

UNIVERSITÄTSKLINIKUM HAMBURG-EPPENDORF

Klinik und Poliklinik für Pädiatrische Hämatologie und Onkologie

Direktor der Einrichtung: Prof. Dr. med. Stefan Rutkowski

Untersuchungen zur Inzidenz und Klinik allergischer Reaktionen auf Asparaginase und ihren Einfluss auf die Effektivität der Asparagindepletion in der Behandlung der akuten lymphatischen Leukämie des Kindesalters im Rahmen der COALL Protokolle

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

vorgelegt von:

Marie Alice von Strachwitz geb. Rothlaender
aus Hamburg

Hamburg 2021

Angenommen von der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 21.03.2022

Veröffentlicht mit Genehmigung der

Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg.

Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. Johanna Brandner

Prüfungsausschuss, zweite/r Gutachter/in: Prof. Dr. Martin Horstmann

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	4
2	Fragestellungen der Dissertation	6
3	Akute lymphatische Leukämie	7
3.1	Therapie der akuten lymphatischen Leukämie	9
4	L-Asparaginase	11
4.1	Geschichte der Asparaginase in der antineoplastischen Therapie	11
4.2	Pharmakologie	12
4.3	Klinische Bedeutung der Asparaginase in der Therapie der ALL	14
4.4	Aktuelle Asparaginase Präparate (C-ASP, PEG, Erwinase®) und ihre pharmakologischen Eigenschaften	16
4.5	Toxizitäten	17
4.6	Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)	22
5	Material und Methoden	24
5.1	Therapieprotokolle	24
5.2	Quellen zur Erhebung der Klinik	26
5.3	Durchführung der Auswertung und Vergleich der Symptome	27
5.4	Probengewinnung	28
5.5	Methodik der Laboranalytik	29
6	Ergebnisse	34
6.1	Patientenkollektiv COALL 07-03- und 08-09 Studie	34
6.2	Auswertung der Toxizitätsbögen, Häufigkeit allergischer Reaktionen auf C-ASP und PEG-ASP in der COALL 07-03 Studie	36
6.3	Auswertungen nach allergischer Reaktion auf C-ASP	37
6.4	Auswertungen nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP	44
6.5	Auswertung der Verträglichkeit und Wirksamkeit der Erwinase als therapeutische Alternative nach vorangegangener allergischer Reaktion auf C-ASP/PEG-ASP	50
6.6	Stille Inaktivierung	55
7	Diskussion	57
8	Zusammenfassung	63
8.1	Summary	64
I.	Abkürzungsverzeichnis	IV
II.	Literaturverzeichnis	VI
III.	Tabellenverzeichnis	XVIII
IV.	Abbildungsverzeichnis	XIX
V.	Anhang	XX
A.	Teilnehmende Kliniken	XX
B.	Protokollblätter	XXII
C.	Probenbegleitbögen	XXXV
VI.	Danksagung	XXXVIII
VII.	Lebenslauf	XXXIX
VIII.	Eidesstattliche Versicherung	XL

1 Einleitung

Die Asparaginase (ASP) ist ein wichtiger Bestandteil der Therapie der akuten lymphatischen Leukämie (ALL). Die ALL ist eine maligne Erkrankung des blutbildenden Systems. Mit 3,3 Erkrankungen/100.000 Einwohner <15 Jahre und einem Anteil von ca. 30% ist die ALL die häufigste Krebserkrankung im Kindesalter. Leukämie ist charakterisiert durch die Proliferation unreifer hämatopoetischer Zellen, welche die normale Blutbildung im Knochenmark verdrängen und extramedullär Organe infiltrieren (Eggert, 2016).

Die Asparaginase ist ein aus Bakterien gewonnenes Enzym, weltweit ein fester Bestandteil in der Behandlung der ALL des Kindesalters, und wird inzwischen auch in einigen Erwachsenen-Protokollen verwendet. Unterschieden werden seit vielen Jahren die aus *Escherichia coli* gewonnene Asparaginase, die E.coli-Asparaginase, eine an Polyethylen gekoppelte L-Asparaginase, die PEG-Asparaginase, und die sogenannte Erwinase, die aus *Erwinia chrysanthemi* (Erwinia) gewonnen wird.

Eine Herausforderung während der Therapie mit Asparaginase stellt das Auftreten von Komplikationen dar, dies beinhaltet das Auftreten von allergischen Reaktionen. Treten diese unter der Applikation von Asparaginase auf, führt dies in der Regel zu einer Inaktivierung der Asparaginase und damit zum Wirkverlust. Ein weiterer therapeutischer Einsatz von Asparaginase ist somit häufig nicht möglich. Es kann jedoch auch zu einer sogenannten „stillen Inaktivierung“ kommen. Dabei werden neutralisierende Antikörper gebildet mit der Folge einer reduzierten Asparaginase-Aktivität. Außerdem sind sogenannte Allergie-ähnliche Reaktionen im Rahmen der Asparaginase-Gabe beschrieben, ohne dass eine Inaktivierung der Asparaginase stattfindet.

Treten nicht tolerierbare Nebenwirkungen oder eine stille Inaktivierung während der Asparaginase-Therapie auf, haben die behandelten Kinder und Jugendliche mit ALL eine schlechtere Prognose (Silverman, 2001), (Vrooman, 2013), (Panosyan, 2004). Dies zeigt zum einen die Komplexität der unterschiedlich auftretenden Reaktionen auf die Asparaginasetherapie, zum anderen die Bedeutung, für den Patienten eine individuell adäquate Asparaginasetherapie zu entwickeln.

Ziel dieser Arbeit war die Untersuchung der klinischen Eigenschaften der allergischen Reaktionen der einzelnen Asparaginase-Präparate, sowie der Verlauf der Asparagindepletion nach Auftreten einer allergischen Reaktion. Insbesondere wurde die Wirksamkeit der Erwinase als therapeutische Alternative untersucht. Außerdem wurde das Auftreten der stillen Inaktivierung erfasst. In Bezug auf die COALL 07-03 Studie wurde die Häufigkeit allergischer Reaktionen auf die native E.coli-Asparaginase und die PEG-Asparaginase erhoben. Des Weiteren wurde

Einleitung

geprüft, ob durch den frühzeitigen Einsatz der PEG-Asparaginase die Häufigkeit der allergischen Reaktionen reduziert werden kann.

2 Fragestellungen der Dissertation

In der Klinik für pädiatrische Hämatologie und Onkologie des UKE werden jährlich ca. 25-30 Kinder mit akuter lymphatischer Leukämie gemäß der COALL-Studie behandelt. In dieser Arbeit wurden retrospektiv die Daten von Patienten, die gemäß der COALL Studie 07-03 und -08-09 behandelt wurden, im Hinblick auf folgende Fragestellungen analysiert:

1. Häufigkeit und Therapiezeitpunkt allergischer Reaktionen auf Asparaginase (C-ASP und PEG-ASP) in der COALL Studie 07-03. Ist es möglich durch den frühzeitigen Einsatz von PEG-ASP anstelle von C-ASP die Häufigkeit der allergischen Reaktionen, während der Asparaginase-Therapie zu reduzieren (COALL 07-03 Studie)?
2. Welche klinischen Symptome einer allergischen Reaktion treten bei der Asparaginase (C-ASP, PEG-ASP und Erwinase) auf?
3. Tritt die Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf, bei welcher Gabe und wie lange hält sie an?
4. Wie ist die Wirksamkeit von Erwinase, welche aufgrund einer vorangegangenen allergischen Reaktion auf native und pegylierte C-ASP als therapeutische Alternative verabreicht wurde, im Sinne der Asparagindepletion.
5. Wie häufig entwickelt sich eine stille Inaktivierung der Asparaginase?

3 Akute lymphatische Leukämie

Die akute Leukämie ist die häufigste maligne Erkrankung im Kindesalter (1800 Erkrankungen jährlich bei Kindern und Jugendlichen, ca. 30,3% aller bösartigen Erkrankungen im Kindesalter) (National Cancer Institute, 2016). Die Überlebensraten für die ALL haben sich seit den 80er Jahren dramatisch verbessert, aktuell liegt die 5-Jahres-Überlebensrate bei über 85%, die Prognose ist gut (90% Langzeitüberlebende, mindestens 15 Jahre). Hingegen sind die akute myeloischen Leukämien deutlich seltener und haben eine schlechtere Prognose (71% Langzeitüberlebende) (Escherich, 2010), (Kaatsch, 2018), (Pui, 2009).

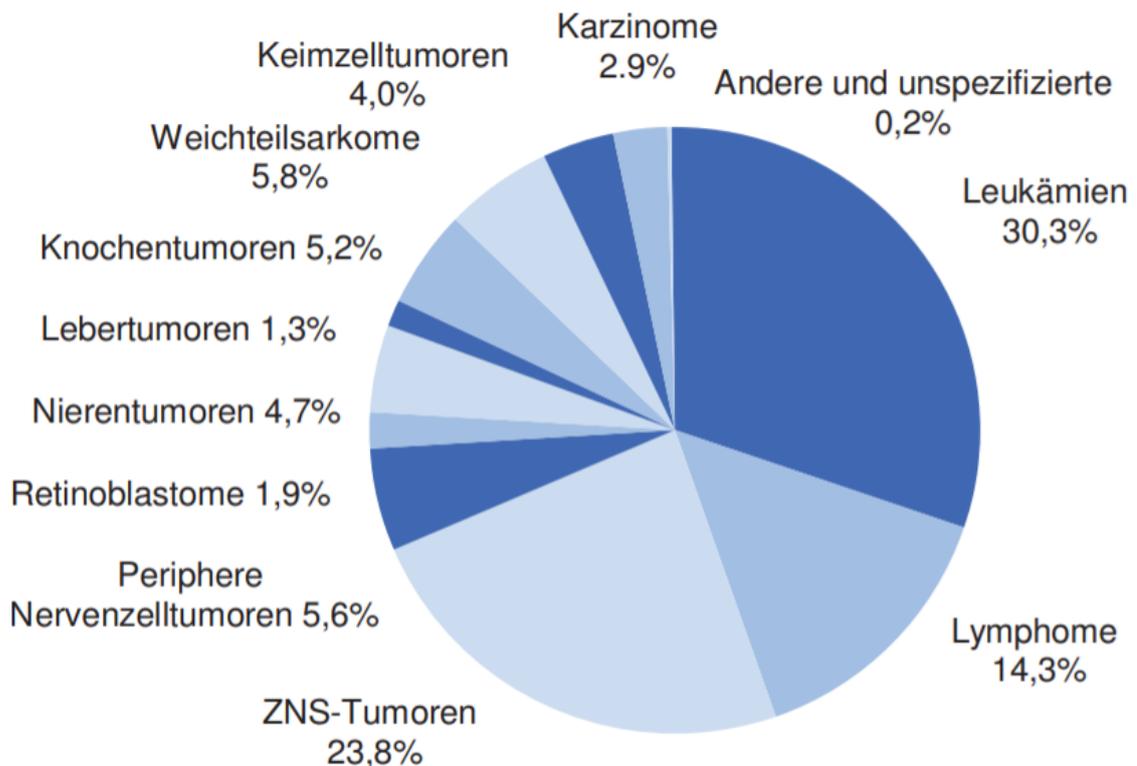


Abbildung 1: Relative Häufigkeiten der an das Deutsche Krebsregister gemeldeten Erkrankungsfälle nach Diagnose-Hauptgruppen 2009-2016, basierend auf insgesamt 16964 unter 18-jährigen Patienten (Kaatsch, 2018)

Die Verbesserung der Überlebensrate wird zurückgeführt auf die Einführung standardisierter Therapieprotokolle, sowie verbesserter Stratifizierung und Supportivtherapien.

Die ALL tritt am häufigsten zwischen dem zweiten und fünften Lebensjahr auf. Jungen sind minimal häufiger betroffen als Mädchen mit einem Verhältnis von 1,2:1 (Gadner, 2006).

In den meisten Fällen hängt die Ursache der ALL nicht mit genetischen oder umweltbedingten Risikofaktoren zusammen. Allerdings sind einige genetische Syndrome und Immundefekte (Down-Syndrom, Neurofibromatose Typ 1, Bloom Syndrom, Louis-Bar-Syndrom) mit einem erhöhten Risiko für die ALL verbunden (Gurney, 2001), (Buffler, 2005).

Bei der ALL kommt es zu einer malignen klonalen Neoplasie der lymphatischen hämatopoetischen Zelle: Aus noch nicht ganz geklärt Ursache tritt ein Differenzierungsstopp der Vorläuferzellen auf, der zur Verdrängung der normalen Hämatopoese und Ausschwemmung unreifzelliger Blasten ins Blut führt. Die Folgen sind Anämie, Thrombozytopenie und Granulozytopenie (Escherich G., 2016).

Durch die Knochenmarksinsuffizienz treten Symptome auf wie Infektanfälligkeit infolge der Granulozytopenie, Entzündungen an den Haut- und Schleimhautübergängen sowie Pilzinfektionen. Zeichen der Anämie sind Blässe, Dyspnoe und Müdigkeit. Eine Thrombozytopenie äußert sich in Blutungsneigungen und Petechien. Allgemeinsymptome mit unterschiedlich langer Anamnese sind Fieber, Nachtschweiß, Abgeschlagenheit. Des Weiteren können sich Kopfschmerzen, Lymphknotenschwellungen, eine Hepatosplenomegalie und Gelenkschmerzen zeigen (Escherich G., 2016).

Die Diagnosesicherung erfolgt unter anderem durch Zytologie, Immunphänotypisierung, Zytogenetik und Molekulargenetik. Für die morphologische Untersuchung werden Nativ-Blut- und Knochenmarksausstriche verwendet. Definitionsgemäß muss der Anteil der Lymphoblasten im Knochenmark über 25% betragen (Escherich G, 2016). Im Rahmen der Immunphänotypisierung findet die Einteilung der verschiedenen Formen der ALL mit Hilfe von Oberflächenmarkern und zytoplasmatischen Markern statt, dies hat sowohl prognostische als auch therapeutische Konsequenzen. Molekulargenetisch spielen Translokationen wie das Philadelphia-Chromosom t(9/22) eine bedeutende Rolle für Prognose und Stratifizierung innerhalb der Therapieschemata (Yunis, 1986). Mithilfe einer vor etwa zwei Jahrzehnten entwickelten molekulargenetischen Nachweismethode, der sogenannten „minimal residual disease“ (MRD), können sehr kleine Mengen maligner Zellen, insbesondere mittels Polymerasekettenreaktion (PCR), erfasst werden. Die MRD-Diagnostik dient der Überwachung des Therapieansprechens und der Remissionstiefe. Ein Verfahren zum Nachweis der MRD erfolgt mit Hilfe der PCR-Technik. Mit Hilfe dieser Technik werden klonenspezifische Verknüpfungsregionen von Immunglobulin (Ig) und T-Zell-Rezeptor (TCR)-„Rearrangements“ analysiert. Diese Methode ist in den europäischen ALL-Studien am weitesten verbreitet, da sie eine besonders hohe Sensitivität aufweist. Man geht davon aus, dass jede ALL von einzelnen Lymphozyten-Vorläuferzellen abstammt und somit alle Leukämien durch ein jeweils individuelles, klonenspezifisches Muster von Ig- beziehungsweise TCR-„Rearrangements“ charakterisiert sind. Mit Hilfe dieser Patientenspezifischen „Primer“ ist eine PCR-basierte Messung der residuellen Leukämiebelastung möglich (Bartram, 2012), (van der Does-Van den Berg, 1992), (van Dongen, 1998), (Schrappe, 2014) (Escherich, 2016).

3.1 Therapie der akuten lymphatischen Leukämie

99,7% der Kinder, die an ALL erkranken (laut Angaben des Deutschen Kinderkrebsregisters Mainz), werden im Rahmen von Therapieoptimierungsstudien in Deutschland behandelt (Yiallourous, 2013). Bis in die sechziger Jahre hinein waren die Heilungschancen bei Kindern und Jugendlichen mit Leukämien sehr gering. 1970 wurde mit der Entwicklung einer Kombinations-Chemotherapie begonnen. Damit konnte die Überlebensrate der Patienten Schritt für Schritt verbessert werden. Die ersten klinischen Studien wurden in Berlin, Frankfurt und Münster durchgeführt. 1978 resultierten hieraus die BFM-Protokolle. Das erste COALL-Protokoll (Cooperative ALL-Studien, siehe Abschnitt Therapieprotokolle 5.1) wurde 1980 aus der Arbeitsgemeinschaft Leukämie im Kindesalter entwickelt (Yiallourous, 2013).

Im Rahmen der intensiven Polychemotherapie werden folgende Abschnitte unterschieden: Vorphase, Induktion, Konsolidierung, Reinduktion und schließlich Dauertherapie. Ziel der Polychemotherapie ist es, durch die Kombination mehrerer antineoplastisch wirksamer Substanzen die leukämischen Blasten zurückzudrängen und eine komplette Remission des Knochenmarks zu erreichen. Die Durchführung orientiert sich an den Empfehlungen des jeweils gültigen Therapieprotokolls (Escherich, 2016). Die Intensität der Chemotherapie wird anhand einer komplexen Risikostratifizierung festgelegt (Mörücke, 2008). Bei den COALL-Therapieprotokollen werden Patienten anhand sogenannter traditioneller Parameter, (periphere Leukozytenzahl, Alter und immunologischer Subtyp bei Diagnosestellung) in die Low-Risk (LR) und High-Risk (HR) Therapiegruppen eingeordnet. Eine zweite Einteilung (Stratifizierung) erfolgt am Ende der Induktion, sowie anhand der molekulargenetischen und zytogenetischen Charakteristika. Alle Patienten mit MLL-Rearrangement oder hypodiploiden Karyotyp werden dem HR-Zweig zugeordnet, unabhängig von weiteren Charakteristika. BCR/ABL-positive Patienten werden nach einem für diese Entität spezifischen Protokoll behandelt – dem EsPhALL (European study for philadelphia positive ALL) – Protokoll.

Diese Risikostratifizierung ermöglicht eine Reduktion der Therapie bei Patienten mit einer guten Prognose, da sie sehr gut in-vivo auf die Induktionstherapie – gemessen mit MRD – ansprechen. Hingegen erhalten Patienten mit einem unzureichenden Therapieansprechen eine Therapieintensivierung.

Die Induktion hat zum Ziel, die Hauptleukämiebelastung zu reduzieren und eine Remission, definiert mit < 5% Blasten im Knochenmark, zu erreichen. Im Rahmen der COALL-Protokolle wird eine Dreimitteltherapie mit Prednisolon, Vincristin und Daunorubicin verwandt. Asparaginase wird hier noch nicht gegeben. Ist eine komplette Remission erreicht, folgt die Konsolidierungsphase, welche in der Regel vier bis acht Monate dauert. In dieser Phase werden Zytostatika-Kombinationen verwandt, die einen anderen Wirkungsmechanismus haben als die vorher verabreichten. In dieser Therapiephase sowie in der Reinduktion wird die Asparaginase verabreicht. Wichtiger Bestandteil der Konsolidierungsphase ist außerdem die präventive ZNS-Behandlung. Die anschließend folgende

Akute lymphatische Leukämie

Reinduktionsphase dauert ein bis vier Monate. Im Anschluss an die Reinduktionsphase erfolgt eine Dauertherapie mit 6-Mercaptopurin und Methotrexat bis zu 2 Jahre nach Diagnosestellung. Die gesamte Therapie hat das Ziel das Rezidivrisiko zu minimieren (Escherich G, 2016).

4 L-Asparaginase

Die Asparaginase ist ein aus Bakterien gewonnenes Enzym und weltweit ein fester Bestandteil der Therapieprotokolle zur Behandlung der ALL im Kindesalter. Die Asparaginase-Therapie bewirkt eine enzymatische Spaltung der Aminosäure L-Asparagin in Asparaginsäure und Ammoniak.

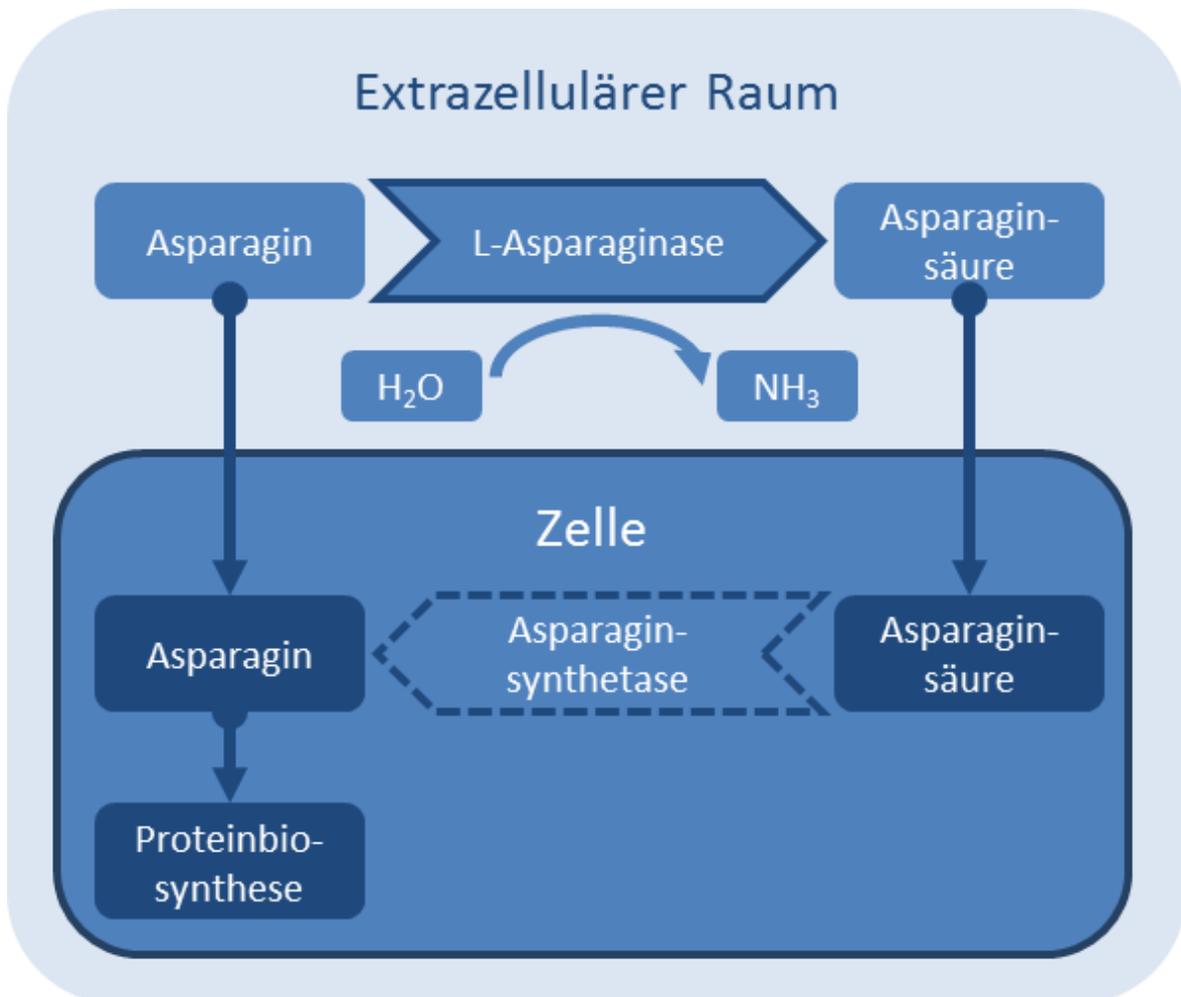


Abbildung 2: L-Asparaginase

4.1 Geschichte der Asparaginase in der antineoplastischen Therapie

1953 beobachtete der US-Wissenschaftler John G. Kidd im Rahmen von Tierversuchen, dass sich Lymphome bei Mäusen und Ratten durch die bloße Gabe von Meerschweinchenserum zurückbildeten. Dieser Effekt trat nicht nach Gabe von Pferde-/ Känninchenserum auf. Damit zeigte Kidd, dass Meerschweinchenserum eine antiproliferative Wirkung aufweist. Kidd führte diese Untersuchungen durch, um herauszufinden, ob Lymphome auf eine Immuntherapie ansprechen (Kidd, 1953).

Von dieser Entdeckung ausgehend zeigte Broome zehn Jahre später, dass nicht das Komplementsystem die Ursache für die antiproliferative Wirkung war, sondern

L-Asparaginase. Diese ist in sehr hohen Konzentrationen in Meerschweinchenserum enthalten (Broome, 1963). Die L-Asparaginase katalysiert die Hydrolyse der nicht essenziellen Aminosäure L-Asparagin zu L-Asparaginsäure und Ammoniak (Broome, 1963). Dabei findet während der enzymatischen Reaktion eine Spaltung der Ester- und Amid-Verbindungen von Asparagin statt. Durch Abspaltung von Ammoniak und Wasser entsteht Asparaginsäure (Nakamura, 1971). Haley et al. zeigten, dass die L5178Y-Leukämiezellen von Mäusen L-Asparagin für das in vitro Wachstum benötigen (Haley, 1961).

Diese Beobachtungen führten zu der Schlussfolgerung, dass leukämische Blasten im Gegensatz zu gesunden Zellen nicht in der Lage sind, genug L-Asparagin für ihren eigenen Stoffwechsel zu synthetisieren und somit Asparagin für Leukämiezellen eine essenzielle Aminosäure ist. Dies konnte auch bei anderen Neoplasien wie z.B. dem „Walker Carcinosarcoma 256“ gezeigt werden (Haley, 1961). Später wurde gezeigt, dass Leukämiezellen keine fehlende, aber eine deutlich niedrigere Asparaginsynthetase-Aktivität als gesunde Zellen aufweisen (Haskell, 1969). Dies bestätigte die Beobachtung, dass Leukämiezellen abhängig sind von der extrazellulären Verfügbarkeit von Asparagin (Miller, 1969), (Ohnuma, 1970). Ohne extrazelluläre Versorgung von L-Asparagin ist es den Leukämiezellen nicht möglich, die Proteinbiosynthese aufrecht zu erhalten, so dass sie zugrunde gehen, und es zur Apoptose kommt. Bei diesem Vorgang handelt es sich um eine weitgehend selektive Störung des Tumorzell-Metabolismus (Haskell, 1969), (Ueno, 1997).

Die Herstellung größerer Mengen Asparaginase aus Meerschweinchenserum gestaltete sich zunächst schwierig, dann wurde es möglich, größere Mengen des Enzyms (L-Asparaginase) aus E.coli- Bakterien herzustellen und zu verwenden. Eine Serie von präklinischen und klinischen Studien begann (Campbell, 1967) (Ho, 1970), (Whelan & Wriston, 1969).

Mikroorganismen wie *Serratia mercenscens* und *Vibrio succinogenes* besitzen ebenfalls antitumorwirksame Eigenschaften wie die Asparaginase (Wade, 1968), (Distasio, 1976), jedoch hat ausschließlich die native L-Asparaginase, die aus verschiedenen E.coli-/ *Erwinia-chrysanthemi*-Stämmen gewonnen wird, Bedeutung und Verwendung für den klinischen Gebrauch bekommen.

4.2 Pharmakologie

Die native, aus *E. coli* isolierte Asparaginase besteht aus vier identischen Untereinheiten mit jeweils einem aktiven Zentrum. Sie hat ein Molekulargewicht von 138000-141000 Dalton. Die Asparaginase, die aus *Erwinia chrysanthemi* isoliert wird (die „Erwinase“), hat ein Molekulargewicht von 138000 Dalton. Beide Enzyme zeigen eine hohe Aktivität und Stabilität. Die hydrolytische Aktivität wird nicht durch hohe Konzentrationen von Asparaginsäure oder Ammoniak gehemmt.

Die aus *E.coli* und *Erwinia* isolierten Enzyme unterscheiden sich in ihrem isoelektrischen Punkt und besitzen eine mittlere immunologische Kreuzreaktivität (Capizzi, 1981), (Capizzi, et al., 1971), (Cooney, 1970), (Miller, 1969), (Whelan & Wriston, 1969), (Wriston, 1985).

Tabelle 1: Daten entsprechend nach (Asselin, 1995), (Holcenberg, 1977), (Wriston, 1973). ASN, Asparagin; GLN, Glutamin.

Ursprung	molekulares Gewicht (Da)	K_m (μM) ASN	K_m (mM) GLN	isoelektrischer Punkt (pH)
<i>E.chrysanthemi</i>	138000	12	1,10	8,7
<i>E.coli</i>	141000	10	6,25	5,0
PEG- <i>E.coli</i>	145000	10	Daten fehlen	5,0

Um die bei der C-ASP häufig auftretende Immunogenität zu verringern, wurde eine Methode gesucht, mit der dies vermieden werden konnte (Kamisaki, 1981). Die Pegylierung, bei welcher die Asparaginase mit Polyethylenglykol (PEG) konjugiert wird, erwies sich als machbare und wirksame Methode. Hierbei werden kettenförmige Strukturen an den Wirkstoff gebunden, die diesen annähernd komplett umhüllen und somit gegen den vorzeitigen Abbau durch Antikörper schützen (Abuchowski, 1977). Durch die kovalente Bindung von Monomethoxy-Polyethylenglykol an die *E.coli*-Asparaginase sind die antigenen Determinanten geschützt. Die PEG-ASP hat ein Molekulargewicht, das nur gering höher ist als die native Form (zuzüglich 5000 Dalton). Die optimalen Bedingungen für die enzymatische Reaktion der PEG-ASP sind vergleichbar mit den Bedingungen für native C-ASP (Duncan, 1994), (Wada, 1990), (Werber, 1997), (Yoshimoto, 1986). Aufgrund einer längeren Halbwertszeit wird die PEG-ASP in einer niedrigeren Dosierung verabreicht (Graham, 2003).

Die Asparaginase zeigt nur eine relative Substratspezifität. Das bedeutet: Neben der Asparaginase-Aktivität besteht auch eine Glutaminase-Aktivität (Hydrolyse des Glutamins in Ammoniak und Glutaminsäure). Bei der C-ASP liegt die Höhe der Glutaminase-Aktivität jedoch nur bei 2-5% im Vergleich zur Asparaginase-Aktivität. Dem gegenüber weist die Erwinase mit ca. 10% eine deutlich höhere Glutaminase-Aktivität auf (Miller, 1969), (Narta, 2007), (Wriston, 1973). Die Michaelis-Menten-Konstante „ K_m “ für Glutamin ist etwa um das 100-fache höher als die von Asparagin. Das hat zur Folge, dass hohe Dosen von L-Asparaginase auch zu einer Depletion von L-Glutamin im Serum führen können (Miller, 1969), (Müller, 1998). Dabei entstehen zusätzlich hohe Mengen an Ammoniak und Glutaminsäure (Müller, 1998), (Ettinger, 1997), (Nowak-Göttl, 1994), (Sutor, 1992).

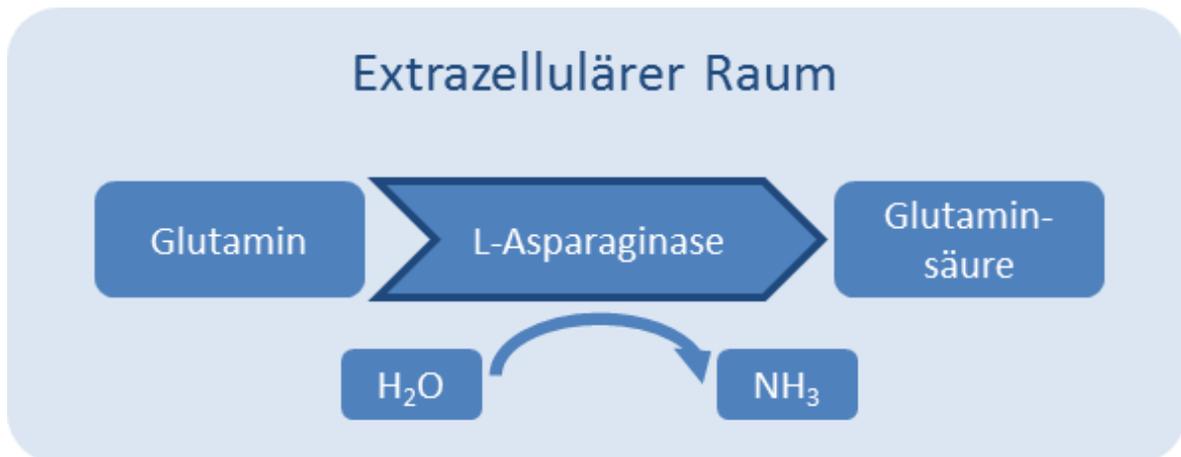


Abbildung 3: Glutaminase-Aktivität

Stoffwechsel und Abbau des L-Asparaginase-Proteins sind nicht eindeutig geklärt. Ohnuma et al. zeigten in ihrer Untersuchung zu pharmakologischen und biochemischen Eigenschaften der C-ASP, dass die initiale Clearance der Asparaginase aus dem Plasma der 1. Reaktions-Ordnung mit einer Halbwertszeit von 14-22 Stunden folgt (Ohnuma, 1970).

Es wird vermutet, dass die Asparaginase über das retikuloendotheliale System abgebaut wird. Broome et al. wiesen nach, dass nur eine niedrige Enzymaktivität in der Milz und im Serum (bei Mäusen) 24-Stunden nach Asparaginase-Gabe herrschte, jedoch eine hohe hepatische Enzymaktivität. Hall beobachtete schnell fallende Plasmaaktivitäten bei der C-ASP, ebenso auch bei der Erwinase, und folgerte, dass der Abbau hauptsächlich über das retikuloendotheliale System der Leber erfolgt (Broome, 1968) (Hall, 1970).

4.3 Klinische Bedeutung der Asparaginase in der Therapie der ALL

Bereits 1960 wurde die Therapie mit bakterieller Asparaginase in die Induktions- und Konsolidierungsphase der akuten lymphatischen Leukämie eingeführt. Das führte zu einer erheblichen Verbesserung der therapeutischen Ergebnisse. Jaffe et al. beschrieben eine komplette Remission bei 7 von 29 Patienten (20%) unter Einzeltherapie mit Asparaginase und bei zwei weiteren Patienten eine komplette Remission durch eine Kombinationstherapie mit Asparaginase und Prednison (Jaffe, 1971). Nesbit et al. zeigten 1979, dass sich bei Einsatz der Asparaginase in der Konsolidierungsphase die Dauer der Remission um ein Drittel verlängerte (Nesbit, 1979).

Sallan et al. zeigten in einer Studie, dass hohe Asparaginase-Dosen ausschlaggebend sind für den Therapieerfolg der Behandlung der ALL im Kindesalter.

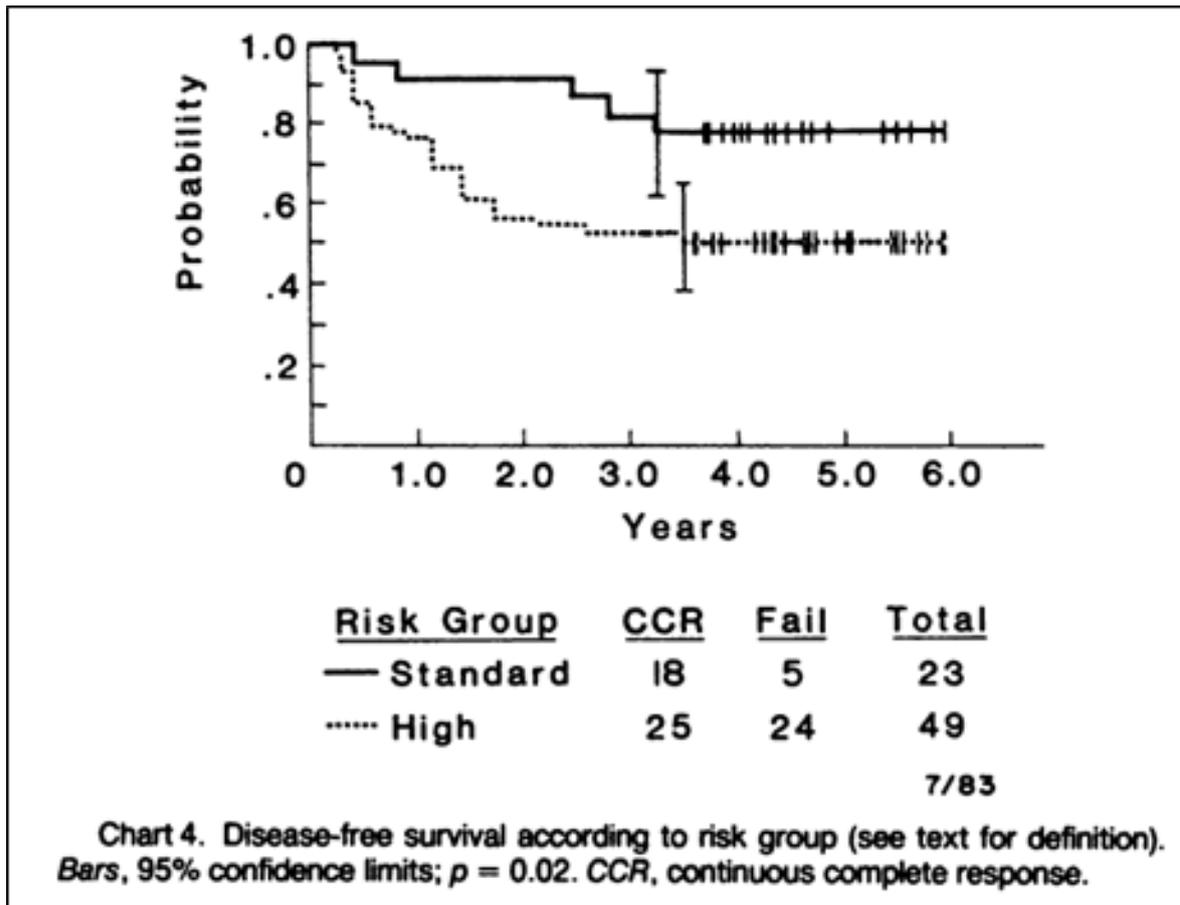


Abbildung 4: (Sallan, 1983)

Des Weiteren zeigten Sallan et al., dass die höchste krankheitsfreie Überlebensrate (86%) Standardrisiko-Patienten hatten, die wöchentlich Asparaginase erhielten (Sallan, 1983).

Auch Desai et al. führten eine entsprechende Studie bei 226 Kindern mit akuter Leukämie und Non-Hodgkin-Lymphomen durch. Die Rate für das krankheitsfreie 5-Jahres-Überleben lag bei den mit Asparaginase behandelten Patienten bei 76%, bei der Kontrollgruppe bei 62%. Die Kontrollgruppe hatte keine Asparaginase erhalten, sondern eine auf Cytarabin-basierte Therapie während der Konsolidierungsphase. Gemäß einer Multivariat-Analyse war dabei die Therapie mit Asparaginase statistisch der einzige wesentliche Unterschied zwischen den beiden Therapiegruppen (Desai, 1997). Es konnte in mehreren Studien gezeigt werden, dass der verstärkte Einsatz der Asparaginase das ereignisfreie Überleben bei Kindern mit ALL um 10-15% erhöht (Amylon, 1999), (Duval, 2002), (Moghrabi, 2007), (Pession, 2005), (Rizzari, 2001), (Silverman, 2001), (Sirvent, 2011).

Ziel der Asparaginase-Therapie ist es, eine Asparagindepletion im Serum zu erreichen. Um eine vollständige Asparagindepletion über einen Zeitraum von zwei bis drei Wochen zu erreichen, wird im klinischen Alltag als untere Grenze der Asparaginase-Aktivität ein Wert von ≥ 100 U/l angestrebt (Appel, 2008). Eine komplette Asparagindepletion wird weniger häufig bei Enzymkonzentrationen unter diesem Spiegel beobachtet (Albertsen, 2001), (Rizzari, 2000). Rizzari et al.

berichteten jedoch auch von Asparaginase-Talspiegeln unter 50IU/l, die zu einer Asparagindepletion im Serum und Liquor führten (Rizzari, 2000).

Riccardi et al. zeigten, dass die Asparaginase geringfügig in den Liquor penetriert. Die Asparagindepletion im Liquor wird auf die systemische Wirkung der Asparaginase durch den damit verbundenen verminderten Transport von Asparagin durch die Blut-Hirn-Schranke zurückgeführt. In ihren Untersuchungen hierzu zeigten Riccardi et 1981, dass eine komplette Depletion von Asparagin im Liquor bei Asparaginase-Aktivitäten im Serum von ≥ 100 U/l ausreichend sind (Riccardi, 1981).

4.4 Aktuelle Asparaginase Präparate (C-ASP, PEG, Erwinase®) und ihre pharmakologischen Eigenschaften

Aktuell stehen folgende Asparaginase-Präparate zur Verfügung: Die native E.coli-Asparaginase (medac®, Kidrolase®, Paronal®), die monovalente polyethylenglykol-konjugierte Form (Oncaspar®), sowie die aus Erwinia chrysanthemi isolierte Asparaginase (Erwinase®) (Tong, 2014). In Deutschland stehen alle 3 Präparate zur Verfügung. Die Asparaginase wird im Rahmen des Therapieprotokolls (siehe 5.1) intravenös (i.v.) oder intramuskulär (i.m.) verabreicht. In einigen Ländern erfolgt die Applikation auch subkutan (s.c.). Aufgrund von fehlender gastrointestinaler Absorption ist eine orale Gabe nicht möglich.

