

## ВОЗМОЖНОСТИ АДЕКВАТНОГО ВЫБОРА РАЗЛИЧНЫХ ПРЕПАРАТОВ АСПАРАГИНАЗЫ

А.В. Попа

НИИ детской онкологии и гематологии РОНЦ им. Н.Н. Блохина РАМН

**Ключевые слова:** острый лимфобластный лейкоз, дети, аспарагиназа, ПЭГ-аспарагиназа (Онксапар™)

Аспарагиназа (АСП) — один из лекарственных препаратов, относящихся к группе ферментов, возможности которого в преодолении лекарственной резистентности лейкозных клеток до сих пор остаются до конца не ясными. Механизм действия АСП основан на отличии метаболизма между нормальными здоровыми и опухолевыми клетками. Нормальные клетки могут самостоятельно синтезировать множество аминокислот, включая аспарагин, в то время как лейкозные не способны самостоятельно синтезировать аспарагин, но нуждаются в большом его поступлении для пластических процессов и обеспечения собственной жизнедеятельности. Действие АСП осуществляется в сыворотке крови, где она гидролизует аспарагин до аспарагиновой кислоты и аммониевой группы, лишая лейкоэмические клетки поступления аспарагина. При отсутствии аспарагина синтез белка, зависящий от него, останавливается, что приводит в дальнейшем к ингибированию синтеза нуклеиновых кислот и снижению степени лейкоэмической пролиферации. В настоящее время существует два нативных препарата АСП, получаемых из различных микроорганизмов: *E. coli* и *Erwinia chryzanthemi*. Кроме того, известна ПЭГ-АСП, являющаяся конъюгатом нативной АСП *E. coli* и полиэтиленгликоля. Такое соединение позволяет защитить АСП от захвата ее клетками ретикулоэндотелиальной системы, что способствует удлинению времени полувыведения препарата из организма. В данной статье представлены сведения о фармакокинетике различных форм АСП и об их эффективности, в том числе в клинических исследованиях.

Исследование противоопухолевого действия АСП было начато 50 лет назад, когда впервые была продемонстрирована редукция лимфомы у мышей, которым вводили сыворотку, приготовленную из крови морских свинок [1–3]. В 1960-х годах J. Вгооме предположил, что АСП, находящаяся в сыворотке крови морских свинок, эффективна против опухолевых клеток лимфоидной ткани [4]. Окончательные доказательства противоопухолевого действия АСП были представлены Т. Yellin и J. Wriston [5], которые выделили АСП с помощью иммуноэлектрофореза и показали, что она активна только против опухолевых клеток лимфоидной ткани. L. Mashburn, J. Wriston [6] и несколько позднее J. Broome [4] выявили, что *E. coli* продуцирует АСП, которая ингибирует рост лимфоидных опухолей, в то время как другие бактерии продуцируют менее активные либо неактивные формы АСП.

Период полувыведения АСП зависит от используемой формы и образования антител, инактивирующих АСП. Период полувыведения АСП *Erwinia chryzanthemi*, введенной в дозе 25000 МЕ/м<sup>2</sup>, составляет 0,65±0,13 дня, что значительно меньше по сравнению с АСП *E. coli* —

1,24±0,17 дня, а период полувыведения ПЭГ-АСП в дозе 2500 МЕ/м<sup>2</sup> достоверно больше, чем у обеих нативных форм АСП и равен 5,73±3,24 дня [7]. По данным А. Khan и соавт. [8], развитие гиперчувствительности к АСП отмечалось более чем у 50% больных и было основной причиной, лимитировавшей применение АСП. У пациентов с клиническими проявлениями аллергической реакции к нативной АСП *E. coli* период полувыведения как нативной АСП *E. coli*, так и ПЭГ-АСП существенно ускорился, хотя в исследование было включено небольшое количество больных.

