

(32)

Interleukina-12, naczyniowy czynnik wzrostu śródbłonna oraz czynnik martwicy nowotworu- α w procesie neoangiogenezy u dzieci z retinopatią cukrzycową

Interleukin-12, vascular endothelial growth factor and tumor necrosis factor- α in the process of neoangiogenesis of diabetic retinopathy in children

Katarzyna Zorena¹, Jolanta Myśliwska¹, Małgorzata Myśliwiec²,
Anna Balcerska², Paweł Lipowski³, Krystyna Raczyńska³

¹ Z Zakładu Immunologii Akademii Medycznej w Gdańsku
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Jolanta Myśliwska

² Z Oddziału Diabetologicznego Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii Akademii Medycznej w Gdańsku
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Anna Balcerska

³ Z Katedry i Kliniki Chorób Oczu Akademii Medycznej w Gdańsku
Kierownik: prof. dr hab. n. med. Krystyna Raczyńska

Summary:

Purpose: Neoangiogenesis is a complex process, in which crucial role seems to be played by Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF), Tumor Necrosis Factor- α (TNF- α) and Interleukin-12 (IL-12). Therefore it appeared to be worth of analysis to investigate the relation between IL-12, VEGF, TNF- α and the clinical course of the disease in children with Diabetes Mellitus type 1 (DM1).

Material and methods: One hundred and twenty six children in age 14.9 ± 3.2 years diagnosed with DM1 from the Department of Paediatrics, Haematology, Oncology and Endocrinology of the Medical University of Gdańsk were enrolled in the study along with 54 healthy children (as the control). All the children had their daily urine albumin secretion, HbA1c, C-peptide measured; 24 hrs blood pressure monitoring and ophthalmologic examination. Additionally, all of them had serum IL-12, VEGF, TNF- α measured using highly-sensitive ELISA tests (Quantikine High Sensitivity Human by R&D Systems, Minneapolis, Minn., USA).

Results: The children were divided into 2 groups: with retinopathy and without retinopathy. Between the groups statistically significant differences in age, duration of the disease, HbA1c serum level, C-reactive protein, daily albumin urine secretion and the systolic and diastolic blood pressure were found. Besides, statistically significant higher levels of VEGF, TNF- α and IL-12 were found in the group with retinopathy in comparison without retinopathy and healthy control group.

Conclusions: Our results suggest that VEGF, TNF- α and IL-12 are engaged in neoangiogenesis regulation of diabetic retinopathy children.

Słowa kluczowe:

TNF, VEGF, IL-12, angiogeneza, cukrzyca typu 1., dzieci.

Key words:

TNF, VEGF, IL-12, angiogenesis, diabetes mellitus type 1, children.

Wstęp

Badania ostatnich lat dowodzą, iż przewlekłe zapalenie w cukrzycy doprowadza do zaburzeń mikrokrążenia, a w konsekwencji do uszkodzeń nerek, siatkówki oka, mózgu, serca (1). Komórki zapalne – neutrofile, monocyty/ makrofagi, limfocyty T – uczestniczące w procesie zapalnym wydzielają pro- i antyzapalne cytokiny, które w pełni uczestniczą w procesie angiogenezy (2,3). Angiogeneza jest wieloetapowym procesem powstawania nowych naczyń krwionośnych na bazie już istniejących (3). W jej przebiegu dochodzi do aktywacji komórek śródbłonna i zwiększenia jego przepuszczalności, następnie obserwuje się degradację błony podstawnej. Ostatecznie powstaje cewka zbudowana z komórek śródbłonna, która przekształca się w nowe naczynie krwionośne (3,4). Mechanizmy odpowiedzialne za rozwój neowaskularyzacji nie są do końca poznane. Jednakże uważa się, że funkcjonalnym podłożem dla tego procesu jest

niedotlenienie tkanki, w czasie którego dochodzi do zaburzeń pomiędzy pro- i antyangiogennymi mediatorami wywierającymi wpływ stymulujący lub hamujący na różnicowanie, proliferację, migrację oraz dojrzewanie komórek śródbłonna (3,5,6). Do najlepiej scharakteryzowanych oraz stymulujących angiogenezę substancji należą naczyniowo-śródbłonkowy czynnik wzrostu (VEGF), interleukina 8 (IL-8) oraz czynniki wzrostu fibroblastów (FGF) (7). Niemniej wydzielanie VEGF, a także innych cytokin podlega regulacji, m.in. przez czynnik martwicy nowotworu (TNF- α) oraz IFN- γ (3). Wydaje się, iż w zależności od warunków TNF- α może wpływać hamująco lub stymulująco na tworzenie nowych naczyń (7). Efekt TNF- α jest najprawdopodobniej zależny od czasu ekspozycji komórek oraz od miejscowego stężenia (3,7). W ostatnich naszych badaniach wykazaliśmy, że TNF- α jest istotnym czynnikiem predysponującym do rozwoju retinopatii u dzieci z cukrzycą typu 1. (8-9). Jednakże patogene-

