analizy poziomu metali ciężkich w mszakach pochodzących z terenów niezanieczyszczonych Szwajcarii, Hiszpanii, Portugalii, Holandii i Polski, wykonane dzięki wieloletniej współpracy z grupą prof. Kampersem z Katolickiego Uniwersytetu w Nijmegen (Holandia), umożliwiły ustalenie tzw. poziomu tła, co jest niezbędne dla przewidywania kierunków zmian w ekosystemach europejskich narażonych na przemysłowe i agrarne skażenia chemiczne.

Nie mniej ważne są wyniki badań nad strukturą stadialną i strategią adaptacyjną wybranych gatunków rzadkich i ginących w Sudetach, które pozwoliły poznać specyficzne reakcje poszczególnych gatunków na zmiany siedliska i określić optymalne warunki siedliskowe konieczne dla ich przetrwania. Zostały one wykorzystane w praktyce do hodowli gatunków chronionych i ginących i do ich introdukcji bądź reintrodukcji na naturalne stanowiska. Ustalono także dynamikę struktury wiekowej kontrolowanej populacji *Corydalis cava* w warunkach Dolnego Śląska, co z kolei wykorzystano w modelowaniu procesu zanikania i tworzenia populacji lokalnych w obrębie jednej metapopulacji, w warunkach antropopresji.

Jakkolwiek, tematyka badawcza, dotycząca regulacji asymilacji mineralnych form azotu, oraz identyfikacji i charakterystyki szerokiej grupy białek błonowych zaangażowanych w pobieranie niezbędnych roślinom składników mineralnych, a także w procesy detoksykacji komórek roślinnych w warunkach stresów abiotycznych, ma głównie charakter podstawowy, to jej wyniki są cenne zarówno dla praktyki agrarnej jak i szeroko rozumianej ochrony środowiska. Badania prowadzone na ogórkach (*Cucumis sativus*) oraz *Arabidopsis thaliana*, modelowej roślinie w badaniach genetycznych, łączą analizy fizjologiczne, biochemiczne i genetyczne, co pozwala na pełne wyjaśnienie molekularnych przyczyn różnorodnych reakcji roślin na zmienne warunki środowiskowe. Zastosowanie różnorodnych, w tym najnowszych metod badawczych możliwe jest dzięki współpracy zespołów prowadzących powyższe

badania z najlepszymi laboratoriami zagranicznymi(USA, Francja, Hiszpania, Anglia). Najpoważniejsze osiągnięcia to identyfikacja i szczegółowa charakterystyka kinetyczna, biochemiczna i molekularna błonowych systemów transportujących mineralne formy azotu do komórek roślinnych. Zidentyfikowano także geny kodujące te białka w komórkach ogórka i określono niektóre z czynników środowiskowych modulujących ich ekspresję. Członkowie zespołu, jako pierwsi w literaturze tematu wskazali na kluczową rolę plazmolemowej, konstytucyjnej oksydoreduktazy w regulacji pobierania mineralnych form azotu przez rośliny wyższe. Udowodnili także kluczowe znaczenie przemian cyklu Krebsa i cytoplazmatycznych przemian jabłczanu w regulacji aktywności głównych enzymów asymilujących nieorganiczne formy azotu w komórkach roślinnych (NR, NiR, GS i GOGAT).

Najważniejsze osiągnięcia ostatnich lat to wyjaśnienie przyczyn leżących u podstawy zaburzeń metabolicznych i mechanizmów odpornościowych roślin rozwijanych w warunkach stresów abiotycznych. Pokazano, że metale ograniczają poważnie przyswajanie mineralnych form azotu poprzez hamowanie ekspresji genów kodujących specyficzne transportery, ich potranslacyjne modyfikacje jak i zaburzenia składu lipidowego błon plazmatycznych. Z drugiej strony odkryto, że skuteczną adaptacją metaboliczną uruchamianą w warunkach stresu związanego z obecnością metali ciężkich w środowisku jest szybka indukcja błonowych systemów usuwających metale z cytoplazmy. Także w stresie solnym za efektywną adaptację roślin odpowiada indukcja aktywności błonowych pomp protonowych generujących gradient elektrochemiczny wykorzystywany do sekwestracji toksycznych jonów sodu i chloru. Udowodniono, że aktywacja ta, obok poziomu genetycznego, obejmuje potranslacyjne modyfikacje białek enzymatycznych polegające na odwracalnej fosforylacji, katalizowanej przez specyficzne kinazy zależne od wapnia i kalmoduliny, a kaskadę zdarzeń prowadzącą do tych modulacji inicjuje podwyższony poziom ABA w korzeniach roślin wyższych. Ponieważ także zmiany aktywności reduktazy azotanowej, kluczowego enzymu decydującego o efektywności przyswajania azotu mineralnego, w warunkach stresów fizjologicznych (NaCl, metale ciężkie, warunki natlenienia) wynikały z fosforylacji białka enzymatycznego, postuluje się, że potranslacyjne modyfikacje szeregu białek są zasadniczym mechanizmem umożliwiającym roślinom szybką adaptację metaboliczną do warunków stresowych.

