



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

Emanuel Bezerra Marinho

**ASPARAGINASE: PRODUÇÃO, MECANISMOS DE AÇÃO, INDICAÇÃO
TERAPÊUTICA E PROBLEMAS RELEVANTES.**

Brasília
2017



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
CURSO DE FARMÁCIA

Emanuel Bezerra Marinho

**ASPARAGINASE: PRODUÇÃO, MECANISMOS DE AÇÃO, INDICAÇÃO
TERAPÊUTICA E PROBLEMAS RELEVANTES.**

Trabalho apresentado como requisito parcial para a conclusão do curso de graduação em Farmácia da Universidade de Brasília.

Orientadora Prof. Dra. Pérola de Oliveira Magalhães Dias Batista.

Brasília

2017

Emanuel Bezerra Marinho

**ASPARAGINASE: PRODUÇÃO, MECANISMOS DE AÇÃO, INDICAÇÃO
TERAPÊUTICA E PROBLEMAS RELEVANTES.**

Trabalho apresentado como requisito parcial
para a conclusão do curso de graduação em
Farmácia da Universidade de Brasília.

Aprovada em __ de _____ de 2017

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Prof^ª. Dra. Pérola de Oliveira Magalhães Dias Batista
Universidade de Brasília

Dr. Felipe Magalhães Furtado

**Brasília
2017**

Dedico este trabalho:

*Aos meus pais, Roberto Marinho e Maria do Socorro,
que forneceram suporte, carinho, amor, conselhos,
dedicação e conforto durante todos esses anos
essenciais para que eu pudesse ter essa oportunidade.*

Agradeço,

Aos meus pais, a quem me espelho, além do suporte emocional, financeiro e acolhedor, agradeço pela dedicação e insistência, cuja vida foi basicamente dedicada para que eu pudesse ter um futuro digno e justo, fornecendo o melhor, dentro da medida do possível, para que eu tivesse uma boa educação, boa índole e caráter.

Aos meus irmãos Thiago e André, pelo companheirismo, parceria e amor, inúmeros momentos e ensinamentos que juntos desenvolvemos ao longo da vida, os quais foram muito importantes para que eu chegasse até aqui.

À minha namorada e companheira, a quem admiro e me espelho, Rachel Bedatt Silva, que, além de compreensiva, apoiou minhas decisões e esteve ao meu lado sempre que preciso. Além de muito amor, inúmeros conselhos profissionais e acadêmicos que foram essenciais para definir meu caminho e personalidade. Para mim, foi e ainda é um exemplo de estudante e farmacêutica. Agradeço por todo apoio, suporte e amor, momentos, ajudas e alegrias que foram pilares essenciais dessa jornada.

Aos meus familiares que sempre torceram, acreditaram e ajudaram a construir quem sou hoje, estiveram presentes em meu coração, em mente, durante todos esses anos de distância e saudade. Agradeço as infinitas orações direcionadas a mim e as guardo e considero com muito amor e zelo.

Aos professores do curso de Farmácia da Universidade Federal de Brasília, pelos quais sinto imenso orgulho e admiração. Serão levados junto comigo onde eu estiver. Definiram permanentemente quem sou hoje, minha forma de enxergar o mundo, principalmente o amadurecimento pessoal e profissional. Palavras e ensinamentos que ficarão marcadas em mim para sempre, servirão de fonte de conhecimento e exemplos a serem seguidos para continuar na constante evolução da vida. Agradeço, em especial, à professora Pérola e sua equipe pelo acolhimento e oportunidade de me auxiliar nesta etapa.

Agradeço aos amigos que fiz em Brasília durante esses anos em que vivi aqui, que proporcionaram momentos de descontração, aprendizado e amizade, que foram essenciais para definir quem sou e pudesse caminhar por onde caminhei.

Aos amigos que fiz durante a graduação, que serão levados para a vida, serão sempre lembrados pelos momentos que passamos juntos ao longo do curso.

À Universidade de Brasília que forneceu a estrutura, professores, colegas, amigos, materiais, conhecimento inestimável, momentos indescritíveis, alegrias, tristezas, frustrações e comemorações, que carregarei comigo pelo resto da minha vida.

RESUMO

A Leucemia Linfóide Aguda é um tipo de câncer de incidência mundial que atinge principalmente crianças e adolescentes, podendo também atingir adultos. A doença ocorre devido a uma replicação descontrolada de progenitores linfóides na medula óssea. Os sintomas mais comuns são fadiga, fraqueza, tontura, febre, infecções oportunistas, hematomas, hemorragias e dores nas articulações. Para o tratamento da doença, os protocolos clínicos realizados pelos grupos e sociedades médicas recomendam a utilização, além de outros quimioterápicos, a L-asparaginase, uma enzima que impede o progresso tumoral através da depleção do aminoácido L-asparagina no sangue. A enzima é produzida através da fermentação de microrganismos e tem papel crucial no sucesso terapêutico, devido a sua especificidade e baixa toxicidade quando comparada com os outros medicamentos utilizados na terapia de câncer, levando a melhorias nos prognósticos dos pacientes. Sua produção hoje é realizada, através da utilização de bactérias como: *Escherichia coli* e *Erwinia caratovora*, sendo estas enzimas na forma nativa, recombinante ou peguilhada. No Brasil, desde 2014 a enzima é adquirida através da importação de laboratórios internacionais sem fábrica no país, gerando riscos de desabastecimentos, como ocorreu no ano de 2013, devido a uma compatibilidade legislativa relacionada à registros exigidos pela agência nacional de vigilância sanitária (ANVISA).

Palavras-chave: Leucemia Linfóide Aguda, Câncer, Tratamento, L-asparaginase, Produção enzimática.

ABSTRACT

Acute Lymphoblastic Leukemia is a kind of cancer of global incidence, which reaches principally children, teenagers, and sometimes, adults. The disease occurs due to uncontrolled immature lymphocytic replication in bone marrow. The most common symptoms are fatigue, weakness, dizziness, fever, opportunistic infections, bruising, bleeding and joint pain. For the treatment of the disease, clinical protocols generated by medical groups and organized societies, and they recommend the use of L-asparaginase in addition to other chemotherapies, an enzyme that impedes tumor progression through depletion of the aminoacid L-asparagine in serum. The production of that enzyme is through the fermentation of microorganisms and plays a crucial role in the therapeutic success due to specificity and low toxicity when compared to the other drugs used in cancer therapy, leading to a better prognostic. Nowadays the production is performed, using bacteria like *Escherichia coli* and *Erwinia caratovora*, that enzyme in native, recombinant or pegulated form. In Brazil, since 2014, the acquisition of the enzyme is through the importation from international laboratories without factories located in the country, causing risks of shortages, as occurred in 2013, due to a legislative compatibility related to the records by the National Agency of Sanitary Vigilance (ANVISA).

Keywords: Acute Lymphoblastic Leukemia, Cancer, Treatment, L-asparaginase, Enzymatic Production.

LISTA DE ABREVIATURAS E ACRÔNIMOS

ACS	<i>American Cancer Society</i>
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
CMED	Câmara de Regulação do Mercado de Medicamentos
FAB	Classificação Francesa-Americana-Britânica
INCA	Instituto Nacional de Câncer
INCQS	Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde
ABHH	Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia
L-Asn	L-Asparagina
LLA	Leucemia Linfóide Aguda
LMA	Leucemia Mielóide Aguda
MO	Medula Óssea
MS	Ministério da Saúde
PEG	Poli etileno glicol
RC	Remissão Completa
RCBP	Registro de Câncer de Base Populacional
SOBOPE	Sociedade Brasileira de Oncologia Pediátrica
SUS	Sistema Único de Saúde

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Hematopoese (Formação de células sanguíneas a partir de uma célula tronco hematopoiética.....Pág. 08
- Figura 2: Representação esquemática do mecanismo de ação da L-Asparaginase. Pág. 25
- Figura 3: Fluxograma de produção da L-asparaginase.....Pág. 29

LISTA DE QUADROS

- Quadro 2: Taxas de mortalidade por Leucemia Linfóide, por 100.000 homens e mulheres, no Brasil e no Mundo, de 2000 a 2014.....Pág. 06
- Quadro 2: Classificação de neoplasias de precursores linfóides, segundo a OMS.Pág. 11
- Quadro 3: Efeitos adversos dos quimioterápicos usados no tratamento de LLA....Pág. 16
- Quadro 4: Grupos de risco de pacientes com Leucemia Linfóide Aguda.....Pág. 17
- Quadro 5: Tempo de meia-vida de eliminação das asparaginases e as doses administradas mais frequentes nos tratamentos para LLA.....Pág. 23

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 3: Taxa de Mortalidade por Leucemia no Brasil e no Mundo.....Pág. 06

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	1
2	LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA	4
2.1	EPIDEMIOLOGIA	4
2.2	FISIOPATOLOGIA	8
2.3	TRATAMENTO	14
2.3.1	TERAPIA DE INDUÇÃO (INDUÇÃO DA REMISSÃO)	16
2.3.2	TERAPIA DE CONSOLIDAÇÃO (INTENSIFICAÇÃO)	18
2.3.3	TERAPIA DE MANUTENÇÃO	19
2.4	L-ASPARAGINASE	20
2.4.1	TERAPIA NA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA (LLA)	20
2.4.2	MECANISMO DE AÇÃO	22
2.4.3	EFEITOS ADVERSOS E RESTRIÇÕES	25
2.4.4	PRODUÇÃO	26
2.4.4.1	PERSPECTIVAS	28
2.5	SITUAÇÃO DA L-ASPARAGINASE NO BRASIL	30
3	CONCLUSÃO	33
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	35

1 INTRODUÇÃO

Um dos grandes problemas de saúde da atualidade, em todo o mundo, é a alta incidência de câncer em pessoas de todas as idades. Entre os variados tipos de câncer, existe um, hoje, que atinge principalmente a população infantil, a Leucemia Linfóide Aguda (LLA). Segundo registros do Instituto Nacional de Câncer (INCA), LLA causou 24.494 casos de óbito no período de 2000 a 2014, sendo 13.970 dos casos no sexo masculino e 10.522 na população feminina. Em crianças de 0 a 14 anos no Brasil, nesse mesmo período, foram registrados 5.789 casos de óbito. A incidência prevista para o ano de 2016, segundo o INCA, seriam de 10.070 novos casos, onde uma média de 75-80% ocorreria em crianças de até 15 anos, mais predominantemente, no sexo masculino. (BATHIA, et al, 2003; COOK, et al, 2014; HOWLADER et al, 2014, INCA, 2016).

Leucemias são doenças neoplásicas que consistem na expansão clonal incontrolada de células precursoras mielóides ou linfóides defeituosas e imaturos que tem como papel gerar células sanguíneas na Medula Óssea (MO). Essas células se diferenciam em duas diferentes linhagens, a mielóide e a linfóide. As células precursoras quando não se diferenciam, não formam células sanguíneas normais, gerando um acúmulo indevido não só na medula, mas também em outras partes do corpo. A anemia é frequentemente observada, devido a não formação das células vermelhas sanguíneas, resultante do acúmulo das células imaturas defeituosas, impedindo a formação e a criação das células da série vermelha (hemácias), série branca (linfócitos/granulócitos) e megacariocítica (plaquetas). A diminuição dessas células causa complicações como anemia, infecções, hemorragias e infiltração em outros órgãos (CIMINO et al., 1993, SHOCH et al., 2001; LEITE et al., 2007; GRIGOROPOULOS et al., 2013).

A LLA é classificação para tipos de câncer onde há a proliferação incontrolada de blastos, da linhagem linfóide, que são células precursoras dos glóbulos brancos na MO. Foram inicialmente subdivididas em LLA L1, L2 e L3, de acordo com critérios morfológicos-citoquímicos estabelecidos pela FAB (Classificação Francesa-Americana-Britânica). Porém, hoje, a classificação é baseada no imunofenótipo, o tipo de linfócito (Célula B ou T) e a maturidade das células (ACS, 2016). Estas, quando identificadas após o aspirado da medula ou biópsia (quando há mais de 20% de presença dessas células), podem ser subclassificadas e classificadas como CID-10 C 91.0 (WHO, 2016; LEITE et al., 2007; GRIGOROPOULOS et al., 2013).

Sabendo da gravidade e ocorrência da doença, pesquisas e estudos buscam o melhoramento do tratamento. Hoje, a terapia é dividida em várias fases e consiste, fundamentalmente, em destruir as células blásticas anormais, principalmente através da quimioterapia e, em algumas situações, é realizado o transplante de medula óssea (PDQ, 2017).

