

L-ASPARAGINASE E PERSPECTIVAS NO TRATAMENTO DA LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA: REVISÃO DE LITERATURA

L-ASPARAGINASE AND PERSPECTIVES IN THE TREATMENT OF ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: LITERATURE REVIEW

CAMILO, Fábio Marques¹
CANÊDO, Giovana dos Santos¹
CARDOSO, Alessandra Marques²

1. Acadêmico(a) de Biomedicina da Pontifícia Universidade Católica de Goiás. Goiânia-GO, Brasil.

2. Doutora e Mestre em Medicina Tropical e Saúde Pública, Professora da Pontifícia Universidade Católica de Goiás, Professora da Faculdade da Polícia Militar, Biomédica da Secretaria de Estado da Saúde de Goiás. Goiânia-GO, Brasil.

Contato: alemarquespuc@gmail.com

RESUMO

Introdução: A L-asparaginase tem sido estudada como alternativa no tratamento da Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) uma vez que possui a capacidade de induzir apoptose em células leucêmicas sem causar danos às células normais. Estudos mostraram benefícios no tratamento da LLA, porém com o risco de desenvolver efeitos adversos. **Objetivo:** Este trabalho visa apresentar e explicar o histórico da L-asparaginase, desafios enfrentados pelo Brasil, mecanismos de ação que envolvem as formas da enzima e efeitos adversos de sua utilização. **Métodos:** Foram incluídos neste trabalho 54 artigos na língua portuguesa e inglesa consultados em bancos de artigos como PubMed e SciELO, entre o período de 1953 até 2021. **Resultados:** A L-asparaginase é uma enzima que converte asparagina em aspartato e amônia, isolada a partir de colônias de *Escherichia coli* e de *Erwinia chrysanthemi*, além disso foi polimerizada com polietilenoglicol. O uso de corticosteroides, anti-histamínicos e suplementação vitamínica se mostraram eficientes para amenizar os efeitos adversos. **Conclusões:** É necessário evitar um desabastecimento de L-Asparaginase no Brasil, principalmente por conta da dificuldade de comercialização e alto custo, mesmo sendo um medicamento presente na lista da Organização Mundial da Saúde, considerado essencial.

Universidades e centros de pesquisas estão avaliando novas possibilidades de tratamento com a L-Asparaginase que sejam mais viáveis em relação ao custo e aos efeitos adversos.

PALAVRAS-CHAVE: Leucemia Linfoblástica Aguda; Asparaginase; Antineoplásico; *Escherichia coli*.

ABSTRACT

Introduction: L-asparaginase had been studied as an alternative in the treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL) because it has the ability to induce apoptosis in leukemic cells without causing damage to normal cells. Studies have shown benefits in the treatment of ALL, but with the risk of developing adverse effects. **Objective:** This work aims to present and explain the history of L-asparaginase, advantages, disadvantages, challenges faced by Brazil, in addition to the mechanisms of action involving the forms of the enzyme, and adverse effects of its use. **Methods:** Articles in portuguese and english were included in this work, consulted in article banks such as PubMed and SciELO, covering the period from 1953 to the present day in 2021. **Results:** L-asparaginase is an enzyme that breaks down asparagine into aspartate and ammonia, it was isolated from colonies of *Escherichia coli* and *Erwinia chrysanthemi*. In addition, the enzyme was polymerized with polyethylene glycol. The use of corticosteroids, antihistamines and vitamin supplementation proved to be effective in mitigating adverse effects. **Conclusions:** They are examined to avoid a shortage of L-asparaginase in Brazil, mainly due to the difficulty of marketing and high costs, even though being a drug present in the list of the World Health Organization as essential. Research universities are evaluating new treatment possibilities with L-Asparaginase that are more viable in terms of cost and adverse effects.

KEYWORDS: Acute Lymphoblastic Leukemia; Asparaginase; Antineoplastic, *Escherichia coli*.

INTRODUÇÃO

A L-asparaginase é uma enzima que cataboliza a hidrólise do aminoácido asparagina em aspartato e amônia.¹ O interesse por essa enzima na pesquisa surgiu quando Kidd em 1953, administrou soro de suínos em ratos com linfoma e misteriosamente os ratos se curaram. Porém, apenas com os estudos de Broome em 1963, foi descoberto que a L-asparaginase presente no soro tinha propriedades antilinfoma.^{2,3}

Apesar do fato da asparagina ser sintetizada pelas células normais, as células neoplásicas não são capazes de produzi-la^{4,5}, além disso este aminoácido age diretamente no cérebro, sendo assim uma das suas principais funções é manter a saúde do sistema nervoso.⁵ Sabendo-se disto, as pesquisas sobre a enzima cresceram bastante até conseguirem isolar a L-asparaginase com efeito antileucêmico a partir de culturas de *Escherichia coli* (*E. coli*) e de *Erwinia chrysanthemi*.^{6,7}

