

سطح سرمی TNF- α و CRP در بیماران دیابتی نوع ۲ مبتلا به رتینوپاتی دیابتی و مقایسه آن با گروه کنترل

محمد امیدی^۱، منوچهر نخجوانی^{۱*}، فریده درودگر^۲، فاطمه اصفهانیان^۱، علیرضا استقامتی^۱، فاطمه عسکرانی^۲، عبدالرحیم نیک ضمیر^۳، جواد بهجتی^۱، زهرا حسین زاده^۱

چکیده

مقدمه: مطالعات مختلف نشان دهنده نقش عوامل التهابی در ایجاد دیابت و در ایجاد و پیشرفت عوارض میکرو واسکولار ناشی از دیابت مانند رتینوپاتی هستند. TNF- α از طریق افزایش بیان فاکتورهای التهابی و انعقادی و بطور مستقیم از طریق آپوپتوزیس سلول‌های آندوتلیال عروق شبکیه در ایجاد این عارضه نقش دارد. در این مطالعه به بررسی سطح سرمی TNF- α و CRP در بیماران مبتلا به رتینوپاتی دیابتی در مقایسه با بیماران دیابتی بدون رتینوپاتی پرداختیم.

روش‌ها: این مطالعه به صورت Stratified Cross-Sectional و بر روی ۲۹ بیمار مبتلا به رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو و ۲۷ بیمار مبتلا به رتینوپاتی دیابتی غیر پرولیفراتیو و ۲۷ بیمار دیابتی بدون رتینوپاتی (دیابت نوع ۲) که در سال ۱۳۸۸ به درمانگاه دیابت بیمارستان امام خمینی (ره) تهران مراجعه کرده بودند و یا در بخش غدد بستری شدند انجام گرفت. در هر گروه سطح سرمی TNF- α ، CRP، HbA_{1c}، پروفایل لیپید، Cr، FPS اندازه‌گیری و بررسی آماری شد.

یافته‌ها: سطح سرمی TNF- α در بیماران مبتلا به رتینوپاتی (پرولیفراتیو و غیر پرولیفراتیو) بالاتر از بیماران دیابتی بدون رتینوپاتی بود [PDR (۹/۱۱±۱/۴۲) pg/ml] و [NPDR (۹/۰۲±۱/۵۶) pg/ml] و [NDR (۶/۱۰±۲/۹۶) pg/ml]. سطح سرمی CRP در بیماران مبتلا به رتینوپاتی با هم فرق نداشت اما CRP بیماران مبتلا به رتینوپاتی غیر پرولیفراتیو با بیماران بدون رتینوپاتی اختلاف داشت. در بیماران مبتلا به رتینوپاتی پرولیفراتیو، بین TNF- α با تری‌گلیسرید و HDL-C رابطه وجود داشت.

نتیجه‌گیری: بالا بودن TNF- α در بیماران مبتلا به رتینوپاتی نشان دهنده نقش فاکتورهای التهابی و به خصوص TNF- α در ایجاد و پیشرفت رتینوپاتی می‌باشد و لذا بالا بودن سطح TNF- α در بیماران دیابتی می‌تواند نشان دهنده شروع رتینوپاتی باشد.

واژگان کلیدی: دیابت نوع ۲، رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو، رتینوپاتی دیابتی غیر پرولیفراتیو، TNF- α

۱- مرکز تحقیقات غدد درون‌ریز و متابولیسم، بیمارستان ولیعصر، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۲- گروه چشم پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

۳- گروه پزشکی اجتماعی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تهران

* **نشانی:** تهران، انتهای بلوار کشاورز، مجتمع بیمارستانی امام خمینی (ره)، مرکز تحقیقات غدد و متابولیسم، دانشگاه علوم پزشکی تهران؛ تلفن ۹-۶۶۹۳۰۰۴۰، پست الکترونیک: nakhjavanim@tums.ac.ir

مقدمه

عوارض میکرو واسکولار و ماکرو واسکولار ناشی از دیابت شایع‌ترین علت موربیدیتی و مورتالیتی ناشی از این اختلال متابولیک هستند. رتینوپاتی دیابتی در حال حاضر شایع‌ترین علت نابینایی غیر ترومایی در افراد ۷۰-۲۰ ساله می‌باشد [۱-۳].

