

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

**L-ASPARAGINASE AND PERSPECTIVES IN THE TREATMENT OF
LEUKEMIA**

Fábio Marques Camilo¹

Giovana Dos Santos Canêdo¹

Alessandra Marques Cardoso^{2*}

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.

*Autora correspondente: Dra. Alessandra Marques Cardoso. Endereço: Escola de Ciências Médicas e da Vida, PUC Goiás, Área IV, Avenida Universitária, N° 1440, Setor Universitário, CEP 74.605-010, Goiânia, GO, Brasil. Contato telefônico: (62) 98469-1569, E-mail: alemarquespuc@gmail.com

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Tipos e quantidade de artigos utilizados no referente trabalho	
9	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cronologia da enzima L-Asparaginase	8
Figura 2. Esquema do metabolismo do Aspartato e da Amônia	10
Figura 3. Mecanismo de ação da L-Asparaginase contra a LLA	11
Figura 4. Semelhança entre os aminoácidos Asparagina e Glutamina e entre Aspartato e Glutamato	14
Figura 5. Principais efeitos adversos resultantes do tratamento de L-Asparaginase	15

SUMÁRIO

Resumo	5
Palavras-chave.....	5
Abstract	6
Keywords	6
Introdução	7
Objetivo	8
Metodologia	8
Resultados e Discussão	9
➤ A Enzima L-Asparaginase	9
➤ Ação da L-Asparaginase contra a Leucemia Linfoblástica Aguda	10
➤ L-Asparaginase produzida por <i>Escherichia coli</i>	11
➤ L-Asparaginase produzida por <i>Erwinia chrysanthemi</i>	12
➤ PEG-Asparaginase	13
➤ Efeitos Adversos da Enzima	13

➤ Histórico do uso da L-Asparaginase no Brasil	
16	
Considerações finais	16
Referências	
17	

RESUMO

Introdução: A L-Asparaginase está sendo estudada como alternativa no tratamento da Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA). Tal enzima possui a capacidade de induzir apoptose em células leucêmicas, uma vez que estas não são capazes de sintetizar asparagina, diferentemente das células normais que o produzem. Estudos mostraram ações benéficas no tratamento da LLA, porém pode desenvolver efeitos adversos como náuseas, febre, reações de hipersensibilidades, disfunções hepáticas, pancreáticas e neurológicas.

Objetivo: Este trabalho visa apresentar e explicar o histórico da L-Asparaginase, vantagens, desvantagens, desafios enfrentados pelo Brasil, além dos mecanismos de ação que envolvem as formas da enzima, e efeitos adversos de sua utilização.

Métodos: Foram incluídos neste trabalho artigos na língua portuguesa e inglesa consultados em bancos de artigos como PubMed e SciELO, abrangendo o período de 1953 até os dias atuais em 2021.

Resultados: A L-Asparaginase é uma enzima que desdobra Asparagina em Aspartato e Amônia, ela foi isolada a partir de colônias de *Escherichia coli* e de *Erwinia chrysanthemi*. Além disso, a enzima foi polimerizada com polietilenoglicol com finalidade terapêutica em pacientes com LLA. O uso de corticosteroides, anti-histamínicos e suplementação com vitaminas se mostraram eficientes para amenizar os efeitos adversos.

Conclusões: Desta forma, são necessários estudos para evitar um desabastecimento de L-Asparaginase no Brasil. O principal motivo desta crise seria a dificuldade de comercialização, e altos custos, apesar de ser um medicamento presente na lista da OMS como essencial, o país encontra em dificuldades, visto isso universidades 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*; *Erwinia chrysanthemi*.

ABSTRACT

Introduction: L-Asparaginase is being studied as an alternative in the treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia (ALL). This enzyme has the ability to induce apoptosis in leukemic cells, since they are not capable of synthesizing asparagine, unlike normal cells that produce it. Studies have shown beneficial actions in the treatment of ALL, but it can develop adverse effects such as nausea, fever, hypersensitivity reactions, liver, pancreatic and neurological disorders. **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 for therapeutic purposes in patients with ALL. The use of corticosteroids, antihistamines and vitamin supplementation proved to be effective in mitigating adverse effects. **Conclusions:** Thus, studies are needed to avoid a shortage of L-Asparaginase in Brazil. The main reason for this crisis would be the difficulty of marketing, and high costs, despite being a drug on the WHO list as essential, the country is in difficulties, as research universities are evaluating new treatment possibilities with L-Asparaginase that are more viable in terms of cost and adverse effects.

