

Glikokortykoidy są grupą leków o działaniu przeciwzapalnym, przeciwalergicznym, immunosupresyjnym i przeciwnowotworowym. Efekt terapeutyczny glikokortykoidów może zostać osłabiony w wyniku rozwoju klinicznej oporności komórek docelowych. Zjawisko to odgrywa prawdopodobną rolę w patogenezie chorób autoimmunologicznych, AIDS, zespołu Nelsona, stwardnienia rozsianego i białaczek. Poprzez efekt limfolityczny, glikokortykoidy mają wyjątkowe znaczenie w terapii nowotworów układu chłonnego: ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) oraz chłoniaków u dzieci i dorosłych. Są podstawowym elementem decydującym o szybkości uzyskiwania remisji w tych chorobach, a odpowiedź na monoterapię steroidową jest jednym z najsilniejszych czynników prognostycznych w ALL u dzieci. W pracy przedstawiono aspekty kliniczne i laboratoryjne oporności na glikokortykoidy w ALL oraz najważniejsze mechanizmy działania glikokortykoidów i wiążących się z tym mechanizmów oporności. W badaniach retrospektywnych i prospektywnych wykazano istnienie korelacji oporności *in vitro* na prednizolon z odpowiedzią krótkoterminową oraz odległymi wynikami terapii przeciwbiałaczkowej. Oporność na monoterapię steroidową w ALL u dzieci jest związana ze 100-krotnie większą opornością *in vitro* na prednizolon. Wiek i immunofenotyp są związane z opornością *in vitro* na steroidy. We wznowie ALL oporność komórkowa jest wyższa, przy czym w przypadku steroidów różnica jest znacznie większa niż dla innych leków. Limfoblasty pacjentów dorosłych wykazują znacznie wyższą oporność na glikokortykoidy. Możliwe mechanizmy oporności na glikokortykoidy obejmują: utrudnienie dyfuzji przez błonę komórkową, zmniejszenie liczby receptorów glikokortykoidowych w cytoplazmie, warianty i nieprawidłową funkcję receptorów glikokortykoidowych, brak

Oporność na glikokortykoidy w ostrych białaczkach

Glucocorticoid resistance in acute leukemias

Jan Styczyński

Katedra i Klinika Pediatrii, Hematologii i Onkologii,
Akademia Medyczna w Bydgoszczy

WSTĘP

Glikokortykoidy (GLK) są jedną z najczęściej stosowanych grup leków w terapii wielu chorób w różnych dziedzinach medycznych. Wynika to z działania przeciwzapalnego, przeciwalergicznego, immunosupresyjnego i przeciwnowotworowego. Efekt tej grupy leków może być jednak osłabiony w wyniku rozwoju klinicznej oporności komórek docelowych. Aktualnie uważa się, że oporność na GLK może odgrywać rolę w patogenezie różnych chorób, takich jak choroby autoimmunologiczne, AIDS, zespół Nelsona, stwardnienie rozsiane i białaczki [1]. Wykazano, że w populacji osób zdrowych 6,6 proc. osób jest nadwrażliwa, a 2,3 proc. oporna na GLK [2]. GLK mają wyjątkowe znaczenie w terapii nowotworów układu chłonnego: ostrej białaczki limfoblastycznej (ALL) oraz chłoniakach niezłośliwych, zarówno u dzieci, jak i u dorosłych. Są podstawowym elementem decydującym o szybkości uzyskiwania remisji w tych chorobach, a odpowiedź na monoterapię steroidową stanowi jeden z najsilniejszych czynników prognostycznych w ALL u dzieci [3]. GLK są też stosowane w terapii skojarzonej innych nowotworów, takich jak przewlekła białaczka limfoblastyczna, choroba Hodgkina, szpiczak mnogi, gu-

zy ośrodkowego układu nerwowego i innych.

