

(31)

# Ocena związku pomiędzy naczyniowym czynnikiem wzrostu śródbłonna (VEGF), czynnikiem martwicy nowotworu (TNF- $\alpha$ ), interleukiną 6 (IL-6), wyrównaniem metabolicznym (HbA1c) a rozwojem retinopatii cukrzycowej u dzieci z cukrzycą typu 1.

*The assessment of the correlation between vascular endothelial growth factor (VEGF), tumor necrosis factor (TNF- $\alpha$ ), interleukin 6 (IL-6), glycaemic control (HbA1c) and the development of the diabetic retinopathy in children with diabetes mellitus type 1*

Małgorzata Myśliwiec<sup>1</sup>, Anna Balcerska<sup>1</sup>, Katarzyna Zorena<sup>2</sup>,  
Jolanta Myśliwska<sup>2</sup>, Paweł Lipowski<sup>3</sup>, Krystyna Raczyńska<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Z Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii Akademii Medycznej w Gdańsku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Anna Balcerska

<sup>2</sup> Z Zakładu Immunologii Akademii Medycznej w Gdańsku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jolanta Myśliwska

<sup>3</sup> Z Katedry i Kliniki Chorób Oczu Akademii Medycznej w Gdańsku

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Krystyna Raczyńska

## Summary:

The aim of the work is to assess the correlation between HbA1c, VEGF, TNF- $\alpha$ , IL-6 and the development of diabetic retinopathy in children diagnosed with diabetes mellitus type 1. One hundred forty nine children with long-standing diabetes mellitus type 1 were enrolled in the study. The patients were divided into two subgroups: children with retinopathy (Group 1; n=28) and children without retinopathy (Group 2, n=121). The control group consisted of 62 healthy children. All the examined children had VEGF, TNF- $\alpha$  and IL-6 measured in the blood serum using highly sensitive ELISA tests. Statistically significant higher blood serum levels of HbA1c, VEGF, TNF- $\alpha$  and IL-6 were found in the group 1 in comparison with the group 2. Children of the group 2 in relation to healthy controls showed statistically significant higher blood serum levels of VEGF, TNF- $\alpha$  and IL-6. Elevated levels of VEGF, TNF- $\alpha$ , IL-6, HbA1c in blood serum of children with diabetes mellitus type 1 detected before development of overt signs of diabetic retinopathy might indicate the possibility of the occurrence of changes in the eye shortly.

**Słowa kluczowe:** cukrzyca typu 1., retinopatia cukrzycowa, VEGF, TNF- $\alpha$ , IL-6.

**Key words:** Diabetes Mellitus type 1, retinopathy diabetica, VEGF, TNF- $\alpha$ , IL-6.

## Wstęp

Retinopatia jest jednym z najgroźniejszych przewlekłych powikłań cukrzycy typu 1. (1). Dane z dużego prospektywnego badania klinicznego Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) potwierdzają, że prawidłowe wyrównanie metaboliczne w przebiegu cukrzycy typu 1. w istotny sposób zapobiega postępowi zmian na dnie oka oraz pojawieniu się objawów retinopatii (2). Prowadzone w ciągu ostatnich lat badania coraz częściej wskazują na związek pomiędzy tzw. końcowymi produktami glikacji (AGE) a rozwojem angiopatii, w tym retinopatii cukrzycowej (3,4). Nadal jednak nie do końca wyjaśniony jest mechanizm uszkodzenia narządu wzroku przez AGE u dzieci z cukrzycą typu 1. Nieliczne prace wskazują na możliwość udziału AGE w rozwoju retinopatii cukrzycowej poprzez zwiększenie produkcji VEGF (5). Uważa się, że VEGF przyczynia się

do utraty szczelności bariery krwi-siatkówka i stymuluje proces neowaskularyzacji w zaawansowanej już retinopatii (6). Przedmiotem badań pozostaje nadal udział VEGF w rozwoju wczesnych zmian w narządzie wzroku u dzieci, kiedy ogólnie dostępne parametry funkcji tego narządu są jeszcze prawidłowe. Ponadto nadal niejasna jest rola cytokin prozapalnych z udziałem VEGF we wczesnym rozwoju retinopatii cukrzycowej. Nasze wcześniejsze badania dzieci z nowo rozpoznaną cukrzycą typu 1. (7) oraz z długotrwałą cukrzycą typu 1. mogą świadczyć o kluczowej roli TNF- $\alpha$  (8) i IL-6 (9) w rozwoju neofropatii i retinopatii cukrzycowej.