Neben den unterschiedlichen Glutaminase-Aktivitäten (siehe oben) unterscheiden sich die Präparate deutlich hinsichtlich der durchschnittlichen Halbwertszeit in Abhängigkeit vom Applikationsweg. Zudem ist die Erwinase sehr viel teurer und weniger gut verfügbar (Tong, 2013).

In den folgenden Tabellen sind die unterschiedlichen Halbwertszeiten ($t_{1/2}$) der verschiedenen Asparaginase-Präparate nach i.v. Gabe und die Halbwertszeiten nach i.m. Gabe dargestellt:

Tabelle 2: Pharmakokinetische Eigenschaften der verschiedenen L Asparaginase-Präparate (Albertsen, et al., 2001, Ho, 1981, Haskell, 1969)

	Erwinase	C-ASP	PEG-ASP
Halbwertszeit $t_{1/2}$ (Tage \pm SD)	0,26 (\pm 0,20)	0,29 – 1,17	14,88 (\pm 10,13)

Tabelle 3: Pharmakokinetische Eigenschaften der verschiedenen L Asparaginase-Präparate nach i.m. Gabe (Asselin, et al., 1993)

	Erwinase	C-ASP	PEG-ASP
Halbwertszeit $t_{1/2}$ (Tage \pm SD)	0,65 (\pm 0,13)	1,28 (\pm 0,35)	5,73 (\pm 3,24)

Aufgrund dieser unterschiedlichen pharmakologischen Eigenschaften werden Asparaginase-Präparate in unterschiedlichen Dosierungen und Therapieintervallen verabreicht. Bis zur Entwicklung der pegylierten Asparaginase wurde in den meisten Protokollen E.coli - später dann pegylierte Asparaginase

eingesetzt. Aufgrund der verkürzten Halbwertszeit und des deutlich höheren Preises wird Erwinase häufig erst bei allergischen Reaktionen auf C-ASP oder PEG-ASP eingesetzt.

4.5 Toxizitäten

Die Nebenwirkungen der Asparaginase können in zwei große Gruppen unterteilt werden: In Nebenwirkungen im Sinne einer allergischen Reaktion – und in Nebenwirkungen, die überwiegend auf der Grundlage ihres Wirkmechanismus basieren.

4.5.1 Allergische Reaktionen im Rahmen der Asparaginase-Therapie

Die Immunogenität von Fremdproteinen erhöht sich mit steigendem Molekulargewicht und komplexen Strukturen. Proteine, die aus vielen identischen Untereinheiten bestehen (mit einem Molekulargewicht > 100.000 Dalton), haben aufgrund der komplexen quartären Struktur eine erhöhte Immunogenität. Die Asparaginase besteht aus vier identischen Einheiten und hat ein Molekulargewicht von 140000 Dalton. Klinische Erfahrungen haben gezeigt, dass sich unter Gabe des Asparaginase-Moleküls bei vielen Patienten spezifische Antikörper mit daraus resultierenden allergischen Reaktionen entwickeln (Müller, 1998). Die Klinik dieser allergischen Reaktionen ist nicht einheitlich und lässt sich in vier verschiedene Reaktionen unterteilen:

- Patienten mit einer allergischen Reaktion auf die Asparaginase mit Nachweis von Anti-Asparaginase-Antikörpern (Liu, 2012), (Tong, 2014), (Panosyan, 2004)
- Patienten mit einer stillen Inaktivierung (Tong, 2014)
- Patienten mit Anti-Asparaginase-Antikörpern ohne eine allergische Reaktion auf die Asparaginase, aber ohne eine Neutralisierung der Asparaginase (Tong, 2014), (Liu, 2012), (Killander, 1976)
- Patienten, die Symptome einer allergischen Reaktion zeigen, aber keine Anti-Asparaginase-Antikörper entwickeln (Kloos, 2016)

In den Therapieprotokollen der COALL 07-03- und 08-09-Studie wurde die Einstufung der Schwere einer allergischen Reaktion auf C-ASP-/ PEG-/ Erwinase-Asparaginase unterteilt in fragliche allergische Reaktionen, sichere allergische Reaktionen und Anaphylaxien. Eine fragliche allergische Reaktion liegt vor bei: Fieber, Schüttelfrost, Juckreiz, lokales oder generalisiertes Erythem. Eine sichere allergische Reaktion liegt vor bei: Engegefühl, Atemnot, Urtikaria und Quincke-Ödem. Eine allergische Reaktion wurde bei schockartigen Symptomen als Anaphylaxie gewertet. In dieser Arbeit wurden die Symptome bei Auftreten einer allergischen Reaktion zum einen in fragliche und sichere Reaktionen, zum anderen nach den „CTCAE“-Kriterien (siehe Erläuterung im folgenden Absatz) eingeteilt. Die Auswertung erfolgte anhand der Unterteilung in fragliche und sichere allergische Reaktionen.

Eine Einteilung der allergischen Reaktionen kann nach den „Common Terminology Criteria of Adverse Events“ (Abkürzung CTCAE) erfolgen. Dieser vom National Cancer Institute entwickelte Kriterienkatalog dient der Erfassung von akuten Nebenwirkungen medizinischer Behandlungen. Die folgende Tabelle stellt die systematische Einteilung dar. Die Studienleiter der ALL-Therapieprotokolle verwenden zur Einstufung des Schweregrads einer allergischen Reaktion diese CTCAE-Kriterien.

ALLERGY/IMMUNOLOGY							Page 1 of 1
Adverse Event	Short Name	Grade					
		1	2	3	4	5	
Allergic reaction/hypersensitivity (including drug fever)	Allergic reaction	Transient flushing or rash; drug fever <38°C (<100.4°F)	Rash; flushing; urticaria; dyspnea; drug fever ≥38°C (≥100.4°F)	Symptomatic bronchospasm, with or without urticaria; parenteral medication(s) indicated; allergy-related edema/angioedema; hypotension	Anaphylaxis	Death	
REMARK: Urticaria with manifestations of allergic or hypersensitivity reaction is graded as Allergic reaction/hypersensitivity (including drug fever).							

Abbildung 5: CTCAE Kriterien:

http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_40.

Grad 1 entspricht einer milden allergischen Reaktion mit Auftreten eines flüchtigen Exanthems ohne Interventionsbedarf. Grad 2 entspricht einer moderaten allergischen Reaktion, die zum Abbruch einer Gabe beziehungsweise zur Notwendigkeit einer Intervention führen kann. Ab Grad 3 spricht man von schwerwiegenden unerwünschten Ereignissen, die eine stationäre Überwachung erfordern. Grad 4 bedeutet eine lebensbedrohliche Reaktion.

Im klinischen Alltag ist die Einteilung nach den CTCAE-Kriterien nicht immer eindeutig durchzuführen. Als Beispiel: Es ist schwierig zu bestimmen, ob im Rahmen der Asparaginase-Gabe eine Grad-1-Reaktion mit einem flüchtigen Exanthem wirklich eine echte allergische Reaktion darstellt.

Die Häufigkeit allergischer Reaktionen variiert je nach Protokoll. Sie ist abhängig vom Applikationsweg, von der Häufigkeit der Anwendung bzw. der Länge der Therapieintervalle, der Begleitmedikation und vom eingesetzten Präparat: Allergische Reaktionen auf die C-ASP wurden bei bis zu 75% der Patienten mit ALL berichtet (Wacker, 2007), wobei die Häufigkeiten generell im Bereich von 10-30% schwanken (Raetz, 2010), (Müller, 2001). Allergische Reaktionen scheinen weniger häufig bei PEG-ASP aufzutreten, in klinischen Studien wurden Häufigkeiten im Bereich von 3-24% beschrieben (Silverman, 2001), (Raetz, 2010), (Avramis, 2002), (Vrooman, 2010). Es treten häufiger allergische Reaktionen auf, wenn die Patienten zuvor mit C-ASP behandelt wurden, dies ist auf den gleichen bakteriellen Ursprung zurückzuführen (Seibel, 2008). In klinischen Studien wurde die Häufigkeit allergischer Reaktionen auf die Erwinase im Bereich zwischen 3-37% beschrieben (Raetz, 2010), (Pieters, 2011), (Vrooman, 2010), (Billett, 1992).

Patienten, die allergische Reaktionen auf die Asparaginase entwickeln, haben eine erhöhte Antikörperbildung und einen verminderten Asparaginase-Aktivitätsspiegel im Vergleich zu den Patienten, welche keine allergische Reaktion entwickeln (Tong, 2014), (Liu, 2012), (Hak, 2004).

Tong et al. berichteten von allergischen Reaktionen (Grad 1-4) bei 22% der Patienten, die in der Intensivierungsphase PEG-ASP erhalten hatten, nachdem sie zuvor C-ASP während der Induktionsphase erhalten hatten (Tong, 2014).

Die Wahrscheinlichkeit, dass die Asparaginase eine immunologische Reaktion auslöst, wird durch viele Faktoren beeinflusst: Dies ist abhängig von dem Asparaginase-Präparat, der Behandlungsintensität und dem Gebrauch von Begleitmedikationen (Woo, 2000), (Avramis, 2002), (Moghrabi, 2007), (Liu, 2012), (Panosyan, 2004).

Das Risiko einer Antikörperbildung erhöht sich mit wiederholter Asparaginase-Gabe: Die Konsolidierungs- und Reinduktionsphase zeigte die höchste Inzidenz an allergischer Reaktion und Antikörperbildung (Albertsen, 2002), (Zalewska-Szewczyk, 2009). Jedoch wurde mit verlängerter Exposition von Asparaginase ohne Lücken ein verminderter Antikörperspiegel assoziiert (Liu, 2012), (Kawahara, 2014). Daher treten allergische Reaktionen auf die Asparaginase am häufigsten innerhalb der ersten Gabe nach einer Behandlungspause auf (Tong, 2014). Durch eine Begleitmedikation mit Kortikosteroiden wurden reduzierte allergische Reaktionen assoziiert (Avramis, 2002), (Panosyan, 2004). Die Unterdrückung dieser Symptome kann jedoch auch eine allergische Reaktion maskieren (Tong, 2014).

4.5.2 Stille Inaktivierung

Neben der Inaktivierung der Asparaginase, als Folge klinisch sichtbarer allergischer Reaktionen, wurde beobachtet, dass bei einigen Patienten die Bildung spezifischer IgG-Antikörper ohne das Auftreten klinischer Symptome erfolgte. In der Literatur wird dieses Phänomen als "silent inactivation" (stille Inaktivierung) beschrieben (Capizzi, et al., 1971). Dadurch wird die Wirksamkeit der Asparaginase beeinflusst. Es kann somit zum Auftreten von allergischen Reaktionen oder einer sogenannten „stillen Inaktivierung“ (das bedeutet: neutralisierende Antikörper sind nachweisbar, jedoch ohne klinische Symptome) kommen. In beiden Fällen liegen die Asparaginase-Aktivitäts-Spiegel unterhalb der therapeutisch wirksamen Grenze (Tong, 2014). Die Häufigkeit dieser stillen Inaktivierung und Ihre Bedeutung wurden im Rahmen einiger Studien, welche ein therapeutisches Drug Monitoring (TDM) durchführten, belegt. Panosyan et al. und Vrooman et al. zeigten, dass bei Kindern, bei denen eine stille Inaktivierung der C-ASP auftrat, ein geringerer Therapieerfolg zu verzeichnen war im Vergleich zu jenen Kindern, bei denen aufgrund einer allergischen Reaktion ein Präparatewechsel vorgenommen wurde. Letztere hatten ein besseres Outcome (Panosyan, 2004), (Vrooman, 2013). Warum bei diesen Patienten trotz vorliegender Antikörper keine allergische Reaktion auftritt, ist nicht verstanden.

4.5.3 Allergie-ähnliche Reaktion

Daneben gibt es Patienten, die unter der Asparaginase-Gabe allergische Symptome entwickeln, ohne dass bei diesen Patienten eine Inaktivierung der Asparaginase oder Antikörper nachgewiesen werden konnte.

Der Mechanismus Allergie-ähnlicher Reaktionen ist bis heute nicht eindeutig geklärt. Asselin et al. vermuten, dass Allergie-ähnliche Reaktionen auf einer nicht-Antikörper-vermittelten Hypersensitivitätsreaktion beruhen. Möglicherweise können die Reaktionen erklärt werden durch einen schnellen Anstieg des Ammoniumspiegels nach Gabe von Asparaginase. Hier treten Symptome wie Übelkeit, Erbrechen oder ein Exanthem auf (Asselin, 2016). Andere Symptome wie Luftnot oder Urtikaria können jedoch nicht durch hohe Ammoniumspiegel erklärt werden. Tong et al. wiesen nach, dass Ammoniumspiegel nach Erwinase-Gabe höher sind als nach PEG-ASP-Gabe. Das wird vermutlich durch die höhere Glutaminase-Aktivität der Erwinase verursacht. Damit könnte erklärt werden, warum Allergie-ähnliche Symptome häufiger bei der Erwinase Behandlung auftreten (Kloos, 2016), (Tong, 2014).

4.5.4 Weitere Nebenwirkungen

Durch suffiziente Asparaginase-Aktivitätsspiegel kann eine Asparagindepletion erreicht werden. Weil die Leukämiezellen jedoch Asparagin zur Proteinbiosynthese benötigen, sind die verminderte Proteinbiosynthese und schließlich der Zelltod das Resultat der Asparaginase-Therapie. Als Folge der gestörten Proteinbiosynthese kommt es zu Hepatopathie, Fettstoffwechselstörungen, Gerinnungsstörungen mit intrakraniellen Thrombosen oder Hämorrhagien (Duval, 2002).

Asparaginase-Gaben sind häufiger assoziiert mit Störungen der Leberfunktion, erhöhten Transaminasen oder Cholestaseparametern (Raetz, 2010). Warum es durch die Verabreichung der Asparaginase zur Leberfunktionsstörung kommt, ist nicht bekannt. Die verminderte Proteinsynthese ist jedoch assoziiert mit der Asparaginase-Therapie (Stock, 2011).

Viele Therapieregime verwenden mehrere potenziell lebertoxische Medikamente, daher ist unklar bis zu welchem Grad die Leberfunktionsstörung auf die Asparaginase zurückzuführen ist (z.B. Kortikosteroide, Anthrazykline, Vincaalkaloide). Im Rahmen der ALL-Polychemotherapie wurden bei 30-60% der Patienten erhöhte Transaminasen und Cholestaseparameter beschrieben (Stock, 2011), (Parsons, 1997).

Bei vielen Patienten kommt es durch die verminderte Proteinbiosynthese zu einer Abnahme der Serumproteine. Das Serumalbumin war bei 80% der Patienten erniedrigt, unabhängig von der verabreichten Asparaginase Dosis (Oettgen, 1970). Thromboembolische Ereignisse und Blutungen kommen als Folge der verminderten Produktion von Gerinnungsfaktoren vor (Pieters, 2011). Des Weiteren können Störungen im Lipidstoffwechsel auftreten mit einer Hypertriglyzeridämie als Folge von gesteigerter endogener Produktion von VLDL und erniedrigter Lipoproteinlipase-Aktivität (Ridola, 2008). Selten kann es zu hyperglykämischen Krisen oder zur Ketoazidose kommen (Falletta, 1972), (Jaffe, 1972).

Eine schwerwiegende Nebenwirkung ist die akute Pankreatitis. Die Inzidenz einer Asparaginase-assoziierten Pankreatitis liegt zwischen 2% und 10% und ist abhängig von der kumuliert verabreichten Asparaginase Dosis. Die Asparaginase-assoziierte Pankreatitis ist eine bedeutende Ursache der Morbidität im Rahmen der Asparaginase-Behandlung und führt häufig zum Abbruch der Asparaginase-Therapie (Pinkel, 1979), (Haskell, 1969), (Raja, 2012), (Liu, 2016), (Oettgen, 1970), (Ohnuma, 1970), (Ohnuma, 1969), (Shaw, 1970). In einer Studie von Alvarez et al. wurde gezeigt, dass bei 18% der Kinder mit akuter lymphatischer Leukämie, die PEG-ASP erhalten hatten, eine Pankreatitis auftrat (Alvarez, 2000). Wolters et al. untersuchten Daten von 18 internationalen ALL-Studiengruppen im Hinblick auf das Auftreten, sowie Komplikationen einer Asparaginase-assoziierten Pankreatitis nach erneuter Reexposition. Das Risiko einer zweiten Asparaginase-assoziierten Pankreatitis war nicht abhängig von dem Schweregrad der ersten Asparaginase-assoziierten Pankreatitis. Eine Untersuchung von genetischen Risikofaktoren wurde empfohlen, um die Patienten zu identifizieren, welche nicht mit Asparaginase behandelt werden sollten. Eine schwere Komplikation als Folge einer Asparaginase-assoziierten Pankreatitis ist ein persistierender insulinpflichtiger Diabetes Mellitus (Wolthers, 2017).

Eine Enzephalopathie könnte im Zusammenhang mit hohen Ammoniakspiegeln im Blut stehen (Leonard, 1986), dies wurde in anderen Untersuchungen bisher aber nicht bestätigt.

Im Gegensatz zu anderen in der Therapie der ALL verwendeten Chemotherapeutika hat die Therapie mit Asparaginase keine gravierende Knochenmarkshemmung zur Folge. Die Asparaginase kann eine Myelosuppression direkt oder indirekt durch das Verändern der myelosuppressiven Wirkung anderer Wirkstoffe, wie zum Beispiel Methotrexat oder 6-Mercaptopurin, verursachen (Merryman, 2012).

Table 4. Toxicity during induction (protocol IA)

	<i>E coli</i> -asparaginase no. (%) of patients N = 354 (100%)	<i>Erwinia</i> -asparaginase no. (%) of patients N = 346 (100%)
Allergy (WHO 3-4)	9 (2.5)	9 (2.6)
Coagulation abnormalities	107 (30.2)	41 (11.8)
Neurotoxicity (WHO 3-4)	9 (2.5)	5 (1.4)
Convulsions	6 (1.7)	1 (0.3)
Pancreatitis	1 (0.3)	3 (0.9)
Diabetes requiring insulin	5 (1.4)	2 (0.6)
Liver toxicity (WHO 3-4)	16 (4.5)	13 (3.8)
Infection (WHO 3-4)	18 (5.1)	16 (4.6)
Death	1 (0.3)	2 (0.6)

Abbildung 6: von Duval et al 2002: Vergleich der Toxizitäten

Der Vergleich der Toxizitäten nach Gabe von C-ASP und Erwinase wird erschwert durch die Tatsache, dass aufgrund der unterschiedlichen pharmakologischen Eigenschaften selten vergleichbare Dosierungen verwandt wurden und die Asparaginase-Gaben häufig kombiniert mit anderen Zytostatika gegeben wurden, sodass die eindeutige Zuordnung der Toxizität zu einem Medikament häufig schwierig ist (Müller, 1998).

In der Studie von Duval et al. zeigte sich lediglich ein Unterschied in der Häufigkeit des Auftretens von Gerinnungsstörungen. Die Ergebnisse zur Häufigkeit von Pankreatitiden und schweren Infektionen sind widersprüchlich (Asselin, 1999), (Eden, 1990). Eine Tendenz zu mehr neurotoxischen Nebenwirkungen wurde bei der C-ASP beobachtet (Eden, 1990).

4.6 Therapeutisches Drug Monitoring (TDM)

Die geschilderten Probleme machen deutlich, dass das Monitoring der Asparaginase-Therapie von großer Bedeutung ist. Das konsequente Durchführen des Monitorings ist wichtig, um die allergischen Reaktionen, die stille Inaktivierung und Allergie-ähnliche Reaktionen zu erfassen und somit eine optimale Asparaginase-Therapie zu erreichen. Welche prognostische Bedeutung das Monitoring haben kann, zeigen die Daten der Arbeitsgruppe Vrooman aus dem Dana-Farber Institut: Die Überwachung der Asparaginase-Aktivität während der Behandlung, sowie eine entsprechende Dosisanpassung und gegebenenfalls der Wechsel auf Erwinase, auch bei stiller Inaktivierung, führte zu verbesserten Überlebensergebnissen der Patienten mit ALL (Vrooman, 2013).

Die folgende Graphik zeigt das ereignisfreie Überleben:

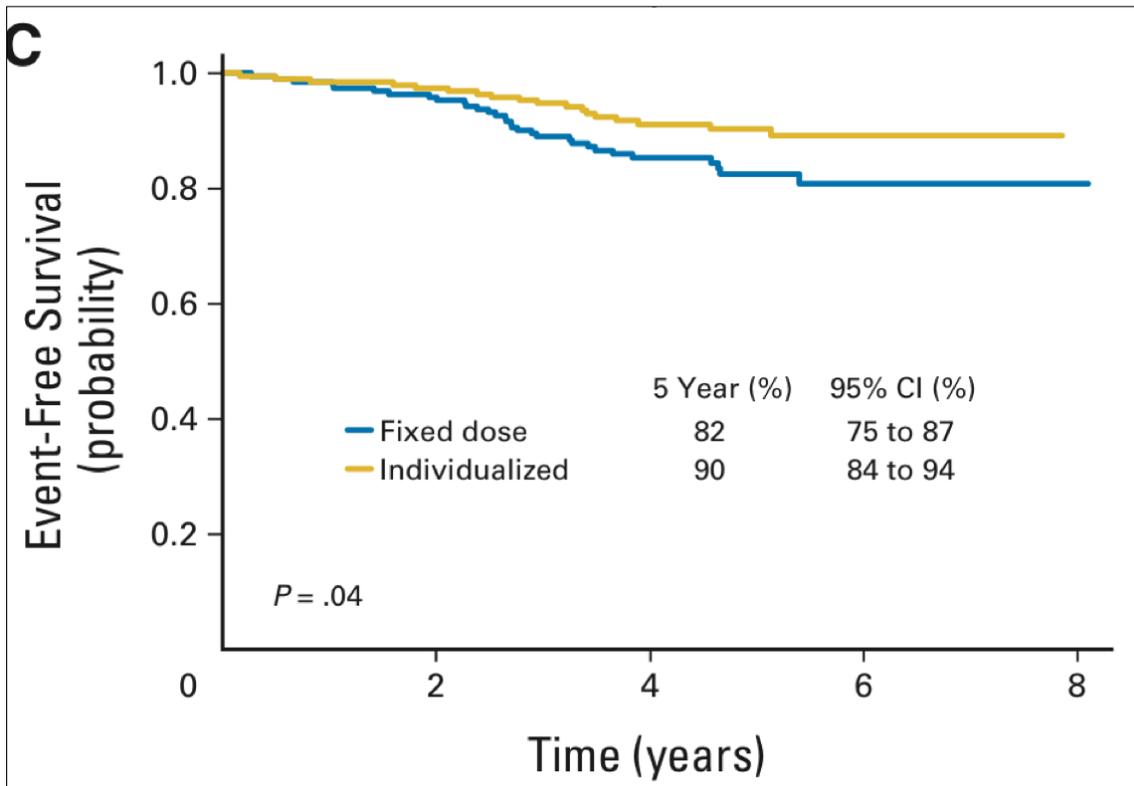


Abbildung 7: Ereignis-freies-Überleben (Vrooman, 2013)

In einer 2020 veröffentlichten Studie von Kloos et al. konnte gezeigt werden, dass das TDM der Asparaginase zu einer signifikanten Reduktion der Dosierung von PEG-ASP mit adäquaten Asparaginase-Aktivitätsspiegeln und suffizienter Asparagindepletion führt. Somit kann eine stille Inaktivierung und eine Allergie-ähnliche Reaktion identifiziert werden (Kloos, 2020).

5 Material und Methoden

5.1 Therapieprotokolle

Die Untersuchungen zur Inzidenz und Klinik allergischer Reaktionen auf die Asparaginase wurden im Rahmen der multizentrischen Therapieoptimierungsstudien COALL 07-03 und COALL 08-09 durchgeführt. Seit 1980 wurden in Zusammenarbeit mit mehreren Kliniken in der Bundesrepublik Deutschland sechs COALL (Cooperative ALL) -Studien (COALL 01-80, COALL 02-82, COALL 03-85, COALL 04-89, COALL 05-92 und COALL 06-97) zur Behandlung der ALL im Kindesalter durchgeführt. Das abgeschlossene Studienprotokoll COALL 07-03 und das neuste Studienprotokoll COALL 08-09 beruhen auf den Erkenntnissen der bisherigen COALL Studien.

Diese Studienprotokolle erhielten vor Studienbeginn die Zustimmung der Ethik-Kommission. Zwischen dem 01.09.2003 und 30.09.2010 wurden in der Klinik für pädiatrische Hämatologie und Onkologie des UKE, sowie in anderen sogenannten „COALL-Prüfzentren“, die Patienten gemäß der COALL 07-03 Studie behandelt und vom 01.10.2010 bis 31.12.2019 gemäß der COALL 08-09 Studie. Als Studienpatienten konnten Patienten aufgenommen werden mit B-Vorläufer ALL, T-ALL und Non-Hodgkin-Lymphomen vom T-Zell- oder B-Zell-Vorläufer-Typ. Die vom Studienprotokoll definierten Einschlusskriterien waren: Die Diagnosestellung nach Vollendung des 1. und vor Vollendung des 18. Lebensjahres, Diagnosestellung nach dem Studienbeginn und Zustimmung der Patienten bzw. Sorgeberechtigten in die Aufnahme in die Studie oder der Datenweitergabe. Ausgeschlossen waren Patienten, die an einem Rezidiv erkrankt waren, Patienten vor dem ersten Lebensjahr oder nach dem 18. Lebensjahr, sowie Patienten mit einer Translokation t(9,22). Diese Patienten werden nach einem anderen Protokoll behandelt (Escherich, 2016).

5.1.1 Therapieprotokoll COALL 07-03

Im Rahmen der Therapiestudie COALL 07-03 wurden 773 Kinder mit Precursor-B-ALL und T-ALL behandelt. Die Patienten wurden zunächst in die Low-Risk (LR) und High-Risk (HR) Therapiegruppen stratifiziert. Dann erfolgte eine zweite Einteilung, deren Kriterien ein Remissionsstatus an Tag 29, chromosomale Translokation t(4,11), Karyotyp, in vitro-Resistenzprofil und MRD-Befund am Tag 15/29 waren. Diese schematische Darstellung zeigt den Einsatz der Asparaginase im Therapieprotokoll COALL 07-03.

Protokoll COALL-07-03

Low Risk: Leukozyten < 25/nl und C-/Prä-B-ALL und Alter < 10 Jahre



High Risk: Leukozyten \geq 25/nl oder Pro-B-/T-ALL oder Alter \geq 10 Jahre

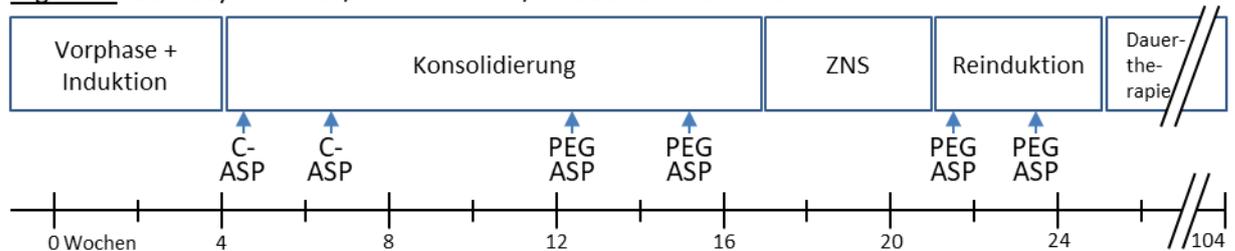


Abbildung 8: schematische Darstellung der COALL 07-03 Studie

Die Asparaginase wurde sowohl in der Konsolidierungs- als auch in der Reinduktionsphase verabreicht. Ende der 90iger Jahre wurde die pegylierte Asparaginase in Deutschland zugelassen, somit stand nun erstmals ein weniger immunogenes E.-Coli-Asparaginase-Präparat zur Verfügung.

Ein Studienziel der COALL 07-03 Studie war, durch den geplanten Wechsel von C-ASP auf PEG-ASP die Häufigkeit der allergischen Reaktionen auf die Asparaginase-Therapie zu reduzieren. Low- und High-Risk-Patienten erhielten daher ab der 3. Asparaginase-Gabe nicht mehr C-ASP sondern PEG-ASP. Außerdem wurde ein Monitoring der Asparaginase durch wöchentliche Messung der Asparaginspiegel über 5 Wochen, bei den LR-Patienten nach der 4. ASP-Gabe, bei den HR-Patienten nach der 6. ASP-Gabe, eingeführt.

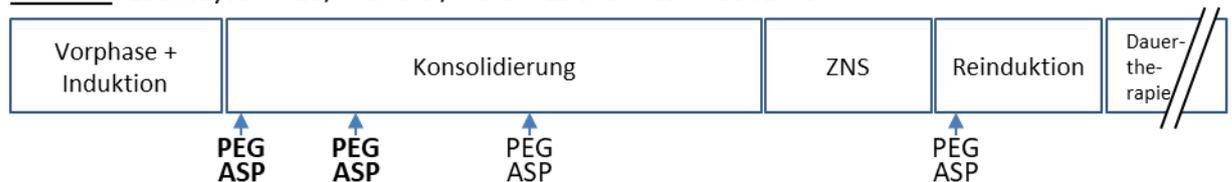
- Im Rahmen der Konsolidierungstherapie erhielten die LR-Patienten insgesamt 3 Asparaginase-Gaben. Die C-ASP wurde in einer Dosierung von 45 000 IE/m² i.v. über 2 Stunden am 31. und 59. Tag verabreicht. Die PEG-ASP wurde in einer Dosierung von 2500E/m² i.v. über 2 Stunden am 80. Tag verabreicht.
- Bei den HR-Patienten wurden in der Konsolidierung 4 Gaben nach dem gleichen Schema am 32., 46., 87. und 108. Tag verabreicht.
- In der Reinduktionsphase wurde PEG-ASP in einer Dosierung von 2500E/m² verabreicht (LR-Patienten am Tag 9 und HR-Patienten an den Tagen 9 und 30).
- Kam es bei der C-ASP-Gabe zu einer allergischen Reaktion, wurde PEG-ASP 2500 I.E./m² gegeben. Trat eine allergische Reaktion auf PEG-ASP auf, wurde umgestellt auf Erwinase mit einer Dosierung von jeweils 45000 IE/m² an zwei aufeinanderfolgenden Tagen.

5.1.2 Therapieprotokoll COALL 08-09

In dem Zeitraum der Erhebung der klinischen Daten dieser Arbeit wurden vom 01.10.2010 bis zum 05.12.2013 285 Patienten in die COALL 08-09 Studie aufgenommen. Im Unterschied zur Vorstudie COALL 07-03 erhielten die LR- und HR-Patienten in dieser Studie ab der ersten Asparaginase-Gabe PEG-ASP. Dies erfolgte sowohl im LR- als auch HR-Protokoll an den gleichen Zeitpunkten im Therapieprotokoll. Kam es bei der PEG-ASP-Gabe zu einer allergischen Reaktion, wurde, wie auch in der Vorstudie, auf Erwinase gewechselt. Daneben erhielten die Patienten, mit Ausnahme der Patienten aus dem LR- und HR-Reduziert-Zweig, zusätzlich zu Beginn der Dauertherapie 3 Gaben PEG-ASP von 2500IE/m² im Abstand von 3 Wochen. Die Dauertherapie beginnt 2 bis 3 Wochen nach der letzten Chemotherapie der Reinduktion bzw. sobald bei gutem Befinden eine Leukozytenzahl von 2/nl erreicht ist und wird bis zum Erreichen einer Gesamttherapiedauer von 2 Jahren fortgeführt.

Protokoll COALL-08-09

Low Risk: Leukozyten < 25/nl und C-/Prä-B-ALL und Alter < 10 Jahre



High Risk: Leukozyten \geq 25/nl oder Pro-B-/T-ALL oder Alter \geq 10 Jahre

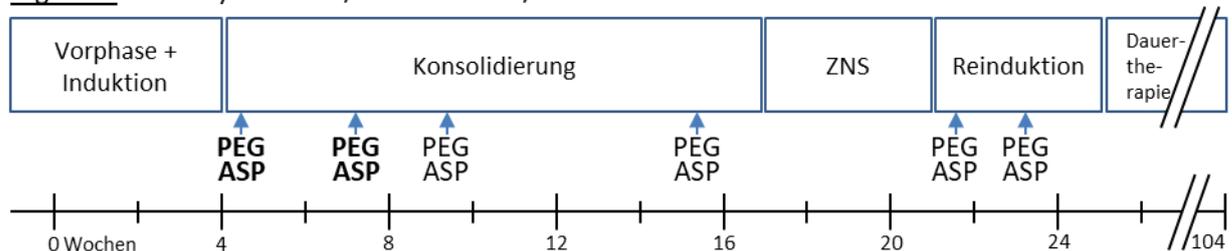


Abbildung 9: Schematische Darstellung der COALL 08-09

5.2 Quellen zur Erhebung der Klinik

Folgende Quellen dienten zur Erhebung der Inzidenz und Klinik allergischer Reaktionen auf die Asparaginase

5.2.1 Erhebung der Daten aus den Begleitscheinen

Das Asparaginase-Monitoring ist ein fester Bestandteil der COALL-Protokolle 07-03 und 08-09. Bei LR- und HR-Patienten sollte nach der 4. Asparaginase-Gabe, sowie bei HR-Patienten zusätzlich nach der 6. Asparaginase-Gabe, in Woche 1-5 wöchentlich ein Asparaginspiegel bestimmt werden. Des Weiteren sollte im Falle einer allergischen Reaktion ebenfalls der Asparaginspiegel bestimmt und die Symptome der allergischen Reaktion beschrieben werden. Hierfür gibt es von dem jeweiligen COALL-Protokoll vorgedruckte Begleitscheine (siehe Anhang C).

Zur Erhebung der Symptome und Auswertung der Asparaginepletion wurden die Daten aus den Begleitscheinen „Asparaginepletion nach Applikation von C-ASP/ PEG-ASP bei Kindern mit akuter lymphatischer Leukämie in der Studie COALL 07-03“ und „Messung der Asparaginepletion nach Applikation von PEG-Asparaginase im Rahmen der COALL 08-09 Studie“ erfasst: Jede teilnehmende Klinik erhielt im Rahmen des Therapieprotokolls einen Begleitschein (siehe Anhang), der zusammen mit der entnommenen Blutprobe an das Stoffwechsellabor der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf verschickt wurde. Auf diesen Bögen sollte von der jeweiligen teilnehmenden Klinik der Name des Patienten, das Präparat, die verabreichte Dosis, der Zeitpunkt der Gabe, der Therapiezeitpunkt, das Datum der Blutabnahme und die aufgetretenen Symptome angegeben werden. Eine Einschätzung zum Grad der Reaktion wurde dann durch die Studienzentrale vorgenommen.

5.2.2 Eingesendete Arztbriefe von teilnehmenden Kliniken

Eingesendete Arztbriefe von teilnehmenden Kliniken wurden ebenfalls im Hinblick auf das Auftreten allergischer Reaktionen auf eines der Asparaginase-Präparate untersucht und erfasst.

5.2.3 Toxizitätsbögen der COALL 07-03 Studie

Als Quelle zur Erhebung der Häufigkeit und des Therapiezeitpunktes einer allergischen Reaktion auf die Asparaginase dienten die „Toxizitätsbögen“ der COALL 07-03 Studie. Hierbei handelt es sich um die Dokumentation jedes einzelnen Therapieblockes auf dem sogenannten „Therapieflowsheet“. Unter jedem Therapieblock besteht die Möglichkeit, mittels definierter Abkürzungen die aufgetretenen Nebenwirkungen zu dokumentieren. Durch die Studienzentrale erfolgte die Einschätzung bzw. Einteilung in fragliche und sichere allergische Reaktionen, sowie die Angabe des Zeitpunktes der allergischen Reaktion.

5.2.4 Archiv der pädiatrischen Hämatologie und Onkologie: Tageskurven der Patienten, die nach dem jeweiligen COALL-Protokoll behandelt wurden

Für die Patienten, die in der pädiatrischen Hämatologie und Onkologie des UKE nach den COALL Protokollen behandelt wurden, konnten zudem die Daten aus der Klinikdokumentation im Hinblick auf den Zeitpunkt und die Symptome bei Auftreten einer allergischen Reaktion herangezogen werden.

5.3 Durchführung der Auswertung und Vergleich der Symptome

Zur Überwachung der Wirksamkeit der Asparaginase-Therapie gibt es verschiedene Verfahren: Die direkte Bestimmung der Asparaginkonzentration im Serum, die Messung von Anti-Asparaginase-Antikörpern und die Asparaginase-Aktivitätsmessung.

Im Rahmen der COALL 07-03- und -08-09 Studien erfolgte die direkte Bestimmung des Asparagins im Serum. Es wurden der Zeitpunkt und die Anzahl der Gaben, die klinische Symptomatik, der Therapieblock, der Therapiearm bzw. -

zweig, wenn möglich auch die verabreichte Dosis und der Ersatz des Präparats vermerkt. Auf den jeweiligen Laborbegleitbögen wurde das Datum der Blutabnahme für die Asparaginmessung im Serum in Woche 1 bis 4 bzw. 5 nach der Asparaginase-Gabe bzw. nach der allergischen Reaktion dokumentiert. Somit konnten die Asparaginspiegel nach Asparaginase-Gabe erfasst werden und bei Auftreten einer allergischen Reaktion ebenfalls die Asparagindepletion beobachtet werden.

Die Verträglichkeit der drei Asparaginase-Präparate wurde zum einen, wie in den Therapieprotokollen der COALL 07-03- und -08- 09 Studie vorgegeben, in fragliche Reaktionen, in sichere allergische Reaktionen und Anaphylaxien unterteilt (siehe Abschnitt 4.5.1), und zum anderen nach den CTCAE-Kriterien eingestuft. Hierfür sollte die teilnehmende Klinik den genauen Therapieblock des Protokolls, die aufgetretenen Symptome und den Zeitpunkt (im Vorlauf oder Hauptlauf), an dem die Reaktion aufgetreten war, angeben.

Die erhobenen Daten der Dokumentation wurden zentral ausgewertet und statistisch analysiert. Es wurde das Patientenkollektiv und die beobachteten Teilmengen tabellarisch dargestellt und beschrieben. Zur Untersuchung der Asparagindepletion nach dem Auftreten einer allergischen Reaktion wurde der Median der erhobenen Asparaginspiegel nach den Kriterien High-Risk/ Low-Risk für jeweils Woche 1 bis 5 bestimmt. Des Weiteren wurde die Asparagindepletion nach Bestimmung des Medians grafisch als Verlaufskurve dargestellt.

5.4 Probengewinnung

5.4.1 Zeitpunkt der Probeentnahme

Um eine Aussage über die Asparagindepletion nach Applikation und Auftreten einer fraglichen oder sicheren allergischen Reaktion auf eines der Asparaginase-Präparate machen zu können, erfolgten nach Auftreten einer allergischen Reaktion Asparaginspiegelmessungen im Serum in Woche 1 bis 4 nach Applikation des Asparaginase-Präparates. In einigen Fällen erfolgte weitere Blutentnahme nach fünf Wochen. Um eine Aussage über die Asparagindepletion nach Auftreten einer allergischen Reaktion auf C-ASP oder PEG machen zu können, wurden Asparaginspiegelmessungen im Serum in Woche 1 bis 4 nach Erwinase-Gabe erhoben. Die Messung der Asparaginspiegel im Serum war protokollseitig vorgegeben.

5.4.2 Behandlung der Proben

Zur Bestimmung der Asparaginkonzentration und Messung der Asparagindepletion wurde den Patienten Blut abgenommen. Hier musste mindestens 6ml EDTA Blut entnommen werden und direkt nach Abnahme in Eis gestellt werden, um die Enzymaktivität der Asparaginase zu blockieren. Dann wurde das EDTA -Blut gekühlt abgesert und tiefgefroren. Der Versand der Probe in das zuständige Stoffwechsellabor erfolgte auf Trockeneis. Sofort nach

Eintreffen im Stoffwechsellabor wurden die Proben gekühlt und in 2 Portionen mit jeweils 2ml Serum bei -20°C tiefgefroren.

Die Bestimmung des Asparagins erfolgte im Stoffwechsellabor des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf unter der Leitung von Dr. rer. nat. Z. Lukacs. Zur Bestimmung der Aminosäuren wurde die HPLC-Methode mit Post-column Derivatisierung mit ortho-Phthaldialdehyd (OPA) durchgeführt. HPLC steht für „high performance liquid chromatography“.

5.5 Methodik der Laboranalytik

Die angewandte Methode zur quantitativen Aminosäurenanalyse ist die Hochleistungsflüssigchromatographie und post-column-Derivatisierung mit OPA nach Lenda & Svenneby (Lenda K., 1980). Die HPLC ist eine chromatographische Technik zur Auftrennung und Analyse von Stoffgemischen.