میزان بالا بودن قند خون و طول مدت دیابت، مهمترین عوامل خطر پیدایش رتینوپاتی دیابتی هستند اما علاوه بر این عوامل فاکتورهای ژنتیکی، فشار خون بالا، نفروپاتی دیابتی و هیپرلیپیدمی هم در پیدایش این عارضه نقش دارند [۴-۶].

بالا بودن سطح سرمی فاکتورهای التهابی و نقش این فاکتورها در ایجاد دیابت شیرین از ۲ دهه گذشته مورد توجه قرار گرفته است و مطالعات مختلف در مورد نقش فاکتورهای التهابی در ایجاد و پیشرفت عوارض میکرو واسکولار ناشی از دیابت مانند رتینوپاتی از یک دهه گذشته مورد توجه قرار گرفته است [۷].

بنظر می‌رسد عوامل التهابی مانند TNF- α بطور مستقیم و از طریق مرگ سلول‌های آندوتلیال عروق شبکیه و هم بطور غیر مستقیم از طریق افزایش بیان ژن‌های مربوط به فاکتورهای التهابی - انقبادی و مولکول‌های چسبنده هم در ایجاد رتینوپاتی دیابتی و هم پیشرفت رتینوپاتی دیابتی نقش دارند [۸-۱۱].

با توجه به وجود داروها و عواملی که منجر به خنثی کردن TNF- α می‌شوند و یا از اثر TNF- α در بافت‌ها جلوگیری می‌کنند، تشخیص قطعی بالا بودن TNF- α و نقش آن در رتینوپاتی دیابتی می‌تواند منجر به تدوین شیوه‌های نوین درمانی شود تا از بروز و پیشرفت رتینوپاتی جلوگیری کند.

هدف از انجام این مطالعه که در بیمارستان امام خمینی (ره) انجام شده است، بررسی سطح سرمی TNF- α و CRP در بیماران مبتلا به رتینوپاتی دیابتی در مراحل مختلف و مقایسه آن با بیماران دیابتی بدون رتینوپاتی بود.

روش‌ها

این مطالعه یک مطالعه Stratified Cross-Sectional بود که بر روی ۸۳ بیمار مبتلا به دیابت از مجموع ۳۰۰ بیمار دیابتی نوع ۲ که به درمانگاه غدد بیمارستان امام خمینی مراجعه نمودند و یا اینکه در بخش غدد این بیمارستان بستری شدند، انجام شد.

معیارهای خروج از مطالعه شامل هر گونه بیماری عفونی حاد و مزمن فعال، بیماری‌های التهابی حاد و مزمن، زخم پای دیابتی، مصرف سیگار، مصرف گلوکو کورتیکوئیدها، مصرف داروهای سیتوتوکسیک و ایمنو ساپرسیو، مصرف تiazolidinediones و $Cr > 1/5 \text{ mg/dl}$ بود.

از بیمارانی که معیارهای ورود به مطالعه را داشتند بعد از اخذ رضایت آگاهانه، ابتدا یافته‌های دموگرافیک و انتروپومتریک براساس برگ جمع‌آوری اطلاعات گرفته شد، سپس بیماران جهت معاینه چشم پزشکی فرستاده شدند و براساس نوع معاینه چشم پزشکی که توسط یک نفر انجام شد، در یکی از گروه‌های سه گانه شامل رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو، رتینوپاتی دیابتی غیر پرولیفراتیو و بیماران دیابتی که رتینوپاتی ندارند، قرار گرفتند. سپس از بیماران ۱۰ cc خون گرفته شده و آزمایش‌های مربوط شامل CRP, TNF- α , تری‌گلیسرید و کلسترول، HDL-C, LDL-C, HbA $_1$ C, و Cr و FBS بر روی آن انجام شد.

سطح سرمی TNF- α با کیت Quantikine ساخت کشور آمریکا و بروش ELISA اندازه‌گیری شد. $CV = 5/2\%$ Inter assay و $CV = 7/4\%$ Intra assay بود. HbA $_1$ C به روش HPLC و با دستگاه DS5 و محلول PINK انجام شد. سطح سرمی CRP به روش کمی و توسط کیت Omega ساخت کشور انگلیس اندازه‌گیری شد.

آنالیز آماری

تمامی داده‌ها در نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۳ وارد شد. داده‌های کمی به صورت میانگین و انحراف معیار و داده‌های کیفی به صورت درصد بیان شد، نرمال بودن انتشار داده‌ها از طریق Kolomogrov Smironov (K.S) بررسی گردید.

