

ВПЛИВ ГЕРМАНІЮ У ЛІПОСОМАЛЬНІЙ ЕМУЛЬСІЇ НА ГУМОРАЛЬНУ ЛАНКУ ІМУННОЇ СИСТЕМИ ОРГАНІЗМУ ЩУРІВ

Я. С. Стравський¹, д-р вет. наук, с. н. с.,
Р. М. Сачук², д-р вет. наук, с. д.,
І. Б. Привроцька¹, канд. біол. наук, доцент,
Л. Я. Федонюк¹, д-р мед. наук, професор

¹Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського,
майдан Волі, 1, м. Тернопіль, 46002, Україна
stravskyy@tdmu.edu.ua

²Рівненський державний гуманітарний університет,
вул. Пластова, 29-а, м. Рівне, 33028, Україна

У статті розглянуто імуностимулюючу та імуномодельючу роль Германію на організм щурів.

Тваринам дослідної (2 групи) вводили підшкірно 0,1 %-й розчин Германію у ліпосомальній емульсії, у дозі 2,0 см³ чотири доби поспіль. Клінічні дослідження проведено за моделлю простого клінічного експерименту в паралельних групах тварин.

В результаті досліджень встановлено, що після застосування Германію у ліпосомальній емульсії в організмі щурів рівень імуноглобулінів класу А, М та G, відповідно, підвищився на 43,0 % ($p < 0,01$), 70,0 % ($p < 0,001$) і на 35,0 % ($p < 0,05$) проти щурів контрольної групи, що свідчить про підвищення захисної ролі антитіл, як фактора гуморального імунітету, активацію систему комплементу.

Після застосування Германію у ліпосомальній емульсії в організмі щурів вміст циркулюючих імунних комплексів підвищився на 20,0 % ($p < 0,05$), сілових кислот – на 40,0 % ($p < 0,01$) та знизилась концентрація молекул середньої маси на 23,0 % ($p < 0,05$), проти щурів контрольної групи, що є одним із компонентів імунної відповіді.

Ключові слова: ГЕРМАНІЙ, ЛІПОСОМАЛЬНА ЕМУЛЬСІЯ, ЩУРИ, ІМУНОГЛОБУЛІНИ, ЦИРКУЛЮЮЧІ ІМУННІ КОМПЛЕКСИ.

THE EFFECT OF GERMANIUM IN LIPOSOMAL EMULSION ON THE RATS HUMORAL IMMUNE SYSTEM

Ya. S. Stravsky¹, R. M. Sachuk², I. B. Pryvrotska¹, L. Ya. Fedonjuk¹,

¹I. Gorbachevsky Ternopil National Medical University,
1, maidan Voli, Ternopil, 46002, Ukraine
stravskyy@tdmu.edu.ua

²Rivne State University of the Humanities,
29-a, Plastova str., Rivne, 33028, Ukraine

The article deals with the immunostimulating and immunomodeling role of germanium on the body of rats.

The experimental animals (2 groups) were injected subcutaneously with a 0.1% solution of Germanium in liposomal emulsion at a dose of 2.0 cm³ for four consecutive days. Clinical studies were conducted according to the model of a simple clinical experiment in parallel groups of animals.

As a result of the study, it was found that after administration of Germanium in liposomal emulsion in rats, the level of immunoglobulins of class A, M and G, respectively, increased by 43.0% ($p < 0.01$), 70.0% ($p < 0.001$) and 35.0% ($p < 0.05$) compared to the control group, indicating an increase in the protective role of antibodies as a factor of humoral immunity, activation of the complement system.

After administration of germanium in liposomal emulsion in rats, the content of circulating immune complexes increased by 20.0% ($p < 0.05$), the content of sialic acids by 40.0% ($p < 0.01$) and the concentration of medium weight molecules decreased by 23.0% ($p < 0.05$) compared to the control group, which is one of the components of the immune response.

Keywords: GERMANIUM, LIPOSOMAL EMULSION, RATS, IMMUNOGLOBULINS, CIRCULATING IMMUNE COMPLEXES.