Em virtude do aprimoramento e constantes evoluções no tratamento, atingiu-se uma taxa de sobrevivência aumentou para 90%, nos últimos anos, para grupos com bom prognóstico, principalmente pela maleabilidade e mudanças na terapia com base na farmacodinâmica e farmacogenômica individual, além do aumento de cuidados e suporte ao paciente (PUI et al, 2008; MÖRICKE et al, 2008; GURNEY, 2014). Entretanto, pacientes com mais de 60 anos diagnosticados com LLA têm particularmente piores resultados prognósticos, com apenas 10-15% de sobrevivência. Tal fato ocorre não somente por causa dos outros fatores biológicos, como presença do cromossomo Filadélfia e Hiperploídia e outras doenças provenientes da idade que podem propiciar mais dificuldade no tratamento, mas, também, da adesão à quimioterapia que, frequentemente, gera muitos efeitos adversos (ROWE et al, 2005).

Desde 1904, onde foi detectada sua atividade pela primeira vez (Lang et al., 1904), a doença vem sendo estudada e, mesmo com o avanço da ciência, seu mecanismo patogênico ainda não foi bem elucidado. Um dos medicamentos utilizados para combater a LLA é a enzima L-asparaginase. A enzima atua catalisando a hidrólise do aminoácido L-asparagina (L-Asn) em ácido aspártico e amônia (NARTA et al., 2007; VAN DER BERG et al., 2011). O aminoácido L-Asn é um substrato essencial para a célula tumoral devido à alta demanda causada pela proliferação celular exacerbada que, conseqüentemente, gera uma maior demanda metabólica, principalmente para síntese de proteínas (BUSSOLATI et al., 1995; RYTTING, 2012; LUHANA et al., 2013).

Assim, em meio a esse cenário, deve-se dar a devida importância, já que se trata de um medicamento utilizado para o tratamento de uma doença grave, e que, muitas vezes, pode ser inviável para o indivíduo adquirir o fármaco, não realizando corretamente o tratamento e, portanto, aumentando as chances de fracasso terapêutico, podendo chegar a conseqüências severas.

Tendo em visto o exposto, através de uma pesquisa bibliográfica de documentos, artigos científicos em periódicos, e artigos da mídia, o presente trabalho tem como finalidade explicitar e elucidar o papel e a importância da L-Asparaginase na terapia de LLA e a necessidade de obtenção e fornecimento ao paciente necessitado, considerando o cenário brasileiro atual.

2 LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA

2.1 EPIDEMIOLOGIA

A doença atinge todas as regiões do mundo, idades e sexo, porém com predominância na infância e no sexo masculino. Os cinco tipos de cânceres mais diagnosticados na infância são: Leucemia Linfóide, Retinoblastoma, Leucemia Mielóide Aguda). Sendo que a LLA é o tipo de câncer mais comum em crianças com menos de 15 anos (COOK et al., 2014).

A taxa registrada no período de 2010 a 2014 de casos de LLA foi de 1,7 por cada 100.000 homens e mulheres por ano nos Estados Unidos e 0,4 de óbitos de homens e mulheres por ano. Por outro lado, no ano 2000 a taxa de mortalidade era de 0,5 casos a cada 100.000 habitantes e em 1990 foram registrados 0,6 casos de óbito para 100.000 habitantes nos EUA. Segundo dados epidemiológicos, em 2014 foram estimadas 81.837 pessoas vivendo com LLA aproximadamente e estima-se que 0,1% dos homens e mulheres vão ser diagnosticadas com LLA em algum ponto de suas vidas (HOWLADER et al. 2016). Espera-se que em 2017 sejam registrados 5.970 novos casos de LLA nos Estados Unidos, sendo 56,11% no sexo masculino, 55,56% no sexo feminino e 1.440 casos de óbito (SIEGEL et al. 2017).

A LLA é encontrada com maior frequência em crianças de até 5 anos, com aproximadamente 80% dos casos reportados de todas as leucemias nessa faixa etária, a maioria entre 2 e 3 anos, e são mais observadas no sexo masculino (COOK, et al. 2014; HOWLADER et al, 2014).

No Brasil, os Registros de Câncer de Base Populacional (RCBP) revelam dados similares em relação ao resto do mundo. Do ano 2000 a 2012, nas 5 regiões do país foram

registrados 1.661 casos de LLA registrados em crianças e adolescentes de 0 a 19 anos de ambos os sexos (INCA, 2016). Em crianças menores de 15 anos, a Leucemia está entre 30% dos cânceres diagnosticados nessa faixa etária. Enquanto 75% desses casos são de LLA (BELSON et al., 2007). Os registros nacionais demonstram que a incidência da doença é maior em crianças e tendem a diminuir ao aumentada idade, enquanto que há um aumento nos casos de Leucemia Mielóide Aguda (LMA) (INCA, 2016).

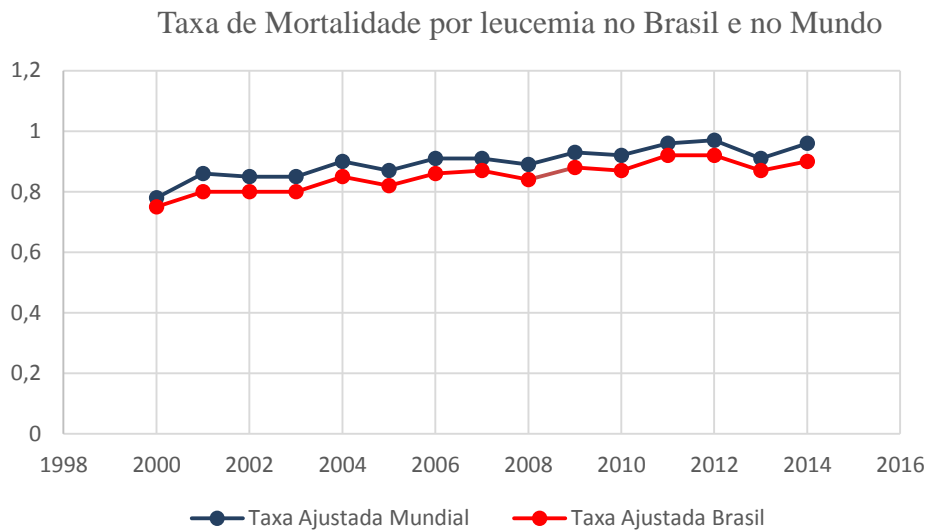
Segundo os dados de divulgados de taxa de mortalidade por Leucemia Linfóide, o Brasil vem acompanhando os números da taxa de mortalidade por Leucemia Linfoide no mundo, com uma média de 0,85 enquanto no mundo uma média de 0,9 a cada 100.000 habitantes do ano 2000 a 2014 conforme exibido no Quadro 1 e representado no Gráfico 1 (INCA, 2016).

Quadro 1: Taxas de mortalidade por Leucemia Linfoide, por 100.000 homens e mulheres, no Brasil e no Mundo, de 2000 a 2014.

Ano	Valor Absoluto	Taxa Bruta	Taxa Ajustada Mundial	Taxa Ajustada Brasil
2000	1267	0,75	0,78	0,75
2001	1387	0,80	0,86	0,80
2002	1392	0,80	0,85	0,80
2003	1410	0,80	0,85	0,80
2004	1512	0,84	0,90	0,85
2005	1504	0,82	0,87	0,82
2006	1600	0,86	0,91	0,86
2007	1707	0,90	0,91	0,87
2008	1672	0,88	0,89	0,84
2009	1765	0,92	0,93	0,88
2010	1764	0,92	0,92	0,87
2011	1889	0,98	0,96	0,92
2012	1904	0,98	0,97	0,92
2013	1819	0,94	0,91	0,87
2014	1902	0,98	0,96	0,90

Fontes: MS/SVS/DASIS/CGIAE/Sistema de Informação sobre Mortalidade - SIM MP/Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE MS/INCA/Conprev/Divisão de Vigilância (2017)

Gráfico 1: Taxa de Mortalidade por Leucemia no Brasil e no Mundo



**Fontes: MS/SVS/DASIS/CGIAE/Sistema de Informação sobre Mortalidade - SIM
MP/Fundação Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE
MS/INCA/Conprev/Divisão de Vigilância (2017)**

A incidência de LLA demonstra um pico bimodal, ou seja, ocorre principalmente em crianças, de 0-14 anos, e um segundo pico de incidência em pacientes maiores de 50 anos de idade (PAUL et al., 2016). Mesmo assim é considerada uma Leucemia majoritariamente infantil, onde 80% dos casos ocorrem em crianças e 20% em adultos (JEMAL et al., 2004; FULLMER et al., 2010; JABBOUR et al., 2015; SIEGEL et al., 2015).

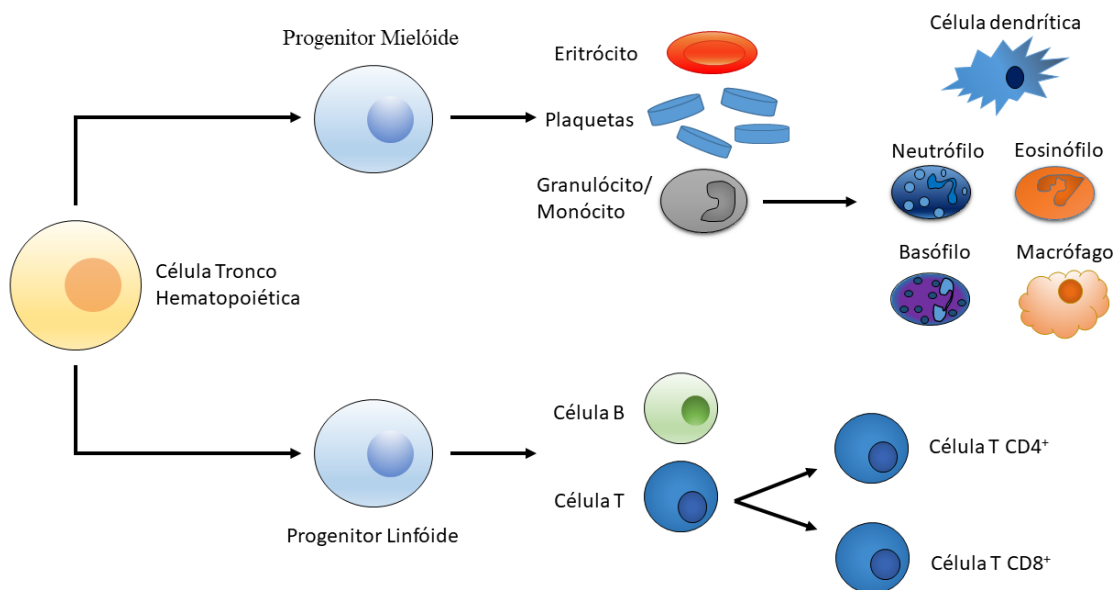
Além de uma incidência maior em crianças e predominância do sexo masculino, há uma variância significativa quando tratamos das taxas de incidência relacionadas a raças e etnias, onde está mais presente em hispânicos, seguidos de brancos e menor incidência nos negros (LIM et al., 2014).

O número de sobreviventes a doença nos últimos 50 anos aumentou significativamente devido ao avanço das terapias, trazendo uma taxa de 80% de taxa de cura (GURNEY, 2014).

2.2 FISIOPATOLOGIA

Está bem elucidado hoje a formação e o surgimento das células que compõem o sangue nos humanos. O processo conhecido como Hematopoese, consiste na formação dos componentes sanguíneos, que se origina no saco vitelino e no fígado, temporariamente na fase embrionária, até se estabelecer definitivamente na MO e no Timo. Sendo mantidas sua produção durante a vida para suprir a demanda dos componentes sanguíneos (TAVIAN et al., 2010; JAGANNATHAN-BOGDAN & ZON, 2013). O processo provém das células tronco hematopoiéticas, que são células naturalmente multipotentes e dão origem a todas as linhagens de células sanguíneas no organismo. Essas células tronco darão origem às células progenitoras Mielóides e Linfóides, denominadas de Blastos. Conforme exibido na figura 1, as células progenitoras Mielóides irão dar origem a eritrócitos, plaquetas, monócitos e granulócitos, enquanto que as Linfóides irão originar as Células Be T (JAGANNATHAN-BOGDAN & ZON, 2013).

Figura 1: Hematopoese (Formação de células sanguíneas a partir de uma célula tronco hematopoiética)



Fonte: Elaborado pelo autor, segundo Jagannathan-Bogdan & Zon (2013).

A Leucemia é um tipo de câncer que, por definição, ocorre quando há uma proliferação descontrolada de células progenitoras. Se a falha for nas células Mielóides, é classificada como Leucemia Mielóide e se as células forem progenitoras Linfóides, Leucemia Linfóide. Esse evento ocorre devido a uma falha genética na fase de maturação dessas células, impedindo que se tornem células maduras funcionais. Também ocorre a proliferação descontrolada que resulta no acúmulo na MO e no sangue periférico, causando danos locais e sistêmicos (WIEMELS, 2003; LEITE et al., 2007; GRIGOROPOULOS et al., 2013).

As Leucemias são classificadas com base na análise morfológica e citoquímica das células blásticas e desenvolvimento da doença (WHO, 2016). Também pode ocorrer da linhagem celular não está bem definida, sendo assim, utilizam-se denominações como de Leucemias de Linhagens Mista e Leucemias Bifenotípicas (YUE et al., 2015).