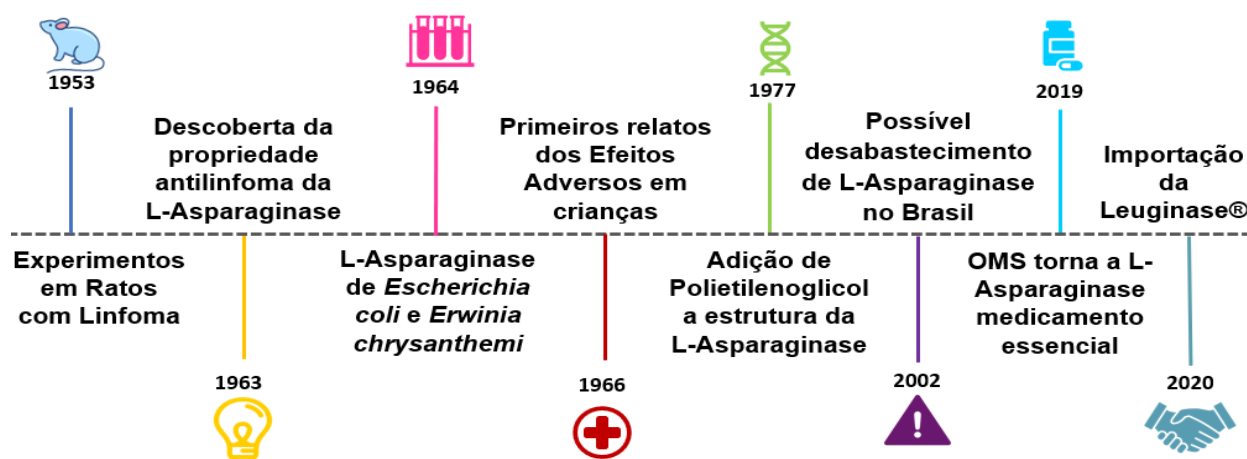
A eficácia terapêutica da L-asparaginase contra a leucemia linfoblástica aguda (LLA), que é uma doença neoplásica que acomete principalmente crianças de até 5 anos, foi comprovada após a enzima ser testada em uma criança com a doença.⁸ Após ser utilizado em estudo com um número maior de pacientes, a utilização da enzima levou ao surgimento de efeitos adversos como reações de hipersensibilidade, disfunção hepática, pancreatite, neuropatias e defeitos da coagulação.⁹⁻¹² Posteriormente outros pesquisadores conseguiram alterar a estrutura da L-asparaginase de *E. coli* adicionando polietilenoglicol (PEG), diminuindo os efeitos tóxicos.^{13,14}

A faixa etária mais acometida pela LLA é crianças de até 5 anos, sendo que pesquisas recentes mostraram que no intervalo de 2008 até 2017, foram registrados mais de 10 mil casos de óbitos no Brasil, representando cerca de 17% e ocupando o 3º lugar em mortes por leucemias.¹⁵⁻¹⁷ Com os referentes dados de mortalidade, a Organização Mundial da Saúde (OMS), busca acrescentar novos medicamentos aos protocolos e formas de amenizar as estatísticas. Com isto, durante a atual realidade em que se encontra o Brasil, a OMS tem a L-asparaginase como medicamento essencial para o tratamento da LLA.¹⁸

A Fundação Oswaldo Cruz do Paraná e pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP) estão desenvolvendo novas formas de utilização da enzima L-asparaginase para que as reações adversas sejam mínimas.^{19,20} Neste sentido, mostra-se tamanha importância da pesquisa e experimentos sobre a enzima que poderá, um dia, ser produzida e comercializada em massa no Brasil.

A Figura 1 apresenta uma linha cronológica resumindo os principais eventos relacionados à aplicação da L-asparaginase no tratamento da leucemia linfoblástica aguda.

Figura 1 – Cronologia da enzima L-asparaginase



Fonte: Os autores.

Nesse contexto, o presente estudo objetivou revisar a literatura científica especializada sobre os mecanismos de ação que envolvem as formas da L-asparaginase, seus efeitos adversos, e apresentar os dados que comprovam a eficiência e segurança no tratamento da LLA.

CASUÍSTICA E MÉTODOS

Trata-se de um artigo de revisão narrativa com a utilização de 54 artigos de pesquisa exploratória, como ilustrado na Tabela 1 a seguir, em bancos de trabalhos científicos (SciELO, PubMed e outras plataformas).

Tabela 1: Tipos e quantidade de artigos utilizados no presente estudo.

Tipos de artigos	Quantidade de artigos
Artigos Originais	09
Artigos Experimentais	20
Artigos de Revisão	08
Livros	07
Web sites	10

Fonte: Os autores.

Para a realização das buscas, os termos empregados, no português, foram: L-asparaginase, Enzima, Leucemia Linfoblástica Aguda, Antineoplásico, Toxicologia, *Escherichia coli*, *Erwinia chrysanthemi*, PEG Asparaginase, Mecanismo de ação; e no inglês: L-asparaginase, Enzyme, Acute Lymphoblastic Leukemia, Antineoplastic, Toxicology, *Escherichia coli*, *Erwinia chrysanthemi*, PEG asparaginase, Mechanism of action.

Nessa pesquisa foram incluídos artigos na língua portuguesa e inglesa, além disso foram incluídos artigos que contribuíram à construção da sequência cronológica utilizada na introdução para enfatizar os fatos ocorridos naquela época e no desenvolvimento do trabalho para detalhar e explicar cada tópico, compreendendo os anos de 1953 até 2021. Iniciando com 1953 justamente porque foi o ano da primeira publicação de um artigo científico com relação ao tema do trabalho. Foram excluídos artigos que não acrescentaram informações úteis para comprovar fatos científicos durante a cronologia. Esta pesquisa não recebeu financiamento.