Дослідження останніх років були спрямовані на вивчення біологічних властивостей Германію (Ge), що присутній у різноманітних біологічних об'єктах (Fedoruk et al., 2022) та можливості його застосування для медичних цілей. Так, встановлено, що Ge нетоксичний, рівномірно розподілений в органах і тканинах організму та підвищує імунобіологічну реактивність організму (Li et al., 2017; Cho et al., 2020; Reddeman et al., 2020).

Відомо, що імунобіологічну активність організму визначають фактори стресу, у тому числі глікопротеїни та запальні цитокіни. Вони, у свою чергу, здатні запускати компенсаторні механізми активації імунної системи, на перебіг яких впливають різні сполуки, у тому числі з Ge. Залежно від хімічної будови, дози та шляхів уведення, мінеральні та органічні сполуки і комплекси Ge мають стимулювальний (Zhou et al., 2012; Zinko & Slivinska, 2021) або супресорний вплив на гуморальну ланку імунної системи (Lukianchuk, Seif et al., 2016).

Доведено, що Ge позитивно впливає на гемопоез, стимулює утворення червоних клітин крові, збільшує експресію клітинного стимулюючого фактора IL-3 та проліферацію багатофункціональних гематопоетичних стовбурових клітин і клітин-попередників (Reddeman et al., 2020). Германій активує мікроциркуляцію у тканинах, тому його використовують для лікування ран, виразок, опіків, обморожень. Протівірусна та протипухлинна онкостатична дія Германію пояснюється стимуляцією продукції інтерферону, зміною активності натуральних клітин кілерів, активуванням макрофагів і Т-клітин (Yablonska et al., 2005; Elango et al., 2022).

Останнім часом широкого використання у медицині та ветеринарній практиці набули наночастинки. Вони швидко проникають через мембрани та захоплюються різними типами клітин, що робить їх незамінними для доставки ліків (Horobets et al., 2018). Застосування ліпосомальних наночастинок, які містять всередині водний розчин карбоксилатів біогенних металів, забезпечує підвищення ефективності композиції, що в результаті призводить до можливості зниження концентрації діючих речовин за рахунок високої їх засвоюваності (Arshinova et al., 2012; Ghanbarzadeh et al., 2013; Khrabko et al., 2017; Horobets et al., 2018). Зважаючи на високу біологічну сумісність, ліпосоми є ідеальними переносниками лікарських засобів. Їх виготовляють з природних ліпідів, тому вони не токсичні і не викликають небажаних імунних реакцій (Lukianchuk et al., 2016). Доведено їх ефективність при багатьох захворюваннях, як-от лейшманіоз, сальмонельоз, черевний тиф, бруцельоз, малярія тощо. З'явилися роботи з використання ліпосомальних протівірусних препаратів, що застосовуються для лікування герпесу, вірусного гепатиту, лихоманки долини Рифт, ВІЛ-інфекцій в експериментах на тваринах (Narokha et al., 2022).

Мета роботи – вивчити вплив Германію у ліпосомальній емульсії, на стан гуморальної ланки імунної системи організму щурів.

Матеріали і методи. Ліпосоми отримували на ультразвуковому диспергаторі УЗДН-А за робочої частоти 22 кГц. У вихідну ліпідну суміш вводили холестерол (до 40 %), що надає мембранам підвищеної міцності. Внутрішній водний об'єму ліпосом сформований із 0,1 %-го розчину Германію.

Дослідження проведені в центральній науково-дослідній лабораторії Тернопільського національного медичного університету імені І. Я. Горбачевського (свідоцтво про технічну компетентність № 001/18, видане 26.09.2018 р., чинне до 25.09.2023 р.).

Перший дослід провели на двох групах статевозрілих нелінійних білих щурах-аналогах (маса тіла 120-130 г, вік 2,3-3,0 міс.), по 5 тварин у групі, та однаковими умовами утримання. Тварини контрольної (І групи) отримували стандартний раціон зі згодовуванням гранульованого комбікорму впродовж всього періоду дослідження з вільним доступом до води. Тваринам дослідної (2 групи) вводили підшкірно 0,1 %-й розчин Германію у ліпосомальній емульсії, у дозі 2,0 см³ чотири доби поспіль. Клінічні дослідження проведено за моделлю простого клінічного експерименту в паралельних групах тварин.

На 14-ту доби від початку дослідження тварин декапітували під тіопенталовим наркозом. Для проведення досліджень використовували цільну кров та сироватку крові.

