



FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y BIOLÓGICAS
CARRERA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA

“IMPORTANCIA DE LA ENZIMA “*L-asparaginasa*” EN LA INDUSTRIA
ALIMENTARIA Y EN SALUD PÚBLICA”

Trabajo de Investigación para optar el grado académico de:
Bachiller en Medicina Veterinaria y Zootecnia

Presentado por:

Yadira Cinthya Urquizo Acevedo (0000-0001-8430-9408)

Asesor:

Luis Fernando Cerro Temoche (0000-0003-3207-1041)

Lima – Perú

2021

ACTA DE SUSTENTACIÓN DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

Lima, 15 de marzo del 2021.

Los integrantes del Jurado del Trabajo de Investigación:

| |
|--|
| Presidente: Dra. CONNIE GALLARDO VELA |
| Miembro: Mg. GIOVANNA JANET GOMEZ OQUENDO |
| Miembro: Mg. ÓSCAR REÁTEGUI ARÉVALO |

Se reúnen para evaluar el trabajo de investigación titulado:

“IMPORTANCIA DE LA ENZIMA “L-ASPARAGINASA” EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA Y EN SALUD PÚBLICA”

Presentada por:

YADIRA CINTHYA URQUIZO ACEVEDO

Para optar el Grado de Bachiller en **Medicina Veterinaria y Zootecnia**

Asesorada por: **Dr. LUIS FERNANDO CERRO TEMOCHE**

Luego de haber evaluado el informe final del trabajo de investigación y evaluado el desempeño del egresado de la carrera de **Medicina Veterinaria y Zootecnia** en la sustentación, concluyen de manera unánime (-) por mayoría simple (x) calificar a:

| | | | |
|---|----------------------------|------------------------------|-----------------|
| Egresada: YADIRA CINTHYA URQUIZO ACEVEDO | Nota : Dieciocho | | |
| Aprobado () | Aprobado - Muy buena (x) | Aprobado - Sobresaliente () | Desaprobado () |

Los miembros del jurado firman en señal de conformidad.



Dra. CONNIE GALLARDO VELA
Presidente



Dr. LUIS FERNANDO CERRO TEMOCHE
Asesor



Mg. GIOVANNA JANET GOMEZ OQUENDO
Miembro 1



Mg. ÓSCAR REÁTEGUI ARÉVALO
Miembro 2

Agradecimientos

En primer lugar, agradecer a mi abuela Octavia, que, aunque no esté conmigo físicamente para cuidarme, pero siempre siento su protección.

A mis padres y hermanos que siempre me apoyaron en todas las metas que tengo.

A Eduardo Taz y Joaquín Vásquez por siempre creer en mí, y no dejar que nunca me dé por vencida

A mi asesor Luis Cerro por siempre estar dispuesto desde el inicio a ser mi guía para este trabajo.

Índice

| | Pag. |
|---|------|
| Lista de abreviaturas..... | 2 |
| Resumen | 4 |
| Abstract | 5 |
| | |
| I. Introducción | 7 |
| II. Revisión de literatura | 8 |
| 2.1 Antecedentes históricos..... | 8 |
| 2.2 Fuentes y características fisicoquímicas de la enzima L-Asparaginasa..... | 8 |
| 2.3 Farmacodinamia y farmacocinética | 10 |
| 2.4 Salud pública | 11 |
| 2.4.1 Uso contra líneas celulares cancerígenas | 11 |
| 2.4.2 Efectos adversos del uso de L-asparaginasa | 13 |
| 2.5 Industria alimentaria | 16 |
| 2.5.1 Clasificación de la acrilamida | 16 |
| 2.5.2 Afecciones por el consumo de acrilamida y dosis permitida..... | 18 |
| 2.5.3 Mitigación de la acrilamida | 19 |
| III. Conclusiones | 20 |
| IV. Referencias bibliográficas | 21 |

Lista de abreviaturas

| | |
|---------------------|--|
| L-Aase | L-asparaginasa |
| <i>E.coli</i> | <i>Escherichia coli</i> |
| LLA | Leucemia linfoblástica aguda |
| LMA | Leucemia mieloblástica aguda |
| SER | Sistema reticuloendotelial |
| PAE | <i>Pseudomona aeruginosa</i> |
| <i>P. cyclopium</i> | <i>Penicillium cyclopium</i> |
| IARC | Agencia Internacional de Investigación del Cáncer |
| SNFA | Dirección Nacional de Alimentación de Suecia |
| ACGIH | American Conference of Governmental Industrial Hygienists |
| FDA | Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos |
| C° | Centígrados |
| Da | Dalton |
| IgE | Inmunoglobulina E |
| IgG | Inmunoglobulina G |
| US EPA | Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos |
| EU | Unión Europea |

Resumen

La L-asparaginasa (L-Aase), es la primera enzima estudiada con características antineoplásicas. Propiedades que ha tomado mucha relevancia dentro de dos industrias: alimentaria y de salud pública. En el presente trabajo se abarcará información que data del año 1904, año donde se descubrió la actividad citotóxica que contiene esta enzima, para luego realizar diversos experimentos verificando cómo responde frente ciertas líneas celulares cancerígenas, además, se ha venido buscando las características óptimas de la enzima, viendo los factores que afectan su estabilidad. Asimismo, a lo largo de los años se ha venido encontrando múltiples fuentes para obtener la L-asparaginasa, teniendo hoy en día varias opciones para poder disponer de ella, como fuentes animales y vegetales. Sin embargo, los procesos cinéticos que se producen en el organismo por el uso de esta enzima aún no están totalmente descritos, del mismo modo tampoco se conoce con exactitud lo que todos los procesos que la enzima genera en el organismo. Dentro de la salud pública, se viene investigando el efecto citotóxico de la L-Aase frente a diversas líneas celulares y también, se viene estudiando el mejor protocolo usando la enzima para el tratamiento frente a diferentes afecciones oncológicas. Puesto que, se ha visto múltiples reacciones adversas en pacientes con un tratamiento prolongado, por lo que se sugiere realizar más estudios. En la industria alimentaria, se ha visto la presencia de un compuesto orgánico llamado acrilamida, sustancia que ha sido clasificada como “posiblemente cancerígena”, formándose en un grupo de alimentos expuestos a ciertas condiciones. Llamando la atención de la comunidad científica, puesto que genera diversas lesiones en el organismo por su consumo excesivo. Es por ello, que se está en realizando muchos estudios para ver la mejor manera de mitigar los niveles de este compuesto usando la enzima L-Aase.

Abstract

L-Asparaginase is the first enzyme studied that possesses antineoplastic properties. These properties have become very meaningful in two industries: the food industry and the public health industry. This study will include information dating back to 1904, years during which many experiments were conducted that tested the cytotoxic activity this enzyme possesses against different cell lines. Furthermore, there are multiple studies which will look at the enzyme's optimal characteristics and factors that affect its stability. In addition to this, researchers have continued to find new sources from which to extract the L-asparaginase enzyme, such as animal and vegetable sources. However, the pharmacokinetics and pharmacodynamics of this enzyme are still unknown. The public health industry has been investigating the cytotoxic properties against cancer cell lines along with the best treatment protocol using this enzyme against said cancer cells. Similarly, the food industry has become one of the largest industries in the world and recently an organic compound called acrylamide has been found in many foods. Classified as a probable carcinogen in humans, this compound has attracted the attention of the scientific community and consequently many studies are being carried out to find the best way to mitigate the levels of this carcinogen using the L-Aase enzyme.

I. Introducción

L-asparaginasa (L-Aase) es una enzima de la clase hidrolasa, que a lo largo de los años se ha destacado por sus características citotóxicas contra células cancerígenas. Uno de los primeros aportes se dio por Kidd en 1953, quien inoculó el suero sanguíneo del cuy, el cual posee la enzima, verificando la regresión de linfomas en ratas. En secuencia de este estudio, en los 60's, Broome evidenció el efecto de la L-Aase que de la misma manera era la responsable de la regresión de tumores en su diseño experimental (Broome, 1961; Broome, 1963). A causa de estos resultados actualmente la L-Aase tiene mucha relevancia en tratamientos oncológicos de personas (Orabi *et al.*, 2019).

La L-Aase se puede obtener de múltiples fuentes, como de especies bacterianas, siendo las más comunes *Escherichia coli* y *Erwinia chrysanthemi*; géneros fúngicos como *Penicillium* y *Aspergillus* (Cachumba *et al.*, 2016); especies vegetales como *Vigna unguiculata* (Moharib, 2018) y *Lupinus luteus* (Orabi *et al.*, 2019); y especies animales, siendo la especie más destacada *Cavia porcellus*, en donde encontramos la enzima en el suero hemático (componente líquido de la sangre tras permitir la coagulación).

Uno de los campos donde tiene mayor relevancia, es en la industria farmacéutica, donde existen tres presentaciones, dos de ellas derivadas de *Escherichia coli* (*E.coli*), y la otra derivada de *Erwinia chrysanthemi* (Nunes *et al.*, 2020). En esta industria, se toma como una alternativa de tratamiento en diferentes tipos de afecciones oncológicas como la leucemia linfoblástica aguda (LLA) (Ronghe *et al.*, 2001), leucemia mieloide aguda (LMA) (Kaspers, 2019) y linfoma no hodgkin (Muss *et al.*, 1990).

Asimismo, la utilidad de la L-Aase dentro de la industria alimentaria ha comenzado a tomar importancia, porque reduce la formación de la acrilamida, compuesto que se forma al exponer ciertos alimentos a temperaturas mayores a 100° C

(Becalski *et al.*, 2003). Siendo actualmente, la acrilamida clasificada por la Agencia Internacional de Investigación sobre el Cáncer (IARC) como “probable carcinógeno para los humanos” (clase 2A) (IARC, 1994).

En este contexto, se propuso describir la importancia de la enzima L-Aase dentro de estas dos industrias para mostrar data experimental relevante de modo resumido, para traer consigo mayor interés sobre esta enzima, y se pueda obtener mejores resultados en protocolos oncológicos y una mejor mitigación de sustancias toxicas como la acrilamida.

II. Revisión de literatura

2.1 Antecedente histórico

La actividad hidrolítica de la enzima L-asparaginasa (L-Aase), fue observada primero por Lang (1904), luego confirmada por Fürth y Friedmann (1910), quienes además verificaron esta actividad en órganos de caballos y de cerdos, asimismo, Clementi (1922) demostró que, en diversas especies animales la enzima L-Aase está presente solo en el hígado, pero los herbívoros tienen la presencia de la L-Aase en la mayoría de los tejidos órganos. Luego, Clementi también descubrió esta actividad hidrolítica de la L-Aase en la sangre de cuy (*Cavia porcellus*). Años más tarde, Kidd (1953) le atribuye a la L-Aase propiedades antitumorales por la regresión de linfomas que observó en un experimento (Michalska & Jaskolski, 2006).

2.2 Fuentes y características fisicoquímicas de la enzima L-Asparaginasa

La L-Aase se puede obtener de múltiples fuentes; como bacterias, animales, levaduras y vegetales. Entre las bacterias que producen la enzima L-Aase encontramos a: *Corynebacterium glutamicum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Helicabacter pylori*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Yersinia pseudotuberculosis* YpA (Orabi *et al.*, 2019), siendo las más relevantes: *Escherichia coli* y *Erwinia chrysanthemy*, (Huang *et al.*, 2006, citado en Orabi *et al.*, 2019).

Sin embargo, cabe resaltar que no todos los organismos mencionados producen la misma cantidad de L-Aase y los requerimientos para la obtención es distinta.

Asimismo, Moharib (2018) ha demostrado que a partir de las semillas de ciertas legumbres como la *Vigna unguiculata* se puede purificar la enzima L-Aase, realizando en primer lugar una precipitación con sulfato de amonio, luego purificándola mediante cromatografía de intercambio aniónico y cromatografía de filtración de gel. En este estudio, muestra que las condiciones que brindaban la mejor estabilidad fueron en un pH alcalino de 8.5 y una temperatura de 37°C por 30 minutos, cabe resaltar que el rango de temperatura y pH en donde la enzima se mantenía estable era amplia. Por otro lado, en este mismo estudio se vio su actividad anticancerígena contra cuatro diferentes líneas de carcinoma *in vitro*, viendo que tiene un alto efecto de inhibición contra las líneas carcinogénicas: HEPG2 (hígado) y HCT-116 (colon).

Existen fuentes fúngicas para la obtención de L-Aase, como son los géneros *Fusarium*, *Aspergillus* y *Penicillium*, con relación a esto, Luhana *et al.* (2013) purificaron la enzima L-Aase a partir del hongo *Aspergillus niger* usando cromatografía de intercambio aniónico. En el estudio se evidencia que la enzima tiene una actividad máxima en un pH 6, pero su actividad se mantuvo desde un pH 3 a pH 10. La temperatura óptima que mostró el estudio fue de 37°C. Asimismo, tiene mayor V_{max} (velocidad máxima de la reacción enzimática), que otros reportes de otras enzimas L-Aase aisladas de otras fuentes fúngicas. Además, el K_m (constante de Michaelis-Menten), la cual es una constante que está directamente relacionada con la afinidad del sustrato, es menor en comparación a otros estudios, eso quiere decir que hay una mayor afinidad con el sustrato. Todos estos datos, sugieren que la enzima L-Aase purificada del hongo *Aspergillus niger*, puede ser una promesa para la industria.

Otros organismos de los cuales se puede aislar la enzima L-Aase es a partir de Actinomicetos, como las especies de *Streptomyces*, que tienen amplia distribución en hábitats marinos y terrestres. Existen muchas especies de este género, una de ellas es *Streptomyces fradiae* NEAE-82, la cual se puede obtener mediante purificación del Actinomiceto y utilizando el método de cromatografía de intercambio iónico. El- Naggar *et al.*, (2016) demostraron que la L-Aase purificada de *Streptomyces fradiae* NEAE-82 puede ser una opción de agente anticancerígeno por su alta actividad catalítica, y estabilidad ante varios rangos de pH (4.5 - 10.5) y temperatura (25 - 60°C). Además, en su estudio mostraron, la actividad citotóxica de esta enzima frente a líneas celulares como Caco2 (células de adenocarcinoma colorrectal epitelial humano), HepG2 (células de carcinoma hepatocelular) y Hep2 (células de carcinoma laríngeo humano), siendo mayor contra Caco2, viendo un 80.91% de citotoxicidad, comparado con un 39.95% de citotoxicidad contra Hep2 y 36.798% contra HepG2 respectivamente.

2.3 Farmacodinamia y farmacocinética

La farmacodinamia se basa en la hidrólisis de aminoácido no esencial, asparagina, en ácido aspártico y amonio, agotando las reservas de asparagina del suero, generando que las células dependientes entren en apoptosis. Además, se sabe que las células cancerígenas tienen mucho más requerimiento de asparagina, ya que son incapaces de generar su propio suministro, puesto que carecen de asparagina sintetasa, por lo tanto, estas células dependerán de una administración extracelular. En consecuencia, la deficiencia de asparagina alterará la síntesis de proteínas y conducirá a una inhibición retardada en la síntesis de ADN y ARN, llevando esto a una mala función celular, y trayendo como consecuencia la muerte de las células blásticas (Müller & Boos, 1998).

La administración de la L-Aase puede ser de manera intramuscular o endovenosa, a pesar de tener la misma efectividad, se han observado mayores reacciones de hipersensibilidad

por la vía endovenosa. La vida media mostrada en el plasma va a depender del microorganismo del cual se ha aislado, por ejemplo, la L-Aasa aislada de *E.coli* toma mucho más tiempo de desaparecer en el plasma, tomándose hasta 31 horas, mientras que la L-Aase aislada de *E.crysanthemi* tiene una vida media de 16 horas (Asselin *et al.*, 1993, citado en Gentili *et al.*, 1996).

Por otra parte, Broome (1968) encontró una actividad pobre en el bazo después de 24 horas de administración de L-Aase, pero una alta actividad en el hígado, sugiriendo que la eliminación de esta enzima es por el sistema reticuloendotelial (SRE), siendo Hall en 1970, quien concluyó con sus estudios que la eliminación primaria de la L-Aase es ciertamente por el sistema SRE (Society, n.d.). SRE, es actualmente conocido como sistema fagocítico mononuclear, compuesto por macrófagos, células dendríticas y monocitos. Este sistema tiene como una de sus funciones principales a la linfocitopoyesis y a la función fagocitaria (Villar, 2019; Cavelier, 1936).

2.4 Salud pública

La Organización Mundial de la Salud (OMS) tiene como propuesta incluir a la asparaginasa PEG-*E.coli* dentro de sus medicamentos esenciales para el tratamiento de la LLA, y junto la agencia de Administración de Alimentos y Medicamentos de los Estados Unidos (FDA), están de acuerdo que la L-Aase es uno de los medicamentos más efectivos para el linfoma y para la leucemia linfoblástica aguda (LLA) (Orabi *et al.*, 2019). La demanda mundial muestra que la relevancia de la enzima, estimando 420 millones de dólares en inversión para compra de esta enzima para el 2025 (Alam *et al.*, 2019).

2.4.1 Uso contra líneas celulares cancerígenas

La aplicación de la L-Aase viene desde el año 1970 como parte del protocolo quimioterapéutico de la LLA (Piatkowska-Jakubas *et al.*, 2008). Siendo la L-Aase aislada de la

bacteria *E.coli*, la más usada en estos tratamientos (Ronghe *et al.*, 2001, p. 7). Borah *et al.*, (2012) purificaron la enzima a partir de *E.coli*, precipitándola con sulfato de amonio y luego usando cromatografía de intercambio iónico. Mostrando en su estudio que la temperatura y pH óptima para la L-Aase proveniente de *E.coli* son 55°C – 6 respectivamente.

Tallal *et al.*, (1970) usaron a la L-Aase como agente único mostrando una remisión completa hasta en el 60% de los casos. En adición, también se ha visto remociones completas cuando se combina la L-Aase con otros fármacos para la misma afección. Como el estudio de Lobel *et al.*, (1979), quienes vieron una remisión completa en pacientes con LLA expuestos a terapia con metotrexato y L-asparaginasa aislada de *E.coli*. Cabe resaltar que la dosis y la periodicidad de la administración de la L-Aase para la remisión de las células cancerígenas aún son discutidas.

Asimismo, se ha evaluado esta actividad anticancerígena frente a otras líneas celulares. Fatima, Khan y Khan (2019) evaluaron una actividad anticancerígena de L-Aase proveniente de *Pseudomona aeruginosa* (PAE) contra la línea celular HeLa (línea celular de cáncer de cuello uterino), demostrando que la L-Aase aislada de PAE inhibe el crecimiento de células cancerígenas del cuello uterino en humanos *in vitro*. De igual manera, Mostafa *et al.*, (2019) estudiaron la L-Aase proveniente de *Bacillus velezensis*, aislada del mar rojo, evidenciando que el pH más favorable es de 6.5 y la temperatura de 37°C. Además, en este estudio se vio efecto anticancerígeno contra la línea celular MDA-MB-231 (línea celular de células cancerígenas mamarias), pero se necesita realizar más investigaciones para su uso en tratamientos oncológicos.

Igualmente, esta enzima también es una promesa estratégica en casos de leucemia mieloide crónica, ya que genera un aumento en la inhibición y apoptosis en las células K562 y KU812 (líneas celulares derivadas de leucemia mieloide) (Trang *et al.*, 2016). De igual manera,

hoy en día la L-Aase forma parte de varios protocolos oncológicos como: enfermedad Hodking, leucemia mielomonocítica aguda, leucemia linfocítica crónica, melanosarcoma, reticulosarcoma, leucemia linfoblástica crónica, leucemia mieloblástica, linfoma no hodgkin's (El-Naggar *et al.*, 2014). Convirtiéndose de esta manera en una enzima relevante para tratamientos cancerologicos, teniendo varios nombres comerciales como A-ase, ASN.ase, Elspar, Crasnitin, PEG-asparaginasa, Colapase, Crisantas, Pasum (El-Naggar *et al.*, 2014).

2.4.2 Efectos adversos del uso de L-asparaginasa

Uno de los efectos adversos más recurrentes por el uso prolongado de la L-Aase es la hipersensibilidad. Esta reacción puede causar la inactivación de la asparaginasa por la producción de anticuerpos, generando en muchos casos una reacción llamada “hipersensibilidad silenciosa” o “inactivación silenciosa” (Hanif, 2017). Aun no es claro cómo se da la hipersensibilidad, pero se relaciona a la inmunoglobulina G (Ig G) y a la inmunoglobulina E (Ig E) con este efecto adverso (Rathod *et al.*, 2019). En caso se desarrolle esta hipersensibilidad durante el tratamiento, la enzima L-Aase se neutraliza (Cecconello *et al.*, 2020)

Un estudio relevante ha asociado varias de las reacciones adversas con la actividad glutamina que también puede poseer la enzima, ya que la L-Aase desamina la asparagina en ácido aspártico y amonio, y también puede desaminar la glutamina en ácido glutámico y amonio (Chan *et al.*, 2014), generando esta última desaminación una disrupción de síntesis proteica, pudiendo estar relacionada con efectores colaterales (Nguyen *et al.*, 2016). En relación con ello, se ha venido realizados estudios que han verificado que la enzima L-Aase con alta especificidad por la asparagina y baja afinidad por glutamina, obtuvieron resultados de menos reacciones adversas. Sin embargo, las drogas comerciales tienen presente la actividad glutamina,

hidrolizando la L-glutamina hasta un 9% de la actividad total de la hidrólisis (Brumano *et al.*, 2019).

Debido a estos cuadros de hipersensibilidad, se ha buscado opciones de L-Aase que carezcan de la actividad L-glutamina, siendo la más conocida, la L-Aase proveniente del suero del cuy (*Cavia porcellus*) la cual carece de esta actividad, viendo esto como una ventaja (Schalk *et al.*, 2014). Pero, se debe de tener en cuenta también que la actividad la L-glutamina tiene características anticancerígenas, cuya primera observación fue en 1964 por Greeberg *et al.*, (como se citó en Orabi *et al.*, 2019). Luego, EL-Asmar y Greenberg (1966) observaron un retardo en el crecimiento de 6C3HED (línea celular de linfoma) y L1210 (células de leucemia), asociándolo con la reducción de glutamina generado por la actividad L-glutamina.

Por otro lado, otra afección muy frecuentemente reportada es la pancreatitis en humanos. Esta reacción adversa tiene una alta incidencia de presentación (10–16%) en los pacientes tratados con esta enzima, pero aún se desconoce el mecanismo por la que se puede generar este efecto colateral. Kearney *et al.*, (2009) mencionan que la relación del uso enzima L-Aase y la presentación de pancreatitis, puede deberse a una predisposición del paciente por factores genéticos y no a un efecto acumulativo por terapias de largo periodo con la enzima. Ya que también, se sospecha que al ser el páncreas un órgano de alta síntesis proteica, la falta de asparagina puede generar un daño colateral, puesto que este aminoácido no esencial es necesario para la síntesis de algunas proteínas pancreáticas. Con relación a esto, se sugiere realizar un seguimiento tanto de los signos clínicos y biomarcadores pancreáticos del paciente durante el tratamiento con esta enzima (Cohen & Valverde, 2018).

También, se ha reportado efectos adversos a nivel del hígado, como disfunción hepática, pudiendo verse una elevación de los niveles de bilirrubina y transaminasa, niveles anormales de fosfatasa alcalina, una disminución de albumina sérica y los niveles de fibrinógenos y

también las lipoproteínas séricas pueden estar elevadas en los pacientes humanos expuestos a un tratamiento que incluye la enzima L-Aase (Arora *et al.*, 2019). De igual manera se ha visto casos de diabetes, por una disminución en la insulina, por un daño asociado a los islotes pancreáticos (Palma *et al.*, 2013).

Asimismo, también se ha reportado otros eventos tales como, formación de trombos, náusea, diarrea, vómito, dolor de cabeza, dolor abdominal, disfunciones del sistema nervioso central, mucositis, urticaria (en el punto de inyección) y broncoespasmo (Brumano *et al.*, 2019). Pero, para que se desarrolle cualquiera de estos efectos secundarios se debe tener en cuenta los diferentes factores de riesgo, por ejemplo, en el caso de pancreatitis secundaria a quimioterapia con L-Aase, los factores de riesgos conocidos son la exposición a un régimen de quimioterapia de alto riesgo y también factores genéticos (Cohen & Valverde, 2018).

Por otro lado, se ha observado menos reacciones adversas usando PEG-L-asparaginasa. La PEG-L-asparaginasa es un conjugado de monometoxipoliethylenglicol y L-Aase derivada de *Escherichia coli* (nativa), siendo 6 a 9 veces más potente que la L-Aase aislada de *E.coli* sin conjugaciones. Esta es una droga sintética de eliminación rápida, inmunogenicidad reducida y una vida media mayor. Estas características la hacen formar parte de la primera línea en protocolos oncológicos modernos contra LLA, ya que al tener una acción más prolongada se evita suministrar de manera seguida, haciendo que el paciente pueda tolerar mucho más el tratamiento (Kurtzberg *et al.*, 2011).

En adición, la L-Aase aislada de *Erwinia chrysathemi*, está asociada a menos reacciones alérgicas incluso en comparación con la PEG-L-asparaginasa. Esto se relaciona por tener una vida media menor que la proveniente de *E.coli*, de tan solo de 0.65 días en comparación de 1.24 días respectivamente, y también por tener diferentes estructuras antigénicas (Ko *et al.*, 2015). Por ello, es usada como segunda línea para tratamientos oncológicos, en casos donde se

observan reacciones alérgicas en pacientes tratados con la L-Aase proveniente de *E.coli* sin conjugación (Guilleme *et al.*, 2013).

2.5 Uso en la industria alimentaria

La relevancia de esta enzima no solo es dentro de la industria químico-farmacéutica y clínica humana, sino también dentro de la industria alimentaria, por su capacidad de hidrolizar. Por lo que se usa para disminuir la formación de una sustancia denominada por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC), como agente posiblemente carcinogénico-llamada “acrilamida”. Sustancia que se ha visto presente en muchos alimentos como el café, trigo, centeno, pan, papas, al someterlos a ciertas condiciones de temperatura y pH (Ortiz & Baqué, 2004; Calderón, 2015; Pedreschi *et al.*, 2010).

La acrilamida es un compuesto orgánico (C_3H_5NO) de bajo peso molecular, su peso molar es 71.08 Da, de color cristalino, sin olor, altamente hidrosoluble, también es soluble en glicerol, etilenglicol, ácido láctico, pero insoluble en etanol, metanol y éter (WHO, 2011). Tiene otros nombres como: etileno-carboxamina, prop-2-enamida o 2-propenamida (IUPAC). Este compuesto, tiene varios usos como la producción de floculantes, para la purificación del agua potable (WHO, 1996), también está dentro de la industria cosmética, funcionando como un aglutinante y fijador de cabello (Anderson, 2005) . Sin embargo, la Universidad de Estocolmo junto a la Dirección Nacional de Alimentación de Suecia (SNFA), descubrieron su presencia, en altas concentraciones, en alimentos ricos en carbohidratos como las papas fritas, generando esto una alerta (Belcalski *et al.*, 2003; Paul *et al.*, 2016).

2.5.1 Clasificación y formación de la acrilamida

La Agencia Internacional de Investigación sobre el cáncer (IARC), en 1994 clasificó la acrilamida como “probable carcinógeno para los humanos” (clase 2A), porque es biotransformada en el metabolito glicidamida, metabolito genotóxico (IARC, 1994). Además, es clasificada en la categoría A3 por la American Conference of Governmental Industrial Hygienists (ACGIH) como “carcinogénica en animales, desconocido en humanos” (ACGIH, 2011, como es citado en ATSDR, 2012). Asimismo, la Unión Europea (EU) ha incluido a la acrilamida en la categoría “2” de mutagénicos (FAO/OMS, 2002). Sin embargo, hasta ahora, ni la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ni el Comité Mixto FAO/OMS, no concluyen en una cantidad diaria tolerable (TDI).

La formación de la acrilamida en los alimentos aún no está totalmente descrita, pero Valenzuela y Ronco (2007) mencionan que para la formación de este monómero se requiere azúcares reductores y temperaturas mayores a 100°C. Además, se sabe que unas de las rutas que predominan para la formación de acrilamida puede ser a partir de la acroleína (IUPAC: 2-propenal), esta puede ser formada como resultado de diversos procesos oxidativos como la reacción de Maillard. La acroleína puede aportar su carbonilo funcional y este se juntaría con una asparagina libre, formando la acrilamida. Estas reacciones pueden suceder a partir de la degradación térmica de lípidos, la degradación de aminoácidos y proteínas, degradación de carbohidratos y en la reacción de Maillard. Por ende, cuando se agrega esta enzima, genera que se reduzca la cantidad de asparagina, reduciendo la posibilidad de que se forme la acrilamida (Valenzuela & Ronco, 2007)

El mecanismo por el cual la reacción de Maillard genera acrilamida, aun no se conoce totalmente, se propone que el grupo α -amino reacciona con la fuente de carbonilo, formando una base “Schiff”, y al someterlo a calor, esta base se descarboxila. Este puede hidrolizarse para

formar 3-aminopropioamida que se puede degradar más, mediante la eliminación de amoníaco, formando de esta manera la acrilamida (Zyzak *et al.*, 2003). Como menciona Feather (1994, como se citó en Zyzak *et al.*, 2003) la reacción de Maillard se da entre azúcares reductores con un grupo amino libre, que proviene de un aminoácido o de una proteína, generando compuestos como monocarbonilo y dicarbonilo, siendo estos los responsables de la pigmentación pardusca y modificaciones de olor y sabor, que van a favorecer a las características organolépticas del producto.

En pocas palabras, para la formación de acrilamida es necesario la presencia de azúcares libres y aminoácidos expuestos a temperaturas elevadas. En caso de la papa, muchos reportes mostraron que la formación de la acrilamida es proporcional a la reducción de las concentraciones de azúcares en la papa (Xu *et al.*, 2016). En las papas fritas se ha encontrado $117 \mu\text{g kg}^{-1}$ de acrilamida como mínimo y $4125 \mu\text{g kg}^{-1}$ como máximo y chips de papas $59 \mu\text{g kg}^{-1}$ como mínimo y $5200 \mu\text{g kg}^{-1}$ como máximo (Paul *et al.*, 2016).

2.5.2 Afecciones por el consumo de acrilamida y dosis permitida

El consumo de alimentos con acrilamida de manera frecuente genera a la larga muchas consecuencias, sobre todo a nivel nervioso. La neuropatía generada por el exceso de acrilamida, dañan las fibras nerviosas, las cuales sufren una degeneración retrógrada lenta y progresiva como se vio en el estudio de Hopkins y Gilliaty (1971, se citó en Spencer & Schaumburg, 1975). Además, Tanni y Hashimoto (1990) vieron la inhibición del crecimiento de las neuritas del ganglio de la raíz dorsal en ratas expuesta a acrilamida. Asimismo, en un estudio de Pennisi *et al.*, (2013) se demostró, que después de un largo periodo exposición de trabajadores a la acrilamida, se puede llegar a acumular en el organismo, generando disfuncional cerebelar seguido por neuropatía, considerándose un riesgo ocupacional.

Godin *et al.*, (2000) reportaron una respuesta anormal en la evaluación del reflejo pupilar, una degeneración progresiva reinal y cambios en los discos nerviosos ópticos, en una población de ganado después de una intoxicación accidental con acrilamida. Asimismo, se ha visto afección severa en axones del nervio tibial distal en ratas expuestas a 50 mg/ kg/ día durante 11 días (Lehning & Lopachin, 1994). Por otro lado, también puede generar daños a nivel reproductivo, puesto que se sabe que reduce los niveles de testosterona llevando esto a un reducción de la función testicular, generando esto una reducción del volumen seminal y esterilidad (Dearfield *et al.*, 1988).

La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA), señala que para que genere presencia de tumores se indica una ingesta de 0,17 mg/kg peso corporal/día, y para cambios neurológicos se indica 0,43 mg/kg peso corporal/día (Hurtado *et al.*, 2017). Por otro lado, la OMS, realizó ciertos experimentos en ratas en 1985, valorando una ingesta diaria tolerable (IDT) de 12 ug/kg de peso corporal/día, para evitar daños a nivel nervioso. En el 2016, la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (US EPA) fija como valor límite máximo de acrilamida en agua como monómero en 1mg L^{-1} (US EPA, 2016).

2.5.3 Mitigación de la acrilamida

Teniendo en cuenta estos puntos importantes, donde la formación de acrilamida se relaciona con la reacción de Maillard, se ha venido estudiando y probando distintas formas de como mitigar la formación de este agente y una de ellas es usando la L-Aase. Zyzak *et al.*, (2003) realizaron un experimento con la L-Aase proveniente de la bacteria *Erwinia chrysanthemi*, observando como resultado una disminución de un 88% de asparagina, evitando de esta manera la formación de este componente probablemente cancerígeno en un 99%.

Del mismo modo, se realizó un estudio similar con una L-Aase proveniente de la bacteria *Escherichia coli*, viendo una actividad hidrolítica del 75% de las asparaginas libres,

llevando esto a una reducción de acrilamida de 55% (Kimbonguila *et al.*, 2019). De la misma forma, también se ha visto que las L-Aase purificada a partir de microorganismos pertenecientes al reino fungí, pueden ser usada para una reducción de acrilamida, como *Penicillium cyclopium* (*P. cyclopium*). Shafei *et al.*, (2015) mostraron que la formación de acrilamida en papas frías tratadas con L-Aasa proveniente de *P.cyclopium* era menor en un 92% aproximadamente en comparación de la no tratadas. Asimismo, L-Aase purificada de *Trichoderma viride*, también se ha visto como un potencial para la mitigación de acrilamida (Lincoln & More , 2014).

De igual manera se ha estudiado otras formas de aminorar la presencia de esta sustancia, como la adición de glicerina, añadiéndola antes de exponerla al calor, generando competencia con la acrilamida, bajando de esta manera sus niveles. Por otro lado, también se ha visto la opción, de modificar el manejo, como el decrecimiento de la temperatura, que se utiliza ya sea para freír u hornear ciertos alimentos, la restricción del tiempo y disminución del pH (Xu *et al.*, 2016).

Comercialmente dentro de la industria alimentaria, la L-Aase se comercializa bajo los nombres Acrylaway y PreventASe. PreventASe, fue lanzada por la empresa DSM (DSM Food Specialities) en el 2007, aislando de L-Aase a partir de *Aspergillus niger* (Xu *et al.*, 2016). En un estudio de Ciesarová (2014 como se cita en Xu *et al.*, 2016) se usa como parte del tratamiento para la reducción de acrilamida, obteniendo como resultado una reducción del 46% de acrilamida en pan tostado, pero se menciona que llegar a niveles mayores de 95% dependiendo de la aplicación. Por otro lado, Acrylaway, es aislada a partir de *Aspergillus oryzae*, y llega generar una reducción de acrilamida de un 68 a 83% (Kimbonguila *et al.*, 2019).

III. Conclusiones

- Se ha visto el poder citotóxico de la L-Asparaginasa (L-Aase) frente a múltiples líneas celulares patógenas.

- El uso dentro de tratamientos oncológico de la L-Asparaginasa (L-Aase) es principalmente en casos de leucemia linfoblástica aguda (LLA).
- Se ha mejorado la expectativa de vida en pacientes con leucemia linfoblástica aguda (LLA), con el uso de L-Asparaginasa (L-Aase) como parte del tratamiento oncológico.
- Los efectos adversos más comunes por el uso de L-Asparaginasa (L-Aase), son hipersensibilidad y pancreatitis, pero se propone realizar más estudios, puesto que existen múltiples fuentes de donde se puede extraer la L-Asparaginasa (L-Aase), y cada una tiene características diferentes, que pueden ayudar a distintos requerimientos.
- La actividad L-glutamina, está muy relacionada con los efectos adversos que puede generar el tratamiento con L-Asparaginasa (L-Aase), sin embargo, se debe de tener en cuenta, que esta actividad también tiene características anticancerígenas, por ello, se debe de reevaluar el hecho de usar L-Asparaginasa (L-Aase) sin actividad L-glutamina.
- Dentro de varias industrias esta la presencia de la acrilamida, sustancia presuntamente cancerígena, por la que se debe evaluar con mayor relevancia el hecho de poder disminuir estas cantidades presentes en alimentos y agua de bebida con ayuda de la enzima L-Asparaginasa (L-Aase), puesto que se ha demostrado la reducción de la acrilamida por el uso de esta enzima.

IV. Referencias bibliográficas

Alam S, Pranaw K, Tiwari R (2019) Recent development in the uses of asparaginase as food enzyme. Parameswaran B (ed) Greenbio-processes, energy, environment, and sustainability. *Springer*, Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-13-2324-9>

Anderson, F. A (2005). Amended final report on the safety assessment of polyacrylamide and acrylamide residues in cosmetics. *International Journal of Toxicology*,

24(SUPPL. 2), 21–50. [https://doi: 10.1080/10915810590953842](https://doi.org/10.1080/10915810590953842)

Arora, S., Klair, J., Bellizzi, A. M., & Tanaka, T. (2019). L-carnitine and Vitamin B Complex for PEG-L-asparaginase-Induced Hepatotoxicity. *ACG Case Reports Journal*, 6(8), e00194. [https://doi: 10.14309/crj.00000000000000194](https://doi.org/10.14309/crj.00000000000000194)

Asselin, B. L., Whitin, J. C., Coppola, D. J., Rupp, I. P., Sallan, S. E., & Cohen, H. J. (1993). Comparative pharmacokinetic studies of three asparaginase preparations. *Journal of Clinical Oncology*, 11(9), 1780–1786. [https://doi: 10.1200/JCO.1993.11.9.1780](https://doi.org/10.1200/JCO.1993.11.9.1780)

ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2012). Toxicological profile of acrylamide. U.S. Department of Health and Human Services. Public Health Services. Retrieved from: <http://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp203.pdf>

Becalski, A., Lau, B. P. Y., Lewis, D., & Seaman, S. W. (2003). Acrylamide in foods: Occurrence, sources, and modeling. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(3), 802–808. [https://doi: 10.1021/jf020889y](https://doi.org/10.1021/jf020889y)

Borah D, Sangra A, Shahin L (2012) Production, purification and process optimization of asparagines. *Int J Pharm Pharm Sci* 4(4), 560–563

Broome J. D. (1961). Evidence that the L-asparaginase activity of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. *Nature*, 191, 1114-1115

Broome J. D. (1963). Evidence that L-asparaginase of guinea pig serum is responsible for its antilymphoma effects. I. Properties of the L-asparaginase of guinea pig serum in relation to those of the antilymphoma substance. *J Exp Med*, 99, 99-120

Broome J. D. (1968). Effects of the enzyme on asparagine levels in the blood, Normal tissues, and 6C3HED lymphomas of mice: Differences in asparagine formation and utilization in asparaginase-sensitive and resistant lymphoma cells.

Brumano, L. P., da Silva, F. V. S., Costa-Silva, T. A., Apolinário, A. C., Santos, J. H. P. M., Kleingesinds, E. K, Monteiro, G., Rangel-Yagui, C de O., Benyahia, B., & Junior, A. P. (2019). Development of L-asparaginase biobetters: Current research status and review of the desirable quality profiles. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 6(JAN), 1–22. [https://doi: 10.3389/fbioe.2018.00212](https://doi.org/10.3389/fbioe.2018.00212)

Cachumba, J. J. M., Antunes, F. A. F., Peres, G. F. D., Brumano, L. P., Santos, J. C. Dos, & Da Silva, S. S. (2016). Current applications and different approaches for microbial L-asparaginase production. *Brazilian Journal of Microbiology*, 47, 77–85. [https://doi: 10.1016/j.bjm.2016.10.004](https://doi.org/10.1016/j.bjm.2016.10.004)

Calderón, G. J. (2015). A revision on acrylamide aspects: formation, quantification, mitigation and future considerations Aspectos sobre acrilamida: formação, quantificação, mitigação e futuras considerações. Uma revisão. *SciELO*, 10(1), 119–134. <http://www.scielo.org.co/pdf/pml/v10n1/v10n1a11.pdf>

Cavelier, J. (1936). El sistema reticulo-endotelial. *Revista de La Facultad de Medicina*, 4(9), 511–542.

Cecconello, D. K., Magalhães, M. R. de, Werlang, I. C. R., Lee, M. L. de M., Michalowski, M. B., & Daudt, L. E. (2020). Asparaginase: an old drug with new questions. *Hematology, Transfusion and Cell Therapy*. [https://doi:10.1016/j.htct.2019.07.010](https://doi.org/10.1016/j.htct.2019.07.010)

Chan, W. K., Lorenzi, P. L., Anishkin, A., Purwaha, P., Rogers, D. M., Sukharev, S., Weinstein, J. N. (2014). The glutaminase activity of L- Asparaginase is not required for anticancer activity against ASNS-negative cells. *Blood*, 123(23), 3596–3606. [http://doi: 10.1182/blood-2013-10-535112](http://doi.org/10.1182/blood-2013-10-535112)

Clementi A. (1922). La desamination enzymatique de l'asparagine chez les differentes especes animals et la signification physiologique de sa presence dans l'organisme. *Arch Intern*

Physiol, 19, 369-398.

Cohen-rosenstock, S., Valverde, K. (2018). Pancreatitis aguda como efecto adverso de L-asparaginasa en el tratamiento de la leucemia linfocítica aguda. *Acta Médica Costarricense*, 60(2), 30–33.

Dearfield, K. L., Abernathy, C. O., Ottley, M. S., Brantner, J. H., & Hayes, P. F. (1988). Acrylamide: its metabolism, developmental and reproductive effects, genotoxicity, and carcinogenicity. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 195(1), 45–77. [http://doi:10.1016/0165-1110\(88\)90015-2](http://doi:10.1016/0165-1110(88)90015-2)

Environmental Protection Agency. (2016). Drinking water contaminants—standards and regulations. US Environ. Prot. Agency

EL-Asmar, F. A., & Greenberg, D. M. (1966). Studies on the Mechanism of Inhibition of Tumor Growth by the Enzyme Glutaminase. *Cancer Research*, 26(1), 116–122.

El-Naggar, N. E. A., Deraz, S. F., Soliman, H. M., El-Deeb, N. M., & El-Ewasy, S. M. (2016). Purification, characterization, cytotoxicity and anticancer activities of L-asparaginase, anti-colon cancer protein, from the newly isolated alkaliphilic *Streptomyces fradiae* NEAE-82. *Scientific Reports*, 6(September), 1–16. <http://doi:10.1038/srep32926>

El-Naggar, N. E. A., El-Ewasy, S. M., & El-Shweihy, N. M. (2014). Microbial L-asparaginase as a potential therapeutic agent for the treatment of acute lymphoblastic leukemia: The pros and cons. *International Journal of Pharmacology*, 10(4), 182–199. <http://doi:10.3923/ijp.2014.182.199>

Fatima, N., Khan, M. M., & Khan, I. A. (2019). L-asparaginase produced from soil isolates of *Pseudomonas aeruginosa* shows potent anti-cancer activity on HeLa cells. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26(6), 1146–1153. <http://doi:10.1016/j.sjbs.2019.05.001>

Food, F.C, FAO, & WHO (2002). Health implications of acrylamide in food: Report of a joint FAO/WHO consultation, WHO headquarters, Geneva, Switzerland, 25–27 June 2002. World Health Organization.

Furth O, Friedmann M. (1910). Über die Verbreitung asparaginspaltender Organfermente. *Biochemistry*, 26, 435-440

Gentili, D., Conter, V., Rizzari, C., Tschuemperlin, B., Zucchetti, M., Orlandoni, D., Masera, G. (1996). L-Asparagine depletion in plasma and cerebrospinal fluid of children with acute lymphoblastic leukemia during subsequent exposures to Erwinia L-asparaginase. *Annals of Oncology*, 7(7), 725–730. <http://doi: 10.1093/oxfordjournals.annonc.a010722>

Godin, A. C., Dubielzig, R. R., Giuliano, E., & Ekesten, B. (2000). Retinal and optic nerve degeneration in cattle after accidental acrylamide intoxication. *Veterinary Ophthalmology*, 3(4), 235–239. doi: 10.1046/j.1463-5224.2000. 00109.x

Guilleme, C. M., Delgado, R. F., & Navarro, J. S. (2013). Actualización del tratamiento con L-asparaginasa en Pediatría. 79(5).

Hanif, N. (2017). Extraction of Anticancerous Enzymes from *E.coli* and a New Method to Study its Activity. *Journal of Bacteriology & Parasitology*, 08(01). <http://doi: 10.4172/2155-9597.1000301>

Hideji, T., & Kazuo, H. (1991). In vitro neurotoxicity study with dorsal root ganglia for acrylamide and its derivatives. *Toxicology Letters*, 58(2), 209–213. [http://doi: 10.1016/0378-4274\(91\)90175-6](http://doi: 10.1016/0378-4274(91)90175-6)

Hurtado, M. C., Moreno, P. C., Fandos, M. E. G., David, J. M. V., Lázaro, D. R., Berruezo, G. R., & Oliag, P. T. (2017). Informe del Comité Científico de la Agencia Española de Consumo, Seguridad Alimentaria y Nutrición (AECOSAN) sobre los criterios de seguridad

que limiten la exposición a acrilamida producida por la fritura de patatas. *Revista Del Comité Científico de La AECOSAN*, 26, 39.

IARC. (1994). Some industrial chemicals. Lyon, International Agency for Research on Cancer (IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Vol 60).

Kaspers, G. J. L. (2019). Acute myeloid leukaemia niche regulates response to L-asparaginase. *British Journal of Haematology*, 186(3), 397–399. <http://doi: 10.1111/bjh.15924>

Kidd, J. C. (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. Exp. Med.* 98, 565-581.

Kimbonguila, A., Matos, L., Petit, J., Scher, J., & Nzikou, J.-M. (2019). Effect of Physical Treatment on the Physicochemical, Rheological and Functional Properties of Yam Meal of the Cultivar “Ngumvu” From *Dioscorea Alata* L. of Congo. *International Journal of Recent Scientific Research*, (March). <https://doi: 10.24327/IJRSR>

Ko, R. H., Jones, T. L., Radvinsky, D., Robison, N., Gaynon, P. S., Panosyan, E. H., Dhall, G. (2015). Allergic reactions and anti-asparaginase antibodies in children with high-risk acute lymphoblastic leukemia: A children’s oncology group report. *Cancer*, 121(23), 4205–4211. <http://doi: 10.1002/cncr.29641>

Kurtzberg, J., Asselin, B., Bernstein, M., Buchanan, G. R., Pollock, B. H., & Camitta, B. M. (2011). Polyethylene glycol-conjugated L-asparaginase versus native L-asparaginase in combination with standard agents for children with acute lymphoblastic leukemia in second bone marrow relapse: A children’s Oncology Group Study (POG 8866). *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 33(8), 610–616. <https://doi: 10.1097/MPH.0b013e31822d4d4e>

Lang S. (1904). Über desamidierung im Tierkörper. *Beith Chem Physiol Pathol*, 5, 321-

Lehning, E. J., & Lopachin, R. M. (1994). Changes in na-k atpase and protein kinase c activities in peripheral nerve of acrylamide-treated rats. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 42(3), 331–342. [https://doi: 10.1080/15287399409531883](https://doi.org/10.1080/15287399409531883)

Lincoln, L., & More, S. S. (2014). Isolation and production of clinical and food grade L- Asparaginase enzyme from fungi. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry JPP*, 177(33), 177–183.

Lobel, J. S., O'Brien, R. T., McIntosh, S., Aspnes, G. T., & Capizzi, R. L. (1979). Methotrexate and asparaginase combination chemotherapy in refractory acute lymphoblastic leukemia of childhood. *Cancer*, 43(3), 1089–1094. [https://doi: 10.1002/1097-0142\(197903\)43:3<1089::AID-CNCR2820430346>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/1097-0142(197903)43:3<1089::AID-CNCR2820430346>3.0.CO;2-H)

Luhana, K., Dave, A., & Patel, K. (2013). Production, Purification & Characterization of Extracellular L-Asparaginase (Anti Cancerous Enzyme) From *Aspergillus niger*. (*INTJCA*) *An Open Access Free Online*, 2(3), 14–25. Retrieved from <http://rescite.org/index.php/INTJCA/article/view/81>

Michalska, K., & Jaskolski, M. (2006). Structural aspects of L-asparaginases, their friends and relations. *Acta Biochimica Polonica*, 53(4), 627–640. [https://doi: 10.18388/abp.2006_3291](https://doi.org/10.18388/abp.2006_3291)

Moharib, S. A. (2018). Anticancer Activity of L-Asparaginase Produced from *Vigna Unguiculata*. *World Scientific Research*, 5(1), 1–12. [http://doi: 10.20448/journal.510.2018.51.1.12](http://doi.org/10.20448/journal.510.2018.51.1.12)

Mostafa, S. A. (1982). Properties of L-asparaginase in cell-free extracts of *Streptomyces karnatakensis*. *Zentralblatt Für Mikrobiologie*, 137(1), 63–71. [https://doi: 10.1016/s0232-](https://doi.org/10.1016/s0232-)

4393(82)80085-1

Mostafa, Y., Alrumman, S., Alamri, S., Hashem, M., Al-izran Kholood, Alfaifi, M., Taha, T. (2019). Enhanced production of glutaminase-free L-asparaginase by marine *Bacillus velezensis* and cytotoxic activity against breast cancer cell lines. *Electronic Journal of Biotechnology*. [https://doi: 10.1016/j.ejbt.2019.10.001](https://doi.org/10.1016/j.ejbt.2019.10.001)

Müller, H. J., & Boos, J. (1998). Use of L-asparaginase in childhood ALL. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 28(2), 97–113. doi: 10.1016/S1040-8428(98)00015-8

Muss, H. B., Spell, N., Scudiero, D., Capizzi, R. L., Cooper, M. R., Cruz, J., Franklin, A. (1990). A phase II trial of peg-L-asparaginase in the treatment of non-hodgkins lymphoma. *Investigational New Drugs*, 8(1), 125–130. [https://doi: 10.1007/BF00216938](https://doi.org/10.1007/BF00216938)

Nguyen, H. A., Su, Y., & Lavie, A. (2016). Design and characterization of *erwinia chrysanthemi* L-asparaginase variants with diminished L-glutaminase activity. *Journal of Biological Chemistry*, 291(34), 17664–17676. [https://doi: 10.1074/jbc.M116.728485](https://doi.org/10.1074/jbc.M116.728485)