В 1979 г. I. Ertel и соавт. [9] впервые провели большое клиническое исследование нативной АСП *E. coli*, в котором показали возможность достижения повторных ремиссий у детей с рецидивами острого лимфобластного лейкоза — ОЛЛ (60%) при монотерапии АСП в дозе 6000 МЕ/м<sup>2</sup>. Повышение дозы не приводило к увеличению числа полных ремиссий, но усиливало токсичность препарата. И все же оптимальная доза АСП для детей с впервые выявленным ОЛЛ до сих пор неизвестна. Наиболее быстрое достижение ремиссии во время терапии индукции часто ассоциируется с лучшей выживаемостью, поэтому скорость ответа на терапию является одним из основных признаков, на который опираются при стратификации больных на группы риска. Быстрое достижение ремиссии может быть также связано и со степенью снижения уровня аспарагина в сыворотке крови. Группой NORPHO (The Nordic for Pediatric Hematology and Oncology) было продемонстрировано более быстрое снижение уровня аспарагина в сыворотке крови с помощью эскалации дозы АСП, что в итоге приводило к более быстрому достижению ремиссии у детей с ОЛЛ. Так, группа применяла АСП *E. chryzanthemi* (Эрвиназа) в дозе 30 000 МЕ/м<sup>2</sup>/день в течение 10 дней [10–12], а S. Sallan и соавт. [13] проводили сравнение нативной АСП *E. coli* в дозе 25 000 МЕ/м<sup>2</sup> 1 раз в неделю с ПЭГ-АСП в дозе 2500 МЕ/м<sup>2</sup> 1 раз в 2 нед. Т. Abshire и соавт. [14] назначали ПЭГ-АСП в дозе 2500 МЕ/м<sup>2</sup> 1 раз в неделю больным с рецидивами ОЛЛ. Эти исследования подтвердили связь между более высоким уровнем АСП в сыворотке крови и скоростью достижения ремиссии. Больные, получавшие большие дозы АСП или ПЭГ-АСП 1 раз в неделю, достигали ремиссии быстрее, чем больные, которым они назначались 1 раз в 2 нед [14]. Кроме того, более высокий уровень АСП в сыворотке крови во время индукции ремиссии также способствовал уменьшению развития резистентного к АСП клона клеток при рецидиве заболевания [15].

Противоопухолевая активность АСП зависит от не связанных между собой факторов, в том числе от степени гидролиза аспарагина и/или глутамина, скорости выведения АСП из организма и формирования резистентного к ней клона клеток, образования антител к АСП [16–19].

Наибольшего успеха в исследовании активности различных препаратов АСП, их фармакокинетики и фармакодинамики добились группы ВФМ (Берлин — Франкфурт — Мюнстер) из Германии и ССГ (Children's Cancer Group) из США.

#### ИССЛЕДОВАНИЕ АСПАРАГИНАЗЫ ФИРМЫ «МЕДАК»

В связи с прекращением производства АСП фирмой Ваег в начале 1990-х годов группа ВФМ создала протокол по исследованию АСП фирмы «Медак» в том же режиме, в котором применялась АСП фирмы Ваег. В случае развития реакции гиперчувствительности назначалась Эрвиназа. При применении нативной АСП «Медак» было отмечено больше случаев развития коагулопатий. При исследовании фармакодинамики и фармакокинетики АСП «Медак» было показано, что скорость элиминации препарата и его пиковая активность отличались от нативной АСП Ваег, и, таким образом, нативная АСП «Медак» была зарегистрирована как новый химиопрепарат АСП *E. coli* [20]. Более высокая активность АСП могла привести к более выраженной токсичности, поэтому было предложено снизить дозу АСП «Медак» с 10 000 до 5000 и даже до 2500 МЕ/м<sup>2</sup> каждые 3 дня. До 2500 МЕ/м<sup>2</sup> дозу снижали только у детей, у которых аспарагин из сыворотки крови полностью исчезал. В группе больных, получавших нативную АСП «Медак» в дозе 2500 МЕ/м<sup>2</sup>, несмотря на выраженное снижение уровня аспарагина в сыворотке крови, степень активности АСП не превышала 0,1 МЕ/мл у половины пациентов. Поэтому было решено для индукции ремиссии назначать нативную АСП «Медак» в дозе 5000 МЕ/м<sup>2</sup>, но при этом в реиндуктивном курсе (Протокол II) было решено сохранить дозу нативной АСП «Медак» 10 000 МЕ/м<sup>2</sup> для достижения более быстрого снижения содержания аспарагина в сыворотке крови [21].