5.5.1 Prinzip der Auftrennung bei HPLC

Ein HPLC-System besteht grundsätzlich aus den folgenden Komponenten: Der Hochleistungspumpe mit Vorrat für die mobile Phase (Eluent), Injektor (Probenaufgabe), Trennsäule und Detektionssystem (inklusive Derivatisierung, Datenaufnahme und -verarbeitung):

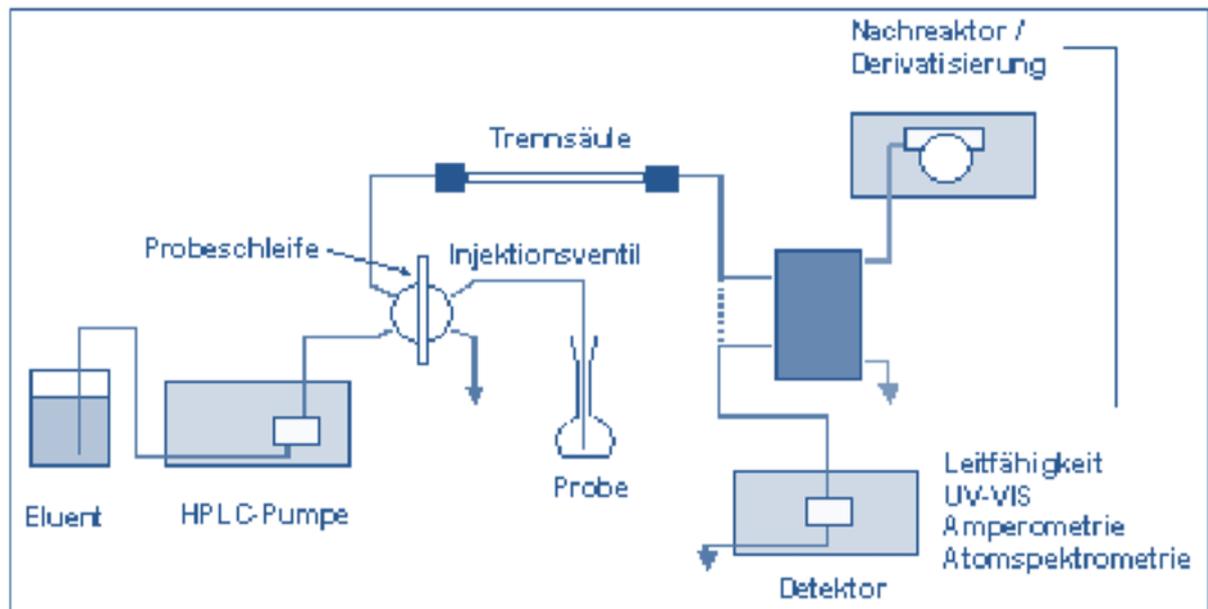


Abbildung 10: Aufbau einer HPLC Anlage (Eith, 2000)

Die zu analysierende Probe wird von einer durch die Säule fließenden Flüssigkeit (=die mobile Phase) mitgenommen. Die verschiedenen Komponenten der Probe bewegen sich jedoch mit ungleichen Geschwindigkeiten, da ihre Wechselwirkung mit der stationären Phase unterschiedlich stark aufgehalten wird. Beim Verlassen der Säule kann ein geeigneter Detektor die einzelnen Stoffe nachweisen (Eith, 2000).

5.5.2 Ionenaustauschchromatographie

Die Ionenaustauschchromatographie (IC) stellt eine Untergruppe der HPLC dar. Die Ionenaustauschchromatographie ist eine Form der Flüssigkeitschromatographie, bei der ionisierbare Stoffe anhand ihrer Interaktion mit dem geladenen Säulenmaterial getrennt werden.

Allgemeines Prinzip der Ionenaustauschchromatographie

Das Grundgerüst der Aminosäuren besteht aus einer Carboxyl- und einer Aminogruppe, einem Wasserstoffatom und einer Restgruppe. Unter physiologischen Bedingungen gibt die Carboxylgruppe ein Proton ab, während die Aminogruppe ein Proton aufnimmt. Aminosäuren enthalten je eine funktionelle Gruppe mit basischer und saurer Eigenschaft, sie werden daher als Ampholyte bezeichnet.

Der isoelektrische Punkt (IP) stellt den pH-Wert dar, bei dem die Aminosäure keine Nettoladung aufweist und daher nicht im elektrischen Feld wandert. Aminosäuren können entsprechend ihres IP durch Ändern des pH voneinander getrennt werden. Die zur Bestimmung von Aminosäuren verwendete Ionenaustauschchromatographie wird nach diesem Prinzip durchgeführt.

Aminosäuren liegen bei saurem pH als Kationen vor. Sie werden in dieser Form auf eine Kationenaustauschersäule aufgetragen. Die Kationenaustauschersäule ist eine polymere Kunstharzmatrix. Die Polyesterketten der Matrix sind durch cross-links (Divinylbenzol-gruppen) miteinander gekoppelt und befinden sich in einem sulfonierten Zustand, so dass sie negativ geladen sind.

Abhängig davon, welche Ionen ausgetauscht werden, gibt es Kationen- oder Anionenaustauscher. Bei einem Kationenaustauscher ist die aktive Gruppe eine anionische Gruppe mit abdissoziierbarem Kation. Zur Gewinnung von Kationenaustauschern lässt man diese in einer sauren Lösung quellen zur Bildung von Kationen mit den Salzen. Dabei entstehen H_3O^+ - Ionen, welche an SO_3^- - gebunden sind. Zwischen der Sulfonylgruppe der Kunstharzmatrix und den positiv geladenen Gruppen der zu untersuchenden Aminosäure, erfolgt durch Verdrängung der Kationen aus ihrer Bindung eine Ionenwechselwirkung. Daher hat hier ein Ionenaustausch stattgefunden.

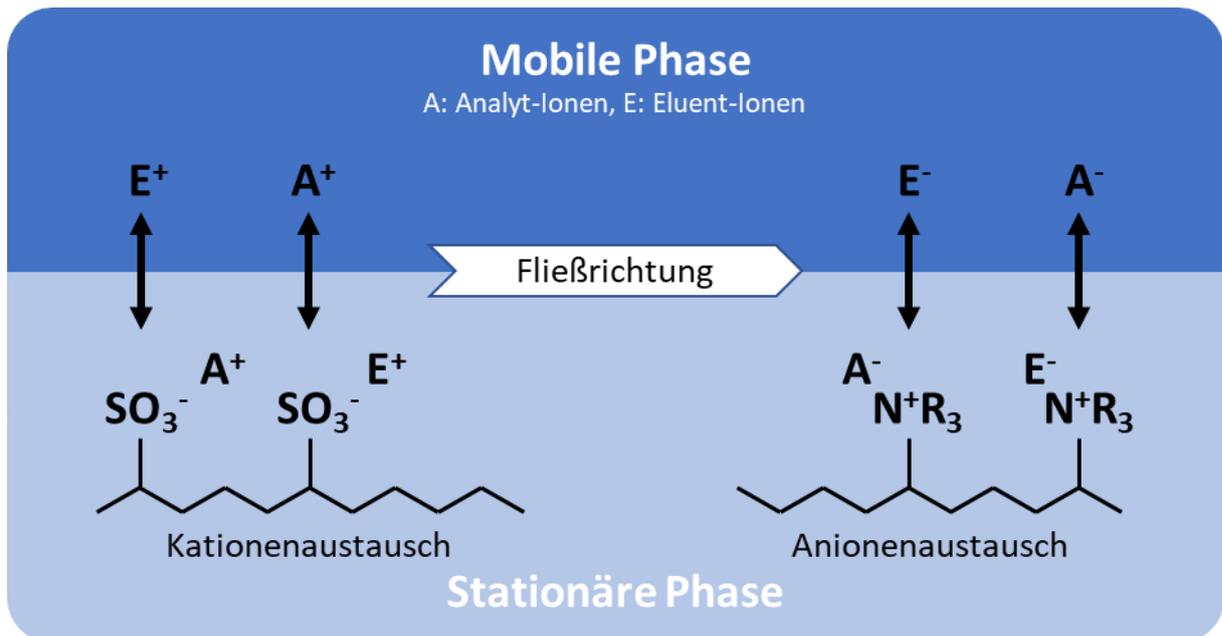


Abbildung 11: Prinzip des Ionenaustausches

Den isoelektrischen Punkt erreichen die Aminosäuren zu unterschiedlichen Zeitpunkten durch Steigerung des pH-Wertes, der Temperatur und der Pufferionenkonzentration mit folglich Verlust der ionischen Eigenschaften. Die Aminosäuren trennen sich von den Sulfonylgruppen ab und gehen in Lösung.

Die durch den Ionenaustausch herausgelöste Substanz, das Eluat, wird mit einem photometrischen Reagenz ergänzt: Dies sind Derivatisierungsreagenzien, wie z. B. Ninhydrin (Indantrionhydrat), ortho-Phthaldialdehyd (OPA), Phenylisothiocyanat (PITC) und 9-Fluorenylmethoxycarbonylchlorid (Fmoc).

Derivatisierungsreagenzien bilden durch eine chemische Verbindung ein Fluoreszenzprodukt, welches photometrisch und dementsprechend quantitativ gemessen werden kann.

Zur „pre-column“ sowie „post-column“-Derivatisierung lässt sich ausschließlich das OPA-Reagenz gebrauchen. Das OPA-Reagenz ist zehnmal empfindlicher als Ninhydrin und die am häufigsten verwendete Substanz in der HPLC-Methode.

Dem „high temperature reaction coil“ wird das Aminosäureeluat und das Detergenz hinzugefügt, wodurch es miteinander reagiert.

Der nächste Schritt ist die photometrische Bestimmung der Aminosäuren mit chromatographischer Darstellung der Aminosäurentrennung. Die Retentionszeiten der einzelnen Gipfel lassen eine bestimmte Aminosäure erkennen. Die Quantität der Aminosäure wird durch die Fläche (Area under the peak=AUP) beschrieben.

Durch Abwandlung der einzelnen Parameter wie z.B. Partikelgröße der Kunstharzmatrix, Grad der Sulfonierung, bzw. der cross-links, Säulendurchmesser und -länge, Flussrate, Pufferzusammensetzung, Temperatur und pH-Wert, kann die Analyse beeinflusst und optimiert werden.

Durch Modifizieren verschiedener Parameter wie Partikelgröße der Kunstharzmatrix, Sulfonierungs- oder Vernetzungsgrad, Durchmesser und Länge der Säule, Fließgeschwindigkeit, Pufferzusammensetzung, Temperatur und pH-Wert, kann die Analyse beeinflusst und verbessert werden.

5.5.3 Angewandte Methode zur quantitativen Aminosäureanalyse mittels HPLC

Aufarbeitung der Proben:

Zur Bestimmung der Proben wird 100µl Serum gebraucht. Das Material wird zunächst unter Zusatz von 25µl 10%iger Sulfosalizylsäure deproteinisiert, um freie Aminosäuren im Serum messen zu können. Nach 30 Minuten Inkubationszeit wird 25µl 0,3 molare NaOH und 450µl interne Standardlösung (400µl Norleucin-Lösung ad 10 ml mit Verdünnungspuffer aufgefüllt) hinzugefügt und bei 2000 U/s mindesten 2 Minuten zentrifugiert. Zusätzlich zu den Proben wird jeweils ein Testgemisch, bestehend aus 50µl Testlösung, 50µl Asparaginsäurelösung, 200µl Norleucinlösung, 200µl Glutaminsäurelösung ad 10ml mit Verdünnungspuffer, analysiert.

5.5.4 Derivatisierung und Detektion der Aminosäuren mit OPA (Ortho-Phthaldialdehyd)

Die Reaktion von primären Aminosäuren mit ortho-Phthaldialdehyd führt zur Fluoreszenz. Die Reaktion wird in Gegenwart von Mercaptoethanol und Thiol bei einem pH zwischen 9,5 und 10 durchgeführt. Als Reaktionsprodukt zeigen die Isoindole eine Fluoreszenzaktivität.

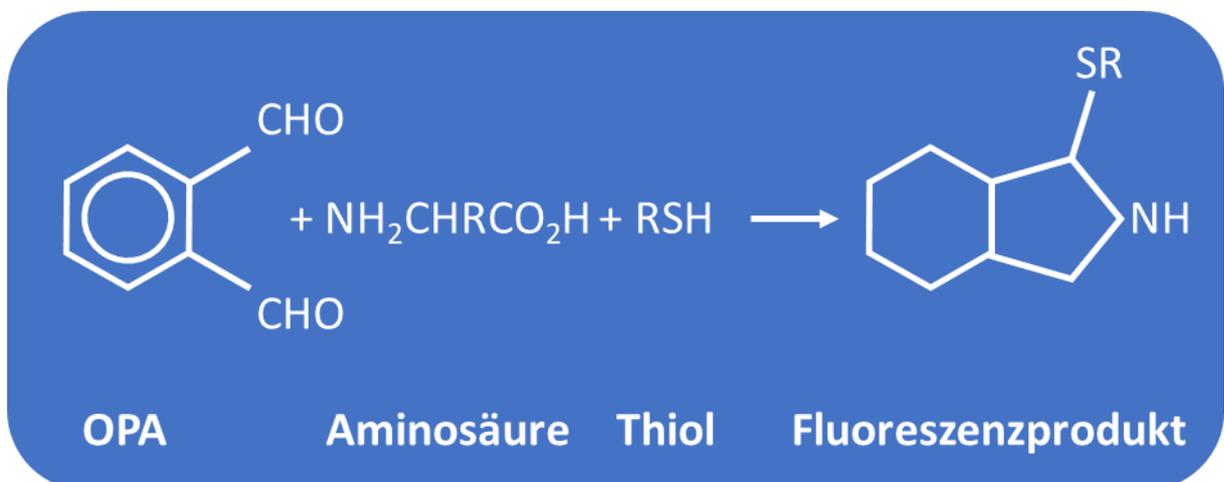


Abbildung 12: Reaktion von ortho-phthaldialdehyd mit Aminosäuren

Die Reaktionszeit ist mit ein bis drei Minuten sehr kurz. Isoindolderivate sind jedoch relativ instabil und werden bei Raumtemperatur rapide abgebaut. Daher muss die Reaktion während der „pre-column“-Derivatisierung auf einen pH-Wert von 7,2 gehalten werden, um die Produktstabilität sicherzustellen. Dies ist bei der „post-column“-Derivatisierung vernachlässigbar.

Sekundäre Amine wie z.B. Prolin und Hydroxyprolin können mit diesem Verfahren nicht erfasst werden, da OPA nur mit primären Aminosäuren reagiert.

5.5.5 Fluorimetrische Bestimmung der Aminosäuren

Die Aminosäuren wurden mit OPA derivatisiert und danach erfolgt die Auftrennung über eine Lithiumionen-Säule. Mit dieser Methode können die Aminosäuren mittels Fluoreszenzdetektion mit einer Anregungswellenlänge von λ_{ex} 330 nm und einer Emissionswellenlänge von λ_{em} 450 nm bestimmt werden.

6 Ergebnisse

6.1 Patientenkollektiv COALL 07-03- und 08-09 Studie

In der COALL 07-03 Studie wurden insgesamt 773 Kindern aus 10 COALL-Prüfzentren gemeldet. Die Altersverteilung der Patienten lag zwischen 1 Jahr und 16 Jahren (Median 5 Jahre). 393 Patienten wurden nach dem High- Risk Protokoll behandelt, 380 Patienten nach dem Low- Risk Protokoll. Die COALL 08-09 Studie war zu dem Zeitpunkt der Auswertung der Ergebnisse noch nicht abgeschlossen, daher ist in dieser Arbeit nicht das Gesamtkollektiv der COALL 08-09 Studie erfasst, sondern ein Teilkollektiv. In der Zeit vom 1.10.2010 bis zum 05.12.2013 wurden 285 Patienten in die COALL 08-09 Studie aufgenommen (157 Jungen und 128 Mädchen). Die Altersverteilung der Patienten lag zwischen 1 Jahr und 17 Jahren (Median 5 Jahre). 132 Patienten wurden nach dem Low- Risk Protokoll behandelt, 153 nach dem High- Risk Protokoll.

In den beiden folgenden Abschnitten 6.1.1 und 6.1.2 werden die Patientencharakteristika aller Patienten, die im Rahmen der beiden COALL Studien behandelt wurden (773 und 285), verglichen mit den Patientencharakteristika derjenigen Patienten, bei denen eine allergische Reaktion auf Asparaginase aufgetreten war und nachfolgend der Verlauf der Asparagindepletion anhand von Asparaginspiegelmessungen beurteilt wurde.

Die Beschreibung der Studienpopulation COALL 07-03- bzw. COALL 08-09- bezieht sich auf Studienpatienten mit definierten Einschlusskriterien (siehe Therapieprotokolle 5.1). In beiden Studienprotokollen wurden jedoch auch Beobachtungspatienten aufgenommen, hierunter fallen zum Beispiel Patienten mit T-NHL. Diese Patienten wurden von 2003 bis 2008 in einem gemeinsamen europäischen Protokoll behandelt. Da es dann keine offene Therapiestudie für diese Patienten gab, wurden sie gemäß dem COALL 07-03- bzw. COALL 08-09 Protokoll behandelt. Beide Patientenkollektive mit einer allergischen Reaktion auf Asparaginase beinhalten somit auch Patienten mit T-NHL.

6.1.1 Stichprobe COALL 07-03 Studie

Im Rahmen der COALL 07-03 Studie wurden der Studienzentrale allergische Reaktionen auf Asparaginase bei 84 (48 Jungen und 36 Mädchen) Patienten gemeldet. Hinsichtlich der Risikostratifizierung zeigte sich ein deutlicher Unterschied zwischen dem Kollektiv der Gesamtstudie und dem Patientenkollektiv mit allergischer Reaktion auf Asparaginase: In der Gesamtstudie war die Verteilung zwischen HR- und LR-Patienten ausgeglichen. In dem Kollektiv, welches eine allergische Reaktion auf Asparaginase zeigte, lagen mit 71% wesentlich mehr HR-Patienten vor. Bei den übrigen Parametern zeigte sich kein wesentlicher Unterschied.

Tabelle 4: Stichprobe Gesamt- und Vergleichskollektiv COALL 07-03 Studie

COALL 07-03 Studie						
Patientenkollektiv allergische Reaktion auf Asparaginase		n=84	%	Gesamtkollektiv	n=773	%
Stratifizierung	HR	60	71%		n=393	51%
	LR	24	29%		n=380	49%
Geschlecht	weiblich	36	43%		344	45%
	männlich	48	57%		429	55%
Alter bei Diagnose	<10 Jahre	65	77%		599	77%
	≥10 Jahre	19	23%		152	20%
WBC initial	<25/nl	54	64%		523	68%
	≥25/-<100/nl	22	26%		250	32%
	≥100/nl	8	10%		68	9%
Immunphänotyp	C-ALL	47	56%	C-ALL	485	63%
	Pre-B-ALL	17	20%	Pre-B-ALL	159	21%
	Pro-B-ALL	4	5%	Pro-B-ALL	18	2%
	T-ALL	11	13%	T-ALL	110	14%
	T-NHL	4	5%	B-Precursor	1	0%
	Biphänotyp-ALL	1	1%			

6.1.2 Stichprobe COALL 08-09 Studie

Im Zeitraum vom 1.10.2010 bis zum 05.12.2013 wurden der Studienzentrale allergische Reaktionen auf Asparaginase bei 39 Patienten (13 Jungen und 26 Mädchen) gemeldet. 12 Patienten wurden nach dem Low-Risk-Protokoll, 27 Patienten nach dem High-Risk-Protokoll behandelt. Wie in der COALL 07-03 Studie zeigte sich auch hier beim Vergleich der Ergebnisse des Patientenkollektivs mit dem Gesamtkollektiv hinsichtlich der Stratifizierung mit 69% ein deutliches Überwiegen der HR-Patienten. Bei den übrigen Parametern bestand kein wesentlicher Unterschied zwischen dem Patientenkollektiv mit allergischer Reaktion auf Asparaginase und dem Gesamtkollektiv.

Tabelle 5: Patientenkollektiv COALL -08-09

COALL 08-09 Studie						
Patientenkollektiv allergische Reaktion auf Asparaginase		n=39	%	Gesamtkollektiv	n=285	%
Stratifizierung	HR	n=27	69%		n=153	54%
	LR	n=12	31%		n=132	46%
Geschlecht	weiblich	26	33%		128	45%
	männlich	13	67%		157	55%
Alter bei Diagnose	<10 Jahre	23	59%		202	71%
	≥10 Jahre	16	41%		83	29%
WBC initial	<25/nl	24	61%		194	68%
	≥25/-<100/nl	12	31%		57	20%
	≥100/nl	3	8%		34	12%
Immunphänotyp	C-ALL	28	72%	C-ALL	193	68%
	Pre-B-ALL	4	10%	Pre-B-ALL	50	17%
	T-ALL	6	15%	Pro-B-ALL	6	2%
	T-NHL	1	3%	T-ALL	36	13%

6.2 Auswertung der Toxizitätsbögen, Häufigkeit allergischer Reaktionen auf C-ASP und PEG-ASP in der COALL 07-03 Studie

Im Rahmen der Erfassung von Toxizitäten in der COALL 07-03 Studie wurden bei Auftreten von Nebenwirkungen diese in die sogenannten Toxizitätsbögen eingetragen. Mit Hilfe dieser Toxizitätsbögen konnte die Häufigkeit und der Therapiezeitpunkt einer allergischen Reaktion auf die C-ASP und PEG-ASP in der COALL 07-03 Studie untersucht werden. Es waren von insgesamt 443 Patienten vollständig ausgefüllte Toxizitätsbögen vorhanden.

Stichprobenbeschreibung Toxizitätsbögen:

Von diesen 443 Patienten wurde bei 141 Patienten (32%) eine allergische Reaktion auf Asparaginase dokumentiert. Davon waren 65% High-Risk-Patienten (n= 91) und 35% Low-Risk-Patienten (n=50). Bei 302 Patienten wurde keine allergische Reaktion auf die Asparaginase dokumentiert, wobei die Verteilung der Risikostratifizierung hier in etwa gleich war mit 53% HR- und 47% LR-Patienten (161 Patienten High-Risk- und 141 Low-Risk-Patienten). In dieser folgenden Tabelle sind die Merkmale der Patienten, welche auf Asparaginase allergisch reagiert haben und diejenigen die nicht allergisch reagiert haben im Vergleich dargestellt. Bezüglich Alter, Geschlecht und der initialen Leukozytenzahl (WBC initial) fand sich kein Unterschied.

Im Vergleich zu dem Gesamtkollektiv der COALL 07-03 Studie (siehe 6.1.1) zeigte sich auch hier, dass es einen Unterschied bezüglich der Risikostratifizierung gab: Allergische Reaktionen traten deutlich häufiger bei HR-Patienten (65%) auf.

Tabelle 6: Patientenkollektiv Toxizitätsbögen

allergische Reaktion n=141 auf C-ASP/ PEG-ASP			%	keine allergische Reaktion auf C-ASP/ PEG-ASP		n=302	%
Stratifizierung							
HR	n=91		65%		n=161		53%
LR	n=50		35%		n=141		47%
Geschlecht	weiblich	66	47%		133		44%
	männlich	75	53%		169		56%
Alter bei Diagnose	<10 Jahre	105	74%		236		78%
	≥10 Jahre	36	26%		66		22%
WBC initial	<25/nl	93	66%		214		71%
	≥25/-≤100/nl	36	26%		65		22%
	≥100/nl	12	8%		23		7%
Immunphänotyp	C-ALL	81	57%		C-ALL	195	65%
	Pre-B-ALL	33	23%		Pre-B-ALL	51	17%
	Pro-B-ALL	4	3%		Pro-B-ALL	8	3%
	T-ALL	19	14%		T-ALL	40	13%
	T-NHL	3	2%		T-NHL	4	1%
B-Prec-NHL	1	1%		B-Prec-NHL	1	0%	
					Biphänotyp-ALL	3	1%

In der folgenden Tabelle sind die Häufigkeit und der Therapiezeitpunkt der allergischen Reaktion auf die C-ASP und PEG-ASP im Rahmen der COALL 07-03 Studie dargestellt:

Tabelle 7: Häufigkeit der allergischen Reaktion auf Asparaginase

Anzahl der Gaben	Erstmalige allergische Reaktion (n=Anzahl der Patienten)		Gesamt n=141
	C-ASP n=105	PEG-ASP n=36	
1.	23		
2.	81		
3.		17	
4.		16	
5.	1	1	
6.		2	

Bei 141 Patienten trat eine allergische Reaktion auf Asparaginase auf. Diese trat bei 23 Patienten (16%) bei der 1. Asparaginase-Gabe, bei 81 Patienten (57%) bei der 2. Asparaginase-Gabe und bei 17 Patienten (12%) bei der 3. Asparaginase-Gabe auf.

Von den 23 Patienten, die auf die 1. C-ASP-Gabe allergisch reagierten, hatten 16 eine fragliche allergische Reaktion und 7 eine sichere allergische Reaktion. Von 81 Patienten, welche auf die 2. C-ASP-Gabe allergisch reagierten, hatten 12 eine fragliche und 69 eine sichere allergische Reaktion auf C-ASP.

Die Auswertung der Toxizitätsbögen zeigt, dass die Mehrheit der allergischen Reaktionen bei der 2. Asparaginase-Gabe auftrat mit einem deutlichen Überwiegen der als sicher eingestuften allergischen Reaktionen.

6.3 Auswertungen nach allergischer Reaktion auf C-ASP

In diesem Abschnitt erfolgt zum einen die Auswertung der klinischen Symptome und des Zeitpunktes der allergischen Reaktion auf C-ASP, zum anderen die Darstellung der Asparagindepletion nach einer allergischen Reaktion auf C-ASP. In diesem Kollektiv befinden sich ausschließlich Patienten, die nach dem COALL 07-03 Protokoll behandelt wurden, denn diese Patienten erhielten protokollgemäß Coli-Asparaginase als erste und zweite Asparaginase-Gabe (siehe Beschreibung der Therapieprotokolle Abschnitt 5.1). Im Gegensatz zu der Auswertung der Toxizitätsbögen erfolgte die Erhebung der klinischen Symptome und der Zeitpunkt der allergischen Reaktion anhand der Einsendungen der Begleitscheine im Rahmen des Asparaginase-Monitorings.

6.3.1 Stichprobenbeschreibung

Bei 70 Patienten wurde eine allergische Reaktion auf C-ASP gemeldet.

Tabelle 8: Patientencharakteristika allergische Reaktion auf C-ASP

		COALL 07-03 Patienten Gesamt n=70 (allergische Reaktion auf C-ASP)	% Anteil in Prozent
		n	
Geschlecht	Weiblich	31	44%
	Männlich	39	56%
Stratifizierung	High-Risk	49	70%
	Low-Risk	21	30%
Alter bei Diagnose	< 10 Jahre	54	77%
	≥ 10 Jahre	16	23%
Immunophänotyp	C-ALL	37	53%
	Pre-B-ALL	15	21%
	Pro-B-ALL	4	6%
	T-ALL	11	16%
	T-NHL	2	3%
WBC initial	Biphänotyp-ALL	1	1%
	WBC < 25/nl	43	61%
	WBC ≥ 25/nl <100/nl	18	26%
	WBC ≥ 100/nl	9	13%
Studie	COALL 03	70	

Es lagen von allen 70 Patienten, die auf C-ASP allergisch reagiert haben, klinische Daten zur allergischen Reaktion vor. Hinsichtlich der Risikostratifizierung wurden mit 70% deutlich mehr HR-Patienten gemeldet im Vergleich zum Gesamtkollektiv der COALL 07-03 Studie. In den weiteren Parametern der Patientencharakteristika zeigte sich kein wesentlicher Unterschied in der Verteilung.

6.3.2 Beschreibung der klinischen Symptome im Rahmen der allergischen Reaktion auf C-ASP

Bei diesen 70 Patienten wurden insgesamt 74 allergische Reaktionen auf C-ASP gemeldet. In dem Therapieprotokoll der COALL 07-03 Studie wurde von der Studienzentrale die Einstufung der Schwere der allergischen Reaktion anhand der klinischen Eigenschaften in eine fragliche und sichere Reaktion unterteilt (siehe Erläuterung Abschnitt 4.5.1). 47 Reaktionen auf C-ASP wurden als sicher und 26 Reaktionen auf C-ASP wurden als fraglich eingestuft. Bei einer Reaktion wurde keine Information über die aufgetretenen Symptome angegeben, so dass eine Einstufung der Schwere der allergischen Reaktion nicht möglich war.

Die folgende Tabelle zeigt die Verteilung der fraglichen und sicheren allergischen Reaktion auf C-ASP gegliedert in „High-Risk“ und „Low-Risk“ Risikostratifizierung:

Tabelle 9: Darstellung der Verteilung allergischer Reaktionen bei High-Risk und Low-Risk-Patienten

Stratifizierung	Fragliche allergische Reaktion	Sichere allergische Reaktion	Allergische Reaktion auf C-ASP gesamt
HR-Arm	16 (31%)	35 (69%)	51 (100%)
LR-Arm	10 (46%)	12 (54%)	22 (100%)
Gaben Gesamt	26	47	73

Insgesamt unterschied sich die Verteilung in sichere und fragliche allergische Reaktionen bei LR- und HR-Patienten. Während diese Verteilung bei LR-Patienten

nahezu ausgeglichen war, überwogen bei den HR-Patienten die sicheren allergischen Reaktionen.

Die Verteilung der definierten klinischen Symptome zeigt die folgende Abbildung:

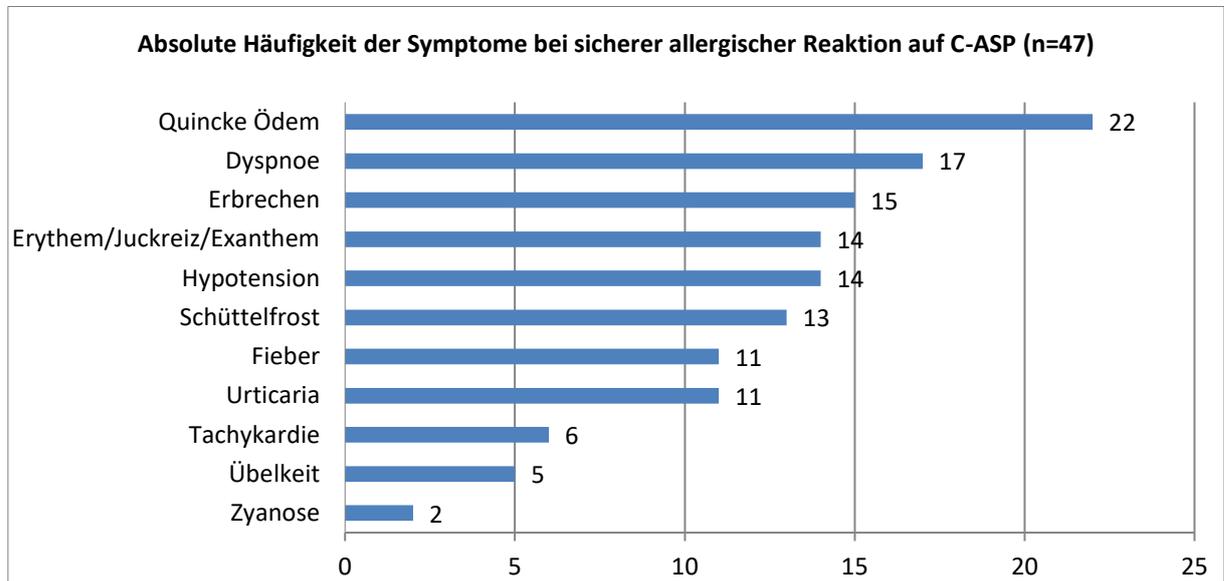


Abbildung 13: Verteilung der klinischen Symptome bei sicherer allergischer Reaktion auf C-ASP

Das häufigste Symptom war ein Quincke-Ödem, gefolgt von Dyspnoe, Erbrechen und Exanthem.

Folgende Abbildung gibt einen Überblick der dokumentierten klinischen Eigenschaften bei sicherer allergischer Reaktion unterschieden in HR- und LR-Patienten:

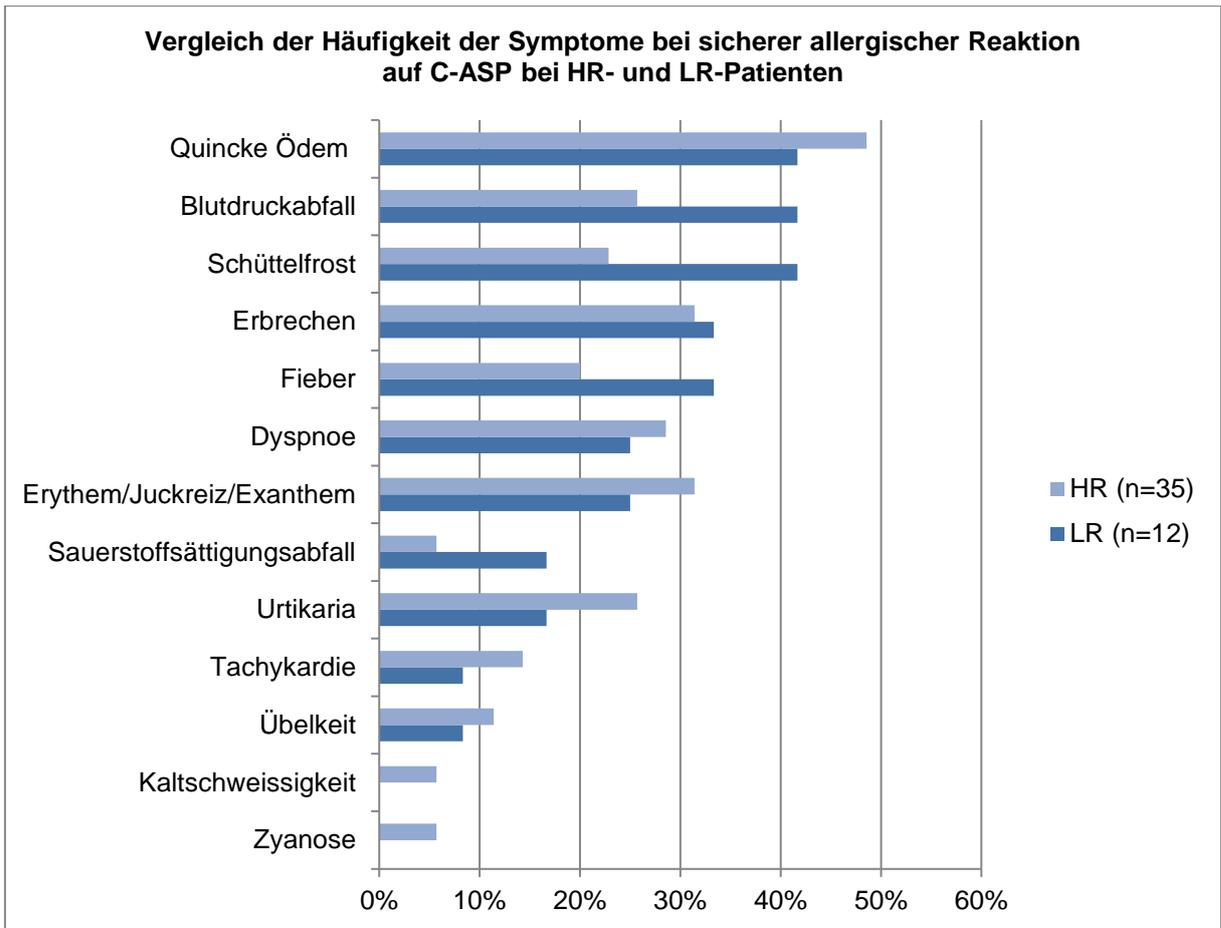


Abbildung 14: Vergleich der klinischen Symptome bei sicherer allergischer Reaktion auf C-ASP bei HR- und LR-Patienten

Die Häufigkeitsverteilung der klinischen Symptome bei dokumentierter, fraglicher, allergischer Reaktion zeigt folgende Abbildung:

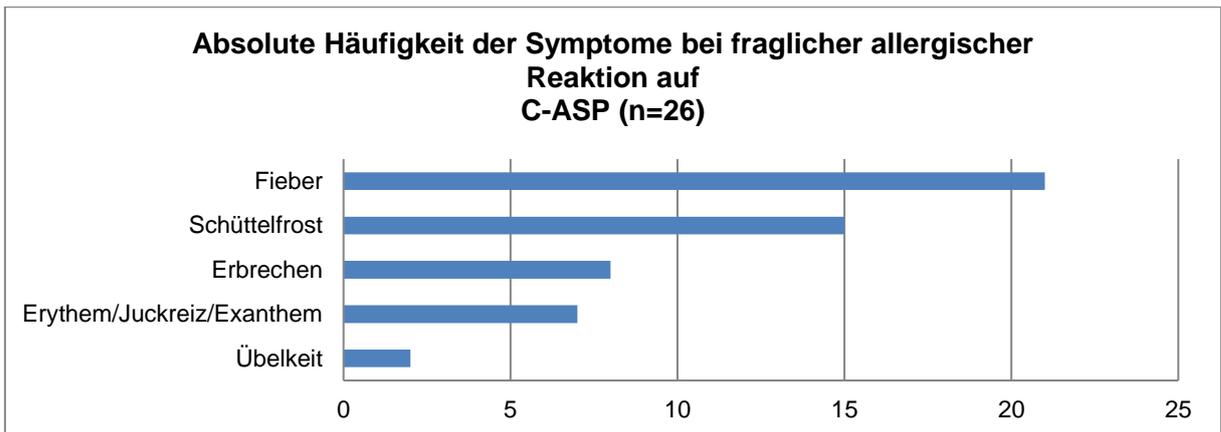


Abbildung 15: Verteilung der klinischen Symptome bei fraglicher allergischer Reaktion auf C-ASP

Fieber und Schüttelfrost waren die häufigsten klinischen Eigenschaften, gefolgt von Erbrechen und Erythem/ Exanthem/ Juckreiz.

In der folgenden Abbildung sind die dokumentierten klinischen Eigenschaften jeweils zu HR- und LR-Patienten zugeordnet.

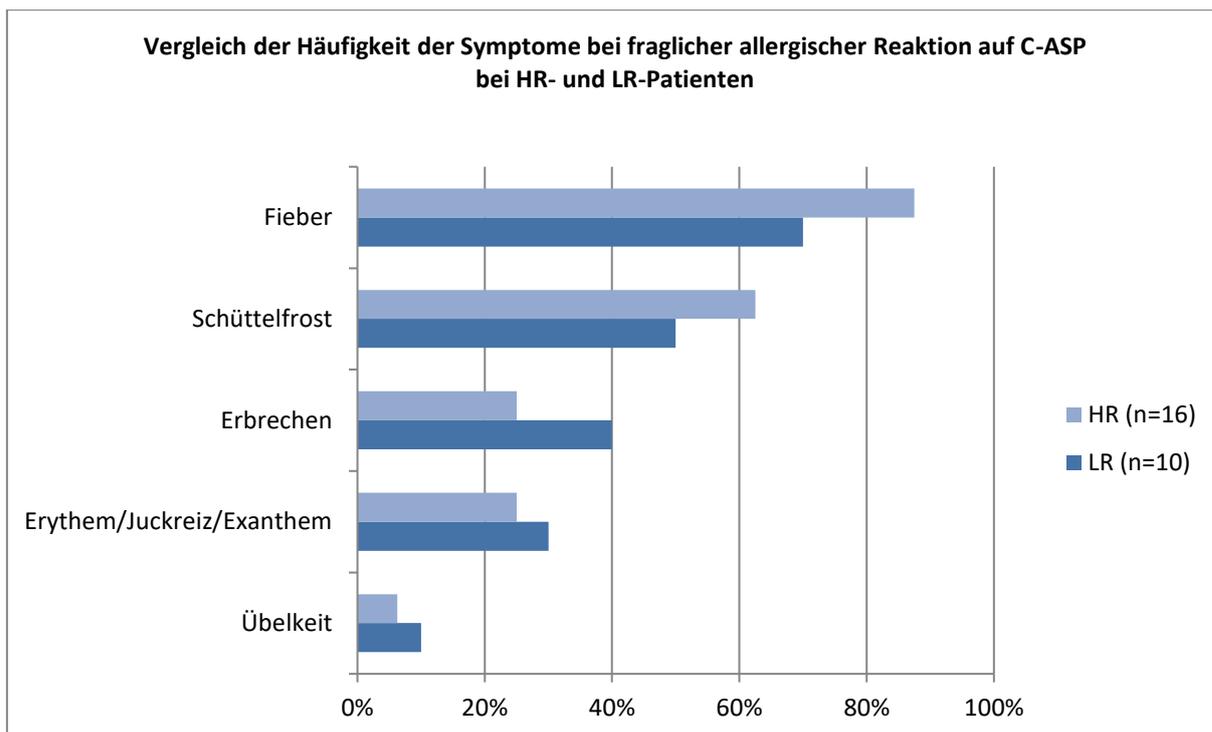


Abbildung 16: Vergleich der klinischen Eigenschaften bei fraglicher allergischer Reaktion auf C-ASP bei HR- und LR-Patienten

Auch hier werden Fieber und Schüttelfrost als häufigstes klinisches Symptom genannt.

Nach der Definition im Therapieprotokoll und damit durch die Studienzentrale festgelegten Unterteilung in fragliche und sichere allergische Reaktionen, unterschieden sich die klinischen Symptome bei Patienten mit fraglicher allergischer Reaktion wesentlich von jenen mit einer als sicher eingestuften Reaktion. Ein Unterschied zwischen den HR- und LR-Patienten zeigte sich weder bei den sicheren noch bei den fraglichen Reaktionen.