PROFIL CYTOTOKSYCZNOŚCI GLIKOKORTYKOIDÓW W ALL

W ALL oporność na co najmniej jeden z 3 leków: prednizolon, winkrystynę, L-asparaginazę występuje u ok. 41–48 proc. pacjentów w chwili rozpoznania, przy czym największy udział ma w tym oporność na prednizolon [4–5]. Wskutek powtarzanych cykli terapii z udziałem GLK, we wznowie odsetek GLK-oporności wzrasta do 60–90 proc. [4–6]. W badaniach retrospektywnych wykazano, że istnieje korelacja pomiędzy komórkową opornością *in vitro* na cytostatyki i odległymi wynikami terapii przeciwbiałaczkowej [7]. W badaniach prospektywnych wykazano korelację pomiędzy opornością *in vitro* na prednizolon i krótkoterminową odpowiedzią na terapię systemową prednizolonem [6]. Pacjenci klinicznie oporni na prednizolon są prawie 100-krotnie bardziej oporni na prednizolon *in vitro* niż pacjenci wrażliwi klinicznie na prednizolon; jednocześnie oporność *in vitro* jest związana z gorszymi wynikami odległymi. Wykazano również istnienie zjawiska oporności krzyżowej pomiędzy prednizolonem i 12 cytostatykami, należącymi do innych grup farmakologicznych, co sugeruje generalny mechanizm oporno-

aktywacji kompleksu steroid-receptor, zaburzenia transportu kompleksu steroid-receptor do jądra komórkowego, niemożność wiązania kompleksu steroid-receptor do DNA, niemożność fragmentacji DNA przez endonukleazy, wzmożoną naprawę DNA, zaburzenia receptorowej i/lub mitochondrialnej regulacji apoptozy oraz oporność aktywacji apoptozy.

Słowa kluczowe: białaczka, prednizolon, cytotoksyczność, mechanizmy oporności.

Glucocorticoids exert anti-inflammatory, anti-allergic, immunosuppressive and anti-proliferative activity. The clinical effect of glucocorticoids might be decreased by the development of cellular drug resistance. This phenomenon plays a role in the pathogenesis of autoimmune diseases, AIDS, Nelson syndrome, sclerosis multiplex and leukemias. Due to the specific lympholytic activity, glucocorticoids play a key role in the therapy of acute lymphoblastic leukemias (ALL) and lymphomas in children and adults. Laboratory and clinical aspects of the glucocorticoid role in acute lymphoblastic leukemia in children, as well as the most important mechanisms of glucocorticoid activity and cellular resistance are presented in this review.

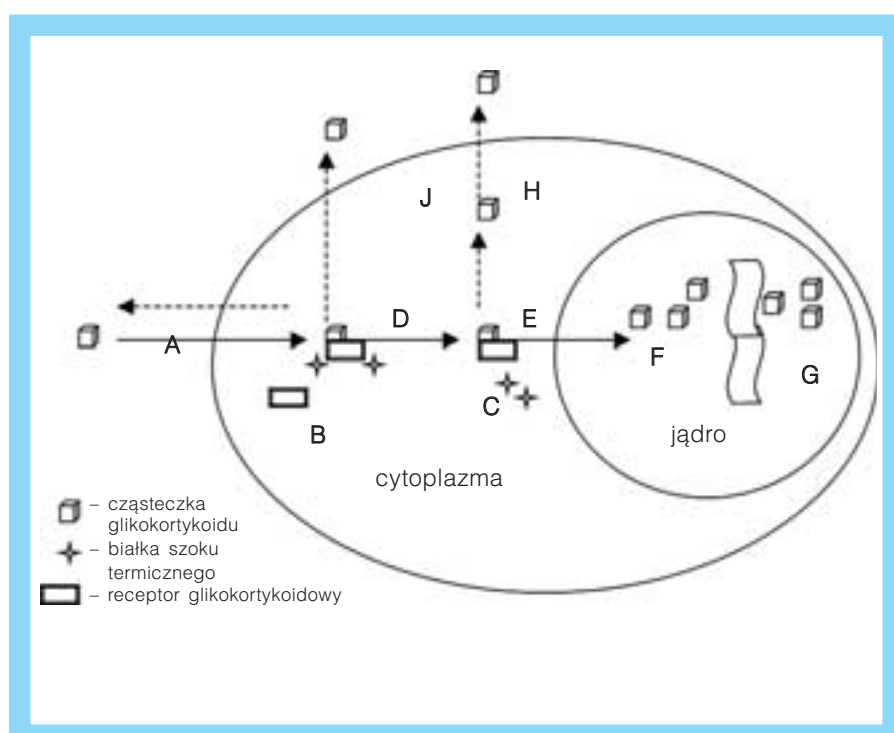
The achievement of remission in ALL is related to glucocorticoid sensitivity. The response to prednisolone monotherapy is the strongest prognostic factor in childhood ALL. The correlation of in vitro resistance to glucocorticoids with short- and long-term results of the antileukemic therapy was shown in retrospective and prospective studies. The resistance to glucocorticoid monotherapy in childhood ALL is related to 100-fold higher in vitro prednisolone resistance. The age and immunophenotype correlate with in vitro glucocorticoid resistance. Lymphoblasts on relapse are highly resistant; the difference is higher for