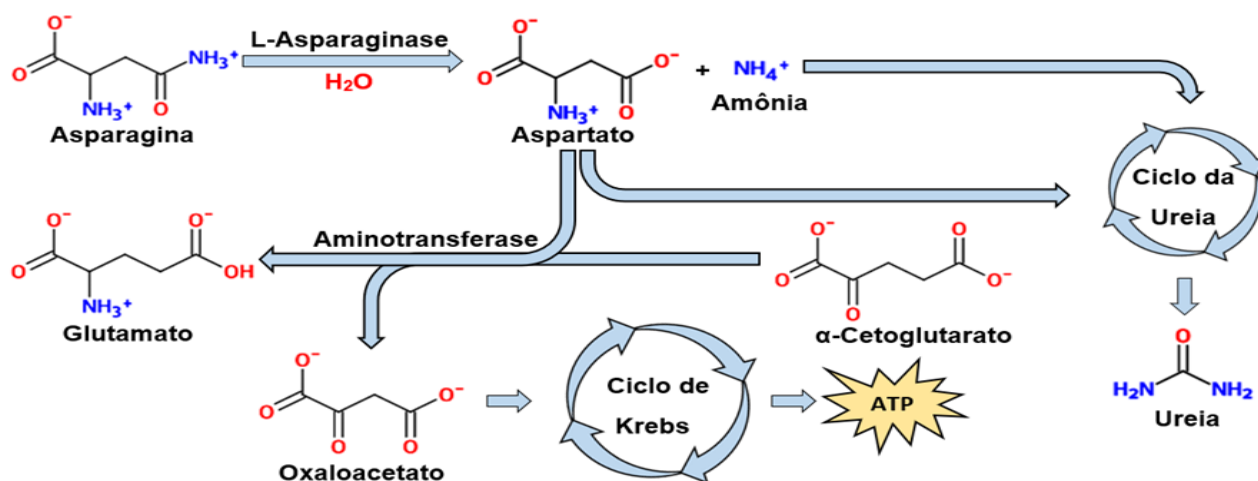
RESULTADOS E DISCUSSÃO

A enzima L-asparaginase

No metabolismo humano, a enzima L-asparaginase degrada o aminoácido asparagina em aspartato e amônia (Figura 2). O aspartato poderá seguir duas vias: (a) Ciclo de Krebs, convertendo-se em

oxaloacetato para formar ATP, ou (b) Ciclo da ornitina, associando-se com a citrulina para formar substâncias intermediárias para, ao final, produzir ureia. A amônia será transportada ao fígado ou aos rins através da glutamina, e esta será convertida em ureia pelo ciclo da ornitina, o qual o aspartato participa, e então ser eliminada na urina, pois concentrações séricas elevadas podem ser tóxicas ao organismo.^{1,4,21}

Figura 2 - Esquema do metabolismo do aspartato e da amônia sob ação da L-asparaginase



Fonte: os autores

Ação da L-asparaginase contra a Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA)

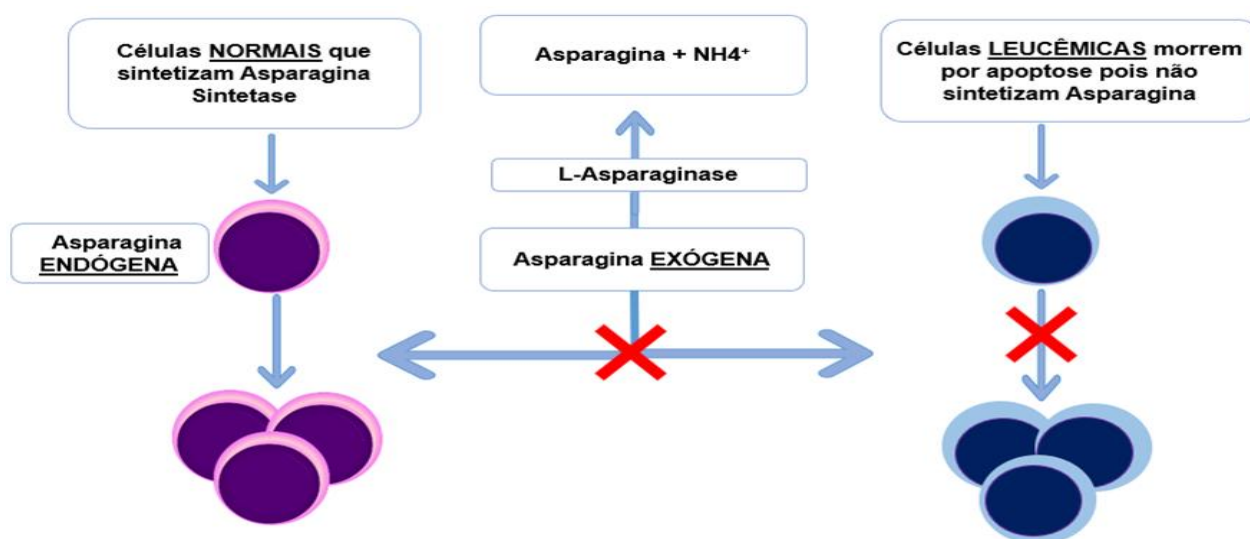
A leucemia está relacionada ao crescimento descontrolado de leucócitos, e as principais causas desta doença ainda não foram esclarecidas, mas sabe-se que está relacionada diretamente a fatores hereditários e genéticos, afetando principalmente crianças.²² As leucemias são classificadas de acordo com a linhagem celular, mieloide ou linfoide, e de acordo com o grau de maturidade da célula, agudas ou crônicas. A LLA, é subdividida ainda em 3 tipos, L1, L2 e L3. Essa subdivisão tem relação com as formas e coloração das células vistas em microscopia.²²

Referente ao diagnóstico laboratorial dessa doença, os principais métodos são: morfológico, imunofenotípico, citotóxico, citogenético e molecular.²³ Devido às elevadas taxas de mortalidade,

principalmente crianças de até 5 anos, pesquisadores buscam comprovar e descobrir novos métodos de tratamento utilizando a enzima L-asparaginase.