NPDR و NDR ($P=0/001$) اختلاف قابل توجهی وجود داشت.

میانگین سرمی CRP در گروه PDR $0/44 \pm 0/12$ ، در گروه NPDR $0/5 \pm 0/27$ و در گروه NDR $0/38 \pm 0/1$ بود که فقط بین گروه NPDR و NDR با $P=0/02$ اختلاف معنی داری وجود داشت.

در آزمون Spearman correlation، بین $TNF-\alpha$ و CRP در هر سه گروه، فقط در گروه NPDR با $P=0/057$ رابطه وضعیفی وجود داشت و در دو گروه دیگر شامل PDR و NPDR بین $TNF-\alpha$ و CRP رابطه معنی داری وجود نداشت.

در گروه PDR در Non parametric Multivariate Correlation، بین $TNF-\alpha$ و بقیه متغیرهای مستقل فقط با تری گلیسرید با $P=0/05$ و $r=0/511$ رابطه مثبت و بین $TNF-\alpha$ و HDL-C با $P=0/036$ و $r=-0/392$ رابطه منفی وجود داشت. در گروه NPDR بین $TNF-\alpha$ با بقیه متغیرهای مستقل رابطه معنی داری وجود نداشت ($P>0/05$).

در گروه NDR بین $TNF-\alpha$ با بقیه متغیرهای مستقل رابطه معنی داری وجود نداشت ($P>0/05$).

جدول ۱ مقایسه داده‌های دموگرافیک و آزمایشگاهی بین سه گروه را نشان می‌دهد. جدول ۲ و ۳ ضریب همبستگی $TNF-\alpha$ با بقیه متغیرها را در هر سه گروه نشان می‌دهند. نمودار ۱ مقایسه $TNF-\alpha$ در هر سه گروه و نمودار ۲ مقایسه CRP در هر سه گروه و نمودار ۳ رابطه $TNF-\alpha$ با CRP در گروه NPDR را نشان می‌دهد.

برای مقایسه میانگین داده‌هایی که انتشار نرمال داشتند از ANOVA و داده‌هایی که انتشار نرمال نداشتند از post hoc استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین متغیرها از Non Para metric Correlation اسپیرمن استفاده شد.

یافته‌ها

این مطالعه بر روی ۲۹ بیمار مبتلا به رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو، ۲۷ بیمار مبتلا به رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو و ۲۷ بیمار دیابتی بدون رتینوپاتی به عنوان گروه کنترل انجام شد.

بین بیماران مبتلا به رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو (PDR) و غیر پرولیفراتیو (NPDR) از نظر طول مدت دیابت، فشار خون سیستولیک و دیاستولیک، طول مدت دیابت و BMI، سطح سرمی چربی‌ها، HbA_{1C} و Cr و FPS اختلاف معنی داری وجود نداشت.

طول مدت دیابت و فشار خون سیستولی و دیاستولی در گروه PDR بالاتر از گروه NDR بود ($P<0/05$). بیماران دیابتی غیر پرولیفراتیو (NPDR) و غیر رتینوپاتی (NDR) فقط از نظر فشار خون دیاستولی با هم فرق داشتند ($P<0/05$).

میانگین سرمی $TNF-\alpha$ در بیماران مبتلا به PDR pg/ml $9/11 \pm 1/42$ و در گروه NPDR pg/ml $9/02 \pm 1/56$ و در گروه NDR pg/ml $6/10 \pm 2/6$ بود که بین دو گروه PDR و NPDR اختلاف قابل توجهی وجود نداشت ($P=0/879$) ولی بین گروه PDR و NDR ($P=0/001$) و بین گروه

جدول ۱- مشخصات دموگرافیک و مقادیر سرمی پارامترهای آزمایشگاهی در بیماران رتینوپاتی پرولیفراتیو و غیر پرولیفراتیو و بیماران دیابتی بدون رتینوپاتی