ści [6]. Glikokortykoidy są wysoce cytotoksyczne wobec limfoblastów i w związku z tym są kluczowym składnikiem w leczeniu ALL. Najczęściej stosowanym steroidem jest prednizolon, chociaż wykazano, że cytotoksyczność deksametazonu *in vitro* dla komórek ALL jest 16 razy większa od prednizolonu [8]. Wykazano również lepszą przenikalność deksametazonu do OUN i jego lepszą kontrolę wznów w OUN [9]. Wiek i immunofenotyp są związane z opornością *in vitro* na steroidy. Komórki dzieci z prognostycznie niekorzystnej wiekowo grupy (poniżej 1,5. roku życia lub powyżej 10. roku życia) były bardziej odporne *in vitro* na prednizolon niż u dzieci z pośredniej grupy wiekowej. Fenotypy niekorzystne rokowniczo, tj. T-ALL i pre-pre-B-ALL związane były z większą opornością *in vitro* na prednizolon niż fenotypy korzystne common-ALL i pre-B-ALL. Potwierdzeniem tego faktu jest to, że odsetek pacjentów ze złą odpowiedzią kliniczną na wstępną steroidoterapię jest wyższy w pre-pre-B-ALL i T-ALL niż w common-ALL i pre-B-ALL i z faktem, że liczba receptorów steroido-

wych jest niższa w T-ALL niż w common-ALL i pre-B-ALL. We wznowie ALL oporność na steroidy jest wyższa, przy czym różnica w przypadku steroidów jest znacznie większa niż dla innych leków [10]. Limfoblasty pacjentów dorosłych wykazują znacznie wyższą oporność na GLK [11].

MECHANIZM DZIAŁANIA I MOŻLIWE MECHANIZMY OPORNOŚCI NA GLIKOKORTYKOIDY

GLK w wyniku biernej dyfuzji wnikają przez błonę komórkową, wiążą się z wewnątrzkomórkowym receptorem i tworzą kompleks, który jest aktywowany i transportowany do jądra komórkowego (rycina, tabela). Tam kompleks ten łączy się z DNA, prowadząc do fragmentacji DNA, a w konsekwencji do śmierci komórki [4, 12]. GLK hamują proliferację komórek limfoidalnych poprzez zahamowanie cyklu komórkowego i przez indukcję apoptozy. Zahamowanie cyklu komórkowego jest konsekwencją wydłużenia faz G1 i S; możliwe jest również zahamowanie fazy G2/M [13].



Ryc. Schemat działania i mechanizmów oporności glikokortykoidów w komórkach białaczkowych (opis w tabeli)

glucocorticoids than for other drugs. Lymphoblasts from adults, when compared to children, present higher glucocorticoid resistance.