При исследовании уровня антител к АСП у одной трети детей с ОЛЛ, получавших ПЭГ-АСП во время реиндукции, отмечалась выработка антител, инактивирующих АСП, без клинических признаков аллергической реакции. В то же время у 24% (18 из 90) больных, получавших во время реиндуктивного курса нативную АСП *E. coli*, развилась клиническая аллергическая реакция [22]. При этом, по данным J. Vieira Pinheiro и соавт. [24], наличие реакции гиперчувствительности при использовании нативной АСП «Медак» не влияло на фармакокинетику ПЭГ-АСП (Онкаспар™) и последний являлся препаратом выбора у предлеченных АСП детей.

Включение в реиндуктивный курс Эрвиназы позволило существенно сократить число реакций гиперчувствительности, хотя требовало увеличения количества введений Эрвиназы по сравнению с нативной АСП «Медак» и более длительного нахождения пациента в стационаре. Увеличение кратности введений Эрвиназы было обусловлено ее более быстрой элиминацией [23]. Включение в протокол Онкаспар™ позволило заменить четырехкратное введение нативной АСП «Медак» и восьмикратное введение Эрвиназы на однократное введение Онкаспар™ в дозе 1000 МЕ/м<sup>2</sup> [22].

Группа ВФМ также изучала вопрос о зависимости активности и длительности действия АСП в сыворотке крови от дозы Онкаспар™. В группы исследования были включены больные с рецидивами ОЛЛ и дети, получавшие реиндуктивный курс химиотерапии. Ни в одной из групп не было получено достоверной разницы в активности

АСП между больными, которым назначался Онкаспар™ в дозе 2500 МЕ/м<sup>2</sup> и 1000 МЕ/м<sup>2</sup> [25].

Таким образом, в исследовании группы ВФМ было показано, что разные препараты обладают различной активностью; реакция гиперчувствительности развивалась чаще у больных, получавших нативную АСП, хотя инактивация АСП посредством выработки антител без клинических проявлений аллергии чаще отмечалась у больных, получавших ПЭГ-АСП; наличие аллергической реакции на нативную АСП *E. coli* не влияло на фармакокинетику ПЭГ-АСП; увеличение дозы ПЭГ-АСП не способствовало удлинению времени активности препарата; необходим обязательный мониторинг за уровнем аспарагина с целью выявления больных, у которых развивается инактивация ПЭГ-АСП без клинических проявлений. Полученные данные позволили обозначить место включения в протокол, режимы и дозы современных препаратов АСП «Медак» и Онкаспар™.

#### ИССЛЕДОВАНИЯ ГРУППЫ ССГ

Не менее значимые результаты получила группа ССГ при изучении различных лечебных форм АСП. В рандомизированном исследовании ССГ-1962 впервые проводилось сравнение эффективности нативной АСП *E. coli* и ПЭГ-АСП в индукции ремиссии и в двух курсах отсроченной интенсификации. В исследование были включены 118 детей со стандартным риском. У больных, получавших ПЭГ-АСП, blastov на 7-й и 14-й дни от начала лечения было достоверно меньше, чем у больных, получавших нативную АСП *E. coli*. Среди больных, получавших нативную АСП *E. coli* в индукцию ремиссии и во время 1-го курса отсроченной интенсификации, после окончания лечения 26% имели высокий титр антител к АСП, а в группе лечившихся ПЭГ-АСП только у 2% пациентов антитела определялись в таком же титре. Высокий уровень антител к АСП в сыворотке крови в группе больных, которых лечили нативной АСП *E. coli*, ассоциировался со снижением активности АСП, но этот эффект не наблюдался у детей, лечившихся ПЭГ-АСП. Не было получено достоверной разницы при анализе 3-летней бессобытийной выживаемости этих групп больных, которая составила 82% [17].

