

А.А. Кравченко, А.Ю. Ким, К.А. Апарцин, С.А. Лепехова, М.В. Прокопьев, О.А. Гольдберг

ВОЗМОЖНОСТЬ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ БИОТЕХНОЛОГИЙ ПРИ ЛЕЧЕНИИ САХАРНОГО ДИАБЕТА

ИЦ РВХ ВСНЦ СО РАМН (Иркутск)

Авторами представлен обзор литературных источников по проблеме возможности использования биотехнологий при лечении сахарного диабета.

Ключевые слова: сахарный диабет, поджелудочная железа, островки Лангерганса, ксенотрансплантация

OPPORTUNITY OF USE OF BIOTECHNOLOGIES IN PANCREATIC DIABETES TREATMENT

A.A. Kravchenko, A.Ju. Kim, K.A. Apartsin, S.A. Lepekhova, M.V. Prokopiev, O.A. Goldberg

SC RRS ESSC SB RAMS, Irkutsk

The authors present literature review on the problem of opportunity of use of biotechnologies in pancreatic diabetes treatment.

Key words: pancreatic diabetes, pancreas, islets of Langerhans, xenotransplantation

На сегодняшний день сахарным диабетом (СД) страдает приблизительно 180 млн. людей, около 90 % из них диабетом II типа, в ближайшем будущем, к 2025 г., прогнозируется увеличение числа больных до 300 млн., при этом стремительный рост будет отмечаться в развитых странах [39, 50, 51]. В России официально зарегистрировано 8 млн. болеющих сахарным диабетом, в Иркутской области — около 33 тыс. Ежегодный прирост пациентов составляет 5–7 %, а каждые 12–15 лет количество больных диабетом удваивается. Фактически, количество больных сахарным диабетом в России в 3–4 раза выше официальной статистики. Поэтому, миллионы больных с недиагностированным сахарным диабетом находятся долгие годы вне поля деятельности врача. Таким образом, нарушения углеводного обмена у них не диагностируются и под влиянием неконтролируемой гипергликемии развиваются тяжелые сосудистые осложнения, которые являются причиной высокой инвалидизации и смертности больных сахарным диабетом [1, 4].

Основной и до настоящего времени нерешенной проблемой для любого больного сахарным диабетом является развитие поздних осложнений, которые приводят к ухудшению качества жизни пациентов и ранней инвалидизации. Среди клинически значимых осложнений СД выделяют нефропатию, ретинопатию, нейропатию и микроангиопатию [1, 9, 10, 12, 21, 30, 41, 44].

Несмотря на внедрение современных технологий в практику терапии сахарного диабета (генно-инженерный инсулин человека и его аналоги, шприц-ручки и инсулиновые помпы, глюкометры и др.), вопросы строгой компенсации углеводного обмена и предупреждение развития сосудистых осложнений диабета остаются актуальными [34, 36, 52].

На протяжении десятилетий проводятся исследования, направленные на возможность замещения утраченной функции островков поджелудочной железы, восстановление функции инсулярного аппарата поджелудочной железы и нормальной регуляции углеводного обмена. Научные исследования проводятся по нескольким основным направлениям: аллогенная трансплантация поджелудочной железы или ее фрагментов; пересадка островков поджелудочной железы, полученных от аллогенного или ксеногенного донора; разработка и создание искусственной поджелудочной железы [4, 51].

Первая пересадка поджелудочной железы для лечения диабетической нефропатии и сахарного диабета была выполнена W.D. Kelly и соавт. 17 декабря 1966 г. Однако выживаемость больных и функция пересаженного органа оставались крайне низкими, что было обусловлено отсутствием средств и методов, позволяющих успешно воздействовать на процессы отторжения и функцию пересаженного органа. Внедрение современных иммуносупрессивных средств способствовало предупреждению отторжения пересаженной поджелудочной железы. При диабетической нефропатии, явившейся причиной терминальной хронической почечной недостаточности, идеальным является одновременная трансплантация почки и поджелудочной железы, что способствует сохранению в течение длительного времени их функции. К 1998 г., по данным A. Graessner [14] и D.E.R. Sutherland (1997), в мире было проведено свыше 10 000 подобных операций, причем наибольшее их количество приходилось на 1991–1997 гг. В большинстве случаев, для проведения подобных трансплантаций используется трупная поджелудочная железа или ее часть и почка, забираемая от одного донора. По данным междуна-