Putative mechanisms of glucocorticoid resistance include abnormalities in the drug diffusion through the cell membrane; low number, variants and dysfunction of glucocorticoid receptors in cytoplasm; no activation of the glucocorticoid-receptor complex, its translocation to the nucleus, binding to DNA and DNA fragmentation; DNA repair; disregulation of the receptor or mitochondrial apoptotic pathway and resistance to apoptosis.

Key words: leukemia, prednisolone, cytotoxicity, resistance mechanisms.

Możliwe mechanizmy oporności na GLK obejmują: utrudnienie dyfuzji GLK przez błonę komórkową, zmniejszenie liczby receptorów GLK w cytoplazmie, warianty receptorów GLK, nieprawidłową funkcję receptorów GLK, brak aktywacji kompleksu steroid-receptor, zaburzenia transportu kompleksu steroid-receptor do jądra komórkowego, niemożność wiązania kompleksu steroid-receptor do DNA, niemożność fragmentacji DNA przez endonukleazy, naprawa DNA poprzez poli-ADP-rybozylację związaną ze zużyciem NAD i ATP, receptorowe i/lub mitochondrialne zaburzenia w aktywacji apoptozy [4, 12, 14]. Oporność na apoptozę wyrażająca się niemożnością fragmentacji DNA przez endonukleazy i nasilonymi procesami naprawczymi DNA, wyrażającymi się zwiększoną aktywnością poli-ADP-rybozo-polymerazy, może być kluczowym mechanizmem oporności na glikokortykoidy [4, 8, 12, 14].

ROLA RECEPTORÓW GLIKOKORTYKOIDOWYCH

Aktualnie większość badań nad mechanizmami oporności na GLK ogniskuje się na receptorach GLK (GR). Wykazano, że apoptoza indukowana przez GLK zależy od ekspresji odpowiedniej liczby funkcjonalnych GR [12, 15–16]. Mechanizm działania polega na tym, że GLK wiąże się z GR jako ligand, następnie dochodzi do translokacji tego kompleksu z cytozolu do jądra komórkowego i tam dokonuje zmian w ekspresji genów na poziomie translacji [12]. Wysoka liczba receptorów jednak niekoniecznie koreluje z dobrą kliniczną odpowiedzią na chemioterapię [4, 15–17]. Nie wykazano związku liczby GR z apoptozą indukowaną przez GLK, natomiast stwierdzono korelację w ALL linii B-komórkowej pomiędzy liczbą receptorów w chwili rozpoznania i odległymi wynikami leczenia. Nie wykazano również różnic pomiędzy ekspresją GR u pacjentów wrażliwych i opornych klinicznie na GLK, natomiast zaobserwo-

wano obniżanie ekspresji GR pod wpływem terapii GLK [10, 13]. Liczba receptorów nie różniła się pomiędzy komórkami białaczkowymi przy rozpoznaniu i we wznowie, jednak komórki te różniły się wrażliwością *in vitro* na GLK [10]. Choć komórki ostrych białaczek nie-lymfoblastycznych (ANLL) mają tę samą liczbę receptorów GLK jak komórki ALL [10, 15], to komórki dzieci z ANLL są klinicznie i *in vitro* bardziej odporne na steroidy w stosunku do ALL [4, 18]. Prawidłowe limfocyty oraz komórki ALL mają porównywalne liczby receptorów, ale komórki ALL są bardziej wrażliwe na GLK [10]. Tak więc również inne, poza liczbą i funkcjonalnością GR, mechanizmy oporności na GLK mają istotne znaczenie w białaczkach dziecięcych.