Значение развития антител к АСП исследовалось и в протоколе ССГ-1961, куда были включены дети с высоким риском ОЛЛ. В зависимости от реакции на АСП больные были разделены на следующие группы: с отсутствием антител к АСП в сыворотке крови и отсутствием клинической аллергической реакции на АСП; с наличием антител к АСП и клиническими проявлениями в виде аллергической реакции; с наличием антител к АСП в сыворотке крови, но без клинических проявлений (немая аллергическая реакция). Как оказалось, уровень антител к АСП более 1,1 вызывал полную нейтрализацию активности АСП, поэтому было принято считать положительным уровнем количество антител к АСП более 1,1. Из 1001 ребенка, включенного в исследование, у 611 (61%) детей уровень антител к АСП был положительным, из них у 447 (73,2%) активность АСП отсутствовала весь период лечения. У оставшихся 214 (26,8%) детей количество антител к АСП нарастало постепенно и активность АСП сохранялась до момента, когда уровень антител становился положительным. Образовавшиеся антитела к АСП у больных, получавших ПЭГ-АСП, также способствовали снижению степени активности АСП. Актив-

ность АСП у детей с положительным уровнем антител к АСП эффективно повышалась в основном только после замены АСП *E. coli* на Эрвиназу с коррекцией дозы и режимов введения [18]. В этом же исследовании было показано, что антитела к АСП вырабатывались к 36—42-му дню от начала лечения, поэтому аллергические реакции чаще наблюдались при повторном назначения АСП во время отсроченной интенсификации. Максимальное число антител к АСП образуется через 3—4 мес от начала лечения. При проведении промежуточного анализа количества рецидивов к 30 мес наблюдения было отмечено, что из 115 детей с положительным уровнем антител к АСП и клинически выраженной аллергической реакцией у трех детей развился рецидив ОЛЛ; среди 57 пациентов, у которых антитела к АСП не выработались и отсутствовала аллергическая реакция, также у трех больных был констатирован рецидив; наилучший результат был получен у детей с положительным уровнем антител к АСП, но без клинически выраженной аллергической реакции: из 81 ребенка у 13 был рецидив заболевания ( $p=0,01$ ). Большее число рецидивов заболевания в третьей группе больных можно объяснить тем, что больных продолжали лечить нативной АСП *E. coli*, при этом активность АСП была крайне низкой [18]. Следовательно, замена АСП на альтернативную форму (Эрвиназу) при появлении антител к АСП необходима, так как отсутствие эффективной АСП при лечении детей с ОЛЛ способствует неблагоприятному исходу заболевания.

Степень деплеции аспарагина в сыворотке крови для достижения ремиссии очень важна и зависит от активности АСП. В протоколе CCG-1941 исследовали эффективность ПЭГ-АСП у больных с ранними костномозговыми рецидивами при ОЛЛ. В частности, проверяли гипотезу о более быстром достижении ремиссии у группы пациентов, у которых к 14-му дню от начала лечения уровень аспарагина в сыворотке крови был крайне низким. В результате было показано, что у детей, получавших лечение по поводу рецидива ОЛЛ и достигших ремиссии к 14-му дню от начала лечения, уровень аспарагина в сыворотке крови составлял  $3,95 \pm 2,5$  мкмоль/л, количеству blastов 5—25% соответствовал уровень аспарагина  $7,67 \pm 7,67$  мкмоль/л, а более 25% —  $14,83 \pm 7,31$  мкмоль/л. Различия между уровнями аспарагина оказались значимыми ( $p=0,01$ ) и соответствовали группам пациентов, достигших и не достигших ремиссии. Из 19 больных, уровень аспарагина у которых к 14-му дню был менее 3 мкмоль/л, у 16 была достигнута ремиссия, а из 11 пациентов с уровнем аспарагина более 3 мкмоль/л ремиссия была достигнута только у пяти ( $p=0,03$ ). Таким образом, в исследовании CCG-1941 было доказано, что достижение ремиссии у детей с ранними рецидивами ОЛЛ зависело от степени снижения аспарагина в сыворотке крови [26].

Кроме того, в исследованиях CCG-1961 и SCL-1962 проводилась оценка активности АСП и степени дезаминирования аспарагина и глутамина. Было показано, что степень дезаминирования этих аминокислот сильно зависела от концентрации АСП в сыворотке крови. Так, концентрация АСП в сыворотке крови в пределах 0,4—0,7 МЕ/мл позволила достигнуть адекватного дезаминирования обеих аминокислот. Степень дезаминирования глутамина оказалась независимым параметром, определяющим снижение уровня аспарагина после

воздействия АСП. Высокий уровень глутамина способствовал возобновлению синтеза аспарагина в печени; этот эффект был особенно выраженным у больных, у которых в дальнейшем развился рецидив ОЛЛ [27].