родного регистра по пересадке поджелудочной железы к августу 2000 г. количество проведенных трансплантаций поджелудочной железы увеличилось до 15 710. В настоящее время, в мире ежегодно проводится около 1500 пересадок поджелудочной железы, причем более 90 % таких операций выполняется в США. По данным ведущих трансплантационных центров Европы и Америки, остается высокой послеоперационная летальность, крайне высокая себестоимость вмешательства, необходимость длительной иммуносупрессивной терапии и осложнения иммуносупрессивного и хирургического характера, достигающие 75 % [5, 11, 46], тормозят стремительное развитие этих методов коррекции, несмотря на их биологическую целесообразность.

Пересадка островков поджелудочной железы с целью освобождения больных от инсулинозависимости проводится на протяжении многих десятилетий. Первые попытки пересадки островков (фрагментов) поджелудочной железы были проведены в 30-х годах прошлого столетия, но они оказались неэффективными [3 – 5]. В 1960-е годы были разработаны методы очистки островков поджелудочной железы от соединительной и внешнесекреторной ткани с помощью коллагеназы. Однако большой размер (70g) и волокнистая структура человеческой поджелудочной железы создавали проблемы по изоляции человеческих островков Лангерганса. К 1980-му году были успешно изолированы и трансплантированы собачьи и свиные островки [7, 26, 33, 37, 42, 49], а также произведена внутримышечная пересадка микрофрагментов поджелудочной железы плодов человека [48]. В 1988 г. С. Ricordi создал оригинальную методику подготовки островков с высоким «выходом» клеток. С. Ricordi представил полуавтоматический метод изоляции человеческих островков, с использованием коллагеназы и механической агрегации, внутри камеры из нержавеющей стали [8, 39].

Первая отечественная аллотрансплантация культур плодных островковых клеток была проведена В.И. Шумаковым в 1979 г. [5]. С 1983 г. в НИИ Трансплантологии и искусственных органов (Москва), учитывая хороший антидиабетический эффект трансплантации островковых ксенокультур, стали использовать донорский материал, полученный из ксеногенных источников: плодов крупного рогатого скота, свиней и т.д., а с 1990 г. — донорский материал плодов и новорожденных кроликов. Основной мотивацией разработки методов ксенотрансплантации островков поджелудочной железы для лечения больных сахарным диабетом, явилось желание снизить стоимость расходов по получению трансплантационного материала (определенные трудности получения поджелудочной железы внутриутробных плодов человека, отсутствие возможности сепарации и очистки островков поджелудочной железы) и иммуносупрессивной терапии, применение которой необходимо в послеоперационном периоде [2, 3].

Как отмечают В.И. Шумаков и соавт. [4], использование в качестве источника островковых клеток поджелудочной железы кроликов позволило значительно увеличить количество клинических трансплантаций. К 1994 г. было выполнено более 800 алло- и ксенотрансплантаций культур островковых клеток (в том числе культур плодных островковых клеток человека, культур островковых клеток плодов крупного рогатого скота, свиньи и культур, полученных из поджелудочной железы новорожденных кроликов) [4].

В последующие годы были проведены экспериментальные и клинические исследования, при которых трансплантация суспензии островковых клеток проводилась различными способами: инъекция в порталную вену, в селезеночную вену и в селезенку; инъекция в пульпу селезенки; инъекция и имплантация в брюшную полость; пересадка (трансплантация или инъекция) под капсулу почки; инъекция в прямую мышцу живота; имплантация в подкожную жировую клетчатку передней стенки живота. В результате была частично реализована идея достижения кратковременного или, более долгосрочного, значительного снижения потребности реципиента в экзогенном инсулине или даже полной инсулинезависимости [16, 22 – 25].

Несмотря на очевидные преимущества свободной трансплантации островковых клеток перед трансплантацией всего органа, результаты алло- и ксенотрансплантаций остаются не вполне удовлетворительными. Это связано, главным образом, с небольшой продолжительностью антидиабетического эффекта, что требует многократных процедур трансплантации клеток. По данным литературы, максимальная продолжительность функционирования островковых клеток наблюдается в течение 6 – 12 мес. При этом зона трансплантации (воротная вена, пульпа селезенки, печени, большой сальник и т.д.) не имеет существенного значения. Причиной гибели клеток является, как правило, реакция отторжения [4, 11, 28, 31]. Для предупреждения отторжения пересаженной ткани используют введение в организм реципиента препаратов, снижающих иммунитет, так называемых иммунодепрессантов. Но эти препараты в ряде случаев приводят к тяжелым побочным эффектам: почечной недостаточности, снижению сопротивляемости инфекциям, развитию опухолевых процессов [5].