متغیر	PDR	NPDR	NDR
جنس			
مرد	۴۴/۸٪(۱۳)	۳۳/۳٪(۹)	۳۷٪(۱۵)
زن	۵۵/۲٪(۱۶)	۶۶/۷٪(۱۸)	۶۳٪(۱۷)
سن (سال)	۵۹±۸	۵۸±۷	۵۸±۸
نمایه توده بدنی (kg/m ²)	۲۵±۲	۲۶±۳	۲۸±۳
طول مدت دیابت (سال)*	۱۲±۶	۱۰±۶	۷±۵
فشار خون سیستولی (mmHg)*	۱۴۳±۲۶/۹	۱۳۳±۱۸/۸	۱۲۱±۱۷/۳
فشار خون دیاستول (mmHg)*†	۸۴±۷/۳	۸۳±۱۰/۱	۷۶±۱۰/۹
تری گلیسرید (mg/dl)	۱۹۷±۹	۱۶۳±۸۹	۱۹۲±۱۰۰
کلسترول تام (mg/dl)	۲۱۱±۴۶/۹	۲۰۳±۴۹/۵	۲۰۶±۵۶/۴
HDL-C (mg/dl)	۴۴±۹	۴۱±۱۱	۴۲±۷
LDL-C (mg/dl)	۱۲۳±۳۲	۱۲۹±۳۵	۱۱۷±۳۵
HbA _{1c} (درصد)	۸۶±۸/۸	۱/۷±۸/۲	۱/۸±۸/۲
کراتینین (mg/dl)†	۰/۸۶±۰/۲۲	٪۰/۸۳±٪۰/۱۵	٪۰/۹۹±٪۰/۲۴
قند خون ناشتا (mg/dl)*†	۲۱۰±۵۳	۲۱۱±۶۹	۱۷۸±۵۲/۸۹
TNF- α (pg/ml)*†	۹/۱±۱/۴	۹±۱/۵	۶/۱±۲/۹
CRP*†	۰/۴۴±۰/۱۲	٪۰/۵±٪۰/۲۷	٪۰/۳۸±۰/۱

PDR: رتینوپاتی دیابتی پرولیفراتیو - NPDR: رتینوپاتی دیابتی غیر پرولیفراتیو - NDR: دیابت بدون رتینوپاتی

نوع مطالعه: مقطعی - داده‌های بصورت میانگین \pm انحراف معیار نشان داده شده‌اند.

†P: تفاوت معنی دار بین گروه PDR و NPDR ($P < 0/05$)

*P: تفاوت معنی دار بین گروه PDR و NDR ($P < 0/05$)

†P: تفاوت معنی دار بین گروه NPDR و NDR ($P < 0/05$)

تفاوت بین داده‌ها با $P < 0/05$ قابل ارزش است.

جدول ۲- ضریب همبستگی TNF- α با CRP و متغیرهای مستقل در بیماران رتینوپاتی پرولیفراتیو

TNF- α		
P	r	
۰/۲۹۱	۰/۲۱۱	CRP
۰/۲۰۲	۰/۲۵۴	فشار خون سیستولی
۰/۵۱۲	۰/۱۳۲	فشار خون دیاستولی
۰/۰۵*	۰/۵۱۱	تری گلیسرید
۰/۲۶۹	۰/۲۲۱	کلسترول
۰/۰۳۶	۰/۳۹۲	HDL-C
۰/۳۵۱	۰/۱۸۴	LDL-C
۰/۵۹۴	۰/۱۰۷	کراتینین
۰/۳۳	۰/۱۹۵	HbA _{1c}
۰/۹۶۴	۰/۰۸	قند خون ناشتا
۰/۲۲۹	۰/۲۵۱	نمای توده بدنی

نوع مطالعه: مقطعی

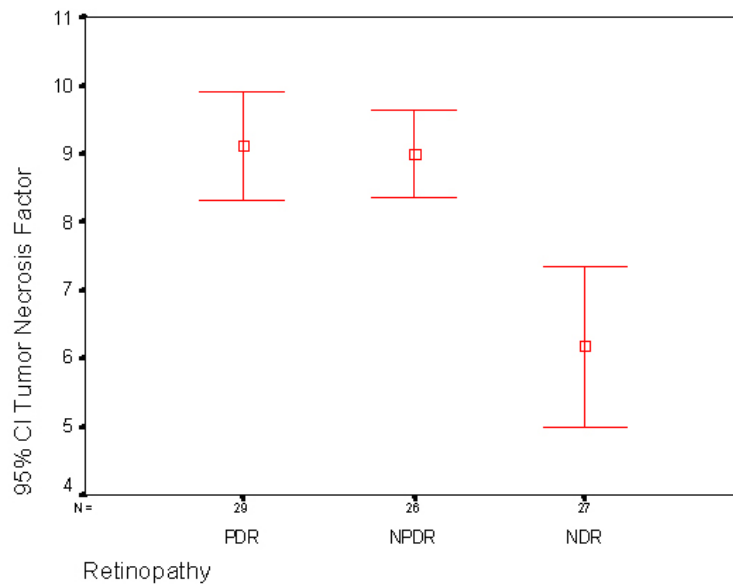
$P < 0/05$ از نظر آماری معنی دار است.