Імунореактивність організму вивчали за вмістом сироваткових імуноглобулінів А, М, G методом твердофазового імуноферментного аналізу за допомогою набору реагентів "eBioscience, Inc" із використанням аналізатора "StatFax" (Vlizlo et al., 2012).

Циркуючі імунні комплекси (ЦІК) визначали в 4,0 %-му розчині поліетиленгліколю (Maslianko et al., 2001).

Ступінь інтоксикації організму оцінювали за вмістом молекул середньої маси (MCM238, MCM254, MCM260, MCM280) (Maslianko et al., 2001). Вміст сіалових кислот – за Гессом (Vlizlo et al., 2012). Вміст церулоплазміну (ЦП) у сироватці крові визначали на основі реєстрації оптичної щільності забарвлених продуктів, які утворилися при ферментативному окисненні церулоплазмом солянокислого парафенілендіаміну (Levchenko et al., 2002).

Всі дослідження з використанням тварин, проведені відповідно до вимог Закону України „Про захист тварин від жорстокого поводження” та європейської комісії щодо ставлення до хребетних тварин та захисту їх від спраги, голоду, недоїдання, дискомфорту, страху, болю, хвороб.

Результати досліджень обробляли статистично (Maslianko et al., 2001) з використанням програми Microsoft Excel 2003. Оцінку вірогідності здійснювали за критерієм Стьюдента, а результати середніх значень вважали статистично вірогідними при $p \leq 0,05$; $p \leq 0,01$ та $p \leq 0,001$.

Результати й обговорення. Ефективність дії препаратів на організм підвищується за умови зниження дози, якщо діюча речовина введена в ліпосомальну емульсію (Arshinova et al., 2012; Ghanbarzadeh et al., 2013; Khrabko et al., 2017; Horobets et al., 2018; Narokha et al., 2022).

З даних, наведених у таблиці 1, видно, що після застосування Германію у ліпосомальній емульсії в організмі щурів рівень імуноглобулінів класу А підвищився на 45,0 % ($p < 0,01$), проти щурів контрольної групи.

Таблиця 1

Вміст імуноглобулінів А, М, G та ЦІК в сироватці крові щурів після застосування Германію в ліпосомальній емульсії ($M \pm m$, $n = 5$)

Групи	Показники крові			
	імуноглобуліни, А г/л	імуноглобуліни, М г/л	імуноглобуліни, G г/л	ЦІК, ум. од
Контроль	0,37 ± 0,03	0,87 ± 0,05	2,26 ± ,13	32,50 ± 1,58
Дослід	0,53 ± 0,06**	1,48 ± 0,10***	3,05 ± 0,18*	38,43 ± 1,61*

Примітка: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$, *** – $p < 0,001$, порівняно з контрольною групою

Застосування щурам ліпосомальної емульсії із Германієм сприяло підвищенню 43,0 % ($p < 0,01$), синтезу сироваткового мономерного IgA плазмочитами кісткового мозку, лімфатичними вузлами і селезінкою та димерного сироваткового IgA – плазмочитами секреторних залоз. Отже препарат Германію в ліпосомальній емульсії забезпечив формування в організмі щурів протиінфекційного імунітету та запобіг розвитку аутоімунних хвороб і призвів до посилення неспецифічних гуморальних антибактеріальних факторів захисту.

Після застосування Германію у ліпосомальній емульсії в організмі щурів рівень імуноглобулінів класу М підвищився на 70,0 % ($p < 0,001$), проти щурів контрольної групи. Таке підвищення рівня імуноглобулінів класу М свідчить про здатність Германію активізувати полімеризацію IgM у плазматичних клітинах до підвищення їх секреції під впливом полімеризуючого ферменту сульфгідрилоксидази. Отже застосування ліпосомальної емульсії з Германієм забезпечувало більш виражені аглютинуючі та літичні властивості імуноглобулінів класу М, що сприяло реалізації імунної відповіді та запобігло розвитку вторинного IgM-дефіциту.

Після застосування Германію у ліпосомальній емульсії в організмі щурів рівень імуноглобулінів класу G підвищився на 35,0 % ($p < 0,05$), проти щурів контрольної групи.

