

Vücuttaki İlaç Dağılımı ve Eliminasyonu Üzerine Eritrositlerin Etkisi

Selma ŞAHİN[°], Emel Öykü ÇETİN^{**}

Vücuttaki İlaç Dağılımı ve Eliminasyonu Üzerine Eritrositlerin Etkisi

Özet : Pek çok ilaç için plazma ve eritrositler arasındaki dengenin çok hızlı bir şekilde sağlandığı varsayıldığından eritrositlerin vücuttaki ilaç dağılımı ve eliminasyonunu (dispozisyon) etkilemesi beklenmez. Ancak, eritrositlere yavaş penetre olan ve/veya eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaçlar, eliminasyon organlarının kapillerinden ayrılamayacakları için bu ilaçların vücuttaki dağılımı ve eliminasyonu eritrositler tarafından etkilenecektir. Bu derlemede eritrositlerin genel özellikleri, kan-plazma konsantrasyon oranı, vücuttaki ilaç disposisyonuna etkileri ve ilaç metabolizasyonundaki rolü tartışılmış, uygulama alanları kısaca incelenmiştir.

Anahtar kelimeler : Eritrositler, Disposisyon, Metabolizma, Farmakokinetik

Received : 23.7.2001
Revised : 12.3.2002
Accepted : 2.4.2002

Effect of Erythrocytes on Drug Distribution and Elimination within the Body

Summary : As the equilibration of many drugs between plasma and erythrocytes has been assumed to occur very fast, erythrocytes are not expected to influence the drug distribution and elimination (disposition) within the body. However, disposition of drugs that penetrate slowly to erythrocytes and/or bound to erythrocytes components will be influenced by the erythrocytes, as they cannot leave the capillaries of eliminatory organs. In this review, general characteristics of erythrocytes, blood to plasma concentration ratio, their effects on the drug disposition within the body and their role in drug metabolism were discussed, and their usage was investigated briefly.

Key Words: Erythrocytes, Disposition, Metabolism, Pharmacokinetics

GİRİŞ

Vücuttaki (veya organdaki) ilaç disposisyonu üzerine kan akış hızı, kan ve/veya doku bileşenlerine bağlanma, enzimatik aktivite ve membran permeabilitesi gibi pek çok faktör etki etmektedir¹. Pek çok ilaç eritrositlerle kısa sürede dengeye ulaştığı için vücuttaki ilaç disposisyonu üzerine eritrositlerin etkisinin fazla olmadığı kabul edilir. Eritrositlere hızla penetre olan ilaçlar için bu varsayım doğru olmasına rağmen penetrasyonu yavaş olan ve/veya hemoglobinin, hücre membranı, karbonik anhidraz gibi eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaçlar için geçerli değildir. Sadece plazmadaki serbest ilacın vücutta da-

ğıldığı ve elimine edildiği düşünülürse, eritrositlerde tutulan ilaçlar eliminasyon organlarının kapillerinden ayrılamayacakları için hemen elimine edilemeyecek, dolayısıyla farmakokinetik parametreleri de serbest ilaca göre farklılık gösterecektir. Diğer taraftan eritrositlerin metabolik olarak aktif olması eritrositlerde bulunan ilacın metabolize olmasına neden olabilecektir. Eritrositler doğal olmaları, biyolojik olarak geçimli olmaları nedeniyle ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca, sadece vasküler boşlukta dağılmaları bu sistemin görüntülenmesi ve hacminin tayin edilmesi amacıyla da kullanılmalarına yol açmıştır.

* Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 06100 Sıhhiye, ANKARA.

** Ege Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, 35100 İZMİR.

[°] Yazışma Adresi

Eritrositlerin Genel Özellikleri

Kan, şekilli elemanların (eritrosit, beyaz kan hücresi, trombosit) plazmadaki bir süspansiyonudur. Bu şekilli elemanlardan eritrositler hem sayı (erkeklerde 5.5-6 milyon/mm³, kadınlarda 4.5-5 milyon/mm³) hem de hacim (total kan hacminin % 40-50' si) açısından en büyük grubu oluşturur. Eritrosit sayısının normalden az olması anemi, normalden fazla olması ise polistemi olarak adlandırılır²⁻⁴. Eritrosit hacminin total kan hacmine oranı hematokrit olarak ifade edilir. Bu değer in sistemik dolaşım ve dokular arasında farklılık gösterdiği, sistemik hematokritin doku hematokrit değerinden daha yüksek olduğu belirtilmiştir^{5,6}.

Eritrositler 7-9 µm çapında, 2 µm kalınlığında, 83 µm³ hacminde ve 163 µm² yüzey alanına sahip bikonkav disklerdir⁷. Kemik iliğinde üretilirler. Sadece oluşum safhasında çekirdekleri vardır ve şekilleri düzensizdir, olgunlaştıklarında hücre içi organelleri kaybettiklerinden dolayı protein sentez edemezler. Eritrositler yaşlandıkça şekillerini kaybederler ve elektrolit içerikleri azalır, yoğunlukları ve hemoglobin konsantrasyonları artar. Yaşam sürelerinin sonunda (100- 120 gün) retiküloendotelial sistem tarafından sistemik dolaşımdan uzaklaştırılırlar⁸⁻¹³. Bu süre boyunca eritrositlerin kardiyovasküler sistemde 250 km yol katedebildikleri belirtilmiştir¹⁴.

Eritrositler, hücre membranı ve sitoplazma olmak üzere başlıca iki kısımdan oluşur. Hücre membranı 7-10 nm kalınlığında olup 0.4 nm çapında porlar içeren elastik bir katı gibi davranır. Temel bileşenleri fosfolipidler, kolesterol ve proteinlerdir. Çift tabaka şeklinde düzenlenmiş olan membran lipidleri permeabilite için bir engel oluşturduğu gibi lipidlerin kimyasal yapısındaki değişiklikler de eritrositlerin permeabilite özelliklerini değiştirebilmektedir. Membran proteinleri ise reseptörler, taşıyıcılar ve enzimleri kapsamaktadır. Bu proteinlerin elektroforezle ayrılması sonucu çeşitli bantlar gözlenmiştir. Bu bantlardan 3 nolu bantın bir anyon kanalı olduğu ve her bir eritrosit membranının yaklaşık 1.2x10⁶ band 3 molekülü içerdiği belirtilmiştir^{8,10,11,15,16}.

Eritrositlerin sitoplazması Newtonian akış gösteren

bir sıvı olup pH'sı (pH 7.1-7.3) plazma pH'sından (pH 7.4) düşüktür. Enzimleri, ilaç bağlayan proteinleri ve hücreye kırmızı rengini veren hemoglobini içermektedir^{8,11,14,17}. Yetişkin bir insandaki total proteinlerin %10'una karşılık gelen miktardaki hemoglobin (760 g) eritrositlerde yer almaktadır¹⁴. Hemoglobinin O₂, CO₂ ve NO gibi küçük moleküllerle etkileştiği ve kan basıncının kontrolünde de bir rolü olabileceği belirtilmiştir¹⁸. Ayrıca, karbondioksitin geri dönüşümlü olarak hidrolizini katalize eden karbonik anhidraz enziminin %90'ı eritrositlerde yer almaktadır^{14,19}.