za retinopatii cukrzycowej nie może być wyjaśniana przez samo działanie TNF- α . Dlatego też nasze badania, dotyczące wykrycia wskaźników uszkodzenia narządu wzroku i nerek we wczesnym okresie cukrzycy typu 1. u dzieci, rozszerzyliśmy o inne parametry, które mogą przyczyniać się do powstawania późnych powikłań naczyniowych. Tak więc celem naszych badań było zbadanie TNF- α , VEGF oraz IL-12 w odniesieniu do klinicznego przebiegu choroby u dzieci z cukrzycą typu 1.

Pacjenci i metody

Badania przeprowadzono w grupie 126 dzieci z długotrwałą cukrzycą typu 1. w wieku $14,9 \pm 3,2$ pozostających pod opieką Oddziału Diabetologii Kliniki Pediatrii, Hematologii, Onkologii i Endokrynologii Akademii Medycznej w Gdańsku. Cukrzycę typu 1. rozpoznano na podstawie kryteriów American Diabetes Association (10). Grupę kontrolną stanowiło 54 zdrowych dzieci. Dawka dobową insuliny humanizowanej, którą otrzymywały dzieci z cukrzycą typu 1., wynosiła $0,87 \pm 0,21$ j/kg wagi ciała. Stopień wyrównania metabolicznego cukrzycy oceniono na podstawie stężenia hemoglobiny glikozylowanej (HbA1c), oznaczonego w surowicy krwi metodą immunoturbidymetryczną. Poziom białka CRP oznaczono testem wysokiej czułości (HsCRP) firmy Beckman Instr. Inc, Irland. U wszystkich pacjentów oceniono dobowe wydalanie albumin w moczu metodą immunoturbidymetryczną z użyciem testu Tina-quant® (Boehringer Mannheim GmbH, Germany). Jako mikroalbuminurię określono wydalanie albumin w moczu w granicach 30-299 mg/dobę w dwóch spośród trzech próbek jałowego moczu, zebranego w ciągu 6 mie-

sięcy od chorych z wyrównaną cukrzycą bez cech klinicznych i laboratoryjnych kwasicy ketonowej. Średnie wartości ciśnienia tętniczego u dzieci oceniono na podstawie siatek centylowych opracowanych przez Borowskiego. Ponadto u wszystkich badanych dzieci z przewlekłą cukrzycą typu 1. wykonano badanie okulistyczne. 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). U dzieci chorujących dłużej niż 5 lat po uprzednim badaniu dana oka wykonano angiografię fluoresceinową (FL-A) kamerą cyfrową TOPCON IMAGENET 2000 (JAPAN). Analizę obrazu dna oczu badanych dzieci przeprowadzono zgodnie z obowiązującą klasyfikacją (11). Dzieci przewlekłe chorujące na cukrzycę typu 1. podzielono na 2 grupy, tj. z retinopatią cukrzycową (Grupa A) oraz bez retinopatii cukrzycowej (Grupa B). Parametry kliniczne i biochemiczne badanych grup przedstawiono w tabeli 1. Stężenie w surowicy krwi IL-12, TNF α , VEGF oznaczono metodą ELISA, stosując zestawy Human Quantikine R&D system (R&D; Minneapolis, MN). Na realizację badań będących przedmiotem pracy uzyskano zgodę rodziców i/ lub opiekunów oraz Niezależnej Komisji Bioetycznej ds. Badań Naukowych przy Akademii Medycznej w Gdańsku (NKEBN/610/2003/2004).