Na podkreślenie zasługują również badania dotyczące morfogenezy roślin, mające jednak głównie charakter podstawowy. Poznaniem uniwersalnych

mechanizmów wprowadzających komórki na określone ścieżki różnicowania zajmuje się nie tylko biologia roślin, ale także medycyna i biologia organizmów zwierzęcych. W tej tematyce uwagę skupia się przede wszystkim na zjawisku nieograniczonego wzrostu roślin i praktycznej nieśmiertelności komórek, epigenetycznej kontroli morfogenezy i fenotypowej plastyczności roślin.

Specjalnością jednego z Zespołów Instytutu Biologii Roślin są badania nad zasadami powstawania periodycznych wzorów różnicowania. Badania prowadzone są na roślinach modelowych z zastosowaniem mutantów, w tym roślin transgenicznych (GMO). Dzięki ścisłej współpracy z informatykami zespół tworzy na potrzeby testowania w symulacjach zjawisk rozwojowych autorskie programy komputerowe. Specjalistyczne badania anatomii drewna (diagnostyka taksonomiczna) mają zastosowania w takich dziedzinach jak historia sztuki, archeologia, kryminalistyka. Realizowane są często zlecenia dla potrzeb tych nauk. Najważniejsze osiągnięcia w tej dziedzinie z ostatniego okresu to: odkrycie migracji komórek w tkankach powodujące porządkowanie się wzorów tkankowych, odkrycie nowego zjawiska ilustrującego zasadę indukcji heterogenicznej w rozwoju roślin, stworzenie modelu ontogenetycznych transformacji upakowania samopodobnych elementów wzorów filotaktycznych, odkrycie u roślin dyslokacji - zjawisk występujących w kryształach. Prace eksperymentalne przeprowadzane są we współpracy z najlepszymi ośrodkami akademickimi Kanady, Stanów Zjednoczonych, Szwajcarii, Szwecji i Wielkiej Brytanii. Zespół realizuje ponadto grant europejski Sy-stem, w ramach którego kolegom z Niemiec i Francji została udostępniona opracowana we Wrocławiu oryginalna metoda badania deformacji rosnących powierzchni organów roślinnych.

W zakresie ochrony środowiska naturalnego prowadzone są również różnorodne badania (ekspertyzy, monitoring itp.), mające na celu opracowanie systemu ochrony biologicznej wybranych grup kregowców. Na szczególną uwagę zasługują działania w zakresie ochrony ryb i płazów, w tym ochrony czynnej, zarówno na terenach zbliżonych do naturalnych (parki narodowe i rezerваты przyrody), jak i w aglomeracjach miejskich. Temu celowi służą m.in. opracowywane i stosowane przez pracowników Uniwersytetu metody ochrony ryb i płazów *ex situ* (sztuczne zapłodnienie, hodowla, reintrodukcja). Część tych badań prowadzona jest we współpracy z partnerami zagranicznymi.

Grupą kregowców poddaną szczególnie silnej antropopresji są ryby. Stwarza to konieczność objęcia aktywną ochroną wielu najbardziej zagrożonych gatunków. Stopień zagrożenia dalszej egzystencji niektórych spośród nich wymaga opracowania

skutecznych metod rozmnażania i podchowu w warunkach kontrolowanych oraz określenia zasad wsiedlania uzyskanego narybku, które zagwarantują zachowanie naturalnego zróżnicowania genetycznego.

Również płazy są obecnie bardzo intensywnie badaną grupą zwierząt, gdyż z niewyjaśnionych do końca powodów ich liczebność ulega na naszych oczach znacznej redukcji. Z tego też powodu biolodzy z różnych krajów całego świata tworzą bazy danych istniejących populacji oraz prowadzą szereg badań mających na celu wyjaśnienie i wypracowanie metod przeciwdziałania temu zjawisku.

Potencjał naukowo – badawczy i wdrożeniowy

W środowisku wrocławskim istnieje znaczący potencjał naukowo – badawczy, reprezentowany przez szereg uczelni, instytutów naukowych i innych placówek, dysponujących przygotowaną merytorycznie kadrą jak i odpowiednim zapleczem laboratoryjnym (z wyjątkiem oznaczania dioksyn w materiale biologicznym). Umożliwia to prowadzenie kompleksowych badań w zakresie biomonitoringu jak też ekoprofilaktyki na terenie Dolnego. Poniżej przedstawiony jest wykaz jednostek przygotowanych do realizacji tego typu zadań.