По данным E. Panosyan и соавт. [18; 27], концентрация АСП в сыворотке крови 0,7 МЕ/мл позволяла дезаминировать 90% аспарагина и глутамина. Измерить активность АСП в ликворе было невозможно, так как она не проникала через гематоэнцефалический барьер, но возможно было измерить уровень аспарагина. Снижение уровня аспарагина в сыворотке крови способствовало снижению его в ликворе. Оценка уровня аспарагина в ликворе позволяет косвенно оценивать активность АСП. У больных с уровнем аспарагина в ликворе более 1 мкмоль/л во время лечения АСП чаще развивался изолированный рецидив с поражением ЦНС [28]. Эти данные подтвердила и группа COALL (German Cooperative ALL). В условиях протокола COALL-06-97 у больных с низким и высоким риском ОЛЛ исследовали действие высокой дозы нативной АСП *E. coli* «Медак» ( $45\ 000$  МЕ/м<sup>2</sup> в виде двукратного и трехкратного введения для больных низкого и высокого риска соответственно) и ПЭГ-АСП Онкаспар<sup>TM</sup> ( $2500$  МЕ/м<sup>2</sup>; однократное внутривенное введение для обеих групп риска), их концентрацию в сыворотке крови, а также концентрацию аспарагина в сыворотке крови и ликворе. Оказалось, что максимальное (менее 0,2 мкмоль) снижение уровня аспарагина в ликворе достигалось при активности АСП более 100 МЕ/л. Средний уровень аспарагина 1,2 мкмоль наблюдался при уровне активности АСП 2,5—100 МЕ/л [29]. С. Rizzari и соавт. [30] также показали, что уровень аспарагина в ликворе менее 0,2 мкмоль достигается в большинстве случаев лишь при активности АСП более 100 МЕ/л [30]. К сожалению, в этом исследовании не сравнивали выживаемость больных в зависимости от снижения уровня аспарагина в ликворе, а также уровень аспарагина в ликворе в зависимости от групп риска. Остается нерешенным и вопрос, до какого именно уровня необходимо снизить аспарагин в ликворе, чтобы остановить развитие опухолевых клеток. V. Avramis и соавт. [31] в одном из исследований показали, что однократное внутримышечное введение ПЭГ-АСП в дозе  $2500$  МЕ/м<sup>2</sup> позволило достичь активности АСП более 100 МЕ/л до 24-го дня и снизить уровень аспарагина в ликворе менее 3 мкмоль на срок от 3 до 14 дней у 95% детей с впервые диагностированным ОЛЛ, а к 28-му дню терапии после повторного введения препарата концентрация аспарагина снижалась до 0,6 мкмоль. Исследователи из группы DCLSG (Dutch Childhood Leukemia Study Group) 24 больным с впервые выявленным ОЛЛ в режиме «окна» за 5 дней до начала полихимиотерапии внутривенно вводили Онкаспар<sup>TM</sup> и затем исследовали активность АСП в сыворотке крови и ликворе. Концентрация АСП более 100 МЕ/л удерживалась до 10-го дня, при этом максимальная средняя концентрация достигалась через 1 ч после введения Онкаспар<sup>TM</sup> и составляла  $744 \pm 132$  МЕ/л, а к 10-му дню снижалась до  $39 \pm 28$  МЕ/л [32]. В этом же исследовании была разработана методика количественной оценки уровня АСП в ликворе. Было выявлено, что активность АСП во всех пробах ликвора оказалась ниже минимально определяемого уровня ( $\leq 2,5$  МЕ/л). Уровень аспарагина в сыворотке крови у всех пациентов был также ни-

же минимально определяемого ( $\leq 0,2$  мкмоль), в то время как уровень аспарагина в ликворе во всех пробах в той или иной степени сохранялся: перед введением Онкаспар™ он составлял  $5,1 \pm 1,1$  мкмоль, снижаясь через 5 дней до  $1,58 \pm 0,66$  мкмоль и вновь повышаясь к 19-му дню до  $2,2 \pm 0,67$  мкмоль [32]. Следовательно, несмотря на достаточно высокую активность АСП и снижение уровня аспарагина в сыворотке крови, уровень аспарагина в ликворе сохранялся выше минимально определяемого.

Анализ результатов, полученных различными группами исследователей, позволяет заключить следующее:

— разные препараты АСП обладают различной активностью;

— при развитии аллергической реакции к нативной АСП *E. coli* необходимо произвести замену на альтернативную Эрвиназу, так как отмечена перекрестная выработка антител ко всем препаратам АСП, источником которой является *E. coli*;

— Эрвиназа не может использоваться как препарат 1-й линии для лечения детей с ОЛЛ;

— ПЭГ-АСП позволяет уменьшить число инъекций и снизить образование антител при назначении в индукции ремиссии, что может служить показанием для включения ее в 1-ю линию терапии детей, больных ОЛЛ;

— требуется обязательный мониторинг за уровнем аспарагина с целью выявления больных, у которых развивается инактивация ПЭГ-АСП без клинических проявлений;

— антитела к АСП после применения нативной АСП *E. coli* вырабатывались у трех из пяти больных с высоким риском ОЛЛ и только у одного пациента из пяти, получавших ПЭГ-АСП;

— вероятность достижения повторных ремиссий при ОЛЛ зависит от степени элиминации аспарагина и глутамина в сыворотке крови;

— наиболее эффективное дезаминирование аспарагина и глутамина происходило при активности АСП более  $0,4-0,7$  МЕ/л у всех детей с ОЛЛ;

— независимо от способа введения ПЭГ-АСП (внутривенно или внутримышечно) полной элиминации аспарагина в ликворе не происходит;

— АСП не проникает через гематоэнцефалический барьер, так как активность АСП ни в одной из проб ликвора не превышала  $2,5$  МЕ/л;

— уровень аспарагина в ликворе может поддерживаться изолированно и самостоятельно независимо от его синтеза в печени, а поступление аминокислот, участвующих в синтезе аспарагина, возможно из крови против градиента концентрации.