Como citado anteriormente, a LLA é causada por uma desordem maligna que resulta da proliferação clonal dos precursores linfóides com impedimento da maturação natural em células B e T (ZHOU et al., 2012; LEITE et al., 2007; GRIGOROPOULOS et al., 2013). Geneticamente, a LLA é causada por um conjunto de fatores e alterações genéticas. Essas alterações incluem aneuploidia, que são mudanças no número de cromossomos (HARRISON, 2009).

Os rearranjos cromossômicos desregulam a expressão gênica ou resultam na expressão de proteínas defeituosas, deleção ou adição de DNA (HARRISON, 2009). O rearranjo ou translocação cromossômica é um evento comum em neoplasias, onde há um rearranjo de segmentos dos cromossomos não-homólogos podendo gerar tais anomalias, como hiperdiploidia (quando há > 50 cromossomos), hipodiploidia (<44 cromossomos)

(ZUCKERMAN et al., 2014) e outras anomalias cromossômicas que estão apresentadas na Quadro 2.

Quadro 2: Classificação de Neoplasias de Precursores Linfóides, segundo a OMS.

Leucemia Linfoblástica (Células-B)
Leucemia Linfóide B não especificado (NOS)
Leucemia Linfóide B com anomalias genéticas recorrentes
Leucemia Linfóide B com t(9;22) (q34.1;q11.2); BCR-ABL1
Leucemia Linfóide B com t(v;11q23.3);KMT2A rearranjado
Leucemia Linfóide B com t(12;21) (p13.2;q22.1); ETV6-RUNX1
Leucemia Linfóide B com Hiperploídia
Leucemia Linfóide B com Hipoploídia
Leucemia Linfóide B com t(5;14) (q31.1;q32.3) IL3-IGH
Leucemia Linfóide B com t(1;19) (q23;p13;3) TCF3-PBX1
Entidade provisória: Leucemia Linfóide B tipo BCR-ABL1 (Envolvendo Tirosina Quinase ou Receptores de Citocina)
Entidade provisória: Leucemia Linfóide B com iAMP21 (amplificação intracromossomal do cromossomo 21)

Leucemia Linfoblástica (Células-T)
Entidade provisória: Leucemia Linfóide Precursora da Célula T jovem
Entidade provisória: Leucemia Linfóide de Célula <i>Natural Killer</i> (NK)

Fonte: Traduzido e adaptado de WHO (2016).

Aberrações cromossômicas são característicos na LLA, porém apenas a presença dessas alterações, não necessariamente levará a ocorrência de neoplasia, outras lesões e anomalias cooperativas são responsáveis para acarretar na doença. Como por exemplo, translocações cromossômicas características t(12;21) [ETV6-RUNX1], que constatada em 22% das LLA infantis, está presente antes mesmo do desenvolvimento da doença, o que sugere a ação conjunta de outros fatores para o desencadeamento (MOORMAN et al., 2010; MA, 2013).

A Hiperdiploidia é evidenciada em grande quantidade em 25 a 30% das crianças com LLA de célula B, geralmente com bom prognóstico. Enquanto que a hipodiploidia ocorre em 2 a 3% em crianças com LLA de célula B, essas com um prognóstico fortemente negativo (NACHMAN et al., 2007).

A doença, normalmente, ocorre esporadicamente por fatores genéticos, mas sua ocorrência também pode estar ligada a fatores de predisposição, tais como: radiação, cuja exposição pode ser tanto no período da gestação, quanto após o nascimento, dependente da quantidade e tempo de exposição. Compostos químicos como: benzeno, fumaça de tabaco, pesticidas e quimioterápicos (GLASS et al., 2003; BELSON, et al., 2007), condições genéticas hereditárias, tal como Síndrome de Down e alguns vírus, como Epstein-Barr e HIV (GERINIERE et al., 1994; SEHGAL et al., 2010; BUITENKAMP et al., 2014; PAUL et al.; SHILPA et al., 2016).

Essa doença causa sintomas como: febre, sudorese noturna, perda de peso, sangramento, dispneia, tonturas, infecções oportunistas e pode chegar à óbito em pouco tempo, se não for tratada (MOHAMMADI et al., 2015). Além do paciente apresentar anemia, trombocitopenia e neutropenia, é comum haver extravasamento da MO, sendo assim, possível encontrar blastos presente no sangue periférico (GRIGOROPOULOS et al., 2013). Pacientes também podem apresentar petéquias, equimoses e palidez, mas o sintoma mais comum é a dor nas articulações e nas extremidades. Em crianças, as dores na articulação são, em muitas situações, as únicas manifestações clínicas aparentes (THIEL et al., 2011; JABBOUR et al., 2016). O sintoma menos comum, que atinge 10% dos pacientes, é o comprometimento do Sistema Nervoso Central (SNC), mas que na terapia sempre se busca uma atenção especial, através da profilaxia (PUI et al., 2006; DEL PRINCIPE; 2014).

Os precursores linfóides neoplásicos possuem uma alta necessidade de aminoácidos, como a Glutamina, para manter sua constante replicação celular. O aminoácido Glutamina tem um papel fundamental na biossíntese de nucleotídeos e aminoácidos essenciais e na manutenção do ciclo respiratório celular (WISE & THOMPSON, 2010; CHENG et al., 2011). A Glutamina também possui papel antioxidativo na célula cancerígena e evita a apoptose. Por esses motivos, o metabolismo desse aminoácido vem sendo estudado como alvo para inibir o crescimento celular tumoral (LE et al., 2012; TIMMERMAN et al., 2013). Entretanto, suprir a Glutamina no organismo não era suficiente para induzir, efetivamente, a apoptose em células tumorais. A presença de L-Asparagina (L-Asn) demonstra que, mesmo quando é feita a supressão da Glutamina, ainda há a continuação da replicação celular. Porém ao impedir a síntese da L-Asn, houve uma diminuição da replicação tumoral (ZHANG et al., 2014).

As células tumorais possuem, na maioria das vezes ausência do L-Asparagina Sintetase. Enquanto que a demanda pelo aminoácido L-Asné, geralmente, muito alta, tornando insuficiente apenas a quantidade sintetizada na própria célula para suprir a alta demanda de crescimento e replicação. Portanto, devido ao crescimento descontrolado e incapacidade de produzir L-Asn, as células passam a obter o aminoácido circulante na corrente sanguínea proveniente da dieta (AZMI, 2007; KRALL et al., 2016).

O diagnóstico inicial é realizado através da identificação de células precursoras linfóides no microscópio e determinação da linhagem e estágio de desenvolvimento por citometria de fluxo (PUI et al., 2008). Para afirmação e análise citogenética a avaliação cromossômica possui papel essencial e, para tal, são utilizados os métodos: RT-PCR, FISH / Amplificação de Sonda Multiplex Dependente de Ligadura (MLPA)¹, e Cariótipo convencional. Esses métodos são usados para a identificação de translocamentos

¹ Utilizada para detectar qualquer tipo de anomalia envolvendo deleção ou duplicação de qualquer tamanho.

específicos da LLA, anormalidades sub-microscópicas, e conteúdo de DNA celular, respectivamente (INABA et al., 2013).

2.3 TRATAMENTO

Hoje, a Leucemia Linfóide Aguda é uma doença curável, devido principalmente aos avanços em pesquisas nas causas genéticas das anomalias. Protocolos terapêuticos gerados por grupos cooperativos, compostos por especialistas da área, são usados como base e guia, fazendo com que as taxas de cura e sucesso de tratamento cheguem a mais de 80%, com registros de até 90% (PUI et al., 2012; GURNEY, 2014). O protocolo mais recente no Brasil o GBTLI-LLA 99, foi sintetizado e planejado pelo Grupo Brasileiro de Tratamento da Leucemia na Infância, inclui, entre outros quimioterápicos, a L-Asparaginase, uma enzima que possui atividade antitumoral para o tratamento de LLA (PIETERS et al., 2011).

A doença, como citado anteriormente, é tratável e com alta taxa de sucesso. Entretanto, a toxicidade da terapia é um problema agravante, no Quadro 3 estão exibidos alguns efeitos adversos comuns relacionados ao tratamento quimioterápico. Aproximadamente um terço de todas as mortes são devido a alta toxicidade do tratamento independente das condições dadas ao paciente, inclusive em países mais desenvolvidos (SCHMIEGELOW et al., 2009; LUND et al., 2014). É um desafio, mas o principal objetivo é individualizar o tratamento, uma vez que cada dano ao DNA exige uma terapia antitumoral específica para o mecanismo de reparo, de forma que obtenha o tratamento mais efetivo (PORTICH et al., 2017). Doenças infecciosas oportunistas também devem ser avaliadas e monitoradas com cautela, pois existem diversas causas de morte e agravamento do quadro clínico de em pacientes com LLA (SONABEND et al., 2009). As taxas de mortalidade relacionadas a esse fator estão diretamente relacionados à infraestrutura e fatores socioeconômicos desfavoráveis dos pacientes portadores de LLA (CANIZA et al., 2015).

Quadro 3: Efeitos Adversos dos quimioterápicos usados no tratamento de LLA

Asparaginase	Reações de hipersensibilidade, pancreatite e trombose
Clofarabina	Cardiotoxicidade, síndrome de liberação de citocina, hepatotoxicidade (Incluindo síndrome da obstrução sinusoidal), pancreatite e nefrotoxicidade
Corticoesteroides	Hipertensão, hiperglicemia, osteonecrose, retenção de fluidos, psicose
Ciclofosfamida	Nefrotoxicidade, cistite hemorrágica, hiponatremia, retenção de fluido
Citarabina	Conjuntivite, sintomas similares ao de gripe
Doxorrubicina/Daunorrubicina	Cardiotoxicidade, hepatotoxicidade, reações de hipersensibilidade
Etoposídeo	Nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, encefalopatia
Mercaptopurina	Hepatotoxicidade
Metotrexato	Mucosite, nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, encefalopatia
Tioguanina	Hepatotoxicidade (Incluindo síndrome da obstrução sinusoidal e hipertensão portal)
Vincristina	Síndrome do hormônio diurético inapropriado, neuropatia (parestesias, constipação, ptose, paresia das cordas vocais)

Fonte: Traduzido e adaptados de COOPER, S. L. & BROWN, P. A. (2015).

O prognóstico e sucesso na cura da doença estão relacionados, principalmente com a adesão ao tratamento e com a citogenética da LLA (SEITER, 2017). Pacientes com um cariótipo e aqueles com deleções isoladas 9p/CDKN2A-CDKN2B, tem tido um prognóstico relativamente bom, conforme o esperado. Pacientes com deleções 6q com cariótipo diversificado e hiperdiploidia apresentam, geralmente um prognóstico intermediário. Pacientes com t(9;22) / BCR/ABL1, t(4;11)/MLL/AF4, e t(1;19)/TCF3/PBX1 têm demonstrado um pior prognóstico da doença.

Sabendo que a terapia pode ser agressiva e trazer severos efeitos adversos (Quadro 3), torna-se necessário tratar com cautela a montagem da terapia, principalmente para a

população de alto risco, conforme exibido no quadro 4 abaixo, ou considerar o transplante de células tronco hematopoiéticas alogênicas, provenientes da MO, cordão umbilical ou sangue periférico de um doador compatível (PUI et al., 2009; INABA et al., 2014).

Quadro 4: Grupos de risco de pacientes com Leucemia Linfóide Aguda

Grupos de risco na Leucemia Linfóide Aguda

- Crianças com menos de 1 ano de idade ou maior de 10 anos
- Contagem de células sanguíneas maior que 50,000/ μ L
- Envolvimento com o Sistema Nervoso Central
- Envolvimento Testicular
- Citogenética desfavorável (Hipodiploidia, t(9;22), 11q23, iAMP21)
- Resposta da terapia de indução sub-ótima (falha da indução ou doença residual mínima)

Fonte: Traduzido e adaptado de STACY et al., 2015.

A Classificação correta, a partir de um diagnóstico preciso, é fundamental para a correta escolha terapêutica e conseqüentemente efetividade na cura do paciente (DIGIUSEPPE, 2007). Os níveis de danos no DNA e o reparo global do DNA podem influenciar o resultado clínico de pacientes com LLA, devido à resistência a drogas e risco de recaída (PORTICH, et al., 2017). Após definida a classificação da doença, pode-se adaptar o tratamento quimioterápico com base na divisão preconizada de 3 principais fases: indução, consolidação e manutenção. Essa última dura 2 anos e inclui profilaxia para doenças relacionadas ao Sistema Nervoso Central (SNC) (CORTES; LARSON et al., 1995; THOMAS; KANTARJIAN 2004; ROWE; JABBOUR et al., 2005; INABA et al., 2013).