Analiza statystyczna

Analizy danych dokonano za pomocą pakietu komputerowego Statistica 7.0 firmy StatSoft dla AM w Gdańsku. Zgodność rozkładu badanych zmiennych z rozkładem normalnym badano

Parametry Parameters	Dzieci z długotrwałą cukrzycą typu 1. Children with type 1 DM	Dzieci zdrowe – kontrola Healthy control group	p
n	126	54	
Wiek, lat Age, year	$14,9 \pm 3,2$	$13,31 \pm 3,66$	NS
Czas trwania cukrzycy, lat Diabetes duration, years	$8,9 \pm 3,5$	-----	-----
HbA1c, %	$9,6 \pm 1,7$	$4,2 \pm 0,3$	p = 0,04
Białko C-reaktywne, mg/dl C-reactive protein, mg/dl	$2,3 \pm 1,01$	$0,7 \pm 0,3$	p = 0,003
Dobowe wydalanie albumin, mg/24 Albumin extraction rate, mg/24 h	$39,8 \pm 27,6$	$2,8 \pm 1,2$	p = 0,01
Kreatynina, mg/dl Creatinine, mg/dl	$0,82 \pm 0,13$	$0,5 \pm 0,1$	p = 0,002
Ciśnienie skurczowe krwi, mmHg Systolic blood pressure, mmHg	$121,0 \pm 8,1$	$105,85 \pm 8,9$	p = 0,002
Ciśnienie rozkurczowe krwi, mmHg Diastolic blood pressure, mmHg	$73,33 \pm 8,2$	$65,5 \pm 6,5$	p = 0,001
IL-12, pg/ml	$7,2 \pm 2,35$	$0,43 \pm 0,26$	p = 0,002
TNF- α , pg/ml	$4,3 \pm 3,2$	0,0	p = 0,00001
VEGF, pg/ml	$272,49 \pm 211,2$	$126,1 \pm 82,1$	p = 0,001

Tab. 1. Charakterystyka kliniczna dzieci z cukrzycą typu 1. oraz grupy dzieci zdrowych.

Tab. 1. Clinical characteristics of children with type 1 diabetes mellitus and control group.

Wyniki przedstawione jako \pm SD, znamienność (p < 0,05)

Data are presented as \pm SD, statistically significant (p < 0,05)

testem Shapiro-Wilka. Do porównania średnich stosowano test t-Studenta oraz test U Manna-Whitneya. Za poziom istotności statystycznej w pracy przyjęto $p \leq 0,05$.

Wyniki

Charakterystyka kliniczna dzieci z cukrzycą typu 1 oraz kontrolnej grupy dzieci zdrowych

Dzieci z długotrwałą cukrzycą typu 1 różniły się statystycznie od dzieci zdrowych w badanej grupie poziomem HbA1c, białka C-reaktywnego, dobowym wydalaniem albumin, poziomem kreatyniny oraz ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym. Ponadto wykazano statystycznie wyższy poziom TNF, VEGF oraz IL-12 w porównaniu z kontrolną grupą dzieci zdrowych (tab. I).

Zmiany na dnie oczu u dzieci z rozpoznaną retinopatią

W przeprowadzonym badaniu okulistycznym u 21 dzieci wykazano poszerzenie naczyń żylnych siatkówki (flebopatia) oraz pojedyncze mikrołśniaki lub wybroczyny punktowe w okolicy

plamki. Objawy te sklasyfikowano jako początkową retinopatię nieproliferacyjną (ryc.1).

Porównanie dzieci z retinopatią z grupą dzieci bez retinopatii oraz grupą dzieci zdrowych

Dzieci z retinopatią różniły się statystycznie od dzieci z cukrzycą, ale bez retinopatii, wiekiem, dłuższym czasem trwania choroby, poziomem HbA1c, białkiem-CRP, dobowym wydalaniem albumin oraz ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym krwi. Ponadto wykazano u nich wyższy poziom TNF- α i VEGF, a także niższy IL-12 w porównaniu do grupy dzieci bez retinopatii cukrzycowej (tab. II).

Korelacje pomiędzy poziomem badanych cytokin a badanymi parametrami klinicznymi

Wykazano statystycznie zmienną korelację pomiędzy poziomem VEGF a dobowym wydalaniem albumin z moczem, czasem trwania choroby oraz TNF- α . Natomiast ujemna statystycznie zmienna korelację zaobserwowano pomiędzy VEGF a IL-12 (Tab. III).