W obecnej pracy podjęliśmy próbę wyjaśnienia związku pomiędzy poziomem wyrównania metabolicznego, czynnikiem wzrostu VEGF, cytokinami prozapalnymi TNF- $\alpha$ , IL-6 a rozwojem retinopatii cukrzycowej u dzieci.

## Materiał i metody

Badania przeprowadzono w grupie 149 dzieci z rozpoznaniem cukrzycy typu 1. (72 chłopców oraz 77 dziewcząt) w wieku  $12,9 \pm 3,64$  roku, pozostających pod opieką Oddziału Diabetologii Dziecięcej Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii Akademii Medycznej w Gdańsku. Cukrzycę typu 1. rozpoznano na podstawie kryteriów American Diabetes Association (10). Grupę kontrolną stanowiło 62 zdrowych dzieci w wieku  $14,96 \pm 4,13$  roku. Dzieci z cukrzycą typu 1. leczono insulinami humanizowanymi. Stopień wyrównania metabolicznego cukrzycy oceniono na podstawie stężenia hemoglobiny glikozylowanej (HbA1c) oznaczonego w surowicy krwi metodą immunoturbidymetryczną. Poziom białka C-reaktywnego (CRP) oznaczono wysokim czułym testem (HsCRP firmy Dade Behring, USA). U wszystkich pacjentów oceniono dobowe wydalanie albumin w moczu metodą immunoturbidymetryczną przy użyciu testu Tina-quant® (Boehringer Mannheim GmbH, Germany). Ponadto wykonano dobowy pomiar ciśnienia tętniczego. U wszystkich badanych dzieci z przewlekłą cukrzycą typu 1. wykonano badanie okulistyczne zgodnie z obowiązującą klasyfikacją (11). Badanie dna oka przeprowadzono po podaniu kropli 1% Sol. Tropicaid, soczewką +90 D firmy (Okular Instruments – USA). Oceny przedniego odcinka gałki ocznej dokonano lampą szczelinową (TOPCON SL-8Z – JAPAN). Natomiast angiografię fluoresceinową (FL-A) wykonano kamerą cyfrową TOPCON IMAGENET 2000 (JAPAN). Ponadto u wszystkich dzieci oznaczono poziom VEGF, TNF $\alpha$  oraz IL-6 metodą ELISA przy zastosowaniu zestawów Human Quantikine HS R&D Systems, Minneapolis, USA. Na realizację badań będących przedmiotem pracy uzyskano zgodę rodziców badanych dzieci, a także zgodę Niezależnej Komisji Bio-

tycznej ds. Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Gdańsku (NKEBN/610/2003/2004).

## Analiza statystyczna

Zgodność rozkładu badanych zmiennych z rozkładem normalnym badano testem Kołmogorowa-Smirnowa. Do porównania średnich stosowano test t-Studenta oraz test U Manna-Whitneya. Za poziom istotności statystycznej przyjęto  $p = 0,05$ . Analizy danych dokonano za pomocą programu Statistica 7.0 firmy StatSoft Inc. dla AMG.

## Wyniki

### Charakterystyka kliniczna i biochemiczna dzieci z cukrzycą typu 1 w zależności od występowania retinopatii cukrzycowej

Dzieci z przewlekłą cukrzycą typu 1. z rozpoznąną retinopatią cukrzycową (grupa 1,  $n = 28$ ) były starsze, charakteryzowały się statystycznie znamienym dłuższym czasem trwania choroby, istotnie niższym wiekiem zachorowania na cukrzycę typu 1., statystycznie znamienym wyższym poziomem HbA1c, CRP, wyższym ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym w porównaniu do grupy dzieci bez retinopatii cukrzycowej (grupa 2,  $n = 121$ ). Poziom wydalania albumin w moczu był istotnie wyższy w grupie pacjentów z retinopatią niż w grupie dzieci bez retinopatii. Ponadto, w grupie dzieci z retinopatią cukrzycową ( $n = 28$ ) u 19 pacjentów rozpoznano mikroalbuminurię, a u 12 dzieci nadciśnienie tętnicze. Natomiast w grupie dzieci bez udokumentowanej retinopatii cukrzycowej ( $n = 121$ ) tylko u 9 dzieci z cukrzycą typu 1. rozpoznano mikroalbuminurię, u żadnego pacjenta w tej grupie chorych nie wykryto nadciśnienia tętniczego.