KEY-WORDS: Acute Lymphoblastic Leukemia; Asparaginase; Antineoplastic, *Escherichia coli*; *Erwinia chrysanthemi*.

INTRODUÇÃO

A L-Asparaginase é uma enzima que cataboliza a hidrólise do aminoácido Asparagina em Aspartato e Amônia¹. 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}.

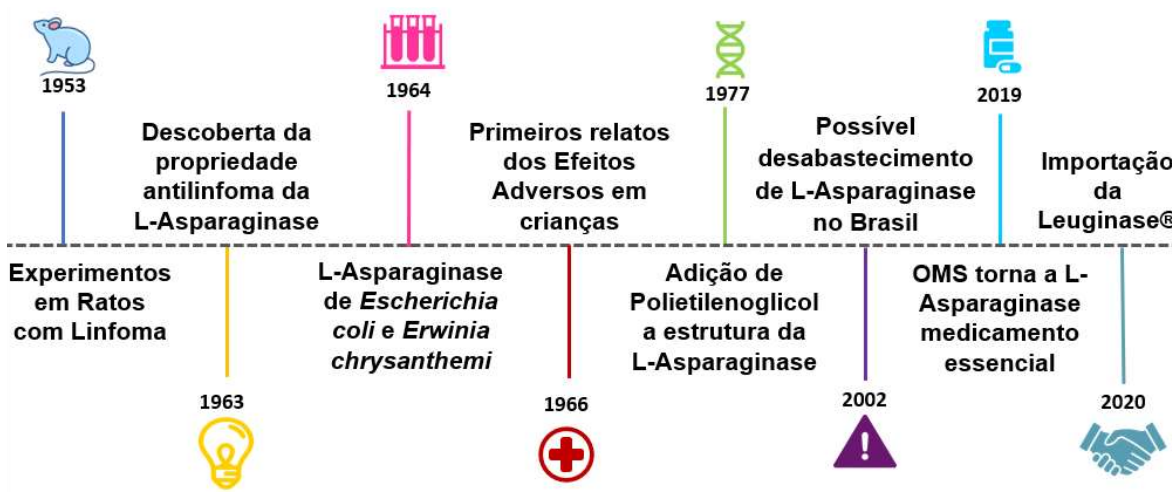
Apesar do fato da asparagina ser sintetizada pelas células normais, as células neoplásicas não são capazes de produzi-la^{4,5}, além disso este aminoácido age diretamente no cérebro, sendo assim uma das suas principais funções é manter a saúde do sistema nervoso.⁵ Sabendo-se disto, as pesquisas sobre a enzima cresceram bastante até conseguirem isolar a L-Asparaginase com efeito antileucêmico a partir de culturas de *Escherichia coli* e 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 doença⁸. 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 coagulação⁹⁻¹². 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 leucemias¹⁵⁻¹⁷. 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 LLA¹⁸.

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 linha cronológica a seguir (Figura 1) apresenta um resumo dos principais eventos que marcaram a descoberta e uso da L-Asparaginase.

Figura 1. Cronologia da enzima L-Asparaginase.



Fonte: Os autores.

OBJETIVO

Este trabalho teve como objetivo realizar uma revisão da 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 leucemia linfoblástica aguda (LLA).

METODOLOGIA

Trata-se de um artigo de revisão narrativa com a utilização de 54 artigos de pesquisa exploratória, dentre eles 9 artigos originais, 20 artigos experimentais, 8 artigos de revisão, 7 livros e 10 websites como mostra na tabela 1 abaixo, em bancos de trabalhos científicos (SciELO, PubMed e outras plataformas).

Tipos de artigos	Quantidade de artigos
Artigos Originais	9
Artigos Experimentais	20
Artigos de Revisão	8
Livros	7
Websites	10

Tabela 1: Tipos e quantidade de artigos utilizados no referente trabalho.

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, 1953 justamente pois foi a data 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