2.3.1 TERAPIA DE INDUÇÃO (INDUÇÃO DA REMISSÃO)

Na fase da Indução, o objetivo é induzir a remissão completa (RC), ou seja, levar o paciente à ausência total dos sinais da LLA, através da eliminação completa das células

defeituosas presentes. Os medicamentos mais utilizados nessa fase são: Vincristina, Antraciclina (Daunorubicina ou Doxorubicina), Corticoesteróides (Prednisona ou Dexametasona) (INABA et al., 2013; BRANDALISE et al.; PAUL et al., 2016). Sendo que, na opção de corticoesteróides a Dexametasona vem sendo mais utilizada que a Prednisona, principalmente por demonstrarem controle melhor sobre o SNC (INABA et al., 2013).

É esperado que, nessa fase, ocorra a erradicação completa das células defeituosas, com o mínimo de efeitos adversos possíveis, no período de 4 a 6 meses. O sucesso nessa fase é de quase 99% em crianças e de 78-92% em adultos, sendo que pacientes de risco muito alto podem receber mais drogas, além da terapia padrão, para aumentar a efetividade do tratamento (INABA et al., 2013, PUI et al, 2008; BASSAN et al., 2011). Pacientes em que há RC nas 3 a 5 primeiras semanas de tratamento exibem um melhor prognóstico (HOELZER et al.; GAYNOR et al.; 1988; BASSAN, et al., 2011).

Nessa fase, pode-se subdividir o tratamento em 3 subfases: primeiramente, a pré-fase, que é revelado todo o diagnóstico e há a utilização de corticoesteróides; em seguida, a Indução I, que é a parte mais crítica, devido ao alto risco de toxicidade severa e exigindo um alto nível de suporte e cuidado; e a 3ª subfase, de Indução II, que consiste de Ciclofosfamida, Mercaptopurina e Citarabina, usada para pacientes refratários a Indução I (BASSAN, et al., 2011). Na fase de Indução II, a Asparaginase Peguilada (PEG-asparaginase) é a mais preferível das variações da Asparaginase, devido a períodos mais longos de depleção de L-Asn, uma vez que possui maior tempo de meia vida que os outros tipos de asparaginase (INABA et al., 2013).

Pacientes BCR-ABL1-positivos têm tido um pior prognóstico, porém com a administração de inibidores da tirosina quinase (eg Imatinibe, Dasatinibe), houve uma RC > 90% (KIRK et al., 2009).

2.3.2 TERAPIA DE CONSOLIDAÇÃO (INTENSIFICAÇÃO)

Nessa etapa do tratamento, a terapia é feita por uma manutenção prolongada. A terapia de consolidação, tem como propósito eliminar as células residuais submicroscópicas que restam após a terapia de indução (PUI et al., 2008; COOPER & BROWN, 2015). As drogas utilizadas são praticamente as mesmas utilizadas na fase de indução e variam segundo o regime de tratamento selecionado e a população do paciente sendo tratado. Nesse caso, a L-Asparaginase, caso ainda não tenha sido adotada, e a 6-mercaptopurina podem ser inseridas no tratamento para crianças diagnosticadas com LLA (PAUL et al., 2016).

A terapia de consolidação dura de 6 a 9 meses, mas pode variar em tempo e intensidade entre os diferentes protocolos, principalmente quando envolve pacientes de alto risco (Quadro 4), que irão receber regimes de consolidação mais intensos e prolongados (SEIBEL et al., 2008).

Nessa fase de tratamento, a quimioterapia é realizada através da combinação de diferentes agentes, com intuito de maximizar a eficácia do tratamento e minimizar o efeito por resistência dos medicamentos (COOPER & BROWN, 2015). Nessa fase, se usa diferentes agentes que não foram utilizados na indução. Geralmente, se usa altas doses (i.e., 1-8 g/m²) de Metotrexato (MTX) com Mercaptopurina, frequentes pulsos de Vincristina e Glicocorticoide, além de L-Asparaginase ininterrupta por 20-30 semanas.

Tioguanina, Ciclofosfamida, Etoposídeo e Citarabina também são opções utilizadas nessa etapa (INABA et al., 2013).

Alguns pacientes podem apresentar remissão, como aqueles que têm um pior prognóstico, que ainda estão em risco do relapso, ou seja, risco de reincidência da LLA. Nesses casos é sugerido transplante de célula tronco alogênica, de preferência, proveniente de irmãos devido a compatibilidade (ABDUL et al., 2014; ACS, 2017).

A reindução, é uma outra fase presente em alguns protocolos, que pode ser adotada para a otimização e garantia de sucesso do tratamento. Nesse caso, opta-se pela utilização de agentes similares àqueles usados durante a fase de indução. É um tratamento que vem sendo utilizado e comprovado como elemento essencial nos protocolos de tratamento de LLA (SEIBA et al., 2008; INABA et al., 2014). Nessa fase, Vincristina e L-Asparaginase têm demonstrado melhorias no prognóstico de pacientes de alto risco. Os pacientes tratados com forte intensidade, mas não com duração prolongada, demonstraram melhores resultados (SEIBA et al., 2008; MATLOUB et al., 2012).

2.3.3 TERAPIA DE MANUTENÇÃO

A finalidade da terapia de manutenção é de evitar o relapso e prolongar a remissão. Nessa fase, utiliza-se 6-mercaptopurina diariamente, Metotrexato semanal, Vincristina e pulsos mensais de Prednisona ou Dexametasona administrado por 2 a 3 anos, sendo o tratamento mais prolongado para adolescentes e crianças do sexo masculino, em alguns protocolos, e mantem a profilaxia para o SNC (JABBOUR et al., 2005; COOPER & BROWN, 2015; PAUL et al., 2016; SEITER et al., 2017).

Ambos, Mercaptopurina e Tioguanina, podem ser utilizados e são análogos estruturais da Hipoxantina e Guanina respectivamente, pois inibem a síntese *de novo* de purinas, evitando a replicação celular (INABA et al., 2014). É a parte final e mais longa etapa de tratamento na LLA. A adoção da fase de manutenção prolongada tem demonstrado uma diminuição no risco de relapso (COOPER & BROWN, 2015).

2.4 L-ASPARAGINASE

2.4.1 TERAPIA NA LEUCEMIA LINFÓIDE AGUDA (LLA)

Uma estratégia para eliminar a constante replicação celular de células tumorais, é evitando o fornecimento de aminoácidos necessários para a síntese de proteínas que permitam o funcionamento e sobrevivência da célula, consequentemente induzindo a apoptose celular (GUILLEME et al., 2013; KRALL et al., 2016). Para essa estratégia, a L-Asparaginase é utilizada desde o final dos anos 1960 (RAJA, 2012). É uma enzima que catalisa a reação de transformação do aminoácido L-Asn em ácido aspártico (SHRIVASTAVA et al., 2016).

A primeira descoberta da atividade antitumoral da enzima L-asparaginase ocorreu devido a observação em que a utilização do sangue de cobaia causou uma rápida e algumas vezes completa remissão em camundongos portadores de leucemia (KIDD, 1953). Desde então, pesquisas vem sido feitas em todo o mundo. Até que Broome (1961) reportou que a atividade da L-Asparaginase no soro de cobaias foi responsável pelos efeitos antitumorais (BROOME, 1961, 1963). Então mais estudos foram feitos até que foi descoberto que *Escherichia coli* rendeu preparações de L-Asparaginase que eram capazes de inibir esses tipos de tumores (MASHBUR & WRISTON, 1964; BROOME, 1965). Em sequência, a L-

asparaginase derivada da *E. coli* começou a ser desenvolvida como droga para ser utilizada em pacientes com leucemia (AVRAMIS& TIWARI, 2006).

A L-Asparaginase está disponível em 3 preparações: a derivada da *E. coli*, da *Erwinia caratovora*, e o conjugado succinimidil monoetoxipolietileno glicol de *E. coli* L-Asparaginase, ou PEG-Asparaginase (BERG; PIETERS et al., 2011). Essas formulações, exibidas no quadro 5, possuem diferentes tempos de meia-vida (PEG-Asparaginase > *E. coli* > *Erwinia caratovora*). Por isso, a mais recomendada vem sendo a PEG-Asparaginase (INABA et al., 2013). Entretanto, a atividade da PEG-Asparaginase e a nativa da *E. coli* podem sofrer ação de anticorpos anti-*E. coli* L-Asparaginase, muitas vezes inativando a enzima e causando reações de hipersensibilidade no paciente. Sendo assim, nos casos em que houver a detecção de uma grande quantidade desses anticorpos deve-se considerar o uso da enzima derivada da *Erwiniacaratovora* (WILLER et al., 2011). Hoje as mais comuns são: A Elspar, proveniente da *E. coli* produzida pela indústria farmacêutica Merck® e a Erwinase da Speywood®, proveniente da *Erwinia caratovora* (DUVAL et al., 2002).

Sua administração conjunta com Dexametasona pode ter uma interação farmacocinética, devido a um aumento na síntese paralela de proteínas envolvidas no *clearance* da Dexametasona em pacientes com alta quantidade de anticorpos anti-L-Asparaginase, podendo levar à um aumento no risco de relapso (KAWEDIA et al., 2012).

Quadro 5: Tempo de meia-vida de eliminação das asparaginases e as doses administradas mais frequentes nos tratamentos para LLA.

Formulação	Tempo de meia-vida de eliminação	Dosagem
Asparaginase nativa da <i>E. coli</i>	26 - 30 h	6.000 UI/m ² (3x / semana)

PEG-asparaginase	5,5 - 7 dias	2.000 - 2.500 UI/m ² (a cada 2 ou 4 semanas)
Asparaginase <i>Erwinia</i>	16 h	6.000 UI/m ² (diariamente x 10 doses, em seguida 3 doses semanais), ou 30.000 UI/m ² (diariamente x 10 doses na indução)

Fonte: Traduzido e adaptado de SHRIVASTAVA et al. (2016)

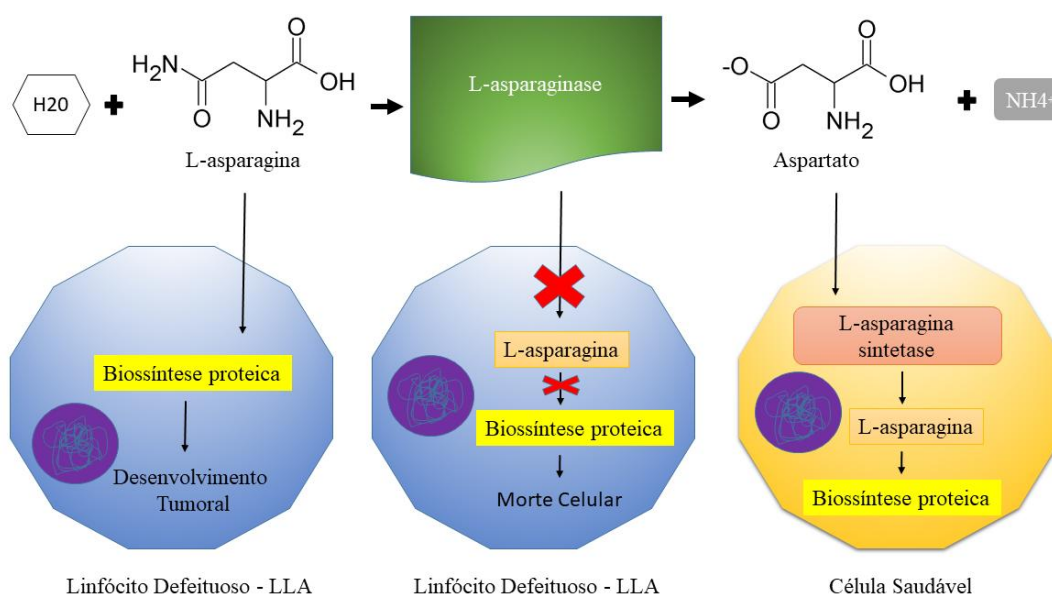
A adição da L-asparaginase nos regimes de tratamento pediátrico, adolescente e adultos para LLA vem demonstrado uma melhoria significativa (Ho et al., 1970; AVRAMIS & TIWARI, 2006; PIETERS et al., 2011; PAUL et al., 2016). Em adultos e adolescentes, o uso de L-asparaginase pode trazer uma toxicidade elevada (PATEL et al., 2013), porém vem sido amplamente estudadas as formulações, como a Asparaginase encapsulada no eritrócito, que visa diminuir a toxicidade e aumentar o direcionamento da droga (HUNAULT-BERGER et al., 2015).

2.4.2 MECANISMO DE AÇÃO

As enzimas são proteínas organicamente sintetizadas, algumas vezes usadas como drogas, que aceleram, especificamente e eficientemente uma reação de um determinado substrato. Essas proteínas quando sintetizadas por bactérias, podem trazer algumas desvantagens, tais como pureza das proteínas, farmacocinética limitada e muitas vezes toxicidade, devido a imunogenicidade, por ser provida de um ser procaríoto (AVRAMIS & TIWARI, 2006). Sendo assim, possuindo uma limitada biodistribuição e rápida eliminação da circulação (CAPIZZI & HOLCENBERG, 1993). A L-asparaginase derivada da *E. coli* é uma proteína tetrâmera ativa, com subunidades idênticas, cada uma com um peso molecular de 35,6 kDa (SWAIN et al., 1993).