## Л и т е р а т у р а

- Kidd J.G. Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea-pig serum: I. Course of transplanted cancer of various kinds in mice and rats given guinea-pig serum, horse serum or rabbit serum. *J Exp Med* 1953;98:568—82.
- Sobin L.H., Kidd J.G. The incorporation of L-asparaginase-14C by lymphoma 6C3HED cells: its inhibition by guinea-pig serum. *Cancer Res* 1966;26(2):208—11.
- Sobin L.H., Kidd J.G. Alterations in protein and nucleic acid metabolism of lymphoma 6C3HED-og cells in mice given guinea-pig serum. *J Exp Med* 1966;123(1):55—74.
- Broome J.D. Antilymphoma activity of L-asparaginase in vivo: clearance rate of enzyme preparations from guinea-pig serum and yeast in relation of their effects on tumor growth. *J Natl Acad Sci U S A* 1965;35:967—74.
- Yellin T.O., Wriston J.C. Purification and properties of guinea-pig serum asparaginase. *Biochemistry* 1966;5:1605—12.
- Mashburn L.T., Wriston J.C. Tumor inhibitory effect of L-asparaginase from *Escherichia coli*. *Arch Biochem Biophys* 1964;105:451—2.
- Asselin B.L., Whitin J.C., Coppola D.J. et al. Comparative pharmacokinetic studies of three asparaginase preparation. *J Clin Oncol* 1993;11:1780—6.
- Khan A., Hill J.M. Atopic hypersensitivity to L-asparaginase: resistance to immunosuppression. *Int Arch Allergy Appl Immunol* 1971;40(3):463—569.
- Ertel I.J., Nesbit M.E., Hammond D. et al. Effective dose of L-asparaginase for induction of remission in previously treated children with acute lymphoblastic leukemia: a report from Childrens Cancer Study Group. *Cancer Res* 1979;39(10):3893—6.
- Albertsen B.K., Schroder H., Ingerslev J. et al. Comparison of intramuscular therapy with Erwinia asparaginase and asparaginase Medac: pharmacokinetics pharmacodynamics, formation of antibodies and influence on coagulation system. *Br J Hematol* 2001;96(5):983—90.
- Albertsen B.K., Jacobsen P., Schroder H. et al. Pharmacokinetics of Erwinia asparaginase after intravenous and intramuscular administration. *Cancer Chemother Pharmacol* 2001;48(1):77—82.
- Albertsen B.K., Schroder H., Jacobsen P. et al. Monitoring of Erwinia asparaginase therapy in childhood ALL in the Nordic countries. *Br J Clin Pharmacol* 2001;52:433—7.
- Sallan S.E., Hitchcock-Bryan S. Gelberg R. et al. Influence of intensive asparaginase in treatment of childhood non-T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Res* 1983;43(11):5601—7.
- Abshire T.C., Pollock B.H., Billet A.L. et al. Weekly polyethylene glycol conjugated L-asparaginase compared with biweekly dosing produces superior induction remission rates in childhood relapsed acute lymphoblastic leukemia leukemia: a Pediatric Oncology Group Study. *Blood* 2000;96(5):1709—15.
- Hawkins D.S., Park J.R., Thomson B.G. et al. Asparaginase pharmacokinetics after intensive polyethylene glycol-conjugated L-asparaginase for children with relapsed acute lymphoblastic leukemia. *Clin Cancer Res* 2004;10(16):5335—41.
- Holcenger J.S., Teller D.C. Physical properties of antitumor glutaminase-asparaginase from *Pseudomonas* 7A. *J Biol Chem* 1976;251(17):5375—80.
- Avramis V.I., Sencer S., Periclou A.P. et al. Randomized comparison of native *Escherichia coli* asparaginase and polyethylene glycol conjugated asparaginase for treatment of children with newly diagnosed standard-risk acute lymphoblastic leukemia: a Children's Cancer Study Group. *Blood* 2002;99(6):1986—94.
- Panosyan E.H., Seibel N.L., Gaynon P.S. et al. Asparaginase antibody and asparaginase activity in childhood in higher risk acute lymphoblastic leukemia: Children's Cancer Group Study CCG-1961. *J Pediatr Hematol Oncol* 2004;26(4):217—26.
- Asselin B.L., Whitin J.C., Coppola D.J. et al. Comparative pharmacokinetic studies of three asparaginase preparations. *J Clin Oncol* 1993;11(9):1780—6.
- Boos J., Werber G., Ahlke E. et al. Monitoring of asparaginase activity and asparagine levels in children with different asparaginase preparations. *Eur J Cancer* 1996;32A(9):544—50.
- Ahlke E., Nowak-Gottl U., Schultze-Westhoff P. et al. Dose reduction of asparaginase under pharmacokinetic and pharmacodynamic control during induc-

tion therapy in children with acute lymphoblastic leukemia. *Br J Hematol* 1997;96:675–81.

22. Muller H.J., Loning L., Horn A. et al. Pegylated asparaginase (Oncaspar™) in children with ALL: drug monitoring in reinduction according to the ALL/NHL-BFM 95 protocols. *Br J Hematol* 2000;110:379–84.

23. Vieira Pinheiro J.P., Ahlke E., Nowak-Gottl U. et al. Pharmacokinetic of dose adjustment of Erwinia asparaginase in protocol II of the pediatric ALL/NHL-

cols. *Cancer Chemother Pharmacol* 2002;49:149–54.

26. Gaynon P.S., Harris R.E., Stram S.O. et al. Asparagine (ASN) depletion and treatment response in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) after an early marrow relapse: a Children's Cancer Group trial (CCG-1941) [abstract]. *Blood* 1999;94(10 Suppl 1):628a.

27. Panosyan E., Avramis I.A., Seibel N.L. et al. Glutamine (Gln) deamination by asparaginases (ASNases) in children with high risk acute lymphoblastic leukemia

sion of 2,500 U/m<sup>2</sup> PEG asparaginase in children with ALL treated according to protocol COALL-06-97. *Pediatr Blood Cancer* 2006;46:18–25.

30. Rizzari C., Zucchetti M., Conter V. et al. L-Asparagine depletion and L-asparaginase activity in children with acute lymphoblastic leukemia receiving i.m. or i.v. Erwinia C or E. coli L-asparaginase as the first exposure. *Ann Oncol* 2000;11(2):189–93.

31. Avramis V.I., Senser S., Periclou A.P. et al. A randomized comparison of native