Eritrositler, hücre zarının elastik yapısı nedeniyle yüksek kayma gerilimi altında elastik deformasyona uğrarlar. Deformasyon derecesi membran elastisitesi, sitozolik viskozite, yüzey alanı ve hücre hacmi gibi faktörlere bağlıdır⁸. Ayrıca kolesterol ve fosfolipid oranının da deformasyonda önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir²⁰. Ancak, deformasyon esnasında eritrosit hacmi, yüzey alanı ve kalınlığında herhangi bir değişiklik olmaz⁸. Eritrositlerin deforme olabilmesi önemli bir reolojik kavram olup bu özellikleri nedeniyle kendi çaplarından çok daha küçük kapillerden kolayca geçerler. Ancak geçebilecekleri en küçük damar çapının 2.8 µm olduğu belirtilmiştir^{21,22}.

Eritrositler hipotonik bir çözeltiye konduğunda hücre zarının yırtılarak hemoglobin kaybetmesi olayına hemoliz, elde edilen diskoid yapılar ise "ghost" adı verilir. Genellikle bu yapıların intrasellüler yapıdan yoksun olduğu ve esas olarak membrandan oluştuğu varsayılmaktadır. Diğer taraftan hipertonic çözeltiye konulan eritrositler su kaybederek büzülürler. Bu olay geri dönüşümlü olmasına rağmen hemoliz olayı geri dönüşümsüzdür^{2,23,24}.

Kan-Plazma Konsantrasyon Oranı

Pek çok farmakokinetik çalışmada plazma klerensi tayin edilmektedir. Ancak klerens değeri ekstraksiyon oranının tayininde kullanılacağı zaman, ekstraksiyon oranı ve organın kan akışı ile doğrudan ilişkili olan kan klerensinin kullanılması gerekmektedir. Bu durumda plazma klerensinin kan klerensine dönüştürülmesi gerekir ki bu da kan-

plazma konsantrasyon oranının deneysel olarak tayin edilmesiyle sağlanır. Hematokrit değerinin (H), plazma proteinlerine bağlanmanın (f_u) ve kan hücrelerine ilginin (σ) bir fonksiyonu olan bu oran, denge durumunda aşağıdaki eşitlik ile verilmiştir¹.

$$\frac{C_b}{C} = 1 + H [f_u \sigma - 1] \quad (1)$$

Eritrositlere ilgisi çok fazla olan ilaçlar için bu oran çok yüksek bir değer olup plazma proteinlerine olan afinite arttıkça 1-H değerine yaklaşmaktadır. Örneğin, plazmayla eritrositler arasında kolayca dengeye ulaşan üre için bu değer 1 iken²⁵, eritrositlere ilgisi fazla olan asetazolamid için 2.9²⁶, klorokin için 3.5²⁷, hidrosiklorokin için 7.2²⁸, klortalidon için 30.7²⁹ ve metazolamid için ise 241³⁰ olarak tayin edilmiştir. Ancak bu oran ilacın plazma proteinlerine ya da diğer kan bileşenlerine (akyuvar, lipoprotein, platelet gibi) afinitesinin yüksek olmasına^{31,32}, bağlanmada doygunluğun söz konusu olduğu durumlarda ortamdaki ilaç konsantrasyonuna^{26,33,34} ve ortamda diğer ilaçların bulunmasına³⁵ bağlı olarak değişebilmektedir.

Eritrosit Membranından Penetrasyon

Plazma ve eritrosit içeriği arasında büyük farklar olmasına rağmen (ör. hücre içindeki protein konsantrasyonu plazmadan daha yüksektir), eritrositler yaşam süreleri boyunca hem hacim hem de iyonik içerik açısından kararlı bir durumda kalırlar. Bu durum, hücre membranının permeabilite özelliğine ve elektrokimyasal potansiyel gradyanına karşı iyon taşıyıcı mekanizmaların varlığına bağlıdır³⁶. Eritrosit membranından penetrasyon maddenin yapısına bağlı olarak gerçekleşir. Su ve üre gibi bazı maddeler için plazma ve eritrositler arasındaki denge çok kısa sürede sağlanırken bazı maddeler için bu süre çok daha uzundur (Tablo 1). Yapılan araştırmalarda küçük organik anyon, katyon ve nonelektrolit moleküllerin eritrosit membranından penetrasyonunda yağda çözünürlük, molekül büyüklüğü ve maddenin kimyasal yapısının önemli olduğu belirtilmiştir^{36,38,44}. Yağda çözünürlük arttıkça eritrosit membranından permeabilitenin arttığı ancak mo-

Tablo 1. Maddelerin eritrositlere penetrasyon süreleri

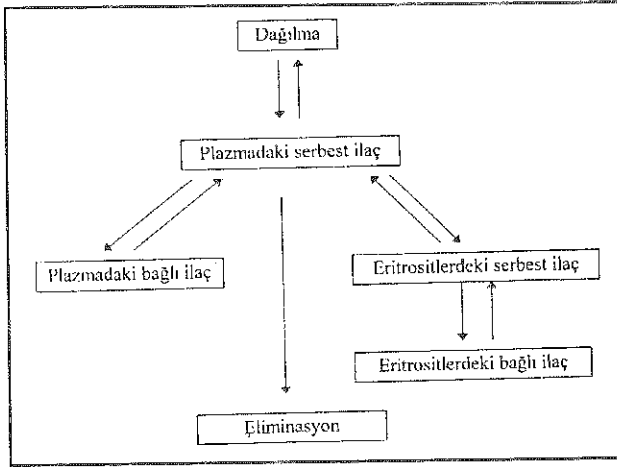
Madde	Penetrasyon	
	Süresi	Kaynak
Su	4.2 msn.	37
Üre	0.3 sn.	38
Propranolol	20 sn.	39
Tiyüre	2 dak.	40
Doksorubisin	1-2.5 dak.	41
Valproat	3 dak.	42
Hidrokortizon		
Pentazosin	5 dak.	42
Fentonil		
Busulfan		
Trisiklik antidepresanlar		
Klortalidon	15 dak.	43
Asetaminofen	40 dak.	26

lekül büyüklüğü arttıkça permeabilitenin azaldığı bulunmuştur. Ayrıca molekülün hidrojen bağı oluşturma kapasitesi arttıkça eritrosit membranından penetrasyonu azalır³⁸. Lipofilik yapıdaki organik maddeler membranın lipid tabakalarında çözünerek eritrosit içine girerken küçük hidrofilik maddeler (<150 d) porlar aracılığı ile hücre içine girmektedir. Organik yapıdaki anyonik ve katyonik ilaçlar ve nonelektrolitlerin pasif difüzyon yoluyla eritrositlere girdiği belirtilmiştir^{44,45}. Bazı ilaçların eritrositlere penetrasyonunda ise pasif difüzyon ve aktif transport gibi iki taşıma işleminin paralel olarak gerçekleştiği tayin edilmiştir^{26,46}.

Vücuttaki İlaç Dispozisyonu Üzerine Eritrositlerin Etkisi

Pek çok ilaç kandaki plazma proteinleri ile etkileşerek ilaç-protein kompleksi oluşturmakta ve/veya eritrosit gibi kan hücrelerine penetre olmaktadır. Bağlı yada penetre olmuş ilaçlar kapiller yataktan ayrılamadıkları için sadece plazmada serbest halde bulunan ilacın vücutta dağıldığı ve eliminasyona uğradığı kabul edilmektedir (Şekil 1).

