

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^۱، 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 و اسکولار ناشی از دیابت مانند رتینوپاتی هستند. TNF- α از طریق افزایش بیان فاکتورهای التهابی و انعقادی و بطور مستقیم از طریق آپوپتوزیس سلول‌های آندوتیال 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 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 بیمارستان امام خمینی (ره) تهران مراجعه کرده بودند و یا در بخش غدد بستره شدن انجام گرفت. در هر گروه سطح سرمی TNF- α ، CRP، HbA_{1C}، 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) $۹/۱۱\pm ۱/۴۲$ (pg/ml) و $۹/۰۲\pm ۱/۵۶$ (pg/ml) NDR و $۹/۰۲\pm ۲/۹۶$ (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 ۰۹۰۰۴۰-۶۹۳۰؛ پست الکترونیک: nakhjavanim@tums.ac.ir

مقدمه

عوارض میکرو و اسکولار و ماکرو و اسکولار ناشی از دیابت شایع ترین علت موربیدیتی و مورتالیتی ناشی از این اختلال متابولیک هستند. رتینوپاتی دیابتی در حال حاضر شایع ترین علت نابینایی غیر ترومایی در افراد ۲۰-۷۰ ساله می باشد [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، نفropاتی 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 و اسکولار ناشی از دیابت مانند رتینوپاتی از یک دهه گذشته مورد توجه قرار گرفته است [۷].

بنظر می رسد عوامل التهابی مانند TNF- α بطور مستقیم و از طریق مرگ سلول های آندوتیال عروق شبکیه و هم بطور غیر مستقیم از طریق افزایش بیان ژن های مربوط به فاکتورهای التهابی - انعقادی و مولکول های 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 خشی کردن TNF- α می شوند و یا از اثر TNF- α در بافت ها جلوگیری می کنند، تشخیص قطعی بالا بودن TNF- α و نقش آن در رتینوپاتی دیابتی می تواند منجر به تدوین شیوه های 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 α و TNF و CRP در بیماران مبتلا به رتینوپاتی دیابتی در مراحل مختلف و مقایسه آن با بیماران دیابتی بدون رتینوپاتی بود.

آنالیز آماری

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

روش ها

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 فعل، بیماری های التهابی حاد و مزمن، زخم پای دیابتی، مصرف سیگار، مصرف گلوکو کورتیکوتیدها، مصرف داروهای سیتوتونکسیک و ایمونو ساپرسیو، مصرف تیازولیدین دیون ها و $Ct > ۱/۵ \text{ mg/dl}$ بود.

از بیمارانی که معیارهای ورود به مطالعه را داشتند بعد از اخذ رضایت آگاهانه، ابتدا یافته های دموگرافیک و انتروپومتریک براساس برگ جمع آوری 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 گروه های 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 آزمایش های مربوط شامل CRP، TNF- α ، HbA_{1C}، HDL-C، LDL-C، HbA_{1C}، FBS و Cr بر روی آن انجام شد.

سطح سرمی TNF- α با کیت Quantikine ساخت کشور Amerika و بروش ELISA اندازه گیری شد. Inter CV=۰.۵/۲ و Intra assay CV=۰.۷/۴ assay به روش HbA_{1C} و با دستگاه DS5 و محلول PINK انجام شد. HPLC سطح سرمی CRP به روش کمی و توسط کیت Omega ساخت کشور انگلیس اندازه گیری شد.

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

برای مقایسه میانگین داده‌هایی که انتشار نرمال داشتند از ANOVA و داده‌هایی که انتشار نرمال نداشتند از Non hoc استفاده شد. برای بررسی ارتباط بین متغیرها از 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 معنی‌داری 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- α در بیماران مبتلا به pg/ml PDR $9/11 \pm 1/42$ و در گروه NPDR $9/02 \pm 1/56$ و در PDR گروه $6/10 \pm 2/6$ pg/ml NDR 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

در گروه PDR در Non parametric Multivariate Correlation، بین TNF- α و بقیه متغیرهای مستقل فقط با تری‌گلیسرید با $P = 0.05$ و $r = 0.511$ رابطه مثبت و بین HDL-C با $P = 0.036$ و $r = -0.392$ رابطه منفی وجود داشت. در گروه NPDR بین TNF- α با بقیه متغیرهای مستقل رابطه معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$).