A aplicação da enzima no tratamento da LLA consiste no fato de que as células normais do corpo humano são capazes de sintetizar o aminoácido asparagina a partir de aspartato (Figura 3), devido à presença de genes que codificam a enzima asparagina sintetase, sendo esta responsável pela biossíntese de asparagina endógena.^{4,24} No entanto, as células neoplásicas perdem a capacidade de sintetizar asparagina, dependendo exclusivamente de fontes exógenas do aminoácido, o qual se encontra no plasma, para sua sobrevivência, metabolismo e divisão celular.^{4,5,25}

Figura 3 – Mecanismo de ação da L-asparaginase contra a LLA



Fonte: os autores

Desta forma, a L-asparaginase degrada toda asparagina plasmática fazendo com que os blastos leucêmicos fiquem sem nenhuma fonte de asparagina, logo não são capazes de sintetizar proteínas vitais à sua sobrevivência resultando em morte celular²⁶. Entretanto, as células normais do

organismo sobrevivem, pois são capazes de sintetizar o aminoácido em seu citoplasma, evidenciando o potencial efeito antineoplásico da enzima L-asparaginase^{2,4}.

Após obterem este conhecimento teórico, pesquisadores começaram a utilizar a enzima em crianças com LLA para comprovar a possível eficácia de tratamento.⁸ Após algum tempo, os pacientes apresentaram regressão do câncer, seguindo novos protocolos com a utilização apenas da L-asparaginase ou em combinação com outros fármacos quimioterápicos e anti-inflamatórios^{8,27,28}.

L-asparaginase produzida por *Escherichia coli*

Pertencente à Família *Enterobacteriaceae*, a *E. coli* é um bastonete Gram Negativo que apresenta motilidade através de flagelos, presente na microbiota intestinal humana, estando associada a quadros clínicos de diarreia, infecção do trato geniturinário, sepse e meningite.²⁹

As bactérias desta família são capazes de fermentar diversas variedades de carboidratos, produzir catalase e reduzir nitrato a nitrito, desta forma elas representam microrganismos facilmente identificáveis pelas provas bioquímicas de fermentação de carboidratos como glicose, lactose e sacarose, principalmente^{29,30}.

Por possuir um metabolismo amplo e complexo, a *E. coli* foi a primeira bactéria estudada que apresenta a capacidade de codificar e produzir a L-asparaginase com efeito antineoplásico *in vitro*.⁶

Após tal descoberta, a enzima foi testada em crianças com LLA para avaliar a capacidade de depleção dos níveis de asparagina plasmática e verificar o aparecimento de efeitos adversos^{8,28}. Dados os fatos, a produção da enzima L-asparaginase com fim terapêutico foi iniciada em larga escala, sendo classificada como L-asparaginase nativa de *E. coli*.⁶

L-asparaginase produzida por *Erwinia chrysanthemi*

Erwinia chrysanthemi é um bastonete Gram negativo móvel presente no ambiente, classificado como uma fitobactéria e é capaz de infectar e gerar quadros patológicos em plantas como a

podridão mole, queimaduras e murchas.³¹⁻³³ Portanto, não é considerada uma bactéria patogênica ao ser humano, pois não é capaz de se instalar e nem de gerar danos ao organismo humano^{31,32}.

A *E. chrysanthemi* tornou-se importante nas pesquisas da L-asparaginase pois pesquisadores descobriram que assim como a *E. coli*, a *E. chrysanthemi* era capaz de codificar a enzima com potencial ação antileucêmico.⁷

A L-asparaginase de *E. chrysanthemi* tornou-se uma alternativa de segunda linha no tratamento à LLA para casos de desenvolvimento de hipersensibilidades nos pacientes que utilizavam a enzima nativa de *E. coli*.^{9,34} Os estudos mostraram que a enzima produzida por *E. chrysanthemi* apresentava menor chance de desenvolver respostas imunológicas, porém com tempo de meia-vida menor que a forma nativa de *E. coli*.³⁵

PEG-asparaginase

A utilização da L-asparaginase nativa de *E. coli* em pacientes com LLA apresentou uma série de efeitos adversos que serão discutidos mais a frente, desta forma surgiu o interesse em tentar alterar a estrutura da enzima como forma de minimizar tais efeitos^{13,14,36}.

Sendo assim, os pesquisadores utilizaram o polietilenoglicol (PEG) como substância capaz de se polimerizar e ligar covalentemente à estrutura da enzima L-asparaginase nativa de *E. coli*, com a finalidade de diminuir a antigenicidade da enzima sem prejudicar a ação antineoplásica.^{13,14} Com isto, após apresentar-se como uma forma enzimática menos tóxica, a PEG-asparaginase apresentou ter um tempo de meia-vida cinco vezes maior que a nativa de *E. coli* e nove vezes maior que a enzima produzida por *E. chrysanthemi*, além de aumentar sua atividade enzimática na depleção dos níveis de asparagina plasmática³⁷.

Efeitos adversos da enzima L-asparaginase

O efeito antileucêmico é o mecanismo desejável da L-asparaginase, porém, assim como todo fármaco ela é capaz de ocasionar reações adversas. Estudos mostraram uma relação entre a

diminuição da atividade enzimática e o aumento da produção de anticorpos, isto ocorre devido à estrutura proteica quaternária complexa da L-asparaginase, aumentando suas propriedades imunogênicas e levando à produção de anticorpos de todas as classes^{11,25-27}.

Os anticorpos produzidos podem inativar a enzima, desencadeando uma cadeia de citocinas e estimulando reações de hipersensibilidade, apresentando sintomas anafiláticos como febre, dispneia, eritema, erupções cutâneas, prurido, náuseas e vômitos^{9-12,27,28,38-41}.