Отже Германій в ліпосомальній емульсії забезпечував активацію гуморальної імунологічної реактивності шляхом утворення молекул IgG, що різко збільшувало їх продукцію протягом короткого періоду часу, та створювало підґрунтя для збереження IgG протягом тривалого часу і забезпечувало вищий їх рівень. Оскільки IgG є основним класом антитіл близько 70 % усіх імуноглобулінів, то підвищення їх рівня в організмі щурів запобігало розвитку анафілактичним реакціям, у відповідь на введення ліпосомальної емульсії.

Ліпосомальна емульсія із Германієм підвищує захисну роль антитіл, як факторів гуморального імунітету, їх антигензв'язуючу активність, активує систему комплементу взаємодіяти з різними клітинами, підсилює фагоцитоз. Разом із тим підвищує ефекторні функції антитіл після їхнього з'єднання з антигеном, що сприяє видалення чужорідного агента з організму. Беручи до уваги те, що рівень антитіл служить мірою напруженості імунітету то отримані нами дані підтверджують дослідження (Zinko & Slivinska, 2021) щодо імуногенного впливу Германію на імунну систему організму.

Після застосування Германію у ліпосомальній емульсії в організмі щурів вміст ЦІК підвищився на 20,0 % ($p < 0,05$), проти щурів контрольної групи, що є один з компонентів нормальної імунної відповіді та, на наш погляд, цілком очікуваним результатом. Необхідно зазначити, що при нормальному фізіологічному стані організму такі комплекси зазвичай швидко видаляються фагоцитарною системою. Тому збільшення ЦІК на 20,0 % не є критичним для функціонування організму, адже у подальшому така їх кількість в кровотоці фагоцитується і руйнується фагоцитами та печінкою.

Отже, Германій в ліпосомальній емульсії не підвищує проникність судин і не призводить до відкладання ЦІК в кірковому шарі нирок з розвитком запалення.

Необхідно зазначити, що визначення вмісту ЦІК в сироватці крові щурів дає можливість контролювати імунологічні показники організму за використання імуномодулюючих засобів при проведенні терапевтичних заходів.

Отримані нами дані щодо динаміки імуноглобулінів класу А, М, G та ЦІК в організмі щурів після застосування ліпосомальної емульсії з Германієм розширюють та доповнюють дані Кузнецова Л. В. (Kuznetsova et al., 2013) щодо їх функції в організмі.

Основну частину середніх молекул складають пептиди, глікопептиди, продукти деградації фібриногену, альбуміну, тромбіну, фрагменти колагену, інші речовини білкової природи, а також похідні ліпідів, фосфоліпідів та інших. З даних, наведених у таблиці 2 видно, що застосування щурам Германію в ліпосомальній емульсії сприяло зниженню концентрації молекул середньої маси на 23,0 % ($p < 0,05$), порівняно із щурами контрольної групи. Зниження концентрації МСМ свідчить про відсутність накопичення у біологічних рідинах організму щурів дослідної групи продуктів метаболізму, більшість з яких входить до МСМ, зниження інтоксикації їх організму, що є маркером відсутності можливих ускладнень після застосування Германію в ліпосомальній емульсії. Отримані нами дані розширюють результати досліджень інших авторів (Cherkasova, 2017) про роль МСМ.

Вміст МСМ, сіалових кислот та церулоплазміну в крові щурів після застосування Германію в ліпосомальній емульсії (M±m, n = 5)

Групи	Показники крові		
	МСМ, ум.од.	Сіалові кислоти, ум.од.	Церулоплазмін, ум. од.
Контроль	0,32±0,04	133,61±2,22	421,63±12,01
Дослід	0,26±0,01**	189,40±3,56**	398,10±14,86

Примітка: * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$, *** — $p < 0,001$ порівняно з контрольною групою

Застосування Германію в ліпосомальній емульсії щурам забезпечувало збільшення на 40,0 % ($p < 0,01$) вмісту сіалових кислот, проти щурів контрольної групи. Отже підвищення вмісту сіалових кислот забезпечує здатність імунної системи організму щурів розрізняти власні або інвазивні структури на основі розпізнавання моделей сіалової кислоти, яка знаходиться у мембранах клітин. Перебуваючи у складі вуглеводної частини глікопротеїнів, сіалові кислоти маскують залишки цукру, що є антигенними детермінантами і таким чином, відіграють важливу роль в імунних реакціях, знижуючи імуногенні властивості нормальних і пухлинних клітин. Отримані нами дані свідчать, що Германій в ліпосомальній емульсії призводить до активації гуморальної ланки імунної системи та підвищення захисних властивостей слизових оболонок дихального, кишкового та статевих трактів.