Nunes, J. C. F., Cristóvão, R. O., Freire, M. G., Santos-Ebinuma, V. C., Faria, J. L., Silva, C. G., & Tavares, A. P. M. (2020). Recent Strategies and Applications for L-Asparaginase Confinement. *Molecules* (Basel, Switzerland), 25(24). <https://doi.org/10.3390/molecules25245827>

OMS (Organización Mundial de la Salud) (2002). Health Implications of acrylamide in food. Report of a joint FAO/WHO Consultation, 2 February (Geneva: WHO)

Orabi, H. M., El-Fakharany, E. M., Abdelkhalek, E. S., & Sidkey, N. M. (2019). L Asparaginase and L-glutaminase: Sources, production, and applications in medicine and industry. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, (2), 179–190. [https://doi: 10.15414/jmbfs.2019.9.2.179-190](https://doi.org/10.15414/jmbfs.2019.9.2.179-190)

Ortiz, A; Baqué, C. (2004). Determinación de los niveles de acrilamida en el café. *Neiker-Instituto*. Retrieved from http://www.izenpe.com/s15-4812/es/contenidos/informacion/resultados_investigacion/es_9873/adjuntos/acrilamida.pdf

Palma R., P., Folatre B., I., Kyonen L., M., Cea S., G., Yilorm B., M., & Martínez D., P. (2013). Hiperglicemia en niños con leucemia linfoblástica aguda en tratamiento con L-asparaginasa. *Revista Chilena de Pediatría*, 84(4), 387–395. <https://doi: 10.4067/S0370-41062013000400004>

Paul, V., Ezekiel, R., & Pandey, R. (2016). Acrylamide in processed potato products: progress made and present status. *Acta Physiologiae Plantarum*, 38(12). <https://doi: 10.1007/s11738-016-2290-8>

Pedreschi, F., Granby, K., & Risum, J. (2010). Acrylamide Mitigation in Potato Chips by Using NaCl. *Food and Bioprocess Technology*, 3(6), 917–921. <https://doi: 10.1007/s11947-010-0349-x>

Pennisi, M., Malaguarnera, G., Puglisi, V., Vinciguerra, L., Vacante, M., & Malaguarnera, M. (2013). Neurotoxicity of acrylamide in exposed workers. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 10(9), 3843–3854. <https://doi: 10.3390/ijerph10093843>

Piatkowska-Jakubas, B., Krawczyk-Kuliś, M., Giebel, S., Adamczyk-Cioch, M., Czyz, A., Marańda, E. L., Paluszewska, M., Pałynyczko, G., Piszcz, J., & Hołowiecki, J. (2008). Use of L-asparaginase in acute lymphoblastic leukemia: Recommendations of the Polish adult leukemia group. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 118(11), 664–669. <https://doi.org/10.20452/pamw.518>

Maraña, E. L., Hołowiecki, J. (2008). Use of L-asparaginase in acute lymphoblastic leukemia: Recommendations of the Polish adult leukemia group. *Polskie Archiwum Medycyny Wewnętrznej*, 118(11), 664–669. [https://doi: 10.20452/pamw.518](https://doi.org/10.20452/pamw.518)

Rathod, S., Ramsey, M., Relling, M. V., Finkelman, F. D., & Fernandez, C. A. (2019). Hypersensitivity reactions to asparaginase in mice are mediated by anti-asparaginase IgE and IgG and the immunoglobulin receptors FcεRI and FcγRIII. *Haematologica*, 104(2), 319–329. [https://doi: 10.3324/haematol.2018.199448](https://doi.org/10.3324/haematol.2018.199448)

Ronghe, M., Burke, G. A. A., Lewis, S. P., & Estlin, E. J. (2001). Remission induction therapy for childhood acute lymphoblastic leukaemia: Clinical and cellular pharmacology of vincristine, corticosteroids, L-asparaginase and anthracyclines. *Cancer Treatment Reviews*, 27(6), 327–337. [https://doi: 10.1053/ctrv.2001.0243](https://doi.org/10.1053/ctrv.2001.0243)

Schalk, A. M., Nguyen, H. A., Rigouin, C., & Lavie, A. (2014). Identification and structural analysis of an L-asparaginase enzyme from guinea pig with putative tumor cell killing properties. *Journal of Biological Chemistry*, 289(48), 33175–33186. [https://doi: 10.1074/jbc.M114.609552](https://doi.org/10.1074/jbc.M114.609552)

Shafei, M. S., El-Refai, H. A., Mostafa, H., El-Refai, A. M. H., El-Beih, F. M., Easa, S. M., & Gomaa, S. K. (2015). Purification, characterization, and kinetic properties of penicillium cyclopium L-asparaginase: Impact of lasparaginase on acrylamide content in potato products and its cytotoxic activity. *Current Trends in Biotechnology and Pharmacy*, 9(2), 132–140.

Society, A. C. (n.d.). *Introduction Leukemia : Chapter 2 Literature Review*.

Spencer, P. S., & Schaumburg, H. H. (1975). Nervous system degeneration produced by acrylamide monomer. *Environmental Health Perspectives*, 11(June), 129–133. [https://doi: 10.1289/ehp.7511129](https://doi.org/10.1289/ehp.7511129)

Tallal, L., Tan, C., Oettgen, H., Wollner, N., McCarthy, M., Helson, L., ... Murphy, M. L. (1970). E. coli L-asparaginase in the treatment of leukemia and solid tumors in 131 children. *Cancer*, 25(2), 306–320. [http://doi: 10.1002/1097-0142\(197002\)25:2<306::AID-CNCR2820250206>3.0.CO;2-H](http://doi:10.1002/1097-0142(197002)25:2<306::AID-CNCR2820250206>3.0.CO;2-H)

Trang, T. H. N., Cuong, T. N., Thanh, S. L. N., & Tuyen, T. Do. (2016). Optimization, purification and characterization of recombinant L-asparaginase II in Escherichia coli. *African Journal of Biotechnology*, 15(31), 1681–1691. [https://doi: 10.5897/ajb2016.15425](https://doi:10.5897/ajb2016.15425)

Valenzuela B, R; Ronco M, A. (2007). ACRILAMIDA EN LOS ALIMENTOS. *Revista chilena de nutrición*, 34(1), 8-16. <https://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182007000100001>

Villar, A. (2019). *Sistema Fagocítico Mononuclear: Descripción y Papel en la Patología Clínica*.

WHO. (2011). Acrylamide in drinking-water. *Water Sanitation Health*, WHO/SDE/WSH/03.04/71, 10–11. Retrieved from http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/chemicals/0304_71/en/index6.html

WHO, W. H. O. (1996). Silver in Drinking-water Background. *Guidelines for Drinking-Water Quality*, 2, 1–9.

Xu, F., Oruna-Concha, M. J., & Elmore, J. S. (2016). The use of asparaginase to reduce acrylamide levels in cooked food. *Food Chemistry*, 210, 163–171. [http://doi: 10.1016/j.foodchem.2016.04.105](http://doi:10.1016/j.foodchem.2016.04.105)

Zyzak, D. V., Sanders, R. A., Stojanovic, M., Tallmadge, D. H., Eberhart, B. L., Ewald, D. K., Villagran, M. D. (2003). Acrylamide formation mechanism in heated foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(16), 4782–4787. [http://doi: 10.1021/jf034180i](http://doi:10.1021/jf034180i)