در گروه NDR بین TNF- α با بقیه متغیرهای مستقل رابطه معنی‌داری وجود نداشت ($P > 0.05$).

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

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

NDR	NPDR	PDR	متغیر جنس
۳۷٪/(۱۵)	۳۳٪/(۹)	۴۴/۸٪/(۱۳)	مرد
۶۳٪/(۱۷)	۶۶/۷٪/(۱۸)	۵۵/۲٪/(۱۶)	زن
۵۸±۸	۵۸±۷	۵۹±۸	سن (سال)
۲۸±۳	۲۶±۳	۲۵±۲	نمایه توده بدنی (kg/m ²)
۷±۵	۱۰±۶	۱۲±۶	طول مدت دیابت (سال) *
۱۲۱±۱۷/۳	۱۳۳±۱۸/۸	۱۴۳±۲۶/۹	فشار خون سیستولی (mmHg) *
۷۶±۱۰/۹	۸۳±۱۰/۱	۸۴±۷/۳	فشار خون دیاستول (mmHg) †*
۱۹۲±۱۰۰	۱۶۳±۸۹	۱۹۷±۹	تری گلیسرید (mg/dl)
۲۰۶±۵۶/۴	۲۰۳±۴۹/۵	۲۱۱±۴۶/۹	کلسترول تام (mg/dl)
۴۲±۷	۴۱±۱۱	۴۴±۹	(mg/dl) HDL-C
۱۱۷±۳۵	۱۲۹±۳۵	۱۲۳±۳۲	(mg/dl) LDL-C
۱/۸±۸/۲	۱/۷±۸/۲	۸۶±۸/۸	(درصد) HbA _{1c}
٪۹۹±٪۲۴	٪۸۳±٪۱۵	٪۸۶±٪۲۲	کراتینین (mg/dl) †
۱۷۸±۵۲/۸۹	۲۱۱±۶۹	۲۱۰±۵۳	قد خون ناشتا (mg/dl) †*
٪۷۱±٪۲/۹	٪۹±۱/۵	٪۹/۱±۱/۴	*† (pg/ml) TNF-α
٪۳۸±٪۰/۱	٪۵±٪۲/۷	٪۰/۴۴±٪۱/۲	*† CRP

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

نوع مطالعه: مقطعي - داده های بصورت ميانگين ± انحراف معيار نشان داده شده اند.

¶ P: تفاوت معنی دار بين گروه PDR و NPDR ($P < 0.05$)

* P: تفاوت معنی دار بيم گروه PDR و NDR ($P < 0.05$)

† P: تفاوت معنی دار بين گروه NDR و NPDR ($P < 0.05$)

تفاوت بين داده ها 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	CRP
۰/۲۹۱	۰/۲۱۱	فشار خون سیستولی
۰/۲۰۲	۰/۲۵۴	فشار خون دیاستولی
۰/۵۱۲	۰/۱۳۲	تری گلیسرید
۰/۰۵*	۰/۵۱۱	کلسترول
۰/۲۶۹	۰/۲۲۱	HDL-C
۰/۰۳۶	۰/۳۹۲	LDL-C
۰/۳۵۱	۰/۱۸۴	کراتینین
۰/۰۵۴	۰/۱۰۷	HbA _{1c}
۰/۳۳	۰/۱۹۰	قد خون ناشتا
۰/۹۶۴	۰/۰۸	نمایه توده بدنی
۰/۲۲۹	۰/۲۵۱	

نوع مطالعه: مقطعي

P < 0.05 از نظر آماری معنی دار است.