Todas as formulações de L-Asparaginase (L-Asparagina amino hidrolase) compartilham do mesmo mecanismo, enquanto enzima da classe hidrolase, que catalisa a degradação da L-asparagina – um aminoácido (amido de ácido 2-aminosuccínico), em ácido aspártico e amônia (Figura 2), causando a depleção dos níveis de asparagina no sangue (LANG, 1904; MÜLLER et al., 1998; EGLER et al., 2016).

Figura 2: Representação esquemática do mecanismo de ação da L-asparaginase



Fontes: Elaborado pelo autor, segundo VAN DEN BERG (2011).

Linfócitos Leucêmicos e algumas outras células tumorais, contém níveis muito baixos, ou níveis quase ausentes de L-asparagina Sintetase, não sintetizando L-Asn *de novo*, assim sendo dependentes da L-Asn presente no sangue (PRAGER et al., 1968; KIRIYAMA et al., 1989; KILLANDER et al., 1976). A enzima L-asparaginase faz com que haja uma depleção na L-Asn presente no sangue e elimina células tumorais através da privação desse aminoácido essencial para a síntese proteica, assim o linfócito defeituoso não passará da fase G1 do ciclo de vida celular, levando a apoptose em células leucêmicas suscetíveis (LEE et al., 1989; KEATING et al., 1993). No entanto, as células saudáveis do

organismo possuem a L-Asparagina Sintetase, portanto, não serão tão afetadas pelo efeito da depleção quanto nas células tumorais (STAMS et al., 2003; KOTZIA et al., 2007; VAN DEN BERG, 2011).

2.4.3 EFEITOS ADVERSOS E RESTRIÇÕES

Os principais efeitos adversos da L-Asparaginase são: pancreatite, hipercoagulabilidade, disfunção do fígado, reações alérgicas e choque anafilático (DE ANGELO et al., 2015; KOPRIVNIKAR et al., 2017). A pancreatite é definida pela presença histológica de inflamação no parênquima pancreático, presença de edema intersticial, infiltração por células inflamatórias e níveis diferentes de apoptose, necrose e hemorragia (BRADLEY, 1993). Sua forma aguda é um processo reversível, com a diminuição da dosagem ou interrupção do tratamento. Sua patofisiologia ainda não está bem definida (VROOMAN, 2010), mas está provavelmente relacionada a diminuição da L-Asn circulante, atingindo órgãos que normalmente tem alta síntese de proteínas, tal como o fígado e o pâncreas (RAJA et al, 2012).

A L-asparaginase é diretamente tóxica aos hepatócitos, inibindo a síntese de proteínas e a exportação de lipoproteínas e lipídeos, levando a esteatose hepática e disfunção hepática (CHRIST et al., 2017). A hipercoagulabilidade (trombose) é, provavelmente, causada pelo efeito secundário da inibição da síntese de proteínas hemostáticas dependentes de L-Asn no fígado, como a anti-trombina. (ELLIOT et al., 2004; CARUSO, et al; 2006; TREVOR et al.; KOPRIVNIKAR et al., 2017).

A Hipersensibilidade à L-Asparaginase está relacionada com a ação imune dos anticorpos anti-asparaginase (WILLER et al., 2011; BURKE et al., 2014), que é o efeito adverso mais frequente relatado (LOPEZ-SANTILLAN et al., 2017). Quando há a presença, em grande quantidade desses anticorpos, não causa apenas a hipersensibilidade clínica, mas também causa a inativação da proteína no organismo, conseqüentemente impedindo que ocorra o efeito terapêutico de depleção desejado (PIETERS et al., 2011).

Estes efeitos são chamados de hipersensibilidade silenciosa ou inativação silenciosa (PANASYAN et al., 2004).

Os produtos da reação realizada pela L-asparaginase podem estar envolvidos com sintomas e efeitos adversos do seu uso. A alta quantidade de amônia gerada e presente no sangue circulante pode estar relacionada com a hepatotoxicidade e encefalopatia. A L-asparaginase também atua em outras reações catalíticas, como a hidrólise da L-glutamina, um competidor inibitório da L-Asn, que aparece em grande quantidade após a depleção da L-Asn (VAN DER BERG, et al., 2011). Para as mais comuns asparaginases (provenientes de *E. coli* e *Erwinia*), a atividade de glutaminase está por volta dos 5%, quando comparada com a atividade de L-asparaginase da enzima (WRISTON & YELLIN, 1973; VAN DER SLUIS et al., 2013). Os efeitos adversos também estão relacionados a sua atividade L-glutaminase. A atividade de L-glutaminase da enzima resulta em redução dos níveis plasmáticos de L-glutamina e geração de Glutamato (AVRAMIS et al., 2002). Ambos, glutamato e aspartato, resultados da catálise da L-asparaginase, podem estar envolvidos com a neurotoxicidade, responsável por sintomas como tontura, fadiga, depressão, sonolência, agitação e irritabilidade, que atinge cerca 25% dos pacientes realizando o tratamento, sendo a maioria adultos (POCHEDLY, 1972).

2.4.4 PRODUÇÃO

O esquema de produção da enzima é dividido em 2 principais etapas: a produção através da utilização de um microrganismo e a purificação da proteína para uso humano, como exibido na figura 3. A produção da enzima é, principalmente, por fermentação submersa (LOPES et al., 2015).

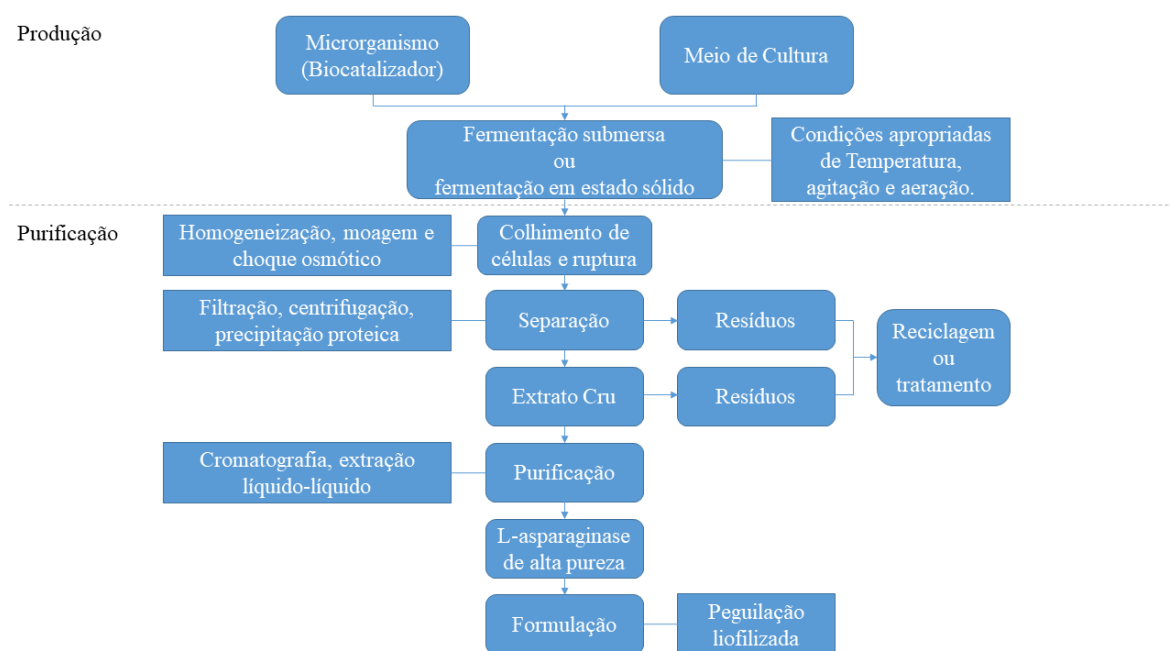
Para a produção industrial de L-asparaginase, certas variáveis devem ser cautelosamente avaliadas e levadas em consideração para obter alto rendimento e viabilidade econômica. Os principais fatores a serem levados em consideração, na produção microbiológica dessa enzima são: pH, fontes de nitrogênio, aeração, temperatura, tempo de fermentação e principalmente o agente microbiano (GURUNATHAN & SAHADEVAN, 2012).

Diferentes meios de cultura vêm sendo estudados para a produção da L-asparaginase. Porém, a fonte de nitrogênio, tem se mostrado um fator mais influenciador e determinante no meio. Sendo a glicose a mais utilizada, e como alternativa a maltose e amido (FARAG et al., 2015).

Após o processo de produção biológica por um microrganismo, é realizada a etapa de purificação da proteína. A extração e purificação, são etapas cruciais na produção e as de maior custo, cerca de 50-80% do total (CACHUMBA et al., 2016). Sendo criteriosamente necessário que haja um alto nível de pureza, uma vez que a maioria dos microrganismos produz a enzima intracelularmente e, no momento da extração, as organelas do microrganismo e outras moléculas virão juntamente com a enzima, podendo acarretar reações imunológicas ao ser humano (CACHUMBA et al., 2016). Os processos de produção subsequentes são a centrifugação, filtração, extração líquido-líquido cromatografia e precipitação da proteína. Para a produção industrial a precipitação de proteínas é uma técnica muito valiosa por ser de baixo custo, ter alto rendimento e com possibilidade de reutilizar o precipitado. O agente precipitante pode ser reciclado no final do processo, evitando o dano ambiental (LOPES et al., 2015). Além disso, outra etapa muito importante é a cromatografia, utilizada para garantir o alto grau de pureza da enzima, como a de troca iônica, exclusão por tamanho, filtração em gel e por afinidade. (LOPES et al., 2015).

A conjugação com polietileno glicol (PEG), ou Peguilação, vem sendo utilizado para diminuir os efeitos adversos e melhorar a cinética e mais tempo de presença da molécula no organismo (INABA et al., 2013). Mas essa etapa de Peguilação pode resultar em perda de atividade biológica de conjugado quando comparado com a enzima nativa (CACHUMBA et al., 2016).

Figura 3: Fluxograma de produção da L-asparaginase



Fonte: Traduzido e adaptado de CACHUMBA et al. (2016).

2.4.4.1 PERSPECTIVAS

A L-asparaginase está presente em mamíferos, aves, plantas e microrganismos (EL-Bessoume et al., 2004). Entretanto, apesar da vasta quantidade de organismos produtores, hoje sua produção é feita na maioria das vezes por microrganismos, os mais pesquisados são: *Escherichia coli*, *Erwinia carotovora*, *Pseudomonas fluorescens*, *Serratia marcescens*, *Proteus vulgaris*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Karnatakensis Streptomyces*, *Streptomyces venezuelae* e fungos, tais como *Aspergillus*, *Penicillium* e *Fusarium* (CACHUMBA et al., 2016).

Mas por outro lado, a procura pela produção de L-asparaginase através da fermentação por fungos vem aumentando, a fim de eliminar ou diminuir moléculas que causam os efeitos adversos, uma vez que provenientes de seres procariotos, podem causar reações de hipersensibilidade e inativação da enzima pelo sistema imune humano (WILLER et al., 2011; LOPEZ-SANTILLAN et al., 2017). Portanto, a enzima proveniente de um ser eucarioto pode possuir menos efeitos adversos apresentados durante o uso do medicamento (SHRIVASTAVA et al., 2012; LOPES et al., 2015). Partindo desse pressuposto, vários estudos foram conduzidos com o objetivo de sintetizar a L-asparaginase em fungos. O Gênero *Aspergillus* vem demonstrado uma boa produção a partir da Fermentação em meio sólido (LOPES et al., 2015).

Estudos têm revelado que *Aspergillus niger* tem um grande potencial, porém requer um meio de produção mais complexo e é inferior ao rendimento de bactérias. Entretanto, ainda podem diminuir efeitos adversos apresentados no paciente. Existem também outras 20 espécies que podem ser exploradas e utilizadas caso demonstrem um rendimento e efeito satisfatórios (LOPES et al., 2015; USMAN et al., 2016).

Além disso, estudo com fermentação em estado sólido demonstraram que esse tipo de fermentação pode ser uma boa alternativa para produção extracelular, já que permite empregar resíduos agroindustriais, como grãos de soja como fonte de nutrientes (LOPES et al., 2015).

2.5 SITUAÇÃO DA L-ASPARAGINASE NO BRASIL

Hoje no mundo, vários países produzem e vêm buscando novos meios biotecnológicos de produção para a L-asparaginase direcionada ao tratamento de LLA. Entretanto, nenhuma indústria no Brasil, atualmente, possui o registro e certificado de Boas Práticas de Fabricação para a produção desse medicamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017). Além disso, em 2013, o fabricante que exportava para o Brasil a L-Asparaginase dispensada pelo Sistema Único de Saúde, do Ministério da Saúde, (SUS-MS), cessou a produção dessa enzima e, conseqüentemente, o fornecimento para o país (CARMINO, 2012).

