

Jednym z najczęstszych problemów ginekologii operacyjnej jest tworzenie się zrostów wewnątrztrzewnowych jako następstw wykonywanych wcześniej operacji w obrębie jamy brzusznej, miednicy mniejszej oraz stanów zapalnych narządów miednicy mniejszej i endometriozy. Zrosty wewnątrztrzewne są odpowiedzialne za przewlekłe i nawracające bóle, mogą prowadzić do niedrożności jelit oraz niepłodności.

Jednym ze sposobów prewencji zrostów jest okołoperacyjne stosowanie środków farmakologicznych, takich jak sterydy oraz dootrzewnowe podawanie roztworów mechanicznie zapobiegających tworzeniu się zrostów. Takim środkiem jest m. in. Dekstran 70 000. Niestety, szybki czas jego wchłaniania oraz niepotwierdzona skuteczność ograniczają jego przydatność, podobnie jak i innych środków stosowanych dootrzewnowo. Wyniki niektórych badań wykazują skuteczność dekstranu jako środka hamującego powstawanie zrostów pooperacyjnych. Jednak sam wpływ preparatu na fibroblasty i ich migracje pozostaje nadal nieznanym.

*Celem niniejszej pracy była próba zastosowania metod *in vitro* do oceny wpływu dekstranu (jako płynu referencyjnego) i porównanie jego działania na migrację komórek w hodowli ludzkich fibroblastów. Do badania użyto preparatu Adept, będącego 4-proc. roztworem ikodekstryny, stosowanym do prewencji otrzewnowych zrostów pooperacyjnych. Komórki do założenia hodowli uzyskano z fragmentów tkankowych pobranych podczas laparoskopii od pacjentek z masywnymi zrostami.*

W przeprowadzonych badaniach roztwór ikodekstryny w teście wound assay wykazuje większą aktywność hamującą migrację komórek HPF w porównaniu z roztworem dekstranu, zaś zahamowanie migracji fibroblastów otrzewnowych jest zależne od dawki ikodekstryny, a niezależne od dawki dekstranu.

*Zastosowanie metod *in vitro* do oceny preparatów zapobiegają-*

¹Katedra i Klinika Położnictwa, Chorób Kobietych i Ginekologii Onkologicznej AM im. L. Rydygiera w Bydgoszczy, kierownik Katedry prof. dr hab. n. med. Wiesław Szymański
²Zakład Wirusologii i Immunologii, Instytut Mikrobiologii i Biotechnologii Uniwersytetu M. Curie-Skłodowskiej w Lublinie, kierownik Zakładu prof. dr hab. Martyna Kandefer-Szerszeń

Zastosowanie metod *in vitro* do oceny skuteczności preparatów zapobiegających powstawaniu zrostów pooperacyjnych, z użyciem hodowli ludzkich fibroblastów otrzewnowych

The comparative in vitro – effectiveness of postoperative adhesions (PAs) preventing agents in human peritoneal fibroblast culture

Marek Szymański¹, Wojciech Rzeski², Maciej W. Socha¹

Wstęp

Jednym z najczęstszych problemów ginekologii operacyjnej jest tworzenie się zrostów wewnątrztrzewnowych jako następstw wykonywanych wcześniej operacji w obrębie jamy brzusznej, a szczególnie miednicy mniejszej. Operacje z powodu zrostów u pacjentek bez przeszłości zabiegowej dotyczą głównie kobiet po przebytych stanach zapalnych narządów miednicy mniejszej i ze stwierdzoną endometriozą.

Zrosty wewnątrztrzewnowe są odpowiedzialne za przewlekłe i nawracające bóle, będąc najczęściej spotykaną patologią u pacjentek z przewlekłym bólem miednicy [1]. Implikacje fertylologiczne wskazują, że nawet 20 proc. przypadków niepłodności kobiet spowodowane jest zrostami [1–3]. Paradoksem jest fakt, że operacje z powodu niepłodności mogą powodować utrwalenie istniejących oraz inicjować powstanie nowych zrostów.