آنالیز آماری مورد استفاده: Non Parametric Correlation

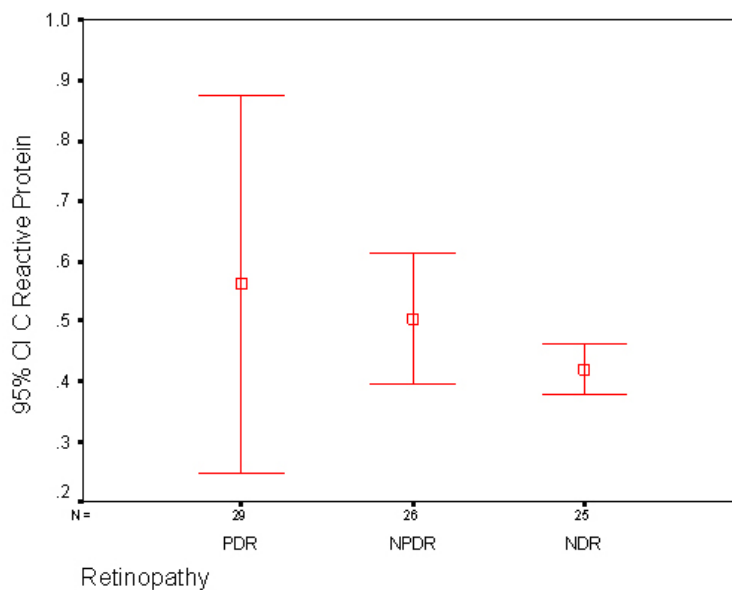
جدول ۳- ضریب همبستگی $TNF\alpha$ با CRP و متغیرهای مستقل در بیماران رتینوپاتی غیر پرولیفراتیو

TNF- α		
p	r	
۰/۰۵۷	۰/۳۷۷	CRP
۰/۴۰۹	۰/۱۶۷	فشار خون سیستولی
۰/۴۴۳	۰/۱۵۷	فشارخون دیاستولی
۰/۵۱۷	۰/۲۸۷	تری گلیسرید
۰/۴۹۴	۰/۱۳۳	کلسترول
۰/۹۱۷	۰/۱۴	HDL-C
۰/۴۷۹	۰/۰۵۹	LDL-C
۰/۵۹۴	۰/۱۴۵	کراتینین
۰/۹۵۱	۰/۳	HbA _{1c}
۰/۶۳۴	۰/۰۹۸	قند خون ناشتا
۰/۱۸۴	۰/۲۶۷	نمای توده بدنی

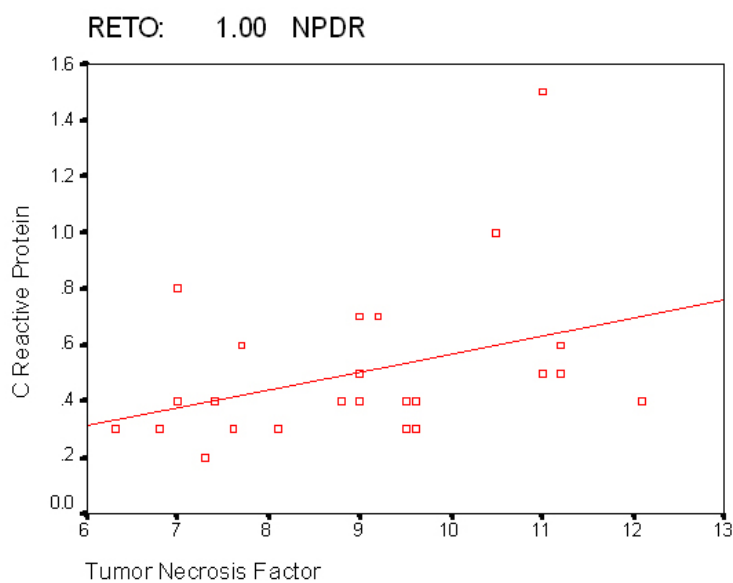
نوع مطالعه: مقطعی - $P < 0/05$ از نظر آماری معنی دار بود.
 آنالیز آماری مورد استفاده: Non Parametric Correlation اسپرمن