Многие исследователи считают перспективным направлением разработки по включению донорских В-клеток в капсулы с пористой пластиковой мембраной. При правильно подобранном размере пор глюкоза будет проникать внутрь капсулы, а синтезируемые молекулы инсулина выходить наружу. Гораздо более крупные по размеру лимфоциты и антитела не смогут проникнуть через поры, что и должно обеспечить длительную защиту В-клеток от аутоиммунных реакций и отторжения [6, 29, 40, 53].

В литературе широко встречаются работы по макроинкапсулированию с использованием агаро-

зы, применению капсул из пористого акрилового полимера, введению островков Лангерганса суспендированных в альгинатном геле в трубках из пористого волокнистого материала. Последние не обрастают фиброзной тканью, а заключенные в них В-клетки функционируют в организмах подопытных животных-диабетиков уже на протяжении 12 дней, хотя и этот срок явно недостаточен. По-видимому, недолгая жизнь имплантированных клеток связана с «некомфортностью» условий внутри капсулы — панкреатические островки внутри нее агрегировали, и большая часть клеток внутри агрегатов становится недоступной для питательных веществ и переносчиков кислорода, что и приводит к утрате их функции [6, 41].

Одновременно с исследованиями по макроинкапсулированию островков Лангерганса проводились работы по заключению островков поджелудочной железы в микрокапсулы. К настоящему времени было опробовано несколько полимерных систем: гидрогели полисахарида, хитозана, альгината кальция и бария, и многоуровневая матрица альгината. Сейчас уже доказано, что островки, заключенные в микрокапсулу, имеют более высокую жизнеспособность [6, 20, 19] в отличие от неинкапсулированных островков.

В последние годы проводятся работы по коррекции сахарного диабета первого типа стволовыми клетками. Эти работы еще не вышли за стадию эксперимента, хотя уже установлено, что при определенных условиях стволовые клетки костного мозга или крови эмбрионов человека могут дифференцироваться в клетки, подобные вырабатывающим инсулин бета-клеткам островков Лангерганса поджелудочной железы [35, 27, 13, 43]. Показано также, что прогениторные клетки из некоторых тканей плодов или взрослых, таких как печень и костный мозг, способны дифференцироваться на клетки, похожие на бета-клетки («в клетки, имеющие фенотип бета-клеток») [46, 11, 2, 43].

Первые попытки трансплантации костного мозга при экспериментальном диабете были осуществлены 20 лет назад [18, 32]. Оказалось, что клетки костного мозга способны блокировать развитие аутоиммунного процесса и вызывать нормогликемию у экспериментальных животных [45, 17]. Была показана возможная дифференцировка клеток костного мозга мыши в бета-клетки *in vivo* (при их введении) без признаков слияния клеток. Клетки костного мозга модифицировали генетически так, что при начале синтеза инсулина они начинали продуцировать и зеленый флюоресцентный белок, (т.е. «светиться зеленым» при флюоресцентной микроскопии). Через 4–6 недель после трансплантации около 2–3 % клеток донорского костного мозга «светились», при 70–90 % эффективности интеграции (engraftment). Эти клетки были отсортированы и экспрессировали типичные для бета-клеток маркеры, синтезировали инсулин и отвечали на стимуляцию глюкозой [45].

Следующая значительная работа появилась в Nature Biotechnology (www.nature.com.nbt) [15].

Авторы ставят под сомнение возможность прямой трансдифференцировки клеток костного мозга в бета-клетки. Указывается, что коррекция экспериментального диабета происходит из-за стимуляции регенерации собственной поджелудочной железы за счет введенных клеток [15].