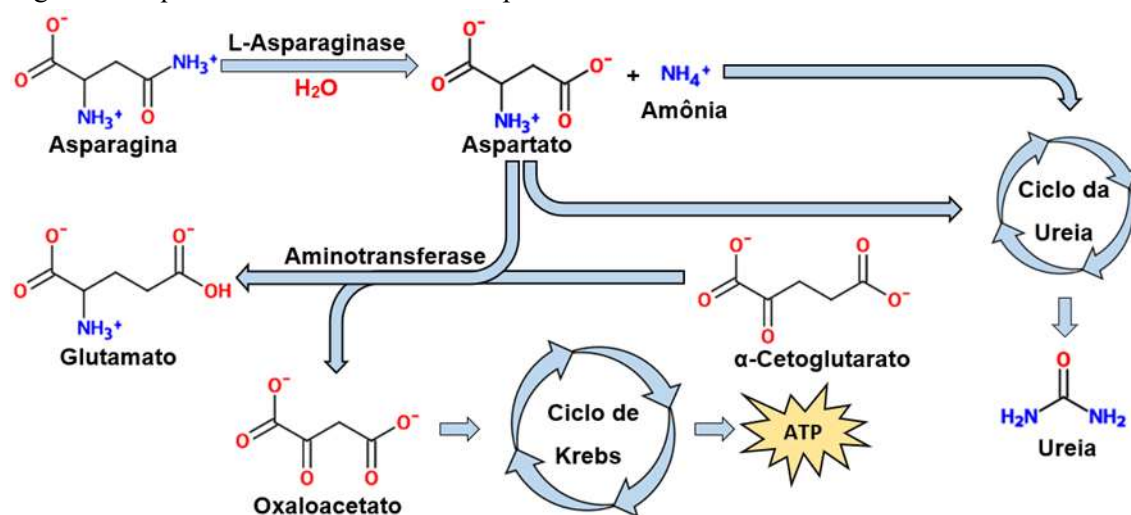
RESULTADOS E DISCUSSÃO

➤ 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.



Fonte: os autores.

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

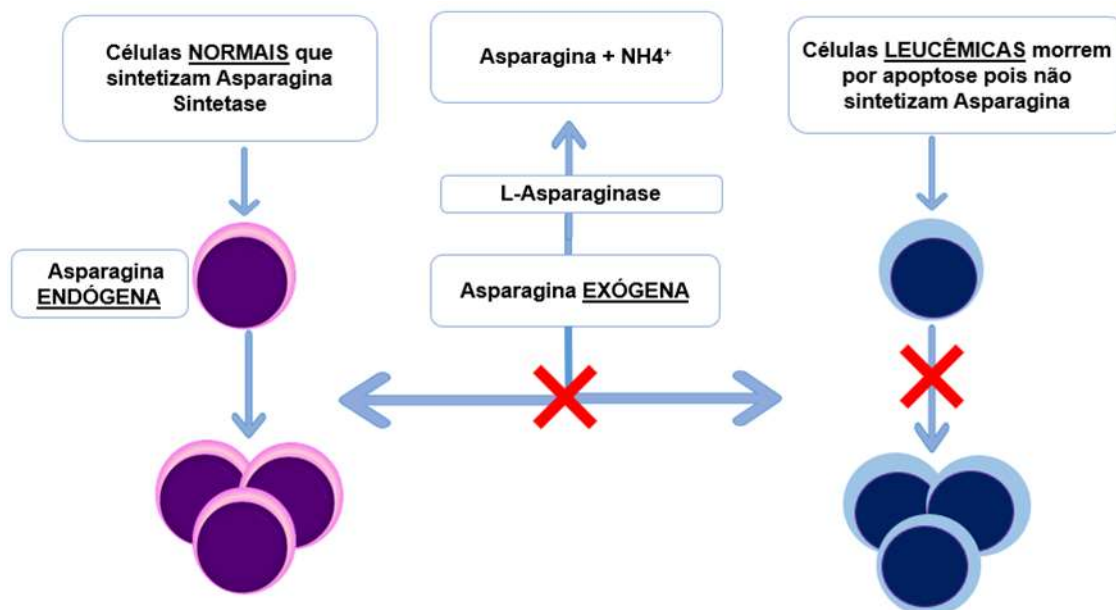
A leucemia está relacionada ao crescimento descontrolado de leucócitos, e as principais causas desta doença ainda não foram esclarecidas, mas sabe-se que está relacionada diretamente a fatores hereditários e genéticos, afetando principalmente crianças²². As leucemias são classificadas de acordo com a linhagem celular, mieloide ou linfóide, 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 microscopia²².

Referente ao diagnóstico laboratorial dessa doença, os principais métodos são: morfológico, imunofenotípico, citoquímico, citogenético e molecular²³. 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 tratamento⁸. 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 *Escherichia 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 meningite²⁹.

As bactérias desta família são capazes de fermentar diversas variedades de carboidratos, produzir catalase e reduzir nitrato a nitrito, desta forma elas representam micro-organismos 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 murchas³¹⁻³³. 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 antileucêmico⁷.

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.