Yapılan hayvan deneylerinde eritrositlerin karaciğer kapillerlerinden ortalama geçiş zamanının 10 sn civarında olduğu bulunmuştur^{47,48}. Böbrek korteksi ve medullası için bu değerler sırasıyla 2.5 sn ve 28 sn



Şekil 1. Kan kompartmanlarındaki ilaç dağılımı

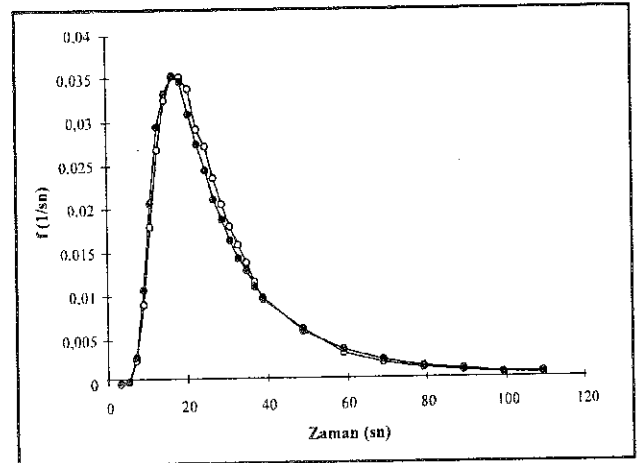
olarak tayin edilmiştir⁴⁹. Serbest haldeki ilaç bu süre zarfında kapiller yataktan ayrılarak elimine edilebildiği halde, eritrositlere penetre olmuş bir ilacın dispoziyonu o ilacın eritrositlerden serbestleşme hızının kanın eliminasyon organlarından ortalama geçiş zamanından daha hızlı ya da yavaş olmasına bağlı olarak değişecektir. Eğer bir maddenin eritrositlerden plazmaya olan partisiyonu eritrositlerin eliminasyon organlarından ortalama geçiş süresinden daha kısa ise (su için 4.2 msn, Tablo 1), ilaç plazma ve eritrositler arasında serbestçe hareket edeceğinden o ilacın dispoziyonu üzerine eritrositlerin bir etkisi olmayacaktır. Ancak bu süre eritrositlerin kapillerlerden ortalama geçiş zamanından çok daha uzun ise (tiyoüre için 2 dak, Tablo 1), eliminasyon organlarından geçiş esnasında eritrositlerde bulunan ilacın plazmaya geçebilmesi için gerekli süre yetersiz olacağı için, eritrositlerde bulunan ilaç eritrositlerle birlikte taşınacak ve bu fraksiyon eliminasyondan kurtulacaktır. Benzer şekilde, eritrosit bileşenlerine (eritrosit membranı, hemoglobin, karbonik anhidraz, proteinler) bağlanmış olan moleküller de eliminasyon organlarındaki kapillerlerden ayrılamayacakları için hemen elimine edilmeyecekler ve dolaşımında daha uzun süre kalacaktır^{14,39,41}. Eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaç örnekleri Tablo 2'de verilmiştir. İlaçların eritrositler tarafından bu şekilde taşınması Goresky ve ark.⁶² tarafından "Red Cell Carriage" olarak adlandırılmış ve bugüne kadar pek çok araştırmaya konu olmuştur.

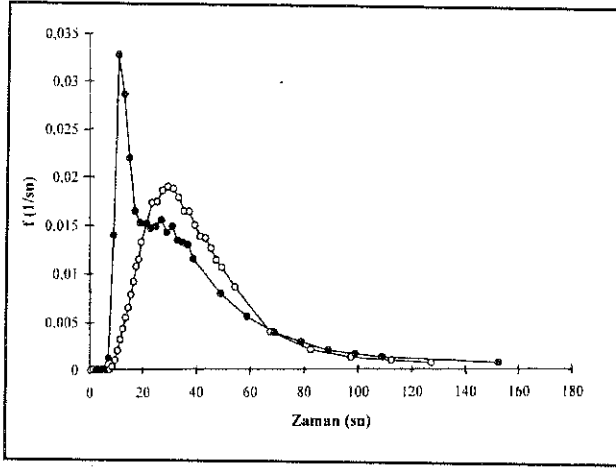
Eritrositlerin karaciğerdeki ilaç dağılımı üzerine etkisini inceleyen bir çalışmada, fizikokimyasal açıdan

Tablo 2. Eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaçlar ve bağlanma bölgeleri

Bağlanma bölgesi	İlaç	Kaynak
Hücre membranı	Klorpromazin	50, 51
	Kodein	14
	İmipramin	31
Karbonik anhidraz	Klortalidon	35, 52
	Asetazolamid	53, 54
	Dorzolamid	55
	Sülfonamidler	56
Hemoglobin	Barbitüratlar	57, 58
	Digoksin ve türevleri	14
	İmipramin ve türevleri	14
	Nitrofurantoin	14
	Fenotiyazinler	59
	Fenitoin	60
	Salisilik asit	58, 61

oldukça benzer olan ancak plazmayla eritrositler arasındaki dağılım dengesine ulaşma süreleri farklı olan üre (0.3 sn³⁸) ve tiyoüre (2 dk⁴⁰) kullanılmıştır. Ürenin karaciğerdeki dağılımı üzerine eritrositlerin hiçbir etkisi olmazken, tiyoürenin karaciğerdeki dağılımı iki pikli bir grafikte tanımlanmıştır; birinci pik eritrositlerde hapsedilmiş olan maddenin sadece vasküler boşlukta dağılmasına bağlı olarak ikinci pik ise serbest haldeki tiyoürenin hepatositler içerisine de dağılmasına bağlı olarak gerçekleşmiştir^{25,62,63} (Şekil 2, Şekil 3). Hematokrit değeri arttıkça eritrositler tarafından taşınan tiyoüre fraksiyonunun arttığı gözlenmiştir^{25,63}. Benzer şekilde hidroklotiyazidin eritrositlerden plazmaya olan partisiyon süresi, kanın böbreklerden olan geçiş za-

Şekil 2. Karaciğerdeki üre dağılımı üzerine eritrositli (•) ve eritrositsiz (O) ortamın etkisi²⁵

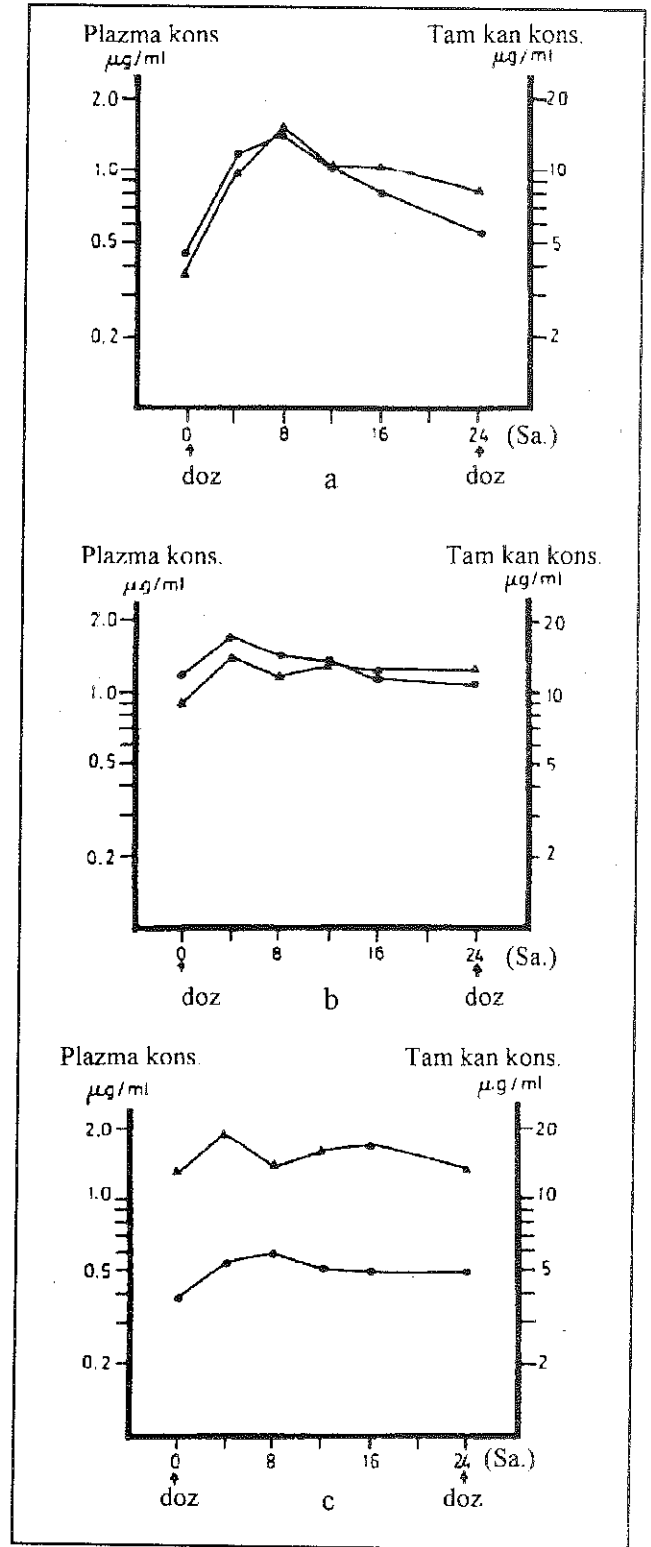


Şekil 3. Karaciğerdeki tiyoüre dağılımı üzerine eritrositli (•) ve eritrositsiz (O) ortamın etkisi²⁵

manından daha uzun olduğu için eritrositlerde bulunan ilacın böbreklerden itrah edilemediği belirtilmiştir⁶⁴.

Bu konuyla ilgili diğer örnekler incelendiğinde monohidrik alkoller⁶⁵, ksenon⁶⁶, salisilamid⁶⁷ ve harmolün⁶⁸ karaciğerdeki dağılımı ve eliminasyonu üzerine eritrositlerin herhangi bir etkisinin olmadığı ancak doksorubisin⁴¹, propranolol³⁹, fakrolimus⁶⁹ ve asetaminofen⁷⁰ gibi maddelerin karaciğerden eliminasyonunda eritrositlerin önemli bir rol oynadığı belirtilmiştir. Son yıllarda yapılan araştırmalarda da metilumberrilferil sülfat⁷¹ ve laktat'ında⁷² hepatositler tarafından alınımın eritrositler tarafından etkilendiği gözlenmiştir.

Asetazolamid ve klortalidon karbonik anhidraza oldukça fazla oranda bağlanan iki ilaçtır. Bunlardan asetazolamidin oral yolla tek dozda verilmesinden 21-34 saat sonra eritrositlerdeki konsantrasyonun plazmadakinden dört kat daha fazla olduğu bulunmuştur²⁶. Benzer şekilde kortalidonun eritrositlerdeki konsantrasyonunun plazmadakinden 7-10 kat daha fazla olduğu ve kronik tedavi sırasında kandaki ilacın %95'nin eritrositlerde olduğu belirtilmiştir⁴³(Şekil 4). Klortalidon oral yolla verildiğinde eritrositlerdeki konsantrasyonu plazmadakine oranla çok daha yavaş bir şekilde artmış, plazma konsantrasyonu azalsa bile eritrositlerdeki artış devam etmiştir. Bu ilaç esas olarak böbreklerden atıldığı için eritrositlere fazlaca bağlanması nedeniyle eliminasyonunun çok yavaş olduğu belirtilmiştir²⁹.



Şekil 4. Üç hastanın klortalidonla kronik tedavisi sırasında bir dozlama aralığında elde edilen plazma (●) ve kan (▲) konsantrasyonları. Klortalidon birinci hastaya (a) 1.60 mg/kg dozda; ikinci hastaya (b) 0.88 mg/kg dozda; üçüncü hastaya (c) 1.14 mg/kg dozda verilmiştir⁴³

Eritrosit-ilaç etkileşmesi verilmiş yoluna bağlı olarak da vücuttaki ilaç dispozisyonunu etkileyebilir. Oral yolla verilmiş emilme bölgesi ile karaciğer arasındaki ortalama geçiş zamanı oldukça kısa olduğu için (1-2 sn⁷³) ilaçların karaciğere ulaşmadan önce eritrositlere penetrasyonu için zaman yetersiz olacaktır. Diğer taraftan intravenöz yolla verilen ilaçlar karaciğere ulaşmadan önce daha uzun süre kanla temas edecekleri için oral yolla verilen ilaçların karaciğerden ilk geçiş etkisi intravenöz yolla verilen ilaçlara göre daha fazla olabileceği belirtilmektedir^{39,41}.

İlaç Metabolizasyonunda Eritrositlerin Rolü

Eritrositler ana fonksiyonları olan oksijen-karbondioksit değişimini gerçekleştirebilmek amacıyla çeşitli enzim sistemleri ile donatılmışlardır. Bu enzim sistemlerinin görevi hücreye enerji sağlanmasının yanı sıra hemoglobin ve hücre membranı gibi hücrenin ana bileşenlerini oksidasyondan korumaktır. Eritrositlerin mitokondrisi, çekirdeği, ri-

bozumu ya da m-RNA' sını olmadığından ve fonksiyonel üre döngüsü yapamadıklarından dolayı ilaç metabolizasyonunda aktif bir görev almadıkları varsayılmıştır. Ancak yapılan araştırmalarda eritrositlerde çeşitli enzimlerin ya da enzim benzeri aktivitelerin varlığı (esteraz, glutatyon transferaz, adenozin deaminaz) tayin edilmiştir⁹ (Tablo 3). Eritrositlerde ilaç metabolize edici enzimlerin varlığı bunların in vivo ilaç metabolizasyonuna ne derecede katkıda bulunduğu sorusunu akla getirmektedir. Tablo 4'de verilen örnekler incelendiğinde aspirin ve eroin haricinde diğer ilaçlar için in vivo eritrosit metabolizasyonunun önemli olmadığı görülmektedir. Bununla birlikte eritrosit metabolizasyonunun önemli olduğu diğer durumlar sözkonusu olabilir. Örneğin, uygun şekilde işlem görmeyen kan örneklerinin plazmasından tayin edilen ilaç konsantrasyonlarının kullanılması farmakokinetik parametrelerin hatalı tayin edilmesine neden olabilecektir. Diğer taraftan, kan örneklerinin geç santrifüjlenmesi, uygun şekilde soğutulmaması ve uygun enzim inhibitörlerinin eklenmemesi maddenin in

Tablo 3. Eritrositler tarafından metabolize edilen ilaçlar ve metabolizasyondan sorumlu enzimler⁹

Sınıf	İlaç	Eritrosit enzimi
Analjezik/	Aspirin	Esteraz
Antienflamatuar	Eroin	Esteraz
Antikanser	9-β-D-arabinofuranosiladenozin	Adenozin deaminaz
	9-β-D-ksilofuranosiladenozin	Adenozin deaminaz
	6-merkaptopürin	Hipoksantinofosforil transferaz
	Sitarabin	Sitidin deaminaz
	5-florourasil	Dihidrourasil dehidrogenaz
	Metotreskat	Hemoglobin
	Etoposid	Hemoglobin
Antianjinal	Nitrogliserin	Glutatyontransferaz,Hemoglobin
	İzosorbid dinitrat	Glutatyon transferaz
	Pentaeritritol tetranitrat	Glutatyon transferaz
	Prokainamid	N-asetil transferaz
Antiaritmik	L-DOPA	Hemoglobin
Antiparkinson	Esmolol	Esteraz
β Blokörler	Epinefrin	Kateşol-O-metil transferaz
	Dopamin	Kateşol-O-metil transferaz
Kateşolaminler	Estradiol	Steroid dehidrogenaz
	Testosteron	Steroid dehidrogenaz
	Progesteron	Steroid dehidrogenaz
	İnsülin	Endopeptidaz
Peptid hormonlar		
Sitokrom P-450 substratları		Hemoglobin
Nitroaromatikler		Hemoglobin
		Glutatyon transferaz

Tablo 4. İlaçların sistemik klerenslerine in vivo eritrosit metabolizasyonunun katkısı⁹

İlaç	k_{el} (dak^{-1})	Eritrosit klerensi (ml/dak kg^{-1})	Sistemik klerens (ml/dak kg^{-1})	Sistemik klerense katkı (%)
Aspirin	0.0230	0.8	11.6	6.9
Esmolol	0.0255	0.9	285.0	0.3
5-Florourasil	0.0025	0.1	32.8	0.3
Eroin	0.0460	1.7	30.8	5.4
İsosorbid dinitrat	0.0076	0.27	54.0	0.5
Nirogliserin	0.1720	6.1	720.0	0.8
6-Merkaptopürin	0.0020	0.07	115.0	0.05
Metotreksat	0.0011	0.04	2.0	2.0
Prokainamid	0.0001	0.003	9.5	0.03

k_{el} : eritrositlerde bulunan ilacın 37°C'de in vitro koşullarda tayin edilen eliminasyon hız sabiti

vitro olarak metabolize edilmesine yol açabildiği gibi kan örneklerinin saklanması sırasında eritrositlerle plazma arasındaki ilaç dağılımının değişebileceği göz önünde bulundurulmalıdır^{9,61,74,75}.

Eritrositlerin Kullanım Alanları

İlaç taşıyıcı sistemler olarak eritrositler: Doğal olmaları, biyolojik olarak uyumlu olmaları, sistemik dolaşımında uzun süre kalabilmeleri ve retiküloendotelial sistem tarafından kolayca uzaklaştırılabilmeleri eritrositleri diğer enkapsülasyon yöntemlerine göre daha avantajlı duruma getirmiştir^{76,77}. Yükleme işlemi için kimyasal modifikasyon gerekmediği gibi, farklı yöntemler (hipo-ozmotik liziz, endositoz, antibiyotikle yükleme, elektroporasyon, normal transport mekanizması gibi) kullanılarak hazırlanmış eritrositler nispeten uzun bir süre (2 hafta-1 ay) bozulmadan saklanabilmektedir^{78,79}.

Pek çok ilaç eritrositlerden hızlı bir şekilde salınma eğiliminde olup salım hızı hücre içi ilaç konsantrasyonuyla orantılıdır. Ancak yapılan çalışmalarda eritrositlerden salım kinetiğinin genelde sıfır derece salım kinetiğine uyduğu belirtilmiştir^{77,80-82}. İlaçların taşıyıcı eritrositler içinde enkapsülasyonundan sonra farmakokinetik parametrelerde gözlenen en önemli değişiklik yarı ömürde artış ve plazma doruk konsantrasyonunda azalmadır⁷⁷. Sitarabinin yarı ömrü köpeklerde 2.8 saat iken eritrositlerde enkapsülasyon sonucu bu süre 4.6 güne çıkmıştır. Benzer şekilde asparaginazın eritrositlere enkapsülasyonu ile ilacın yarı ömrünün

8-30 saatten 28 güne çıktığı belirtilmiştir⁸³. Diğer taraftan doksorubisin eritrositlerde enkapsüle edilmiş olarak verildiğinde serbest ilaca göre plazma doruk konsantrasyonunda önemli bir artış olduğu ve eğri altında kalan alanın 7 kat arttığı belirtilmiştir⁸¹. Metotreksat serbest halde verildiğinde ilk bir saat içinde dozun % 30-40' ı idrarla atılırken eritrositler içine enkapsüle edildiğinde bu oran % 7-9 olup safra ile atılımı artmıştır⁸⁴.

Eritrositler, endojen ve eksojen enzimlerin yerine konma tedavisinde kullanıldığı gibi⁸⁵⁻⁸⁷, sitotoksik, antifibrinojenik ve antikanserojen ilaçların yüklenmesi amacıyla da kullanılmıştır⁸⁸⁻⁹¹. Eritrositlerin karaciğer ve dalakta bulunan fagosit hücreleri tarafından dolaşımdan uzaklaştırılmaları, bu hücrelere hedeflendirilmiş ilaç salımını mümkün kılmaktadır. Köpek eritrositlerinde enkapsüle edilmiş metotreksat, eritrositlerden hızla salınırken eritrositlerin glutaraldehitte muamelesi sonucu salım hızı yavaşlamış ve verilen dozun % 50' si karaciğerde toplanmıştır⁹². Farelerde yapılan bir çalışmada, glutaraldehitte muamele edilmiş eritrositlerde enkapsüle edilen doksorubisinin karaciğer tarafından tutulumunda 10 kat bir artış olduğu gözlenmiştir⁹³. Isı, nöroaminidaz ve oksidatif stres ile muamele edilen fare eritrositleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, ısı ve nöroaminidaz ile muamele edilen eritrositlerin 2 saat içinde sırasıyla % 50 ve 75 oranında karaciğerde tutulduğu bulunmuştur. Ayrıca oksidatif stres uygulanan fare eritrositlerinin % 40' ının 4 saat içinde dalakta toplandığı görülmüştür. Bu üç yöntem ile hazırlanan eritrositler kullanılarak dalak ve karaciğerde

hedefleme yapılabileceği belirtilmiştir⁹⁴. Ancak eritrositlerin ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanıldığı durumlarda enkapsüle edilmiş ilaçların metabolize edilebilme olasılığı gözönünde bulundurulmalıdır.

Oksijen taşıyıcı olarak eritrositler: Perfüze organ sistemlerinde, perfüzyon ortamın oksijen taşıma kapasitesini artırmak amacıyla eritrositler kullanılmaktadır. Eritrosit içeren perfüzyon çözeltileri fizyolojik koşulları taklit edebilmesi ve organın ihtiyacına göre oksijen salınımı sağlaması nedenleriyle tercih edilirken, optimum oksijen taşınımı için, %20 hematokrit değerinin ideal olduğu belirtilmiştir. Ancak hemolizin organ fonksiyonu üzerine olumsuz etkisi ve eritrosit-ilac etkileşimleri eritrositlerin bu amaçla kullanımını kısıtlayan faktörlerdir^{95,96}.

Vasküler hacmin tayininde eritrositler: Kendi çaplarından çok daha küçük damarlardan kolayca geçebilmeleri ve sadece vasküler boşlukta dağılmaları nedeniyle eritrositler vasküler hacmin tayininde sıklıkla kullanılmaktadır. Radyoaktif (⁵¹Cr) işaretli eritrositlerin yaygın olarak kullanıldığı yöntemde enjeksiyonu takiben toplanan doku⁹⁷ ya da perfüzyon örneklerindeki^{67,70,98} aktivite tayin edilerek vasküler hacim hesaplanmaktadır. Enjeksiyon ve örnekleme sırasında radyoaktivitenin getireceği mahsurları ortadan kaldırmak amacıyla spektrofotometrik esasa dayanan bir yöntem geliştirilmiş ve her iki yöntem arasında tayin edilen vasküler hacim açısından iyi bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir⁴⁸.

Vasküler sistemin görüntülenmesinde eritrositler: Floresein izotiyosyanat ile işaretlenmiş eritrositler hem vasküler sistemin görüntülenmesi hem de eritrositlerin kapillerlerdeki hızını tayin etmek amacıyla kullanılmıştır^{80,99}.

Biyoadhezif sistem olarak eritrositler: Glutaraldehit ile muamele edilmiş olan eritrositlerin iyi bir biyoadhezif özellik gösterdiği, propranolol hidroklorürün nazal yolla verilmesinde kontrollü salınım sağlayan biyoadhezif sistem olarak kullanılabileceği belirtilmiştir¹⁰⁰.

SONUÇ

Pek çok ilaç için plazma ve eritrositler arasındaki dengenin çok hızlı bir şekilde sağlandığı varsayıldığından vücuttaki ilaç dağılımı ve eliminasyonu üzerine eritrositlerin herhangi bir etkisinin olmadığı kabul edilir. Ancak, eritrositlere çok yavaş penetre olan ve/veya eritrosit bileşenlerine bağlanan ilaçlar için bu varsayım geçerli olmayabilir. Sadece plazmadaki serbest ilacın vücutta dağıldığı ve eliminasyona uğradığı düşünülürse, eritrositlerde hapsedilmiş olan ilaç eliminasyon organlarının kapillerlerinden ayrılamayacağı için vücuttan hemen uzaklaştırılmayacak, dolayısıyla farmakokinetik parametreleri serbest ilaca göre farklılık gösterecektir. Ayrıca metabolik olarak aktif olmaları nedeniyle eritrositlerde tutulan ilaçların metabolize edilme olasılığının gözönünde bulundurulması gerekmektedir. Diğer yandan toplanan kan örneklerinin saklanması sırasında plazma ve eritrositler arasındaki ilaç dağılımının değişebilmesi ve in vitro eritrosit metabolize olmasından dolayı uygun şekilde işlem görmeyen kan örneklerinin plazmasından tayin edilen ilaç konsantrasyonlarının kullanılması farmakokinetik parametrelerin hatalı tayin edilmesine neden olabilecektir.

KAYNAKLAR

1. Rowland M, Tozer TN. Clinical Pharmacokinetics: Concepts and Applications, Lea&Febiger, Philadelphia, 1995.
2. Langley LL. Review of Physiology, McGrawHill, New York, 1971.
3. Bell GH, Davidson JN, Scarborough H, Garry RC. Textbook of Physiology and Biochemistry, V. Baskı, E.&S. Livingstone Ltd., London, 1961.
4. MacSween RNM, Whaley K. Muir's Textbook of Pathology, XXIII. Baskı, Edward Arnold, London, 1992.
5. Johnson PC. Red cell separation in the mesenteric capillary network. *Am. J. Physiol.*, 221, 99-104, 1971.
6. Lipowsky HH, Usomi S, Chien S. In vivo measurement of 'apparent viscosity' and microvessel hemocrit in the mesentery of cat. *Microvasc. Res.*, 19, 297-312, 1980.
7. Bumstead SJ. Intestinal Paracellular Drug Absorption, Manchester University, M.Sc. Thesis, 1993.
8. Hochmuth RM. Properties of red blood cells. Handbook of Bioengineering'de (Ed.R. Skalak ve S. Chien) McGraw-Hill, New York, 12.1-12.7, 1987.
9. Cossum PA. Role of red blood cell in drug metabolism. *Biopharm. Drug Dispos.*, 9, 321-336, 1988.

10. Fung YC. Biomechanics Mechanical Properties of Living Tissues, Springer-Verlag Press, New York, 1981.
11. Russell NJ, Powell GM, Jones JG, Winterburn PJ, Basford JM. Blood Biochemistry, Croom Helm Press, London, 1982.
12. Vacha J. Red cell life span. Red Blood Cells of Domestic Mammals' da (Ed. NS Agar ve PG Board) Elsevier Science Publisher, Amsterdam, 1983, 67-132.
13. Bartosz G. Erythrocyte membrane changes during ageing in vivo. Blood Cell Biochemistry Erythroid Cells' de (Ed. JR Harris), Plenum Press, New York, 1990, 45-79.
14. Hinderling PH. Red blood cells: a neglected compartment in pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Pharmacol. Rev.*, 49, 279-295, 1997.
15. Van Deenen LLM. Lipids of the red cell membrane. The Red Blood Cell'de (Ed. DM Surgenor) Academic Press, New York, 1974, 147-211.
16. Gratzler WB. The red cell membrane and its cytoskeleton. *Biochem. J.*, 198, 1-8, 1981.
17. Shappell S, Lenfant CJM. Physiological role of the oxy-hemoglobin dissociation curve. The Red Blood Cell'de (Ed. DM Surgenor) Academic Press, London, 1975, 841-871.
18. Jia L, Bonaventura C, Bonaventura T, Stamler SS. S-Nitrosohaemoglobin: A dynamic activity of blood involved in vascular control. *Nature (Lond.)*, 30, 221-226, 1996.
19. Iyer GR, Bellantone RA, Taft DR. In vitro characterisation of the erythrocyte distribution of methazolamide: A model of the erythrocyte transport and binding kinetics. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, 27(1), 45-66, 1999.
20. Larsson H, Persson SU, Hedner P. Changes in the functional state of the erythrocyte membrane: Significance for red cell filterability and blood viscosity. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*, 50, 177-181, 1990.
21. Smith JE. Erythrocyte deformability. Red blood cell of domestic mammals'da (Ed. NS Agar, PG Board), Elsevier Science Publishers, Amsterdam, 1983, 55-66.
22. Secomb TW. Mechanics of blood flow in the microcirculation. Biological Fluid Dynamics'de (Ed. CP Ellington, TJ Pedley) The Company of Biologists Limited, Cambridge, 1995.
23. Dodge JT, Mitchell C, Hanatlan DJ. The preparation and chemical characteristics of hemoglobin-free ghosts of human erythrocytes. *Arch. Biochem. Biophys.*, 100, 119-130, 1963.
24. Schwoch G, Passow H. Preparation and properties of human erythrocyte ghosts. *Mol. Cell. Biochem.*, 2(2), 197-218, 1973.
25. Sahin S. The influence of Erythrocytes on Hepatic Elimination of Drugs. M.Sc. Method II First Year Transfer Report, Department of Pharmacy, University of Manchester, 1991.
26. Wallace SM, Riegelman S. Uptake of acetazolamide by human erythrocytes in vitro. *J. Pharm. Sci.*, 66(5), 729-731, 1977.
27. Rambo L, Ericsson O, Alvan G, Lindstroem B, Gustafsson LL, Sjoqvist F. Chloroquin and desmethylchloroquine in plasma, serum and whole blood: Problems in assay and handling of samples. *Ther. Drug Monit.*, 7, 211-215, 1985.
28. Tett SE, Cutler DJ, Day RO, Brown KF. A dose-ranging study of the pharmacokinetics of hydroxychloroquine following intravenous administration to healthy volunteers. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, 26, 303-313, 1988.
29. Fleuren HLJ, Van Rossum JM. Nonlinear relationship between plasma and red blood cell pharmacokinetics of chlorthalidone in man. *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, 5, 359-375, 1977.
30. Bayne WF, Tao TF, Rogers G, Chu LC, Theeuwes F. Time course and disposition of methazolamide in human plasma and red blood cells. *J. Pharm. Sci.*, 70, 75-80, 1981.
31. Bickel MH. Binding of Chlorpromazine and imipramine to red cells, albumin, lipoprotein and other blood components. *J. Pharm. Pharmacol.*, 27, 733-738, 1975.
32. Ehrnebo M, Agurell S, Boreus LO, Gordon E, Löntroth U. Pentazocine binding to blood cells and plasma proteins. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 16(3), 424-429, 1974.
33. Dieterle W, Wagner J, Faigle JW. Binding of Chlorthalidone (hygroton) to blood components in man. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 10, 37-42, 1976.
34. Legg B, Rowland M. Saturable binding of cyclosporin A to erythrocytes: estimation of binding parameters in renal transplant patients and implications for bioavailability assessment. *Pharm. Res.*, 5:80-85, 1988.
35. Beerman B, Hellstrom K, Lindstrom B, Rosen A. Binding site interaction of chlorthalidone and acetazolamide, two drugs transported by red blood cells. *Clin. Pharmacol. Ther.*, 17(4), 424-432, 1975.
36. Sachs JR, Knauf PA, Dunham PB. Transport through red cell membrane. The Red Blood Cells'de (Ed. DM Surgenor) Academic Press, New York, 1975, 613-703.
37. Paganelli CV, Solomon AK. The rate and exchange of tritiated water across the human red cell membrane. *J. Gen. Physiol.*, 41(2), 259-277, 1957.
38. Sha'afi RI, Gary-Bobo CM, Solomon AK. Permeability of red cell membranes to small hydrophilic and lipophilic solutes. *J. Gen. Physiol.*, 58, 238-258, 1971.
39. Lee HJ, Chiou WL. Erythrocytes as barriers for drug elimination in the isolated rat liver II. Propranolol. *Pharm. Res.* 6(10), 840-843, 1989.
40. Jacobs MH. The measurements of cell permeability with particular reference to erythrocyte. Modern Trends in Physiology and Biochemistry'de (Ed. ES Guzman Barron) Academic Press, New York, 1958.
41. Lee HJ, Chiou WL. Erythrocytes as barriers for drug elimination in the isolated rat liver I. Doxorubicin. *Pharm. Res.*, 6(10), 833-838, 1989.

42. Kubinyi H. Lipophilicity and biological activity. *Arzneim-Forsch./Drug Res.*, 29(2), 1067-1080, 1979.
43. Collste P, Garle M, Rawlins MD, Sjoqvist F. Inter-individual differences in chlorthalidone concentration in plasma and red cells of man after single and multiple doses. *Europ. J. Clin. Pharmacol.*, 9, 319-325, 1976.
44. Schanker LS, Nafpliotis PA, Johnson M. Passage of organic bases into human cells. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 133, 325-331, 1961.
45. Lin JH, Lin TH, Cheng H. Uptake and stereoselective binding of enantiomers of MK-927, a potent carbonic anhydrase inhibitor by human erythrocytes in vitro. *Pharm. Res.*, 9(3), 339-344, 1992.
46. Minami T, Cutler DJ. A kinetic study of the role of band 3 anion transport protein in the transport of salicylic acid and other hydroxybenzoic acids across the human erythrocytes membranes. *J. Pharm. Sci.*, 81, 424-427, 1992.
47. Goresky CA. Linear model for determining sinusoidal and extravascular volumes. *Am. J. Physiol.*, 204, 626-640, 1963.
48. Sahin S, Rowland M. Estimation of aqueous distributional spaces in the dual perfused rat liver. *J. Physiol. (Lond.)*, 528.1, 199-207, 2000.
49. Kramer K, Thurou K, Deetjen P. Hamodynamik des nierenmarksI. Mitteilung, capillaere passagezeit, blutvolumen darchblutung, gewebshamotoktitund O2-verbrauch des nierenmarks in situ. *Pfluegers Arch. Ges. Physiol.*, 270, 251-269, 1960.
50. Roth S, Seeman P. The membrane concentrations of neutral and positive anesthetics (alcohols, chlorpromazine, morphine) fit the Meyer-Overton rule of anaesthesia; negative narcotics do not. *Biochim. Biophys. Acta.*, 225, 207-219, 1972.
51. Luxnat M, Galla JH. Partition of chlorpromazine into lipid bilayer membranes: the effect of membrane structure and composition. *Biochim. Biophys. Acta.*, 856, 274-282, 1986.
52. Macgregor TR, Keirns JJ, Farina PR, Matzek KM, Horhota ST, Esber HJ. Chlorthalidone pharmacodynamics in beagle dogs. *J. Pharm. Sci.*, 74(8), 851-856, 1985.
53. Bayne WF, Chu EC, Theeuwes F. Acetazolamide binding two carbonic anhydrase isoenzymes in human erythrocytes. *J. Pharm. Sci.*, 68(7), 912-913, 1979.
54. Sweeney KR, Chapron DJ, Kramer PA. Effect of salicylate on serum protein binding and red blood cell uptake of acetazolamide in vitro. *J. Pharm. Sci.*, 77(9), 751-756, 1988.
55. Hinderling PH. Kinetics of partition and binding of digoxin and its analogues in subcompartments of blood. *J. Pharm. Sci.*, 73(8), 1042-1052, 1984.
56. Boddy A, Edwards P, Rowland M. Binding of sulfonamides to carbonic anhydrase: influence on distribution within blood and on pharmacokinetics. *Pharm. Res.*, 6(3), 203-209, 1989.
57. Ehrnebo M, Odar-Cederlof I. Binding of amobarbital penobarbital and diphenylhydantoin to blood cells and plasma proteins in healthy volunteers and uremic patients. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 8, 445-453, 1975.
58. Ehrnebo M, Odar-Cederlof I. Distribution of phenobarbital and diphenylhydantoin between plasma and cells in blood: effect of salicylic acid, temperature and total drug concentration, *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, 11, 37-42, 1977.
59. Wind M, Berliner A, Stern S. The binding of phenothiazine to oxyhemoglobin A and S. *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*, 5,759-766, 1973.
60. Tamura A, Sugimoto K, Sato T, Fujii T. Effect of haematocrit, plasma protein concentration and temperature of drug-containing blood in-vitro on the concentrations of the drug in plasma. *J. Pharm. Pharmacol.*, 42, 577-580, 1990.
61. Costello PB, Green FA. Aspirin survival in human blood modulated by the concentration of erythrocytes. *Arthritis and Rheumatism.*, 25(5), 550-555, 1982.
62. Goresky CA, Bach GG, Nadeau BE. Red cell carriage of label: its limiting effect on the exchange of materials in the liver. *Circ. Res.*, 36, 328-351, 1975.
63. Sahin S, Rowland M. Comparison of hepatic efflux of urea and thiourea. *Pharmacuetisch Weekblad* 14(5), Suppl. F, 1992, pp42.
64. Chen TM, Abdelhameed MH, Chiou WL. Erythrocytes as a total barrier for renal excretion of hydrochlorthiazide: slow influx and efflux across erythrocytes membranes. *J. Pharm. Sci.*, 81, 212-218, 1992.
65. Goresky CA, Gordon ER, Bach GG, Nadeau BE. Uptake of monohydric alcohols by liver. Demonstration of a shared enzymatic space. *Am. J. Physiol.*, 244, G198-G214, 1983.
66. Goresky CA, Schwab AJ, Rose CP. Xenon handling in the liver: Red cell capacity effect. *Circ. Res.*, 63, 767-778, 1988.
67. Pang KS, Barker III F, Schwab AJ, Goresky CA. Demonstration of rapid entry and a cellular binding space for salicylamide in perfused rat liver: a multiple indicator dilution study. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 270, 285-295, 1994.
68. Morgan DJ, Guttmann A, Peterwatson RG, Ghabnal H, Elliott SL, Smallwood RA. Effect of erthrocyte binding on elimination of harmol by the isolated perfused rat liver. *J. Pharm. Sci.*, 85, 40-44, 1996.
69. Piekoszewski W, Chow FS, Jusko WJ. Disposition of tacrolimus (FK 506) in rabbits: Role of red cell binding in hepatic clearance. *Drug Metab. Dispos.*, 21, 690-698, 1993.
70. Pang KS, Barker III F, Simard A, Schwab AJ, Goresky CA. Sulfation of acetaminophen by the perfused rat liver: The effect of red cell carriage. *Hepatology*, 22, 267-282, 1995.
71. Chiba M, Schwab AJ, Goresky CA, Pang KS. Carrier

- mediated entry of 4-methylumbelliferyl sulphate: Characterisation by the multiple indicator dilution technique in perfused rat liver. *Hepatology*, 27:134-146, 1998.
72. Goresky CA, Bach GG, Simard A, Schwab AJ, Bracht A. Uptake of lactate by the liver: Effect of red blood cell carriage. *Am. J. Physiol.*, 278:G775-G788, 2000.
 73. Chiou WL. A new model-independent physiological approach to study hepatic drug clearance and its applications. *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther. Toxicol.*, 22:577-590, 1984.
 74. Intrurrisi EC, Max BM, Foley KM. The pharmacokinetics of heroin in patients with chronic pain. *New Eng. J. Med.*, 310(19), 1213-1217, 1984.
 75. Smith DA, Cole WJ. Identification of an arylesterase as the enzyme hydrolysing diacetylmorphine in human plasma. *Biochem. Pharmacol.*, 25, 367-370, 1970.
 76. Pitt E, Catriona M, Lewis DA. Encapsulation of drugs in intact erythrocytes: an intravenous delivery system. *Biochem. Pharmacol.*, 32(22), 3359-3368, 1983.
 77. Tonetti M, Flora AD. Carrier erythrocytes, pharmacokinetic considerations. *Clin. Pharmacokin.*, 25(5), 351-357, 1993.
 78. Lewis DA, Alpar HO. Erythrocytes as microvesicles. Microcapsules and Nanocapsules in Medicine and Pharmacy'de (Ed. M Dondrow) CRC Press Inc., Florida, 1992, 299-314.
 79. Talwar N, Jain NK. Erythrocytes as carriers of Primaquine-Preparation: Characterisation and evaluation. *J. Contr. Rel.*, 20, 133-142, 1992.
 80. Ihler GM. Erythrocyte carriers. *Pharmac. Ther.*, 20, 151-169, 1983.
 81. Tonetti M, Astroff B, Satterfield W, De Flora A, Benatti U, DeLoach JR. Pharmacokinetic properties of doxorubicin encapsulated in glutaraldehyde treated canine erythrocytes. *Am. J. Vet. Res.*, 52, 1630-1635, 1991.
 82. Eichler HG, Rameis H, Bauer K, Korn A, Bacher S, Gasic S. Survival of Gentamisin- Loaded Carrier Erythrocytes in Healthy Human Volunteers, *Eur. J. Clin. Inv.*, 16, 39-42, 1986.
 83. Kravtsoff R, Desbois I, Chassaigne M, Muh JP, Lammagnere JP. In vivo activity of L-asparaginase entrapped into human and mouse red blood cells. *Advances in Biosciences'da* (Ed. Green), Pergamon Press, London, 1991, 127-137.
 84. DeLoach JR, Barton C. Circulation carrier erythrocyte: slow release vehicles for an antileukemic drug, cytosine arabinoside. *Am. J. Vet. Res.*, 43. 2210-2212, 1982.
 85. Thorpe SR, Fiddler MB, Desnick RJ. Enzyme therapy V. in vivo fate of erythrocyte-entrapped betaglucuronidase in beta-glucuronidase-deficient mice. *Pediat. Res.*, 9(12), 918-923, 1975.
 86. Kravtsoff R, Popars ML, Muh JP, Chassaigne M. Erythrocytes as carrier for L-asparaginase. Methodological and mouse in-vivo studies. *J. Pharm. Pharmacol.*, 42, 473-476, 1990.
 87. Adriaenssens K, Karcher D, Lowenthal A, Terheggen HG. Use of enzyme-loaded erythrocytes in-vitro correction of arginase-deficient erythrocytes in familial hyperargininemia. *Clin. Chem.*, 22(3), 323-326, 1976.
 88. Highley MS, Ernst ADB, Erythrocyte and the transport of drugs and the endogenous compounds. *Pharm. Res.*, 13(2), 186-195, 1996.
 89. Goldsmith JC, Roer MES, Orringer EP. A new treatment strategy for hemophilia: incorporation of factor IX in to red cell ghosts. *Am. J. Hematol.*, 7, 119-125, 1979.
 90. Benatti U, Giovine M, Damonte G, Gasparini A, Scarfi S, De Flora A, Fraternali A, Rossi, L, Magnani M. Azidothymidine homodinucleotide-loaded erythrocytes as bioreactors for slow delivery of the antiretroviral drug azidothymidine. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 220, 20-25, 1996.
 91. De Flora A, Zocchi E, Polvani C, Benatti U. Conversion of encapsulated 5-fluoro-2'-deoxyuridine-5'-monophosphate to the antineoplastic drug 5-fluoro-2'-deoxyuridine in human erythrocytes. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 85, 3145-3149, 1988.
 92. DeLoach JR, Tagner CH, Barton C. Hepatic pharmacokinetics of glutaraldehyde treated methotrexate loaded carrier erythrocytes in dog. *Res. Exp. Med.*, 183, 167-175, 1983.
 93. Zocchi E, Tonetti M, Polvani C, Guida L, Benatti U, DeFlora A. Encapsulation of doxorubicin in liver-targeted erythrocytes increases the therapeutic index of the drug in a murine metastatic model. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 10(6), 555-562, 1988.
 94. Zocchi E, Guida L, Benatti U, Canepa M, Borgiani L, Zanin T, De Flora A. Hepatic or splenic targeting of carrier erythrocytes: a murine model. *Biotechnol. Appl. Biochem.*, 9(5), 423-434, 1987.
 95. Wolkoff AW, Johansen, KL, Goesser T. The isolated perfused rat liver: preparation and application. *Anal. Biochem.* 167, 1-14, 1987.
 96. Riedel GL, Scholle JL, Shepperd AP, Ward WF. Effects of hematocrit on oxygenation of the isolated perfused rat liver. *Am. J. Physiol.*, 245, G769-G774, 1983.
 97. Gonzalez F, Bassingthwaighte JB. Heterogeneities in regional volumes of distribution and flows in rabbit heart. *Am. J. Physiol.*, 258, H1012-1024, 1990.
 98. Ahmad AB, Bennett PN, Rowland M. Influence of route of hepatic administration of drug availability. *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 230, 718-725, 1984.
 99. Pang, KS, Sherman IA, Schwab, AJ, Geng W, Barker III F, Dlugosz JA, Cuerrier G, Goresky, CA. Role of the hepatic artery in the metabolism of phenacetin and acetaminophen: an intravital microscopic and multiple indicator-dilution study in the perfused rat liver. *Hepatology*, 20, 672-683, 1994.
 100. Vyas SP, Talwar N, Karajgi JS, Jain NK. An erythrocyte based bioadhesive system for nasal delivery of propranolol. *J. Cont. Rel.*, 23, 231-237, 1993.