Entretanto, a inativação da L-asparaginase pode ser silenciosa, ou seja, em alguns casos os pacientes não apresentam sintomas mas produzem anticorpos contra a enzima²⁶.

Alguns estudos revelaram a ação da L-asparaginase sobre a glutamina, devido às semelhanças nas estruturas bioquímicas com a asparagina, concomitantemente à medida que a asparagina é hidrolisada no plasma, a glutamina é degradada nos tecidos normais para que ocorra biossíntese de asparagina^{38,42}.

A deficiência destes aminoácidos, decorrente da utilização da L-asparaginase, ocasiona uma disfunção hepática levando à produção difusa de proteínas e enzimas, isso é evidenciado pelas alterações de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), fosfatase alcalina, aumento das bilirrubinas gerando icterícia, dislipidemias, principalmente hipertrigliceridemia, hipoalbuminemia e diminuição dos fatores da coagulação.^{9,11,40,42-44} Estas disfunções podem evoluir para quadros de esteatose hepática e hepatites^{42,43}.

A síntese proteica prejudicada pelo uso da enzima também afeta as funções pancreáticas, endócrinas e exócrinas, comprometendo principalmente o metabolismo da glicose pela diminuição da insulina, além disso também ocasiona alterações nos níveis de amilase e lipase, desenvolvendo quadros de pancreatite, hiperglicemia, *diabetes mellitus* temporário e em casos mais graves, evolução para necrose^{11,37,41,45,46}.

A hidrólise da asparagina no tratamento com L-asparaginase resulta na produção de amônia, e sua concentração plasmática aumenta significativamente de forma a desenvolver quadro de hiperamonemia, tornando-se tóxica ao sistema nervoso central (SNC)^{1,21,36}. Os neurônios possuem reservas de α -cetoglutarato destinado à produção de ATP em suas mitocôndrias, a elevação dos níveis de amônia leva a sua entrada nos neurônios e, uma vez em contato com o α -cetoglutarato, produzirá glutamato, que além de ser um aminoácido também é um neurotransmissor.¹

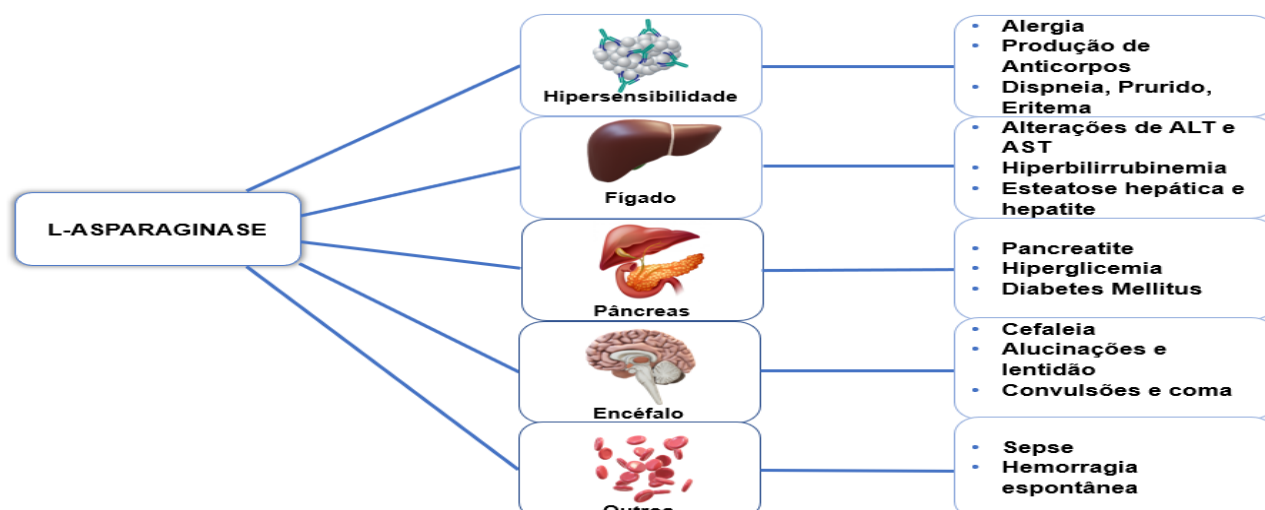
A queda das reservas de α -cetoglutarato e o aumento de glutamato podem comprometer os neurônios, levando a quadros de cefaleia, letargia, alucinações, lentidão difusa, agitação, convulsões e coma^{9,11,21,38,40,44,47}.

Outro efeito colateral apresentado nas pesquisas foi a morte por sepse, que muitos autores relacionaram à própria *E. coli* presente no medicamento L-asparaginase, porém estas suposições já foram descartadas e o principal motivo das sepses foi o quadro de imunodepressão dos pacientes.^{28,38,41} Foram observados alguns casos de hemorragias espontâneas, e a principal hipótese seria pela baixa produção de certos fatores da coagulação, o que levaria principalmente ao aparecimento de convulsões por comprometer o SNC^{9,28,47}.

A enzima, após peguilação, mostrou-se mais eficiente, porém, também apresenta seus efeitos adversos, sendo o principal deles a perda de propriedade de longa circulação, devido a sua forte ação imunológica.⁴⁸ Reações de hipersensibilidades e hepatotoxicidade, podendo ocasionar esteatose hepática e icterícia, também foram descritos na literatura^{10,11,38,43}.

A Figura 5 sumariza de forma esquemática e didática os principais efeitos adversos encontrados nos pacientes sob tratamento com a L-asparaginase descritos na literatura.