6.3.3 Zeitpunkt der allergischen Reaktion

Bei der Auswertung des Zeitpunktes der allergischen Reaktion auf C-ASP konnten von 70 Patienten klinische Daten zu der Reaktion, bei insgesamt 74 allergischen Reaktionen erfasst werden. 4 Patienten reagierten sowohl auf die erste, als auch auf die zweite C-ASP-Gabe allergisch, so dass eine Anzahl von 74 Reaktionen ausgewertet werden konnte. Folgende Tabelle stellt den Zeitpunkt der allergischen Reaktion auf C-ASP dar:

Tabelle 10: Zeitpunkt der allergischen Reaktion auf C-ASP

Anzahl der Gaben	fragliche allergische Reaktion	sichere allergische Reaktion	keine Information über die Symptome der allergischen Reaktion	Gesamt
1.	7 (27%)	6 (13%)	0	13/ (18%)
2.	19 (73%)	41 (87%)	1	61 (82%)
Σ	26 (100%)	47 (100%)	1	74 (100 %)

Es wurden 47 sichere allergische Reaktionen und 26 fragliche allergische Reaktionen auf C-ASP erfasst. Sichere allergische Reaktionen traten mit einer deutlichen Mehrheit in 87% bei der 2. Gabe auf, bei der 1. Gabe waren es hingegen nur 13% sichere allergischen Reaktionen. Handelte es sich um fragliche allergische Reaktionen, trat ebenfalls ein Großteil dieser Reaktionen bei der 2. Gabe auf. Von den 4 Patienten, welche sowohl auf die erste als auch zweite C-ASP-Gabe allergisch reagierten, waren es bei der 1. Gabe 2 sichere allergische Reaktionen und 2 fragliche allergische Reaktionen, bei der 2. Gabe waren es 3 sichere allergische Reaktionen und eine fragliche allergische Reaktion.

Bei 24 von den 47 sicheren allergischen Reaktionen auf C-ASP wurde in der Dokumentation der klinischen Symptome das Auftreten während des Vorlaufs der Asparaginase-Infusion beschrieben. Bei 3 Reaktionen erfolgte der Abbruch während des Hauptlaufs und bei insgesamt 20 allergischen Reaktionen erfolgte keine Dokumentation bezüglich des Auftretens während des Vorlaufs oder Hauptlaufs der Asparaginase-Infusion.

6.3.4 Verlauf der Asparagindepletion nach allergischer (fraglich und sicher) Reaktion auf C-ASP

In der folgenden Abbildung wird der Verlauf der Asparaginkonzentration im Serum nach allergischer Reaktion, die als sicher gewertet wurde, dargestellt:

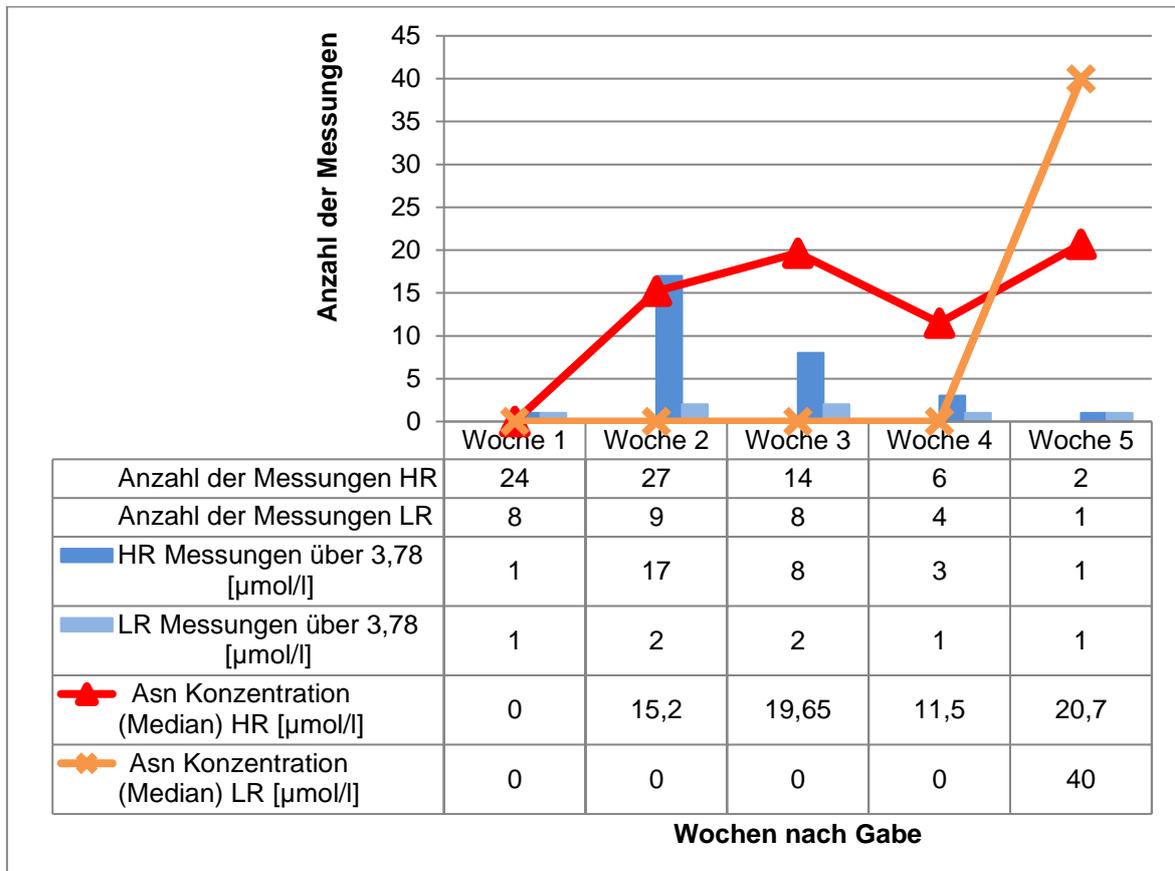


Abbildung 17: Verlauf der Asparaginkonzentration im Serum nach sicherer allergischer Reaktion

Es wurde der Median des Asparaginspiegels der beiden Kollektive High-Risk und Low-Risk in Woche 1 bis 5 berechnet. Hierbei zeigte sich ein deutlicher

Unterschied zwischen den LR- und HR-Patienten. Während bei den HR-Patienten bereits bei einem Großteil der Patienten in Woche 2 wieder ein nachweisbarer Asparaginspiegel vorlag, war die mediane Asparaginkonzentration bei den LR-Patienten in allen vier Wochen nicht nachweisbar, auch wenn die Probenzahl zum jeweiligen Messzeitpunkt niedriger war als bei den HR-Patienten.

In der folgenden Abbildung wird der Verlauf der Asparaginkonzentration im Serum nach allergischer Reaktion, die als fraglich gewertet wurde, dargestellt:

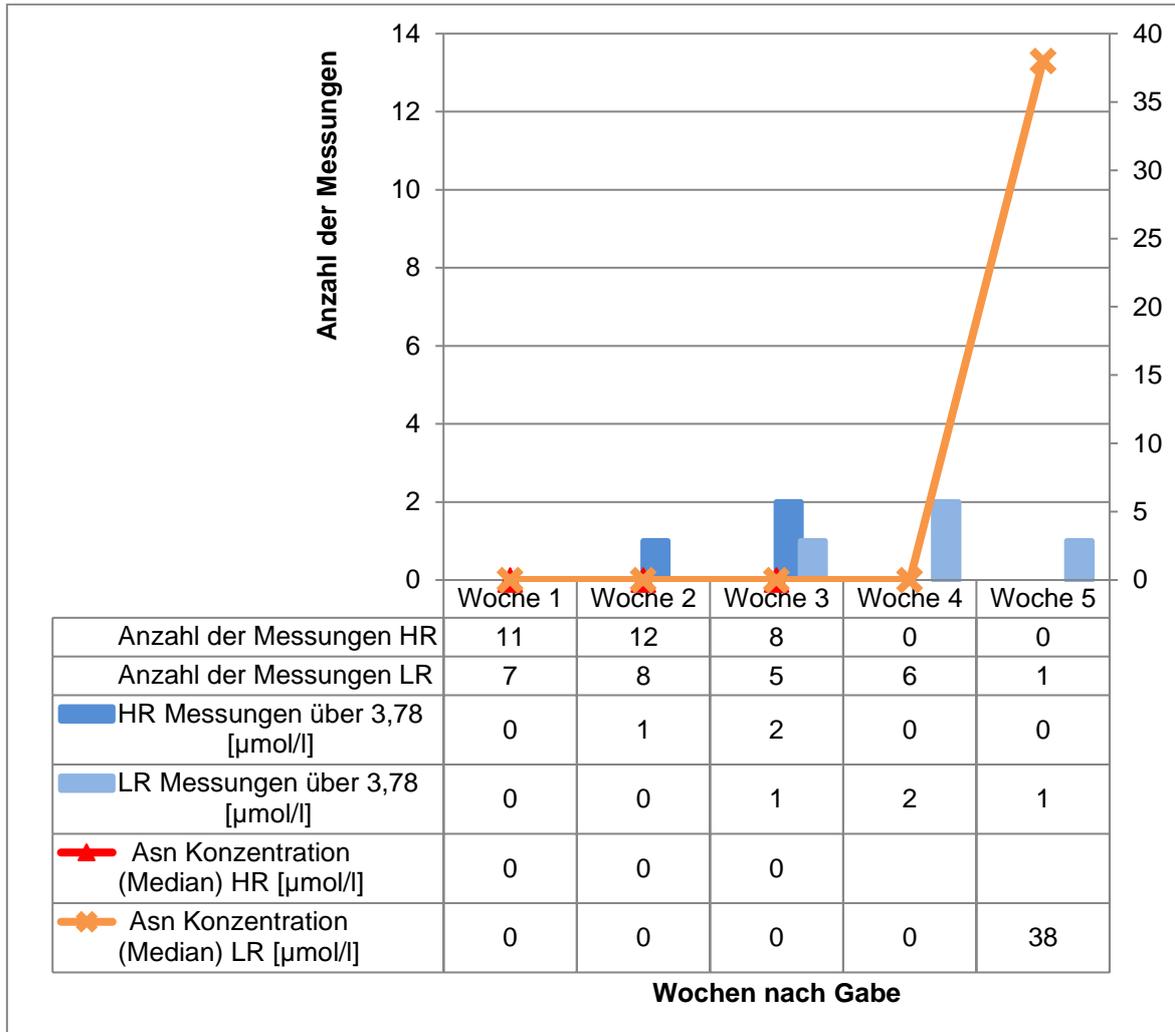


Abbildung 18: Verlauf der Asparaginkonzentration im Serum nach fraglicher allergischer Reaktion

Es wurde der Median des Asparaginspiegels der beiden Kollektive High- Risk und Low- Risk in Woche 1 bis 5 berechnet. Sowohl bei den HR-Patienten als auch bei den LR-Patienten zeigte sich eine Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf C-ASP in den ersten drei bzw. vier Wochen, wobei bei den HR-Patienten in Woche 4 und 5 keine Messungen erhoben wurden.

Im Gegensatz zu den Patienten, bei denen die klinische Reaktion als sicher gewertet wurde, zeigte sich bei nahezu allen Patienten mit fraglicher allergischer Reaktion eine Asparagindepletion für mehrere Wochen.

6.4 Auswertungen nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP

In diesem Abschnitt erfolgt die Auswertung der klinischen Symptome und des Zeitpunktes des Auftretens einer allergischen Reaktion auf PEG-ASP, sowohl im COALL 07-03 als auch im COALL 08-09 Protokoll. Zusätzlich wurde der Verlauf der Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP für jene Patienten ausgewertet, die keine Gabe von Erwinase direkt nach der allergischen Reaktion erhalten haben (siehe Abschnitt 6.4.4.1). Auch bei diesem Patientenkollektiv erfolgte die Erhebung der klinischen Symptome und der Zeitpunkt der allergischen Reaktion anhand der Einsendungen der Begleitscheine. Aufgrund der geringen Anzahl der gemeldeten Begleitscheine wurden hier die Patienten aus dem COALL 07-03 und 08-09 Protokoll zusammen ausgewertet.

6.4.1 Stichprobenbeschreibung

Die Tabelle zeigt die Charakteristika aller Patienten, die in Hinblick auf eine allergische Reaktion auf PEG-ASP untersucht wurden.

Tabelle 11: Patientencharakteristika allergische Reaktion auf PEG-ASP

		COALL 03 und COALL 09 Patienten gesamt n=71	% Anteil in Prozent
Geschlecht	Weiblich	n=37	52%
	Männlich	n=34	48%
Stratifizierung	High-Risk	n=53	75%
	Low-Risk	n=18	25%
Alter bei Diagnose	<10	n=45	63%
	≥10	n=26	37%
Immunophänotyp	C-ALL	n=44	62%
	Pre-B-ALL	n=11	16%
	T-ALL	n=12	17%
	T-NHL	n=3	4%
	Biphänotyp-ALL	n=1	1%
WBC initial	<25/nl	n=44	62%
	≥25/nl <100/nl	n=20	28%
	≥100/nl	n=7	10%
Studie	COALL 03	n=37	52%
	COALL 09	n=34	48%

37 Patienten wurden gemäß dem COALL 03 Protokoll, 34 Patienten nach dem COALL 09 Protokoll, behandelt. Auch hier lagen im Vergleich zum Gesamtkollektiv der COALL Studien mit 75% deutlich mehr HR-Patienten als LR-Patienten vor. Die Verteilung der übrigen Parameter zeigte keinen Unterschied.

6.4.2 Beschreibung der klinischen Symptome im Rahmen der allergischen Reaktion auf PEG-ASP

Bei insgesamt 71 Patienten wurden 79 allergische Reaktionen auf PEG-ASP gemeldet. Von den 71 Patienten, welche auf PEG-ASP allergisch reagierten, waren 53 Reaktionen von HR-Patienten und 18 Reaktion von LR-Patienten. In dem Therapieprotokoll der COALL 08-09 Studie wurde ebenfalls durch die Studienzentrale die Einstufung der Schwere der allergischen Reaktion anhand der klinischen Eigenschaften in eine fragliche und sichere Reaktion unterteilt. Im folgenden Diagramm ist die Aufteilung der allergischen Reaktionen nach sicheren und fraglichen allergischen Reaktionen, sowie nach Risikostratifizierung

dargestellt: Es traten mehr allergische Reaktionen in der High-Risk Gruppe auf (60/79 Anzahl der allergischen Reaktion) mit einem großen Anteil an sicheren allergischen Reaktionen (43/60).

Tabelle 12: Darstellung der Verteilung allergischer Reaktionen bei High-Risk und Low-Risk-Patienten

Stratifizierung	Fragliche allergische Reaktion (n=)	Sichere allergische Reaktion (n=)	Nicht in fraglich/sicher unterteilbar	Allergische Reaktion auf PEG-ASP gesamt (n=)
HR-Arm	14	43	3	60
LR-Arm	4	12	3	19
Gesamt	18	55	6	79

Die Häufigkeitsverteilung der klinischen Symptome bei sicherer allergischer Reaktion auf PEG-ASP bei HR- (n=43) und LR-Patienten (n=12) zeigt die folgende Abbildung:

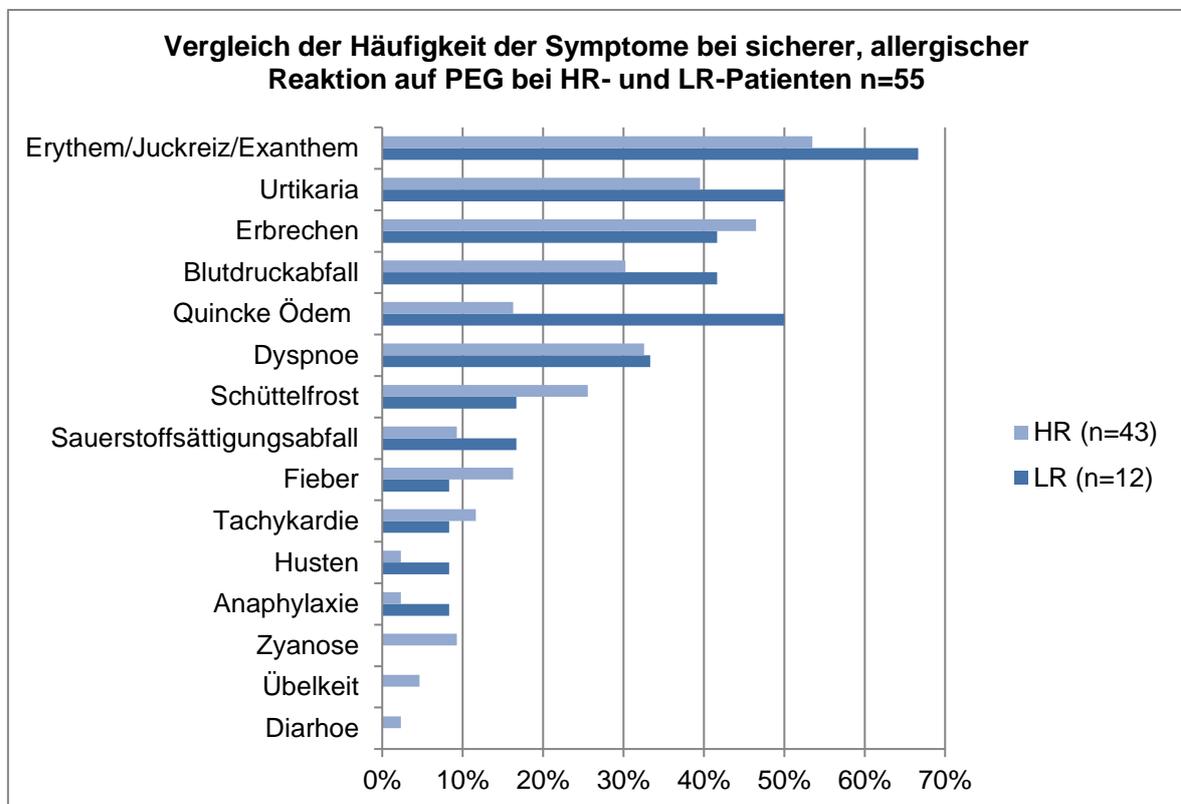


Abbildung 21: Häufigkeitsverteilung der sicheren allergischen Reaktion auf PEG-ASP

In der dargestellten Verteilung der Symptome bei einer sicheren allergischen Reaktion auf PEG-ASP zeigte sich kein Unterschied zwischen HR- und LR-Patienten.

Folgende Tabelle zeigt die Häufigkeitsverteilung der klinischen Eigenschaften bei fraglicher allergischer Reaktion auf PEG-ASP.

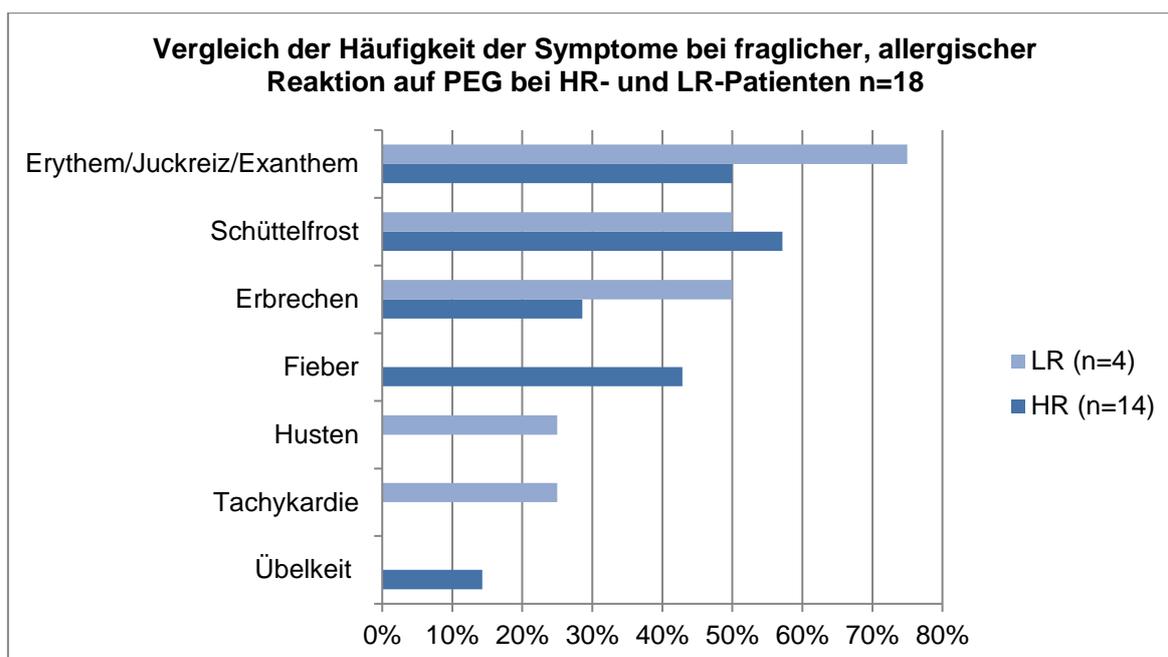


Abbildung 19: Häufigkeitsverteilung der fraglichen allergischen Reaktionen auf PEG-ASP (LR- und HR-Patienten)

Bei den Symptomen der fraglichen allergischen Reaktion trat Schüttelfrost in der HR- Gruppe am häufigsten auf.

Gemäß der Definition im Studienprotokoll (und damit durch die Studienzentrale festgelegten Unterteilung in fragliche und sichere allergische Reaktionen) unterschieden sich die klinischen Symptome bei Patienten mit fraglicher Reaktion deutlich von jenen mit einer als sicher eingestuftem Reaktion. Einen Unterschied zwischen den LR- und HR-Patienten ergab sich weder bei den sicheren noch bei den fraglichen Reaktionen.

6.4.3 Zeitpunkt der allergischen Reaktion auf PEG-ASP

Bei der Auswertung des Zeitpunktes der allergischen Reaktion auf PEG-ASP konnten von 71 Patienten klinische Daten zu der Reaktion, bei insgesamt 79 allergischen Reaktionen erfasst werden. Bei 8 Patienten trat bei wiederholter Gabe nochmal eine allergische Reaktion auf, so dass eine Anzahl von insgesamt 79 allergischen Reaktionen ausgewertet wurde.

Das Gesamtkollektiv (71 Patienten, 79 Gaben) wurde unterteilt in Patienten, die nach dem Studienprotokoll der COALL 03-07 und Patienten, die nach dem Studienprotokoll COALL 08-09 behandelt wurden, da in dem COALL 07-03 Protokoll die Patienten C-ASP als erste und zweite Asparaginase-Gabe (siehe Therapieprotokolle 5.1) erhielten und in dem COALL 08-09 Protokoll PEG-ASP ab der 1. Gabe verabreicht wurde.

Folgende Tabelle stellt den Zeitpunkt der allergischen Reaktion auf PEG-ASP dar:

Tabelle 13: Zeitpunkt der allergischen Reaktion auf PEG-ASP (Gesamtkollektiv)

Gabe	COALL03			COALL09			Σ
	fragl.	sicher	n/a	fragl.	sicher	n/a	
1.					4 (15%)		4 (5%)
2.		2 (7%)		5 (50%)	16 (59%)		23 (29%)
3.	5 (63%)	9 (32%)	5	3 (30%)	6 (22%)	1	29 (37%)
4.	3 (37%)	14 (50%)			1 (4%)		18 (23%)
5.		3 (11%)		2 (20%)			5 (6%)
Σ	8	28	5	10	27	1	79 (100%)

COALL 07-03

Im Rahmen der COALL 07-03 Studie wurden von 32 Patienten 28 sichere allergische Reaktionen und 8 fragliche allergische Reaktionen auf PEG-ASP erfasst. 2 Patienten erhielten bereits bei der 2. ASP-Gabe PEG-ASP, da zuvor eine allergische Reaktion auf C-ASP aufgetreten war. Sichere allergische Reaktionen traten in 32% bei der 3. Gabe auf (protokollgemäß die erste PEG-ASP-Gabe). Zu 50% traten sichere allergische Reaktionen bei der 4. Gabe auf (2. PEG-ASP-Gabe). Handelte es sich um fragliche allergische Reaktionen, trat die Mehrheit dieser Reaktionen bereits bei der 3. Gabe auf.

Von diesen 32 Patienten reagierten bereits 22 Patienten (69%) zuvor auf C-ASP. Die zugehörigen 23 Reaktionen lassen sich wie folgt differenzieren (Ein Patient reagierte sowohl auf die erste als auch zweite C-ASP-Gabe.):

Tabelle 14: Anzahl der allergischen Reaktionen auf C-ASP, der später auch auf PEG-ASP reagierenden Patienten

Gabe	COALL03		Σ
	fragl.	sicher	
1.	1 (4%)	1 (4%)	2 (9%)
2.	4 (17%)	17 (74%)	21 (91%)
Σ	5 (22%)	18 (78%)	23 (100%)

Mit 91% trat eine deutliche Mehrheit der allergischen Reaktionen auf C-ASP bei der 2. Gabe auf, zu 74% wurden die allergischen Reaktionen auf C-ASP als sicher eingestuft.

COALL 08-09

Im Rahmen der COALL 08-09 Studie wurden insgesamt in etwa 75% der allergischen Reaktionen auf PEG-ASP als sicher gewertet, 25% der Reaktionen wurden als fraglich gewertet. 59% der sicheren allergischen Reaktionen auf PEG-ASP traten im Zusammenhang mit der 2. Gabe auf. Fragliche allergische Reaktionen traten in 50% im Zusammenhang mit der 2. Gabe auf (siehe Tabelle 13).

Unabhängig von der Tatsache, ob zuvor protokollgemäß C-ASP verabreicht wurde (COALL 07-03 Studie) oder nicht (COALL 08-09 Studie), traten die meisten

allergischen Reaktionen bei der 2. PEG-ASP-Gabe auf. Des Weiteren zeigen diese Ergebnisse, dass durchaus schon sichere allergische Reaktionen auf die erste ASP-Gabe auftreten können.

Bei den insgesamt 55 sicheren allergischen Reaktionen auf PEG-ASP (sowohl COALL 07-03, als auch COALL 08-09- Studie) wurde in der Dokumentation der klinischen Symptome bei insgesamt 35 Reaktionen das Auftreten der Symptome im Vorlauf während der Asparaginase-Infusion beschrieben, bei 4 Reaktionen im Hauptlauf. Bei den restlichen 16 sicheren allergischen Reaktionen wurde nicht angegeben, ob die Symptome bereits im Vorlauf oder Hauptlauf auftraten.

6.4.4 Verlauf der Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP

6.4.4.1 Auswertung PEG-ASP Teilkollektiv

Bei der Auswertung der Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf Peg-Asparaginase wurde unterschieden zwischen jenen Patienten, die am Folgetag oder einige Tage später Erwinase erhalten haben – diese Patientengruppe ist in Bezug auf die Asparagindepletion in der Auswertung nach Erwinase-Therapie (siehe Abschnitt 6.5) aufgeführt – und jenen, bei denen in der Folge der allergischen Reaktion keine Erwinase verabreicht wurde. Nur bei diesem Teilkollektiv wurden die Daten bezüglich der Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP ausgewertet.

6.4.4.2 Stichprobenbeschreibung PEG-ASP Teilkollektiv

31 Patienten sind in diesem Teilkollektiv, welches zur Untersuchung der Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP herangezogen werden konnte, enthalten. Bei 4 Patienten erfolgte keine Asparaginspiegelmessung, so dass bei insgesamt 27 von 31 Patienten mit 30 allergischen Reaktionen Asparaginspiegelmessungen untersucht werden konnten. Es wurden 16 Patienten nach dem COALL 03 und 15 Patienten nach dem COALL 09 Protokoll behandelt. Im Gegensatz zu den vorherigen Kollektiven zeigt sich in diesem Kollektiv ein ganz deutliches Überwiegen der HR-Patienten mit 94% (n=29). Die übrigen Parameter waren in der Verteilung vergleichbar.

Tabelle 15: PEG-ASP Patienten Charakteristika, Kollektiv 2

		COALL 03 und COALL 09 Patienten gesamt n=31	% Anteil in Prozent
Geschlecht	Weiblich	n=17	55%
	Männlich	n=14	45%
Stratifizierung	High-Risk	n=29	94%
	Low-Risk	n=2	6%
Alter bei	<10	n=17	55%
Diagnose	≥10	n=14	45%
Immunphänotyp	C-ALL	n=18	58%
	Pre-B-ALL	n=7	23%
	T-ALL	n=4	13%
	T-NHL	n=1	3%
	Biphänotyp-ALL	n=1	3%
WBC initial	<25/nl	n=16	52%
	≥25/nl <100/nl	n=11	35%
	≥100/nl	n=4	13%
Studie	COALL 03	n=16	52%
	COALL 09	n=15	48%

6.4.4.3 Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP Teilkollektiv

30 allergische Reaktionen auf PEG-ASP mit Asparaginspiegelmessungen wurden erhoben. In der folgenden Abbildung ist die Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP dargestellt:

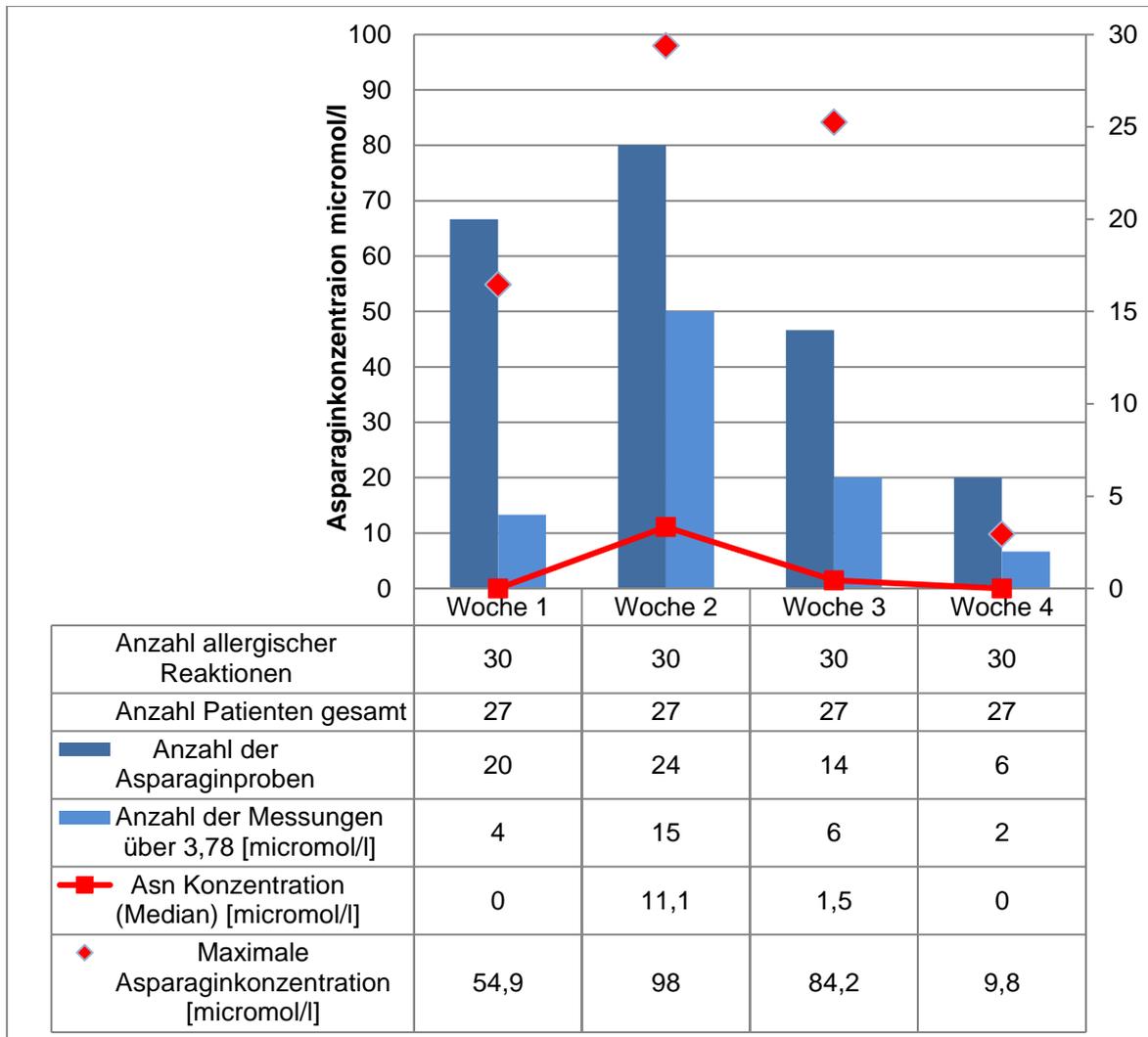


Abbildung 20: Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP

Es wurde der Median der Asparaginspiegel in Woche 1 bis 4 berechnet und ausgewertet. Aufgrund geringer Probenanzahl wurden sowohl LR- und HR-Patienten, als auch Patienten mit fraglicher und sicherer allergischer Reaktion zusammen ausgewertet. Zwischen den Patienten mit einer fraglichen und einer sicheren allergischen Reaktion zeigte sich jedoch im Hinblick auf die Dauer der Asparagindepletion kein Unterschied. Nach einer Woche lag wieder ein nachweisbarer Asparaginspiegel vor, in Woche 3 zeigte sich ein Abfall der medianen Asparaginkonzentration, wobei die Probenanzahl ab Woche 3 kontinuierlich abnahm.

6.5 Auswertung der Verträglichkeit und Wirksamkeit der Erwinase als therapeutische Alternative nach vorangegangener allergischer Reaktion auf C-ASP/PEG-ASP

Die Erwinase wurde aufgrund einer vorangegangenen allergischen Reaktion auf C-ASP oder PEG-ASP bzw. fehlender Depletion verabreicht. Es wurde die Verträglichkeit und Wirksamkeit der Erwinase untersucht.

6.5.1 Stichprobenbeschreibung

Im Rahmen der Auswertung der Verträglichkeit und Effektivität der Erwinase wurden 69 Patienten untersucht. 36 Patienten wurden gemäß dem COALL 07-03 - und 33 Patienten gemäß dem COALL 08-09 Protokoll behandelt. Entsprechend den Patientenkollektiven, welche allergisch auf Coli- oder Peg-Asparaginase reagiert hatten, waren 70% der 69 untersuchten Patienten im High-Risk Zweig, 30% im Low-Risk Zweig behandelt. Der Altersmedian lag bei 5 Jahren, wobei 70% der Kinder unter 10 Jahre alt waren zum Diagnosezeitpunkt. Mehr als die Hälfte der Patienten (62%) hatten eine C-ALL.

Tabelle 16: Patientencharakteristika Erwinase

Merkmale		Erwinase Patienten gesamt n=69	%
Geschlecht	Weiblich	n=37	54%
	Männlich	n= 32	46%
Stratifizierung	High-Risk	n=50	72%
	Low-Risk	n=19	28%
Alter bei Diagnose	<10	n=48	70%
	≥10	n=21	30%
Immunophänotyp	C-ALL	n=43	62%
	Pre-B-ALL	n=11	16%
	T-ALL	n=9	14%
	T-NHL	n=4	6%
	Biphänotyp-ALL	n=1	2%
WBC initial	<25/nl	n=45	65%
	≥25/nl <100/nl	n=20	29%
	≥100/nl	n=4	6%
Studie	COALL 03	n=36	52%
	COALL 09	n=33	48%

6.5.2 Klinische Verträglichkeit Erwinase

69 Patienten konnten betreffend der Verträglichkeit von Erwinase ausgewertet werden, bei 30 von 145 Erwinase-Gaben wurden Toxizitäten auf den Probebegleitbögen oder in Arztbriefen berichtet, die in folgender Tabelle aufgelistet sind. Die übrigen 115 Erwinase-Gaben wurden ohne Angabe von Toxizitäten gut vertragen.

Tabelle 17: Toxizitäten Erwinase

Toxizität	Anzahl Erwinase-Gaben
Gastrointestinale Symptome	17
Allergische Reaktionen	13
Σ	30

Bei 17 Gaben wurden gastrointestinale Symptome angegeben und bei 13 Gaben wurde eine allergische Reaktion auf Erwinase beschrieben.

6.5.2.1 Gastrointestinale Symptome

Bei insgesamt 17 Gaben wurden gastrointestinale Symptome beschrieben. Die Mehrheit der Symptome trat bei der 3. und 4. Gabe auf. Am häufigsten wurden Übelkeit und Erbrechen, gefolgt von Bauchschmerzen gemeldet. Die Symptome traten mehrfach erst im Hauptlauf oder am Ende der Gabe auf. Bei einem Patienten wurden nach der Erwinase-Gabe Symptome mit anhaltendem Erbrechen und einer Hyperammonämie beschrieben, daher wurde auf die 2. Erwinase-Gabe am Folgetag verzichtet.

Die Häufigkeitsverteilung der gastrointestinalen Symptome auf Erwinase ist in folgender Abbildung dargestellt:

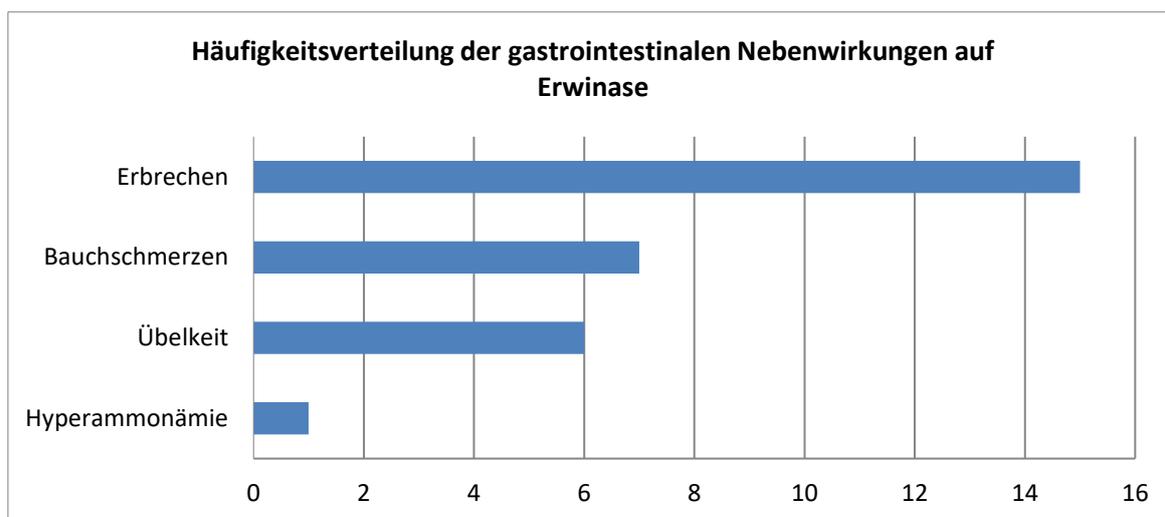


Abbildung 21: Häufigkeitsverteilung der gastrointestinalen Nebenwirkungen auf Erwinase

Das am häufigsten gemeldete klinische Symptom war Erbrechen.

6.5.2.2 Allergische Reaktion auf Erwinase

Das Auftreten allergischer Reaktionen auf die Erwinase war wie in der Literatur beschrieben erwartungsgemäß selten (siehe Abschnitt 4.5.1). Bei 11 Patienten wurde eine allergische Reaktion auf Erwinase dokumentiert. Zwei Patienten reagierten zweimal auf Erwinase allergisch, somit traten insgesamt 13 allergische Reaktionen auf Erwinase auf. Davon waren 6 fragliche allergische Reaktionen und 6 sichere allergische Reaktionen sowie eine nicht weiter definierte allergische Reaktion. 9 Patienten waren High-Risk stratifiziert und 4 Patienten Low-Risk stratifiziert.

Tabelle 18: Allergische Reaktion auf Erwinase

Eigenschaften	fragliche allergische Reaktion n	sichere allergische Reaktion n	keine Zuordnung n	Gesamt
LR-Patienten	2	1	1	4
HR-Patienten	6	5	0	9
Anzahl der allergischen Reaktion	8	6	1	13

Ergebnisse

Sichere allergische Reaktion auf Erwinase (n=4)

Die folgende Abbildung zeigt die Symptome bei sicherer allergischer Reaktion auf Erwinase.

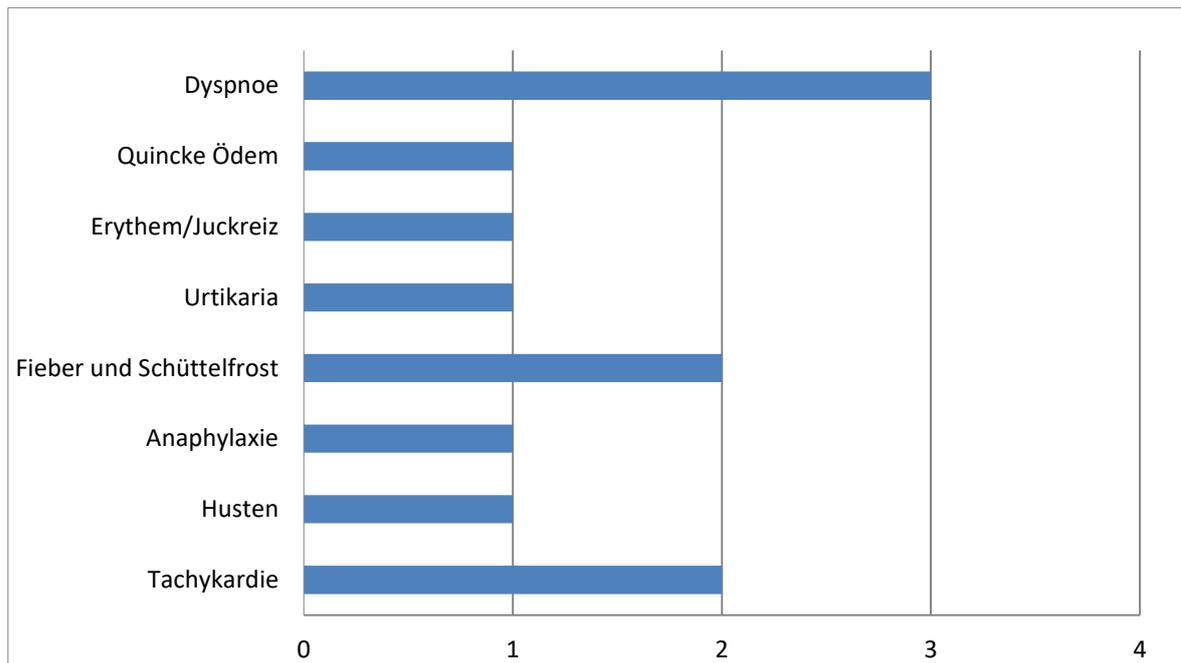


Abbildung 22: Symptome bei sicherer allergischer Reaktion auf Erwinase

Bei den drei Asparaginase-Präparaten zeigte sich eine unterschiedliche Häufigkeit bezüglich der Symptome im Rahmen einer sicheren allergischen Reaktion: Bei einer sicheren allergischen Reaktion auf C-ASP trat das Quincke Ödem am häufigsten auf, bei der PEG-ASP Exanthem, Erythem und Juckreiz, und nach Erwinase-Gabe trat Dyspnoe am häufigsten auf. Bei drei von den sechs sicheren allergischen Reaktionen auf die Erwinase wurden zusätzlich die häufigen im Zusammenhang mit der Erwinase auftretenden gastrointestinalen Symptome Übelkeit, Erbrechen und Bauchschmerzen beschrieben. Nur in wenigen Fällen traten bei der C-ASP, PEG-ASP und Erwinase eine Grad IV Reaktion auf.