OPORNOŚĆ NA APOPTOZĘ

Istnieją 2 główne drogi aktywacji kaspaz przez GLK, prowadzące do apoptozy: pierwsza – przez aktywację receptorów błonowych rozpoznawanych przez ich specyficzne ligandy; druga – bardziej złożona, w której centralną rolę odgrywa mitochondrium, a która jest aktywowana poprzez różne sygnały. Aktualnie dostępne dane sugerują, że GLK głównie powodują aktywację apoptozy drogą mitochondrialną wrażliwą na bcl-2, a droga receptorów powierzchniowych odgrywa drugorzędą rolę. Ekspresja białka bcl-2 nie jest wystarczającym czynnikiem ochrony komórki przed apoptozą indukowaną podczas ciągłej obecności GLK, powoduje jedynie opóźnienie, a nie zablokowanie śmierci komórki [12]. Białkiem indukującym apoptozę jest p53, jednakże w białku tym często dochodzi do mutacji, ograniczających możliwości stymulacji apoptozy tą drogą [12]. Z kolei, u myszy pozbawionej obecności białka p53, tymocyty poddane działaniu GLK ulegały jednak typowej apoptozie [19], jednoznacznie zaprzeczając kluczowej roli p53 w indukcji apoptozy przez GLK. Być może centralną rolę w indukcji

Tab. Główne mechanizmy oporności na glikokortykoidy i ich rola w ostrych białaczkach

Mechanizm oporności		Znaczenie
A. utrudnienie transportu przez błonowy	zmniejszenie przepuszczalności błony komórkowej	małe [4]
	obecność glikoproteiny P	prawdopodobnie duże [21]
B. upośledzenie funkcji receptorów glikokortykoidowych wewnątrz komórki	obniżenie liczby receptorów [10, 15]	duże, ale są istotne wyjątki
	nieprawidłowe proporcje	duże [22]
	izofornie receptorów	duże [23-24]
C. aktywność <i>heat-shock-protein</i> 90 (białek szoku termicznego)		małe [25]
D. zaburzenia aktywacji kompleksu GLK z receptorem		wątpliwe [4]
E. upośledzenie transportu kompleksu do jądra komórkowego		wątpliwe [4, 16]
F. utrudnione wiązanie GLK z DNA	metylacja DNA	istotne [17]
G. utrudnienie fragmentacji DNA przez GLK	utrudnienie fragmentacji	nieznane
	zwiększona naprawa DNA	duże [26]
H. wewnątrzkomórkowa degradacja GLK	rozkład w wyniku metabolizmu wewnątrzkomórkowego	prawdopodobne [27]
	sprzęganie z glutationem	prawdopodobne [28]
J. zaburzenia procesu apoptozy indukowanej przez GLK	nadekspresja c-myc	prawdopodobne [20]
	nadekspresja bcl-2	duże [12, 14]
	obniżona ekspresja lub mutacje p-53	duże [19]
	różnice w metabolizmie różnych komórek	prawdopodobne [12, 27]
	aktywacja cytokin	duże [14]
	zaburzenia regulacji apoptozy	duże [17]

Litery A–J – odpowiadają oznaczeniom na rycinie

apoptozy przez GLK odgrywa pro-onkogen c-myc [20]. Pod wpływem GLK dochodzi do obniżenia ekspresji c-myc [20]. Wykazano jednak w liniach pochodnych od CCRF-CEM efekt odwrotny: c-myc może nawet uwrażliwiać komórki na letalny efekt GLK, ma więc właściwości proapoptotyczne. GLK powodują także supresję czynników transkrypcyjnych, np. AP-1 [12]. Wydaje się więc, że apoptoza indukowana przez GLK nie jest jednoznacznie regulowana przez żaden znany typowy gen związany z apoptozą i istniejąca ciągle potrzeba czynnościowe-

go wyjaśnienia tych mechanizmów poprzez wykazanie, czy i jakie substancje nasilają lub hamują apoptozę indukowaną przez GLK.

PODSUMOWANIE

Opracowanie skutecznej terapii białaczek jest jednym z sukcesów współczesnej hematologii klinicznej. Jednakże u dużej grupy pacjentów ciągle występują niepowodzenia. Wydaje się, że oporność na cytostatyki w momencie rozpoznania lub nabyta w trakcie leczenia odgrywa istotną rolę. Udowodniono, że oporność komórkowa jest silnie

skorelowana z ryzykiem niepowodzeń w ALL u dzieci, jednakże wiedza o mechanizmach oporności i możliwościach jej modulacji jest ciągle bardzo ograniczona.

PIŚMIENNICTWO

- DeRijk R, Sternberg EM. *Corticosteroid resistance and disease*. Ann Med 1997; 29: 79-82.
- Lamberts SWJ, Huizinga ATM, De Lange P, De Jong FH, Koper JW. *Clinical aspects of glucocorticoid resistance*. Steroids 1996; 61: 157-60.
- Schrapppe M., Reiter A, Ludwig WD, Harbott J, Zimmermann M, Hiddemann W,

- Niemeyer C, Henze G, Feldges A, Zintl F, Kornhuber B, Ritter J, Welte K, Gardner H, Riehm H. *Improved outcome in childhood acute lymphoblastic leukemia despite reduced use of anthracyclines and cranial radiotherapy: results of trial ALL-BFM 90. German-Austrian-Swiss ALL-BFM Study Group.* Blood 2000; 95: 3310-22.
4. Kaspers GJ, Pieters R, Klumper E, De Waal FC, Veerman AJ. *Glucocorticoid resistance in childhood leukemia.* Leuk Lymphoma 1994; 13: 187-201.
 5. Hongo T, Yamada S, Yajima S, Watanabe C, Fujii Y, Kawasaki H, Yazaki M, Hanada R, Horikoshi Y. *Biological characteristics and prognostic value of in vitro three-drug resistance to prednisolone, L-asparaginase, and vincristine in childhood acute lymphoblastic leukemia.* Int J Hematol 1999; 70: 268-77.
 6. Kaspers GJ, Pieters R, Van Zantwijk CH, Van Wering ER, Van Der Does-Van Den Berg A, Veerman AJ. *Prednisolone resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia: vitro-vivo correlations and cross-resistance to other drugs.* Blood 1998; 92: 259-66.
 7. Pieters R, Huismans DR, Loonen AH, Hahlen K, van der Does-van den Berg A, van Wering ER, Veerman AJP. *Relation of cellular drug resistance to long-term clinical outcome in childhood acute lymphoblastic leukaemia.* Lancet 1991; 338: 399-403.
 8. Kaspers GJ, Veerman AJ, Popp-Snijders C, Lomecky M, Van Zantwijk CH, Swinkels LM, Van Wering ER, Pieters R. *Comparison of the antileukemic activity in vitro of dexamethasone and prednisolone in childhood acute lymphoblastic leukemia.* Med Pediatr Oncol 1996; 27: 114-21.
 9. Ito C, Evans WE, McNinch L, Coustan-Smith E, Mahmoud H, Pui CH, Campana D. *Comparative cytotoxicity of dexamethasone and prednisolone in childhood acute lymphoblastic leukemia.* J Clin Oncol 1996; 14: 2370-6.
 10. Pieters R, Klumper E, Kaspers GJ, Veerman AJ. *Everything you always wanted to know about cellular drug resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia.* Crit Rev Oncol Hematol 1997; 25: 11-26.
 11. Styczyński J, Pieters R, Huismans DR, Schuurhuis GJ, Wysocki M, Veerman AJP. *In vitro drug resistance profiles in adult versus childhood acute lymphoblastic leukaemia.* Br J Haematol 2000; 110: 813-818.
 12. Kofler R. *The molecular basis of glucocorticoid-induced apoptosis of lymphoblastic leukemia cells.* Histochem Cell Biol 2000; 114: 1-7.
 13. Baghdassarian N, Bertrand Y, Ffrench P, Duhaut P, Bryon PA, Ffrench M. *Role of bcl-2 and cell cycle regulatory proteins for corticoid sensitivity assessment in childhood acute lymphoblastic leukaemia.* Br J Haematol 2000; 109: 109-16.
 14. Alnemri ES, Fernandes TF, Haldar S, Croce CM, Litwack G. *Involvement of Bcl-2 in glucocorticoid-induced apoptosis of human pre-B-leukemias.* Cancer Res 1992; 52: 491-5.
 15. Pui CH, Costlow ME, Kalwinsky DK, Dahl GV. *Glucocorticoid receptors in childhood acute non-lymphocytic leukemia.* Leuk Res 1983; 7: 11-6.
 16. Costlow ME, Pui CH. *Nuclear translocation of lymphoblast glucocorticoid receptors in childhood leukemia does not predict steroid responsiveness.* J Steroid Biochem 1987; 26: 15-8.
 17. Haarman EG, Kaspers GJL, Veerman AJP. *Glucocorticoid resistance in childhood leukaemia: mechanisms and modulation.* Br J Haematol 2003; 120: 919-29.
 18. Styczyński J, Wysocki M, Balwierz W, Rokicka-Milewska R, Matysiak M, Balcerska A, Kowalczyk J, Wachowiak J, Sonta-Jakimczyk D, Chybicka A. *In vitro comparative antileukemic activity of various glucocorticoids in childhood acute leukemia.* Neoplasma 2002; 49: 178-83.
 19. Clarke AR, Purdie CA, Harrison DJ, Morris RG, Bird CC, Hooper ML, Wyllie AH. *Thymocyte apoptosis induced by p53-dependent and independent pathways.* Nature 1993; 362: 849-52.
 20. Thulasi R, Harbour DV, Thompson EB. *Suppression of c-myc is a critical step in glucocorticoid induced leukemic cell lysis.* J Biol Chem 1993; 268: 18306-12.
 21. Ueda K, Kino K, Taguchi Y, Yamada K, Saeki T, Tanigawara Y, Komano T. *Role of P-glycoprotein in the transport of hormones and peptides.* In: Gupta S, Tsuruo T (eds). *Multidrug Resistance in Cancer Cells.* John Wiley & Sons: Chichester 1996; 303-19.
 22. Longui CA, Vottero A, Adamson PC, Cole DE, Kino T, Monte O, Chrousos GP. *Low glucocorticoid receptor α/β ratio in T-cell lymphoblastic leukemia.* Horm Metab Res 2000; 32: 401-6.
 23. Tissing WJE, Lauten M, Meijerink JPP, Den Boer ML, Verschuuren AC, Gerdes K, Begger C, Wiemer ACE, Sonneveld P, Welte K, Schrappe M, Pieters R. *Glucocorticoid receptor splice variants alpha, beta and GR-P and in vitro glucocorticoid resistance in childhood acute lymphoblastic leukemia (abstract 1325).* Blood 2001; 98: 313a.
 24. Tissing WJE, Meijerink JPP, den Boer ML, Pieters R. *Molecular determinants of glucocorticoid sensitivity and resistance in acute lymphoblastic leukemia.* Leukemia 2003; 17: 17-25.
 25. Lauten M, Asgedom G, Welte K, Schrappe M. *In vivo protein expression of the glucocorticoid receptor and heat shock protein 90 in glucocorticoid sensitive and resistant childhood acute lymphoblastic leukemia (abstract O28).* Leukemia 2003; 17: 665.
 26. Smets LA, Salomons G, van den Berg J. *Glucocorticoid induced apoptosis in leukemia.* Adv Exp Med Biol 1999; 457: 607-614.
 27. Klein A, Lishner M, Bruser B, Curtis JE, Amamoto DJ, Malkin A. *Cortisol metabolism by lymphocytes of patients from chronic lymphocytic leukemia.* Biochem Cell Biol 1990; 68: 810-813.
 28. Maung ZT, Hogarth L, Reid MM, Proctor SJ, Hamilton PJ, Hall AG. *Raised intracellular glutathione levels correlate with in vitro resistance to cytotoxic drugs in leukemic cells from patients with acute lymphoblastic leukemia.* Leukemia 1994; 8: 1487-91.

ADRES DO KORESPONDENCJI

dr n. med. **Jan Styczyński**
 Katedra i Klinika Pediatrii,
 Hematologii i Onkologii
 Akademia Medyczna
 ul. M. Curie-Skłodowskiej 9
 85-094 Bydgoszcz
 tel. 0 (prefiks) 52 585 48 60
 faks 0 (prefiks) 52 585 48 67
 e-mail: jan_styczynski@wp.pl