Mimo intensywnych działań śródoperacyjnych, związanych ze zmniejszeniem krwawienia i urazów otrzewnej po operacjach z powodu niepłodności, zrosty stwierdza się u 71–96 proc. pacjentek [4].

Jednakże najpoważniejszym powikłaniem, będącym często zagrożeniem życia pacjentek i wymagającym natychmiastowej interwencji chirurgicznej, jest niedrożność jelita cienkiego [3], a ciężkie zrosty mogą powodować niedrożność moczowodów i trudności w oddawaniu moczu. Do powstania zrostów pooperacyjnych dochodzi u 93 proc. pacjentów poddanych laparotomii [5].

Zrosty powstają jako wynik reakcji zapalnej na uraz jamy otrzewnej. Zainicjowany proces adhezjogenezy kontrolowany jest przez wiele substancji i zależny zarówno od stanu ogólnego pacjentki, rodzaju zabiegu, jak i statusu immunologicznego i koagulologicznego pacjentek. W ciągu kilkunastu godzin od rozerwania wy-

cych adhezjogenezie stanowi wygodny model badawczy, a wyniki otrzymane w teście pokrywają się z danymi z piśmiennictwa, co dowodzi skuteczności klinicznej badanych preparatów.

Słowa kluczowe: zrosty pooperacyjne, badania *in vitro*, niepłodność, niedrożność jelit, ból miednicy, postępowanie przeciwzrostowe, zapobieganie zrostom, ludzkie fibroblasty otrzewnowe.

ściółki mezotelialnej na uszkodzonych powierzchniach dochodzi do odkładania fibryny. Metaplastja z podtrzewnowych komórek tkanki łącznej okołonaczyniowej powoduje, że rozrastająca się masa włókniaka zaczyna przylegać do otaczających powierzchni, tworząc mostek fibrynowy. Między 2. a 3. dniem po urazie, dzięki migracji fibroblastów i innych komórek przez mostek fibrynowy, zaczyna się rozwijać nowe *mesothelium*, tworząc strukturę tkanki łącznej. Jej waskularyzacja zaś powoduje powstanie grubych zrostów. Reepitelializacja jest zwykle ukończona w ciągu 5–9 dni [6, 7].

Inicjacja procesu tworzenia zrostów związana jest z powstawaniem wysokobiałkowego wysięku surowiczowłóknikowego, co jest wynikiem zmiany przepuszczalności naczyń podtrzewnowych, spowodowanej mediatorami uwolnionymi z pobudzonych komórek tłuszcznych. Z kolei aktywność mediatorów zapalnych i cytokin jest początkiem szlaku prowadzącego do powstania trombiny umożliwiającej przejście fibrynogenu w aktywną formę – fibrynę. Ostatnia z dróg może być hamowana przez heparyny drobnocząsteczkowe (LMWH – *low molecular weight heparin*) stosowane w ramach profilaktyki przeciwzakrzepowej. Wpływ LMWH na aktywność plazminy, pełniącej ważną kluczową rolę w adhezjolisie, pozostaje jeszcze niezbadany. Konwersja plazminogenu do plazminy warunkowana jest aktywnością t-PA (tkankowy aktywator plazminogenu) oraz PAI-1 i -2 (inhibitor aktywatora plazminogenu typu 1 i 2).

Niespecyficzną, ale bardzo złożoną odpowiedzią organizmu na uraz tkankowy jest reakcja ostrej fazy. Jak wskazują badania, próba modyfikacji przebiegu któregośkolwiek z jej 6 etapów powoduje zmniejszenie powstawania zrostów [8]. Popularne w klinice połączenie deksametazonu, prometazyny i dekstranu 70 wydaje się być uzasadnione przez wpływ tych środków na reakcję ostrej fazy.