Até o ano de 2011, o governo federal fornecia para os hospitais a L-asparaginase Elspar, fabricada então pela Merck Sharp & Dohme ®, através do laboratório Bagó, que detinha o registro sanitário no Brasil para este medicamento. Porém o registro foi perdido em 2011, o que trouxe preocupação às entidades médicas como Associação Brasileira de Hematologia, Hemoterapia e Terapia Celular (ABHH) e Sociedade Brasileira de Oncologia Pediátrica (SOBOPE) (CARMINO, 2012).

O laboratório fornecedor, Bagó, solicitou novamente o registro do Elspar na Anvisa no final de 2012, porém só havia medicamento o suficiente para abastecer 6 meses. No ano de 2013, a SOBOPE alerta sobre a falta do medicamento em hospitais em vários países do mundo, alertando ao Ministério da Saúde sobre o caráter agravante e emergencial, solicitando a importação e distribuição de L-asparaginase da empresa alemã Medac ® ou a

PEG-asparaginase da norte americana Sigma Tau ®, nos hospitais da rede privada e pública (SOBOPE, 2013).

O ministério da Saúde então, diante da emergência, aprova a autorização de importação da Aginasa, da Medac ®. Então o laboratório Bagó, iniciou a importação, através de licença especial em março de 2013 e o envio a hospitais desde 2013, porém em nota, o laboratório informa ao Ministério da Saúde, que o abastecimento estaria previsto, somente, até 2014 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014).

Em outubro de 2014 o Ministério da saúde realiza a aquisição centralizada da Aginasa por via da Bagó, para abastecimento até janeiro de 2017. Para que a partir daí, se desse início ao abastecimento, que se iniciou em 2015. Entretanto a ANVISA indeferiu o registro do medicamento (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2014; 2015).

Visando o adiantamento para o desabastecimento em 2017, o MS inicia novo processo de compra, por dispensa de licitação com cotação internacional, e em 2017 o Ministério da Saúde realizou a compra de Leuginase da empresa chinesa Beijing/Xetley, a concorrente de menor preço. Esta fornecedora possuía especificações estabelecidas na farmacopeia de país de origem, registro do medicamento e certificado de boas práticas de fabricação. Diante esse processo de aquisição, em janeiro de 2017 o Ministério da Saúde importou a Leuginase, garantindo o estoque do medicamento até junho deste ano (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2017).

No entanto, o registro desse medicamento se mostra essencial para continuidade do tratamento eficaz da LLA no país. Para o registro do medicamento biológico na ANVISA pré-requisitos de Qualidade, Estabilidade e Processo de Fabricação devem ser preenchidos e cumpridos conforme as necessidades regulatórias do órgão sanitário.

3 CONCLUSÃO

A L-Asparaginase é uma enzima, utilizada como medicamento que possui papel essencial no tratamento de doenças tais como leucemia linfóide aguda, melanosarcoma e reticulosarcoma. No caso da LLA a incidência da doença é maior em crianças, que correspondem a 80% dos casos. Segundo registros do (INCA) LLA causou 5.789 óbitos em crianças de 0 a 14 anos no ano de 2000 a 2014, e com maior frequência no sexo masculino.

A taxa de sobrevivência chega a quase 90% para grupos com um bom prognóstico. Resultado obtido devido ao avanço tecnológico e em estudos para desenvolvimento de novas terapias e diagnóstico individualizado, podendo assim adaptar a terapia individualmente, com base na farmacogenômica individual e maiores cuidados e suporte dado ao paciente leucêmico.

A L-asparaginase está presente nos protocolos estabelecidos pelas associações médicas de tratamento. Seu mecanismo de ação se baseia na diminuição da disponibilidade do aminoácido L-Asn, impedindo a síntese proteica pela célula tumoral que, diferentemente da célula saudável, não é capaz de sintetizar o aminoácido, fazendo com que seja específica para esse tipo de célula, evitando então, os efeitos adversos dos outros quimioterápicos utilizados para o tratamento de LLA.

Os efeitos adversos do tratamento com L-asparaginase, são: pancreatite, hipercoagulabilidade, disfunção do fígado, reações alérgicas e choque anafilático e neurotoxicidade. A neurotoxicidade pode estar relacionada com a atividade de Glutaminase, aumentando o nível de glutamato no organismo. Os outros efeitos citados são

causados pela depleção e a baixa quantidade de L-Asn circulante no sistema e no caso da hipersensibilidade e choque anafilático, ocorre devido a reação imune dos anticorpos anti-asparaginase, que podem ser diminuídos quando provenientes de seres eucariotos, como fungos. Com essa intenção de melhorar o tratamento e reduzir os efeitos colaterais, vem sendo realizadas várias pesquisas que buscam uma produção ideal de L-asparaginase. Nesse sentido, os resultados desses estudos devem ser levados em consideração, de modo a otimizar o fármaco produzido, através de um organismo produtor que gere uma proteína com alto grau de pureza e menos efeitos adversos.

A Peguilação tem grande relevância e deve ser considerada. A asparaginase Peguilada (PEG-asparaginase) tem a vantagem de durar mais tempo no organismo, aumentando o tempo de ação do fármaco. A enzima é geralmente produzida através da *E. coli*, através da fermentação submersa. Entretanto estudos revelam que é possível se obter um bom rendimento utilizando a fermentação em meio sólido, ou utilizando outros microrganismos, sem gerar mais custos de produção.

Hoje no Brasil, a L-asparaginase é importada, tendo em vistas que nenhuma indústria farmacêutica aqui instalada possui o registro e certificado de produção para comercialização. No cenário atual, o país já enfrentou desabastecimento desse fármaco, o que resultou na preocupação dos pacientes e dos profissionais que tratam das doenças que utilizam dessa enzima em suas diretrizes e protocolos de tratamento. Desta forma é de grande interesse a produção nacional deste biofármaco.

4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDUL, W. S. F.; ISMAIL N. A.; MOHD-IDRIS M. R.; et al. Comparison of reduced-intensity and myeloablative conditioning regimens for allogeneic hematopoietic stem cell transplantation in patients with acute myeloid leukemia and acute lymphoblastic leukemia-A meta-analysis. **Stem Cells Dev**, v. 23, n. 21, julho 2014.

ALHUSSAINI M. S. Mycobiota of wheat flour and detection of α -amylase and L-asparaginase enzymes. **Life Sci J**, n. 10, p. 1112–1122, 2013.

AMENA S.; VISHALAKSHI N.; PRABHAKAR M.; et al. Production, purification and characterization of L-asparaginase from *Streptomyces gulbargensis*. **Braz J Microbiol**, n. 41, p. 173–178, 2014.

AVRAMIS, V. I.; TIWARI, P. N. Asparaginase (native ASNase or pegylated ASNase) in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. **Int J Nanomedicine**, v. 1, n. 3, p. 241-254, 2006.

BASSAN R. & HOELZER D. Modern Therapy of Acute Lymphoblastic Leukemia. **J Clin Oncol**, v. 29, n. 5, p. 532-543, fevereiro, 2011.

BASSO G.; VELTRONI M.; VALSECCHI M. G.; et al. Late MRD response determines relapse risk overall and in subsets of childhood T-cell ALL: results of the AIEOP-BFM-ALL 2000 study. **Blood**, v. 118, p. 2077-2084, 2011.

BATHIA S.; ROBINSON L.; NATHAN D. G.; ORKIN S. H.; GINSBURG D.; Epidemiology Of Leukemia In Childhood. **Hematology of Infancy and childhood**, p. 1081–100, 2014.

BELSON, M.; KINGSLEY, B.; HOLMES, A. Risk factors for acute leukemia in children: a review. **Environmental Health Perspectives**, v. 115, n. 1, p. 138-145, 2007.

BRADLEY, III, E. L. A clinically based classification system for acute pancreatitis. Summary of the International Symposium on Acute Pancreatitis. **Archives of Surgery**, v. 128, p. 586-590, 1992.

BRANDALISE, S. R.; VIANA, M. B.; PINHEIRO V. R. P. et al. Shorter maintenance therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia: the experience of the prospective, randomized Brazilian GBTLI ALL-93 **Procol. Front. Pediatr**, v. 4, n. 110, 2016.

BRASIL. Constituição da República Federativa do Brasil: promulgada em 5 de outubro de 1988. Disponível em:
<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/constituicao/constituicaocompilado.htm>.
Acesso em: setembro de 2017.

_____. Lei n. 8.080, de 19 de setembro de 1990. Dispõe sobre as condições para a promoção, proteção e recuperação da saúde, a organização e o funcionamento dos serviços correspondentes e dá outras providências. Disponível em:
<http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/leis/L8080.htm>. Acesso em: setembro de 2014.

_____. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). **Resolução RDC n. 55**, de 16 de dezembro de 2010. Dispõe sobre o registro de produtos biológicos novos e produtos biológicos e dá outras providências. Disponível em:
<http://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2010/res0055_16_12_2010.html>
Acesso em: 03 de outubro. 2017.

_____. Ministério da Saúde. ATENDIMENTO À IMPRENSA (ASCOM). **Ministério da Saúde enviou medicamento para teste de qualidade.**
<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/28021-ministerio-da-saude-enviou-medicamento-para-teste-de-qualidade>>. Acesso em: maio de 2017, 2017

_____. Ministério da Saúde. ATENDIMENTO À IMPRENSA (ASCOM). **Autorização para importação da L-Asparaginase.**
<http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/nota-autorizacao-para-importacao-da-l-asparaginase/219201/pop_up?inheritRedirect=false>. Acesso em: agosto de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde. PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Brasil amplia produção de medicamentos biológicos.**
<http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/nota-autorizacao-para-importacao-da-l-asparaginase/219201/pop_up?inheritRedirect=false>. Acesso em: agosto de 2017, 2013.

_____. Ministério da Saúde. PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Brasil amplia produção de medicamentos biológicos.**
<http://portal.anvisa.gov.br/noticias/-/asset_publisher/FXrpx9qY7FbU/content/nota-autorizacao-para-importacao-da-l-asparaginase/219201/pop_up?inheritRedirect=false>. Acesso em: agosto de 2017, 2013.

_____. Ministério da Saúde. PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Seis laboratórios atestam L-Asparaginase adquirida pelo Ministério da Saúde.**
<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude>>

saude/29718-seis-laboratorios-atestam-l-asparaginase-adquirida-pelo-ministerio-da-saude>. Acesso em: outubro de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde.PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Saúde garante medicamento contra leucemia infantil.** Disponível em <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/noticias-antiores-agencia-saude/4480-saude-garante-medicamento-contraleucemia-infantil>>. Acesso em: outubro de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde.PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Ministério da Saúde apresenta para a indústria lista de produtos prioritários.**<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/16106-ministerio-da-saude-apresenta-para-a-industria-lista-de-produtos-prioritarios>>. Acesso em: outubro de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde.PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Ministério da Saúde fez consulta mundial para compra de asparaginase.**<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/27975-ministerio-fez-consulta-mundial-para-compra-de-asparaginase>>. Acesso em: outubro de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde.PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Ministério da Saúde esclarece sobre troca de laboratório de remédio para Leucemia.**<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/27916-ministerio-da-saude-esclarece-sobre-troca-de-laboratorio-de-remedio-para-leucemia>>. Acesso em: outubro de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde.PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Ministério da Saúde enviou medicamento para teste de qualidade.**<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/28021-ministerio-da-saude-enviou-medicamento-para-teste-de-qualidade>>. Acesso em: outubro de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde.PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Nota sobre compra de asparaginase.**<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/28397-nota-sobre-compra-de-asparaginase>>. Acesso em: outubro de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde.PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Ministério recorrerá de importação de medicamento reprovado pela ANVISA.**<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/28398-ministerio-recorrera-de-importacao-de-medicamento-reprovado-pela-anvisa>>. Acesso em: outubro de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde. PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Ministério da Saúde envia resultado de teste de segurança a entidades médicas e farmacêuticas.** <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/28470-ministerio-da-saude-envia-resultado-de-teste-de-seguranca-a-entidades-medicinas-e-farmacaceuticas>>. Acesso em: outubro de 2017, 2017.

_____. Ministério da Saúde. PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Brasil amplia produção de medicamentos biológicos.** <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/noticias-antiores-agencia-saude/4270-brasil-amplia-producao-de-medicamentos-biologicos>>. Acesso em: outubro de 2017, 2013.

_____. Ministério da Saúde. PORTAL DA SAÚDE, ANVISA. **Medida provisória viabilizará compra de penicilina para combater sífilis.** <<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/27000-mp-viabilizara-compra-de-penicilina-para-combater-sifilis>>. Acesso em: outubro de 2017, 2016.

BROOME, J. D. Antilymphoma activity of L-asparaginase in vivo: clearance rate of enzyme preparations from guinea pig serum and yeast in relation to their effects on tumor growth. **J Natl Cancer Inst**, v. 35, n. 6, p. 967–974, dezembro 1965.