Церулоплазмін відіграє істотну роль у метаболізмі не тільки Купруму, але й Феруму, транспортує Купрум до ферментів крові, які містять Купрум, має велике значення для регулювання окисно-відновного потенціалу, транспорту та утилізації Феруму. Необхідно відмітити, що динаміка церулоплазміну в організмі щурів після застосування Германію у ліпосомальній емульсії невірогідно знизилась, що свідчить про початок пригнічення утворення активних форм кисню за участю іона двовалентного Феруму й активності мієлопероксидази (МПО) та активації роботи антиоксидантної системи організму щурів.

В И С Н О В К И

1. Після застосування Германію у ліпосомальній емульсії в організмі щурів рівень імунноглобулінів класу А, М та G, відповідно, підвищився на 43,0 % ($p < 0,01$), 70,0 % ($p < 0,001$) і на 35,0 % ($p < 0,05$) проти щурів контрольної групи, що свідчить про підвищення захисної ролі антитіл, як фактора гуморального імунітету, активацію систему комплементу.

2. Після застосування Германію у ліпосомальній емульсії в організмі щурів вміст ЦІК підвищився на 20,0 % ($p < 0,05$), вмісту сіалових кислот на 40,0% ($p < 0,01$) та знизилась концентрація молекул середньої маси на 23,0 % ($p < 0,05$), проти щурів контрольної групи, що є одним із компонентів імунної відповіді.

Перспективи досліджень полягають у вивченні дії Германію на стан про- та антиоксидантної системи організму щурів.

References

Arshinova, O.Yu., Sanarova, A.V., Lantsova, N.V. (2012). Lyophilization of liposomal drug forms (Review). *Pharmaceutical Chemistry Journal*. 46, 4. 228–233.

Cherkasova, V.V. (2017). Rol molekul serednoi masy pry eksperymentalnomu L-arhinin indukovanomu pankreatyti ta pry korektsii deksametazonom. [The role of medium-mass molecules in experimental L-arginine-induced pancreatitis and correction with dexamethasone]. *Aktualni problemy transportnoi medytsyny*. 2 (48). 1-6. [in Ukrainian].