В своем исследовании V. Mathews [38] изучает роль эндотелиальных прогениторных клеток, исходящих из костного мозга, в регенерации бета-клеток. Крысам с экспериментальным повреждением бета-клеток трансплантировали сингенный генетически измененный костный мозг. После трансплантации донорские клетки обнаруживали повсеместно во всей ткани железы. Общее количество донорских клеток костного мозга постепенно снижалось в ткани железы, а количество эндотелиальных клеток донорского и собственного происхождения — увеличивалось в зависимости от степени повреждения. Автором не было выявлено никаких признаков дифференцировки донорских клеток в инсулин-продуцирующие, при этом наблюдались признаки усиления васкуляризации ткани железы (т.е. стимуляции ангиогенеза). Исследователи делают вывод, что трансплантация костного мозга при экспериментальном диабете способствует регенерации островков и бета-клеток за счет стимуляции ангиогенеза (по-видимому, через эндотелиальные прогениторы), но не восстанавливает количество функционирующих бета-клеток за счет прямой трансдифференцировки. Так что, введение стволовых клеток костного мозга рекомендуют и как метод сопутствующий, алло- и ксеногеной трансплантации островков или бета-клеток.

Таким образом, несмотря на хорошие результаты трансплантаций островковых клеток человеческой поджелудочной железы, перспективными направлениями в лечении и коррекции СД, в ближайшее время будет являться трансплантация макро- и микроинкапсулированных островков Лангерганса, а также изучение возможности прямой трансдифференцировки стволовых клеток костного мозга в бета-клетки.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И. Осложнения сахарного диабета / И.И. Дедов. — М., 1995. — 235 с.
2. Свободная трансплантация культуры в-клеток в лечении экспериментального сахарного диабета / А.В. Прохоров, С.И. Третьяк, В.А. Горанов, Д.В. Маркелов // Актуальные вопросы современной медицины: Материалы Юбилейной научн. конф., посв. 80-летию БГМУ в двух частях; Под ред. С.Л. Кабака. — Минск: БГМУ, 2001. — Ч. II. — С. 91–93.
3. Скалецкий Н.Н. Получение культур островковых клеток из поджелудочной железы и их трансплантация / Н.Н. Скалецкий, Л.Л. Кирсанова, В.Н. Блюмки // Проблемы трансплантологии и искусственных органов. — М., 1994. — С. 73–80.
4. Трансплантация островковых клеток поджелудочной железы / В.И. Шумаков, В.Н. Блюм-

кин, Н.Н. Сколецкий, Б.И. Шальнев и др. — М.: Канон, 1995. — 383 с.

5. Трансплантология. Руководство / Под ред. акад. В.И. Шумакова. — М.: Медицина, 1995. — 391 с.

6. A membrane-mimetic barrier for islet encapsulation / W. Cui, G. Barr, K.M. Faucher, X.L. Sun et al. // *Transplant. Proc.* — 2004. — Vol. 36 (4). — P. 1206.

7. A method for large-scale, high-yield isolation of canine pancreatic islets of Langerhans / J. Noel, A. Rabinovitch, L. Olson, G. Kyriakides, J. Miller, D.H. Mintz // *Metabolism.* — 1982. — Vol. 31. — P. 184—187.

8. Automated method for isolation of human pancreatic islets / C. Ricordi, P.E. Lacy, E.H. Finke, B.J. Olack et al. // *Diabetes.* — 1988. — Vol. 37. — P. 413—420.

9. Blindness due to diabetes: population-based age and sex-specific incidence rates / A. Icks, C. Trautner, B. Haastert, M. Berger, G. Giani. // *Diabet. Med. in Press.* — 1997.

10. Caird F. Diabetes and the eye / F. Caird, A. Pirie, T.G. Ramsell. — Oxford—Edinburgh: Blackwell Scientific Publication, 1969.

11. Clinical pancreas transplantation. Complete review of eight years experience / L.H. Toledo-Pereyra, S. Dewan, V.K. Mittal, D.A. Gordon // *Arch. Surg.* — 1991. — Vol. 55, N 9. — P. 576—581.

12. Cowie C.C. Diabetes 1996: vital statistics, Alexandria, VA / C.C. Cowie, M.S. Eberhardt // *American Diabetes Association.* — 1996.

13. Efrat S. Generation of insulin-producing cells from stem cells for cell replacement therapy of type 1 diabetes / S. Efrat // *Isr. Med. Assoc. J.* — 2004. — Vol. 6. — P. 265—267.

14. Gruessner A. Pancreas transplants for United States (US) and non US cases reported to International Pancreas Transplant Registry (IPTR) and to the United network for organ sharing (UNOS) / A. Gruessner, D.E.R. Sutherland; Eds. M. Cecka, P. Terasaki // *Clinical transplants.* — 1997.