Parametry Parameters	Dzieci z długotrwałą cukrzycą typu 1. Diabetes mellitus type 1 children		Dzieci zdrowe Healthy group	P
	Grupa z retinopatią With retinopathy	Grupa bez retinopatii Without retinopathy		
n	21	105	54	
Wiek, lata Age, years	14,9 \pm 3,2	12,8 \pm 3,67	13,31 \pm 3,66	P = 0,01* P = 0,3
Czas trwania cukrzycy, lata Diabetes duration, years	8,45 \pm 3,66	4,47 \pm 2,8	-----	P = 0,002*
HbA1c, %	9,67 \pm 1,9	8,05 \pm 1,8	4,2 \pm 0,3	P = 0,04* P = 0,0009**
Białko C-reaktywne CRP mg/dl	2,35 \pm 0,97	1,42 \pm 0,83	0,7 \pm 0,3	p = 0,03* p = 0,001*
Dobowe wydalanie albumin, mg/24 Albumin extraction rate, mg/24 h	39,8 \pm 27,6	9,16 \pm 7,6	2,8 \pm 1,2	p = 0,01* p = 0,02**
Kreatynina, mg/dl Creatinine, mg/dl	0,85 \pm 0,13	0,79 \pm 0,13	0,5 \pm 0,1	p = 0,02* p = 0,04**
Ciśnienie skurczowe krwi, mmHg Systolic blood pressure, mmHg	122,2,0 \pm 11,3	112,96 \pm 11,7	105,85 \pm 8,9	p = 0,02* p = 0,03**
Ciśnienie rozkurczowe krwi, mmHg Diastolic blood pressure, mmHg	73,33 \pm 8,2	70,6 \pm 9,2	65,5 \pm 6,5	p = 0,04* p = 0,02**
Microalbuminuria >30 mg/24 (n)	17	-	-	-
Nadciśnienie tętnicze Blood pressure (n)	9	-	-	-
IL-12, pg/ml	1,74 \pm 1,31	5,6 \pm 1,38	0,43 \pm 0,26	p = 0,02* p = 0,003**
TNF- α , pg/ml	3,29 \pm 1,5	0,9 \pm 0,6	0,0	p = 0,02* p = 0,00001**
VEGF, pg/ml	225,26 \pm 201,3	163,5 \pm 122,4	126,1 \pm 82,1	p = 0,03* p = 0,04**

Tab. II. Porównanie parametrów klinicznych i biochemicznych dzieci z retinopatią i bez retinopatii dziećmi zdrowymi z badanej grupy.

Tab. II. The comparison of clinical and biochemical parameters of children with and without diabetic retinopathy and control group.

Wyniki przedstawione jako \pm SD, zmianność ($p < 0,05$); * różnice pomiędzy grupą dzieci z retinopatią oraz bez retinopatii; ** różnice pomiędzy grupą dzieci bez retinopatii i kontrolną

Data are presented as \pm SD, statistically significant ($p < 0,05$); * differences between children with and without retinopathy; ** differences between children without retinopathy and healthy control group



Ryc. 1. Retinopatia nieproliferacyjna u dziecka z DM 1, OL – fleboпатия; OP – fleboпатия.

Fig. 1. Nonproliferative retinopathy in child with DM 1, LE – fleboпатия; RE – fleboпатия.

	Albuminy mg/24h	czas trwania choroby lat	TNF pg/ml	IL-12 pg/ml
VEGF pg/ml	$R_s = 0,41$ $p = 0,045$	$R_s = 0,37$ $p = 0,016$	$R_s = 0,31$ $p = 0,022$	$R_s = -0,26$ $p = 0,05$

Tab. III. Korelacje VEGF z innymi badanymi parametrami.

Tab. III. Correlation between VEGF and other studies parameters.

Korelacja Spearmana
Spearman's correlation

Omówienie

Wyniki naszych badań wskazują, że dzieci z długotrwałą cukrzycą różniły się od dzieci z grupy zdrowych: poziomem HbA1c, białka C-reaktywnego, dobowym wydalaniem albumin, poziomem kreatyniny oraz ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym. Ponadto w grupie dzieci zdrowych nie wykryto TNF- α , natomiast poziom VEGF oraz IL-12 był niższy w porównaniu z dziećmi z długotrwałą cukrzycą typu 1. Poza tym w naszej badanej grupie dzieci z cukrzycą w 21 przypadkach rozpoznano retinopatię nieproliferacyjną, w 17 przypadkach mikroalbuminurię oraz w 9 nadciśnienie tętnicze. Ta grupa dzieci z powikłaniami różniła się wiekiem, czasem trwania choroby, poziomem CRP, HbA1c, dobowym wydalaniem albumin, a także ciśnieniem skurczowym i rozkurczowym od grupy bez powikłań, tj. retinopatii, nefropatii oraz nadciśnienia tętniczego. Wykazano też wyższy poziom TNF- α oraz VEGF oraz niższy IL-12 w porównaniu do grupy dzieci bez retinopatii cukrzycowej. W dostępnej literaturze nie ma badań dotyczących tych trzech mediatorów jednocześnie w procesie neonaczynienia u dzieci z retinopatią cukrzycową. Dotychczas najwięcej doniesień dotyczyło roli VEGF w retinopatii proliferacyjnej (12,13), a więc w późnym etapie choroby. Seckin i wsp., Peczyńska i wsp. oraz Chiarelli i wsp. badali VEGF u dzieci z cukrzycą typu 1. (14-16). Autorzy uważają, że na wzrost produkcji naczyniowego czynnika wzrostu śródbłonna mają wpływ: niedokrwienie, obecność produktów utleniania oraz końcowe produkty glikacji białek, które przyczyniają się do utraty szczelności bariery krew-siatkówka i stymulują proces neoangiogenezy (13,14). Niemniej, badania *in vivo* oraz nasze wyniki *in vitro* wskazują, iż na wzrost produkcji i/ lub spadek VEGF wpływają inne czynniki modulujące proces angiogenezy. Ujemna korelacja VEGF z IL12 u dzieci z retinopatią cukrzycową potwierdza tę hipotezę. Dais i wsp. (15) na komórkach raka piersi dowiódł, iż IL-12 hamuje VEGF i reguluje reakcje komórek zrębowych, prowadząc do zmniejszenia