نمودار ۱- مقایسه $TNF\alpha$ در سه گروه بیماران



نمودار ۲- مقایسه CRP در سه گروه بیماران



نمودار ۳- scatter plot رابطه CRP و TNF alpha در بیماران NPDR

بحث

بر اساس نتایج حاصله از مطالعه، سطح سرمی TNF- α در بیماران مبتلا به رتینوپاتی (NPDR-PDR) در مقایسه با بیماران دیابتی بدون رتینوپاتی (NDR) با $P=0/001$ اختلاف معنی داری را نشان می دهد. این یافته نشان دهنده نقش عوامل التهابی و به خصوص TNF- α در پاتوژنز رتینوپاتی دیابتی می باشد.

بر این اساس با توجه به نقش TNF در سیستم ایمنی که هم از طریق مستقیم باعث آسیب می شود و هم بطور غیر مستقیم با افزایش سطح سرمی بقیه فاکتورهای التهابی و تشدید فرایند التهابی در تشدید رتینوپاتی دیابتی نقش دارد؛ بنابراین بالا بودن TNF- α در بیماران دیابتی می تواند نشان دهنده شروع و پیشرفت رتینوپاتی باشد؛ از این رو مدالیتی های درمانی که باعث کاهش سطح سرمی TNF- α می شوند و یا اثر TNF- α را در بافت هدف خنثی می کنند، ممکن است سیر بالینی رتینوپاتی دیابتی را تغییر دهند.

نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه Everek lioglu و همکاران که سطح TNF- α در گروه رتینوپاتی با ($P<0/001$) از گروه کنترل بالاتر بود، مطابقت دارد [۱۲]. همچنین مطالعه Adamiec-Mroczek نیز نشان دهنده اختلاف معنی دار سطح TNF- α در بیماران رتینوپاتی در مقایسه با بیماران غیر دیابتی می باشد [۱۳].

مطالعه Ozcan و همکاران نشان دهنده اختلاف TFN α در بیماران دیابتی مبتلا به رتینوپاتی در مقایسه با گروه دیابتی غیر رتینوپاتی ($P<0/001$) می باشد [۱۴].

در این مطالعه اختلافی بین سطح سرمی TNF- α در گروه PDR با NPDR وجود نداشت که با نتایج مطالعات قبلی منطبق نبود [۱۵، ۱۶].

در گروه PDR و NPDR در آنالیز رگرسیون بعد از همسان سازی برای سن، جنس، BMI و طول مدت دیابت، همچنان TNF α با $P=0/001$ بالاتر از NDR بود.

عدم اختلاف TNF- α در این دو گروه با توجه به اینکه معیارهای ورود به مطالعه در مورد همه بیماران یکسان بوده، می تواند ناشی از شدت رتینوپاتی در بیماران غیر

پرولیفراتیو باشد و بنظر می رسد نمی توان بر اساس TNF- α این دو حالت را از هم جدا کرد.

سطح سرمی CRP بین گروه PDR با NPDR و NDR اختلاف نداشته ولی سطح سرمی CRP در گروه NPDR ($P=0/024$) با گروه NDR اختلاف داشت. نتایج این مطالعه در مورد عدم اختلاف CRP با نتایج مطالعات Gustavsson و Wong مطابقت دارد، بنابراین با توجه به در دسترس بودن و ارزان بودن CRP، بنظر نمی رسد از نظر تشخیص سطح CRP در این بیماران کمک کننده باشد [۱۵-۱۸].

در Non-parametric Correlation در گروه PDR و NDR رابطه معنی داری بین TNF- α و CRP وجود نداشته اما در گروه NPDR با $P=0/057$ رابطه ضعیفی بین این دو گروه وجود داشته در مجموع TNF- α در بیماران مبتلا به رتینوپاتی بالاتر از بیماران دیابتی غیر رتینوپاتی بوده و نشان دهنده نقش این عامل التهابی در پاتوژنز و پیشرفت رتینوپاتی دیابتی می باشد.