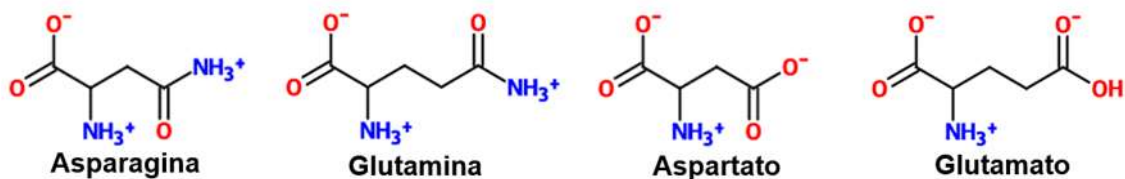
➤ **Efeitos adversos da enzima L-Asparaginase**

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 (Figura 4), 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}.

Figura 4: Semelhança entre os aminoácidos Asparagina e Glutamina e entre Aspartato e Glutamato.



Fonte: Os autores.

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 -cetogluturato, produzirá glutamato, que além de ser um aminoácido também é um neurotransmissor¹.

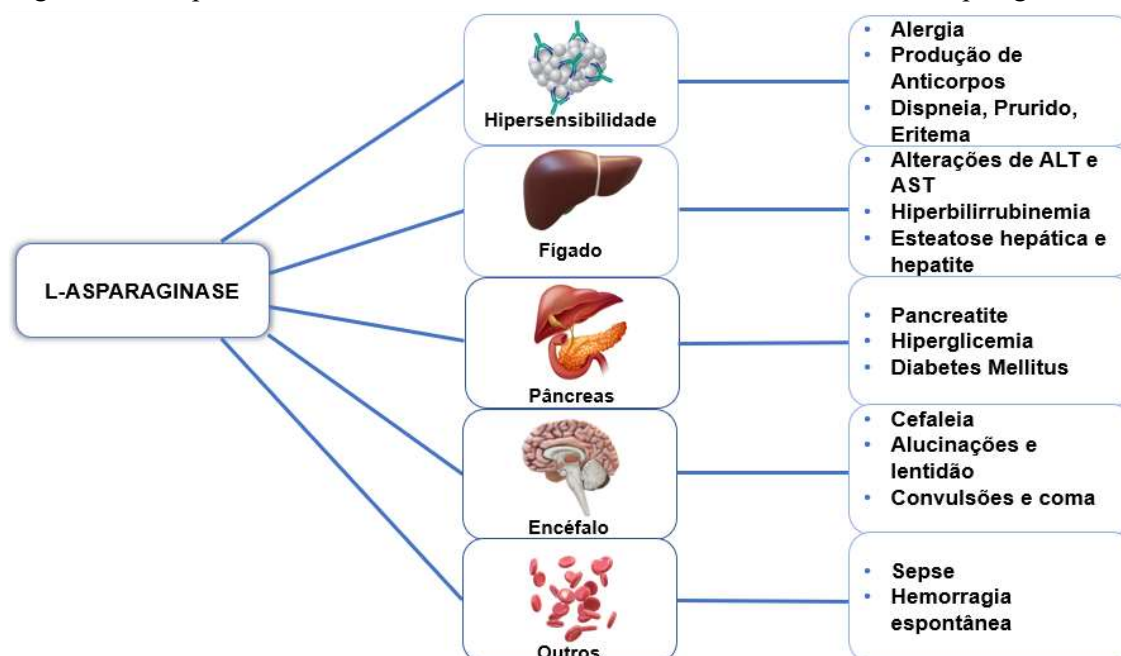
A queda das reservas de α -cetogluturato e o aumento de glutamato podem comprometer os neurônios, levando a quadros de cefaleia, letargia, alucinações, lentidão difusa, agitação, convulsões e coma^{9,11,21,38,40,44,47}.

Outro efeito colateral apresentado nas pesquisas foi a morte por sepse, que muitos autores relacionaram à própria bactéria *Escherichia 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 imunológica⁴⁸. Reações de hipersensibilidades e hepatotoxicidade, podendo ocasionar esteatose hepática e icterícia, também foram descritos na literatura^{10,11,38,43}.

A Figura 5 a seguir 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 do tratamento da LLA com L-Asparaginase.



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-Asparaginase²⁷. Alguns estudos demonstraram a amenização dos efeitos hepáticos nos pacientes com LLA quando suplementados com L-Carnitina e complexo de vitaminas B⁴³. 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**

Atualmente, nenhuma L-Asparaginase possui 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.

Porém, existem pesquisas que informam reações adversas graves quando relacionado ao tratamento da LLA, mostrando assim uma necessidade de pesquisas para solucionar tais pontos^{50,52-54}.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Apesar de que o presente estudo revelou o quanto a L-Asparaginase é uma substância vital no tratamento de pacientes com leucemia, dentre eles principalmente crianças, o Ministério da Saúde tem enfrentado muita resistência e dificuldade para importar o medicamento^{8,50}.