Figura 5. Principais efeitos adversos resultantes da utilização da L-Asparaginase no tratamento da LLA.



Fonte: Os autores.

A utilização de corticosteroides e anti-histamínicos demonstrou diminuição dos sintomas alérgicos, porém não impediu a formação de anticorpos contra a L-asparaginase.²⁷ Alguns estudos demonstraram a amenização dos efeitos hepáticos nos pacientes com LLA quando suplementados com L-carnitina e complexo de vitaminas B.⁴³ Em alguns casos, faz-se necessário o uso da insulina como tratamento da hiperglicemia gerada pelas alterações pancreáticas.^{41,45} A administração de anticonvulsivantes pode ser utilizada sem interromper o tratamento da L-asparaginase, além disso a administração de lactulose e rifaximin adjunto à hemodiálise mostraram eficácia contra a hiperamonemia^{21,47}.

Histórico do uso da L-asparaginase no Brasil

Até o ano de 2018 nenhuma L-Asparaginase possuía registro no Brasil. O Ministério da Saúde fornecia o medicamento Aginasa[®] através da sua importação pela empresa alemã MEDAC, que perdeu seu registro alemão em 2013, encerrando a importação do medicamento. A empresa ainda

ofereceu outro fármaco com o mesmo princípio ativo, porém a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) negou o registro⁴⁹⁻⁵¹.

Para evitar um possível desabastecimento de L-Asparaginase no Brasil, em 2017 o Ministério da Saúde autorizou a compra da Leuginase[®], um medicamento chinês que possui registro de qualidade no seu país de origem, para garantir ser um medicamento eficaz⁴⁹⁻⁵¹. Além disso, a ANVISA autorizou o registro da Oncospar[®] em 2018 como novo medicamento ao tratamento de LLA em crianças⁵².

Porém, existem pesquisas que informam reações adversas graves quando os pacientes utilizam Leuginase no tratamento da LLA, gerando opiniões diferentes em relação a este fármaco e mostrando assim uma necessidade de pesquisas e revisões para solucionar tais pontos^{50,53-55}.

O Brasil vem enfrentando dificuldades na obtenção da L-Asparaginase, mostra-se necessário o registro de outros medicamentos pela ANVISA, para evitar somente uma opção no mercado brasileiro de medicamento com registro, a Oncospar. Bem como considerando que os fármacos à base de L-Asparaginase se encontram na lista de medicamentos essenciais da Organização Mundial da Saúde^{18,49,51}.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A L-Asparaginase é um medicamento importante para o tratamento de pacientes com leucemia, sobretudo as crianças. É necessário evitar um desabastecimento de L-Asparaginase no Brasil, principalmente em razão do alto custo e da dificuldade de comercialização, mesmo sendo um medicamento da lista da Organização Mundial da Saúde (OMS) considerado essencial. Universidades e centros de pesquisas estão avaliando novas possibilidades de tratamento com a L-Asparaginase que sejam mais viáveis em relação ao custo e aos efeitos adversos.

REFERÊNCIAS

Camilo FM, Canêdo GS, Cardoso, AM. L-asparaginase e perspectiva no tratamento da leucemia linfoblástica aguda: revisão de literatura. Rev Cient Esc Estadual Saúde Pública Goiás "Cândido Santiago". 2022;8(e80009):1-21

- 1 - Lehninger AL. Princípios de Bioquímica. 1. ed. Lodi WR, Simões AA. São Paulo: Sarvier; 1991. 725 p.
- 2 - Broome JD. Evidence that the L-asparaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. I. Properties of the L-asparaginase of guinea pig serum in relation to those of the antilymphoma substance. The Journal of experimental medicine. 1963;118(1):99-120.
- 3 - Kidd JG. Cells in vitro: discussion*. Journal of Experimental Medicine. 1953;98(6):583-606.
- 4 - Batool T, Makky EA, Jalal M, Yusoff MM. A Comprehensive Review on L-Asparaginase and Its Applications. Applied biochemistry and biotechnology. 2016;178(5):900-923.
- 5 - McCoy TA, Maxwell M, Kruse PF. (1959). The Amino Acid Requirements of the Jensen Sarcoma in Vitro. Cancer Research. 1959;19(6):591-595.
- 6 - Mashburn LT, Wriston JC. Tumor inhibitory effect of l-asparaginase from Escherichia coli. Archives of Biochemistry and Biophysics. 1964;1105(2):450-453.
- 7 - Wade HE, Elsworth R, Herbert D, Keppie J, Sargeant K. A new L-asparaginase with antitumour activity?. Lancet. 1968;292(7571):776-777.
- 8 - Dolowy WC, Henson D, Cornet J, Sellin H. Toxic and antineoplastic effects of l-asparaginase: Study of mice with lymphoma and normal monkeys and report on a child with leukemia. Cancer. 1966;19(12):1813-1819.
- 9 - Duval M, Suciú S, Ferster A, Rialland X, Nelken B, Lutz P, et al. Comparison of Escherichia coli-asparaginase with Erwinia-asparaginase in the treatment of childhood lymphoid malignancies: Results of a randomized European Organization for Research and Treatment of Cancer - Children's Leukemia Group phase 3 trial. Blood. 2002;99(8):2734-2739.
- 10 - Fernandez CA, Stewart E, Panetta JC, Wilkinson MR, Morrison AR, Finkelman FD, et al. Successful challenges using native E. coli asparaginase after hypersensitivity reactions to PEGylated E. coli asparaginase. Cancer Chemotherapy and Pharmacology. 2014;73(6):1307-1313. Chemotherapy and Pharmacology. 2014;73(6):1307-1313.
- 11 - Kloos R, Pieters R, Jumelet F, De Groot-Kruseman H, Van Des Bos C, Van Der Sluis I. Individualized asparaginase dosing in childhood acute lymphoblastic leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2020;38(7):715-724.
- 12 - Woo MH, Hak LJ, Storm MC, Sandlund JT, Ribeiro RC, Rivera GK, et al. Hypersensitivity or development of antibodies to asparaginase does not impact treatment outcome of childhood acute lymphoblastic leukemia. Journal of Clinical Oncology. 2000;18(7):1525-1532.