با توجه به نقش TNF- α در فعال کردن پروسه های هموستاتیک و فاکتورهای چسبنده سلولی و همچنین آپوپتوزیس مستقیم سلول های آندوتلیال عروق و مطالعات مختلف از جمله مطالعه اخیر مبنی بر بالا بودن این فاکتور التهابی در بیماران رتینوپاتی دیابتی، طراحی مطالعات درمانی جهت بررسی تأثیر عوامل خنثی کننده این فاکتور التهابی مورد نیاز بوده تا تأثیر آن در ایجاد این عارضه دیابتی بطور کامل مشخص شود.

از محدودیت های مطالعه می توان به مصرف بالای آسپرین و استاتین ها اشاره کرد که بر سطح سرمی این فاکتورها موثر است و به علت مسائل اخلاقی قابل قطع کردن نمی باشند. همچنین مدت زمان ابتلا به دیابت بیماران، بر اساس شرح حال گزارش شده توسط آنان بود.

سپاسگزاری

این مطالعه با همکاری و مساعدت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی تهران انجام شده که کمال سپاسگزاری را از آنها داریم.

مأخذ

1. Spranger J, Kroke K, Mohlig M, and et all. Inflammatory cytokines and the risk to develop type 2 diabetes. *Diabetes* 2003; 52: 812-817.
2. Subramanian MB, Rema Mand Premanand C. Biochemical and Mulcular Mechanisms of Diabetic retinopathy. *Current science* 2002; 83(12): 25.
3. King GL. The role of Inflammatory Cyto kines In Diabetes and Its Complication S. *J Periodontal* 2008; 79. (8) (suppl).
4. Bloomgarden ZT. Diabetic retinopathy. *Diabetes Care* 2008; 31(5).
5. Kronenbery HM, Melmed S, Polonsky k, Larsen PR. *Williams Text book of Endocrinology*, 11th ed. Philadelphia, PA: Saunders Elsevier; 2008.
6. Frank NR. Diabetic retinopathy. *NEJM* 2004; 350: 48-58.
7. Wellen KE and Hotamisligil GK. Inflammation, stress, and diabetes. *The journal of clinical Investigation* 2005; 115(5).
8. Locksley RM, Killen N, Leonardo MJ. The TNF and TNF receptor super families: *Integrating mammalian Biology Cell* 2001; 104: 487-501.
9. Abbas AK, Lichtman AH, Pillai S. *Cellular and Molecular Immunology*, 6th ed. Philadelphia, Saunders Elsevier; 2008.
10. Gaur U and Aggarwal BB. Regulation of proliferation, Survival and apoptosis by members of the TNF Super family *Biochem. Pharmacol* 2003; 66 (8): 1403-8.
11. Adamis AP. IS diabetic retinopathy an inflammatory disease. *Br j ophthal mol* 2002; 86: 363-365.
12. Meletab AD, Agron E, Cha CC and et al. Serum Inflammatory Markers in Diabetic retinopathy. *Investigative ophthalmology 4 visual Science* 2005; 46(11).
13. Doganary S, Klioglu CE, Er H, Turko Y and et al. Eomparison of Serum NO, TNF- α , IL-1/3, IL-6 and IL-8 level with grade of retinopathy in patients with Diabetes Mellitus. *eye* 2002; 16: 103-170.
14. Mroczek JA, Mlynczak JO, Hjllo MM. Role of endothelin-1 and selected Pro Inflammatory cytokines in the pathogenesis of proliferatine Diabetic retinopathy: Analysis of Vitreous Samples. *Cytokine* 2009; doi: 10.1016.
15. Demircan N, Safran BG, Soyly M, Ozcan AA, Sizmas S. Determination of Vitreous IL-1 and TNF- α level in proliferatine diabetic retinopathy. *eye* 2006; 20: 1366-1369.
16. Yuuki T, kanda T, kimura Y, Kotajima N, Tamura JI, and et all. Inflammatory cyto kines In Vitreous Fluid and serum of patients with diabetic vitreo retinopathy. *Journal of Diabetes and its Complications* 2001; 15: 257-259.
17. Zorena K, Mystifies M, Balcerska A, Lipowski P, Mysliwska J, and et al. TNF- α is a risk factor of retinopathy in children with poorly Cuntrolled Type1 diabetes Mellitus. *Diabetologia Doswiadeczalna* 2006; 695: 272-276.
18. Zorena K, Mysliwska J, Mysliwiec M, Cerska AB, Hak T, and et al. Serum TNF-Alpha level Predicts Non Prolifratine Diabetic retinopathy In Children. *Mediators of Inflammation* 2007; 92196. DOI: 10. 1155/2207/92196.