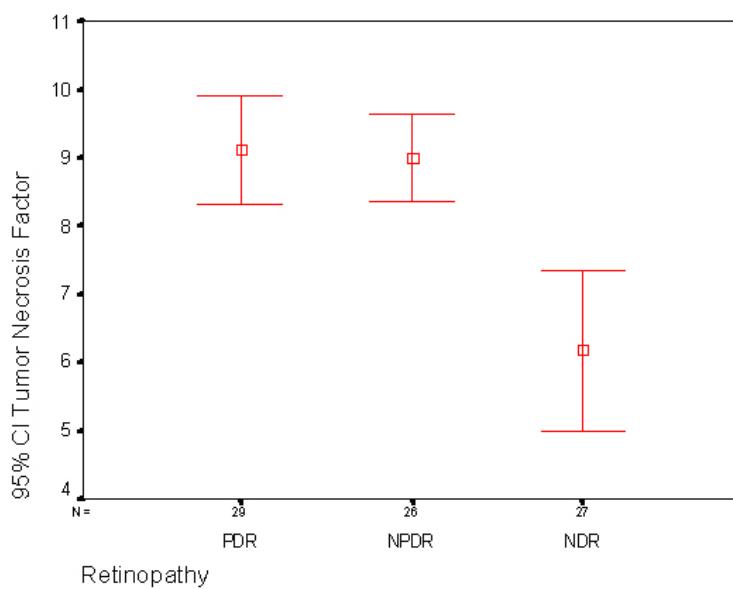
آنالیز آماری مورد استفاده: Non Parametric Correlation

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

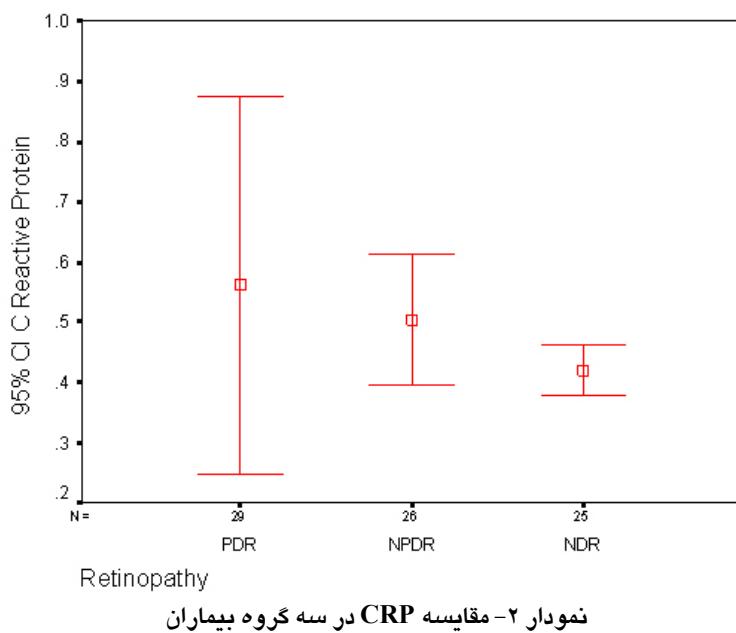
		TNF- α	
p	r		
۰/۰۵۷	۰/۳۷۷		CRP
۰/۴۰۹	۰/۱۶۷	فشار خون سیستولی	
۰/۴۴۳	۰/۱۵۷	فشار خون دیاستولی	
۰/۵۱۷	۰/۲۸۷	تری گلیسرید	
۰/۴۹۴	۰/۱۲۳	کلسترول	
۰/۹۱۷	۰/۱۴	HDL-C	
۰/۴۷۹	۰/۰۵۹	LDL-C	
۰/۵۹۴	۰/۱۴۵	کراتینین	
۰/۹۵۱	۰/۳	HbA ₁ C	
۰/۶۳۴	۰/۰۴۸	قند خون ناشتا	
۰/۱۸۴	۰/۲۶۷	نمای توده بدنی	

نوع مطالعه: مقطعی - $P < 0.05$ از نظر آماری معنی دار بود.