BROOME, J. D. Evidence that the L-asparaginase activity of guinea pig serum is responsible for its anti-lymphoma effects. I. Properties of the L-asparaginase of guinea pig serum in relation to those of the antilymphoma substance. **J Exptl Med**, v. 118, p. 99–120, julho 1963.

BROOME, J. D. Evidence that the L-asparaginase activity of guinea pig serum is responsible for its anti-lymphoma effects. **Nature**, v. 191, p. 1114–1115, 1961.

BURKE, M. J.; How to manage asparaginase hypersensitivity in acute lymphoblastic leukemia. **Future Oncol**, v. 10, n. 16, p. 2615-2627, 2014.

BUSSOLATI O.; BELLETTI S.; UGGERI J.; et al. Characterization of apoptotic phenomena induced by treatment with L-asparaginase in NIH3T3 cells. **Exp Cell Res**, n. 220, p. 283–291, 1995.

CACHUMBA, J. J. M.; ANTUNES, A. F.; PERES, G. F. D.; et al., Current applications and diferente approaches for microbial L-asparaginase production. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 47S, p. 77-85, 2016.

CAMPANA D. Minimal residual disease monitoring in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Curr Opin Hematol**, 2012.

CANIZA M. A.; ODIO C.; MUKKADAS, et al. Infectious complications in children with acute lymphoblastic leukemia treated in low-middle-income countries. **Expert Rev Hematol**. v. 27, p. 1-19, 2015.

CAPIZZI, R. L.; BERTINO, J. R.; SKEEL, R. T.; et al. L-asparaginase: clinical, biochemical, pharmacological, and immunological studies. **Ann Intern Med**. v. 74, p. 893-901, 1971.

CARMINO, A. S. What is happening with the supply of oncology drugs in Brazil and the world? **Rev Bras Hematol Hemoter**. v. 34, n. 1, p. 1-2, 2012.

CARUSO, V.; IACOVIELLO, L.; DI CASTELNUOVO A.; et al. Thrombotic complications in childhood acute lymphoblastic: a meta-analysis of 17 prospective studies comprising 1752 pediatric patients. **Blood**. v. 108, n. 7, p. 2216-2222, outubro 2006.

CIMINO, G.; LO COCO, F.; BIONDI, A.; ELIA, L.; et al. ALL-1 Gene at Chromosome 11q23 Is Consistently Altered in Acute Leukemia of Early Infancy. **Blood**, v. 82, n. 2, p. 544-546, 1993.

COOK, S. N. et al. Infant Cancers in California, 1988-2011. Sacramento, CA: California Cancer Reporting and Epidemiologic Surveillance (CalCARES) Program, Institute for Population Health Improvement, **University of California Davis Health System**, Julho 2014.

COOPER, S. L.; BROWN P. A. Treatment of Pediatric Acute Lymphoblastic Leukemia. **Pediatr Clin North Am**, v. 62, n. 1, p. 61-73, fevereiro 2015.

CRHIST, T. N.; STOCK, W.; KNOEVEL, R. W. Incidence of asparaginase-related hepatotoxicity, pancreatitis and thrombotic events in adults with acute lymphoblastic leukemia treated with a pediatric-inspired regimen. **J Oncol Pharm Practice**. v. 0, n. 0, p. 1-10, fevereiro 2017.

ARBER D. A.; ATTILIO O.; HASSERJIAN R.; et al. The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. **Blood**. v. 127, n. 20, p. 2391-2405, abril 2016.

DEANGELO, D. J.; STEVENSON K. E.; DAHLBERG S. E.; et al. Long-term outcome of a pediatric-inspired regimen used for adults aged 18–50 years with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia**, v. 29, p. 526–534, 2015.

DEL PRINCIPE, M. I.; MAURILLO, L.; BUCCISANO, F.; et al. Central Nervous System Involvement in Adult Acute Lymphoblastic Leukemia: Diagnostic Tools, Prophylaxis, and Therapy. **Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases**, v. 6, n. 1, p e2014075, novembro 2014.

DHALE, M. A.; MOHAN-KUMARI, H. P. A comparative rapid and sensitive method to screen L-asparaginase producing fungi. **Journal of Microbiological Methods**, v. 102, n.1 , p. 66-68, 2014.

Di GAETANO N.; XIAO Y.; ERBA E. Synergism between fludarabine and rituximab revealed in a follicular lymphoma cell line resistant to the cytotoxic activity of either drug alone. **Br J Haematol**, v. 114, p. 800-809, 2001.

EGLER, R. A.; AHUJA, S. P.; MATLOUB, Y. L-asparaginase in the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia. **Journal of Pharmacology & Pharmacotherapeutics**, v. 7, n. 2, p. 62-71, 2016.

EL-BESSOUMY A. A.; SARHAN, M.; MANSOUR, J. Production, isolation, and purification of l-asparaginase from *Pseudomonas aeruginosa* 50071 using solid-state fermentation. **J Biochem Mol Biol**, v. 37, n. 4, p. 387-393, 2004.

ELLIOT, M. A.; WOLF R. C.; HOOK, C. C.; et al. Thromboembolism in adults with acute lymphoblastic leukemia during induction with l-asparaginase containing multi-agent regimens: incidence, risk factors, and possible role of antithrombin. **Leuk Lymphoma**, v. 45, n. 8, p. 1545-1549, agosto 2004.

FADERL, S.; KANTARJIAN, H. M.; et al. The biology and therapy of adult acute lymphoblastic leukemia. **Cancer**, v. 98, p. 1337–1354, 2017.

FARAG, A. M.; HASSAN, S. W.; BELTAGY, E. A.; EL-SHENAWY, M. A. Optimization of production of anti-tumor l-asparaginase by free and immobilized marine *Aspergillus terreus*. **Egypt J Aquat Res**, v.41, n. 4, p. 295-302 ,2015.

FERNANDEZ, C.; CAI, X.; ELOZORY, A.; et al. High-throughput asparaginase activity assay in serum of children with leukemia. **Int J Clin Exp Med**, v. 6, n. 7, p. 478-487, 2013.

FERNANDEZ, C.; CAI, X.; ELOZORY, A.; et al. High-throughput asparaginase activity assay in serum of children with leukemia. **Int J Clin Exp Med**, v. 6, n. 7, p. 478-487, 2013.

FRIEDMANN A. M.; WEINSTEIN H. J. The role of prognostic features in the treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Oncologist**, v. 5, n. 4, p. 321-328, 2000.

FULLMER, A.; O'BRIEN, S.; KANTARJIAN, H.; JABBOUR E. Emerging therapy for the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Expert Opin. **Emerging Drugs***, v. 15, n. 1, p. 1-11, 2010.

GERINIERE L.; BASTION Y.; DUMONTET C.; SALLES G.; ESPINOUSE D.; COIFFIER B. Heterogeneity of acute lymphoblastic leukemia in HIV-seropositive patients. **Ann Oncol**, v. 5, p. 437-440, 1994.

GLASS, D.; GRAY, C.; JOLLEY, D.; et al. Leukemia Risk Associated With Low-Level Benzene Exposure. **Epidemiology**, v. 14, n. 5, p. 569-577, 2003.

GRIGOROPOULOS, N.F.; PETTER, R.; VAN 'T VEER, M.B.; SCOTT, M.A.; FOLLOWS, G.A. Leukemia update. Part 1: diagnosis and management. **BMJ**, v. 346, n. f1660, 2013.

GUILLEME, C.; DELGADO, R.; NAVARRO, J.; et al. Actualización del tratamiento con L-asparaginasa en Pediatría. **An Pediatr (Barc)**, v. 79, n. 5, p. 329e321-329e311, 2013.

GURUNATHAN, B.; SAHADEVAN, R. Design of Experiments and Artificial Neural Network Linked Genetic Algorithm for Modeling and Optimization of L-asparaginase Production by *Aspergillus terreus* MTCC 1782. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 16, n. 1, p. 50-58, 2011.

HALLEK M. Chronic lymphocytic leukemia: 2015 Update on diagnosis, risk stratification, and treatment. **Am J Hematol**, 2015.

HARRIS, N.; JAFFE, E.; STEIN, H.; et al. A revised European-American classification of lymphoid neoplasms: a proposal from the International Lymphoma Study Group. **Blood**, v. 84, n. 5, p. 1361-1392, 1994.

HARRISON C. J. Cytogenetics of paediatric and adolescent acute lymphoblastic leukaemia. **Br J Haematol.** v. 144, p. 147-156, 2009.

HO, D. H.; WHITECAR, J. P. JR; LUCE, J. K.; et al. L-Asparagine requirement and the effect of l-asparaginase on the normal and leukemic human bone marrow. **Cancer Res,** v. 30, p. 466-472, fevereiro 1970.

HOWLADER, N. et al. SEER Cancer Statistics Review, 1975-2011. **Bethesda, MD: National Cancer Institute,** 2014.

HYMAVATHI M.; SATHISH T.; RAO C. S.; et al. Enhancement of L-asparaginase production by isolated *Bacillus circulans* (MTCC 8574) using response surface methodology. **Appl Biochem Biotechnol,** n. 159, p. 191–198, 2009.

INABA H.; GREAVES M.; MULLIGHAN C. G.; Acute lymphoblastic leukaemia. **Lancet,** v. 381, n. 9881, p. 1943 – 1955, 2013.

JABBOUR E, O'BRIEN S, KONOPLEVA M, KANTARJIAN H. New insights into the pathophysiology and therapy of adult acute lymphoblastic leukemia. **Cancer.** v. 121 n. 15, p. 2517-2528, 2015.

JABBOUR E. J.; FADERL S.; KANTARJIAN H. M.; Adult acute lymphoblastic leukemia. **Mayo Clin Proc.** v. 91, n. 11 p. 1645-1666, 2005.

JAGANNATHAN-BOGDAN M.; ZON L. I.; Hematopoiesis. **Development (Cambridge, England),** v. 140, n. 12, p. 2463-2467, junho 2013.

JEMAL A, TIWARI RC, MURRAY T, et al; American Cancer Society. Cancer Statistics, 2004. **CA Cancer J Clin,** v. 54, n. 1, p 8-29, 2004.

KAHWASH S. B.; QUALMAN S. J. Cutaneous lymphoblastic lymphoma in children: report of six cases with precursor B-cell lineage. **Pediatr Dev Pathol.** v. 5, n. 1, p. 45-53, 2002.

KANTARJIAN H.; THOMAS D.; O'BRIEN S.; et al. Long-term follow-up results of hyperfractionated cyclophosphamide, vincristine, doxorubicin, and dexamethasone (Hyper-CVAD), a dose-intensive regimen, in adult acute lymphocytic leukemia. **Cancer,** v. 101, n. 12, p. 2788-801, 2004.

KAVITHA, A.; VIJAYALAKSHMI, M. A study on L-asparaginase of *Nocardia levis* MK-VL_113. **Scientific World Journal**, p. 1-6, 2012.

KAWEDIA J. D.; LIU C.; PEI D.; et al. Dexamethasone exposure and asparaginase antibodies affect relapse risk in acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, v. 119, n. 7, p. 1658-1664, 2012.

KAWEDIA, J. D.; RYTTING, M. Asparaginase in Acute Lymphoblastic Leukemia. **Clinical Lymphoma, Myeloma & Leukemia**, v. 14, n. S3, p. S14-S17, 2014.

KEBRIAIEI, P.; ANASTAS, J.; LARSON, R. Acute lymphoblastic leukaemia: diagnosis and classification. **Best Pract Res Clin Haematol**, v. 15, n. 4, p. 597-621, 2003.

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. **J Exptl Med**, v. 98, n. 6, p. 565–582, dezembro 1953.

KILLANDER, D.; DOHLWITZ, A.; ENGSTEDT, L.; et al. Hypersensitive reactions and antibody formation during L-asparaginase treatment of children and adults with acute leukemia. **Cancer**, v. 37, n.1, p. 220–228, fevereiro 1976.

KIRIYAMA, Y.; KUBOTA, M.; TAKIMOTO T.; et al. Biochemical characterization of 4937 cells resistant to l-asparaginase: the role of asparagines synthetase. **Leukemia**, v. 3, n. 4, p294-297, 1989.

KOTZIA, G.A., et al. Tailoring structure-function properties of L-asparaginase: engineering resistance to trypsin cleavage. **Biochem J**, v. 404, n. 2, p. 337–343, junho 2007.

KRALL, A. S.; XU, S.; GRAEBER, T. G.; et al. Asparagine promotes cancer cell proliferation through use as an amino acid exchange factor. **Nature Communications**. v. 7, n. 11457, 2016.

KUMAR D. S.; SOBHA K. L-Asparaginase from microbes: a comprehensive review. **Adv Biol Res**, n. 3, p. 137–157, 2012.

KUMAR K.; KAUR J.; WALIA S.; et al. L-asparaginase, an effective agent in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. **Leuk Lymphoma**, n. 55, p. 256–262, 2014.