15. Hess D. Bone marrow-derived stem cells initiate pancreatic regeneration / D. Hess // *Nat. Biotechbol.* — 2003. — Vol. 21, N 7. — P. 763—770.

16. Human islet isolation and allotransplantation in 22 consecutive cases / C. Ricordi, A. Tzakis, P.B. Carroll, Y. Zeng et al. // *Transplantation.* — 1992. — Vol. 53, N 2. — P. 407—414.

17. Ianus A. In vivo derivation of glucose-competent pancreatic endocrine cells from bone marrow without evidence of cell fusion / A. Ianus // *J. Clin. Invest.* — 2003. — Vol. 111. — P. 843—850.

18. Ikehara S. Prevention of type I diabetes in nonobese diabetic mice by allogenic bone marrow transplantation / S. Ikehara // *PNAS.* — 1985. — Vol. 82. — P. 7743—7747.

19. Improved survival of macroencapsulated islets of Langerhans by preimplantation of the immunisolating device: a morphometric study / E. Rafael, G.S. Wu, K. Hultenby, A. Tibell et al. // *Cell Transplant.* — 2003. — Vol. 12 (4). — P. 407—412.

20. Improved survival of microencapsulated islets during in vitro culture and enhanced metabolic function following transplantation / G.S. Korbitt, A.G. Mallett, Z. Ao, M. Flashner, R.V. Rajotte // *Diabetologia.* — 2004. — Vol. 47, N 10. — P. 1810.

21. Incidence of diabetic retinopathy and blindness: a population-based study in Rochester Minnesota / M.S. Dwyer, L.J. Melton, D.J. Ballard, J.C. Trautmann et al. // *Diabetic Care.* — 1985. — N 8. — P. 316—322.

22. Insulin independence after islet transplantation into type I diabetes patients / D.W. Scharp, P.E. Lacy, J. Santiago et al. // *Diabetes.* — 1990. — Vol. 39. — P. 515—518.

23. International Islet Transplant Registry / M. Brendel, B. Hering, A. Schultz, R. Bretzel // Giessen, Germany: University of Giessen, 1999.

24. International islet transplant registry newsletter / B.J. Hering, M.D. Brendel, A.O. Schultz, B. Schultz // Giessen, Germany: Justus-Liebig-University of Giessen, 1996.

25. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen / A.M. Shapiro, J.R. Lakey, E.A. Ryan, G.S. Korbitt et al. // *N. Engl. J. Med.* — 2000. — Vol. 343. — P. 230—238.

26. Isolation of viable islets of Langerhans from collagenase-perfused canine and human pancreata / R.V. Rajotte, G.L. Warnock, M.G. Evans, D. Ellis et al. // *Transplant. Proc.* — 1987. — Vol. 19. — P. 918—922.

27. Kim S.C. Development of insulin-producing tissues from stem cells / S.C. Kim // Program and abstracts of the 43rd Annual Meeting of the American Society for Cell Biology, December 13—17, 2003, San Francisco, California.

28. Kim S.C. Impact of purification of pancreas islet in canine intraportal islet transplantation / S.C. Kim, Y.M. We, J.H. Lee // *Transpl. Proc.* — 1998. — Vol. 30, N 7. — P. 3423—3424.

29. King H. Global estimates for estimates prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in adults / H. King, M. Rewers (on behalf of WHO Ad Hoc Diabetes Reporting Group) // *Diabetes Care.* — 1993. — Vol. 16. — P. 157—177.

30. Klein R. The epidemiology of diabetic retinopathy / R. Klein; Eds. G. Williams, J. Pickup // *Textbook of diabetes.* — London: Blackwell, 1991. — Vol. 2. — P. 537—563.

31. Lacy P.E. Islet transplantation in diabetes mellitus / P.E. Lacy // *Diabetes.* — 1990. — Vol. 111, N 3. — P. 1—3.

32. LaFace D.M. Reciprocal allogeneic bone marrow transplantation between NOD mice and diabetes-nonsusceptible mice associated with transfer and prevention of autoimmune diabetes / D.M. LaFace, A.B. Peck // *Diabetes.* — 1989. — Vol. 38. — P. 894—901.

33. Largiader F. A long-term functioning human pancreatic islet allotransplant / F. Largiader, E. Kolb, U. Binswanger // *Transplantation.* — 1980. — Vol. 29. — P. 76—77.