Camilo FM, Canêdo GS, Cardoso, AM. L-asparaginase e perspectiva no tratamento da leucemia linfoblástica aguda: revisão de literatura. Rev Cient Esc Estadual Saúde Pública Goiás "Cândido Santiago". 2022;8(e80009):1-21

- 13 - Abuchowski A, McCoy JR, Palczuk NC, Van Es T, Davis FF. Effect of covalent attachment of polyethylene glycol on immunogenicity and circulating life of bovine liver catalase. *The Journal of biological chemistry*. 1977;252(11):3582-3586.
 - 14 - Ashihara Y, Kono T, Yamazaki S, Inada Y. Modification of E. coli L-asparaginase with polyethylene glycol: disappearance of binding ability to anti-asparaginase serum. *Biochemical and biophysical research communications*. 1978;83(2):385-391.
 - 15 - American Cancer Society [homepage na internet]. About Acute Lymphocytic Leukemia (ALL) [acesso em 10 nov 2020]. Disponível em: <https://www.cancer.org/>.
 - 16 - Instituto Nacional de Câncer [homepage na internet]. Estatísticas de câncer [acesso em 10 nov 2020]. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/numeros-de-cancer>.
 - 17 - Netto NFC [homepage na internet]. Mortalidade por Leucemia no Brasil entre 2008 e 2017 [acesso em 10 nov 2020]. Disponível em: <https://public.tableau.com/app/profile/nelson.francisco.correa.netto5809/viz/MortalidadeLeucemias/Painel1>.
 - 18 - World Health Organization [homepage na internet]. World Health Organization Model List of Essential Medicines [acesso em 10 nov 2020]. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/325771/WHO-MVP-EMP-IAU-2019.06-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
 - 19 - Agência Universitária de Notícias da USP [homepage na internet]. Uso da nanotecnologia na produção de medicamentos biológicos [acesso em 23 nov 2020]. Disponível em: <http://portal.if.usp.br/imprensa/pt-br/node/1393>.
 - 20 - Fundação Oswaldo Cruz [homepage na internet]. Fiocruz desenvolve molécula para tratamento de leucemia [acesso em 23 nov 2020]. Disponível em: <https://agencia.fiocruz.br/fiocruz-desenvolve-molecula-para-tratamento-de-leucemia>.
 - 21 - Strickler N, Balabanov S, Casauro K, Schanz U, Manz MG, Gerber B. Acute central nervous system complications and ammonium levels in adult patients with acute lymphoblastic leukemia receiving l-asparaginase. *Leukemia & Lymphoma*. 2017;59(4):855-862.
 - 22 - Hoffbrand AV, Moss PAH. Fundamentos em hematologia. 6. ed. Failace R. Porto Alegre: Artmed; 2013. 454 p.
 - 23 - Naoum FA, Naoum PC. Hematologia Laboratorial – Leucócitos. 1. ed. São José do Rio Preto: Academia de Ciências e Tecnologia; 2008. 91-98 p.
 - 24 - Greco A, Gong SS, Ittmann M, Basilico C. Organization and expression of the cell cycle gene, ts11, that encodes asparagine synthetase. *Molecular and Cellular Biology*. 1989;9(6):2350-2359.
- Camilo FM, Canêdo GS, Cardoso, AM. L-asparaginase e perspectiva no tratamento da leucemia linfoblástica aguda: revisão de literatura. *Rev Cient Esc Estadual Saúde Pública Goiás “Cândido Santiago”*. 2022;8(e80009):1-21

- 25 - El-Naggar NEA, El-Ewasy SM, El-Shweihy NM. Microbial L-asparaginase as a potential therapeutic agent for the treatment of acute lymphoblastic leukemia: The pros and cons. *International Journal of Pharmacology*. 2014;10(4):182-199.
- 26 - Müller HJ, Boos J. Use of L-asparaginase in childhood ALL. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 1998;28(2):97-113.
- 27 - Battistel AP, Da Rocha BS, Dos Santos MT, Daudt LE, Michalowski MB. Allergic reactions to asparaginase: retrospective cohort study in pediatric patients with acute lymphoid leukemia. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. 2021;43(1):9-14.
- 28 - Ortega JA, Nesbit Jr ME, Donaldson MH, Hittle RE, Weiner J, Karon M, et al. L-Asparaginase, Vincristine, and Prednisone for Induction of First Remission in Acute Lymphocytic Leukemia. *Cancer Research*. 1977;37(2):535-540.
- 29 - Trabulsi LR. *Microbiologia*. 6. ed. Alterthum F. São Paulo: Atheneu; 2015. 888 p.
- 30 - Jawetz E, Melnick JL, Adalberg EA. *Microbiologia médica*. 15. ed. Azevedo MF. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1984. 568 p.
- 31 - Pessoa FOA, Silva KL, Freitas E. *Microbiologia Básica para Ciências Agrárias*. 1. ed. Montes Claros: Instituto de Ciências Agrárias da UFMG; 2011. 129 p.
- 32 - Starr MP, Chatterjee AK. The genus *Erwinia*: enterobacteria pathogenic to plants and animals. *Annual Review of Microbiology*. 1972;26:389-426.
- 34 - Uesugi CH. *Bactérias Fitopatogênicas*. 1. ed. CopyMarket; 2000. 50 p.
- 35 - Graham ML. Pegaspargase: A review of clinical studies. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2003;55(10):1293-1302.
- 36 - Boos J, Werber G, Ahlke E, Schulze-Westhoff P, Nowak-Gottl U, Wurthwein G, et al. Monitoring of asparaginase activity and asparagine levels in children on different asparaginase preparations. *European Journal of Cancer Part A*. 1996;32(9):1544-1550.
- 37 - Ohnuma T, Holland JF. Biochemical and Pharmacological Studies with Asparaginase in Man. *Cancer Research*. 1970;30(9):2297-2305.
- 38 - Shrivastava A, Khan AA, Khurshid M, Kalam MdA, Jain SK, Singhal PK. Recent Developments in L-asparaginase Discovery and Its Potential as Anticancer Agent. *Critical Reviews in Oncology/Hemotherapy*. 2016;100:1-10.
- 39 - Avramis VI, Sencer S, Periclou AP, Sather H, Bostrom BC, Cohen LJ, et al. 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*. 2002;99(6):1986-1994.