Der Zeitpunkt der allergischen Reaktion wurde bei einem Patienten im Vorlauf der Gabe, bei 4 Patienten im Hauptlauf der Gabe dokumentiert. Bei einem weiteren Patienten trat die Reaktion im Vorlauf auf und die Gabe wurde direkt abgebrochen.

Fragliche allergische Reaktion auf Erwinase (n=7)

Folgende Abbildung zeigt die Häufigkeit der dokumentierten Symptome bei fraglicher allergischer Reaktion auf Erwinase.

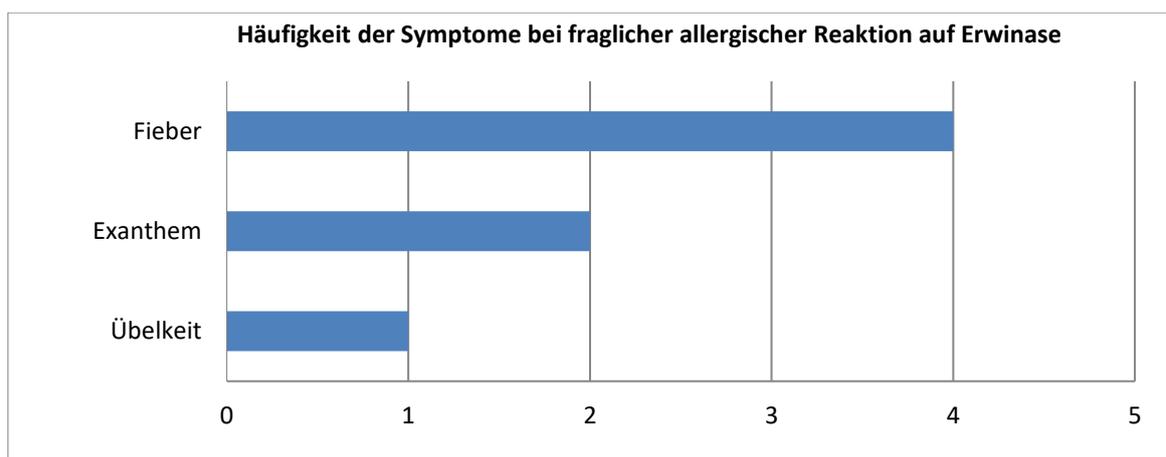


Abbildung 23: Häufigkeit der dokumentierten klinischen Eigenschaften bei fraglicher allergischer Reaktion auf Erwinase

Bei den insgesamt sehr wenigen Patienten trat Fieber als häufigstes Symptom auf. Der Zeitpunkt der allergischen Reaktion wurde bei einem Patienten im Vorlauf der Gabe, bei 3 Patienten im Hauptlauf der Gabe dokumentiert.

Gemäß der Definition im Studienprotokoll (und damit durch die Studienzentrale festgelegten Unterteilung in fragliche und sichere allergische Reaktionen) zeigte sich ein deutlicher Unterschied in der Häufigkeitsverteilung der klinischen Symptome bei Patienten mit fraglicher allergischer Reaktion im Vergleich zu den Patienten mit einer sicheren allergischen Reaktion.

6.5.3 Zeitpunkt der Erwinase-Gaben

Bei der Auswertung des Zeitpunktes des Ersatzes von C-ASP/PEG-ASP durch Erwinase im Rahmen der Asparaginase-Therapie konnten von 69 Patienten 145 Gaben dokumentiert werden. Eine vorangegangene allergische Reaktion auf C-ASP bzw. PEG-ASP zum Teil mit fehlender Depletion nach allergischer Reaktion (144/145) waren Gründe für den Einsatz von Erwinase. Ein Patient (1/145) erhielt Erwinase bei Verdacht auf stille Inaktivierung („SI“) von PEG-ASP.

Folgende Tabelle zeigt bei der wievielten Asparaginase- Gabe im Protokoll der Einsatz von Erwinase notwendig wurde:

Tabelle 19: Zeitpunkt des Ersatzes von PEG-ASP/C-ASP durch Erwinase im Rahmen der Asparaginase-Therapie

Gabe	COALL03		COALL09		Σ
	Im Vorfeld allergische Reaktion auf C-ASP/PEG-ASP	„SI“	Im Vorfeld allergische Reaktion auf PEG-ASP	„SI“	
1.	-	-	1 (2%)	-	1
2.	2 (2%)	-	15 (24%)	1	18
3.	14 (17%)	-	19 (30%)	-	33
4.	22 (27%)	-	16 (25%)	-	38
5.	20 (26%)	-	7 (11%)	-	27
6.	21 (26%)	-	4 (6%)	-	25
7.	2 (2%)	-	1 (2%)	-	3
Σ	81	-	63	1	145 (100%)

Die Applikation der Erwinase erfolgte im Rahmen der COALL 07-03 Studie mit 27% am häufigsten bei der 4. Gabe (protokollgemäß 2.PEG-ASP-Gabe) mit einer vergleichbaren Anzahl bei der 5. und 6. Gabe. Im Rahmen der COALL 08-09 Studie wurde die Erwinase mit 30% bei der 3. Gabe am häufigsten verabreicht. Ein Patient reagierte bereits bei der 1. Gabe auf PEG-ASP mit einer sicheren allergischen Reaktion und erhielt somit direkt am Folgetag Erwinase. Bei einem weiteren Patienten erfolgte der Wechsel zur Erwinase-Therapie aufgrund der Vermutung einer stillen Inaktivierung.

Im Falle einer allergischen Reaktion auf PEG-ASP erfolgte in der COALL 08-09 Studie der protokollseitig vorgegebene Präparate Wechsel auf Erwinase als einzige alternative Therapiemöglichkeit. Daraus ergibt sich, wie die Tabelle zeigt, dass es zu einem früheren Einsatz der Erwinase in der COALL 08-09 Studie kommt.

6.5.4 Verlauf der Asparaginkonzentration nach Erwinase- Gabe

Es konnten 67 Patienten (HR n=49; LR n=18) mit insgesamt 136 Erwinase-Gaben mit darauffolgendem Asparaginasemonitoring ausgewertet werden. Der Verlauf der Asparaginkonzentration im Serum nach Erwinase ist in folgender Abbildung dargestellt.

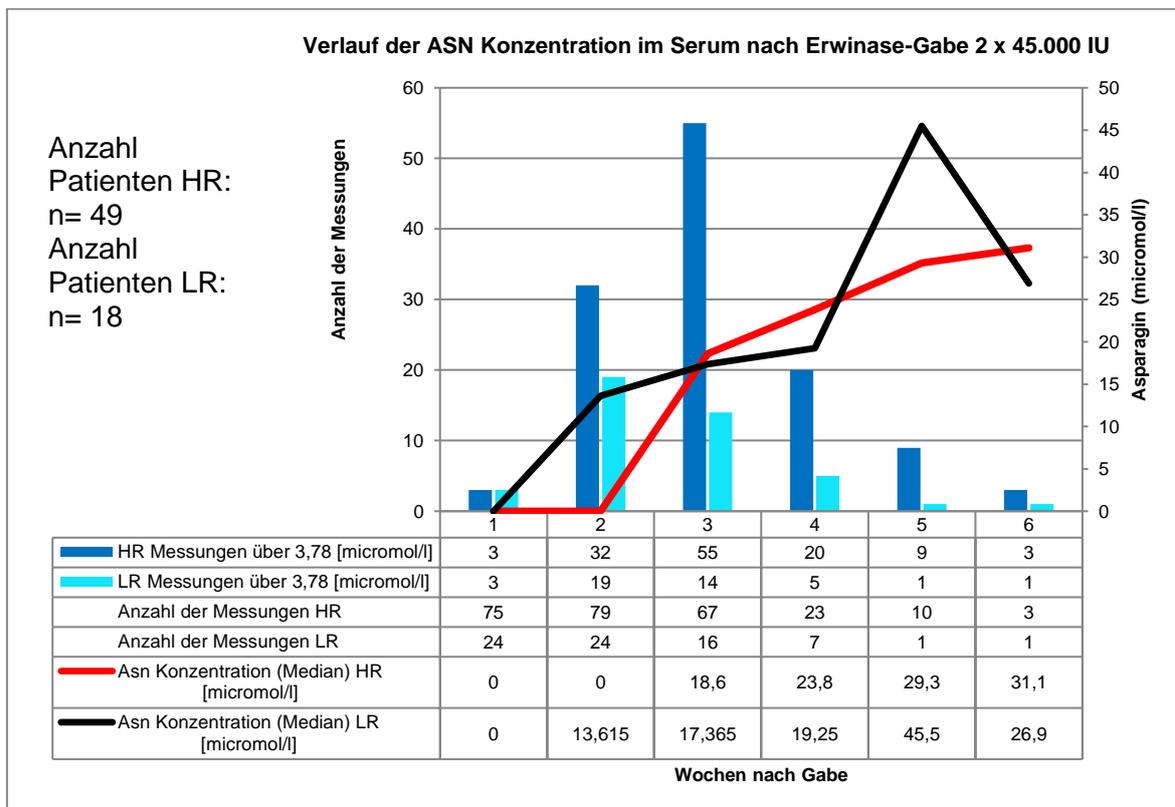


Abbildung 24: Verlauf der Asparaginkonzentration im Serum nach Erwinase- Gabe

Es wurde der Median des Asparaginspiegels der beiden Kollektive High-Risk und Low-Risk in Woche 1 bis 6 berechnet und getrennt nach HR- und LR-Patienten ausgewertet. Diese Grafik zeigt, dass bei allen Patienten (LR und HR) eine komplette Asparagindepletion in Woche 1 erreicht wurde. Die HR-Patienten waren

im Vergleich zu den LR-Patienten eine Woche länger depletiert, wobei mit 73% deutlich mehr HR-Patienten gemeldet wurden.

6.5.5 Asparagindepletion nach Auftreten gastrointestinaler Symptome

Patienten, bei denen gastrointestinale Symptome während der Erwinase-Verabreichung auftraten (siehe Abschnitt 6.5.2.1), hatten 47% (8/17) eine Asparagindepletion von einer Woche und 41% (7/17) eine Asparagindepletion von 2 Wochen.

6.5.6 Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf Erwinase

Wie bereits in Abschnitt 6.5.2.2 aufgeführt, wurde bei 11 Patienten eine allergische Reaktion auf Erwinase dokumentiert. Folgende Tabelle gibt eine Übersicht der Asparagindepletion bei sicherer allergischer Reaktion auf Erwinase.

Tabelle 20: Asparagindepletion bei sicherer allergischer Reaktion auf Erwinase

Depletion in Wochen	Anzahl der sicheren allergischen Reaktionen mit einer Depletion n=6
1 Woche depletiert	4
Keine Spiegelmessungen erhoben	2

Trotz sicherer allergischer Reaktion, lag eine Asparagindepletion von einer Woche bei 4 von 6 Reaktionen vor.

Folgende Tabelle zeigt eine Übersicht der Asparagindepletion bei fraglicher allergischer Reaktion auf Erwinase.

Tabelle 21: Asparagindepletion bei fraglicher allergischer Reaktion auf Erwinase

Depletion in Wochen	Anzahl der fraglichen allergischen Reaktionen mit einer Depletion n=6
2 Wochen depletiert	1
1 Woche depletiert	3
Keine Spiegelmessungen erhoben	2

Hier lag eine Asparagindepletion von einer Woche bei 3 von 6 fraglichen allergischen Reaktionen vor.

6.6 Stille Inaktivierung

Es konnten insgesamt 4 Patienten erfasst werden, bei denen eine stille Inaktivierung vermutet wurde. Hiervon wurden 3 nach der COALL 07-03 Studie behandelt und ein Patient nach der COALL 08-09 Studie. 3 Patienten waren LR und ein Patient HR stratifiziert. 2 Patienten erhielten C-ASP, hier wurde der Verdacht auf eine stille Inaktivierung gestellt, ein Patient erhielt PEG-ASP, ein weiterer Erwinase. In der folgenden Tabelle sind die Reaktionen, bei denen eine stille Inaktivierung vermutet wurde, dargestellt:

Tabelle 22: Auflistung der Patienten bei denen eine stille Inaktivierung vermutet wurde

n Studie	RANDO	Block in dem Gabe	Gabe ASP-Präparat	Bemerkung	stille Inaktivierung/Verträglichkeit	Ersatz durch	Abbruch der Gabe im Vorlauf/	Depletion in Wochen
----------	-------	-------------------	-------------------	-----------	--------------------------------------	--------------	------------------------------	---------------------

Ergebnisse

erfolgte			ASP	Hauptlauf				
1	COALL03 LR	Hidac 1- d57	2. C-ASP	allergische Reaktion auf C-ASP mit Fieber und Schüttelfrost am Tag 52, PEG-ASP Ersatz am Tag 78. Patient war nach der Gabe nicht depletiert, wahrscheinlich stille Inaktivierung.	fragliche allergische Reaktion	PEG-ASP Ersatz im Folgeblock	keine Info	keine Messungen vorhanden
2	COALL03 LR	Hidac 1- d57	2. C-ASP	Am Ende des C-ASP Vorlaufs, allergische Reaktion mit Übelkeit, Erbrechen, Schüttelfrost, Quincke, Stuhlabgang und Anschwellen der linken Hand (Paravasat). 2 Tage später PEG-ASP erhalten und klinisch PEG-ASP gut vertragen, aber ASP Spiegel erhöht. Fragliche stille Inaktivierung.	sichere allergische Reaktion und stille Inaktivierung	PEG-ASP zwei Tage später im selben Block	allerg.R.im VL	<1
3	COALL03 HR	2.CPM/ MTX/ C- ASP d64	3. PEG- ASP	Der Patient hat während der PEG-ASP Gabe mit roten Flecken im Gesicht, Bauchschmerzen, subfebriler Temperatur reagiert, Vitalzeichen stabil. PEG-ASP wurde vertragen, aber keine Asparagin Depletion. Frage : Stille Inaktivierung? Asparagin Spiegel 3 Monate nach der Gabe negativ. Anmerkung: Immuno: B-Precursor	fragliche allergische Reaktion, stille Inaktivierung?	kein Ersatz, nächste PEG-ASP Gabe nach Therapieprotokoll	Gabe bis Ende erhalten	<2
4	COALL09 LR	MTX/ ASP d50	2. Erwinase	Abnahme nach 1. Erwinasegabe wegen stiller Inaktivierung nach PEG-ASP-ASP Tag 52	stille Inaktivierung der PEG-ASP, Wechsel zu Erwinase	keine Information	keine Info	1

Diese vier Patienten reagierten alle auf C-ASP allergisch, hingegen wurde die PEG-ASP-Gabe gut vertragen. Eine ausreichende Asparaginepletion konnte dennoch nicht erlangt werden.

7 Diskussion

Die Asparaginase ist seit Jahrzehnten in allen weltweit durchgeführten Therapiestudien ein fester Bestandteil in der Polychemotherapie der akuten lymphatischen Leukämie des Kindesalters. Die hohe Rate an allergischen Reaktionen auf dieses Medikament limitiert seinen Einsatz jedoch bei einer großen Anzahl an Patienten. Nicht nur aufgrund der zum Teil schweren akuten klinischen Symptome bis hin zum anaphylaktischen Schock, sondern insbesondere auch, da durch die immunologische Reaktion die Wirkung der Asparaginase aufgehoben wird.

In dieser Arbeit wurden klinische Symptome und Zeitpunkt der allergischen Reaktion der unterschiedlichen Asparaginase-Präparate, sowie der Verlauf der Asparaginadepletion nach Auftreten einer allergischen Reaktion untersucht. Ziel war es, die klinischen Symptome als Reaktion auf die unterschiedlichen Asparaginase-Präparate darzulegen, mögliche Unterschiede hervorzuheben und die Entwicklung einer möglichen stillen Inaktivierung aufzudecken. Zudem wurden die Daten, die im Rahmen der COALL 07-03 Studie erhoben worden waren, analysiert unter der Fragestellung ob durch den frühzeitigen Einsatz der PEG-ASP die Häufigkeit der allergischen Reaktionen minimiert werden kann.

Die Angabe über die Häufigkeit der allergischen Reaktionen auf Asparaginase variiert in der Literatur erheblich: Es werden Überempfindlichkeitsreaktionen mit bis zu 30% angegeben, jedoch wurden auch Häufigkeitsraten bis zu 70% beschrieben (Silverman, 2001), (Panosyan, 2004), (Woo, 1998), (Zalewska-Szewczyk, 2007), (Müller, 2001), (Woo, 2000), (Appel, 2008). Die Häufigkeitsraten variieren unter anderem aufgrund der unterschiedlichen Asparaginase-Präparate. Die native E.-coli-Asparaginase weist mit bis zu 75% eine deutlich höhere Rate an allergischen Reaktionen auf im Vergleich zu der weniger immunogenen PEG-ASP, hier wurden Raten zwischen 3% und 30% berichtet (Silverman, 2001), (Avramis, 2002), (Wacker, 2007), (Raetz, 2010), (Tong, 2014), (Liu, 2016). Allergische Reaktionen auf Erwinase wurden mit 3-37% angegeben (Billett, 1992), (Albertsen, 2002), (Raetz, 2010), (Moghrabi, 2007), (Vrooman, 2010), (Salzer, 2013), (Tong, 2014).

In den früheren COALL-Studien-Protokollen (Studie 92 und 97) wurde ausschließlich E.coli-Asparaginase verabreicht, bei 30% der Patienten trat eine allergische Reaktion auf (unveröffentlichte Beobachtung). Aufgrund der Beobachtungen von Wenner et al., dass die pegylierte Asparaginase eine signifikant geringere Rate an allergischen Reaktionen aufweist, wurde in der COALL 07-03 Studie erstmals der Einsatz von PEG-ASP ab der 3. Dosis geprüft (Wenner, 2005). Die im Rahmen dieser Doktorarbeit erhobenen Daten zeigen, dass auch in der COALL 07-03 Studie bei 32% der Patienten eine allergische Reaktion auftrat. Eine Reduktion der allergischen Reaktionen gegenüber den Vorstudien konnte somit trotz Einführung der pegylierten Asparaginase nicht erreicht werden. Wie die Untersuchungen von Wang et al. und Zalewska-

Szewczyk gezeigt haben, besteht eine Kreuzreaktivität zwischen Anti-C-ASP-Antikörpern und PEG-ASP-Antikörpern (Zalewska-Szewczyk, 2009), (Wang, 2003). Sowohl die niederländische als auch die nordischen Studiengruppen konnten zeigen, dass die Verwendung von C-ASP in der Induktionsphase zu hohen Hypersensitivitätsraten auf PEG-ASP in den folgenden Therapieelementen führt. Als Konsequenz wurde der frühzeitige Einsatz von PEG-ASP ohne vorherige C-ASP-Gabe empfohlen (Albertsen, 2002), (Tong, 2014). Auch wenn in Deutschland zum Zeitpunkt der Datenerhebung nicht die Möglichkeit bestand Antikörper gegen Asparaginase zu messen, so bleibt zu vermuten, dass diese Kreuzallergie zwischen nativer und pegylierter Asparaginase der Grund für die unverändert hohe Raten an allergischen Reaktionen ist. Aufgrund dieser Daten wurde dann in der Folgestudie COALL 08-09 bereits ab der ersten Dosis pegylierte Asparaginase eingesetzt.

Bei der Untersuchung der Verträglichkeit der verschiedenen Asparaginase-Präparate zeigte sich bei den beschriebenen klinischen Symptomen kein Unterschied zu den in der Literatur von anderen Studiengruppen beobachteten Nebenwirkungen. Die niederländische Studiengruppe beobachtete nach intravenöser PEG-ASP-Verabreichung im Median eine CTCAE-Grad 2 Reaktion (Kloos, 2016). Auch Petersen et al. berichteten nach intravenöser Gabe von PEG-ASP bei der Mehrheit der allergischen Reaktionen eine CTC-Grad 2 Reaktion (Petersen Jr, 2014). Vrooman et al. beobachteten nach intravenöser Erwinase-Verabreichung bis auf eine CTCAE-Grad 3 Reaktion ebenfalls nur Reaktionen \leq Grad 2 (Vrooman, 2016).

In unserer Auswertung der Verträglichkeit der Erwinase wurden neben den sicheren allergischen Reaktionen auf Erwinase auch Symptome wie Übelkeit, Erbrechen und Bauchschmerzen beobachtet. Treten diese gastrointestinalen Symptome in Kombination mit zum Beispiel einem flüchtigen Exanthem, einer Tachykardie oder Husten während der Erwinase-Gabe auf, ist eine sichere Bewertung der Reaktion schwierig: ist es wirklich eine allergische Reaktion? Bei diesen Symptomen könnte es sich auch um Allergie-ähnliche Reaktionen handeln, die in einem Zusammenhang stehen mit einem schnellen Anstieg des Ammoniumspiegels. Denn der Anstieg des Ammoniumspiegels löst Übelkeit, Erbrechen und Exanthem aus (Asselin, 2016). In einer Studie von Kloos hatte die Hälfte der Patienten, die eine Allergie-ähnliche Reaktion zeigten, Ödeme, Dyspnoe, Urtikaria (Kloos, 2016). Unsere Untersuchungen zur Verträglichkeit der Erwinase bestätigen das häufige Auftreten gastrointestinaler Symptome. Über allergische Reaktionen auf Erwinase nach vorangegangener allergischer Reaktion auf C-ASP oder PEG-ASP wird mit einer Häufigkeit von 3-33% berichtet (Tong, 2014), (Vrooman, 2010), (Billett, 1992). In unserer Untersuchung traten diese vergleichsweise selten auf.

Auch der Dosierungsplan spielt eine bedeutende Rolle für das Auftreten von allergischen Reaktionen: Wird die Asparaginase-Therapie für mehrere Wochen oder Monate unterbrochen, kann es zur Bildung von Anti-Asparaginase-

Antikörpern während der Behandlungspause kommen. In vielen Therapieprotokollen werden die ersten Asparaginasedosen bereits in der Induktionsphase verabreicht, gefolgt von einer z.T. mehrwöchigen Asparaginase-freien Konsolidierungsphase. In der Reinduktionsphase wird die Asparaginase in nahezu allen Therapieprotokollen verabreicht. Die NOPHO- und DCOG-Studiengruppen berichteten, dass Überempfindlichkeitsreaktionen fast ausschließlich in der Konsolidierungs- und Reinduktionsphase auftreten (Albertsen, 2001), (Albertsen, 2002), (Tong, 2014), (Henriksen, 2015). Die nordische Studiengruppe beobachtete in einer Studie das Auftreten einer allergischen Reaktion nach einem Median von 2 Dosen PEG-ASP in der Konsolidierungsphase (Henriksen, 2015). In den COALL-Studien wird die Asparaginase während der Konsolidierungstherapie und Reinduktion eingesetzt. Zwischen diesen beiden Phasen liegt ein Asparaginase-freies Intervall von nur 4 Wochen. Auch unsere Untersuchung der Zeitpunkte der allergischen Reaktionen ergab, dass die Mehrheit der Reaktionen überwiegend bereits bei der 2. Asparaginase-Gabe im Rahmen der Konsolidierungstherapie auftraten.

Mögliche Erklärungen für das seltenere Auftreten allergischer Reaktionen bei den ersten Asparaginase-Gaben während der Induktion sind eine verzögerte Immunantwort bis zur Komplementaktivierung und nachfolgender Antikörperbildung (Avramis, 2006), sowie eine Unterdrückung der klinischen Symptome durch die intensive Kortikoidsteroidtherapie während der Induktionsphase (Avramis, 2006), (Pieters, 2011).

Die Evaluierung des Zeitpunktes der allergischen Reaktion während der Infusion hat sowohl für C-ASP, als auch für PEG-ASP gezeigt, dass bei der Mehrheit der Patienten mit einer sicheren allergischen Reaktion die Symptome bereits im Vorlauf auftraten, während sogenannte andere Unverträglichkeitsreaktionen meistens erst zu einem späteren Zeitpunkt während der Infusion auftreten (Lenz, 2007). Eine sichere Abgrenzung ist allerdings schwierig (Kloos, 2016). Um eine sichere allergische Reaktion von einer anderen Unverträglichkeitsreaktion zu unterscheiden, wird in der Literatur das therapeutische Drug Monitoring („TDM“) mit Bestimmung der Serum-Asparaginase-Aktivität empfohlen (van der Sluis, 2016), (Burke, 2017), (Kloos, 2020). In den Konsensus-Definitionen von van der Sluis et al. wird empfohlen, im Falle einer CTC-Grad 1 Reaktion oder einer fraglichen allergischen Reaktion ein Monitoring des Serum-Asparaginasespiegels durchzuführen, um eine Inaktivierung zu identifizieren (van der Sluis, 2016).

Zum Zeitpunkt der Datenerhebung war die Bestimmung des Asparaginspiegels das Standardmonitoring im Falle eines Auftretens einer allergischen Reaktion. Die klinische Effektivität der Asparaginase wird hierbei anhand einer adäquaten Asparagindepletion festgemacht, das Ziel der Asparaginase-Therapie ist die Asparagindepletion. Die Asparagin-Bestimmung ist technisch schwierig. Ursache ist die schnelle ex-vivo-Metabolisierung von Asparagin in Anwesenheit der Asparaginase, dadurch kann es zu falsch niedrigen Asparaginspiegelmessungen kommen. Um dies zu verhindern, ist eine verlässliche Probenbehandlung

erforderlich. Das beinhaltet Kühlung auf Eiswasser und Zentrifugierung, Serumextraktion, und Deproteinisierung in einem sehr begrenzten Zeitfenster (weniger als 5-15 Minuten). Aufgrund dieser logistischen Herausforderungen ist die Bestimmung des Asparaginspiegels als direkter Nachweis der Enzymaktivität im Serum für einen breiten klinischen Gebrauch nur begrenzt anwendbar (Gentili, 1994), (Asselin, 1991), (Lanvers-Kaminsky, 2014). In den letzten Jahren hat sich die Messung der Asparaginase-Aktivität als Parameter für die Effektivität der Asparaginase-Therapie durchgesetzt (van der Sluis, 2016). Diese Methode war zum Zeitpunkt des Startes dieser Doktorarbeit in Hamburg nicht verfügbar und auch in anderen Laboren in Deutschland und Europa nicht etabliert.

Die Analyse des Verlaufs der Asparagindepletion nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP ergab keinen Unterschied zwischen Patienten mit einer klinisch fraglichen und Patienten mit einer sicheren allergischen Reaktion. Bei allen Patienten lag nach einer Woche wieder ein nachweisbarer Asparaginspiegel vor. In einer prospektiven Studie von Tong et al. zeigte sich – wie in unserer Auswertung – ebenfalls keine Asparagindepletion nach Auftreten einer allergischen Reaktion auf PEG-ASP: In unserer Untersuchung wurden die Patienten beider Studienprotokolle zusammen ausgewertet. Insgesamt lag nur eine geringe Anzahl an Asparaginspiegelmessungen vor. Dennoch deuten auch unsere Ergebnisse wie die aktuelle Literatur daraufhin, dass die ausbleibende Asparagindepletion auf die Antikörperbildung gegen C-ASP und die bestehende Kreuzreaktivität zwischen C-ASP und PEG-ASP zurückzuführen ist. Ebenso wie unsere Ergebnisse gezeigt haben, dass kein Unterschied bezüglich der Schwere einer allergischen Reaktion in Bezug auf die Asparagindepletion bestand, postulierten auch Tong et al., dass eine CTC Grad 1 Reaktion mit einer Inaktivierung der Asparaginase durch Anti-Asparaginase-Antikörper assoziiert sein kann (Tong, 2014).

Die Beurteilung der Asparagindepletion nach allergischer Reaktion ist jedoch durch die Tatsache, dass die intravenöse Gabe häufig unmittelbar bei Auftreten der Reaktion gestoppt wurde und somit nicht die gesamte geplante Asparaginase-Dosis verabreicht wurde, deutlich erschwert.

Wenn es unter der Therapie mit nativer- und pegylierter C-ASP zu einer allergischen Reaktion kam, wurde bei den betroffenen Patienten Erwinase als therapeutische Alternative verabreicht. Unsere Auswertung ergab, dass bei allen Patienten eine komplette Asparagindepletion über mindestens eine Woche erreicht werden konnte und somit bei keinem Patienten eine Kreuzallergie vorgelegen hat. Es ist bekannt, dass die Halbwertszeit der Erwinase kürzer ist als die der anderen Asparaginasen. Um eine ausreichende Asparaginase-Aktivität und Asparagindepletion sicher zu erreichen, muss daher die Erwinase in einer höheren Dosis und häufiger verabreicht werden (Pieters, 2011). Unsere Untersuchungen zeigen, dass die Mehrheit der COALL-Patienten (80%) die Erwinase im weiteren Therapieverlauf ohne Angabe von Toxizitäten gut vertragen haben. Bei lediglich 3 von 69 Patienten musste die weitere Therapie mit Erwinase

aufgrund von Unverträglichkeiten beendet werden. Ähnliche Ergebnisse zeigen sich in einer Studie von Tong et al.: In dieser Studie waren 97% der Patienten, bei denen eine allergische Reaktion auf PEG-ASP aufgetreten war, auf Erwinase umgestellt worden. Diese Patienten konnten dann die weiteren geplanten Asparaginase-Dosen erhalten (Tong, 2014). Gesundheitsökonomisch hat der Ersatz von E.-coli-/pegylierter Asparaginase durch Erwinase erhebliche Konsequenzen, denn die Therapiekosten von Erwinase sind um ein Vielfaches höher als jene mit pegylierter oder nativer Asparaginase (Tong, 2013). Es ist also auch unter diesem Aspekt wünschenswert die Rate an allergischen Reaktionen auf Asparaginase zu senken.

In den neunziger Jahren wurde bei einzelnen Patienten beobachtet, dass trotz fehlender klinischer Symptome einer allergischen Reaktion keine Asparaginindepletion erreicht werden konnte (Kurtzberg, 1993), (Boos, 1995), (Vieira Pinheiro, 1999), (Asselin, 1999). Die stille Inaktivierung ist erst seit wenigen Jahren gut definiert (van der Sluis, 2016). Bei der stillen Inaktivierung kommt es zur Bildung von Asparaginase-Antikörpern, die zu einer Inaktivierung der Asparaginase ohne klinische Anzeichen einer allergischen Reaktion führen (van der Sluis, 2016). Auch in dieser Arbeit wurde bei insgesamt vier Patienten der Verdacht auf eine stille Inaktivierung belegt. Bei diesen Patienten wurde die pegylierte Asparaginase nach allergischer Reaktion auf C-ASP zwar gut vertragen, dennoch konnte keine ausreichende Asparaginindepletion erreicht werden. Zum Zeitpunkt dieser Erhebung gab es noch keine Möglichkeit, diese Asparaginase-Antikörper nachzuweisen. Es ist jedoch sehr wahrscheinlich, dass die fehlende Wirksamkeit der PEG-ASP durch die antikörpervermittelte Inaktivierung verursacht wurde. Diese Annahme wurde dann durch die Untersuchungen von Tong et al. 2014 bestätigt. Die Arbeitsgruppe konnte zeigen, dass eine Antikörperbildung gegen die C-ASP, welche zuvor in der Induktionsphase verabreicht wurde, zu einer Inaktivierung der PEG-ASP in der Intensivierungsphase führte (Tong, 2014). Es scheint noch andere Mechanismen der Entwicklung allergischer Reaktionen auf Asparaginase zu geben. Selten wird eine schwere allergische Reaktion auch bereits auf die erste Dosis PEG-ASP beobachtet. Auch unsere Daten belegen diese Beobachtung: bei 4 von 34 Patienten trat eine sichere allergische Reaktion auf die erste PEG-ASP Dosis auf. Eine mögliche Ursache könnte eine vorherige Exposition mit Polyethylenglykol sein. Diese Substanz wird in der Industrie zur Herstellung von Cremes und Suppositorien eingesetzt, aber auch als Wirkstoffträger von Tabletten und Dragees findet sie Verwendung (Garay, 2012). Nach den aktuellen Empfehlungen sollten alle Patienten zur Detektion einer stillen Inaktivierung in ein Monitoring der Asparaginase-Aktivität eingeschlossen werden (Kloos, 2020).

Weitere Limitationen dieser Arbeit waren eine kleine Patientenzahl und eine zum Teil geringe Probenanzahl zu den einzelnen Messzeitpunkten, da nicht immer nach dem Auftreten einer allergischen Reaktion die regelmäßige Blutentnahme in Woche 1 bis Woche 4 durchgeführt wurde. Die Beurteilung des Verlaufs der

Diskussion

Asparagindepletion nach Auftreten einer allergischen Reaktion sowohl auf C-ASP als auch auf PEG-ASP war somit aufgrund der meist ab Woche 3 abnehmenden Probenanzahl begrenzt.

8 Zusammenfassung

Die Asparaginase ist seit Jahrzehnten ein fester Bestandteil in der Polychemotherapie der akuten lymphatischen Leukämie des Kindesalters. Die hohe Rate an allergischen Reaktionen auf dieses Medikament limitiert seinen Einsatz jedoch bei einer großen Zahl an Patienten.

Mit dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass durch den Einsatz von PEG-ASP ab der 3. Asparaginase-Gabe die Häufigkeit der allergischen Reaktionen nicht reduziert werden konnte. Es konnte gezeigt werden, dass am häufigsten während der 2. Gabe von C-ASP allergische Reaktionen auftraten. Aus diesem Grund wurde in der Folgestudie COALL 08-09 bereits ab der ersten Asparaginase-Dosis die pegylierte Asparaginase eingesetzt.

Bei der Auswertung der klinischen Eigenschaften der allergischen Reaktionen zeigte sich, dass bei der C-ASP und Erwinase häufig schwere klinische Symptome wie Dyspnoe oder ein Quincke-Ödem, bei der PEG-ASP dagegen eher mildere Symptome wie ein Exanthem/Erythem oder Juckreiz auftraten. Bei der Erwinase wurde darüber hinaus wiederholt Übelkeit und Erbrechen aufgeführt. Diese Symptome können jedoch auch auf die erhöhte Glutaminase-Aktivität und den damit verbundenen Anstieg an Glutamin im Serum zurückgeführt werden.

Die Zeitdauer der Depletion von Asparagin war zum Zeitpunkt der Datenerhebung im Rahmen dieser Promotion der bedeutendste Parameter, um die Wirksamkeit der Asparaginase zu überprüfen. Jedoch fehlten systematische Analysen zur Depletionsdauer im Rahmen der COALL-Therapie.

Ergebnis der Asparagindepletionsmessungen nach allergischer Reaktion auf C-ASP war, dass bei den Patienten mit einer fraglichen allergischen Reaktion eine Asparagindepletion über mehrere Wochen vorlag, im Gegensatz zu den Patienten mit einer sicheren allergischen Reaktion auf C-ASP. Hingegen zeigte sich nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP kein Unterschied zwischen Patienten mit einer fraglichen und Patienten mit einer sicheren allergischen Reaktion. Bei allen Patienten lag bereits nach einer Woche wieder ein nachweisbarer Asparaginspiegel vor, bei allerdings insgesamt geringer Anzahl an Asparaginspiegelmessungen. War eine Allergie auf C-ASP/ PEG-ASP aufgetreten, konnte durch die Umstellung der Therapie auf Erwinase bei allen Patienten eine komplette Asparagindepletion von einer Woche erreicht werden.

In den letzten Jahren wurde die große Bedeutung des therapeutischen Drug Monitorings zur Differenzierung der Hypersensitivitätsreaktionen, therapieassoziierten Nebenwirkungen und der Erkennung der stillen Inaktivierung auch von anderen Studiengruppen bestätigt (van der Sluis, 2016), (Kloos, 2020) und wurde in mehreren europäischen Studienprotokollen mittlerweile eingeführt. Auch wenn immuntherapeutische Therapiemöglichkeiten zunehmend eine Rolle spielen, ist die Asparaginase-Therapie weiterhin essenzieller Bestandteil der

weltweiten Therapieprotokolle in der Erstlinienbehandlung der akuten lymphoblastischen Leukämie im Kindes- und Erwachsenenalter. Ein Einsatz der Asparaginase mit hoher therapeutischer Wirkung ist damit ebenso wichtig wie die Vermeidung allergischer Reaktionen.

8.1 Summary

Asparaginase has been an integral part of polychemotherapy for childhood acute lymphoblastic leukemia for decades. However, the high rate of hypersensitivity reactions to this drug limits its use in a large number of patients.

This work demonstrated that the use of PEG-ASP starting with the 3rd asparaginase administration did not reduce the frequency of allergic reactions. It was shown that allergic reactions occurred most frequently during the 2nd administration of C-ASP. For this reason, pegylated asparaginase was used from the first asparaginase dose in the follow-up study COALL 08-09.

Evaluation of the clinical features of the allergic reactions showed that C-ASP and Erwinase frequently caused severe clinical symptoms such as dyspnea or Quincke's edema, whereas PEG-ASP tended to cause milder symptoms such as exanthema/erythema or pruritus. In addition, nausea and vomiting were repeatedly listed for Erwinase. However, these symptoms may also be attributed to the increased glutaminase-activity and the associated increase in serum glutamine.

The duration of depletion of asparagine was the most significant parameter to assess the efficacy of asparaginase at the time of data collection in this thesis. However, systematic analyses of depletion duration in the context of COALL therapy were lacking.

The result of asparagine depletion measurements after allergic reaction to C-ASP was that patients with a questionable allergic reaction had asparagine depletion for several weeks, in contrast to patients with a definite allergic reaction to C-ASP. In contrast, after allergic reaction to PEG-ASP, there was no difference between patients with a questionable and patients with a definite allergic reaction. In all patients, detectable asparagine levels were again present after one week, but the overall number of asparagine level measurements was low. If an allergy to C-ASP/PEG-ASP had occurred, a complete asparagine depletion of one week could be achieved in all patients by changing the therapy to Erwinase.

In recent years, the great importance of therapeutic drug monitoring to differentiate hypersensitivity reactions, therapy-associated side effects, and detection of silent inactivation has also been confirmed by other study groups (van der Sluis, 2016), (Kloos, 2020) and has now been introduced in several European study protocols. Although immunotherapeutic therapeutic options are playing an increasing role, asparaginase therapy remains an essential component of global therapeutic protocols in the first-line treatment of childhood and adult acute lymphoblastic

Zusammenfassung

leukemia. Thus, the use of asparaginase with a high therapeutic effect is as important as the avoidance of hypersensitivity reactions.

I. Abkürzungsverzeichnis

ALL	Akute lymphatische Leukämie
ASP	Asparaginase
AUP	Area under the peak
BCR/ABL	Breakpoint Cluster Region/Abelson-Tyrosinkinase
BFM	Berlin-Frankfurt-Münster
C-ASP	Escherichia-coli Asparaginase
COALL-Studie	Cooperative ALL-Studie
CTCAE	Common Terminology Criteria of Adverse Events
E.coli	Escherichia coli
EsPhALL	European study for philadelphia positive ALL
FMOC	9-Fluorenylmethoxycarbonylchlorid
GIT	Gastrointestinale Symptome
HPLC	High performance liquid chromatography
HR	High Risk
i.m.	intramuskulär
i.v.	intravenös
IC	Ionenaustauschchromatographie
IgG	Immunglobulin G
IP	isoelektrische Punkt
K _m	Michaelis-Menten-Konstante
LR	Low Risk
MLL	Mixed-lineage leukemia
MRD	minimal residual disease
MTX	Methotrexat
OPA	ortho-Phthaldialdehyd
PCR	Polymerasechainreaction/Polymerasekettenreaktion

Abkürzungsverzeichnis

PEG	Polyethylenglykol
PEG-ASP	PEG -Asparaginase
PITC	Phenylisothiocyanat
s.c.	subkutan
TDM	Therapeutisches Drugmonitoring
U/IE	Einheit
UKE	Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
VLDL	Very low density lipoprotein
λ_{em}	Emissionswellenlänge

II. Literaturverzeichnis

National Cancer Institute, 2016. *SEER Cancer Statistics Review, National Cancer Institute. Bethesda, MD.* [Online]

Available at: <http://seer.cancer.gov/faststats/selections.php?#Output> [Zugriff am 04 April 2016].