produkcji metaloproteinaz (MMP)-1. Wydaje się, że w badanej przez nas grupie dzieci z cukrzycą wolną od powikłań dużą rolę odgrywa wyższy poziom interleukiny 12, a niższy poziom VEGF oraz TNF- α niż w grupie dzieci z retinopatią cukrzycową. Jesteśmy zatem skłonni sądzić, że wysoki poziom interleukiny 12 w grupie z retinopatią cukrzycową jest najprawdopodobniej jednym z czynników działających korzystnie poprzez hamowanie nowych naczyń. Rola IL12 jako cytokiny prozapalnej w patogenezie cukrzycy insulinozależnej była dotychczas wykazana na modelu NOD (16,17) oraz w nielicznych badaniach u ludzi (18,19). W badaniach *in vivo* wykazano, że IL 12 jest antyangiogenną cytokiną (20-21).

Nasze wyniki sugerują, że interleukina 12 może hamować reakcje TNF- α oraz VEGF, a tym samym może nie dopuszczać do rozwoju formowania nowych naczyń krwionośnych u dzieci z cukrzycą typu 1. Poza tym wydaje się, że lepsze zrozumienie mechanizmów działania wszystkich czynników pro- i antyangiogennych, zarówno na komórki śródbłonna, jak i inne komórki regulujące proces neoangiogenezy, może pozwolić na szersze wprowadzenie protokołów terapeutycznych wykorzystujących kombinację różnych czynników angiogenezy.

Wnioski:

1. Wyższy poziom TNF- α oraz VEGF u dzieci z retinopatią cukrzycową dowodzi, że obie cytokiny są uwikłane w patogenezę retinopatii cukrzycowej.
2. Z kolei obecność IL-12 i podwyższony poziom IL-12 u dzieci bez objawów powikłań cukrzycowych pełni – jak się wydaje – antyangiogenną rolę u dzieci z cukrzycą typu 1.

Podziękowanie

Praca została wykonana w ramach badań statutowych Akademii Medycznej w Gdańsku (ST-28: kierownik – prof. Jolanta Myśliwska,

ST-8: kierownik – prof. Anna Balcerska oraz ST-56, W-77: kierownik – prof. Krystyna Raczyńska).

PIŚMIENNICTWO:

- Schram MT, Chaturvedi N, Schalkwijk C, et al.: *EURODIAB Prospective Complications Study. Vascular risk factors and markers of endothelial function as determinants of inflammatory markers in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. Diabetes Care*, 2003, 26, 2165-2173.
- McCourt M, Wang JH, Sookhai S, Redmond HP: *Proinflammatory mediators stimulate neutrophil-directed angiogenesis. Arch Surg* 1999, 134, 1325-1329.
- Naldini A, Carraro F: *Role of inflammatory mediators in angiogenesis. Current Drug Targets – Inflammation & Allergy*, 2005, 4, 3-8.
- Milkiewicz M, Ispanovic E, Doyle JL, et al: *Regulators of angiogenesis and strategies for their therapeutic manipulation. Int J Biochem Cell Biol* 2006, 38, 3, 515-552.
- Nowak JZ, Wiktorowska-Owczarek A: *Neowaskularyzacja w tkankach oka: mechanizmy i rola czynników pro- i antyangiogennych. Klinika Oczna* 2004, 106, 90-97.
- Wilczyński M: *Czynniki angiogenne w patogenezie neowaskularyzacji w retinopatii cukrzycowej. Diabetologia Polska* 2005, 12, 286-297.
- Yoshida S, Ono M, Shono T, Izumi H, Ishibashi T, Suzuki H, Kuwano M: *Involvement of interleukin-8, vascular endothelial growth factor, and basic fibroblast growth factor in tumor necrosis factor alpha-dependent angiogenesis. Mol Cell Biol* 1997, 17, 4015-4019.
- Zorena K, Myśliwiec M, Balcerska A, Lipowski P, Myśliwska J, Raczyńska K: *Tumor necrosis factor- is a risk factor of retinopathy in children with poorly controlled type 1 diabetes mellitus. Journal of the Polish Diabetological Association* 2006, 6, 272-276.
- 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.
- American Diabetes Association: *Diagnosis and Classification of Diabetes. Diabetes Care* 1997, 20, 1183-1197 and *Diabetes Care* 2003, 26, 3160.
- ETDRS Report No 11. *Classification of diabetic retinopathy from fluorescein angiograms ETDRS Research Group Ophthalmology* 1991, 98, suppl. 807.
- Skopiński P, Duda-Król B, Lipińska A, Sommer E, Chrostowska-Wynimko J, Demkow U, Szaflik J, Skopińska-Różewska E, Struzik E: *Aktywność angiogenna i stężenie VEGF w surowicach chorych na cukrzycę powikłaną retinopatią prostą. Klinika Oczna, Suppl*, 2004, 106, 421-422.
- Yokoi M, Yamagishi SI, Takeuchi M, Ohgami K, Okamoto T, Saito W, Muramatsu M, Imaizumi T, Ohno S: *Elevations of AGE and vascular endothelial growth factor with decreased total antioxidant status in the vitreous fluid of diabetic patients with retinopathy. Br J Ophthalmol* 2005, 89, 673-675.
- 1Seckin D, Ilhan N, Ertugrul S: *Glycaemic control, markers of endothelial cell activation and oxidative stress in children with type 1 diabetes mellitus. Diabetes Research and Clinical Practice* 2006, 73, 191-197.
- Peczyńska J, Urban M, Urban B, Głowińska B, Florys B: *Ocena poziomu czynników wzrostowych u młodzieży z cukrzycą typu 1 i rozpoznającą się angiopatią cukrzycową. Endokrynologia, Diabetologia i Choroby Przemiany Materii Wieku Rozwojowego* 2004, 10, 41-48.
- Chiarelli F, Spagnoli A, Basciani F, Tumini S, Mezzetti A, Cipollone F, Cuccurullo F, Morgese G, Verrotti A: *Vascular endothelial growth factor (VEGF) in children, adolescents and young adults with Type 1 diabetes mellitus: relation to glycaemic control and microvascular complications. Diabet Med* 2000, 17, 650-656.
- Davis, GE, Allen, KAP, Salazar R, Maxwell SA :*Matrix metalloproteinase-1 and -9 activation by plasmin regulates a novel endothelial cell-mediated mechanism of collagen gel contraction and capillary tube regression in three-dimensional collagen matrices. J Cell Sci* 2001, 114, 917-930.
- Nicoletti F, Di Marco R, Zaccone P, et al.: *Endogenous interleukin-12 only plays a key pathogenetic role in non-obese diabetic mouse diabetes during the very early stages of the disease. Immunology* 1999, 97, 367-370.
- Rothe H, Burkart V, Faust A, Kolb H: *Interleukin 12 gene expression is associated with rapid development of diabetes mellitus in non-obese diabetic mice. Diabetologia* 1996, 39, 112-122.
- Voest EE, Kenyon BM, O'Reilly MS, et al.: *Inhibition of angiogenesis in vivo by interleukin 12. J Natl Cancer Inst* 1995, 87, 581-586.
- Skopiński P, Barcz E, Szaflik J, Lipińska A, Sommer E, Demkow U, Skopińska-Różewska E: *Angiogenic activity and IL-12 p40 concentration in healthy people and diabetes patients sera. Central European Journal of Immunology* 2006, 31(1-2).

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

Praca wpłynęła do Redakcji 19.02.2007 r. (922)
Zakwalifikowano do druku 25.03.2007 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):
dr n. med. Katarzyna Zorena
Zakład Immunologii
Akademia Medyczna w Gdańsku
ul. Dębinki 1
80-210 Gdańsk