

Л-аспарагиназа

**М.В.Минасян^{1,2,3}, А.Г.Закарян^{1,2,3}, Л.М.Крмоян^{1,2,3},
М.С.Гижларян^{1,2,3}, С.О.Данелян^{1,2,3}, Л.А.Вагаршакян^{1,2,3}**

¹ЕГМУ им. М. Гераци

²Центр детского рака и заболеваний крови

³Гематологический центр им. Р.О.Еоляна МЗ РА,
отделение детской онкологии и гематологии
0014, Ереван, ул. Гр. Нерсисяна, 7

Ключевые слова: Л-аспарагиназа, аспарагин, аспарагинсинтетаза, пэгаспарагиназа, онкаспар, острый лимфобластный лейкоз

За последние десятилетия исходы острого лимфобластного лейкоза (ОЛЛ) значительно улучшились, благодаря разработке более действенных методов терапии и результативных протоколов лечения [20]. В лечении ОЛЛ используется цитостатический препарат аспарагиназа, который является ферментом бактериального происхождения [6,19,20]. На сегодняшний день используются три типа аспарагиназы: нативная аспарагиназа, полученная из кишечной палочки (*E.coli*-asparaginase: Kidrolase[®], EUSA Pharma; Elspar[®]; Crasnitin[™], Bayer; Leunase[®], Sanofi-Aventis), пегилированная форма нативной аспарагиназы – *E.coli* (пэгаспарагиназа: Oncaspar[™], Enzon Pharmaceuticals Inc) и фермент, выделенный из *Erwinia chrysanthem* (Erwinase[®], EUSA Pharma) [5,20].

Л-аспарагиназа (Л-аспарагинамидогидролаза) –противоопухолевый препарат, который по своей природе является ферментом, осуществляющий гидролиз аминокислоты Л-аспарагина до такого биополимера, как аспарагиновая кислота, и иона аммония (рисунок). Сущность механизма противоопухолевого действия заключается в снижении концентрации аспарагина, необходимого для синтеза белка и азотистых оснований и для осуществления последовательного клеточного цикла [22].

Опухолевые клетки лишены способности самостоятельно экспрессировать аспарагинсинтетазу и восполнять уровень аминокислоты, в отличие от нормальных клеток. В конечном счете вышеизложенное приводит к тому, что при введении аспарагиназы истощается вся концентрация Л-аспарагина и нехватка последнего влечет за собой ингибирование белкового цикла, а затем и гибель клетки [3].

Фермент аспарагиназа присутствует также у животных, растений, грибов и водорослей, но он отсутствует у человека, благодаря чему наблю-

дается высокая эффективность лекарственных средств, основанных на данном ферменте [1].



Рисунок. Гидролиз аминокислоты L-аспарагина до аспарагиновой кислоты и иона аммония

Впервые аспарагиназа была открыта 1953 г. в ходе исследования американского ученого J.G.Kidd. Суть исследования заключалась в том, что в результате многократных внутривенных инъекций сывороткой морской свинки группе мышей с подкожными лимфосаркомами наблюдалась регрессия опухолей [15]. Позже, в 1961 г., J.D.Broome пошел дальше и выделил сам фермент, оказывающий противоопухолевый эффект [9]. А в 1963 г. было доказано, что истощение аспарагина служит причиной питательной недостаточности и ингибирования биосинтеза белка, что приводит к апоптозу при Т-лимфобластных лейкозах [11].

Механизм действия

Основное антилейкемическое действие аспарагиназы заключается в способности за короткий период времени преобразовывать аспарагин в аспарагиновую кислоту и аммиак. В сыворотке крови содержится примерно 50 мкм аспарагина. Это количество аминокислоты получается из потребляемых питательных веществ и биосинтеза *de novo* в печени посредством катализа аспарагиновой кислоты и аммиака ферментом аспарагинсинтетазы. Но, по сравнению со здоровыми клетками, лейкозные клетки имеют низкий уровень аспарагинсинтетазы и, следовательно, сниженную способность производить аминокислоту, аспарагин, необходимую для синтеза ДНК, РНК и белка [5].

Одной из форм лекарственной устойчивости к L-аспарагиназе является повышенная регуляция аспарагинсинтетазы в печени, а также в лейкозных клетках, конечным результатом которой является достаточный уровень L-аспарагина в кровотоке для синтеза белка. Повышенные уровни L-аспарагина в сыворотке коррелируют с более высокой частотой событий у детей с рецидивом ОЛЛ [5,6,10,13,17].

Существуют 2 типа аспарагиназы:

первый тип – аспарагиназа цитоплазматическая, синтезируется в клетке постоянно;

второй тип – аспарагиназа периплазматическая, локализованная между внешней и плазматической мембраной бактерий [10,14].

Для лечения ОЛЛ используют только аспарагиназу второго типа, поскольку аспарагиназа первого типа не обладает терапевтической активностью. Такая разница в активности обусловлена различным родством с аспарагином [8].

С применением аспарагиназы повысилась многолетняя выживаемость больных примерно до 70%, а становление полной ремиссии – 90-95% [1,21]. Наиболее эффективными из применяемых протоколов являются протоколы группы BFM (Berlin-Frankfurt-Munster), позволяющие получить 10-летнюю общую и бессобытийную выживаемость в $90,4 \pm 2,6\%$ и $82,5 \pm 3,4\%$ соответственно [2,16].

Побочные эффекты

Во время лечения могут возникать аллергические или анафилактические реакции. Токсические эффекты L-аспарагиназы связаны в первую очередь с иммунными реакциями на этот бактериальный белок и с эффектами истощения аспарагина.

Несмотря на нарушение иммунной системы после начала индукционного лечения ОЛЛ, аллергические или анафилактоидные реакции могут возникать после введения многих лекарств, в том числе нативной аспарагиназы – *E.coli* или пэгаспарагиназы. К другим препаратам, вызывающим очевидные клинические реакции, относятся цисплатин, циклофосфамид, блеомицин, доксорубицин, цитозинарабинозид и метотрексат [24]. Наиболее частые и тяжелые аллергические реакции наблюдались у пациентов после многократного приема аспарагиназы и, реже, пэгаспарагиназы. Эти очевидные клинические реакции могут возникнуть после второй или третьей дозы или даже через много месяцев после индукционной терапии. Риск реакции снижается, в том случае, когда аспарагиназа вводится в сочетании с преднизолоном или дексаметазоном и другими иммунодепрессантами. Замена нативной аспарагиназы на пэгаспарагиназу позволяет избежать повторяющихся анафилактоидных реакций после того, как была задокументирована реакция на нативную аспарагиназу. Однако антитела IgG против нативной аспарагиназы могут распознавать пегилированный антиген, а инъекция эрвиназы может инициировать его отдельную иммунную реакцию и выработку антител против эрвиназы [6,7,18].

Одним из важных токсических действий L-аспарагиназы является нарушение функции поджелудочной железы. Панкреатит встречается у 4-18% педиатрических пациентов [1,3] и возникает примерно после первых

недель применения аспарагиназы. Дальнейшее введение аспарагиназы после эпизода панкреатита не рекомендуется в связи с высоким риском рецидива последнего, что может привести к снижению выживаемости без событий [4]. Другие токсические эффекты, связанные с аспарагиназой, включают нарушения гемостаза (тромбозы и кровоизлияния центральной нервной системы и тромбозы периферических глубоких вен у 2–4% пациентов), гипергликемию и нарушения липидного обмена [12,23].

Как правило, пациентов, проявляющих клинические симптомы аллергии на один препарат аспарагиназы, переводят на другой, чтобы обеспечить эффективность терапии.

Антитела, вырабатываемые в ответ на аспарагиназу, не всегда приводят к клинической гиперчувствительности, но вместо этого могут вызывать быструю инактивацию аспарагиназы, что приводит к неоптимальному истощению аспарагина, и может возникнуть примерно у 30% пациентов [18]. Таким образом, развитие антител против аспарагиназы может привести к устойчивости к терапии аспарагиназой и связано с более высокими уровнями аспарагина в плазме [12].

Пэгаспарагиназа имеет относительно более низкую иммуногенность из-за ковалентной конъюгации с монометоксиполиэтиленгликолем и часто заменяет аспарагиназу – *E coli* у пациентов, у которых развивается аллергическая реакция.

Клиническими проявлениями реакций гиперчувствительности к аспарагиназе являются:

- анафилаксия (редко),
- аллергические реакции,
- отек,
- сывороточная болезнь,
- бронхоспазм,
- крапивница и сыпь,
- зуд и отек конечностей,
- эритема – местная или генерализованная,
- другие клинически связанные реакции.

Токсичность аспарагиназы включает:

- органную токсичность,
- панкреатит и связанную с ним гипергликемию, глюкозурию, кетоацидоз,
- нарушение функции печени,
- церебральную дисфункцию,
- снижение синтеза белка:
 - гипоальбуминемия,
 - гипофибринонимия, состояние гиперкоагуляции – коагулопатии,
 - факторы свертывания.

Для приемлемого терапевтического ответа концентрация аспарагина в крови должна быть менее 0,1 мкмоль/л, которую можно достичь при уровне аспарагиназы не менее 100 МЕ/л крови [8].

Непегелированные аспарагиназы имеют более короткий период полураспада, примерно 1 день, и требуют приема ежедневно или через день. К тому же они более иммуногенны. Используемая доза L-аспарагина варьируется от 6000 единиц / м² до фиксированной дозы в 20 000 единиц (в модифицированном режиме).

L-аспарагиназу применяют во многих курсах химиотерапии при лечении онкологических заболеваний. Наряду с противоопухолевой эффективностью, внутривенное введение препарата может привести к проявлению ряда токсических эффектов. Побочное действие фермента и развитие резистентности к нему до настоящего времени не до конца изучены. Сегодня в клиническую практику также входит новый препарат, аспарагиназа, включенная в эритроциты. Этот препарат показал перспективные результаты, но исследования продолжаются [8].

Поступила 05.04.22

L-ասպարագինազ

Մ. Վ. Մինասյան, Ա. Հ. Զախարյան, Լ. Մ. Քրմոյան, Մ. Ս. Գիշլարյան,
Ս. Հ. Դանելյան, Լ. Հ. Վաղարշակյան

Վերջին տարիներին զգալի առաջընթաց է գրանցվել հակաքաղցկեղային նոր դեղամիջոցների ստեղծման գործում, որոնք հիմնված են ֆերմենտների վրա: L-ասպարագինազը ուռուցքային բջիջների վրա հատուկ ազդեցությամբ առաջին բակտերիալ ֆերմենտն էր, որը կիրառություն գտավ կլինիկական օնկոհեմատոլոգիայում: Ներկայումս նատիվ և իմոբիլիզացված L-ասպարագինազի պատրաստուկները տարբեր բակտերիալ աղբյուրներից (*Escherichia coli* և *Erwinia chrysanthemi*, *pegylated E.coli L-asparaginase*) հաջողությամբ կիրառվում են սուր լիմֆոբլաստային լեյկեմիայով հիվանդների բուժման համար: Այս վերանայումն ընդհանուր տվյալ է L-ասպարագինազի մեխանիզմների, կողմնակի ազդեցությունների վերաբերյալ:

L-Asparaginase

M. V. Minasyan, A. H. Zakharyan, L. M. Krmoyan, M. S. Gizhlaryan,
S. H. Danelyan, L. H. Vagharshakyan

In recent years, significant advances have been made in the development of new enzyme-based anticancer drugs. L-asparaginase was the first bacterial

enzyme with a specific effect on tumor cells which found application in clinical oncohematology. Currently, preparations of native and immobilized L-asparaginase from various bacterial sources (*Escherichia coli* and *Erwinia chrysanthemi*, pegylated *E. coli* L-asparaginase) are successfully used to treat patients with acute lymphoblastic leukemia. This review presents general data on L-asparaginase, the mechanism of action and side effects to which it can lead.