Abuchowski, A. M. J. P. N. v. E. T. a. D. F., 1977. Effect of covalent attachment of polyethylene glycol on immunogenicity and circulating life of bovine liver catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 10 Juni, pp. 3582-3586.

Albertsen, B. K. S. H. J. P. A. V. I. M. H. J. S. K. & C. N. T., 2002. Antibody formation during intravenous and intramuscular therapy with Erwinia asparaginase.. *Medical and Pediatric Oncology The Official Journal of SIOP—International Society of Pediatric Oncology (Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique*, 38(5), pp. 310-316.

Albertsen, B. K. S. H. J. P. M. H. J. C. N. T. S. K., 2001. Monitoring of Erwinia asparaginase therapy in childhood ALL in the Nordic countries. *British journal of clinical pharmacology*, 52(4), pp. 433-437.

Albertsen, B. S. H. I. J. J. P. A. V. M. H. C. N. a. S. K., 2001. Comparison of intramuscular therapy with Erwinia asparaginase and asparaginase Medac: pharmacokinetics, pharmacodynamics, formation of antibodies and influence on the coagulation system.. *British journal of haematology*, 115(4), pp. 983-990.

Alvarez, O. Z. G., 2000. Pegaspargase-induced pancreatitis.. *Medical and Pediatric Oncology: The Official Journal of SIOP—International Society of Pediatric Oncology (Société Internationale d'Oncologie Pédiatrique*, 34(3), pp. 200-205.

Amylon, M. S. J. P. J. B. C. L. M. W. M. K. J. Y. A. L. J. R. Y. a. K. J., 1999. Intensive high-dose asparaginase consolidation improves survival for pediatric patients with T-Cell acute lymphoblastic leukemia and advanced stage lymphoblastic lymphomas: Pediatric Oncology Group study.. *Leukemia*, 13(3), pp. 335-342.

Appel, I. M. K. K. M. B. J. L. C. H. J. V. A. J. P. P. R., 2008. Pharmacokinetic, pharmacodynamic and intracellular effects of PEG-asparaginase in newly diagnosed childhood acute lymphoblastic leukemia: results from a single agent window study. *Leukemia*, 22(9), pp. 1665-1679.

Asselin, B., 1999. The three asparaginases.. *Drug resistance in leukemia and lymphoma III*, pp. 621-629.

Asselin, B., 2016. Immunology of infusion reactions in the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia.. *Future Oncology*, 12(13), pp. 1609-1621.

Asselin, B. G. R. a. S. S., 1995. Relative toxicity of E-coli L-asparaginase (ASP) and pegaspargase (PEG) in newly diagnosed childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL).. *Blood*, 86(10), p. 695.

Asselin, B. K. S. C. D. B. S. L. P. G. R. S. S. a. C. H., 1999. Prognostic significance of early response to a single dose of asparaginase in childhood acute lymphoblastic leukemia.. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 21(1), pp. 6-12.

Asselin, B. L. L. M. Y. W. J. C. C. D. J. K. A. S. B. R. L. & C. H. J., 1991. Measurement of serum L-asparagine in the presence of L-asparaginase requires the presence of an L-asparaginase inhibitor.. *Cancer research*, 51(24), pp. 6568-6573.

Avramis, V. a. T. P., 2006. Asparaginase (native ASNase or pegylated ASNase) in the treatment of acute lymphoblastic leukemia.. *International journal of nanomedicine*, 1(3), p. 241.

Avramis, V. S. S. P. A. S. H. B. B. C. L. E. A. E. L. F. J. G. P. a. H. J., 2002. A 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 Group study.. *Blood*, 99(6), pp. 1986-1994.

Bartram, C. S. A. K. R. a. S. M., 2012. Acute lymphoblastic leukemia in children—treatment planning via minimal residual disease assessment. *Deutsches Ärzteblatt International*, 12 Januar, 109(40), p. 652.

Billett, A. S. S. C. A. a. G. R., 1992. Allergic reactions to Erwinia asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia who had previous allergic reactions to Escherichia coli asparaginase.. *Cancer*, Juli, 70(1), pp. 201-206.

Boos, J. N.-G. U. J. H. F. G. a. B. U., 1995. Loss of activity of Erwinia asparaginase on repeat applications. *Journal of clinical oncology*. *Journal of clinical oncology*, 13(9), pp. 2474-2475.

Broome, J., 1963. Evidence that the L-asparaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects: II. Lymphoma 6C3HED cells cultured in a medium devoid of L-asparagine lose their susceptibility to the effects of guinea pig serum in vivo.. *The Journal of experimental medicine*, 118(1), pp. 121-148.

Broome, J. D., 1968. Studies on the mechanism of tumor inhibition by L-asparaginase: effects of the enzyme on asparagine levels in the blood, normal tissues, and 6C3HED lymphomas of mice: differences in asparagine formation and utilization in asparaginase-sensitive and-resist. *The Journal of experimental medicine*, 127(6), pp. 1055-1072.

Buffler, P. K. M. R. P. a. U. K., 2005. Environmental and genetic risk factors for childhood leukemia: appraising the evidence.. *Cancer investigation*, 23(1), pp. 60-75.

Burke, M. a. R. S., 2017. Differentiating hypersensitivity versus infusion-related reactions in pediatric patients receiving intravenous asparaginase therapy for acute lymphoblastic leukemia.. *Leukemia & lymphoma*, 58(3), pp. 540-551.

Campbell, H. M. L. B. E. a. O. L., 1967. Two L-asparaginases from *Escherichia coli* B. Their separation, purification, and antitumor activity.. *Biochemistry*, 6(3), pp. 721-730.

Capizzi, R. a. C. Y., 1981. Therapy of neoplasia with asparaginase.. *Enzymes as Drugs*, pp. 2-24.

Capizzi, R. L. et al., 1971. L-Asparaginase: Clinical, Biochemical, Pharmacological, and Immunological Studies. *Annals of Internal Medicine*, 74(6), pp. 893-901.

Cooney, D. A. a. R. E. H., 1970. L-asparaginase and L-asparagine metabolism. *Annual review of pharmacology*, 10(1), pp. 421-440.

Desai, N. A. M. S. M. L. J. M. L., 1997. Outcome of advanced stage (III-IV) lymphoblastic Non-Hodgkin's lymphoma-a Pediatric Oncology Group (POG) study. *Med Pediatr Oncol*, 29(5), p. 356.

Distasio, J. N. R. K. D. a. G. D., 1976. Purification and characterization of L-asparaginase with anti-lymphoma activity from *Vibrio succinogenes*.. *Journal of Biological Chemistry*, 251(22), pp. 6929-6933.

Duncan, R. a. S. F., 1994. Polymer conjugates. *Clinical pharmacokinetics*, 27(4), pp. 290-306.

Duval, M. S. S. F. A. R. X. N. B. L. P. B. Y. R. A. M. A. V. E. a. O. J., 2002. Comparison of *Escherichia coli*-asparaginase with *Erwinia*-asparaginase in the treatment of childhood lymphoid malignancies: results of a randomized European Organisation for Research and Treatment of Cancer—Children's Leukemia Group phase 3 trial.. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 99(8), pp. 2734-2739.

Eden, O. S. M. L. J. a. R. S., 1990. Non-randomised study comparing toxicity of *Escherichia coli* and *Erwinia* asparaginase in children with leukaemia. *Medical and pediatric oncology*, 18(6), pp. 497-502.

Eggert, P. D. m. A., 2016. <http://www.kinderkrebsinfo.de>. [Online]

Available at:

http://www.kinderkrebsinfo.de/erkrankungen/leukaemien/pohpatinfoall120060414/index_ger.html

[Zugriff am 09. Mai 2016].

Eith, K. S. V., 2000. *Praktikum der Ionenchromatographie*. [Online]
Available at: [https://www.uni-marburg.de/fb15/ag-seubert/lehre/fohlen/Praktikum der Ionenchromatographie 12.pdf](https://www.uni-marburg.de/fb15/ag-seubert/lehre/fohlen/Praktikum_der_Ionenchromatographie_12.pdf)
[Zugriff am 19. Mai 2020].

Escherich G., S. M. C. U., 2016. *AWMF online*. [Online]
Available at: https://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/025-014l_S1_Akute_lymphoblastische_Leukaemie_ALL_2016-04.pdf
[Zugriff am 13. November 2018].

Escherich G, S. M. C. U., 2016. *AWMF online*. [Online]
Available at: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/025-014l_S1_Akute_lymphoblastische_Leukaemie_ALL_2016-04.pdf
[Zugriff am 10. September 2016].

Escherich, G. H. M. Z. M. a. J.-S. G., 2010. Cooperative study group for childhood acute lymphoblastic leukaemia (COALL): long-term results of trials 82, 85, 89, 92 and 97. *Leukemia*, 24(2), p. 298–308.

Escherich, G. S. M. C. U., 2016. *AWMF online*. [Online]
Available at: http://www.awmf.org/uploads/tx_szleitlinien/025-014l_S1_Akute_lymphoblastische_Leukaemie_ALL_2016-04.pdf
[Zugriff am 02. November 2016].

Ettinger, L. E. A. A. W. a. G. P., 1997. Acute lymphoblastic leukaemia. *BioDrugs*, 7(1), pp. 30-39.

Falletta, J. S. C. H. J. S. K. a. H. L., 1972. Nonketotic hyperglycemia due to prednisone (NSC-10023) following ketotic hyperglycemia due to L-asparaginase (NSC-109229) plus prednisone. *Cancer chemotherapy reports*, 56(6), pp. 781-782.

Gadner, H. G. G. N. C. R. J., 2006. *Pädiatrische Hämatologie und Onkologie*. Auflage: 2006 (12. August 2005) Hrsg. s.l.:Springer.

Garay, R. E.-G. R. A. J. G. G. a. R. P., 2012. Antibodies against polyethylene glycol in healthy subjects and in patients treated with PEG-conjugated agents. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 9(11), pp. 1319-1323.

Gentili, D. Z. M. C. V. M. G. a. D. M., 1994. Determination of L-asparagine in biological samples in the presence of L-asparaginase. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 657(1), pp. 47-52.

Graham, M. L., 2003. Pegaspargase: a review of clinical studies. *Advanced drug delivery reviews*, 55(10), pp. 1293-1302.

Gurney, J. a. B. M., 2001. Epidemiologic research methods and childhood cancer. *Principles and Practice Oncology*, Issue 4, pp. 13-20.

- Hak, L. R. M. C. C. P. D. W. B. S. J. R. J. a. P. C., 2004. Asparaginase pharmacodynamics differ by formulation among children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 18(6), pp. 1072-1077.
- Haley, E. F. G. a. W. A., 1961. The requirement for L-asparagine of mouse leukemia cells L5178Y in culture. *Cancer Research*, 21(4), pp. 532-536.
- Hall, J., 1970. The partitioning of L-asparaginase between blood and lymph. In Experimental and Clinical Effects of L-Asparaginase . In: *Experimental and Clinical Effects of L-Asparaginase*. Berlin: Springer, pp. 75-80.
- Haskell, C. a. C. G., 1969. L-asparaginase resistance in human leukemia— asparagine synthetase. *Biochemical pharmacology*, 18(10), pp. 2578-2580.
- Haskell, C. C. G. L. B. C. P. S. A. a. H. H., 1969. L-asparaginase toxicity. *Cancer research*, 29(4), pp. 974-975.
- Henriksen, L. H. A. R. E. A. J. P. K. V. G. J. Ó. S. K. H. M. S. H. a. A. B., 2015. PEG-asparaginase allergy in children with acute lymphoblastic leukemia in the NOPHO ALL2008 protocol. *Pediatric blood & cancer*, 62(3), pp. 427-433.
- Ho, D. T. B. C. C. a. F. I. E., 1970. Clinical pharmacologic studies of L-asparaginase.. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, 11(3), pp. 408-417.
- Holcenberg, J. a. R. J., 1977. Enzymes as drugs. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 17(1), pp. Holcenberg, J.S. and Roberts, J., 1977. Enzymes as drugs. *Annual review of pharmacology and toxicology*, 17(1), pp.97-116..
- Jaffe, N., 1972. Diabetes mellitus secondary to L-asparaginase therapy. *The Journal of pediatrics*, 81(6), pp. 1220-1221.
- Jaffe, N. T. D. D. L. M. W. H. H. K. B. a. N. R., 1971. L-asparaginase in the treatment of neoplastic diseases in children. *Cancer research*, 31(7), pp. 942-949.
- Kaatsch, G. S. B., 2018. *Deutsches Kinderkrebsregister*. [Online] Available at: http://www.kinderkrebsregister.de/typo3temp/secure_downloads/22605/0/bd894cced68c7950a69875dc2588a29281fd6fbc/jb2017_s.pdf [Zugriff am 13 November 2018].
- Kamisaki, Y. W. H. Y. T. M. A. a. I. Y., 1981. Reduction in immunogenicity and clearance rate of Escherichia coli L-asparaginase by modification with monomethoxypolyethylene glycol. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 216(2), pp. 410-414.
- Kawahara, Y. M. A. H. T. K. Y. F. T. a. M. M., 2014. Monitoring of anti-L-asparaginase antibody and L-asparaginase activity levels in a pediatric patient with acute lymphoblastic leukemia and hypersensitivity to native Escherichia coli

L-asparaginase during desensitization courses. *Journal of pediatric hematology/oncology*, März, 36(2), pp. 91-93.

Kidd, J. G., 1953. Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pig serum I. Course of transplanted cancers of various kinds in mice and rats given guinea pig serum, horse serum, or rabbit serum. *The Journal of Experimental Medicine*, 98(6), pp. 565-582.

Killander, D. D. A. E. L. F. S. G. G. G. B. H. G. H. A. H. S. K. A. a. L. D., 1976. Hypersensitive reactions and antibody formation during L-asparaginase treatment of children and adults with acute leukemia. *Cancer*, 37(1), pp. 220-228.

Kloos, R. P. R. E. G. a. v. d. S. I., 2016. Allergic-like reactions to asparaginase: Atypical allergies without asparaginase inactivation. *Pediatric blood & cancer*, 63(11), pp. 1928-1934.

Kloos, R. P. R. J. F. d. G.-K. H. v. d. B. C. a. v. d. S. I., 2020. Individualized asparaginase dosing in childhood acute lymphoblastic leukemia.. *Journal of Clinical Oncology*, 38(7), pp. 715-724.

Kurtzberg, J. A. B. P. D. G. A. C. R. F. A. S. D. a. F. J., 1993. Antibodies to asparaginase alter pharmacokinetics and decrease enzyme activity in patients on asparaginase therapy.. *In Proc Am Assoc Cancer Res*, Issue 34, p. 304.

Lanvers-Kaminsky, C. W. P. D. M. Z. M. a. B. J., 2014. Immediate cooling does not prevent the ex vivo hydrolysis of L-asparagine by asparaginase. *Therapeutic drug monitoring*, 36(4), pp. 549-552.

Lenda K., S. G., 1980. Rapid high-performance liquid chromatographic determination of amino acids in synaptosomal extracts. *Journal of Chromatography*, 198(4), pp. 516-519.

Lenz, H., 2007. Management and preparedness for infusion and hypersensitivity reactions. *Oncologist*, 12(5), pp. 601-609.

Leonard, J. a. K. J., 1986. Acute encephalopathy and hyperammonaemia complicating treatment of acute lymphoblastic leukaemia with asparaginase. *The Lancet*, 327(8473), pp. 162-163.

Liu, C. K. J. C. C. P. D. F. C. C. X. C. K. K. S. P. J. B. W. a. J. S., 2012. Clinical utility and implications of asparaginase antibodies in acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 26(11), pp. 2303-2309.

Liu, C. Y. W. D. M. C. C. P. D. S. C. C. W. R. E. B. W. L. E. a. M. K., 2016. Clinical and genetic risk factors for acute pancreatitis in patients with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 34(18), p. 2133.

Liu, W. W. H. Z. M. L. C. W. J. a. L. Y., 2016. Use of PEG-asparaginase in newly diagnosed adults with standard-risk acute lymphoblastic leukemia compared with

E. coli-asparaginase: a retrospective single-center study.. *Scientific reports*, 6(1), pp. 1-10.

Merryman, R. S. K. G. W. N. D. O. J. S. S. a. S. L., 2012. Asparaginase-associated myelosuppression and effects on dosing of other chemotherapeutic agents in childhood acute lymphoblastic leukemia.. *Pediatric blood & cancer*, 59(5), pp. 925-927.

Miller, H. S. J. a. B. M., 1969. Amino acid levels following L-asparagine amidohydrolase (EC. 3.5. 1.1) therapy. *Cancer Research*, 29(1), pp. 183-187.

Moghrabi, A. L. D. E. A. B. B. R. C. L. H. C. .. & N. D. S., 2007. Results of the Dana-Farber Cancer Institute ALL Consortium Protocol 95-01 for children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 109(3), pp. 896-904.

Möricke, A. R. A. Z. M. G. H. S. M. D. M. L. L. B. R. L. W. R. R. a. H. J., 2008. Risk-adjusted therapy of acute lymphoblastic leukemia can decrease treatment burden and improve survival: treatment results of 2169 unselected pediatric and adolescent patients enrolled in the trial ALL-BFM 95.. *Blood*, 111(9), pp. 4477-4489.

Müller, H. B. J., 1998. Use of L-asparaginase in childhood ALL. *Critical reviews in oncology/hematology*, 28 März, 28(2), pp. 97-113.

Müller, H. J. B. R. L. L. B. R. D. W. M. E. .. & S. M., 2001. Pharmacokinetics of native Escherichia coli asparaginase (Asparaginase medac) and hypersensitivity reactions in ALL-BFM 95 reinduction treatment.. *British journal of haematology*, pp. 794-799.

Nakamura, N. M. Y. F. T. a. T. M., 1971. L-Asparaginase from E. coli Part I. Crystallization and Properties. *Agricultural and Biological Chemistry*, 35(2), pp. 219-225.

Narta, U. K. S. a. A. W., 2007. Pharmacological and clinical evaluation of L-asparaginase in the treatment of leukemia. *Critical reviews in oncology/hematology*, 61(3), pp. 208-221.

Nesbit, M. C. R. E. A. K. M. a. H. G., 1979. Evaluation of intramuscular versus intravenous administration of L-asparaginase in childhood leukemia.. *The American journal of pediatric hematology/oncology*, 1(1), pp. 9-13.

Nowak-Göttl, U. W. J. K. N. B. J. K. B. L. V. S. D. a. J. H., 1994. Enhanced thrombin generation, P-von Willebrand factor, P-fibrin D-dimer and P-plasminogen activator inhibitor 1: predictive for venous thrombosis in asparaginase-treated children. *Fibrinolysis*, Band 8, pp. 63-65.

Oettgen, H. S. P. S. M. L. R. T. L. T. C. C. B. G. R. K. I. K. D. a. M. M., 1970. Toxicity of E. coli L-asparaginase in man. *Cancer*, 25(2), pp. 253-278.

- Ohnuma, T. H. J. F. A. a. S. L., 1970. Biochemical and pharmacological studies with asparaginase in man. *Cancer Research*, 30(9), pp. 2297-305.
- Ohnuma, T. H. J. N. G. a. A. G., 1969. Effects of L-asparaginase in acute myelocytic leukemia. *JAMA*, 210(10), pp. 1919-1921.
- Panosyan, E. S. N. M.-A. S. G. P. A. I. S. H. F. J. N. J. E. L. L. M. a. S. P., 2004. Asparaginase antibody and asparaginase activity in children with higher-risk acute lymphoblastic leukemia: Children's Cancer Group Study CCG-1961. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 26(4), pp. 217-226.
- Parsons, S. S. S. N. E. K. C. Y. M. D. M. B. J. O. J. S. S. a. R. N., 1997. Asparaginase-associated lipid abnormalities in children with acute lymphoblastic leukemia. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, 89(6), pp. 1886-1895..
- Pession, A. V. M. M. G. K. W. M. E. R. C. V. W. E. L. N. L. V. D. D. A. L. F. a. B. G., 2005. Long-term results of a randomized trial on extended use of high dose L-asparaginase for standard risk childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 23(28), pp. 7161-7167.
- Petersen Jr, W. C. D. S. S. C. W. G. S. M. C. K. F. a. L. G., 2014. Comparison of allergic reactions to intravenous and intramuscular pegaspargase in children with acute lymphoblastic leukemia.. *Pediatric hematology and oncology*, 31(4), pp. 311-317.
- Pieters, R. H. S. B. J. R. C. S. L. B. A. G. N. S. M. a. P. C., 2011. L-asparaginase treatment in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*, 117(2), pp. 238-249.
- Pinkel, D., 1979. Treatment of childhood acute lymphocytic leukemia. In: *Modern Trends in Human Leukemia III*. Berlin: Springer, pp. 25-33.
- Pui, C. C. D. P. D. B. W. S. J. K. S. R. R. R. J. R. S. O. M. a. C.-S. E., 2009. Treating childhood acute lymphoblastic leukemia without cranial irradiation. *New England Journal of Medicine*, 360(26), pp. 2730-2741.
- Raetz, E. a. S. W., 2010. Tolerability and efficacy of L-asparaginase therapy in pediatric patients with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of pediatric hematology/oncology*, October, 32(7), pp. 554-563.
- Raja, R. S. K. a. F. T., 2012. Asparaginase-associated pancreatitis in children. *British journal of haematology*, 159(1), pp. 18-27.
- Riccardi, R. H. J. G. D. W. J. a. P. D., 1981. L-asparaginase pharmacokinetics and asparagine levels in cerebrospinal fluid of rhesus monkeys and humans. *Cancer Research*, 41(11), pp. 4554-4558.

- Ridola, V. B. P. M. P. P. R. A. M. P. D. a. R. R., 2008. Severe acute hypertriglyceridemia during acute lymphoblastic leukemia induction successfully treated with plasmapheresis. *Pediatric blood & cancer*, 50(2), pp. 378-380.
- Rizzari, C. V. M. A. M. C. V. T. A. B. E. C. F. L. N. L. R. R. B. G. a. S. N., 2001. Effect of Protracted High-Dose L-Asparaginase Given as a Second Exposure in a Berlin-Frankfurt-Münster–Based Treatment: Results of the Randomized 9102 Intermediate-Risk Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia Study—A Report From the Associazione Italiana. *Journal of clinical oncology*, 19(5), pp. 1297-1303.
- Rizzari, C. Z. M. C. V. D. L. B. A. G. L. P. M. S. P. N. L. A. M. a. M. M., 2000. L-asparagine depletion and L-asparaginase activity in children with acute lymphoblastic leukemia receiving im or iv Erwinia C. or E. coli L-asparaginase as first exposure. *Annals of Oncology*, 11(2), pp. 189-193.
- Sallan, S. H.-B. S. G. R. C. J. F. E. a. N. D., 1983. Influence of intensive asparaginase in the treatment of childhood non-T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer research*, 43(11), pp. 5601-5607.
- Salzer, W. A. B. S. J. D. M. K. N. P. P. W. N. R. G. R. E. C. W. a. H. S., 2013. Erwinia asparaginase achieves therapeutic activity after pegaspargase allergy: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*, 122(4), pp. 507-514.
- Schrappé, M., 2014. Detection and management of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukemia. *Hematology*, 5 Dezember, Band 1, pp. 244-249.
- Seibel, N. S. P. S. H. N. J. D. C. E. L. F. D. M. L. H. C. R. C. a. B. K., 2008. Early postinduction intensification therapy improves survival for children and adolescents with high-risk acute lymphoblastic leukemia: a report from the Children's Oncology Group. *Blood*, März, 111(5), pp. 2548-2555.
- Shaw, M. B. C. M. F. a. B. K., 1970. L-asparaginase and pancreatitis. *The Lancet*, 2(7675), pp. 721-721.
- Silverman, L. G. R. D. V. A. B. B. R. C. L. H. C. M. A. S. Y. S. M. a. A. S., 2001. Improved outcome for children with acute lymphoblastic leukemia: results of Dana-Farber Consortium Protocol 91-01.. *Blood, The Journal of the American Society of Hematology*, März, 97(5), pp. 1211-1218.
- Sirvent, N. S. S. R. X. M. F. B. Y. P. D. F. A. R. A. L. P. N. B. a. P. E., 2011. Prognostic significance of the initial cerebro-spinal fluid (CSF) involvement of children with acute lymphoblastic leukaemia (ALL) treated without cranial irradiation: results of European Organization for Research and Treatment of Cancer (EORTC) Children. *European journal of cancer*, 47(2), pp. 239-247.
- Stock, W. D. D. D. A. M. A. A. D. L. K. T. L. M. R. M. B. G. a. B. A., 2011. Prevention and management of asparaginase/pegaspargase-associated

toxicities in adults and older adolescents: recommendations of an expert panel.. *Leukemia & lymphoma*, 52(12), pp. 2237-2253.

Sutor, A. N. C. S. S. W. I. K. K. R. A. B. M. a. R. H., 1992.

Gerinnungsveränderungen bei Behandlung mit den Protokollen ALL-BFM-90 und NHL-BFM-90. *Klinische Pädiatrie*, 204(4), p. Klinische Pädiatrie.

Tong, W. P. R. K. G. T. L. D. B. M. v. d. B. C. K. W. H. W. L.-K. C. R. M. a. T. W., 2014. A prospective study on drug monitoring of PEGasparaginase and Erwinia asparaginase and asparaginase antibodies in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, 123(13), pp. 2026-2033.

Tong, W. v. d. S. I. A. C. v. L. R. K. G. P. R. a. U.-d. G. C., 2013. Cost-analysis of treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia with asparaginase preparations: the impact of expensive chemotherapy.. *haematologica*, 98(5), pp. 753-759.

Ueno, T. O. K. M. K. K. Y. H. M. M. A. .. & N. H., 1997. Cell cycle arrest and apoptosis of leukemia cells induced by L-asparaginase. *Leukemia*, 11(11), pp. 1858-1861.

van der Does-Van den Berg, A. B. C. B. G. B. Y. B. A. D. K. H. O. H. J. K. W. K. U. a. L. F., 1992. Minimal requirements for the diagnosis, classification, and evaluation of the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL) in the "BFM Family" Cooperative Group. *Medical and pediatric oncology*, 20(6), pp. 497-505.

van der Sluis, I. M. V. L. M. P. R. B. A. E. G. G. N. .. & W. J. A., 2016. Consensus expert recommendations for identification and management of asparaginase hypersensitivity and silent inactivation.. *Haematologica*, 101(3), pp. 279-285.

van Dongen, J. S. T. P.-G. E. B. A. P.-W. M. C. L. S. F. S. M. M. G. K. W. a. G. H., 1998. Prognostic value of minimal residual disease in acute lymphoblastic leukaemia in childhood. *The Lancet*, 352(9142), pp. 1731-1738.

Vieira Pinheiro, J. A. E. N. U. H. G. M. H. L. K. S. M. R. B. F. G. M. G. a. B. J., 1999. Pharmacokinetic dose adjustment of Erwinia asparaginase in protocol II of the paediatric ALL/NHL-BFM treatment protocols. *British journal of haematology*, 104(2), pp. 313-320.

Vrooman, L. K. I. D. Z. K. M. H. N. B. P. D. R. M. Y. R. A. H. G. a. M. K., 2016. Activity and Toxicity of Intravenous Erwinia Asparaginase Following Allergy to E. coli-derived asparaginase in children and adolescents with acute lymphoblastic leukemia.. *Pediatric blood & cancer*, 63(2), pp. 228-233.

Vrooman, L. S. J. N. D. A. B. A. U. C. L. K. K. L. C. M. B. S. M. a. C. H., 2010. Erwinia asparaginase after allergy to E. coli asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric blood & cancer*, Februar, 54(2), pp. 199-205.

- Vrooman, L. S. K. S. J. O. J. D. S. A. B. A. U. C. L. K. K. K. J. a. L. C., 2013. Postinduction dexamethasone and individualized dosing of Escherichia Coli L-asparaginase each improve outcome of children and adolescents with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia: results from a randomized study—Dana-Farber Cancer Institute ALL C. *Journal of Clinical Oncology*, 31(9), p. 2012.
- Wacker, P. L. V. C. B. K. J. P. J. H. M. a. S. J., 2007. Allergic reactions to E. coli L-asparaginase do not affect outcome in childhood B-precursor acute lymphoblastic leukemia: a Children's Oncology Group Study. *Journal of pediatric hematology/oncology*, 29(9), pp. 627-632.
- Wada, H. I. I. S. M. K. S. T. S. N. H. & I. Y., 1990. Antitumor Enzyme: Polyethylene Glycol-modified Asparaginase. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 613(1), pp. 95-108.
- Wade, H. E. R. H. D. K. J. a. S. K., 1968. A new L-asparaginase with antitumour activity. *The Lancet*, 5 10, 292(7571), pp. 776--777.
- Wang, B. R. M. V. S. M. C. W. M. H. R. R. P. C. H. & H. L. J., 2003. Evaluation of immunologic crossreaction of anti-asparaginase antibodies in acute lymphoblastic leukemia (ALL) and lymphoma patients. *Leukemia*, 17(8), pp. 1583-158.
- Wenner, K. P. J. E. G. W. R. J. N. W. J. S. M. K. A. B. J. a. J.-S. G., 2005. Asparagine Concentration in Plasma After 2 500 IU/m² PEG-Asparaginase iv in Children With Acute Lymphoblastic Leukemia.. *Klinische Pädiatrie*, 217(06), pp. 321-326.
- Werber, G. A. E. N.-G. U. J. H. V. E. a. B. J., 1997. Asparaginase activities in vitro are highly sensitive to different buffer conditions. *Acute Leukemias*, Band VI, pp. 512-516.
- Whelan, H. A. & Wriston, J. C., 1969. Purification and properties of asparaginase from Escherichia coli B. *Biochemistry*, 8(6), pp. 2386-2393.
- Wolthers, B. F. T. B. A. A. A. B. S. C. A. E. G. G. K. I. H. K. G. a. L. D., 2017. Asparaginase-associated pancreatitis in childhood acute lymphoblastic leukaemia: an observational Ponte di Legno Toxicity Working Group study. *The Lancet Oncology*, 20 July, 18(9), pp. 1238 - 1248.
- Woo, M. H. L. S. M. E. W. S. J. R. G. W. B. P. C. a. R. M., 1998. Anti-Asparaginase antibodies following E.coli asparaginase therapy in pediatric acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia*, 12(10), pp. 1527-1533.
- Woo, M. H. L. S. M. S. J. R. R. R. G. R. J. H. P. W. B. E. W. a. P. C., 2000. Hypersensitivity or development of antibodies to asparaginase does not impact treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*, 18(7), pp. 1525-1532.
- Wriston, 1985. Asparaginase. *Methods in enzymology*, Band 113, pp. 608-618.

Wriston, J. a. Y. T., 1973. L-Asparaginase: a review. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol*, Band 39, pp. 185-248.

Yiallourous, M., 2013. <http://www.kinderkrebsinfo.de>. [Online] Available at: <http://www.kinderkrebsinfo.de> [Zugriff am 2. November 2016].

Yoshimoto, T. N. H. S. Y. S. K. K. Y. W. H. S. M. T. G. a. I. Y., 1986. Characterization of polyethylene glycol-modified L-asparaginase from *Escherichia coli* and its application to therapy of leukemia. *Japanese journal of cancer research: Gann*, 77(12), pp. 1264-1270.

Yunis, J. J. B. R. D., 1986. Prognostic significance of chromosomal abnormalities in acute leukaemias and myelodysplastic syndromes. *Clinics in haematology*, 15(3), pp. 597-620.

Zalewska-Szewczyk, B. A. W. M. W. J.-D. K. W. H. a. B. J., 2007. The anti-asparaginase antibodies correlate with L-asparaginase activity and may affect clinical outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia & lymphoma*, 48(5), pp. 931-936.

Zalewska-Szewczyk, B. G. A. W. K. B. J. a. M. W., 2009. The cross-reactivity of anti-asparaginase antibodies against different L-asparaginase preparations. *Clinical and experimental medicine*, 9(2), pp. 113-116.

III. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1:	Daten entsprechend nach (Asselin, 1995), (Holcenberg, 1977), (Wriston, 1973). ASN, Asparagin; GLN, Glutamin.	13
Tabelle 2:	Pharmakokinetische Eigenschaften der verschiedenen L Asparaginase-Präparate (Albertsen, et al., 2001, Ho, 1981, Haskell, 1969)	16
Tabelle 3:	Pharmakokinetische Eigenschaften der verschiedenen L Asparaginase-Präparate nach i.m. Gabe (Asselin, et al., 1993).....	16
Tabelle 4:	Stichprobe Gesamt- und Vergleichskollektiv COALL 07-03 Studie.....	35
Tabelle 5:	Patientenkollektiv COALL -08-09	35
Tabelle 6:	Patientenkollektiv Toxizitätsbögen	36
Tabelle 7:	Häufigkeit der allergischen Reaktion auf Asparaginase	37
Tabelle 8:	Patientencharakteristika allergische Reaktion auf C-ASP.....	38
Tabelle 9:	Darstellung der Verteilung allergischer Reaktionen bei High-Risk und Low-Risk-Patienten	38
Tabelle 10:	Zeitpunkt der allergischen Reaktion auf C-ASP	41
Tabelle 11:	Patientencharakteristika allergische Reaktion auf PEG-ASP.....	44
Tabelle 12:	Darstellung der Verteilung allergischer Reaktionen bei High-Risk und Low-Risk-Patienten	45
Tabelle 13:	Zeitpunkt der allergischen Reaktion auf PEG-ASP (Gesamtkollektiv)	47
Tabelle 14:	Anzahl der allergischen Reaktionen auf C-ASP, der später auch auf PEG-ASP reagierenden Patienten	47
Tabelle 15:	PEG-ASP Patienten Charakteristika, Kollektiv 2.....	48
Tabelle 16:	Patientencharakteristika Erwinase	50
Tabelle 17:	Toxizitäten Erwinase	50
Tabelle 18:	Allergische Reaktion auf Erwinase.....	51
Tabelle 19:	Zeitpunkt des Ersatzes von PEG-ASP/C-ASP durch Erwinase im Rahmen der Asparaginase-Therapie.....	53
Tabelle 20:	Asparaginepletion bei sicherer allergischer Reaktion auf Erwinase	55
Tabelle 21:	Asparaginepletion bei fraglicher allergischer Reaktion auf Erwinase	55
Tabelle 22:	Auflistung der Patienten bei denen eine stille Inaktivierung vermutet wurde	55

IV. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Relative Häufigkeiten der an das Deutsche Krebsregister gemeldeten Erkrankungsfälle nach Diagnose-Hauptgruppen 2009-2016, basierend auf insgesamt 16964 unter 18-jährigen Patienten (Kaatsch, 2018).....	7
Abbildung 2:	L-Asparaginase	11
Abbildung 3:	Glutaminase-Aktivität	14
Abbildung 4:	(Sallan, 1983).....	15
Abbildung 5:	CTCAE Kriterien: http://ctep.cancer.gov/protocolDevelopment/electronic_applications/ctc.htm#ctc_40	18
Abbildung 6:	von Duval et al 2002: Vergleich der Toxizitäten	22
Abbildung 7:	Ereignis-freies-Überleben (Vrooman, 2013).....	23
Abbildung 8:	schematische Darstellung der COALL 07-03 Studie	25
Abbildung 9:	Schematische Darstellung der COALL 08-09	26
Abbildung 10:	Aufbau einer HPLC Anlage (Eith, 2000).....	29
Abbildung 11:	Prinzip des Ionenaustausches	31
Abbildung 12:	Reaktion von ortho-phthaldialdehyd mit Aminosäuren	32
Abbildung 13:	Verteilung der klinischen Symptome bei sicherer allergischer Reaktion auf C-ASP	39
Abbildung 14:	Vergleich der klinischen Symptome bei sicherer allergischer Reaktion auf C-ASP bei HR- und LR-Patienten	40
Abbildung 15:	Verteilung der klinischen Symptome bei fraglicher allergischer Reaktion auf C-ASP.....	40
Abbildung 16:	Vergleich der klinischen Eigenschaften bei fraglicher allergischer Reaktion auf C-ASP bei HR- und LR-Patienten.....	41
Abbildung 17:	Verlauf der Asparaginkonzentration im Serum nach sicherer allergischer Reaktion.....	42
Abbildung 18:	Verlauf der Asparaginkonzentration im Serum nach fraglicher allergischer Reaktion.....	43
Abbildung 19:	Häufigkeitsverteilung der fraglichen allergischen Reaktionen auf PEG-ASP (LR- und HR-Patienten).....	46
Abbildung 20:	Asparaginepletion nach allergischer Reaktion auf PEG-ASP ...	49
Abbildung 21:	Häufigkeitsverteilung der gastrointestinalen Nebenwirkungen auf Erwinase	51
Abbildung 22:	Symptome bei sicherer allergischer Reaktion auf Erwinase	52
Abbildung 23:	Häufigkeit der dokumentierten klinischen Eigenschaften bei fraglicher allergischer Reaktion auf Erwinase	53
Abbildung 24:	Verlauf der Asparaginkonzentration im Serum nach Erwinase- Gabe	54

V. Anhang

A. Teilnehmende Kliniken

COALL-07-03 v. 01.01.2006

Anhang 5

147

Anhang 5.1

Teilnehmende Kliniken

Verantwortliche Ärzte	Adresse	Telefon/Fax
Prof. Dr. J. Otte Dr. N. Jorch	Ev. Krankenhaus Bielefeld GmbH Kinderklinik, Päd. Hämatologie/Onkologie	Grenzweg 10 33617 Bielefeld TEL (0521)144-2728 (Stat) -2755 (Sekr) FAX (0521)144-4545
OA Dr. H.J. Spaar OA Dr. T. Lieber	Klinikum Bremen-Mitte Professor-Hess-Kinderklinik	St.-Jürgen-Strasse 1 28250 Bremen TEL (0421)497-5413 (Stat) -3656 (Amb) FAX (0421)497-3311/3421
Prof. Dr. U. Göbel Frau Dr. G. Janßen	Universitätsklinikum Klinik f. Kinder-Onkologie, -Hämatologie und -Immunologie	Moorenstr. 5 40225 Düsseldorf TEL (0211)81-17662 (Stat) -13656 (Amb) FAX (0211)81-16206
Prof. Dr. J.F. Beck OA Dr. S. Weigel	Universitätsklinikum Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin Abt. Päd. Onkologie u. Hämatologie	Soldmannstr. 15 17487 Greifswald TEL (03834)86-6321 (Stat) -6325 (Sekr) FAX (03834)86-6323/7382
Frau Dr. Streitberger	Kreis Krankenhaus Kinderabteilung	Esmarchstr. 50 25746 Heide TEL (0481)785-1911 FAX (0481)785-1909
PD Dr. W. Nürnberger	Klinik f. Knochenmarktransplantation Ambulanz Päd. Hämatologie/Onkologie	Dr.Ottmar-Kohler-Str.2 55743 Idar-Oberstein TEL (06781)66-1582 (Amb) -1500 (Sekr) FAX (06781)66-1584
OA Dr. P. Thomas Frau OÄ Dr. S. Völpel	Städtisches Krankenhaus Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin	Lutherplatz 40 47805 Krefeld TEL (02151)322-375 FAX (02151)322-391
Prof. Dr. D. Körholz Frau OÄ Dr. U. Bierbach	Universitätsklinik f. Kinder u. Jugendliche Abt. f. Hämatologie/Onkologie	Oststr. 21-25 04317 Leipzig TEL (0341)9726-113 (Stat) -160 (Sekr) FAX (0341)9726-159
Prof. Dr. P. Gutjahr	Universitätsklinikum Kinderklinik	Langenbeckstr. 1 55101 Mainz TEL (06131)17-2642 (Stat) -2112 (Amb) FAX (06131)17-6686
Dr. W. Müller Frau Dr. I. Althaus	Krankenhaus Neuwerk Klinik f. Kinder- und Jugendmedizin	Dünner Str. 214-216 41066 Mönchengladbach TEL (02161)668-2481(Stat) -2451 (Sekr) FAX (02161)668-2348
Prof. Dr. R. Roos Frau Dr. Papoucek	Städtisches Krankenhaus Harlaching Abt. f. Kinder- und Jugendmedizin	Sanatoriumsplatz 2 81545 München TEL (089)6210-2720 (Sekr) -2729 (Stat) FAX (089)6210-2692
Frau Dr.OÄ U. Graubner Frau Dr. OÄ I. Schmidt	Klinikum der Universität Dr. von Haunersches Kinderspital	Lindwurmstr. 4 80337 München TEL (089)5160-2843 (Stat) -4498 (Amb) FAX (089)5160-4719
Prof. Dr. J. Wolff OA Dr. O. Peters	Klinik St. Hedwig Klinik f. Kinder- und Jugendmedizin	Steinmetzstr. 1-3 93049 Regensburg TEL (0941)369-540 (Amb) FAX (0941)369-5494
OA Dr. Beron	Dr.-Horst-Schmidt-Kliniken Klinik f. Kinder- und Jugendmedizin	Ludwig-Erhard-Str. 100 65199 Wiesbaden TEL (0611)43-2564 (Stat) -2563 (Stat) FAX (0611)43-2557
Frau Dr. Dohrn	Helios Klinikum Zentrum f. Kinder- und Jugendmedizin Kinderonkologie	Heusnerstr. 40 42283 Wuppertal TEL (0202)896-2444 FAX (0202)896-2519