1. Akademia Ekonomiczna we Wrocławiu:
 - Wydział Inżynierjno – Ekonomiczny, Katedra Bioutylizacji Odpadów Rolno – Spożywczych,
 - Wydział Nauk Ekonomicznych, Katedra Ekonomii Ekologicznej.
2. Akademia Medyczna we Wrocławiu – Wydział Lekarski:
 - Katedra i Zakład Higieny,
 - Katedra i Klinika Chorób Zawodowych.
3. Akademia Rolnicza we Wrocławiu:
 - Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt – Katedra Higieny Zwierząt i Ichtiologii,
Katedra Żywienia Zwierząt i Paszoznawstwa, Instytut Hodowli Zwierząt;
 - Wydział Rolniczy - Instytut Gleboznawstwa i Ochrony Środowiska Rolniczego,
Katedra Szczegółowej Uprawy Roślin, Katedra Żywienia Roślin;
 - Wydział Nauk o Żywności - Katedra Technologii Surowców Zwierzęcych i Zarządzania Jakością;

- Wydział Medycyny Weterynaryjnej – Katedra Biochemii, Farmakologii i Toksykologii;
 - Uczelniane Laboratorium Analityczne.
4. Instytut Górnictwa Odkrywkowego „Poltegor – Instytut” we Wrocławiu.
 5. Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN we Wrocławiu.
 6. Instytut Meteorologii i Gospodarki Wodnej - Oddział we Wrocławiu.
 7. Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Okręgowa Stacja Chemiczno – Rolnicza we Wrocławiu.
 8. Państwowy Instytut Geologiczny - Oddział Dolnośląski we Wrocławiu.
 9. Politechnika Wrocławska:
 - Wydział Chemiczny – Laboratorium Chemiczne Analiz Wielopierwiastkowych,
 - Wydział Inżynierii Środowiska – Zakład Naukowo – Dydaktyczny Ekologistyki i Ochrony Atmosfery.
 10. Uniwersytet Wrocławski:
 - Wydział Chemii(kilka jednostek naukowo – dydaktycznych),
 - Wydział Nauk o Ziemi i Kształtowania Środowiska.
 11. Wojewódzki Inspektorat Ochrony Środowiska we Wrocławiu.
 12. Wojewódzki Inspektorat Weterynaryjny - Zakład Higieny Weterynaryjnej we Wrocławiu.
 13. Wojewódzka Stacja Sanitarno – Epidemiologiczna we Wrocławiu.

Istniejąca we Wrocławiu baza naukowo – badawcza umożliwi wykorzystanie wyników licznych prac do przygotowania projektów wdrożeniowych i aplikacyjnych, które pozwolą na osiągnięcie kilku celów a mianowicie:

- pełne rozpoznanie (biomonitoring) zagrożeń środowiskowych w ekosystemach wiejskich i miejskich na Dolnym Śląsku,
- opracowanie metod ograniczenia skażeń pochodzących z rolnictwa, gospodarki komunalnej, przemysłu i komunikacji,
- opracowanie proekologicznych metod w produkcji roślinnej i zwierzęcej w rejonach zagrożeń ekologicznych.

Propozycje niektórych rozwiązań i wdrożeń, z których część może być aktualnie zastosowana w praktyce, podajemy poniżej:

1. Preparaty bioremediacyjne do likwidacji zanieczyszczenia substancjami ropopochodnymi gleby i wody.
2. Preparaty profilaktyczno – detoksykacyjne dla zwierząt gospodarskich utrzymywanych w rejonach zagrożenia ekologicznego.
3. Preparaty profilaktyczne dla ludzi (np. zawierające naturalne substancje o działaniu antagonistycznym do metali ciężkich i oczyszczającym organizmy jak chelaty, kwercytyna, huminiany, propolis, seleniny).
4. Ekologizacja rolnictwa poprzez:
 - stosowanie nawozów pochodzenia organicznego (biokompost, obornik, pomiot kurzy itd.),
 - stosowanie biodegradowalnych środków ochrony roślin oraz środków dezynfekcyjnych,
 - ograniczenie fermowych i intensywnych form produkcji zwierzęcej na rzecz gospodarstw ekologicznych i chowu ekstensywnego.
5. Racjonalizacja produkcji przemysłowej oraz gospodarki komunalnej poprzez:
 - zastosowanie proekologicznych i energooszczędnych technologii,
 - usprawnienie gospodarki wodno – ściekowej (oczyszczalnie),
 - poprawę gospodarki odpadami (recykling materiałowy).
6. Opracowanie zintegrowanego systemu monitoringu środowiska, surowców roślinnych i zwierzęcych, paszy i żywności oraz programu badań epidemiologicznych pod kątem kumulacji substancji niepożądanych u ludzi.