Литература

1. Алексеев Н.А. Гематология детского возраста. СПб., 1998, с. 468–469.
2. Алескерова Г.А. Лечение детей с острым лимфобластным лейкозом по программе ALL IC-BFM 2002:2018.
3. Соколов Н.Н., Эльдаров М.А., Покровская М.В. и др., Бактериальные рекомбинатные L-аспарагиназы: свойства, строение и антипролиферативная активность. Биомедицинская химия, вып. 3, с. 312–324.
4. Asselin BL. The three asparaginases. Comparative pharmacology and optimal use in childhood leukemia. 1999, 457:621–629.
5. Avramis VI., Sencer S., Periclou AP. 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. 2002, 99:1986–94.
6. Avramis VI., Tiwari PN. Asparaginase (native ASNase or pegylated ASNase) in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. 2006, 1:241–254.
7. Bender C., Maese L., Carter-Febres M., Verma A. Clinical utility of Pegaspargase in children, adolescents and young adult patients with Acute Lymphoblastic Leukemia: A Review. 2021, v. 11:25–40. doi:10.2147/blctt.s245210
8. Borsakova D. V., Sinauridze E. I. L-asparaginase: new approaches to improve pharmacological characteristics. 2018, 17(4):82–99.
9. Broome J. D. Evidence that the L-asparaginase activity of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. Nature, 1961, 191: 1114–5.
10. Del Casale T., Sollitti P., Chesney R., H. Cytoplasmic L-asparaginase: isolation of a defective strain and mapping of ANSA. J Bacteriol 1983, 154 (1): 513–5.
11. Gaynon PS. Childhood acute lymphoblastic leukaemia and relapse. 2005, 579–87.
12. Hak LJ., Relling MV., Cheng C., Pei D., Wang B., Sandlund JT. et al. Asparaginase pharmacodynamics differ by formulation among children with newly diagnosed acute lymphoblastic leukemia. 2004, 18:1072–1077.
13. Jarrar M., Gaynon PS., Periclou AP. et al. Asparagine depletion after pegylated *E. Coli* asparaginase treatment and induction outcome in children with acute lymphoblastic leukemia in first bone marrow relapse: A Children's Cancer Group study (CCG-1941), 2006, 141–6.
14. Jennings M.P., Beacham I.R. Analysis of the *Escherichia coli* gene encoding L-asparaginase II and its regulation by cyclic AMP receptor and FNR proteins. J Bacteriol., 1990, 172 (3): 1491–8.
15. Kidd J. G. Regression of transplanted lymphomas induced in vivo by means of normal guinea pig serum. I. Courses of transplanted cancers of various kinds in mice and rats given guinea pig serum, horse serum or rabbit serum. J Exp Med., 1953, 95 (6): 565–82.
16. Old L. J., Boyse E. A., Campbell H. A., Daria G. M. Leukemia-inhibiting properties and L-asparaginase activity of sera from certain South American rodents. Nature, 1963 May 25, 198 (4882): 801.
17. Panosyan EH., Grigorian RS., Avramis IA. et al. Deamination of glutamine is a prerequisite for optimal asparagine deamination by asparaginases in vivo (CCG-1961), 2004, 1121–6.

18. *Panosyan EH., Seibel NL., 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. 2004, 26:217–226.
19. *Pieters R., Carroll WL.* Biology and treatment of acute lymphoblastic leukemia. 2008, 55:1–20.
20. *Pieters R., Hunger S., Boos J. et al.* L-Asparaginase treatment in acute lymphoblastic leukemia: A focus on Erwinia asparaginase, 2011, 238– 249.
21. *Shervashidze M. A., Valiev T. T.* Pediatric acute lymphoblastic leukemia treatment protocols improvement: emphasis on minimal residual disease. 2020, 15(3):12–26.
22. *Stams W. A., den Boer M. L., Beverloo H. B. et al.* Leukemia, 2005, 19, 318-319.
23. *Wenner KA., Vieira Pinheiro JP., Escherich G., Wessalowski R., Jorch N., Wolff J. et al.* Asparagine concentration in plasma after 2,500 IU/m² PEG-asparaginase i.v. in children with acute lymphoblastic leukemia. Klin Padiatr., 2005, 217:321–326.
24. *Whitecar J. P. Jr., Bodey G. P., Harris J. E., Freireich E. J.* L-Asparaginase. N Engl J Med., 1970, 282 (13): 732–4. DOI: 10.1056/NEJM197003262821307.