LARSON R. A.; DODGE R. K.; BURNS C. P.; et al. A five-drug remission induction regimen with intensive consolidation for adults with acute lymphoblastic leukemia: cancer and leukemia group B study 8811. **Blood**, v. 85, n. 8, p. 2025-2037, 1995.

LEITE, E.; MUNIZ, M.; AZEVEDO, A.; et al. Fatores prognósticos em crianças e adolescentes com leucemia linfóide aguda. **Rev. Bras. Saúde Matern. Infant**, v. 7, n. 4, p. 413-421, 2007.

LIM J. Y.; BHATIA S.; ROBISON L. L.; YANG J. J. Genomics of racial and ethnic disparities in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Cancer**, 2014; 120: 955-62.

LUND, B.; WESOLOWSKA-ANDERSEN, A.; LAUSEN, B.; et al. Host genome variations and risk of infections during induction treatment for childhood acute lymphoblastic leukaemia. **Eur J Haematol**, v. 92, p. 321–330, 2014.

MA Y.; DOBBINS S. E.; SHERBORNE A. L.; et al. Developmental timing of mutations revealed by whole-genome sequencing of twins with acute lymphoblastic leukemia. **Proc Natl Acad Sci USA**. v. 110, n. 18, p. 7429-7433, abril 2013.

MASHBURN, L. T.; WRISTON, J. C. Tumor inhibitory effect of L-asparaginase from *Escherichia coli*. **Arch Biochem**, v. 105, p. 451–452, maio 1964.

MOHAMMADI, M.; CAO, Y.; GLIMELIUS, I.; et al. The impact of comorbid disease history on all-cause and cancer-specific mortality in myeloid leukemia and myeloma – a Swedish population-based study. **BMC Cancer**, v. 15, n. 850, 2015.

MOORMAN A. V.; ENSOR H. M.; RICHARDS S. M.; et al. Prognostic effect of chromosomal abnormalities in childhood B-cell precursor acute lymphoblastic leukaemia: results from the UK Medical Research Council ALL 97/99 randomised trial. **Lancet Oncol**. v. 11, abril 2010.

MÖRICKE A.; REITER A.; ZIMMERMANN M.; et al. 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**. v. 111, n. 9, p. 4477-4489, 2008.

NACHMAN J. B.; HEEREMA N. A.; SATHER H.; et al. Outcome of treatment in children with hypodiploid acute lymphoblastic leukemia. **Blood**. v. 110, p. 1112-1115, 2007.

NARTA, U. K.; KANWAR, S. S.; AZMI, W. Pharmacological and clinical evaluation of l-asparaginase in the treatment of leukemia. **Crit Rev Oncol Hematol**. v. 61, n. 3, p. 208-221, 2007.

NIH, National Cancer institute. Childhood acute lymphoblastic leukemia treatment (PDQ®)-Health professional version. <www.cancer.gov/types/leukemia/>. Acesso em: maio de 2017.

NOMME, J.; SU, Y.; KONRAD, M.; LAVIE, A. Structures of apo and product-bound human L-asparaginase: insights into the mechanism of autoproteolysis and substrate hydrolysis. **Biochemistry**, v. 51, n. 34, p. 6816-6826, 2012.

NOSHCHENKO, A.; MOYSICH, K.; BONDAR, A.; et al. Patterns of acute leukaemia occurrence among children in the Chernobyl region. **International Journal of Epidemiology**, v. 30, n. 1, p. 125-129, 2001.

OLIVEIRA B. M.; DINIZ M. S.; VIANA M. B. Leucemias agudas na infância. **Rev. Med. Minas Gerais**. 2004; 14 (Supl. 1): 33-9.

PANOSYAN, E. H.; SEIBEL, N. L.; MARTIN-ARAGON, S.; et al. Asparaginase antibody and asparaginase activity in children with higher-risk acute lymphoblastic leukemia: Children's Cancer Group Study CCG-1961. **J Pediatr Hematol Oncol**, v. 26, n. 4, p. 217-226, abril 2004.

PATEL, B.; KIRKWOOD, A.; DEY, A.; et al. Feasibility of pegylated asparaginase (PEG-ASP) during induction in adults with acute lymphoblastic leukemia (ALL): results from UK phase 3 multicentre trial UKALL14 [abstract]. **Blood**, v. 122, n. 21, p. 3900, 2013.

PAUL, S.; KANTARJIAN H.; JABBOUR E. J. Adult Acute Lymphoblastic Leukemia. **Mayo Clin Proc**. v. 91, n. 11, p. 1645-1666, 2016.

PIETERS, R.; HUNGER, S. P.; BOOS, J.; RIZZARI, C.; SILVERMAN, L.; BARUCHEL, A.; GOEKBUGET, N.; SCHRAPPE, M.; PUI, C. H. L-asparaginase treatment in acute lymphoblastic leukemia: a focus on Erwinia asparaginase. **Cancer**, v. 117, n. 2, p. 238-249, 2011.

POCHEDLY, C. Neurotoxicity due to CNS therapy for leukemia. **Medical and Pediatric Oncology**, v. 3, p. 101-115, 1972.

PORTICH J. P.; SANTOS R. P.; KERSTING N.; et al. DNA damage response in patients with pediatric Acute Lymphoid Leukemia during induction therapy. **Leukemia Research**, v. 54, p. 59-65, 2017.

PRAGER, M. D.; BACHYNSKY N. Asparagine synthetase in l-asparaginase resistant and susceptible mouse lymphomas. **Biochem Biophys Res Commun**, v. 31, n. 1, p. 43-47, 1968.

PUI C. H.; MULLIGHAN C. G.; EVANS W. E.; et al; Pediatric acute lymphoblastic leukemia: where are we going and how do we get there? **Blood**. v. 120 n. 6, p. 1165-1174, 2012.

PUI C. H.; ROBISON L. L.; LOOK A. T. Acute lymphoblastic leukemia. **Lancet**. v. 371 n. 9617 p. 1030-1043, 2008.

RAJA, A. R.; SCHMIEGELOW, K.; FRANDSEN T., L. Asparaginase-associated pancreatitis in children. **Br J of Haematol**, v. 159, p. 18-27, 2012.

ROWE J. M.; BUCK G.; BURNETT A. K.; CHOPRA R.; WIERNIK P. H.; RICHARDS S. M.; et al. Induction therapy for adults with acute lymphoblastic leukemia: results of more than 1500 patients from the international ALL trial: MRC UKALL XII/ECOG E2993. **Blood**, v. 106, p. 3760-3767, 2005.

RYTTING, M.E. Role of L-asparaginase in Acute Lymphoblastic Leukemia: Focus on adult patients. **Blood Lymphat. Cancer**, n. 2, p. 117–124, 2012.

SCHALK A. M.; LAVIE A. Structural and kinetic characterization of guinea pig L-asparaginase type III. **Biochemistry**, n. 53 v. 14 p. 2318–2328, 2014.

SCHMIEGELOW, K.; FORESTIER, E.; HELLEBOSTAD, M. Long-terms results of NOPHO ALL-92 and ALL-2000 studies of childhood acute lymphoblastic leukemia. **Leukemia**, v. 24, n. 2, p. 345-354, 2010.

SCHOCH, C.; HAFERLACH, T.; HAASE, D.; et al. Patients with de novo acute myeloid leukaemia and complex karyotype aberrations show a poor prognosis despite intensive treatment: a study of 90 patients. **British Journal of Haematology**, v. 112, n. 1, p. 118-126, 2001.

SCHULTZ K. R.; BOWMAN W. P.; ALEDO A.; et al. Improved early event-free survival with imatinib in Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: a children's oncology group study. **J Clin Oncol**. v. 27, n. 31, p. 5175-5181, 2009.

SEHGAL S.; MUJTABA S.; GUPTA D.; AGGARWAL R.; MARWAHA R. K. High incidence of Epstein Barr virus infection in childhood acute lymphocytic leukemia: a preliminary study. **Indian J Pathol Microbiol**, v. 53, p. 63-67, 2010.

SEIBEL, N. L.; STEINHERZ, P. G.; SATHER H. N.; et al. 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**, v. 111, n. 5, p. 2548-2555, março 2008.

SHRIVASTAVA A.; KHAN A. A.; SHRIVASTAV A.; SUDHIR K. J. & SINGHAL P. K. Kinetic Studies of L-asparaginase from *Penicillium digitatum*. **Preparative Biochemistry and Biotechnology**, n. 42 v. 6, p. 574-581, 2012.

SIEGEL R. L.; MILLER K. D.; Jemal A. Cancer statistics, 2015. **CA Cancer J Clin**, v. 65, n. 1, p. 5-29, 2015.

SIEGEL, R. L.; MILLER, K. D. & JEMAL, A. Cancer statistics, 2017. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 67, p. 7–30, 2017.

SMITH M.; ARTHUR D.; CAMITTA B.; et al. Uniform approach to risk classification and treatment assignment for children with acute lymphoblastic leukemia. **J Clin Oncol**, v. 14, n. 1, p. 18-24, 1996.

SONABEND R. Y.; MCKAY S. V.; OKCU M.F.; YAN J.; et al. Hyperglycemia during induction therapy is associated with poorer survival in children with acute lymphocytic leukemia. **J. Pediatr**. v. 155, p. 73-78, 2009.

SONG, P.; YE, L.; FAN, J.; et al. Asparaginase induces apoptosis and cytoprotective autophagy in chronic myeloid leukemia cells. **Oncotarget**, n. 6, p. 3861–3873, 2015.

SOBOPE. Sociedade Brasileira de Oncologia Pediátrica. Disponível em: <<http://www.sobope.org.br>>. Acesso em: setembro de 2017, 2013.

SOBOPE. Sociedade Brasileira de Oncologia Pediátrica. Disponível em: <http://sobope.org.br/apex/f?p=106:13:10233154408620::NO::DFL_PAGE_ID:4062>. Acesso em: setembro de 2017, 2017.

STAMS, W. A. G.; DEN BOER, M. L.; BEVERLOO, H. B.; et al. Sensitivity to lasparaginase is not associated with expression levels of asparagine synthetase in t (12, 21)+ pediatric ALL. **Blood**, v. 101, n. 7, p. 2743-2747, 2003.

STOW P.; KEY L.; CHEN X.; et al., Clinical significance of low levels of minimal residual disease at the end of remission induction therapy in childhood acute lymphoblastic leukemia. **Blood**, n. 115, p. 4657-4663, 2010.

THEANTANA T.; HYDE K. D.; LUMYONG S. Asparaginase production by endophytic fungi from Thai medicinal plants: cytotoxicity properties. **Int J Integr Biol**, n. 7, p. 1–8, 2009.

THEANTANA T.; HYDE K. D.; LUMYONG S. Asparaginase production by endophytic fungi isolated from some Thai medicinal plants. **KMITL Sci Tech J**, n. 7, p. 13–18, 2007.

THOMAS, X.; BOIRON, J. M.; HUGUET, F.; et al. Outcome of treatment in adults with acute lymphoblastic leukemia: analysis of the LALA-94 trial. **J clin Oncol**, v. 22, n. 20, p. 4075-4086, 2004.

TRIVEDI, C.D.; PITCHUMONI, C.S. Drug-induced pancreatitis: an update. **J. Clin. Gastroenterol**. n. 39, p. 709–716, 2005.

VROOMAN, L. M.; SUPKO, J. G.; NEUBERG, D. S.; et al. Erwinia asparaginase after allergy to E. coli asparaginase in children with acute lymphoblastic leukemia. **Pediatric Blood and Cancer**, v. 54, p. 199-205, 2010.

WHO, World Health Organization. ICD - Version: 2010. <<http://apps.who.int/classifications/icd10/browse/2010/en#/C91>>. Acesso em: abril de 2017.

WILLER A.; GERSS J.; KONIG T.; et al. Anti-Escherichia coli asparaginase antibody levels determine the activity of second-line treatment with pegylated E coli asparaginase: a retrospective analysis within the ALL-BFM trials. **Blood**, v. 118, n. 22, p. 5774-5782, 2011.

WISE, D. R.; THOMPSON C. B. Glutamine addiction: a new therapeutic target in cancer. **Trends Biochem Sci.** v. 35, p 427-433, 2010.

WRISTON, J. C.; YELLIN, T. O. L-asparaginase: a review. **Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol**, v. 39, p. 185-248, 1973.

ZHANG, J.; FAN, J; VENNETI, S. et al. Asparagine Plays a Critical Role in Regulating Cellular Adaptation to Clutamine Depletion. **Mol Cell**, v. 56, n. 2, p. 205-218, 2014.

ZHOU Y.; YOU M. J.; YOUNG K. H.; LIN P.; LU G.; MEDEIROS L. J.; BUESO-RAMOS C. E. Advances in the molecular pathobiology of B-lymphoblastic leukemia. **Hum Pathol.** v. 43, p. 1347-1362, 2012.

ZUCKERMAN, T.; ROWE J. M.; Pathogenesis and prognostication in acute lymphoblastic leukemia. **F1000 Prime Reports.** v. 6, n. 59, julho 2014.