Tal situação mostra o quanto o Brasil precisa investir em pesquisas para obtenção de novas formas da enzima e iniciar a produção nacional em larga escala, a ponto de evitar divergências nos parâmetros utilizados por outros países para atestar a qualidade do produto⁵⁰.

Devido ao custo da importação e produção, pesquisadores da Fundação Oswaldo Cruz do Paraná estão desenvolvendo maneiras de produzir novos biofármacos antileucêmicos à base de Asparaginase humana e estão obtendo sucesso. Além disso, pesquisadores da Universidade de São Paulo (USP) estão desenvolvendo uma forma de encapsular a enzima L-Asparaginase com nanopartículas de lipossomos, cujo objetivo é aumentar o tempo de meia-vida da enzima, bem como sua eficácia e minimizar seus efeitos adversos^{19,20}.

Desta forma, como o Brasil vem enfrentando dificuldades na obtenção da L-Asparaginase, mostra-se necessário o registro do medicamento pela ANVISA, certificando sua eficácia e qualidade, considerando que a mesma se encontra na lista de medicamentos essenciais da Organização Mundial da Saúde^{18,49,51}.

Após leitura minuciosa de artigos científicos, revisões bibliográficas e livros, podemos afirmar que o referente trabalho atingiu todos os objetivos deste estudo, abrangendo e elucidando os mecanismos de ação, formas da enzima, efeitos adversos e a situação da enzima no Brasil.

REFERÊNCIAS

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, et. al. 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, et. al. A new L-asparaginase with antitumour activity?. *Lancet*. 1968;292(7571):776-777.
8. Dolowy WC, et. al. 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, et. al. 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*. 2002;99(8):2734-2739.
10. Fernandez CA, 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.
11. Kloos RQH, et. al. Individualized asparaginase dosing in childhood acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Clinical Oncology*. 2020;38(7):715-724.
12. Woo MH, 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.
13. Abuchowski A, et. al. 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, et. al. 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, et. al. 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, et. al. Organization and expression of the cell cycle gene, ts11, that encodes asparagine synthetase. *Molecular and Cellular Biology*. 1989;9(6):2350-2359.
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, et. al. 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. Hammond D, 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.
33. Uesugi CH. *Bactérias Fitopatogênicas*. 1. ed. CopyMarket; 2000. 50 p.
34. Graham ML. Pegaspargase: A review of clinical studies. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2003;55(10):1293-1302.
35. Boos J, 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.
36. Ohnuma T, Holland JF. Biochemical and Pharmacological Studies with Asparaginase in Man. *Cancer Research*. 1970;30(9):2297-2305.
37. Shrivastava A, et. al. Recent Developments in L-asparaginase Discovery and Its Potential as Anticancer Agent. *Critical Reviews in Oncology/Hemoterapy*. 2016;100:1-10.
38. Avramis VI, 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.
39. Killander D, et. al. Hypersensitive reactions and antibody formation during L-asparaginase treatment of children and adults with acute leukemia. *Cancer*. 1976;37(1):220-228.
40. Oettgen HF, et. al. Toxicity of *E. coli* L-asparaginase in man. *Cancer*. 1970;25(2):253-278.
41. Vrooman LM, et. al. *Erwinia* asparaginase after allergy to *E. coli* asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia. *Pediatric Blood and Cancer*. 2010;54(2):199-205.

42. Kamal N, et. al. Asparaginase-induced hepatotoxicity: rapid development of cholestasis and hepatic steatosis. *Hepatology International*. 2019;13(5):641-648.
43. Arora S, et. al. L-carnitine and Vitamin B Complex for PEG-L-asparaginase-Induced Hepatotoxicity. *ACG case reports journal*. 2019;6(8):e00194.
44. Pratt CB, et. al. Comparison of daily versus weekly L-asparaginase for the treatment of childhood acute leukemia. *The Journal of Pediatrics*. 1970;77(3):474-483.
45. 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.
46. Rank CU, 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.
47. 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.
48. Ishida T, et. al. PEGylated liposomes elicit an anti-PEG IgM response in a T cell-independent manner. *Journal of Controlled Release*. 2007;122(3):349-355.
49. 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.
50. 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>.
51. 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>.
52. 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>.

53. 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>.
54. Zenatti PP, et. al. Low Bioavailability and High Immunogenicity of a New Brand of E. coli L-Asparaginase with Active Host Contaminating Proteins. *EBioMedicine*. 2018;30:158-166.