Oprócz farmakologicznych sposobów kontroli adhezjogenezy oraz modyfikacji technik operacyjnych, stosuje się *miejscowo* substancje mechaniczne, oddzielające powierzchnie ranne otrzewnej i uniemożliwiające powstawanie zrostów. Doskonałą substancją zapobiegającą powstawaniu zrostów byłaby bariera adhezyjna, niepowodująca reakcji miejscowej, a jednocześnie

ulegająca całkowitemu wchłonięciu bez następstw poresorpcyjnych. Winna ona być łatwa do aplikacji i przylegać tylko do tkanki docelowej. Jednakże skuteczność i rodzaj substancji podawanych do jamy otrzewnej, by zapobiec powstawaniu zrostów, pozostaje ciągle niejednoznaczna.

Cel pracy

W pracy podjęto próbę zastosowania metod *in vitro* do oceny preparatów stosowanych wewnątrzotrzewnowo w zapobieganiu powstawania zrostów pooperacyjnych. W tym celu posłużono się metodą hodowli ludzkich fibroblastów otrzewnowych (HPF) oraz badaniem stopnia migracji komórek metodą wound assay.

Materiał i metody

Badane preparaty

Badaniem objęto preparat Adept, produkowany przez firmę Shire Pharmaceuticals Ltd z Wielkiej Brytanii, stosowany wewnątrzotrzewnowo w profilaktyce zrostów pooperacyjnych. Jest on 4-proc. roztworem ikoдекstryny, utrzymującym się w jamie otrzewnej przez 4 dni po zabiegu operacyjnym [9]. W tym czasie przepływ płynu w jamie otrzewnej tworzy mechaniczną barierę między trzewiami i podtrzymuje miejscowe rozdzielanie powierzchni otrzewnej.

Utrzymywanie się preparatu Adept w jamie otrzewnej wynika z niewielkiej szybkości wchłaniania ikoдекstryny oraz braku jej metabolizmu w jamie otrzewnej [9]. Udowodniono we wcześniejszych badaniach skuteczność 4-proc. roztworu ikoдекstryny w porównaniu z mleczanem Ringera i solą fizjologiczną w obniżaniu częstości, rozległości i ciężkości tworzących się zrostów [10, 11]. W prowadzonych badaniach nie zaobserwowano żadnych powikłań związanych ze stosowaniem 4-proc. roztworu ikoдекstryny.

Jako preparat referencyjny zastosowano dekstran, będący rozpuszczalnym w wodzie polimerem glukozy. W profilaktyce *miejscowej* zrostów używa się 32-proc. roztworu o ciężarze cząsteczkowym 70 000, pozostawianego *śródoperacyjnie* w jamie otrzewnej. W badaniu Rosenberga [7] oraz innym prospektywnym badaniu wykazano skuteczność dekstranu w zapobieganiu zrostom u kobiet operowanych z powodu niepłodności. Jednakże zmniejszenie ad-

Intra-abdominal adhesion formation is a major complication of serosal repair following surgery (postoperative adhesions-PAs), ischaemia or infection, leading to conditions such as intestinal obstruction and infertility. Adhesion formation in the peritoneal cavity is the most common cause of intestinal obstruction as well as secondary female infertility and adhesion-related readmissions are frequent sequelae to gynaecological surgery.

A great effort has been dedicated to reduce adhesion formation because of the associated infertility, morbidity and its complications.

PAs are usually clinically asymptomatic but in some cases present with chronic abdominal and pelvic pain, infertility, and intestinal obstruction may require intensive, costly therapeutic modalities.

The element of more complex activities against adhesion creation is to limit an inflammatory reaction in the area of operation by intraperitoneal and systemic pharmacotherapy. It includes in the field of pharmacological prophylaxis a systemic use of pharmaceuticals such as steroids and intraperitoneal dosing of dextran 70 000, just before closing the peritoneal cavity. Verification of the results of these activities during laparoscopy or laparotomy shows in some papers its high effectiveness. Using dextran as one of the agents points its role in adhesions prevention by separating healing peritoneal surfaces. But its effectiveness seems to limit the rapid absorption of the solutions as well as Ringer's lactated saline (RLS). The influence of the dextran on mesothelial fibroblasts and its migration in healing of peritoneum is still unknown.

Attempts to prevent adhesions by separating healing peritoneal surfaces include site-specific barriers and hydroflotation by instilled solutions.

The aim of the presented study was to compare the effectiveness

heezjogenezy zaobserwowano jedynie na obszarze ograniczonym – do zatoeki Douglasa. Powikłaniem zastosowania dekstranu może być DIC, wstrząs anafilaktyczny lub objawy uczulenia [12]. Obecnie dekstran jest powszechnie stosowanym i zalecanym środkiem jako jeden z elementów okołooperacyjnej profilaktyki przeciwrostowej, redukującym tworzenie się zrostów pooperacyjnych oraz przyleganie powierzchni otrzewnowych jelit [13]. Wg badań Dekstran 70 000 oddziałuje także na 2 pierwsze etapy reakcji ostrej fazy, głównie przez hamowanie uwalniania mediatorów, stabilizację błon komórkowych i działanie antyagregacyjne [8].

Hodowla fibroblastów otrzewnowych (HPF)

Hodowle fibroblastów zakładano z fragmentów tkanki pobranej w trakcie laparoskopii z powodu niepłodności u pacjentek, leczonych wcześniej na drodze laparoskopii. Wykluczono na podstawie badania podmiotowego przebyte stany zapalne w obrębie miednicy mniejszej oraz występowanie endometriozy. Fragment tkankowy pobierano kleszczykami biopsyjnymi z pasma zrostu otrzewnowo-przydatkowego.

Tkankę cięto na drobne fragmenty o wielkości ok. 1 mm³, które po 2-krotnym przepłukaniu w PBS zawieszano w podłożu hodowlanym i przenoszono do plastikowych butelek hodowlanych o powierzchni 25 cm² (Nunc, Roskilde, Denmark). Hodowle prowadzono w temp. 37°C, w inkubatorze z przepływem 5 proc. CO₂, aż do momentu uzyskania jednolitej warstwy komórek. Do hodowli komórek użyto podłoża MEM (Sigma, St. Louis, USA) z dodatkiem 10-proc. płodowej surowicy bydlęcej (FBS) (Life Technologies, Karlsruhe, Germany) oraz 1-proc. roztworu (*antibiotic/antimycotic solution*) (Life Technologies).

Po namnożeniu komórek zlewano podłoże hodowlane. Komórki przepłukiwano roztworem PBS (bez jonów wapnia i magnezu) oraz poddawano działaniu 0,25-proc. roztworu trypsyny i EDTA (Sigma, St. Louis, USA), w celu otrzymania zawiesiny komórek potrzebnej do przeprowadzenia doświadczenia. Do eksperymentów użyto hodowli na poziomie od 1 do 4 pasaży. Żywotność komórek określano metodą barwienia 0,4-proc. roztworem *Trypan Blue*.

Badanie stopnia migracji komórek metodą *wound assay*

Komórki (w ilości 5x10⁵) zawieszono w podłożu hodowlanym z dodatkiem 10 proc. surowicy (FBS) wylewano na płytki hodowlane (NUNC, Roskilde, Denmark) o średnicy 4 cm.

Następnego dnia końcówką pipety automatycznej w jednolitej warstwie komórek wykonano rysę, a odklejone komórki usuwano przez 2-krotne płukanie płytek roztworem PBS. Do tak przygotowanych hodowli dodawano preparat Adept lub Dekstran 70 000 w stężeniu 20 i 50 proc., zawieszony w roztworze HBSS (*Hank's balanced salt solution*) (Sigma) z dodatkiem 10-proc. FBS. Jako kontrolę zastosowano roztwór HBSS z dodatkiem 10-proc. FBS. Płytki inkubowano w temp. 37°C, w wilgotnej atmosferze 95 proc. powietrza i 5 proc. CO₂ przez 18 godz. Po tym czasie hodowlę zabarwiono metodą May-Grünwalda-Giemzy.

Tak przygotowane preparaty poddano analizie mikroskopowej w mikroskopie świetlnym Olympus BX51 (Olympus Optical CO, LTD, Tokyo, Japan) z zastosowaniem oprogramowania analySIS[®] (Soft Imaging System GmbH, Münster, Germany). Stopień migracji komórek określano poprzez liczenie komórek, które zasiedliły rysę wykonaną w warstwie komórek.

Wyniki

Badanie stopnia migracji fibroblastów otrzewnowych przeprowadzono w teście *wound assay*. Metoda ta służy do oceny aktywności substancji wpływających na ruchliwość komórek *in vitro*. Znalazła ona zastosowanie w badaniach nad gojeniem się ran, angiogenezą oraz przerzutowaniem nowotworów. Zahamowanie migracji komórek HPF pod wpływem badanych preparatów przedstawiono na wykresie 1.

Preparat Adept silnie hamował migrację fibroblastów otrzewnowych. W tym przypadku zahamowanie migracji komórek było zależne od dawki i wynosiło odpowiednio 39,6 proc. dla roztworu 20-proc. oraz 58,8 proc. dla roztworu 50-proc.

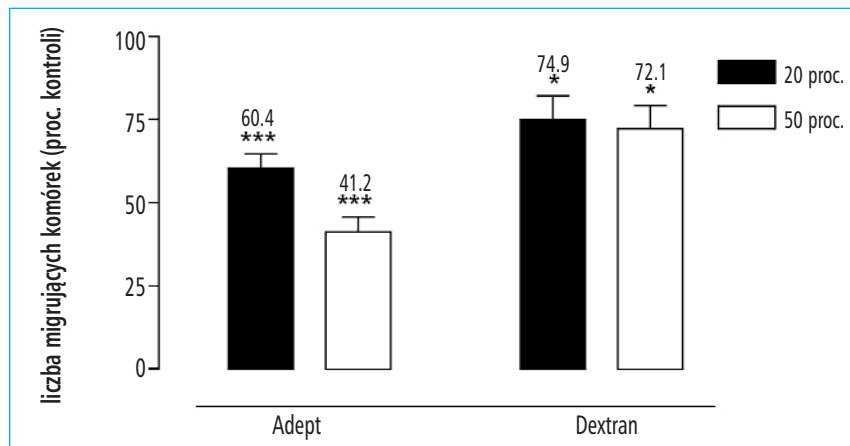
Preparat dekstranu charakteryzował się słabszą aktywnością. Zahamowanie migracji nie było zależne od zastosowanej dawki preparatu i wynosiło odpowiednio 25,1 proc. dla roztworu 20-proc. i 27,9 proc. dla roztworu 50-proc.

of 4% solution of icodextrin and dextran 70 000 in *in vitro* culture of Human Peritoneal Fibroblasts, evaluating migration of the cells. We used, in HPF culture, tissue from patient with intraperitoneal adhesions, collected during laparoscopy.

These studies suggest that icodextrin solution reduce in wound assay test migration of fibroblasts more effectively than dextran. The reduction of fibroblasts migration depends on concentration of icodextrin and no association with dextran concentration was observed.

The studies with *in vitro* model of fibroblasts migration can be useful to evaluate effectiveness of intraperitoneal agents preventing adhesions.

Key words: postoperative adhesions, *in vitro* study, infertility, intestinal obstruction, pelvic pain, antiadhesions treatment, prevention of adhesions, human peritoneal fibroblasts.



Ryc. 1. Zahamowanie migracji komórek HPF pod wpływem preparatu Adept oraz dekstranu. Analizę statystyczną przeprowadzono testem t-studenta, *- $p < 0,05$, ***- $p < 0,001$

Należy podkreślić, że zastosowane stężenia preparatów nie wpływały na żywotność komórek. W teście barwienia *Trypanem Blue* żywotność komórek wynosiła powyżej 90 proc.

Zahamowanie migracji fibroblastów otrzewnowych pod wpływem preparatu Adept przedstawiono również w sposób jakościowy. Na fot. 1. przedstawiono rysę w warstwie komórek HPF (A), zasiedlenie rysy przez komórki po 18 godz. inkubacji (B) oraz wyraźne zahamowanie migracji komórek pod wpływem preparatu Adept, dodanego do hodowli w stężeniu 20-proc. (C) i 50-proc. (D).

Wnioski

1. Roztwór ikodekstryny w teście *wound assay* wykazuje większą aktywność hamującą migrację komórek HPF w porównaniu z roztworem dekstranu.
2. Zahamowanie migracji fibroblastów otrzewnowych jest zależne od dawki ikodekstryny, a niezależne od dawki dekstranu.
3. Zastosowanie metod *in vitro* do oceny preparatów zapobiegających adhezjogenezie stanowi wygodny model badawczy, a wyniki otrzymane w teście pokrywają się z danymi z piśmiennictwa, co dowodzi skuteczności klinicznej badanych preparatów.

Dyskusja

Znalezienie idealnego środka, zestawu substancji pozwalających hamować adhezjogenezę lub inicjować farmakologiczną adhezjolisę, wydaje się być bardzo trudne. Ze względu na trudną randomizację badanych grup i kontrolę czynników wpływających na skomplikowany proces tworzenia

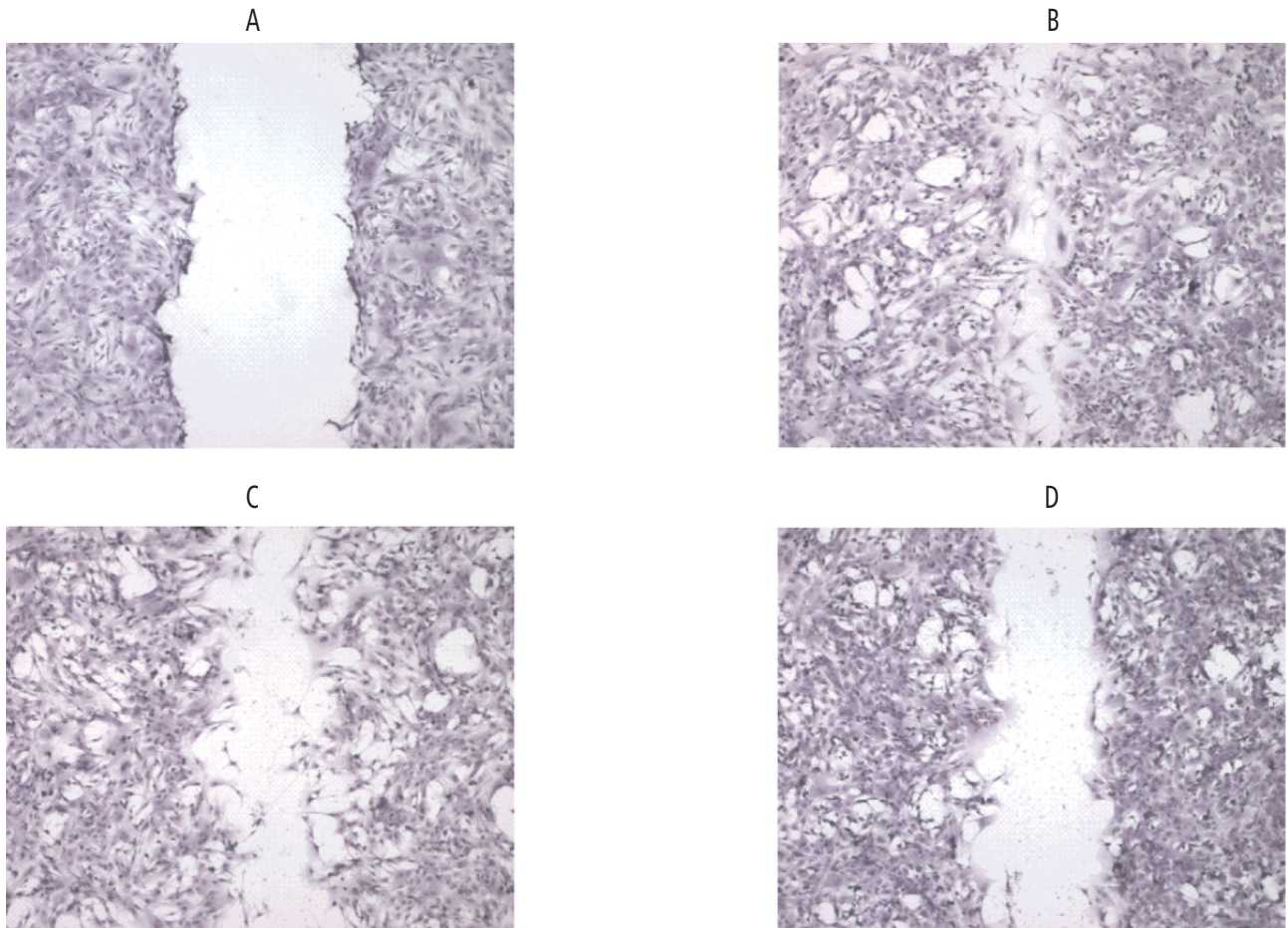
się zrostów, badania kliniczne nastroczą wielu kłopotów.

Zastosowanie technik *in vitro* oceny zahamowania migracji fibroblastów w hodowli ludzkich komórek otrzewnej może stanowić dobry model wstępnej oceny skuteczności środków zapobiegających tworzeniu się zrostów.

W badaniach *in vitro* stwierdzona wyższa skuteczność hamowania migracji fibroblastów przez roztwór ikodekstryny, w porównaniu z dekstranem, stanowi ważną informację co do klinicznych implikacji wyboru tych substancji w profilaktyce zrostów pooperacyjnych.

Przeprowadzone w Skandynawii badania kliniczne nie wykazały skuteczności dekstranu jako środka zapobiegającego powstawaniu zrostów. Potwierdzano to w laparoskopii kontrolnej w 12 dni po zabiegu z powodu niepłodności [14]. Dodatkowo zauważono, że mimo stwierdzonego w niektórych pracach działania przeciwzrostowego, dekstran wywoływał zapalenie otrzewnej i nieszczelność zespolenia jelitowego oraz gorsze gojenie rany i ograniczenie procesów naprawczych [15, 16].

Ikodekstryna jest substancją rozkładaną przez obecną w krążeniu alfa-amylazę do glukozy, zaś w przeprowadzonych badaniach nie zaobserwowano powikłań zagrażających życiu pacjentek po jej zastosowaniu, profil bezpieczeństwa uznano jako dobry [10]. Skuteczność kliniczna ikodekstryny nie jest jednoznaczna. W badaniach przedklinicznych wykazano skuteczność Adeptu jako prewencji zrostów pooperacyjnych [11]. W pracy di Zerega, w badaniach klinicznych nie stwierdzono istotnej statystycznie różnicy w zakresie zapobiegania zrostom w jamie otrzewnej w porównaniu



Fot. 1. Zahamowanie migracji komórek HPF pod wpływem preparatu Adept. A) rysa w jednolitej warstwie komórek, B) migracja komórek w próbie kontrolnej po 18 godz., C i D migracja komórek inkubowanych z 20-proc. i 50-proc. dodatkiem preparatu Adept. Komórki barwiono metodą May-Grünwalda-Giemsy, powiększenie 40 razy

z grupą kontrolną [10]. Dalsze badania kliniczne z użyciem ikodekstryny są w toku, a ich wyniki wraz z wybiórczą oceną skuteczności preparatu *in vitro* pozwolą na podjęcie ostatecznej decyzji co do wyboru miejscowego elementu profilaktyki przeciwrostowej u pacjentek pooperacyjnych. ■

Piśmiennictwo

- Lower AM, Hawthorn RJ, Ellis H, et al. *The impact of adhesions on hospital readmissions over ten years after 8849 open gynaecological operations: an assessment from the Surgical and Clinical Adhesions Research Study.* BJOG 2000; 107: 855-62.
- di Zerega GS, Campeau JD. *Use of intillates to prevent intraperitoneal adhesions: crystalloids and dextran.* Infertil Reprod Med Clin North Am 1995; 5: 463-78.
- di Zerega GS. *Contemporary adhesion prevention.* Fertil Steril 1994; 61: 219-35.
- di Zerega GS, Rodgers KE. *The Peritoneum.* Springer-Verlag, New York 1992: 9-10.
- Menzies D, Ellis H. *Intestinal obstruction from adhesions-how big is the problem?* Ann R Coll Surg Engl 1990; 72: 60-3.
- Holmdhal L. *Making and covering of surgical footprints.* Lancet 1999; 353: 1456-7.
- Rosenberg SM, Board JA. *High-molecular weight dextran in human infertility surgery.* Am J Obstet Gynecol 1984; 148: 380-5.
- Puchalski A. *Wpływ zapobiegającego wzrostom śródtrzewnym łącznego podawania deksametazonu, prometyzyny i dekstranu 70 na wybrane parametry odporności humoralnej u kobiet operowanych z powodu niepłodności mechanicznej.* Ann Acad Med Stetin 1998; 44: 115-36.
- Hosie K, Gilbert Ja, Kerr D, et al. *Fluid dynamics in man of an intraperitoneal drug delivery solution: 4% icodextrin.* Drug Deliv 2001; 8: 9-12.
- di Zerega GS, Verco SJ, Young P, et al. *A randomized, controlled pilot study of the safety and efficacy of 4% icodextrin solution in the reduction of adhesions following laparoscopic gynaecological surgery.* Hum Reprod 2002; 17: 1013-38.
- Verco SJ, Peers EM, Brown CB, et al. *Development of a novel glucose polymer solution (icodextrin) for adhesion prevention: pre-clinical studies.* Hum Reprod 2000; 15: 1764-72.
- Jakimiuk A. *Profilaktyka przeciwrostowa.* W: (Red.) Jakowicki JA. *Reoperacje w ginekologii.* Wyd. BiFolium 2004: 71-5.
- Fabri PJ, Ellison EC, Anderson ED, et al. *High molecular weight dextran – effect on adhesion formation and peritonitis in rats.* Surgery 1983, 94: 336-41.
- Jansen RP. *Failure of intraperitoneal adjuncts to improve the outcome of pelvic operations in young women.* Am J Obstet Gynecol 1985; 153: 363-71.
- Kasznia-Brown J, Chilarski A. *Profilaktyka wzrostów pooperacyjnych.* Nowa Paediatrics (20): 14-7.
- Richards WO, Williams LF. *Obstruction of the large and small intestine.* Surg Clin North Am 1988, 68: 355-76.

Adres do korespondencji

dr n. med. **Marek Szymański**
Katedra i Klinika Położnictwa,
Chorób Kobiety i Ginekologii Onkologicznej
Akademii Medycznej im. L. Rydygiera
SPZOZ Szpital Wojewódzki
im. dr. Jana Biziała
ul. Ujejskiego 75
85-168 Bydgoszcz
tel. +48 52 371 26 36