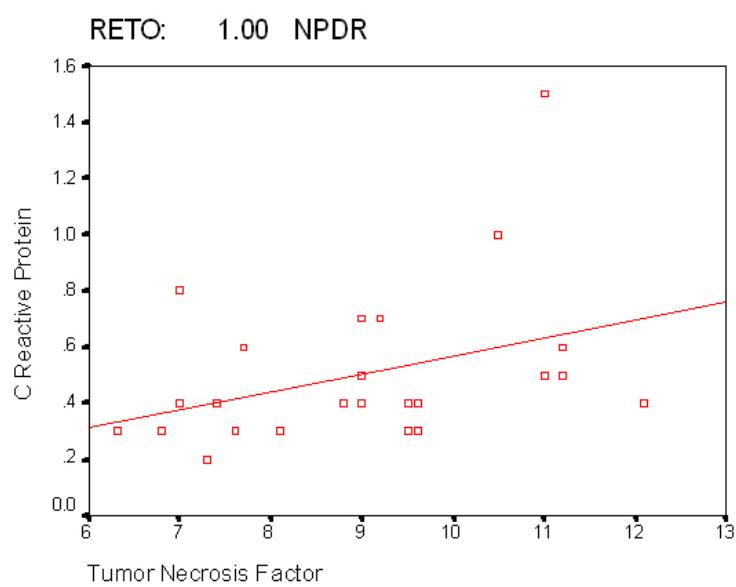
آنالیز آماری مورد استفاده: Non Parametric Correlation اسپرسمن



نمودار ۱- مقایسه TNF alpha در سه گروه بیماران



نمودار ۲- مقایسه CRP در سه گروه بیماران



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

بحث

برولیفراتیو باشد و بنظر می‌رسد نمی‌توان 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 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 نمی‌رسد از نظر تشخیص سطح CRP در این بیماران کمک کننده باشد [۱۵-۱۸].

در Non-parametric Correlation در گروه PDR و NDR رابطه معنی‌داری 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 پاتوژن و پیشرفت رتینوپاتی دیابتی می‌باشد.

با توجه به نقش TNF- α در فعال کردن پروسه‌های هموستاتیک و فاکتورهای چسبنده سلولی و همچنین آپوپتوزیس مستقیم سلول‌های آندوتیال 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 خشی کننده این فاکتور التهابی مورد نیاز بوده تا تأثیر آن در ایجاد این عارضه دیابتی بطور کامل مشخص شود.

از محدودیت‌های مطالعه می‌توان به مصرف بالای آسپرین و استاتین‌ها اشاره کرد که بر سطح سرمی این فاکتورها موثر است و به علت مسائل اخلاقی قابل قطع کردن نمی‌باشند. 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.

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 معنی‌داری را نشان می‌دهد. این یافته نشان دهنده نقش عوامل التهابی و به خصوص TNF- α در پاتوژن رتینوپاتی دیابتی می‌باشد.

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

نتایج این مطالعه با نتایج مطالعه Erek 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-Mroczeک سطح TNF- α در بیماران رتینوپاتی در مقایسه با بیماران غیر دیابتی می‌باشد [۱۳].

مطالعه Ozcan و همکاران نشان دهنده اختلاف TNF- α در بیماران دیابتی مبتلا به رتینوپاتی در مقایسه با گروه دیابتی غیر رتینوپاتی ($P=0.001$) می‌باشد [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 همسانسازی 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، می‌تواند ناشی از شدت رتینوپاتی در بیماران غیر

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. Kronenberg 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. Wollen 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 & visual Science* 2005; 46(11).
13. Doganay 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, Hjlo MM. Role of endothelin-1 and selected Pro Inflammatory cytokines in the pathogenesis of proliferative Diabetic retinopathy: Analysis of Vitreous Samples. *Cytokine* 2009; doi: 10.1016.
15. Demircan N, Safran BG, Soylu M, Ozcan AA, Sizmas S. Determination of Vitreous IL-1 and TNF- α level in proliferative 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, Balcerka A, Lipowski P, Mysliwska J, and et al. TNF- α is a risk factor of retinopathy in children with poorly Controlled Type1 diabetes Mellitus. *Diabetologia Doswiedzalna* 2006; 695: 272-276.
18. Zorena K, Mysliwska J, Mysliwiec M, Cerska AB, Hak T, and et al. Serum TNF-Alpha level Predicts Non Proliferative Diabetic retinopathy In Children. *Mediators of Inflammation* 2007; 92196. DOI: 10.1155/2207/92196.