- Ch, J.M., Chae, J., Jeong, S.R. et al. (2020). Immune activation of Bio-Germanium in a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial with 130 human subjects: Therapeutic opportunities from new insights. *PLoS ONE*. 15,10. e0240358. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0240358>
- Elango, J., Bushin, R., Lijnev, A. et al. (2022). The Effect of Germanium-Loaded Hydroxyapatite Biomaterials on Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Growth. *Cells*. 11, 19. 2993. <https://doi.org/10.3390/cells11192993>
- Fedoruk, R.S., Kovalchuk, I.I., Mezentseva, L.M. & ta in. (2022). Spoluky Hermaniiu ta yikhnia rol v orhanizmi tvaryn. [Germanium compounds and their role in the animal body]. *Biolojiia tvaryn*. 24(1). 50–60.[in Ukrainian].
- Horobets, S.V., Horobets, O.Iu., Horbyk, P.P., & Uvarova I.V. (2018). Funktsionalni bio- ta nanomaterialy medychnoho pryznachennia: monohrafiia. [Functional bio- and nanomaterials for medical use]. *Monograph*. Kyiv: Vydavnychi dim «Kondor». 480 [in Ukrainian].
- Ghanbarzade S., Valizade H., Zakeri-Milan P. (2013). The effects of lyophilization on the physico-chemical stability of sirolimus liposomes. *Advanced pharmaceutical bulletin*. 3. 1. 25–29.
- Khrabko, M.I., Fedoruk. R.S., & Khrabko, M.I. ta in. (2017). Vmist mikroelementiv u tkanyakh samyts shchuriv F0 ta samtsiv F1 za vypoivuvannia nano i khimichno syntezovanoho hermaniiu tsytratu.[The content of trace elements in the tissues of F0 female and F1 male rats after drinking nano and chemically synthesized germanium citrate]. *Biolojiia tvaryn*. 19(1). 125–134 [in Ukrainian].
- Kuznetsova, L.V., Babadzhan, V.D., & Kharchenko, N.V. ta in. (2013). Imunolojiia : pidruchnyk. Vinnytsia: TOV «Merkiuri Podillia». 565 [in Ukrainian].
- Levchenko, V.I., Vlizlo, V.V., & Kondrakhin, I.P. (2002). Veterynarna klinichna biokhimiia. [Veterinary clinical biochemistry]. Bila Tserkva, 399 [in Ukrainian].
- Li, L., Ruan, T., Lyu, Y. and Wu, B. (2017). Advances in Effect of Germanium or Germanium Compounds on Animals—A Review. *Journal of Biosciences and Medicines*. 5. 56–73. doi: [10.4236/jbm.2017.57006](https://doi.org/10.4236/jbm.2017.57006).
- Lukianchuk, V.D., Seifullina, I.Y., Litvynenko D.F., Martsynko, O.E. (2016). Farmakolohichni vlastyvoli orhanichnykh i koordynatsiinykh spoluk hermaniiu suchasni uiavlennia. [Pharmacological properties of organic and coordination compounds of germanium modern concepts]. *Farmakolojiia ta likarska toksykolojiia*. 1 (47). 3– 13. [in Ukrainian].
- Maslianko, R.P., Oleksiuk, I.I., & Padovskiy, A.I. (2001). Metodychni rekomendatsii dlia otsinky ta kontroliu immunohoho statusu tvaryn: vyznachennia faktoriv nespetsyfichnoi rezystentnosti, klitynykh i humoralnykh mekhanizmiv imunitetu proty infektsiinykh zakhvoriuvan. [Methodological recommendations for assessing and controlling the immune status of animals: determination of factors of non-specific resistance, cellular and humoral mechanisms of immunity against infectious diseases]. Lviv: LDAVM im. S.Z. Hzhyskoho,. 86 [in Ukrainian].
- Narokha, V., Nizhenkovska, I., Kuznetsova, O. (2022). Potential of germanium-based compounds in coronavirus infection. *Acta Pharmaceutica*. 72, 2. 245-258. <https://doi.org/10.2478/acph-2022-0016>
- Reddeman, R., Glavits, R., Endres, J.R. et al. (2020). A Toxicological Evaluation of Germanium Sesquioxide (Organic Germanium) *J. of Toxicology*. 4. 275625. 17 <https://doi.org/10.1155/2020/6275625>
- Yablonska, O.V., Skybitskiy, V.H., & Liubetskiy, V.I. (2005). Rekomendatsii shchodo zastosuvannia biolohichno-aktyvnykh spoluk kremniiu, hermaniiu ta saponitu z metoiu pidvyshchennia zhyttiezdatnosti novonarodzhenykh teliat. [Recommendations for the use of biologically active compounds of silicon, germanium and saponite in order to increase the viability of newborn calves]. K.: NAU. 22 [in Ukrainian].

Vlizlo, V.V., Fedoruk, R.S., & Ratych, I.B. ta in. (2012). Laboratorni metody doslidzhen u biolohii, tvarynnytstvi ta veterynarii medytsyni. [Laboratory research methods in biology, animal husbandry and veterinary medicine]. Lviv: SPOLOM. 764 [in Ukrainian].

Zinko, H.O. & Slivinska, L.H. (2021). Biolohichna rol hermaniiu v orhanizmi liudei ta tvaryn. Lvivskiy natsionalnyi universytet veterynarnoi medytsyny ta biotekhnolohii imeni S.Z. Gzhytskoho II konferentsiia suchasni metody diahnostryky, likuvannia ta profilaktyka u veterynarii medytsyni prysviachena 140-richchiu vidkryttia navchalnoho zakladu "Tsisarsko-korolivska veterynarna shkola ta shkola pidkovuvannia konei razom iz klinikoiu-statsionarom dlia tvaryn u Lvovi" (Lviv, 18–19 lystopada) Tezy dopovidei Lviv SPOLOM, 58-59. [in Ukrainian].

Zhou, Q., Liu, L., Zhang, D. (2012). Preparation and characterization of gemcitabine liposome injections. *Pharmazie*. 67. 844 – 847.