40 - Killander D, Dohlwitz A, Engstedt L, Franzén S, Gahrton G, Gullbring B, et al. Hypersensitive reactions and antibody formation during L-asparaginase treatment of children and adults with acute leukemia. *Cancer*. 1976;37(1):220-228.

41 - Oettgen HF, Stephenson PA, Schwartz MK, Leeper RD, Tallai L, Tan CC, et al. Toxicity of E. coli L-asparaginase in man. *Cancer*. 1970;25(2):253-278.

42 - Vrooman LM, Supko JG, Neuberg DS, Asselin BL, Athale UH, Clavell L, et al. Erwinia asparaginase after allergy to Escherichia coli asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Blood and Cancer*. 2010;54(2):199-205.

43 - Kamal N, Koh C, Samala N, Fontana RJ, Stolz A, Durazo F, et al. Asparaginase-induced hepatotoxicity: rapid development of cholestasis and hepatic steatosis. *Hepatology International*. 2019;13(5):641-648.

44 - Arora S, Klair J, Bellizzi AM, Tanaka T. L-carnitine and Vitamin B Complex for PEG-L-asparaginase-Induced Hepatotoxicity. *ACG case reports journal*. 2019;6(8):e00194.

45 - Pratt CB, Simone JV, Zee P, Aur RJ, Johnson WW. Comparison of daily versus weekly L-asparaginase for the treatment of childhood acute leukemia. *The Journal of Pediatrics*. 1970;77(3):474-483.

46 - Alves C, Chaves C, Souza M. Diabetes melito transitório relacionado à terapia com L-asparaginase [Transient diabetes mellitus related to L-asparaginase therapy]. *Arquivos brasileiros de endocrinologia e metabologia*. 2007;51(4):635-638.

47 - Rank CU, Wolthers BO, Grell K, Albertsen BK, Frandsen TL, Overgaard UM, et al. Asparaginase-associated pancreatitis in acute lymphoblastic leukemia: Results from the NOPHO ALL2008 treatment of patients 1-45 years of age. *Journal of Clinical Oncology*. 2020;38(2):145-154.

48 - Hamdan MY, Frenkel EP, Bick R. L-asparaginase-provoked seizures as singular expression of central nervous toxicity. *Clinical and Applied Thrombosis/Hemostasis*. 2000;6(4):234-238.

49 - Ishida T, Wang XY, Shimizu T, Nawata K, Kiwada H. PEGylated liposomes elicit an anti-PEG IgM response in a T cell-independent manner. *Journal of Controlled Release*. 2007;122(3):349-355.

50 - Marinho EB. Asparaginase: produção, mecanismos de ação, indicação terapêutica e problemas relevantes. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia) – Universidade de Brasília, Brasília. 2017.

Camilo FM, Canêdo GS, Cardoso, AM. L-asparaginase e perspectiva no tratamento da leucemia linfoblástica aguda: revisão de literatura. *Rev Cient Esc Estadual Saúde Pública Goiás “Cândido Santiago”*. 2022;8(e80009):1-21

51 - Ministérios da Saúde (Brasil) [homepage na internet]. Ministério da Saúde enviou medicamento para teste de qualidade [acesso em 4 mai 2021]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/ministerio-da-saude-enviou-medicamento-para-teste-de-qualidade>.

52 - Ministérios da Saúde (Brasil) [homepage na internet]. Seis laboratórios atestam L-Asparaginase adquirida pelo Ministério da Saúde [acesso em 4 mai 2021]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/seis-laboratorios-atestam-l-asparaginase-adquirida-pelo-ministerio-da-saude>.

53 – Ministérios da Saúde (Brasil) [homepage na internet]. Orientação para compra de L-Asparaginase continua a mesma [acesso em 8 mai 2021]. Disponível em: <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/noticias/orientacao-para-compra-de-l-asparaginase-continua-a-mesma>.

54 - Ministérios da Saúde (Brasil) [homepage na internet]. Autorização para importação da L-Asparaginase [acesso em 8 mai 2021]. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/nota--autorizacao-para-importacao-da-l-asparaginase>.

55 - Zenatti PP, Migita NA, Cury NM, Mendes-Silva RA, Gozzo FC, De Campos-Lima PO, et al. Low Bioavailability and High Immunogenicity of a New Brand of Escherichia coli L-Asparaginase with Active Host Contaminating Proteins. *EBioMedicine*. 2018;30:158-166.