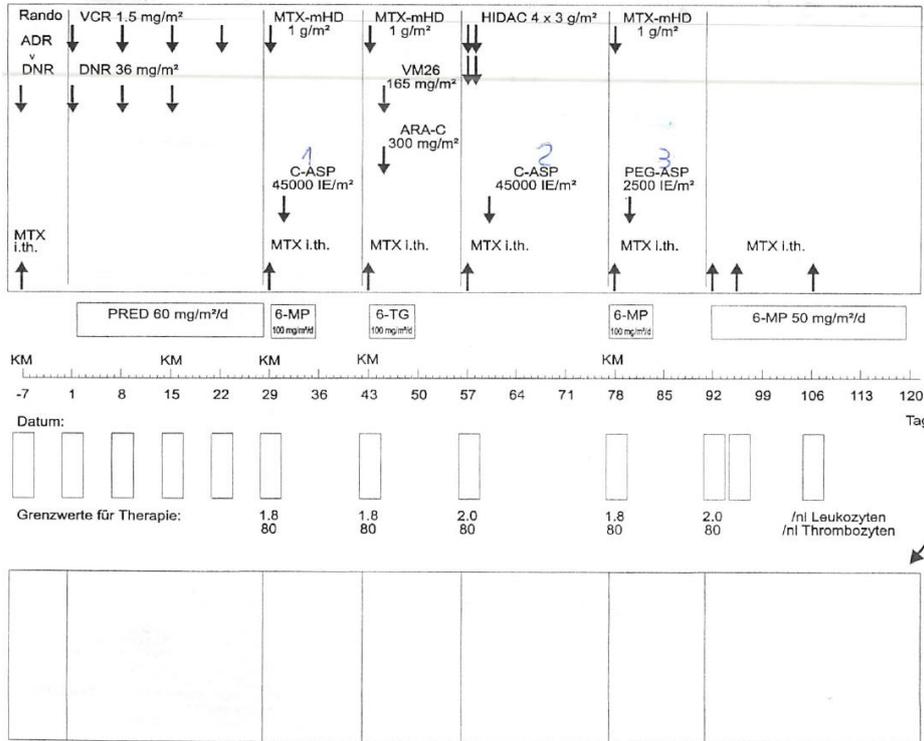
Anhang 5.1**Teilnehmende Kliniken**

Verantwortliche Ärzte	Adresse	Telefon/Fax
OA Dr. N. Jorch	Ev. Krankenhaus Bielefeld GmbH Klinik f. Kinder- und Jugendmedizin Päd. Hämatologie/Onkologie	Grenzweg 10 33617 Bielefeld
		TEL (0521)144-2728 (Stat) -2755 (Sekr) FAX (0521)144-4545
Prof. Dr. A. Pekrun OA Dr. T. Lieber	Klinikum Bremen-Mitte Prof. Hess Kinderklinik	St.-Jürgen-Strasse 28250 Bremen
		TEL (0421)497-5413 (Stat) -3656 (Amb) FAX (0421)497-3311 / -3421
Prof. Dr. A. Borkhardt Frau Dr. G. Janßen	Universitätsklinikum Klinik f. Kinder-Onkologie, -Hämatologie und -Immunologie	Moorenstr. 5 40225 Düsseldorf
		TEL (0211)81-17662 (Stat) -13656 (Amb) FAX (0211)81-16206
Prof. Dr. S. Lode	Universitätsklinikum Klinik für Kinder- und Jugendmedizin Abt. Päd. Onkologie u. Hämatologie	Ferdinand-Sauerbruch-Str. 17475 Greifswald
		TEL (03834)86-6321 (Stat) -6325 (Sekr) FAX (03834)86-6323 / -7382
Prof. Dr. M. Horstmann Frau Dr. G. Escherich	Universitätsklinikum Zentrum für Geburtshilfe, Kinder- und Jugendmedizin Abt. Päd. Onkologie u. Hämatologie	Martinstraße 52 20246 Hamburg
		TEL (040) 74105-2580 -3796(Amb) FAX (040)74105-8101
T. Imschweiler Prof. Dr. T. Niehues	HELIOS Klinikum Krefeld Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin	Lutherplatz 40 47805 Krefeld
		TEL (02151)322-375 FAX (02151)322-391
Prof. Dr. Christansen Frau OÄ Dr. U. Bierbach	Universitätsklinikum Kinderklinik Päd. Hämatologie und Onkologie	Liebigstr. 20a 04103 Leipzig
		TEL (0341)9726-113 (Stat) -160 (Sekr) FAX (0341)9726-159
PD Dr. J. Faber	Universitätsmedizin Zentrum f. Kinder- und Jugendmedizin	Langenbeckstr. 1 55101 Mainz
		TEL (06131)17-2642 (Stat) -2112 (Amb) FAX (06131)17-6686
Frau OÄ Dr. U. Graubner Frau OÄ PD.Dr. I. Schmid	Universitätsklinikum Dr. von Haunersches Kinderspital	Lindwurmstr. 4 80337 München
		TEL (089)5160-2843 (Stat) -4498 (Amb) FAX (089)5160-4719
Prof. Dr. S. Corbacioglu	Universitätsklinikum Klinik f. Kinder- und Jugendmedizin Abt. f. Päd. Hämatol./Onkol./SZT	Franz-Josef-Strauss- Allee 11 93049 Regensburg
		TEL (0941)944-2083 (Stat) -2010 (Amb) FAX (0941)944-2112 / -2012
OA Dr. J. Beron	Dr.-Horst-Schmidt-Kliniken Klinik f. Kinder- und Jugendmedizin	Ludwig-Erhard-Str. 100 65199 Wiesbaden
		TEL (0611)43-2564 (Stat) -2563 (Stat) FAX (0611)43-2557

B. Protokollblätter

COALL 07-03 Studie

COALL-07-03 LOW-RISK-PROTOKOLL - 'LR-Standard'



Patient: _____
 PVA-Score: _____
 Klinik: _____
 Unterschrift Arzt: _____

Toxizitätsdokumentation:
 Bitte pro Block eintragen
 WHO-Kriterien: siehe Anhang 4.2

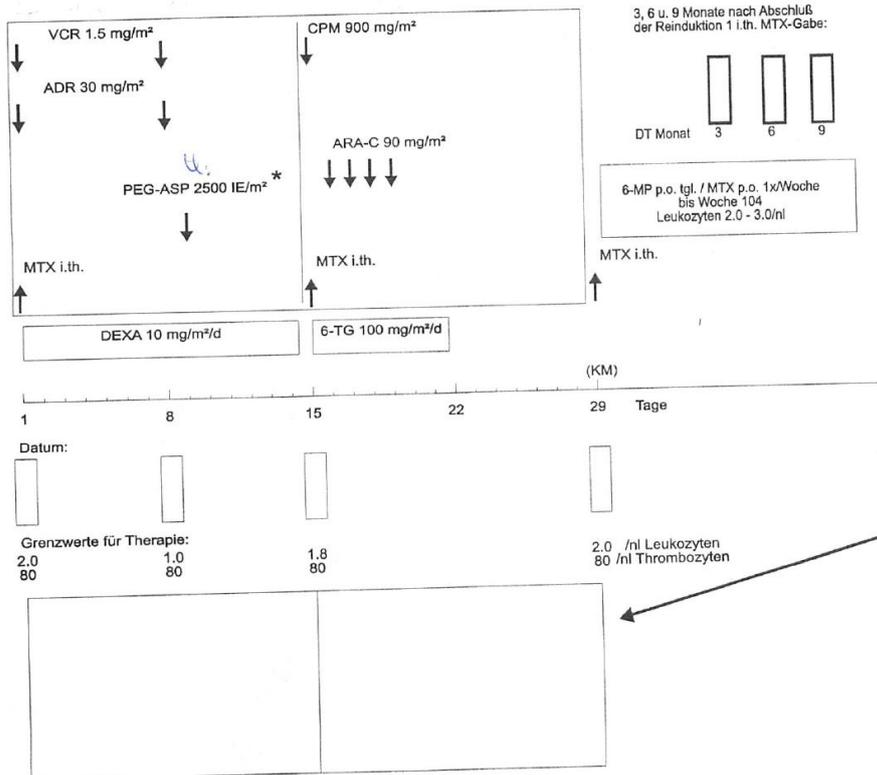
FN = Fieber bei Neutropenie*
 BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
 BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
 PIN = Pilzkrankung bei Neutropenie*
 PIO = Pilzkrankung ohne Neutropenie*
 Men = Meningitis
 VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
 HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
 SV = andere, schwere Virusinfektion
 LI = Lokale Infektion

-Pneumonie
 -Abszeß
 -Phlegmone
 -Inf. Katheter-Eintrittsstelle

ASP-Allergie (WHO Grad 3+4)
 Enzephalopathie (WHO Grad 3+4)
 cerebraler Krampfanfall (WHO Grad 3+4)
 Pankreatitis (WHO Grad 3+4)
 Niereninsuffizienz (WHO Grad 3+4)
 Kardiomyopathie (WHO Grad 3+4)
 schwere Stomatitis (WHO Grad 3+4)
 GPT > 500 U/l (WHO Grad 3+4)
 VOD (WHO Grad 3+4)
 asept. Knochennekrosen (WHO Grad 3+4)
 Thrombose/Infarkt
 insulinpflichtiger Diabetes mellitus

* Neutrophile < 0.5/nl oder, falls keine Differenzierung vorliegt, Leuko < 1/nl

COALL-07-03 LOW-RISK-PROTOKOLL - 'LR-Standard' - Reinduktion



Patient: _____
 PVA-Score: _____
 Klinik: _____
 Unterschrift Arzt: _____

Toxizitätsdokumentation:
 Bitte pro Block eintragen
 WHO-Kriterien: siehe Anhang 4.2

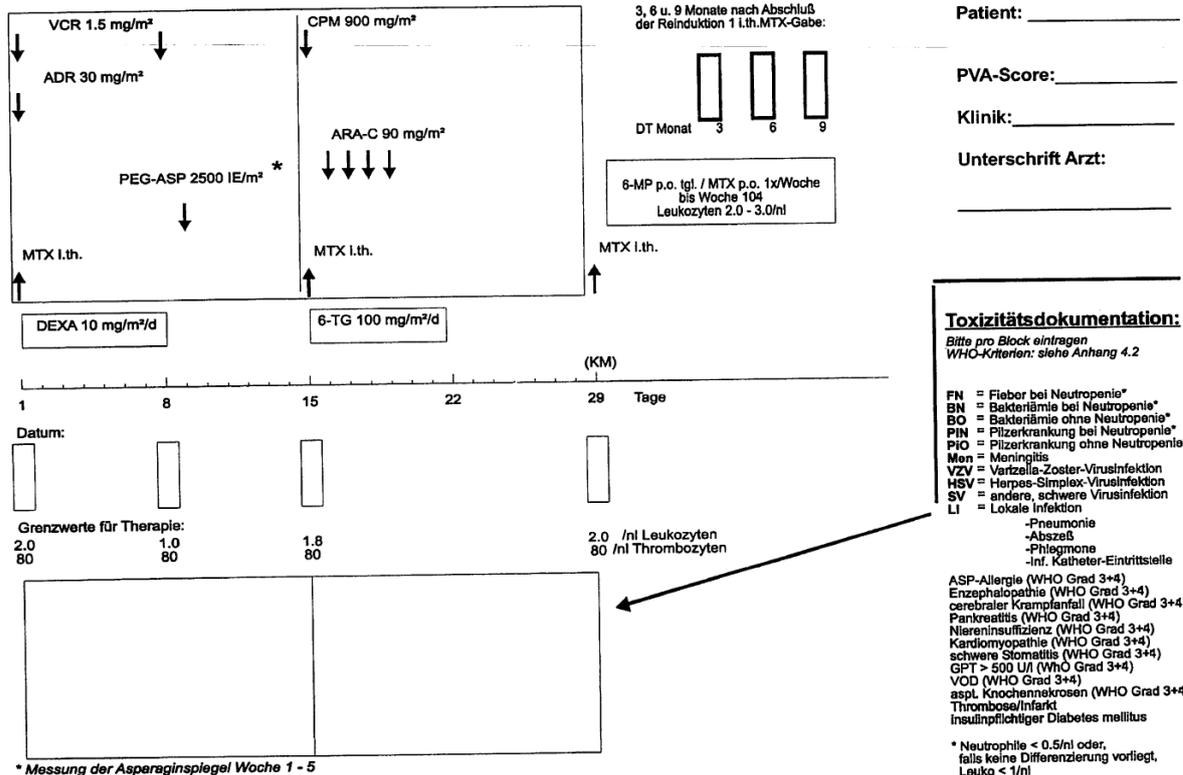
FN = Fieber bei Neutropenie*
 BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
 BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
 PIN = Pilzkrankung bei Neutropenie*
 PIO = Pilzkrankung ohne Neutropenie*
 Men = Meningitis
 VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
 HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
 SV = andere, schwere Virusinfektion
 LI = Lokale Infektion

-Pneumonie
 -Abszeß
 -Phlegmone
 -Inf. Katheter-Eintrittsstelle

ASP-Allergie (WHO Grad 3+4)
 Enzephalopathie (WHO Grad 3+4)
 cerebraler Krampfanfall (WHO Grad 3+4)
 Pankreatitis (WHO Grad 3+4)
 Niereninsuffizienz (WHO Grad 3+4)
 Kardiomyopathie (WHO Grad 3+4)
 schwere Stomatitis (WHO Grad 3+4)
 GPT > 500 U/l (WHO Grad 3+4)
 VOD (WHO Grad 3+4)
 asept. Knochennekrosen (WHO Grad 3+4)
 Thrombose/Infarkt
 insulinpflichtiger Diabetes mellitus

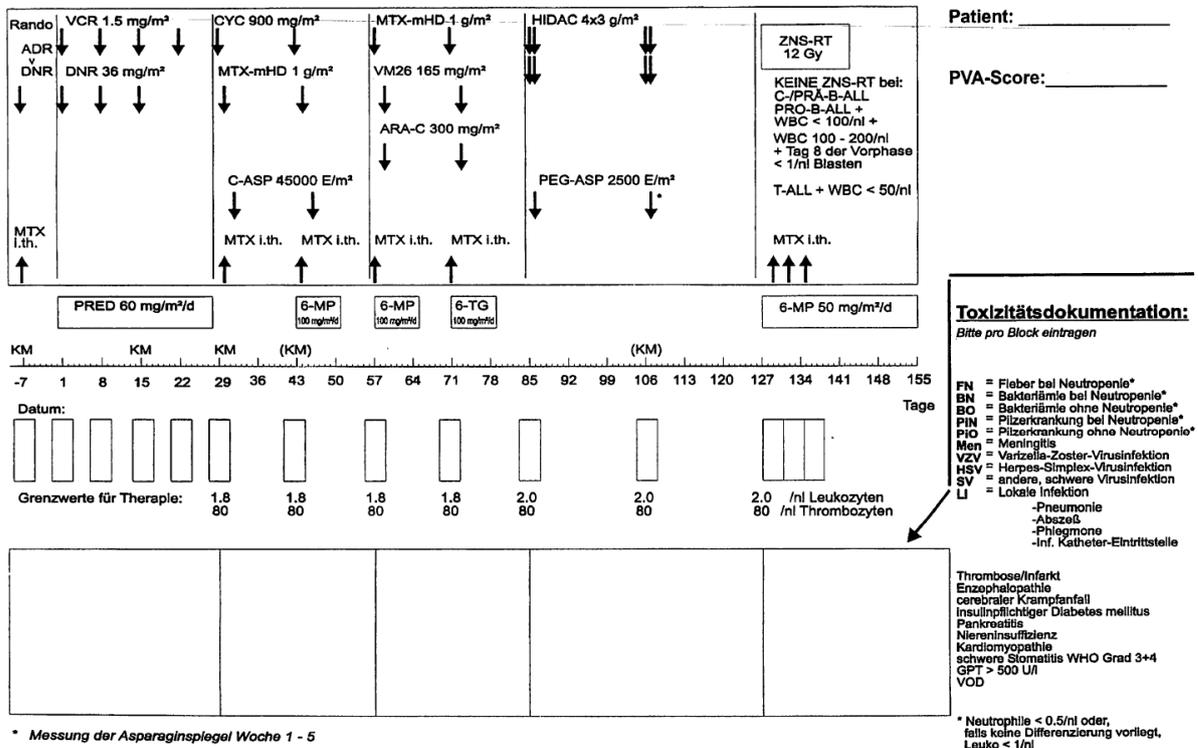
* Neutrophile < 0.5/nl oder, falls keine Differenzierung vorliegt, Leuko < 1/nl

COALL-07-03 LOW-RISK-PROTOKOLL - 'LR-Reduziert' - Reinduktion



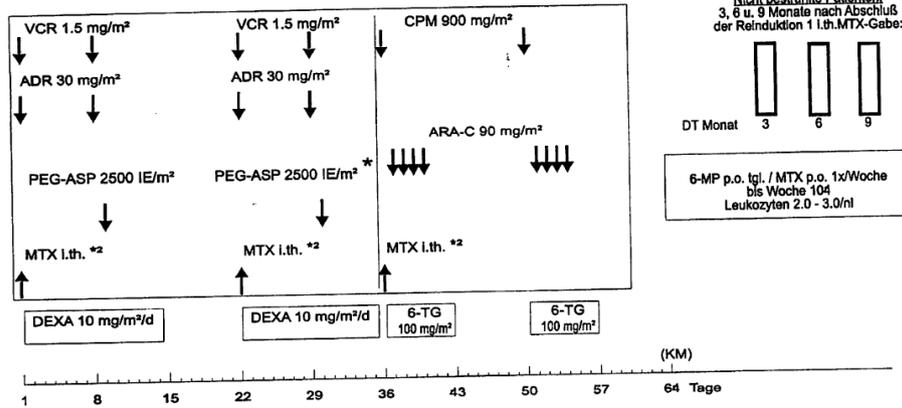
* Messung der Asparaginspiegel Woche 1 - 5

COALL-07-03 HIGH-RISK-PROTOKOLL - 'HR-Standard' und 'LR-Intensiviert'



* Messung der Asparaginspiegel Woche 1 - 5

COALL-07-03 HIGH-RISK-PROTOKOLL - 'HR-Standard' und 'LR-Intensiviert' Reinduktion



Nicht bestrahlte Patienten:
3, 6 u. 9 Monate nach Abschluß
der Reinduktion 1 i.th.MTX-Gabe:

DT Monat 3 6 9

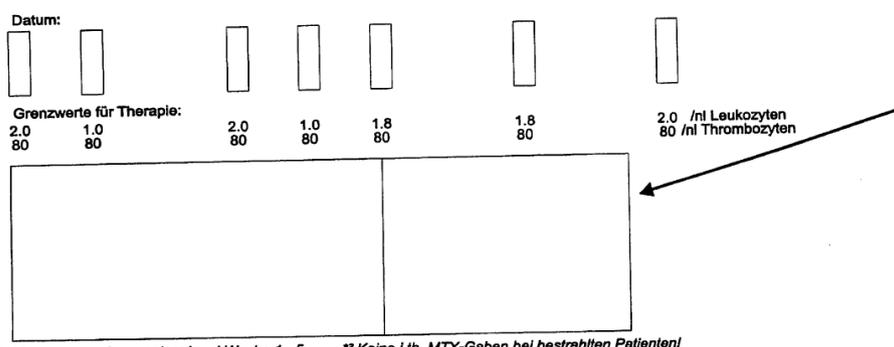
6-MP p.o. tgl. / MTX p.o. 1x/Woche
bis Woche 104
Leukozyten 2.0 - 3.0/nl

Patient: _____

PVA-Score: _____

Klinik: _____

Unterschrift Arzt: _____



Toxizitätsdokumentation:
Bitte pro Block eintragen
WHO-Kriterien: siehe Anhang 4.2

FN = Fieber bei Neutropenie*
BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
PIN = Pilzkrankung bei Neutropenie*
PIO = Pilzkrankung ohne Neutropenie*
Men = Meningitis
VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
SV = andere, schwere Virusinfektion
LI = Lokale Infektion

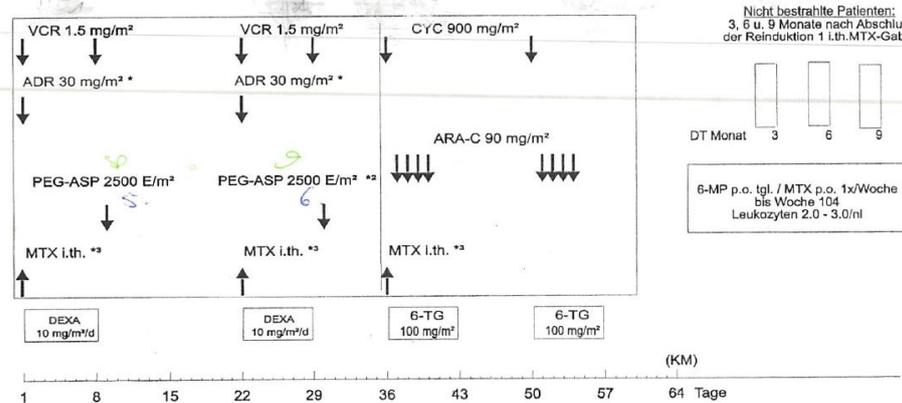
-Pneumonie
-Abszß
-Phlegmone
-Inf. Katheter-Eintrittsstelle

ASP-Allergie (WHO Grad 3+4)
Enzephalopathie (WHO Grad 3+4)
cerebraler Krampfanfall (WHO Grad 3+4)
Pankreatitis (WHO Grad 3+4)
Niereninsuffizienz (WHO Grad 3+4)
Kardiomyopathie (WHO Grad 3+4)
schwere Stomatitis (WHO Grad 3+4)
GPT > 500 U/l (WHO Grad 3+4)
VOD (WHO Grad 3+4)
asept. Knochennekrose (WHO Grad 3+4)
Thrombose/Infarkt
insulinpflichtiger Diabetes mellitus

* Neutrophile < 0.5/nl oder,
falls keine Differenzierung vorliegt,
Leuko < 1/nl

* Messung der Asparaginspiegel Woche 1 - 5 - ** Keine i.th. MTX-Gaben bei bestrahlten Patienten!

COALL-07-03 HIGH-RISK-PROTOKOLL - 'HR-Reduziert'-Reinduktion



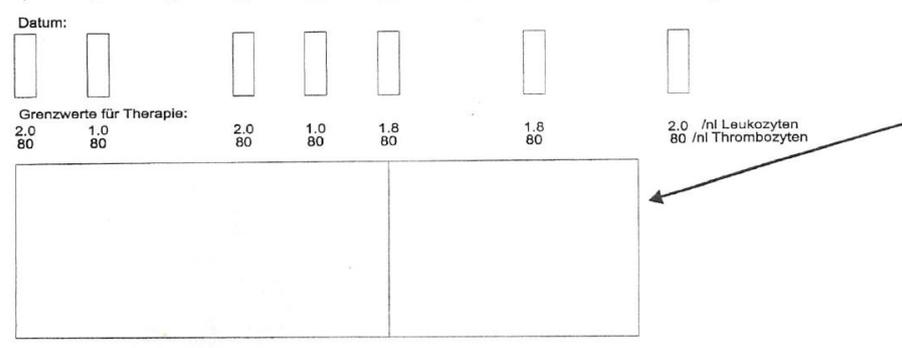
Nicht bestrahlte Patienten:
3, 6 u. 9 Monate nach Abschluß
der Reinduktion 1 i.th.MTX-Gabe:

DT Monat 3 6 9

6-MP p.o. tgl. / MTX p.o. 1x/Woche
bis Woche 104
Leukozyten 2.0 - 3.0/nl

Patient: _____

PVA-Score: _____



Toxizitätsdokumentation:
Bitte pro Block eintragen

FN = Fieber bei Neutropenie*
BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
PIN = Pilzkrankung bei Neutropenie*
PIO = Pilzkrankung ohne Neutropenie*
Men = Meningitis
VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
SV = andere, schwere Virusinfektion
LI = Lokale Infektion

-Pneumonie
-Abszß
-Phlegmone
-Inf. Katheter-Eintrittsstelle

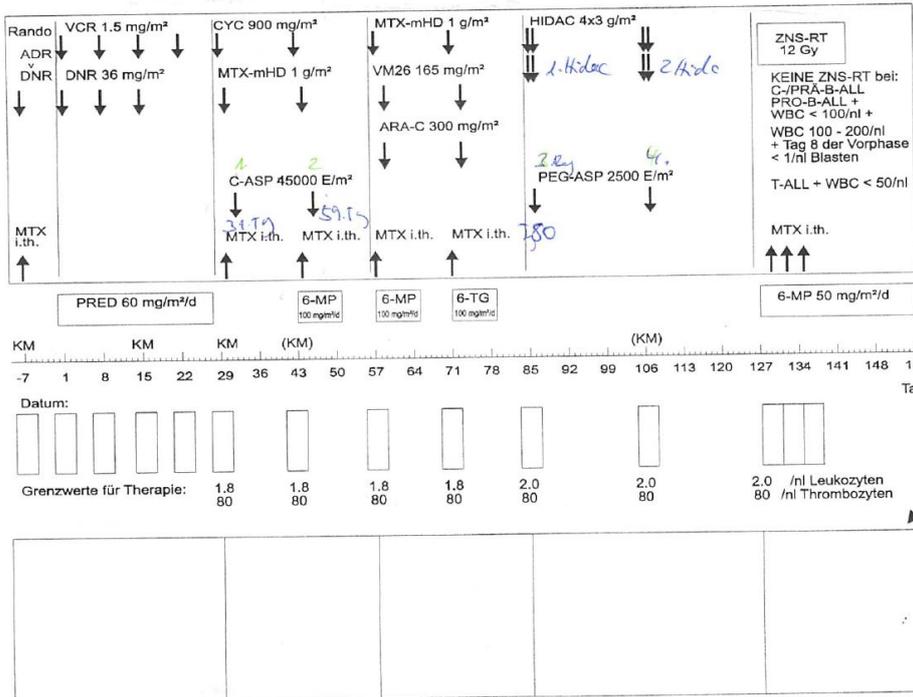
Thrombose/Infarkt
Enzephalopathie
cerebraler Krampfanfall
insulinpflichtiger Diabetes mellitus
Pankreatitis
Niereninsuffizienz
Kardiomyopathie
schwere Stomatitis WHO Grad 3+4
GPT > 500 U/l
VOD

* Neutrophile < 0.5/nl oder,
falls keine Differenzierung vorliegt,
Leuko < 1/nl

* Nach Auswertung Rando.Vorphase + Äquivalenz ab 2005 Randomisierung ADR vs DNR
** Messung der Asparaginspiegel Woche 1 - 5 - ** Keine i.th. MTX-Gaben bei bestrahlten Patienten!

COALL-07-03 HIGH-RISK-PROTOKOLL - 'HR-Reduziert'

T-ALL: MRD Tag 15 + 28 < 10⁻⁷
B-Precursor: MRD Tag 15+ 28 negativ



Patient: _____

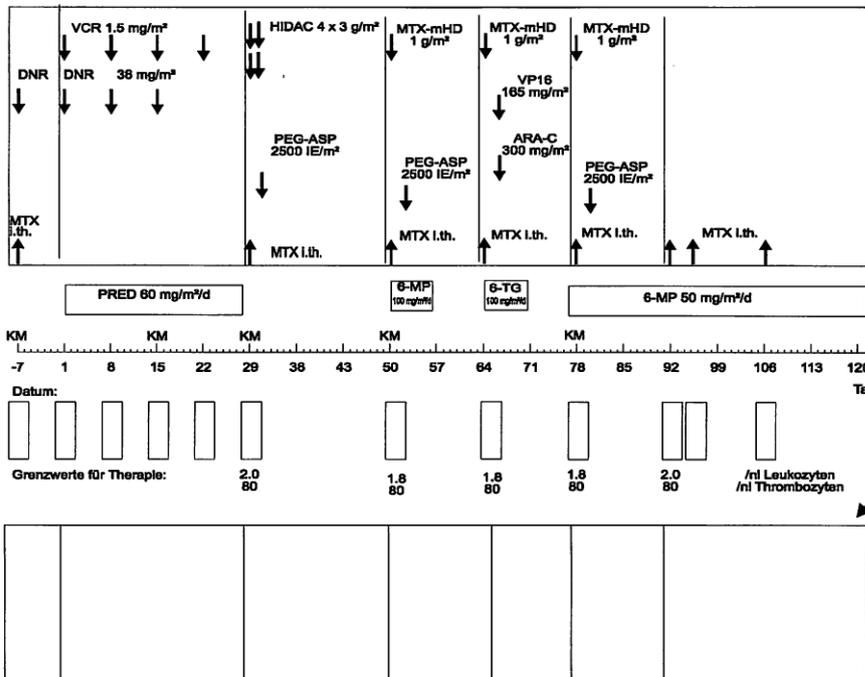
PVA-Score: _____

Toxizitätsdokumentation:
Bitte pro Block eintragen

- FN = Fieber bei Neutropenie*
 - BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
 - BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
 - PN = Pilzkrankung bei Neutropenie*
 - PIO = Pilzkrankung ohne Neutropenie*
 - Men = Meningitis
 - VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
 - HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
 - SV = andere, schwere Virusinfektion
 - LI = Lokale Infektion
 - Pneumonie
 - Abszess
 - Phlegmone
 - Inf. Katheter-Eintrittsstelle
- Thrombose/Infarkt
Enzephalopathie
cerebraler Krampfanfall
insulinpflichtiger Diabetes mellitus
Pankreatitis
Niereninsuffizienz
Kardiomypathie
schwere Stomatitis WHO Grad 3+4
GPT > 500 U/l
VOD
- * Neutrophile < 0.5/nl oder, falls keine Differenzierung vorliegt, Leuko < 1/nl

COALL 08-09 Studie

COALL 08-09 LOW-RISK-PROTOKOLL - 'LR-Reduziert'



Patient: _____

Klinik: _____

Unterschrift Arzt: _____

Toxizitätsdokumentation:
Bitte pro Block eintragen
WHO-Kriterien: siehe Anhang 4.2

- FN = Fieber bei Neutropenie*
 - BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
 - BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
 - PN = Pilzkrankung bei Neutropenie*
 - PIO = Pilzkrankung ohne Neutropenie*
 - Men = Meningitis
 - VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
 - HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
 - SV = andere, schwere Virusinfektion
 - LI = Lokale Infektion
 - Pneumonie
 - Abszess
 - Phlegmone
 - Inf. Katheter-Eintrittsstelle
 - ASP-Allergie (WHO Grad 3+4)
 - Enzephalopathie (WHO Grad 3+4)
 - cerebraler Krampfanfall (WHO Grad 3+4)
 - Pankreatitis (WHO Grad 3+4)
 - Niereninsuffizienz (WHO Grad 3+4)
 - Kardiomypathie (WHO Grad 3+4)
 - schwere Stomatitis (WHO Grad 3+4)
 - VOD (WHO Grad 3+4)
 - aspl. Knochenmarksen (WHO Grad 3+4)
 - Thrombose/Infarkt
 - insulinpflichtiger Diabetes mellitus
- * Neutrophile < 0.5/nl oder, falls keine Differenzierung vorliegt, Leuko < 1/nl

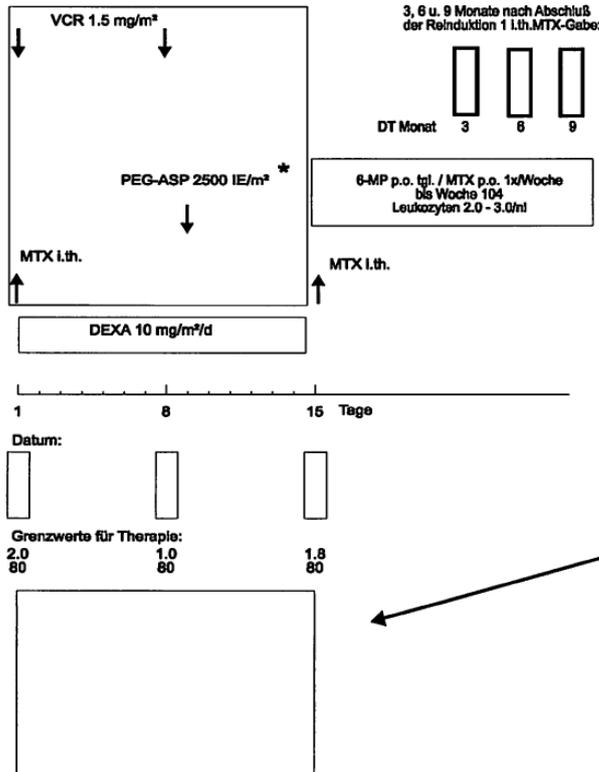
COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

Anhang 6.1

205

COALL 08-09 LOW-RISK-PROTOKOLL - 'LR-Reduziert' - Reinduktion



* Messung der Asparaginspiegel Woche 2-4, bei ASP Depletion < 3 Wochen Erwinase

Patient: _____

Unterschrift Arzt: _____

Toxizitätsdokumentation:

Bitte pro Block eintragen
CTC-Kriterien: siehe Anhang 4.1

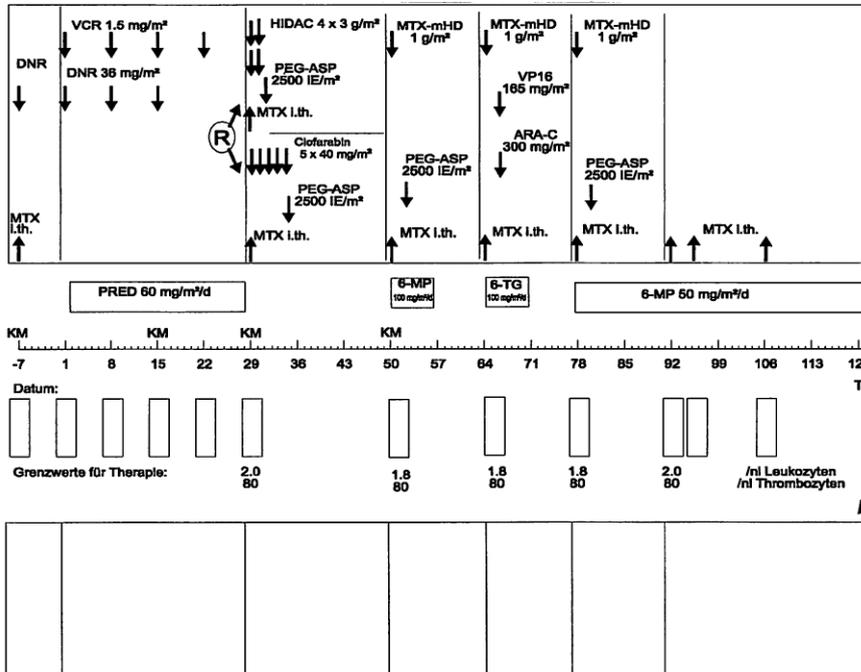
- FN = Fieber bei Neutropenie*
- BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
- BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
- PN = Pilzkrankung bei Neutropenie*
- PO = Pilzkrankung ohne Neutropenie*
- Men = Meningitis
- VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
- HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
- SV = andere, schwere Virusinfektion
- LJ = Lokale Infektion

- Pneumonie
- Abszess
- Phlegmone
- inf. Katheter-Eintrittsstelle

- ASP-Allergie (CTC Grad 3+4)
- Enzephalopathie (CTC Grad 3+4)
- cerebraler Krampfanfall (CTC Grad 3+4)
- Pankreatitis (CTC Grad 3+4)
- Niereninsuffizienz (CTC Grad 3+4)
- Kardiomyopathie (CTC Grad 3+4)
- schwere Stomatitis (CTC Grad 3+4)
- GPT > 500 U/l (CTC Grad 3+4)
- VOD (CTC Grad 3+4)
- asept. Knochennekrosen (CTC Grad 3+4)
- Thrombose/Infarkt
- Insulinpflichtiger Diabetes mellitus

* Neutrophilie < 0.5/nl oder, falls keine Differenzierung vorliegt, Leuko < 1/nl

COALL 08-09 LOW-RISK-PROTOKOLL - 'LR-Standard'



Patient: _____

Klinik: _____

Unterschrift Arzt: _____

Toxizitätsdokumentation:

Bitte pro Block eintragen
CTC-Kriterien: siehe Anhang 4.1

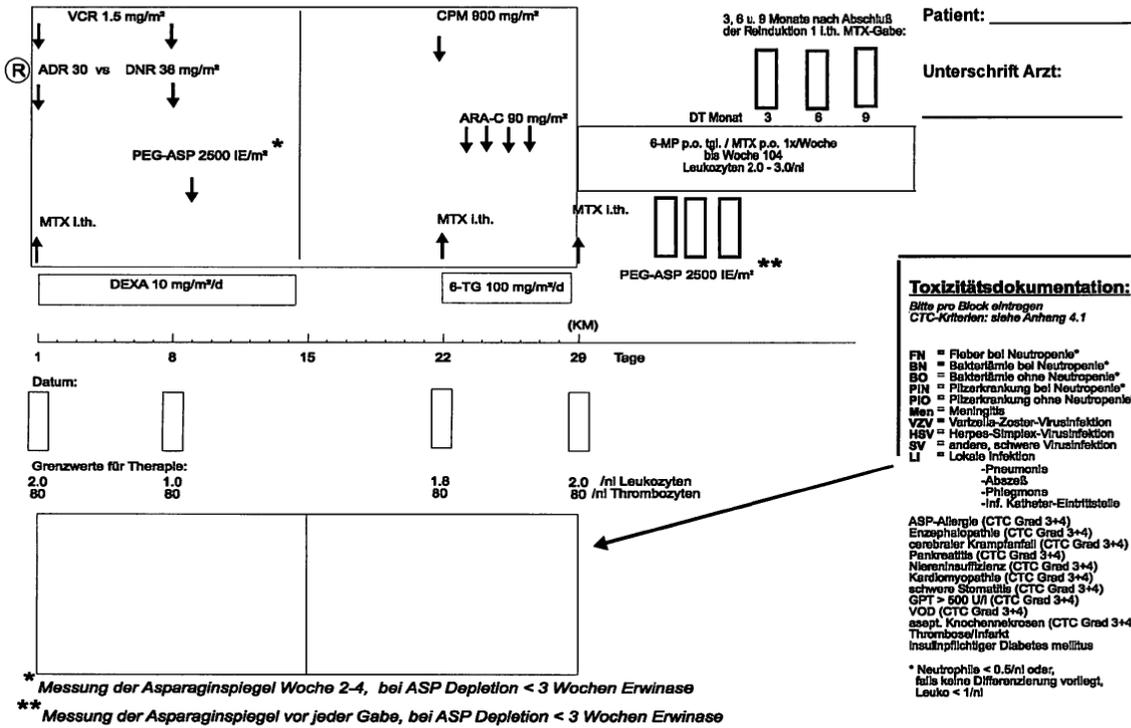
- FN = Fieber bei Neutropenie*
- BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
- BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
- PN = Pilzkrankung bei Neutropenie*
- PO = Pilzkrankung ohne Neutropenie*
- Men = Meningitis
- VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
- HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
- SV = andere, schwere Virusinfektion
- LJ = Lokale Infektion

- Pneumonie
- Abszess
- Phlegmone
- inf. Katheter-Eintrittsstelle

- ASP-Allergie (CTC Grad 3+4)
- Enzephalopathie (CTC Grad 3+4)
- cerebraler Krampfanfall (CTC Grad 3+4)
- Pankreatitis (CTC Grad 3+4)
- Niereninsuffizienz (WHO Grad 3+4)
- Kardiomyopathie (CTC Grad 3+4)
- schwere Stomatitis (CTC Grad 3+4)
- GPT > 500 U/l (CTC Grad 3+4)
- VOD (CTC Grad 3+4)
- asept. Knochennekrosen (CTC Grad 3+4)
- Thrombose/Infarkt
- Insulinpflichtiger Diabetes mellitus

* Neutrophilie < 0.5/nl oder, falls keine Differenzierung vorliegt, Leuko < 1/nl

COALL 08-09 LOW-RISK-PROTOKOLL - 'LR-Standard' - Reinduktion

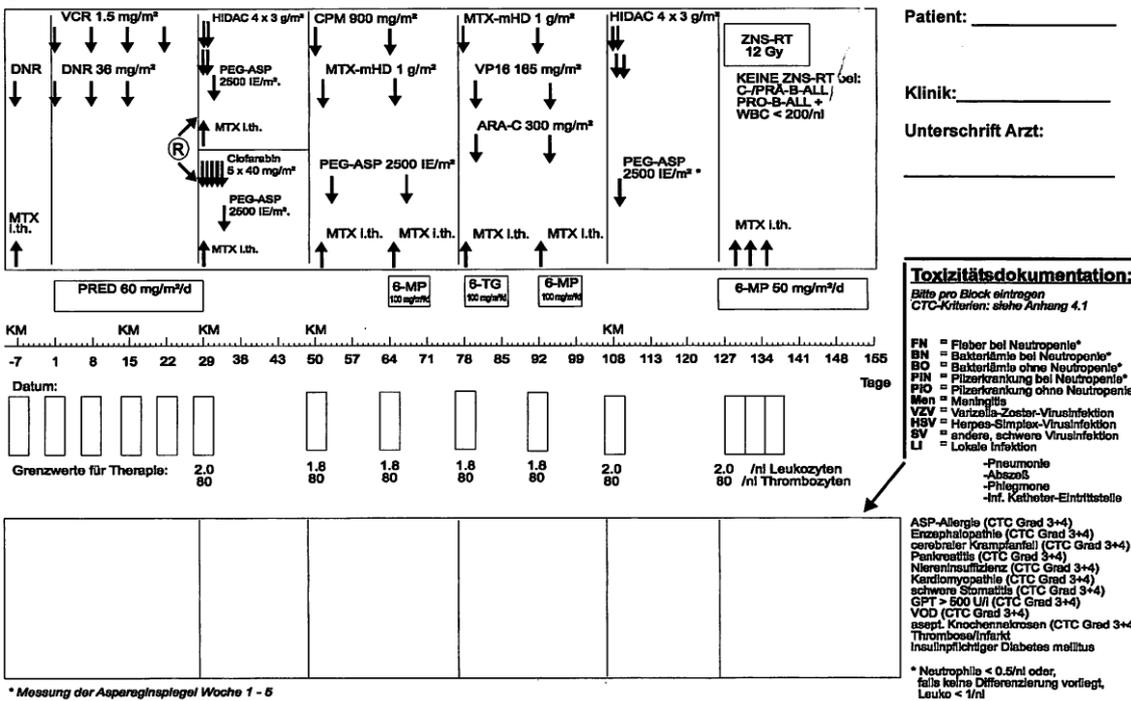


COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

208

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - 'LR-Intensiviert'