34. Lefebvre P. Hypoglycemia / P. Lefebvre, Aj. Sheen // Ellenberg and Rifkin's diabetes mellitus; Eds. H. Rifkin, D. Porte // Theory and practice. — 4th ed. — New York: Elsevier, 1990. — P. 896–910.
35. Mariani S.M. Shaping the Fate of Stem Cells / S.M. Mariani // Highlights From the Annual Meeting of the American Society for Cell Biology; December 13–17, 2003; San Francisco, California. Medscape Molecular Medicine. — 2004. — Vol. 6 (1).
36. Marshall S.M. Diabetic ketoacidosis and hyperglycaemic non-ketotic coma / S.M. Marshall, M. Walker, K.G.M.M. Alberti // International textbook of diabetes mellitus; Eds. K.G.M.M. Alberti et al. — London: John Wiley, 1992. — Vol. 1. — P. 151–164.
37. Mass isolation of pure canine islets / G.L. Warnock, M.S. Catral, M.G. Evans, N.M. Kneteman et al. // Transplant. Proc. — 1989. — Vol. 21. — P. 3371–3372.
38. Mathews V. Recruitment of bone marrow-derived endothelial cells to sites of pancreatic beta-cell injury / V. Mathews // Diabetes. — 2004. — Vol. 53, N 1. — P. 91–98.
39. McCarty D. Diabetes 1994 to 2010 Global estimates and projection / D. McCarty, R. Zimmet. — Melbourne: International Diabetes Institute, 1994.
40. Pearse A.G. Islet cell precursors are neurons / A.G. Pearse // Nature. — 1982. — Vol. 295. — P. 96–97.
41. Ralzmomn K.P. Provdenz diabetesbedingter Erblindungen [Prevalence of diabetes-related blindness] / K.P. Ralzmomn, K. Gorr, H. Schneider // Diabetes und Stoffwechsel. — 1994. — N 3. — S. 261–264.
42. Ricordi C. A method for the mass isolation of islets from the adult pig pancreas / C. Ricordi, E.H. Finke, P.E. Lacy // Diabetes. — 1986. — Vol. 35. — P. 649–653.
43. Shablott M.J. Cell therapies for type 1 diabetes mellitus / M.J. Shablott, G.O. Clark // Expert. Opin. Biol. Ther. — 2004. — Vol. 4. — P. 269–277.
44. Sjolie A.K. Blindness and insulin-treated diabetic patients with age at onset < 30 years / A.K. Sjolie, A. Green // J. Chron. Dis. — 1987. — Vol. 40. — P. 215–220.
45. Steptoe R.J. Transfer of hematopoietic stem cells encoding autoantigen prevents autoimmune diabetes / R.J. Steptoe // J. Clin. Invest. — 2003. — Vol. 111, N 9. — P. 1357–1363.
46. Sutherland D.E.R. Clinical pancreas and islet transplantation / D.E.R. Sutherland, K.C. Moudry // Transplant. Proc. — 1987. — Vol. 19, N 1. — P. 113–120.
47. The optimization of large-scale density gradient isolation of human islets / G.S. Robertson, D.R. Chadwick, H. Contractor, R.F. James // Acta Diabetol. — 1993. — Vol. 30. — P. 93–98.
48. Treatment of an insulin-dependent diabetic by homograft of fetal pancreas removed before the 10th week of pregnancy: one year follow up / Ph. Chastan, J.J. Berjon, H. Gomez, J.M. Meunier // Transplant. Proc. — 1980. — Vol. 12, N 4, Suppl. 2. — P. 218–222.
49. Warnock G.L. Normoglycemia after implantation of purified islet cells in dogs / G.L. Warnock, M.S. Catral, R.V. Rajotte // Can. J. Surg. — 1988. — Vol. 31. — P. 421–426.
50. World Health Organization: World health report, 1997. — Geneva, 1997.
51. World Health Organization: Diabetes mellitus Report of a WHO Study Group (WHO Technical Report Series, № 727). — Geneva, 1985.
52. World Health Organization: Prevention of diabetes mellitus, Report of a WHO Study Group (WHO Technical Report Series, N 844). — Geneva, 1994.
53. Wu L. A «room-temperature» injection molding/particulate leaching approach for fabrication of biodegradable three-dimensional porous scaffolds / L. Wu, D. Jing, J. Ding // Biomaterials. — 2006. — Jan; Vol. 27 (2). — P. 185–191.