Parametry Parameters	Grupa 1 Group 1	Grupa 2 Group 2	Grupa kontrolna Control group	p
N	28	121	62	
Wiek (lata) Age (years)	$15,11 \pm 3,35^*$	$12,53 \pm 3,24$	$14,96 \pm 4,13$	$p < 0,001^*$ $p < 0,001^{**}$
Czas trwania cukrzycy (lata) Duration of diabetes (years)	$8,32 \pm 3,24^*$	$4,10 \pm 2,55$	-	$p < 0,001^*$
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$20,50 \pm 3,26$	$19,71 \pm 2,34$	$18,23 \pm 2,4$	$p = 0,068^*$ $p = 0,074^{**}$
HbA1c (%)	$9,22 \pm 1,65^*$	$8,35 \pm 2,02$	$3,9 \pm 0,21$	$p = 0,015^*$ $p < 0,001^{**}$
CRP mg/dl	$1,88 \pm 1,14^*$	$1,53 \pm 1,35$	$0,47 \pm 0,37$	$p = 0,007^*$ $p < 0,001^{**}$
Albuminuria (mg/24) Albumin excretion rate (mg/24)	44,15 (1,15-236,00)*	16,12 (0,10-238,00)	$2,2 \pm 1,4$	$p < 0,001^*$ $p = 0,016^{**}$
Kreatynina w surowicy krwi ( $\mu$ mol/l) Creatinine in serum ( $\mu$ mol/l)	$0,81 \pm 0,14$	$0,75 \pm 0,14$	$0,58 \pm 0,12$	$p = 0,1^*$ $p = 0,085$
Ciśnienie skurczowe (mm Hg) Systolic blood pressure (mm Hg)	$118,12 \pm 10,82^*$	$111,23 \pm 11,20$	$106,07 \pm 8,25$	$p < 0,001^*$ $p = 0,075^{**}$
Ciśnienie rozkurczowe (mm Hg) Diastolic blood pressure (mm Hg)	$74,35 \pm 11,21^*$	$70,56 \pm 8,39$	$67,30 \pm 7,41$	$P < 0,001^*$ $p = 0,096^{**}$

**Tab. I.** Kliniczne i biochemiczne parametry dzieci z retinopatią (grupa 1) i bez retinopatii cukrzycowej.

**Tab. I.** Clinical and biochemical parameters of children with diabetic retinopathy (group 1) and without diabetic retinopathy (group 2).

\* różnice pomiędzy dziećmi z retinopatią i bez retinopatii ( $p < 0,05$ )

\* differences between children with retinopathy and without retinopathy ( $p < 0,05$ )

\*\* różnice pomiędzy dziećmi bez retinopatii i grupą dzieci zdrowych ( $p < 0,05$ )

statistical significance ( $p < 0,05$ )

\*\* differences between children without retinopathy and healthy group ( $p < 0,05$ )

Cytokiny Cytokines	Grupa 1 Group 1	Grupa 2 Group 2	Grupa kontrolna Control group	P
N	28	121	62	
TNF $\alpha$ (pg/ml)	2,62 (0,00-6,50)*	0,78 (0,00-3,70)**	0,025 (0,00-0,60)	p<0,001* p<0,001**
IL-6 (pg/ml)	2,14 (0,00-5,16)*	1,26 (0,00-7,70)**	0,23 (0,00-1,10)	p<0,001* p<0,001**
VEGF (pg/ml)	316,82 (0,00-745,14)*	164,14 (0,00-118,00)**	85,61 (13,85-364,46)	p<0,001* p<0,001**

**Tab. II.** Poziom cytokin w surowicy krwi u dzieci z retinopatią cukrzycową (grupa 1), bez retinopatii cukrzycowej (grupa 2) i w grupie kontrolnej.  
**Tab. II.** Level of cytokines in serum of children with diabetic retinopathy (group 1) and without diabetic retinopathy (group 2) and control group.

\* różnice pomiędzy dziećmi z retinopatią i bez retinopatii (p < 0,05)

\* differences between children with retinopathy and without retinopathy (p < 0,05)

\*\* różnice pomiędzy dziećmi bez retinopatii i grupą dzieci zdrowych (p < 0,05)

\*\* differences between children without retinopathy and healthy group (p < 0,05)

statistical significance (p < 0,05)

### Aktywność badanych cytokin w zależności od występowania lub niestwierdzenia objawów retinopatii cukrzycowej u dzieci z cukrzycą typu 1.

W grupie pacjentów, u których rozpoznano retinopatię cukrzycową (grupa 1), stwierdzono statystycznie znamienne wyższy poziom TNF- $\alpha$  (p < 0,001), IL-6 (p < 0,001) oraz VEGF w surowicy krwi (p < 0,001) w porównaniu z grupą dzieci, u których nie rozwinęły się objawy retinopatii cukrzycowej (grupa 2).

#### Porównanie grupy dzieci z cukrzycą typu 1., ale bez retinopatii cukrzycowej, z grupą dzieci zdrowych

Dzieci bez objawów retinopatii cukrzycowej (grupa 2) w porównaniu z dziećmi zdrowymi wykazywały statystycznie znamienne wyższy poziomem HbA1c, CRP oraz istotnie wyższy poziom wydalania albumin w moczu. Ponadto w grupie 2. stwierdzono statystycznie znamienne wyższy poziom TNF- $\alpha$  (p < 0,001), IL-6 (p < 0,001) oraz VEGF (p < 0,001) w surowicy krwi w porównaniu z grupą kontrolną.

#### Relacja między aktywnością VEGF a innymi parametrami

W badanej grupie dzieci z cukrzycą typu 1. stwierdzono dodatnią statystycznie znamienne korelację pomiędzy poziomem VEGF w surowicy krwi a poziomem TNF- $\alpha$  w surowicy krwi (R = 0,28, p = 0,000), poziomem CRP w surowicy krwi (R = 0,21, p = 0,003), wielkością wydalania albumin w moczu (R = 0,42, p = 0,000), czasem trwania choroby (R = 0,25, p = 0,004).

### Dyskusja

W przeprowadzonych badaniach wykazaliśmy statystycznie znamienne wyższy poziom HbA1c w grupie dzieci z cukrzycą typu 1. z objawami retinopatii nieproliferacyjnej w porównaniu do pacjentów bez zmian w narządzie wzroku.

Uważa się, że obecność końcowych produktów glikozylacji (AGEs) koreluje z rozwojem późnych powikłań cukrzycy, w tym retinopatii cukrzycowej, zaś ich produkcja jest indukowana przez hiperglikemię (4). Przedmiotem badań pozostaje wciąż patomechanizm rozwoju retinopatii cukrzycowej z udziałem AGEs. Murata i wsp. (12) wykazali w swoich badaniach, że zwiększonemu stężeniu AGEs w siatkówce u pacjentów z cukrzycą typu 1 z objawami retinopatii cukrzycowej nieproliferacyjnej towarzy-

szyla zwiększona produkcja VEGF. Natomiast Lu i wsp. (13) wyjaśniają, że podwyższone stężenie VEGF u pacjentów z cukrzycą typu 1. jest wynikiem zwiększonej produkcji reaktywnych form tlenu (ROI-reactive oxygen intermediates) po połączeniu się AGEs z receptorami na komórkach śródbłonka.

Ostatnio badacze zwracają uwagę na kwestię VEGF jako czynnika odgrywającego istotną rolę w patogenezie proliferacji naczyń. VEGF wzmacnia przepuszczalność naczyń, moduluje angiogenezę, a także stymuluje proliferację oraz migrację komórek śródbłonka (14).

W naszych badaniach poziom VEGF w surowicy krwi był istotnie podwyższony nie tylko w grupie dzieci z cukrzycą typu 1. i z retinopatią nieproliferacyjną (grupa 1), ale również u pacjentów bez zmian w narządzie wzroku (grupa 2) w odniesieniu do grupy dzieci zdrowych. Dane z literatury wskazują, że poziom VEGF w surowicy krwi może odzwierciedlać jego poziom w obrębie narządu wzroku. Hernandez i wsp. (15) wykazali w swojej pracy, iż podwyższony poziom VEGF w cieczy wodnistej oka u pacjentów z retinopatią cukrzycową istotnie korelował z podwyższonym poziomem VEGF w surowicy krwi i był statystycznie znamienne wyższy w porównaniu z grupą osób zdrowych.

Porównanie średnich wartości poziomu VEGF w surowicy krwi w poszczególnych grupach badanych przez nas dzieci wskazuje na istnienie istotnych różnic w zależności od stopnia zaawansowania choroby. Najwyższe poziomy VEGF w surowicy krwi odnotowano u dzieci z objawami retinopatii nieproliferacyjnej, niższe u pacjentów bez objawów w narządzie wzroku, a najniższe u dzieci zdrowych. Istnieje zatem możliwość śledzenia poziomu tego czynnika u dzieci z cukrzycą typu 1. od początku choroby i opracowanie odpowiednich przedziałów wartości poziomu VEGF w zależności od stopnia zaawansowania rozwoju zmian w narządzie wzroku. Pomiar poziomu VEGF u dzieci z cukrzycą typu 1 może stać się dodatkowym markerem w przewidywaniu retinopatii cukrzycowej oraz wyprzedzić pojawienie się nieodwracalnych zmian w narządzie wzroku

Uważa się, że jednym z mechanizmów, w wyniku których VEGF prowadzi do rozwoju retinopatii cukrzycowej, jest stymulacja syntezy białka chemotaktycznego dla monocytów MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) (16). Oddziałujące na

siebie kolejno AGE, VEGF i MCP-1 mają wpływ nie tylko na migrację leukocytów do naczyń siatkówki, ale również działają chemotaktycznie na komórki NK, limfocyty T. Ostatecznie dochodzi do obliteracji światła tych naczyń, niedotlenienia i niedokrwienia siatkówki. Niedotlenienie z kolei w krótkim czasie zwiększa nawet 30-krotnie ekspresję VEGF mRNA (17). Pomimo licznych badań, w patomechanizmie neowaskularyzacji wciąż istnieje wiele niewyjaśnionych zjawisk. Z jednej strony udowodniono, iż podanie egzogenego VEGF było wystarczające do rozwoju nowych naczyń w obrębie siatkówki (18). Z drugiej zaś wykazano na modelach zwierzęcych, że obecność endo- lub egzogenego VEGF zawsze wywiera wpływ na przepuszczalność naczyniową, nie zawsze jednak jest związana z powstaniem nowych naczyń (19). Ponadto w tej samej pracy zauważono, że istnieje pewna grupa chorych z objawami neowaskularyzacji siatkówki, u których VEGF w ciele szklistym był niewykrywalny. Fakty te sugerują istotną rolę – obok VEGF – innych czynników zapalnych w procesie angiogenezy. W publikacjach z ostatnich lat coraz więcej uwagi poświęca się analizie markerów reakcji zapalnej w surowicy krwi u chorych na cukrzycę typu 1. w kontekście mikroangiopatii cukrzycowej (20). W dotychczas przeprowadzonych badaniach oraz w obecnej pracy wykazaliśmy znamienne wyższe wartości CRP, TNF- $\alpha$  oraz IL-6 u dzieci chorych na cukrzycę typu 1. powikłaną nefropatią i retinopatią cukrzycową w porównaniu do grupy dzieci, u których nie wykazano zmian w narządzie wzroku (8,9). Dodatkowo w obecnej pracy stwierdziliśmy istotną korelację pomiędzy poziomem TNF- $\alpha$  a VEGF. Wynik ten potwierdza wcześniejsze spostrzeżenia autorów, którzy zasygnalizowali, iż ekspresję VEGF obok hipoksji wzmagają cytokiny prozapalne, w tym TNF- $\alpha$  (21).

Sygnalizowany w piśmiennictwie (22) udział IL-6 w progresji retinopatii cukrzycowej znalazł potwierdzenie w wynikach naszych badań. Wykazaliśmy istotną gradację wzrostu poziomu IL-6 porównując dzieci zdrowe, dzieci z cukrzycą typu 1., ale bez zmian w narządzie wzroku oraz grupę chorych dzieci z objawami retinopatii cukrzycowej nieproliferacyjnej. Podwyższony poziom IL-6 oraz TNF- $\alpha$  w surowicy krwi u dzieci z cukrzycą typu 1. tłumaczony jest jako wynik nieprawidłowego wyrównania metabolicznego i hiperglikemii (23). Końcowe produkty glikacji białek poprzez swoje receptory aktywują monocyty, makrofagi, komórki śródbłonna, które stają się wówczas źródłem nie tylko prozapalnych cytokin, ale również czynników wzrostu, w tym VEGF. IL-6 podobnie jak TNF- $\alpha$  jest rozważana jako pośredni induktor angiogenezy, która zwiększa ekspresję VEGF (18).

Już na obecnym etapie badań należy przypuszczać, że powstanie i rozwój zmian naczyniowych w obrębie narządu wzroku w przebiegu cukrzycy typu 1. u dzieci nie jest wynikiem działania jednego czynnika, ale zespołu czynników współdziałających ze sobą. Wyniki badań własnych oraz doniesienia innych autorów pozwalają spojrzeć szerzej na patogenezę retinopatii cukrzycowej. Założenie, że jest ona konsekwencją toczącego się przewlekłego procesu zapalnego daje nowe możliwości terapeutyczne. Obecnie podejmowane są próby mające na celu niedopuszczenie do tworzenia się AGE, zmniejszenie ich wpływu na komórki docelowe oraz rozrywanie wiązań krzyżowych pomiędzy już istniejącymi AGEs (24). Ponadto w fazie badań klinicznych jest zastosowanie przeciwciał neutralizujących VEGF, inhibitorów receptora dla VEGF (VEGFR1) (25) oraz antagonistów TNF- $\alpha$  (26). Być może zahamowanie reakcji zapalnej powstałej

w wyniku współdziałania AGEs, VEGF, TNF- $\alpha$  pozwoli ograniczyć rozwój retinopatii cukrzycowej.

### Wnioski

Podwyższone poziomy VEGF, TNF- $\alpha$ , IL-6, HbA1c w surowicy krwi u dzieci z cukrzycą typu 1., ale jeszcze bez objawów retinopatii cukrzycowej, mogą sygnalizować możliwość ujawnienia się wkrótce zmian w obrębie narządu wzroku.

### Podziękowanie

Praca została wykonana w ramach badań statutowych Akademii Medycznej w Gdańsku (ST-8: kierownik – prof. Anna Balcerska, ST-28: kierownik – prof. Jolanta Myśliwska, W-77: kierownik- prof. Krystyna Raczyńska).

### PIŚMIENNICTWO:

1. Fong DS, Aiello L, Gardner TW: *American Diabetes Association. Diabetic retinopathy*. Diabetes Care, 2003, 26, 226-229.
2. Zhang L, Krzentowski G, Albert A: *Risk of developing retinopathy in Diabetes Control and Complications Trial type 1 diabetic patients with good or poor metabolic control*. Diabetes Care, 2001, 24, 1275-1279.
3. Zorena K, Myśliwiec M, Balcerska A, Lipowski P, Myśliwska J, Raczyńska K: *Tumor necrosis factor- $\alpha$  is a risk factor of retinopathy in children with poorly controlled type 1 diabetes mellitus*. Journal of the Polish Diabetological Association, 2006; 6, 5: 272-276.
4. Treins C, Giorgetti-Peraldi S, Murdaca J: *Regulation of Vascular Endothelial Growth Factor expression by advanced glycation end products*. J Biol Chem., 2001, 276, 43836-43841.
5. Ferrara N: *Vascular endothelial growth factor: basic science and clinical progress*. Endocrine Reviews, 2004, 25, 581-611.
6. Witmer AN, Vrensen GF, Van Noorden CJ: *Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease*. Prog. Retin. Eye. Res., 2003, 22(1), 1-29.
7. Myśliwiec M, Balcerska A, Zorena K, Kamińska H, Nowacka M, Sibińska Ż, Wiśniewski P, Myśliwska J: *Relationship Between the Level of TNF $\alpha$ , IL6 and Risk of Renal Proximal Tubules Damage in Children with Newly Diagnosed Diabetes Mellitus Type 1*. Polish Journal of Environmental Studies, 2005, 14, 292-295.
8. Myśliwiec M, Zorena K, Balcerska A, Myśliwska J, Lipowski P, Raczyńska K: *The activity of N-acetyl-beta D-glucosaminidase and tumor necrosis factor-alpha at early stage of diabetic retinopathy development in type 1 diabetes mellitus children*. Clinical Biochemistry, 2006, 39, 851-856.
9. Myśliwiec M, Balcerska A, Zorena K, Myśliwska J, Lipska BS, Wiśniewski P, Myśliwski A: *Serum and Urinary Cytokine Homeostasis and Renal Tubular Function in Type 1 Diabetes Mellitus Children*. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism, 2006, 19, 12, 1421-1427.
10. American Diabetes Association: *Diagnosis and Classification of Diabetes*. Diabetes Care, 1997, 20, 1183-1197 and Diabetes Care, 2003, 26, 3160-3167.
11. ETDRS Report No 11.: *Classification of diabetic retinopathy from fluorescein angiograms ETDRS Research Group Pphthalmology* 1991, 98, suppl: 807-822.
12. Murata T, Nagai R, Ishibashi T, Inomata H, Ikeda K, Horiuchi S: *The relationship between accumulation of advanced glycation endproducts and expression of vascular endothelial growth factor in human diabetic retinas*. Diabetologia, 1997, 40, 764-769.

13. Lu M, Kuroki M, Amano S, Tolentino M, Keough K, Kim I, Bucala R, Adamis AP: *Advanced glycation end products increase retinal vascular endothelial growth factor expression*. J Clin Invest., 1998, 101, 1219-1224.
14. Benjamin L: *Glucose, VEGF-A and diabetic complications*. Am J Pathol., 2001, 158, 1181-1184.
15. Hernandez C., Burgos R., Canton A., Garcia-Arumi J., Segura R.M., Simo R.: *Vitreous levels of vascular cell adhesion molecule and vascular endothelial growth factor in patients with proliferative diabetic retinopathy: a case-control study*. Diabetes Care, 2001, 24(3), 516-521.
16. Reinders MEJ, Sho M, Izawa A: *Proinflammatory functions of vascular endothelial growth factor in alloimmunity*. J Clin Invest. 2003, 112, 1655-1665.
17. Aiello LM, Cavallerano JD: *Ocular complications of diabetes mellitus; in Kahn CR, Weir GC (eds): Joslin's Diabetes mellitus, ed 13. Philadelphia. Lea & Febiger, 1994, pp 771-793*.
18. Albert & Jakobiec: *Mechanisms of Intraocular Neovascularization. W: Principles and Practice of Ophthalmology: Clinical Practice. 2<sup>nd</sup> Edition, W. Saunders Company 2000, CD-ROM*.
19. Schliegemann R, van Hinsberg V: *Role of vascular permeability factor/vascular endothelial growth factor in eye disease*. Br J Ophthalmol. 1997;81: 501-512.
20. Doganay S, Evereklioglu C, Er H, Türkoz Y, Sevine A, Mehmet N, Savli H: *Comparison of serum NO, TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , sIL-2R, IL-6 and IL-8 levels with grades of retinopathy in patients with diabetes mellitus*. Eye, 2002, 16, 163-170.
21. Benjamin L: *Glucose, VEGF-A and diabetic complications*. Am J Pathol. 2001, 158, 1181-1184.
22. Funatsu H, Yamashita H, Noma H: *Increased Levels of Vascular Endothelial Growth Factor and Interleukin-6 in the aqueous humor of diabetics with macular edema*. Am J Ophthalmol., 2002, 133, 70-77.
23. Vlassara H: *Receptor-mediated interaction of advanced glycosylation end products with cellular components with in diabetic tissues*. Diabetes, 1992, 41, 52-56.
24. Skolnick AA: *Novel therapies to prevent diabetic retinopathy*. JAMA, 1997, 278, 1480-1481.
25. Cai J, Ahmad S, Jiang WG, Huang J, Kontos CD, Boulton M, Ahmed A: *Activation of vascular endothelial growth factor receptor-1 sustains angiogenesis and Bcl-2-expression via the phosphatidylinositol 3-kinase pathway in endothelial cells*. Diabetes Dec., 2003, 52, 2959-2968.
26. Colombel J, Loftus EV, Tremaine WJ: *The safety profile of infliximab in patients with Crohn's disease: the Mayo clinic experience in 500 patients*. Gastroenterology 2004, 126, 19-24.

XXVIII Sympozjon Retinologiczny, PTO, Poznań  
12-14.04.2007 r.

Praca wpłynęła do Redakcji 19.02.2007 r. (923)  
Zakwalifikowano do druku 25.03.2007 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):  
dr n. med. Małgorzata Myśliwiec  
Oddział Diabetologii, Klinika Pediatrii, Hematologii,  
Onkologii i Endokrynologii  
Akademii Medycznej w Gdańsku  
ul. Dębinki 7  
80-952 Gdańsk

**Polskie Torzystwo Okulistyczne**  
**[www.pto.com.pl](http://www.pto.com.pl)**