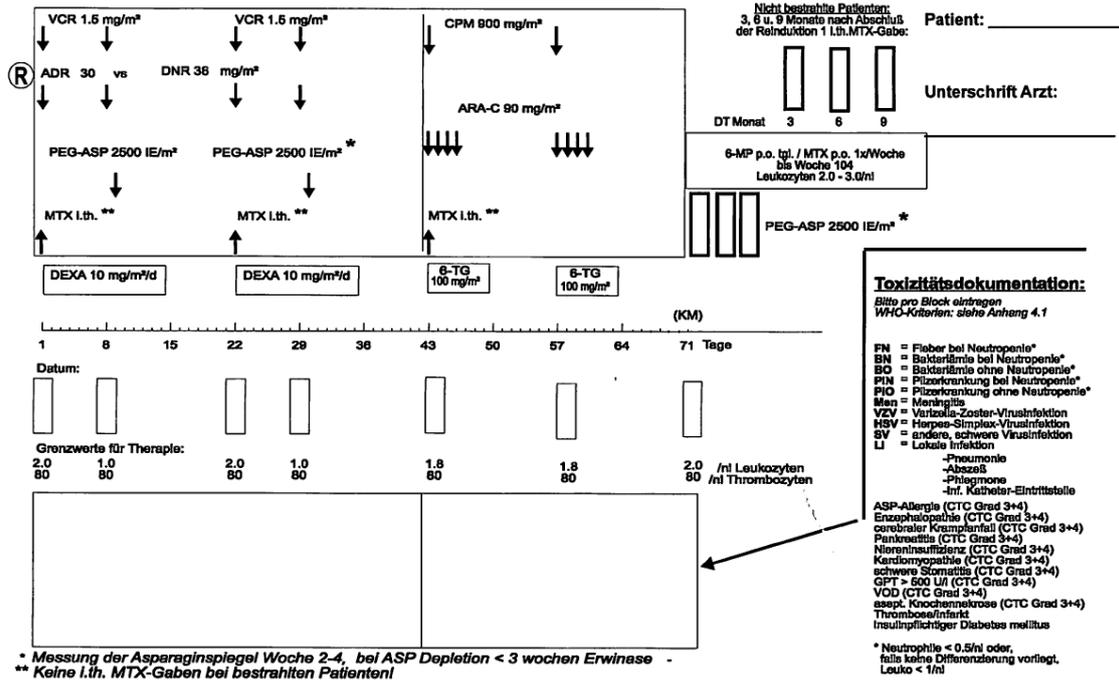
COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

209

Anhang 6.3

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - 'LR-Intensiviert' Reinduktion

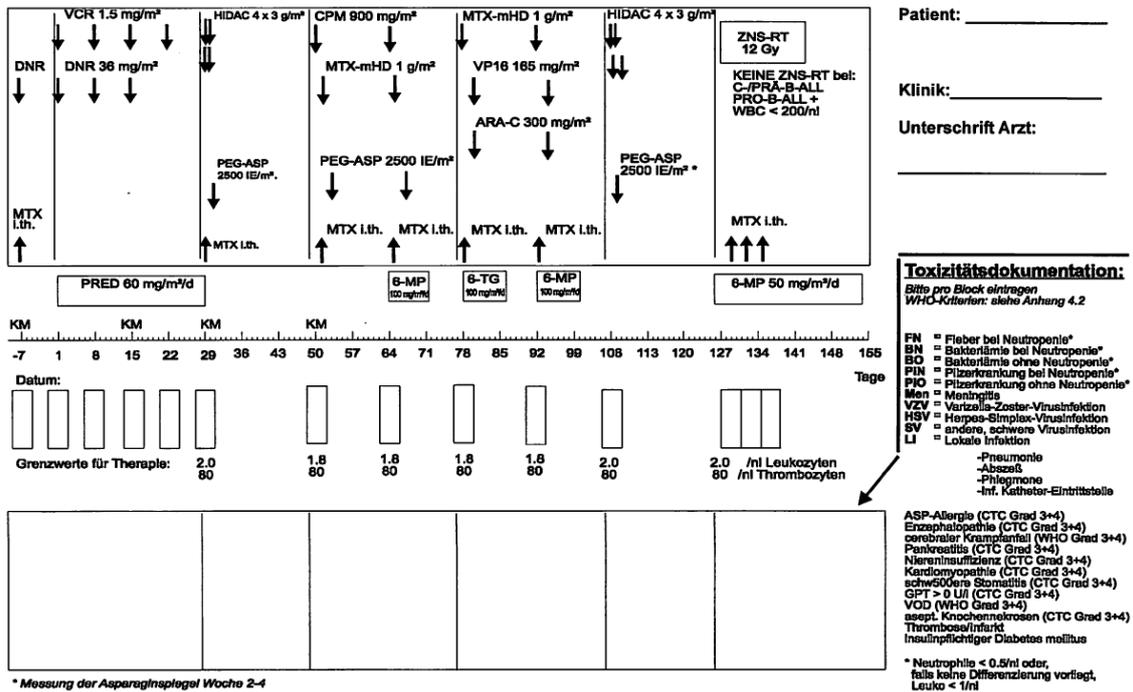


COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

210

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - B-Precursor 'HR-Reduziert'



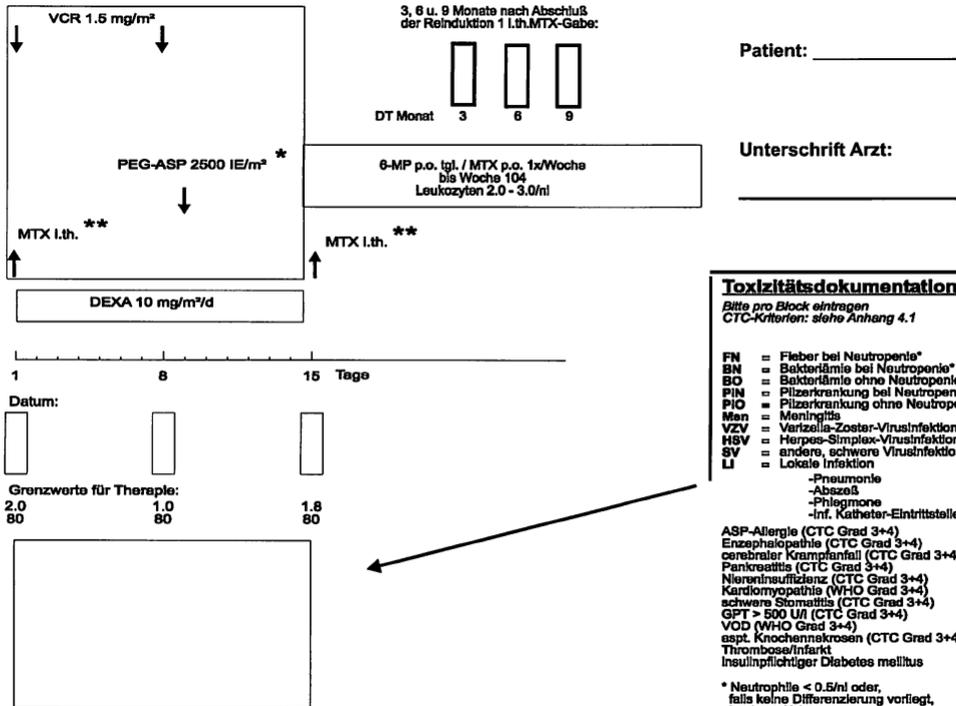
COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

211

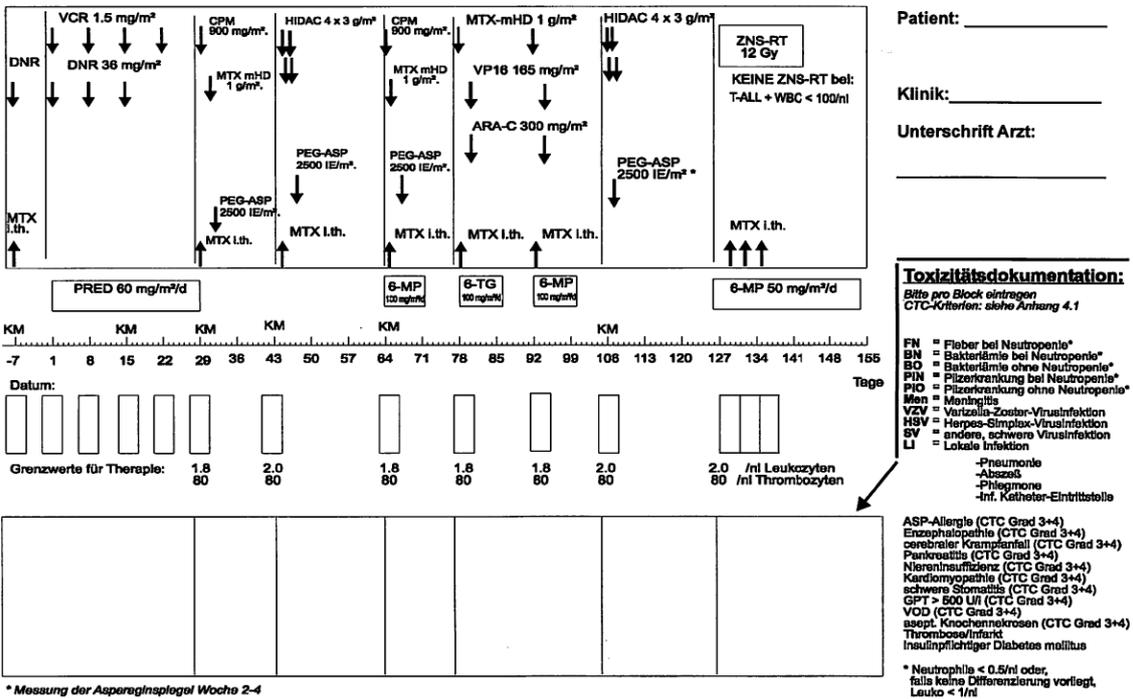
Anhang 6.4

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - 'HR-Reduziert' - Reinduktion



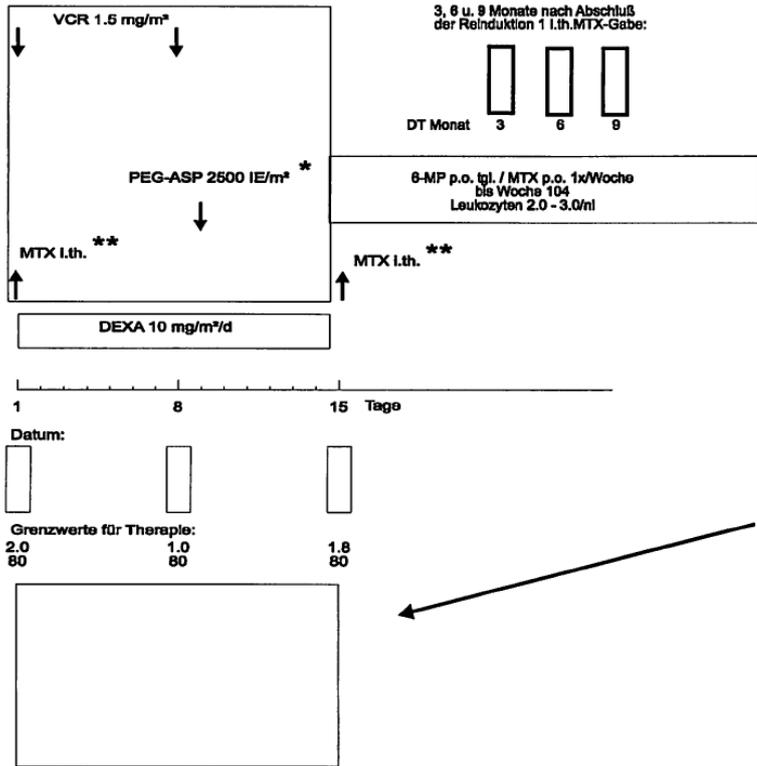
* Messung der Asparaginspiegel Woche 2-4, bei ASP Depletion < 3 Wochen Erwinase
** keine i.th. MTX Gaben bei bestrahlten Patienten

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - T-ALL 'HR-Reduziert'



* Messung der Asparaginspiegel Woche 2-4

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - 'HR-Reduziert' - Reinduktion



Patient: _____

Unterschrift Arzt: _____

Toxizitätsdokumentation:

Bitte pro Block eintragen
CTC-Kriterien: siehe Anhang 4.1

- FN = Fieber bei Neutropenie*
- BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
- BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
- PN = Pilzerkrankung bei Neutropenie*
- PIO = Pilzerkrankung ohne Neutropenie*
- Men = Meningitis
- VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
- HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
- SV = andere, schwere Virusinfektion
- LI = Lokale Infektion

- Pneumonie
- Abszß
- Phlegmone
- Inf. Katheter-Eintrittsstelle
- ASP-Allergie (CTC Grad 3+4)
- Enzephalopathie (CTC Grad 3+4)
- cerebraler Krampfanfall (CTC Grad 3+4)
- Pankreatitis (CTC Grad 3+4)
- Niereninsuffizienz (CTC Grad 3+4)
- Kardiomyopathie (WHO Grad 3+4)
- schwere Stomatitis (CTC Grad 3+4)
- GPT > 500 U/l (CTC Grad 3+4)
- VOD (WHO Grad 3+4)
- aspt. Knochennekrosen (CTC Grad 3+4)
- Thrombose/Infarkt
- insulinpflichtiger Diabetes mellitus

* Neutrophile < 0.5/nl oder, falls keine Differenzierung vorliegt, Leuko < 1/nl

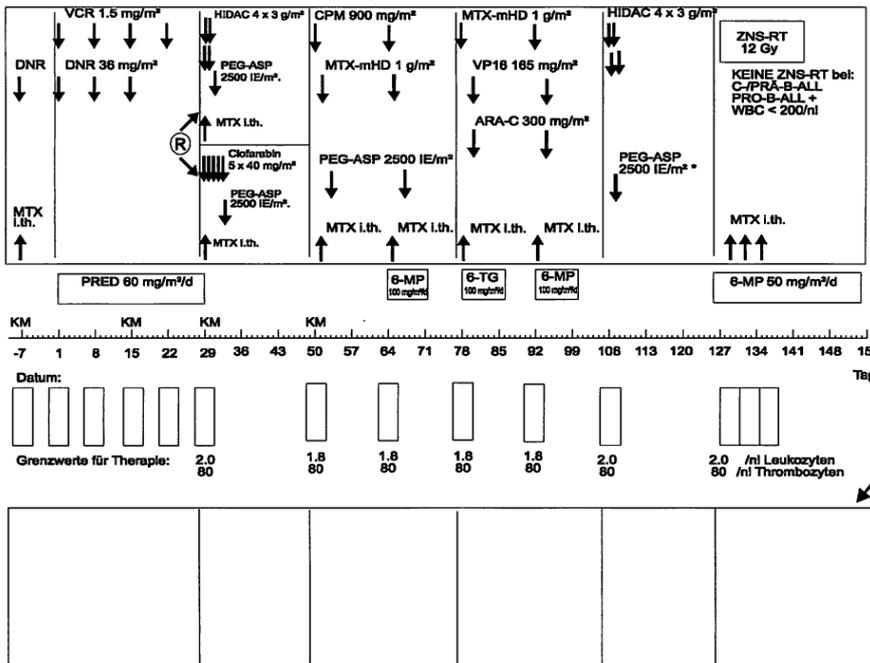
* Messung der Asparaginspiegel Woche 2-4, bei ASP Depletion < 3 Wochen Erwinase
** keine i.th. MTX Gaben bei bestrahlten Patienten

COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

214

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - B-Precursor 'HR-Standard'



Patient: _____

Klinik: _____

Unterschrift Arzt: _____

Toxizitätsdokumentation:

Bitte pro Block eintragen
CTC-Kriterien: siehe Anhang 4.1

- FN = Fieber bei Neutropenie*
- BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
- BO = Bakteriämie ohne Neutropenie*
- PN = Pilzerkrankung bei Neutropenie*
- PIO = Pilzerkrankung ohne Neutropenie*
- Men = Meningitis
- VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
- HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
- SV = andere, schwere Virusinfektion
- LI = Lokale Infektion

- Pneumonie
- Abszß
- Phlegmone
- Inf. Katheter-Eintrittsstelle
- ASP-Allergie (CTC Grad 3+4)
- Enzephalopathie (CTC Grad 3+4)
- cerebraler Krampfanfall (WHO Grad 3+4)
- Pankreatitis (CTC Grad 3+4)
- Niereninsuffizienz (CTC Grad 3+4)
- Kardiomyopathie (CTC Grad 3+4)
- schwere Stomatitis (CTC Grad 3+4)
- GPT > 500 U/l (CTC Grad 3+4)
- VOD (CTC Grad 3+4)
- asopt. Knochennekrosen (CTC Grad 3+4)
- Thrombose/Infarkt
- insulinpflichtiger Diabetes mellitus

* Neutrophile < 0.5/nl oder, falls keine Differenzierung vorliegt, Leuko < 1/nl

* Messung der Asparaginspiegel Woche 2-4

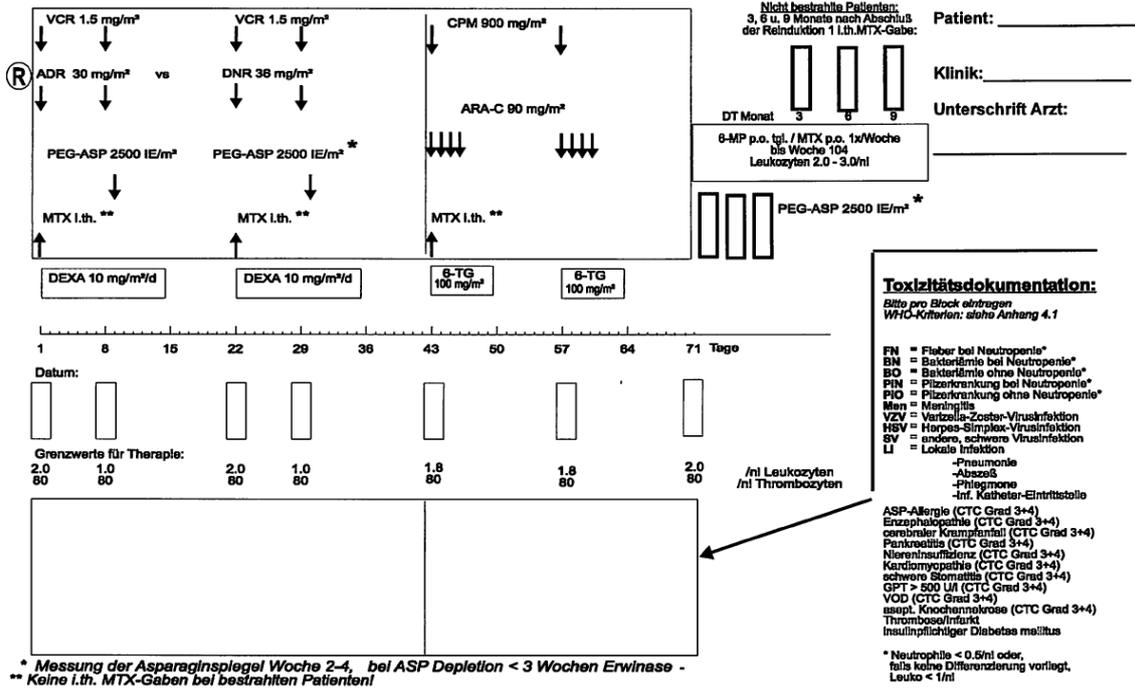
COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

215

Anhang 6.6

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - B-Precursor' HR-Standard' - Reinduktion

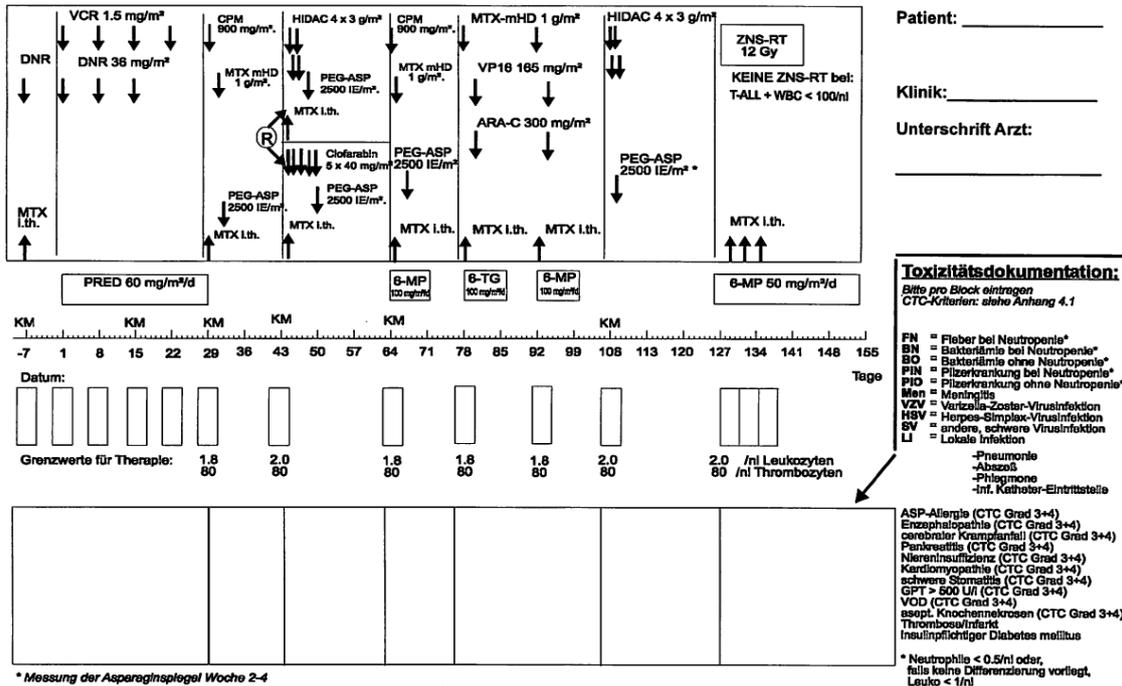


COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

216

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - T-ALL 'HR-Standard'



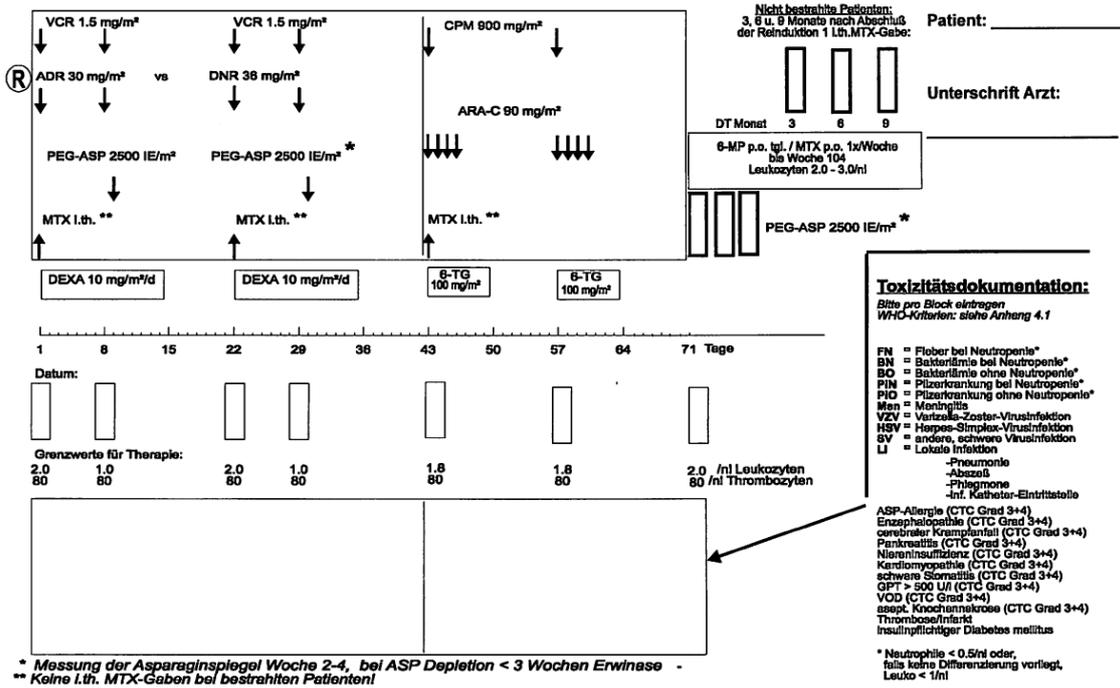
COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

217

Anhang 6.7

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - T-ALL 'HR-Standard' Reinduktion

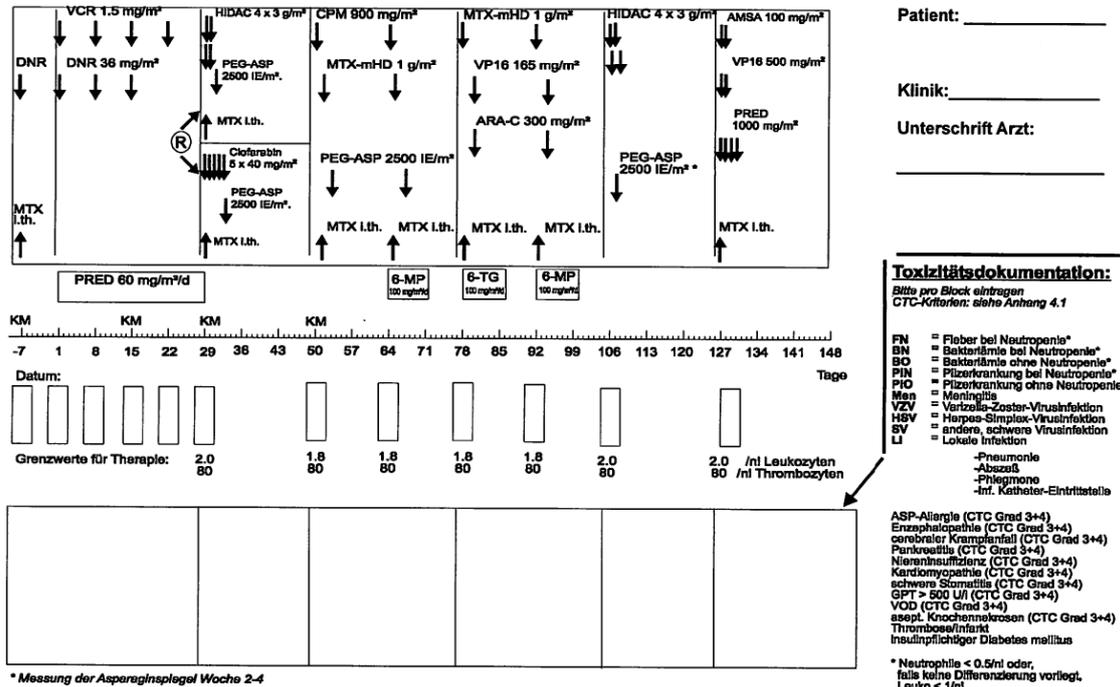


COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

218

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - B-Precursor 'HR-Intensiviert'



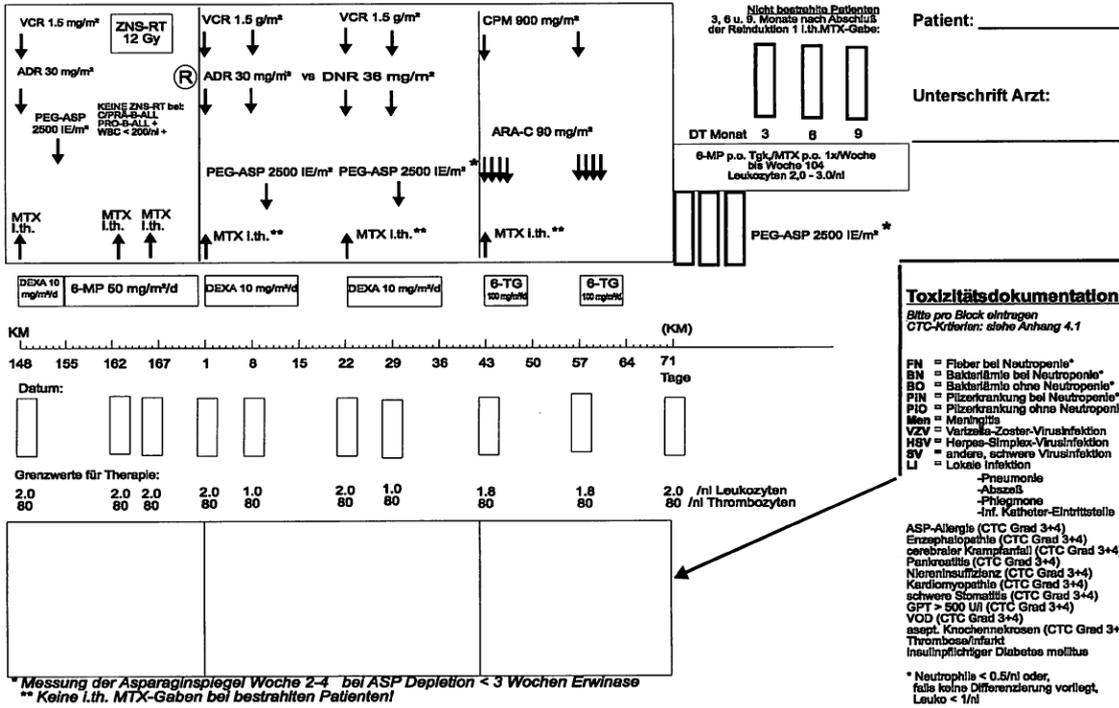
COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

219

Anhang 6.8

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - B-Precursor 'HR-Intensiviert' - Reinduktion

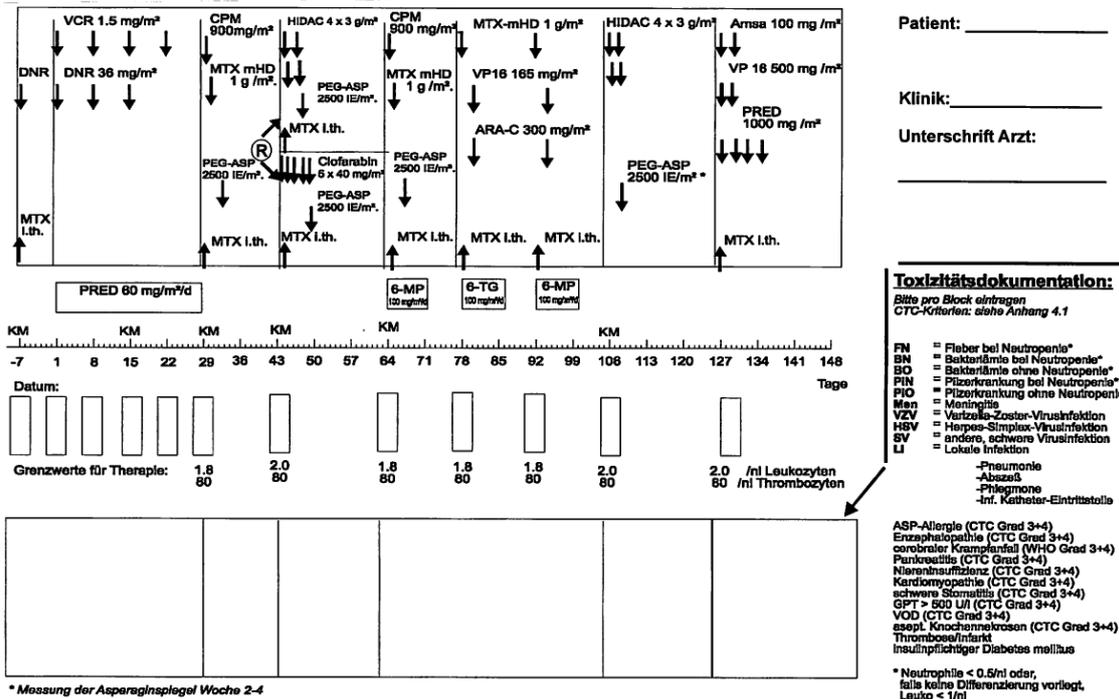


COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

220

COALL 08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - T-ALL 'HR-Intensiviert'



COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

221

COALL-08-09 HIGH-RISK-PROTOKOLL - T-ALL 'HR-Intensiviert' - Reinduktion

DEKA 10 mg/m²/d **6-MP 50 mg/m²/d** **DEKA 10 mg/m²/d** **DEKA 10 mg/m²/d** **6-TG 100 mg/m²/d** **6-TG 100 mg/m²/d**

Nicht bestrahlte Patienten
3, 6 u. 9. Monats nach Abschluss der Reinduktion 1 l.th. MTX-Gabe:

Patient: _____

Unterschrift Arzt: _____

DT Monat 3 6 9

6-MP p.o. Tgk./MTX p.o. 1x/Woche bis Woche 10d
Leukozyten 2,0 - 3,0/nl

PEG-ASP 2500 IE/m²*

Toxizitätsdokumentation:
Bitte pro Block eintragen
WHO-Kriterien: siehe Anhang 4.1

FM = Fieber bei Neutropenie*
BN = Bakteriämie bei Neutropenie*
BC = Bakteriämie ohne Neutropenie*
PII = Pilzkrankung bei Neutropenie*
PIO = Pilzkrankung ohne Neutropenie*
Men = Meningitis
VZV = Varizella-Zoster-Virusinfektion
HSV = Herpes-Simplex-Virusinfektion
SV = andere, schwere Virusinfektion
LI = Lokale Infektion

-Pneumonie
-Abszess
-Phlegmone
-Inf. Katheter-Eintrittsstelle

ASP-Allergie (CTC Grad 3+4)
Enzephalopathie (CTC Grad 3+4)
cerebraler Krampfanfall (CTC Grad 3+4)
Pankreatitis (CTC Grad 3+4)
Niereninsuffizienz (CTC Grad 3+4)
Kardiomyopathie (CTC Grad 3+4)
schwere Stomatitis (CTC Grad 3+4)
GPT > 500 U/l (CTC Grad 3+4)
VOD (CTC Grad 3+4)
sept. Knochennekrosen (CTC Grad 3+4)
Thrombozytopenie
Insulinpflichtiger Diabetes mellitus

* Neutrophilie < 0,5/nl oder, falls keine Differenzierung vorliegt, Leuko < 1/nl

* Messung der Asparaginspiegel Woche 2-4, bei ASP Depletion < 3 Wochen Erwinase -
** Keine l.th. MTX-Gaben bei bestrahlten Patienten!

COALL 08-09 v. 20.04.2010

Anhang 6

ZZZ

C. Probenbegleitbögen

COALL-07-03 v. 01.01.2006

Anhang 2

129

Anhang 2.8**Asparaginepletion nach Applikation von PEG-Asparaginase bei Kindern mit akuter lymphatischer Leukämie in der Studie COALL-07-03**

Patient:
Geb.:
Klinik:

6 ml Blut (ohne Zusätze) entnehmen und direkt nach Abnahme in Eis stellen, um die Enzymaktivität zu blockieren. Noch gekühlt abseren und tiefrieren. Auf Trockeneis verschicken.

Low- Risk Protokoll
Nach Gabe von PEG – ASP
Reinduktion Tag 9

High-Risk Protokoll
Nach Gabe von PEG - ASP
Reinduktion Tag 30

Proben verschicken an:

Universitäts-Kinderklinik Eppendorf
Hauptgebäude 2. Stock
Labor Prof. Kohlschütter
z.H. Frau Stehn
Martinistr. 52
20246 Hamburg
Tel.:(040) 42803-5026
-3737

	<u>Bitte angeben:</u>
<u>Dosis:</u> 2500E PEG-ASP/qmKO	qmKO des Pat.:
	PEG-ASP gegebene Dosis:
	Tag der PEG-ASP-Gabe:

Woche nach Gabe	Datum Blutabnahme
1 Woche	
2 Wochen	
3 Wochen	
4 Wochen	
5 Wochen	

Anhang 2.5**Messung der Asparagindepletion nach Applikation von PEG-Asparaginase
Im Rahmen der COALL 08-09 Studie**

Patient:	m ² /KOF:
Geb.:	PEG-ASP Dosis:
Klinik:	Tag der PEG-ASP-Gabe:

Routinemäßige Abnahme:**Low-Risk Protokoll**Reinduktion Tag 9 (LR-S) **High-Risk Protokoll**HIDAC/PEG-ASP Tag 106 Reinduktion Tag 30 **Abnahme nach (auch fraglicher) allergischer Reaktion****Low-Risk Protokoll**Clofarabin/PEG-ASP HIDAC/PEG – ASP MTX/PEG-ASP Tag _____ Reinduktion **High-Risk Protokoll**Clofarabin/PEG-ASP HIDAC/PEG-ASP CPM/MTX/PEG-ASP Reinduktion

<u>Bitte Symptome angeben:</u>	Vorlauf	Hauptlauf
Fieber	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Schüttelfrost	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Erbrechen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Erythem/Juckreiz	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Urticaria	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Quincke Ödem	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Atemnot	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Blutdruckabfall	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Andere: _____	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Proben verschicken an:

Herrn Dr. Z. Lukacz, z. H. Frau Stehn
Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf
Klinik für Kinder- und Jugendmedizin und
Institut für Klinische Chemie
Stoffwechsellabor
Martinistr. 52
20246 Hamburg
Tel.: 040 / 7410 - 55026

6 ml EDTA Blut
entnehmen und direkt nach
Abnahme in Eis stellen, um
die Enzymaktivität zu
blockieren. Noch gekühlt
abseren und tiefrieren. Auf
Trockeneis verschicken.

Woche nach Gabe	Datum Blutabnahme
1 Woche	
2 Wochen	
3 Wochen	
4 Wochen	

Anhang 3.3**ASPARAGINASE THERAPIE**

Patient: _____ geb: []-[]-[]-[]-[]-[]

Gewicht: []-[]-[] kg Körperoberfläche: []-[]-[] m²

Datum: []-[]-[]-[]-[]-[] Arzt: _____

PEG-Asparaginase 2 500 IE/m².

10% der Dosis []-[]-[]-[] E in 100 ml NaCl 0,9% p.i. über 1 h

90% der Dosis []-[]-[]-[] E in 100 ml NaCl 0,9% p.i. über 1 h

Bei Auftreten einer (auch leichten*) allergischen Reaktion Messung der ASP Spiegel
Woche 2 - 4 nach Applikation (siehe Anhang 2.5)

Obligate Messung der Asparaginspiegel:

HR Patienten nach Gabe Tag 108 der Intensivphase, sowie Tag 30 der Reinduktion

LR Patienten nach Gabe Tag 9 der Reinduktion

* Als leichte allergische Reaktion gelten Fieber, Erbrechen, Erythem, Schüttelfrost, Juckreiz

Bei allergischer Reaktion auf PEG-ASP Gabe von Erwinase 2 x 45 000 IE/m² (siehe
Protokoll Abschnitt 6.5.3.)

VI. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei Herrn Prof. Dr. med. Martin Horstmann für die Überlassung des interessanten Themas bedanken.

Mein herzlichstes Dankeschön möchte ich an Priv.-Doz. Dr. med. Gabriele Escherich richten, für Ihre unermüdliche Unterstützung und Motivation über die vielen Jahre bei der Planung und Umsetzung der gesamten Arbeit bis zur endgültigen Fertigstellung. Die Arbeit wurde erst durch die vielen wissenschaftlichen Anregungen und äußerst konstruktiven Ratschläge Ihrer mühevollen, detaillierten Korrekturen möglich. Ebenso möchte ich mich bei Ihr ganz herzlich für die Bereitstellung des Arbeitsplatzes und das entgegengebrachte Vertrauen bei der Umsetzung der wissenschaftlichen Arbeit bedanken.

Des Weiteren danke ich Dr. med. Franziska Schramm, die mir zu Beginn der Arbeit bei der Planung der Auswertung der Ergebnisse stets zur Seite stand.

Abschließend danke ich von Herzen meiner Familie für Ihre liebevolle und geduldige Unterstützung zu jeder Zeit.

Lebenslauf

VII. Lebenslauf

Lebenslauf wurde aus datenschutzrechtlichen Gründen entfernt.

VIII. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Ich erkläre mich einverstanden, dass meine Dissertation vom Dekanat der Medizinischen Fakultät mit einer gängigen Software zur Erkennung von Plagiaten überprüft werden kann.

Unterschrift: