

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Molekulární biologie a biochemie organismů



**Karina Sitdikova**

Role glutaminu v metabolismu leukemických buněk  
The role of glutamine in leukemia cell metabolism

Bakalářská práce

Školitel: Ing. Kateřina Hložková, Ph.D.

Praha, 2024

### *Poděkování*

Ráda bych poděkovala své školitelce Ing. Kateřině Hložkové, Ph.D., za odborné vedení, trpělivost a cenné rady. Také bych chtěla poděkovat své rodině za podporu během psaní této bakalářské práce.

### **Prohlášení:**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 25.04.2024

Podpis

## ABSTRAKT

Leukémie je heterogenní skupina hematologických malignit, které vznikají neoplastickou proliferací nezralých krevních buněk. Jedním z charakteristických znaků nádorových buněk je jejich přeprogramovaný metabolismus. Z tohoto důvodu je terapie cílená na deregulované metabolické procesy atraktivní strategií léčby malignit, včetně hematologických. Důležitou součástí metabolismu buněk je metabolismus aminokyselin, jehož cílení se jeví jako klíčová strategie v léčbě leukémie. Glutamin, podmíněně esenciální aminokyselina, hraje zásadní roli v energetickém metabolismu a udržování redoxní rovnováhy leukemických buněk, čímž přispívá k jejich růstu a proliferaci. Strategie léčby zaměřené na metabolismus glutaminu zahrnují depleci glutaminu, aplikaci inhibitorů transportérů glutaminu a inhibitorů enzymu glutaminázy. Aby byla léčba leukémie účinná, je třeba vzít v potaz, že glutamin je součástí mnoha metabolických drah a každá z těchto drah má mnoho regulačních faktorů. Terapie zaměřená na metabolismus glutaminu by tedy měla být navržena tak, aby neovlivňovala zdravé buňky a imunitu pacientů. Tato práce popisuje leukémii, včetně jejích typů a léčby, a metabolismus glutaminu a jeho možné cílení při léčbě leukémií. Pozornost je také věnována enzymu L-asparagináze, který se používá při léčbě akutní lymfoblastické leukémie a má jak glutaminázovou, tak asparaginázovou aktivitu.

**Klíčová slova:** leukémie, glutamin, L-asparagináza, terapie, metabolismus

## **ABSTRACT**

Leukemia is a heterogeneous group of hematological malignancies that result from the abnormal proliferation of immature blood cells. One of the hallmarks of tumor cells is their altered metabolism. Therefore, therapy targeting deregulated metabolic processes is an attractive strategy for the treatment of malignancies, including hematological ones. Amino acid metabolism is an important part of cellular metabolism, and targeting it appears to be a key attractive strategy in the treatment of leukemia. Glutamine, a conditionally essential amino acid, plays a crucial role in energy metabolism and maintaining the redox balance of leukemia cells, thereby contributing to their growth and proliferation. Strategies to treat leukemia by targeting glutamine metabolism include glutamine depletion, the use of glutamine transporter inhibitors and glutaminase enzyme inhibitors. To ensure the effectiveness of leukemia treatment, it is essential to recognize that glutamine is involved in numerous metabolic pathways, each of which is regulated by multiple factors. As a result, therapies targeting glutamine metabolism should be carefully designed to avoid affecting healthy cells and patient immunity. This thesis describes leukemia, including its types and treatments, and glutamine metabolism and its potential targeting in leukemia treatment. Attention is also given to the enzyme L-asparaginase, which is used in the treatment of acute lymphoblastic leukemia and has both glutaminase and asparaginase activity.

**Key words:** leukemia, glutamine, L-asparaginase, therapy, metabolism

## SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

2-HG	D-2-hydroxyglutarát
Acetyl-CoA	z angl. acetyl-coenzyme A
$\alpha$ -KG	$\alpha$ -ketoglutarát
ALL	akutní lymfoblastická leukémie
AML	akutní myeloidní leukémie
AMP	adenosinmonofosfát
Asn	asparagin
ASNáza	L-asparagináza
ASNS	asparaginsyntetáza
Asp	aspartát
ASRGL1	L asparaginase like 1
AST	aspartáttransamináza
ATP	adenosintrifosfát
B-ALL	B-buněčná akutní lymfoblastická leukémie
CLL	chronická lymfoblastická leukémie
CLP	lymfoidní progenitor (z angl. common lymphoid progenitor)
CML	chronická myeloidní leukémie
CMP	myeloidní progenitor (z angl. common myeloid progenitor)
CTP	cytidintrifosfát
DNA	deoxyribonukleová kyselina (z angl. deoxyribonucleic acid)
EcA	<i>E. coli</i> asparagináza
ErA	<i>Erwinia</i> asparagináza
FADH <sub>2</sub>	flavinadenindinukleotid
GDH	glutamátdehydrogenáza
Gln	glutamin
GLS	glutamináza (z angl. glutaminase)

Glu	glutamát
GMP	guanosinmonofosfát
GO	gemtuzumab ozogamycin
GS	glutaminsyntetáza
GTP	guanosintrifosfát
HIF-1 $\alpha$	hypoxií indukovaný faktor 1-alfa
HIF-2 $\alpha$	hypoxií indukovaný faktor 2-alfa
HSC	hematopoetická kmenová buňka (z angl. haematopoietic stem cell)
IDH1	izocitrátdehydrogenáza 1
IMP	inosinmonofosfát
K <sub>M</sub>	Michaelisova konstanta
KRAS	z angl. Kirsten rat sarcoma virus oncogene homolog
LAT1	transportér aminokyselin typu L 1
MPP	multipotentní progenitor
MRN	minimální reziduální nemoc
mTOR	savčí cíl rapamycinu (z angl. mammalian target of rapamycin)
mTORC1	savčí cíl rapamycinového komplexu 1 (z angl. mammalian target of rapamycin complex 1)
mTORC2	savčí cíl rapamycinového komplexu 2 (z angl. mammalian target of rapamycin complex 2)
NADH	nikotinamidadenindinukleotid
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	amonný iont
NK	z angl. natural killer
OAA	oxalacetát
PDAC	duktální adenokarcinom pankreatu (z angl. pancreatic ductal adenocarcinoma)
PEG-ASNáza	pegylovaná verze asparaginázy

Ph	filadelfský (z angl. Philadelphia)
PI3K	z angl. phosphoinositide 3-kinase
Pyr	pyruvát
RCC	nádor ledvin (z angl. renal cell carcinoma)
RK	reduktivní karboxylace
ROS	reaktivní forma kyslíku (z angl. reactive oxygen species)
succinyl-CoA	z angl. succinyl-coenzyme A
T-ALL	T-buněčná akutní lymfoblastická leukémie
TCA	cyklus trikarboxylových kyselin (z angl. tricarboxylic acid cycle)
TKI	tyrozinkinázový inhibitor
UMP	uridinmonofosfát
UTP	uridintrifosfát

# OBSAH

1	ÚVOD .....	1
2	LEUKÉMIE .....	2
2.1	Rozdělení leukémií .....	2
2.2	Vznik leukémie .....	3
2.3	Prognóza a léčba .....	5
2.4	L-asparagináza .....	9
2.4.1	L-asparagináza u leukémií .....	10
2.4.2	Vlastnosti L-asparaginázy .....	11
2.4.3	Mechanismus působení L-asparaginázy .....	12
2.4.4	Eryaspáza .....	12
3	GLUTAMIN .....	13
3.1	Metabolismus glutaminu .....	13
3.1.1	Produkce energie .....	14
3.1.2	Syntéza neesenciálních aminokyselin .....	15
3.1.3	Syntéza nukleotidů .....	16
3.1.4	Regulace signální dráhy mTORC1 .....	17
3.1.5	Syntéza glutathionu .....	17
3.2	Nádorový metabolismus glutaminu .....	18
3.2.1	Metabolismus glutaminu v solidních nádorech .....	18
3.2.2	Metabolismus glutaminu u leukémií .....	20
3.3	Cílení na metabolismus glutaminu při léčbě leukémie .....	20
3.3.1	Deplece glutaminu pomocí L-asparaginázy .....	20
3.3.2	Inhibice glutaminolýzy .....	22
3.3.3	Inhibice transportérů glutaminu .....	23
4	ZÁVĚR .....	24
5	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY .....	25



# 1 ÚVOD

Nádorová onemocnění způsobená patofyziologickými změnami v přirozeném procesu buněčného dělení jsou každoročně zodpovědná za vysoký počet úmrtí na celém světě (Matthews et al., 2022). V roce 2020 bylo celosvětově diagnostikováno a hlášeno více než 19,3 milionu nových nádorových onemocnění, což na základě uváděných údajů povede k přibližně 10 milionům úmrtí za rok (Ferlay et al., 2021). Leukémie je nádorové onemocnění, které vzniká v důsledku nadměrné produkce abnormálních krevních buněk (Nemkov et al., 2019). S odhadovaným ročním počtem 500 000 případů tvoří leukémie 2,5 % celkového počtu případů nádorových onemocnění (Chhikara & Parang, 2023).

Leukemické buňky rostou a dělí se rychleji než zdravé buňky, což zvyšuje jejich nároky na energii, biosyntetické prekurzory a syntézu makromolekul (Altman et al., 2016; Grønningsæter et al., 2020). V oblasti léčby leukémie existují úspěšné příklady cílení na metabolismus aminokyselin v preklinických i klinických stádiích (Chen & Zhang, 2024). Glutamin je "podmíněně esenciální aminokyselinou" a jeho metabolismus hraje v nádorových buňkách klíčovou roli, neboť se podílí na udržování redoxní homeostázy, regulaci signálních transdukčních drah a udržuje buněčnou proliferaci (Yang et al., 2017). Potenciální strategie léčby leukémie cílící na metabolismus glutaminu zahrnují depleci glutaminu, aplikaci inhibitorů transportérů glutaminu a inhibitorů glutaminázy (Xiao et al., 2023). Jednou z atraktivních možností deplece glutaminu je využití L-asparaginázy, enzymu, který je dlouhodobě schválený pro klinické použití k léčbě dětské akutní lymfoblastické leukémie, která je celosvětově nejčastějším nádorovým onemocněním u dětí. Tento enzym je součástí i dospělého protokolu na léčbu akutní lymfoblastické leukémie, ale omezeně, jelikož dospělí jsou často citlivější na jeho toxické a vedlejší účinky a celkově hůře tolerují léčbu zahrnující jeho použití (Egler et al., 2016; Koprivnikar et al., 2017).

Cílem této práce je popsat typy leukémií a jejich léčbu. Dále jsou popsány rozdíly v metabolismu glutaminu u zdravých a nádorových buněk s důrazem na buňky leukemické. V neposlední řadě se práce zabývá různými potenciálními strategiemi léčby s cílem ovlivnit deregulovaný metabolismus glutaminu v leukemických buňkách.

## 2 LEUKÉMIE

Leukémie je heterogenní skupina hematologických malignit, které vznikají neoplastickou proliferací nezralých krevních buněk (Nemkov et al., 2019; Pejovic & Schwartz, 2002). Pojem „leukémie“ pochází z řeckých slov "leukos", což znamená bílý, a "haima", což znamená krev (Whiteley et al., 2021).

Zdravé bílé krvinky zahrnují lymfocyty, neutrofilny, eozinofily, bazofily a monocyty; jsou produkovány v kostní dřeni a pomáhají tělu bojovat s infekcemi a jinými nemocemi. Mezi abnormální bílé krvinky patří blasty, nezralé granulocyty a atypické lymfocyty (Adjouadi et al., 2010). Takové atypické bílé krvinky, které nejsou funkčními imunitními buňkami, obsazují prostor v kostní dřeni, a nakonec narušují její schopnost produkovat dostatečné množství červených krvinek, krevních destiček a zdravých bílých krvinek. Toto nadměrné množství leukemických buněk se hromadí i v dalších hematopoetických tkáních, jako jsou periferní krev a některé lymfatické tkáně, například slezina a lymfatické uzliny. V důsledku toho dochází k inhibici normální hematopoetické funkce a infiltraci dalších nehematopoetických tkání a orgánů (Nemkov et al., 2019; Ward et al., 2017; Zhao et al., 2020).

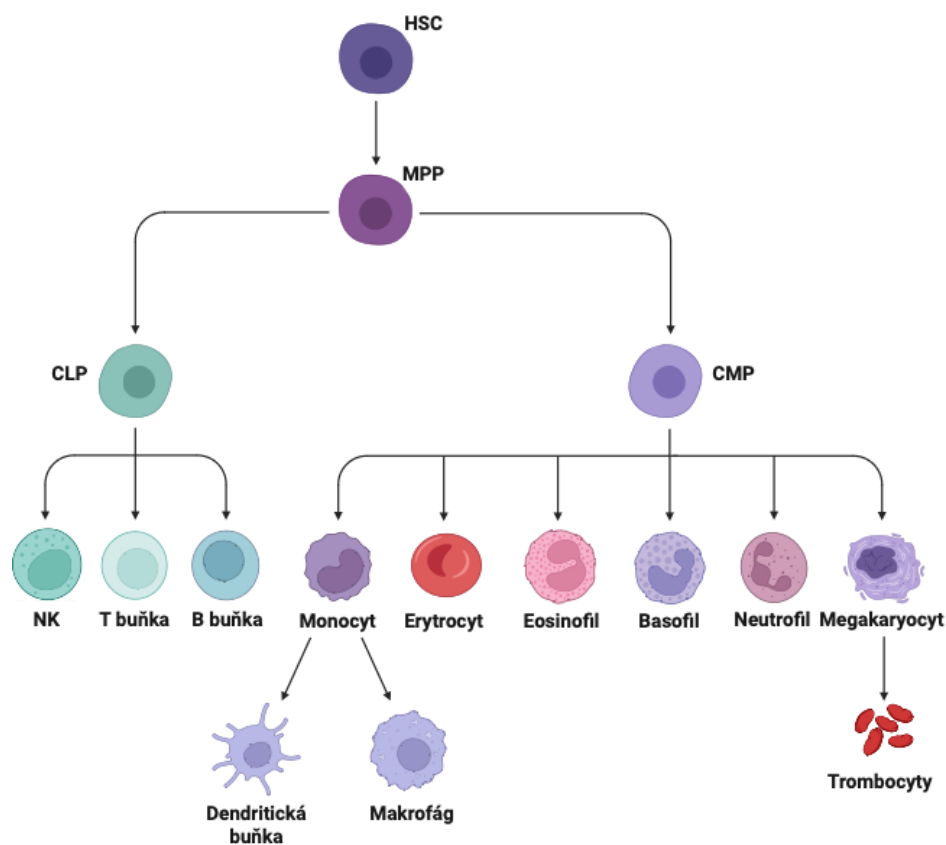
### 2.1 Rozdělení leukémií

Leukémie, jako termín označující široké spektrum hematopoetických malignit, je klasifikována do podtypů na základě morfologie, imunofenotypu, cytogenetických a molekulárních změn a klinických projevů (Arber et al., 2016). Leukémie lze obecně rozdělit do čtyř hlavních typů: akutní lymfoblastická leukémie (ALL), akutní myeloidní leukémie (AML), chronická lymfoblastická leukémie (CLL) a chronická myeloidní leukémie (CML) (Zhao et al., 2020). Akutní a chronická leukémie se rozlišují podle procentuálního zastoupení blastů v kostní dřeni nebo krvi a také podle rychlosti nástupu příznaků. Blasty, což jsou nezralé bílé krvinky, obvykle tvoří méně než 5 % buněk kostní dřene u zdravého jedince. Akutní leukémie se vyznačují více než 20 % blastů, což vede k rychlému nástupu příznaků. Naopak, chronické leukémie mají méně než 20 % blastů s relativně pomalým nástupem příznaků. Další možnost rozlišení těchto dvou typů leukémií je podle míry zralosti buněk při jejich nádorové transformaci. Akutní leukémie představují malignity nezralých, špatně diferencovaných blastů, které mohou podléhat klonální expanzi a proliferaci. To vede k nahrazení a narušení vývoje a funkce zdravých krevních buněk. Na druhou stranu, u chronické leukémie jsou buňky částečně zralé. Tyto buňky nefungují efektivně a dělí se příliš

rychle, což vede k jejich hromadění v periferní krvi a lymfatických orgánech (Brunning, 2003; Chennamadhavuni et al., 2023; Szczepański et al., 2003). Klasifikace na myeloidní nebo lymfoblastickou leukémií je založena na buněčném původu. Lymfoblastická leukémie se týká transformace progenitorových buněk kostní dřeně, které se diferencují do lymfocytů, včetně NK (z angl. natural killer) buněk, T buněk a B buněk. V případě myeloidní leukémie dochází k maligní transformaci prekursorů myeloidní linie (monocyty, granulocyty, bazofily, neutrofil, eozinofily, erytrocyty a trombocyty) (Foon & Todd, 1986; Nemkov et al., 2019; Pelcovits & Niroula, 2020).

## 2.2 Vznik leukémie

Hematopoéza je důkladně regulovaný proces, který kontroluje vývoj různých linií krevních buněk ze společné pluripotentní hematopoetické kmenové buňky (HSC, z angl. haematopoietic stem cell) (Obr. 1) (Chennamadhavuni et al., 2023; Kosmider & Moreau-Gachelin, 2006).



**Obrázek 1** Hematopoéza. **HSC** – hematopoetická kmenová buňka, z angl. haematopoietic stem cell; **MPP** – multipotentní progenitor; **CLP** – lymfoidní progenitor, z angl. common lymphoid progenitor; **CMP** – myeloidní progenitor, z angl. common myeloid progenitor; **NK** – z angl. natural killer. Adaptováno z Raza et al., 2021.

HSCs se vyznačují schopností sebeobnovy i diferenciací: sebeobnova zaručuje celoživotní udržení kmenových buněk, zatímco diferenciace zahrnuje postupné kroky směřující k vytvoření zralých krevních buněk. Při hematopoéze vznikají z hematopoetických kmenových buněk multipotentní progenitory (MPP). MPP se dále diferencují na lymfoidní a myeloidní progenitory (CLP, z angl. common lymphoid progenitor; CMP, z angl. common myeloid progenitor), které se následně diferencují na zralé lymfatické a myeloidní buňky. Narušení drah, které regulují tyto procesy, v důsledku získání transformačních mutací, vede k leukemogenezi (Laurenzana et al., 2018; Wang & Dick, 2005).

Leukémie, podobně jako ostatní nádorová onemocnění, může vzniknout v důsledku mnoha různých genetických modifikací. Tyto modifikace zahrnují změny v jednotlivých nukleotidech, jako jsou substituce nebo delece bází; a také delece, amplifikace nebo translokace genů a epigenetické modifikace, které často ovlivňují promotorové nebo enhancerové oblasti (Lin & Aplan, 2004). Tyto genetické změny lze rozdělit do dvou skupin. Jedna skupina mutací zahrnuje změny transkripčních faktorů, které jsou důležité pro regulaci hematopoetické diferenciací. Druhá skupina se týká mutací signálních proteinů, které ovlivňují proliferaci buněk. Později byl navržen "two-hit" model leukemogeneze, podle kterého leukémie vzniká kombinací těchto dvou skupin mutací (Gary Gilliland & Griffin, 2002). Avšak v literatuře lze nalézt i jinou definici "two-hit" modelu, která představuje leukemogenezi jako dvoustupňový proces. Prvním krokem je predisponující genetická mutace, která vzniká u dítěte již v děloze matky, a druhým krokem je expozice jedné nebo více infekcím (M. Greaves, 2018). Další předpoklad této teorie je, že vystavení infekcím během raného života může chránit před rozvojem prekurzorové B-buněčné ALL (B-ALL). V případě absencí časně expozice infekcím může pozdní expozice vyvolat sekundární buněčné mutace, které vedou k leukemogenezi. Dosud neexistuje shoda ohledně teorií vzniku leukémie, ale "two-hit" modely jsou považovány za velmi pravděpodobné (Tebbi, 2021).

Přesné příčiny leukémie nejsou úplně známy, ale bylo identifikováno několik genetických a environmentálních faktorů zvyšujících riziko tohoto onemocnění (Zatloukalová et al., 2021). Mezi rizikové faktory leukémie patří například předchozí chemoterapie, zejména alkylační látky a inhibitory topoizomerázy II (zvyšují riziko akutní leukémie v pozdějším věku) nebo vystavení ionizujícímu záření (zvyšuje riziko výskytu více subtypů leukémie) (Baeker Bispo et al., 2020). U dospělých je expozice k benzenu spojena s větším rizikem výskytu AML (Rinsky, 1989; Snyder, 2012). Také některá genetická onemocnění jsou spojena se zvýšeným rizikem vzniku leukémie. Tyto genetické poruchy mohou zahrnovat mutace v genech

tumorových supresorů (kódují proteiny regulující buněčný cyklus a potlačují nekontrolovanou proliferaci buněk), jako je například Li-Fraumeniho syndrom (Swaminathan et al., 2019). Mutace se také mohou vyskytovat v genech zodpovědných za opravu poškozené DNA. Při Fanconiho anémii nebo Bloomově syndromu nejsou poškozené buňky schopny detekovat a opravit své mutace, což vede ke hromadění poškozené DNA a vyšší šanci vzniku leukémie (Stieglitz & Loh, 2013). Virové infekce také mohou způsobit leukémii. Genetická informace viru se může přímo integrovat do genomu prekurzorových buněk a podporovat abnormální proliferaci a diferenciaci buněk, jako je například virus lidské T-buněčné leukémie. Avšak kumulativní celoživotní riziko vzniku T-buněčné ALL (T-ALL) je u infikovaných osob pouze 2-4 % (Edlich et al., 2000; Manns et al., 1999). Virová infekce také může nepřímo ovlivnit leukemogenezi vyvoláním abnormálních imunitních reakcí, což vede k nekontrolované proliferaci buněk, jako je tomu v případě viru Epstein-Barrůvho (de Thé et al., 1985; M. F. Greaves & Alexander, 1993; Kinlen, 1995). Avšak přítomnost jednoho či více rizikových faktorů nemusí automaticky vést k rozvoji leukémie a mnoho pacientů s touto diagnózou nemá známé rizikové faktory (Zatloukalová et al., 2021).

### **2.3 Prognóza a léčba**

Prognóza a léčba leukémie se výrazně liší podle jejího konkrétního subtypu, cytogenetických a molekulárních charakteristik, věku pacienta a jeho aktuálního zdravotního stavu (Chennamadhavuni et al., 2023; R. L. Siegel et al., 2017).

ALL se vyskytuje u dětí i dospělých, ale její výskyt se mění s věkem. Nejvyšší výskyt je u dětí do pěti let, poté výskyt postupně klesá. Nicméně, kvůli bimodálnímu rozdělení výskytu ALL, od 40 let opět dochází k mírnému nárůstu výskytu této nemoci (Malard & Mohty, 2020). Přestože se pětileté celkové přežití dětských pacientů s ALL zvýšilo z 31 % až na 90 %, pouze 25 % pacientů starších 50 let žije déle než 5 let od stanovení diagnózy (Hoelzer & Gökbuget, 2000; Hunger & Mullighan, 2015). Špatné výsledky u ALL dospělých se připisují častějšímu výskytu vysoce rizikových leukémií s větší rezistencí k léčivům, horší tolerancí a dodržováním léčby, a méně účinným léčebným protokolům ve srovnání s dětskou ALL (Annino et al., 2002; Thomas et al., 2004). ALL vzniká transformací hematopoetických progenitorů B nebo T buněk s chromozomálními abnormalitami nebo genetickými změnami (Malard & Mohty, 2020). Mezi časté chromozomální mutace u ALL patří translokace mezi chromozomy 9 a 22, známá jako filadelfský (Ph, z angl. Philadelphia) chromozom pozitivní onemocnění. Výskyt této konkrétní translokace, která vede ke vzniku fúzního genu

BCR-ABL (viz str. 8 – CML), se zvyšuje od 3 % u dětí až po více než 50 % u dospělých starších 50 let. Tento fúzní gen je spojen se špatnou prognózou; nicméně léčba inhibitory tyrozinkinázy výrazně zlepšuje výsledky (Biondi et al., 2012; Schultz et al., 2014; Slayton et al., 2018). Také translokace chromozomů 12 a 21 s fúzním genem ETV6-RUNX1 se u dětí vyskytuje často (přibližně 30 %) a je spojena s příznivou prognózou (Sun et al., 2017). Kromě translokací také existují genetické změny, které vedou k abnormálnímu počtu chromozomů. Vysoká hyperdiploidie, což je zisk nejméně pěti chromozomů, je přítomna u 25 % ALL v dětském věku a u méně než 3 % dospívajících a mladých dospělých a dospělých. Tato změna je spojena s příznivou prognózou (Paulsson et al., 2015). Primární léčba ALL obvykle zahrnuje čtyři fáze v průběhu 2-3 let: indukční, konsolidační, intenzifikační a dlouhodobou udržovací léčbu (Malard & Mohty, 2020). Cílem indukční chemoterapie je eliminovat maligní buňky a obnovit zdravou hematopoézu za účelem dosažení kompletní remise. Indukce je založena na kombinaci chemoterapie, která obvykle zahrnuje glukokortikoidy, vinkristin, L-asparaginázu a antracyklin (Siegel et al., 2018; Stock et al., 2019). Konsolidace je druhým krokem léčebného postupu a sestává z několika krátkých po sobě jdoucích cyklů chemoterapie každé 2 týdny, obvykle s cytarabinem, vysokými dávkami metotrexátu, vinkristinem, L-asparaginázou, merkaptopurinem a glukokortikoidy, po dobu 12 týdnů. Po této fázi následuje pozdní intenzifikační fáze, která zahrnuje kombinaci léčiv podobnou indukční fázi léčby (Teachey et al., 2021). Udržovací léčba se skládá z denního podávání merkaptopurinu a týdenního podávání metotrexátu s vinkristinem nebo bez něj a jednou za 1-3 měsíce z pulzů glukokortikoidů. Udržovací léčba se podává po dobu 2-3 let po indukci (Richards et al., 1996). Účinnost jednotlivých fází terapie se standardně monitoruje pomocí měření minimální reziduální nemoci (MRN). Monitorováním MRN se detekují maligní buňky a je to nejvýznamnější prognostický faktor u akutních leukémií (Li, 2022).

AML je nejběžnějším typem akutní leukémie postihující dospělé, a má nejhorší prognózu mezi všemi typy leukémie jak u dětí (66,5 % pětileté přežití), tak i u dospělých (26,6 % pětileté přežití) (Starkova et al., 2018). Toto onemocnění se častěji vyskytuje u starších osob, přičemž medián věku při stanovení diagnózy je 67 let (Thomas, 2009). Věk je klíčovým faktorem ovlivňujícím výsledek léčby AML; čím je pacient starší, tím horší bývá jeho prognóza. To je důsledkem vyšší rezistence nemoci (vysokého výskytu nepříznivých cytogenetických abnormalit, mnohočetné lékové rezistence a dalších dosud neobjasněných rizikových faktorů) a omezené tolerance cytotoxických léčiv (Appelbaum et al., 2006; Kantarjian et al., 2006). Většina případů AML souvisí s chromozomálními translokacemi,

kteří často způsobují genetické změny (Martens & Stunnenberg, 2010). Mezi běžné chromozomální abnormality u AML patří monosomie nebo delece částí nebo celých chromozomů 5 nebo 7 a trizomie chromozomu 8. Tyto genetické změny jsou spojeny s nepříznivou prognózou (pětileté přežití 5-10 %) (Byrd et al., 2002). Na druhou stranu, translokace mezi chromozomy 8 a 21, kódující fúzní protein AML1-ETO, nebo translokace mezi chromozomy 15 a 17, kódující fúzní protein PML-RAR $\alpha$ , jsou častými mutacemi spojenými s příznivou prognózou (až 55 %) (Mrózek et al., 2009). Léčba AML zahrnuje indukční terapii a postremisní terapii. Mezi běžně používané metody indukční terapie patří cytotoxická chemoterapie s nebo bez cílené terapie a hypometylační léčba s nebo bez cílené terapie (Othus et al., 2016). U všech pacientů s AML, kteří jsou schopni tolerovat chemoterapii a mají příznivé nebo střední riziko, se základní léčba nezměnila po dobu 50 let. Tato léčba zahrnuje kontinuální infuzi cytarabinu po dobu 7 dnů a přidání antracyklinu, obvykle daunorubicinu, denně po dobu prvních 3 dnů. Tato indukční léčba je známá jako 7 + 3 (A. Burnett et al., 2011; Fernandez et al., 2009). Výsledky se zlepšily přidáním různých cílených léků ke klasické indukční chemoterapii, jako je například gemtuzumab ozogamycin (GO), což je monoklonální protilátka proti CD-33 (proteinu exprimovanému v buňkách myeloidní leukémie). Přidání GO snižuje riziko relapsu a zlepšuje celkové přežití (Castaigne et al., 2012). U pacientů s nepříznivým rizikem je míra kompletní remise po standardní 7 + 3 chemoterapii pouze kolem 40 % (Fernandez et al., 2009). V poslední době dvě terapie, CPX-351 a venetoklax ve spojení s hypometylační látkou, ukazují lepší výsledky než standardní léčba u pacientů s nepříznivým rizikem onemocnění. CPX-351 je lipozomální formulace cytarabinu a daunorubicinu, což znamená, že obě léčiva jsou uzavřena v lipozomech, což vede k prodloužené expozici oběma léčivům (Lancet et al., 2018). Venetoklax je vysoce selektivním inhibítorem anti-apoptického proteinu BCL-2. Předpokládá se, že BCL-2 zprostředkovává rezistenci na standardní léčbu u pacientů s AML (DiNardo et al., 2019). Cílem postremisní terapie je předcházet relapsu onemocnění. Existují dvě běžně používané strategie: další cytotoxická chemoterapie po dosažení remise (například vysoké nebo střední dávky cytarabinu) nebo alogenní transplantace krvetvorných kmenových buněk. Volba terapie závisí na konkrétních rizicích a přínosech, které poskytuje každá léčebná linie (A. K. Burnett et al., 2002; Suciú et al., 2003).

CLL je nejčastějším typem leukémie u dospělých v západních zemích, představuje přibližně 25-30 % všech případů leukémie (Hallek, 2019). Medián věku při diagnóze se pohybuje mezi 67 a 72 lety (Watson et al., 2008). Celkové pětileté přežití pacientů s CLL je různé, od

přibližně 20 % u pacientů s vysokým rizikem až po více než 90 % u těch s méně agresivními genetickými riziky (van Oers, 2016). Buňky CLL často vykazují různé genomové změny, přičemž žádná z nich není specifická pouze pro toto onemocnění (Rigolin et al., 2012). Mezi nejčastější aberace patří delecí dlouhého raménka chromozomu 13, která se objevuje v 50 % případů CLL a obvykle je spojena s příznivou prognózou (Cimmino et al., 2005). Trizomie chromozomu 12 (10-20 % případů) je spojena se střední prognózou, zatímco delecí dlouhého raménka chromozomu 11 (5-20 % případů) s nepříznivou prognózou (Stankovic et al., 1999; Winkler et al., 2005). Delece krátkého raménka chromozomu 17 se obvykle objevuje u méně než 10 % případů CLL při diagnóze, ale její výskyt se zvyšuje až na 30 % v rezistentních případech nebo v průběhu onemocnění. Pacienti s touto delecí patří do kategorie nejvyššího rizika (Gaidano et al., 2012). Prvním krokem v léčbě CLL je rozhodnutí, zda je léčba nezbytná pro pacienta s nově diagnostikovanou CLL (Eichhorst et al., 2015). Vzhledem k absenci důkazů o přínosu počáteční léčby v případech asymptomatické CLL je preferovaným přístupem sledování a čekání, dokud se neobjeví příznaky nebo známky progresu onemocnění. Zřejmou výhodou tohoto přístupu je snížení toxicity spojené s léčbou (Brown et al., 2016). Obecně je léčba indukována pro pacienty se symptomatickým nebo aktivním onemocněním (Hallek et al., 2018). Imunochemoterapie se doporučuje pro pacienty mladší 65 let bez významných komorbidit a infekcí a zahrnuje kombinaci fludarabinu, cyklofosfamidu a rituximabu. U starších pacientů s anamnézou infekcí lze zvážit alternativní léčbu kombinací bendamustinu a rituximabu (Eichhorst et al., 2016). Pro pacienty ve věku starším 65 let s významnými komorbiditami je preferovanou léčbou chlorambucil v kombinaci s obinutuzumabem (Goede et al., 2014). Pacienti s delecí chromozomu 17 mají nepříznivou prognózu a jsou přirozeně rezistentní na purinová analoga a protilátky anti-CD20, a proto by se měli léčit novými terapeutickými přístupy, jako jsou inhibitory Brutonovy tyrosinkinázy (akalabrutinib nebo ibrutinib), regulátory apoptózy BCL-2 (venetoklax) a inhibitory PI3K (idelalisib nebo duvelisib). Tato léčba může být monoterapií s těmito cílenými látkami nebo kombinací s jinými typy terapie (Byrd et al., 2014; Furman et al., 2014; Roberts et al., 2016).

CML představuje přibližně 15 % všech leukémií u dospělých, přičemž většinou postihuje pacienty kolem 60 let věku (Deininger et al., 2020). Díky zavedení tyrozinkinázových inhibitorů (TKI) došlo v nedávné době k výraznému snížení míry úmrtnosti, a dnes je desetileté přežití pacientů 60-90 % (Jabbour & Kantarjian, 2022; Radivoyevitch et al., 2019). CML lze rozdělit na dvě fáze: chronickou a blastickou. V chronické fázi dochází k nadměrné produkci terminálně diferencovaných granulocytů, zatímco v blastické fázi dochází ke ztrátě

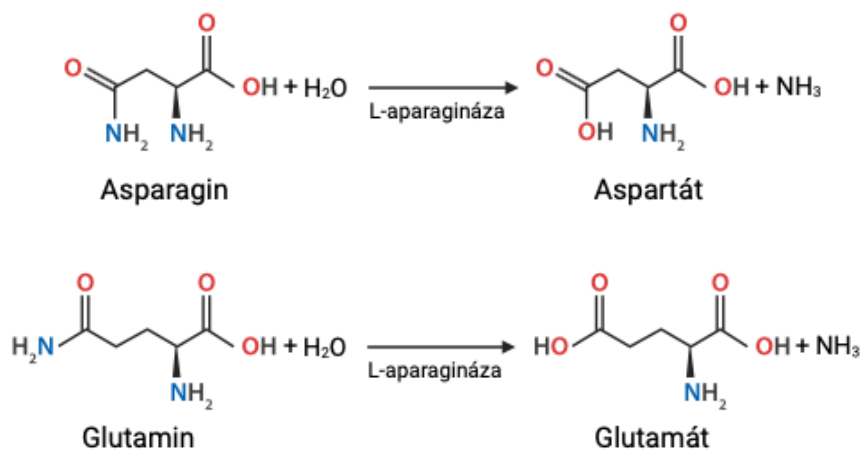


diferenciace a k nárůstu myeloidních blastů v kostní dřeni, což má horší prognózu než chronická fáze (M. W. Deininger et al., 2020; Osman & Deininger, 2021). Pokud CML přejde do blastické fáze, mohou se její příznaky velmi podobat příznakům AML, ale většina pacientů (90-95 %) má chronickou fázi (Liu et al., 2020). Diagnostika CML se obvykle provádí na základě identifikace specifické chromozomální abnormality známé jako Ph chromozom. Tento chromozom vzniká reciproční translokací mezi dlouhými rameny chromozomů 9 a 22, což má za následek přemístění protoonkogenu ABL z chromozomu 9 do oblasti chromozomu 22, která je označována jako BCR. Tato translokace vytváří fúzní gen BCR-ABL, který produkuje fúzní protein s tyrozinkinázovou aktivitou. Tento protein pak aktivuje signální transdukční dráhy, což vede k nekontrolovanému růstu buněk (Al-Achkar et al., 2013; Deininger et al., 2000). CML může být také spojená s dalšími cytogenetickými abnormalitami, avšak v menší míře. Mezi nejčastější změny patří trizomie chromozomu 8, další Ph translokace, izochromozom 17q (který zahrnuje delecí krátkého raménka a duplikaci dlouhého raménka na chromozomu 17) a trizomie chromozomu 19. Prognostický význam těchto změn při diagnóze a pro progresi onemocnění je však méně jasný (Cervantes et al., 1986; Johansson et al., 2002). Objev TKI, jako je imatinib, změnil osud pacientů s CML tím, že zabránil blastické transformaci onemocnění a významně prodloužil přežití až u 90 % pacientů (Russo et al., 2020). Tento cílený přístup inhibice enzymu není kurativní, ale může dlouhodobě udržovat kontrolu nad onemocněním bez nutnosti chemoterapie a jejích nežádoucích účinků (Moen et al., 2007). Kurativní léčba spočívá v transplantaci krvetvorných kmenových buněk, která je obvykle určena pro mladší pacienty nebo v případě, že pacient nereaguje na léčbu TKI (Angstreich et al., 2004).

## **2.4 L-asparagináza**

L-asparagináza (ASNáza) je enzym, který hraje klíčovou roli v léčbě dětské akutní lymfoblastické leukémie (Yoneda & Cross, 2010). ASNáza je součástí i dospělého protokolu na léčbu ALL. Ale dospělí často hůře tolerují léčbu ASNázou, jelikož jsou citlivější na její vedlejší toxické účinky, mezi něž patří hypersenzitivní reakce, pankreatitida, jaterní dysfunkce a trombóza. Tyto komplikace omezují široké využití tohoto léku při léčbě leukémie u této věkové skupiny (Patel et al., 2017). Navíc některé studie naznačují, že starší pacienti mohou mít nižší míru vylučování ASNázy, což zvyšuje expozici léku a vede k jeho vyšší toxicitě (Egler et al., 2016; Kawedia & Rytting, 2014; Koprivnikar et al., 2017).

ASNáza katalyzuje hydrolyzu asparaginu na aspartát a amoniak (Obr. 2) (Kwok et al., 2017). ASNáza též vykazuje glutaminázovou aktivitu, což jí umožňuje hydrolyzovat glutamin na glutamát za současného uvolnění amoniaku (Obr. 2) (Richards & Kilberg, 2006). Tento enzym se nachází v různých organismech, jako jsou mikroorganismy, rostliny a některá zvířata (Cachumba et al., 2016).



**Obrázek 2** Hydrolyza asparaginu (Asn) na aspartát (Asp) a glutaminu (Gln) na glutamát (Glu) pomocí enzymu L-asparagináza. Adaptováno z Nguyen et al., 2016.

#### 2.4.1 L-asparagináza u leukémií

Enzym ASNáza je protinádorovou látkou schválenou pro léčbu ALL a lymfosarkomu (Verma et al., 2007). První výzkumy, které naznačovaly účinnost ASNázy v boji proti leukémii, se uskutečnily v 50. a 60. letech 20. století (Juluri et al., 2022). Ukázalo se, že sérum morčete dokáže vést k regresi lymfomů u myši a potkanů, přičemž následné studie identifikovaly ASNázu jako klíčovou složku séra zodpovědnou za tento efekt (Broome, 1961; Ho et al., 1970; Kidd, 1953). Dnes je izolováno více variant enzymu ASNázy, ale pro terapeutické účely se zatím využívají tři bakteriální varianty: izolovaná z *Erwinia chrysanthemi* (*Erwinia* asparagináza – ErA), původní nemodifikovaná forma z *Escherichia coli* (*E. coli* asparagináza – EcA) a její pegylovaná verze (PEG-ASNáza) (Pieters et al., 2011).

Zajímavostí je, že i lidský genom obsahuje gen kódující enzym s ASNázou aktivitou (L asparaginase like 1, ASRGL1). ASRGL1 se nachází v cytosolu a je produkován především v mozku, varlatech, děložním endometriu a játrech. ASNázová aktivita ASRGL1 je však mnohem nižší než aktivita EcA a ErA (Cantor et al., 2009). Poslední výzkumy se zaměřují na terapeutické využití této ASNázy, zejména v léčbě ALL. ASRGL1 má potenciál snížit imunogenitu léčby, vykazuje vysokou tepelnou stabilitu vhodnou pro lékařské použití, má silnou afinitu k asparaginu a nevykazuje glutaminázovou aktivitu. Nicméně pokusy o

nahrazení terapeutického enzymu bakteriálního původu zatím nebyly úspěšné (Cantor et al., 2009; Nomme et al., 2012; Oinonen et al., 1995; Sugimoto et al., 1998).

#### 2.4.2 Vlastnosti L-asparaginázy

Kinetické a biochemické vlastnosti ASNázy se liší podle mikrobiálního zdroje (Prakasham et al., 2007). Například, ASNáza z různých zdrojů má odlišný poločas rozpadu, což ovlivňuje délku deplece asparaginu. Poločas rozpadu EcA je  $1,24 \pm 0,17$  dne, zatímco u ErA je přibližně  $0,6 \pm 0,13$  dne. To znamená, že přípravek s kratším poločasem je třeba podávat častěji. PEG-ASNáza má nejdelší poločas rozpadu –  $5,73 \pm 3,24$  dne (Müller & Boos, 1998). Jak asparagináza EcA i ErA jsou antigenní a mohou vyvolat hypersenzitivní reakce. Nicméně výskyt alergických reakcí na ErA je nižší, kolem 2 %, zatímco u EcA dosahuje přibližně 20 %. Díky odlišné antigenní determinantě lze ErA použít u pacientů alergických na variantu EcA (Beard et al., 1970; Capizzi et al., 1970; Clavell et al., 1986). PEG-ASNáza je nejméně imunogenní a vhodná pro pacienty s alergií na obě předchozí varianty (Kurtzberg et al., 2011). Všechny zmíněné ASNázy využívají jako substráty asparagin a glutamin, avšak mají k těmto dvěma aminokyselinám zcela odlišnou afinitu, což ukazuje Michaelisova konstanta ( $K_M$ ).  $K_M$  je koncentrace substrátu, která je potřebná pro dosažení poloviny maximální rychlosti reakce při dané koncentraci enzymu. Vysoká hodnota  $K_M$  znamená menší afinitu enzymu k substrátu, zatímco nízká  $K_M$  značí vyšší afinitu k substrátu, a tedy vyšší enzymatickou aktivitu. Nejsilnější afinitu k glutaminu vykazuje ErA ( $K_M$  je  $3,6 \times 10^{-4} \text{ mol} \times \text{L}^{-1}$ ), následně EcA ( $K_M$  je  $1,4 \times 10^{-3} \text{ mol} \times \text{L}^{-1}$ ), nejmenší afinitu pro glutamin má PEG-ASNáza ( $K_M$  je  $7,39 \times 10^{-3} \text{ mol} \times \text{L}^{-1}$ ). Co se týče asparaginu, nejsilnější afinitu k němu vykazuje EcA ( $K_M$  je  $1,5 \times 10^{-5} \text{ mol} \times \text{L}^{-1}$ ), dále PEG-ASNáza ( $K_M$  je  $4,0 \times 10^{-5} \text{ mol} \times \text{L}^{-1}$ ), a nejmenší afinitu k asparaginu má ErA ( $K_M$  je  $4,8 \times 10^{-5} \text{ mol} \times \text{L}^{-1}$ ). To vše znamená, že nejvyšší asparaginázovou aktivitu vykazuje EcA, zatímco nejvyšší glutaminázovou aktivitu má ErA (Chandra & Madakka, 2019; Nguyen et al., 2017; Xu et al., 1989).

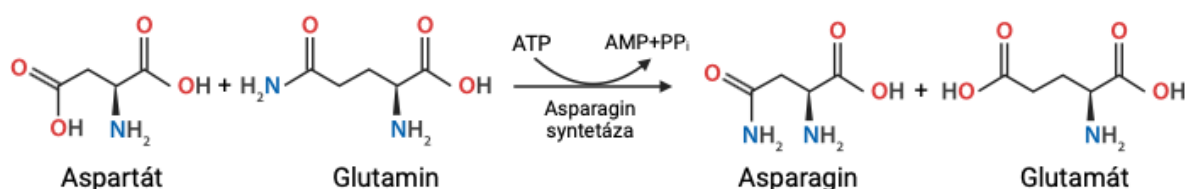
Na základě těchto vlastností byla v evropských i amerických protokolech EcA preferovanou primární léčbou, a to díky svému delšímu poločasu rozpadu a vyšší účinnosti. PEG-ASNáza byla nejprve zavedena jako lék sekundární volby pro pacienty, u nichž se po léčbě EcA objevila hypersenzitivita. V dnešní době se PEG-ASNáza stává preferovanou primární léčbou místo nativní formy ASNázy, a to díky delší účinnosti a menšímu výskytu alergických reakcí. ErA byla přijata do léčebných protokolů jako sekundární nebo terciární léčba. Je indikována k

lčbě pacientů s ALL, kteří vyvinuli hypersenzitivitu na preparát asparaginázy z *E. coli* (Pieters et al., 2011; Pinheiro et al., 2002; Rizzari et al., 2013).

### 2.4.3 Mechanismus působení L-asparaginázy

Glutamin a asparagin jsou neesenciální aminokyseliny, to znamená, že si je lidské buňky dokáží syntetizovat. Nicméně jejich spotřeba je zvýšená u proliferujících buněk, jako jsou například nádorové buňky (Kuo et al., 2021). V metabolismu nádorů plní tyto aminokyseliny důležité a různorodé funkce, včetně syntézy proteinů, nukleotidů a lipidů, udržování redoxní homeostázy a regulace mnoha alosterických a epigenetických mechanismů (Choi & Coloff, 2019).

Zdravé buňky vytvářejí asparagin prostřednictvím enzymu asparaginsyntetázy (ASNS), který katalyzuje přeměnu aspartátu a glutaminu na asparagin a glutamát v reakci závislé na ATP (Obr. 3) (Lomelino et al., 2017). Ale v případě buněk ALL je gen kódující tento enzym buď slabě anebo vůbec exprimován, a proto nejsou schopny asparagin syntetizovat *de novo*. To vede k jejich závislosti na asparaginu z extracelulárního prostředí, aby splnily zvýšené nároky na trvalý růst a proliferaci (Hermanova et al., 2012; Killander et al., 1976; Kumar et al., 2014). Léčba ASNázou je založena na hydrolýze asparaginu přítomného v krevním séru a na snížené aktivitě enzymu ASNS v buňkách ALL. Tím dochází k inhibici syntézy proteinů, zastavení buněčného cyklu ve fázi G1, a nakonec k apoptóze leukemických buněk (Batoool et al., 2016; Hermanova et al., 2012; Lee et al., 1989).



**Obrázek 3** Přeměna aspartátu a glutaminu na asparagin a glutamát v reakci závislé na ATP pomocí enzymu asparaginsyntetázy. Adaptováno z Lomelino et al., 2017.

### 2.4.4 Eryaspáza

Eryaspáza je novou formou podávání ASNázy. Enzym je vložen do erytrocytu s cílem prodloužit jeho poločas rozpadu a snížit hypersenzitivitu a další toxické účinky (asparagináza uvnitř erytrocytu není rozpoznávaná imunitním systémem). Eryaspáza má poločas rozpadu kolem dvou týdnů (Halfon-Domenech et al., 2011; Hammel et al., 2020; Lynggaard et al., 2022). Přes membránu se aktivním transportem z plazmy do erytrocytu transportují

aminokyseliny asparagin a glutamin, které jsou následně hydrolyzovány ASNázou, čímž se snižuje jejich hladina v krevním séru (Alpar & Lewis, 1985; Kwon et al., 2009). Mezi výhody tohoto přístupu patří biokompatibilita, úplná biologická rozložitelnost, absence toxických aditiv, delší poločas rozpadu, prodloužení intervalů mezi dávkami léčiva a snížení vedlejších účinků (Hamidi et al., 2007). Eryaspáza je momentálně ve fázi klinických testů, a ještě nebyla schválena (Maese & Rau, 2022).

### 3 GLUTAMIN

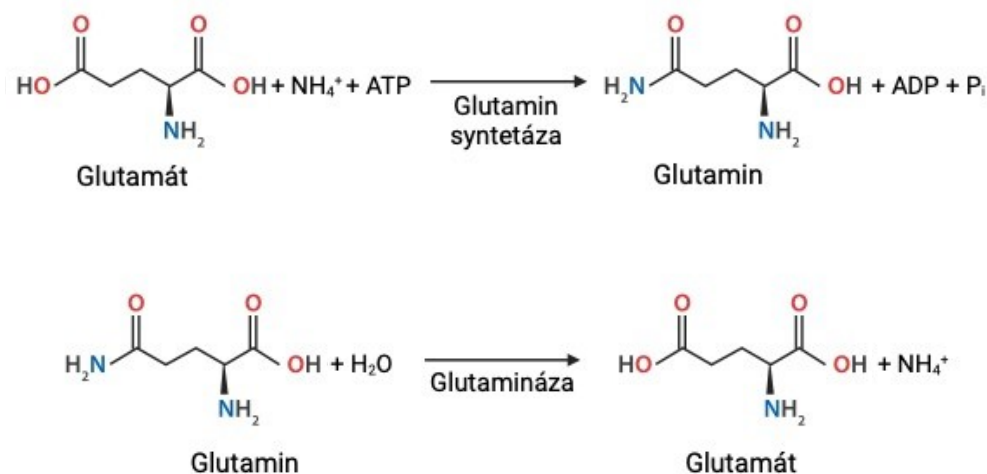
Glutamin je aminokyselina obsahující pět uhlíků, amino- a amidoskupinu. Koncentrace glutaminu v krevní plazmě člověka je ze všech aminokyselin nejvyšší (0,6 až 0,8 mM). Glutamin je obecně aminokyselina neesenciální, zdravý organismus má dostatečné zásoby glutaminu a také jej dokáže syntetizovat *de novo* ve velkém množství. Nicméně, během katabolických stresů jako jsou nádory, operace, traumata, infekce nebo sepse se zdá, že spotřeba glutaminu převyšuje jeho maximální produkci, což může vést k depleci glutaminu a přispět ke zhoršení zdravotního stavu. V současnosti se proto pro glutamin používá termín "podmíněně esenciální" aminokyselina (Krebs, 1935; Labow & Souba, 2000; Lacey & Wilmore, 1990).

#### 3.1 Metabolismus glutaminu

Přestože je glutamin v krvi a tkáních zastoupen ve velkém množství, je také rychle spotřebováván. Důvodem jeho extrémně vysokého obratu je široké spektrum metabolických funkcí, které přímo nebo nepřímo závisí na této aminokyselině (Labow & Souba, 2000). Glutamin slouží jako donor dusíku při syntéze nukleotidů a aminokyselin, které jsou prekurzory nukleových kyselin a bílkovin. V buňce glutamin reguluje signální dráhu mTORC1, která ovlivňuje buněčný růst a průběh buněčného cyklu. Dále se podílí na produkci energie/ATP prostřednictvím cyklu trikarboxylových kyselin (TCA, z angl. tricarboxylic acid cycle). Glutamin je také nezbytný pro tvorbu glutathionu v buňce k udržení redoxní homeostázy. Tyto důležité funkce glutaminu jsou klíčové pro přežití a růst buněk, což vysvětluje jeho vysoké zastoupení v plazmě (Altman et al., 2016; Wise & Thompson, 2010).

Mezi důležité intracelulární enzymy syntézy a hydrolýzy glutaminu patří glutaminsyntetáza (GS) a glutamináza (GLS, z angl. glutaminase). GS katalyzuje syntézu glutaminu z amonného iontu ( $\text{NH}_4^+$ ) a glutamátu za spotřeby ATP, zatímco GLS hydrolyzuje glutamin na glutamát a  $\text{NH}_4^+$  (Obr. 4) (Krebs, 1935; Neu et al., 1996). Co se týká jejich intracelulární lokalizace, GS

je převážně lokalizována v cytosolu, zatímco GLS se nachází především v mitochondriích. Tato lokalizace odpovídá funkcím těchto enzymů: GS produkuje glutamin pro syntézu cytoplazmatických proteinů a nukleotidů, zatímco GLS katalyzuje přeměnu glutaminu na glutamát, který je následně konvertován na  $\alpha$ -ketoglutarát ( $\alpha$ -KG) vstupující do cyklu TCA a sloužící jako zdroj energie a metabolických intermediátů v buňce (Curi et al., 2016; DeBerardinis et al., 2007; Moreadith & Lehninger, 1984).



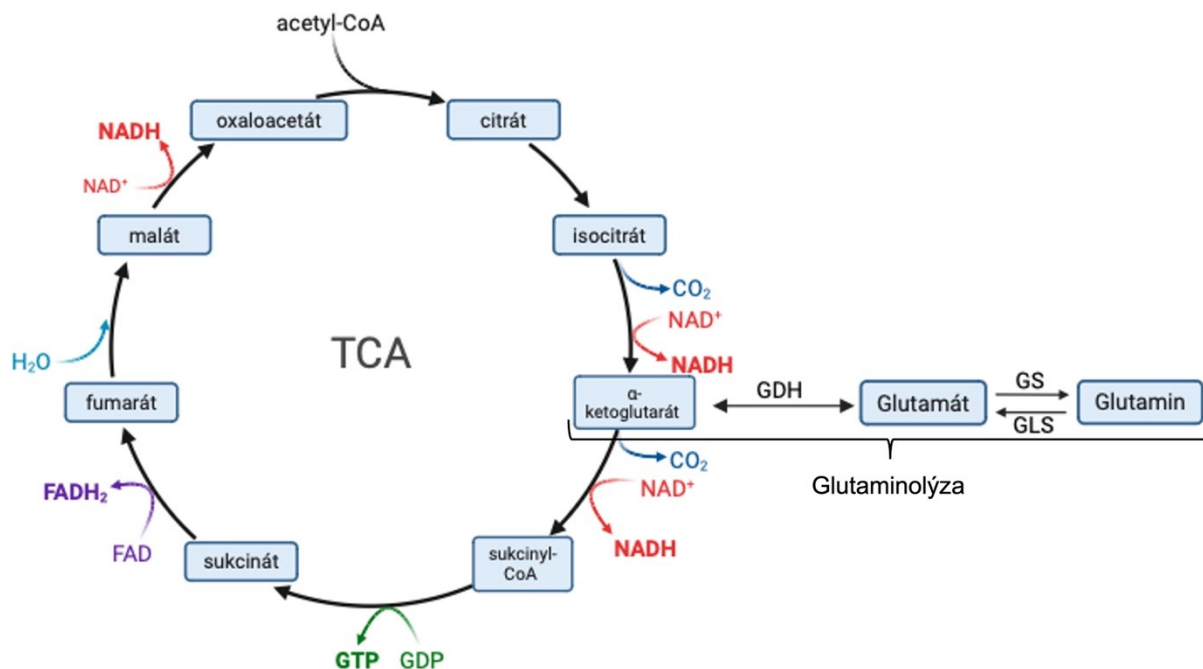
**Obrázek 4** Syntéza glutaminu pomocí enzymu glutaminsyntetázy. Hydrolyzá glutaminu pomocí enzymu glutaminázy. Adaptováno z Cruzat et al., 2018.

### 3.1.1 Produkce energie

Cyklus TCA slouží především k produkci redukčních ekvivalentů  $\text{NADH} + \text{H}^+$  (dále pouze NADH) a  $\text{FADH}_2$ , které pak vstupují do dýchacího řetězce, kde jsou využity k výrobě ATP prostřednictvím oxidativní fosforylace. Do cyklu TCA vstupuje acetyl-CoA (z angl. acetyl-coenzyme A), který se zcondenzuje s oxalacetátem (OAA) za vzniku citrátu. Citrát je pak prostřednictvím sledu reakcí přeměněn zpět na OAA, čímž cyklus může pokračovat dál (Obr. 5). V rychle se dělících buňkách má cyklus TCA ještě jednu roli, kdy meziproducty cyklu slouží jako zdroj pro různé biosyntetické dráhy. Za těchto podmínek by se OAA mohl stát limitujícím, pokud by nebyl vytvářen jiným způsobem než z mitochondriálního citrátu. Tyto alternativní cesty produkující OAA se nazývají anaplerotické (Owen et al., 2002).

Jednou z nejdůležitějších anaplerotických drah je glutaminolýza za vzniku  $\alpha$ -KG, který slouží jako důležitý meziproduct v cyklu TCA. Vstup  $\alpha$ -KG do cyklu TCA a jeho následná oxidace vedou k vytvoření dvou molekul NADH a jedné molekuly  $\text{FADH}_2$  prostřednictvím řady reakcí (Obr. 5). Kromě toho, při přeměně sukcinyl-CoA (z angl. succinyl-coenzyme A) na

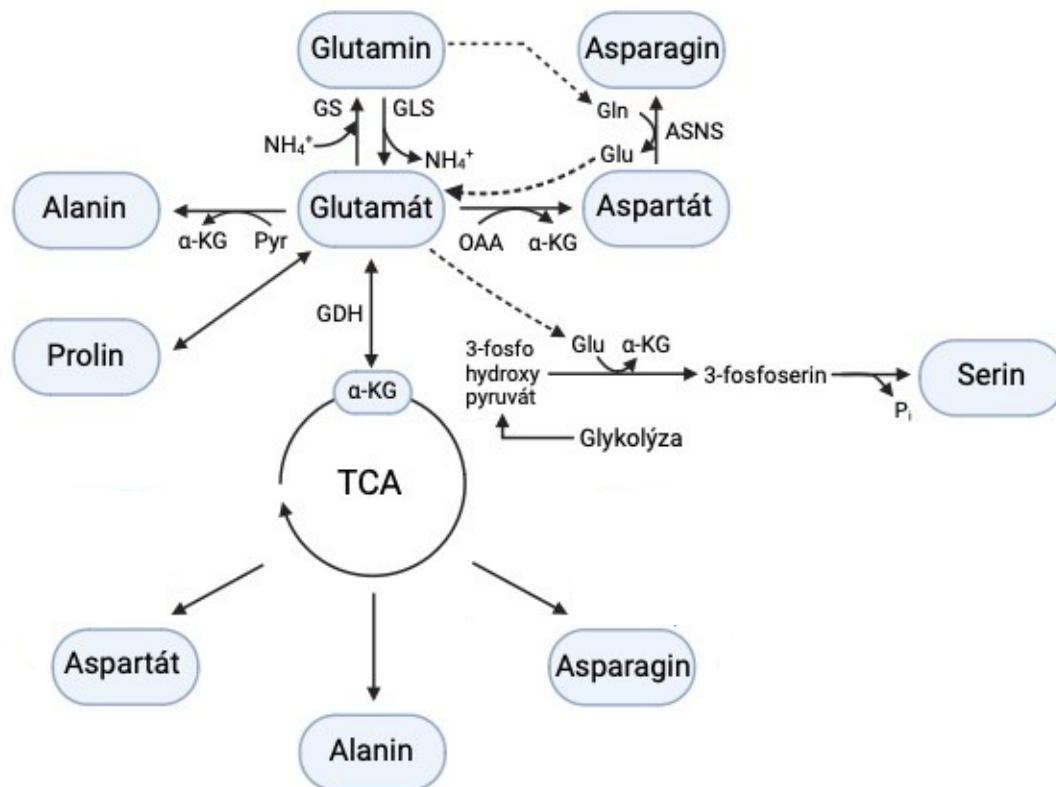
sukcinát sukcinyl-CoA-syntetázou, se vytváří jedna molekula GTP, kterou lze snadno přeměnit na ATP nukleosid-difosfátkinázou. NADH a FADH<sub>2</sub>, které vznikly glutaminolýzou s následným vstupem  $\alpha$ -KG do cyklu TCA, jsou pak přivedeny do elektronového transportního řetězce, aby se vytvořil elektrochemický gradient nezbytný pro produkci ATP oxidativní fosforylací (DeBerardinis et al., 2007; Fan et al., 2013).



**Obrázek 5** Glutaminolýza a vstup  $\alpha$ -KG do TCA a produkce redukčních ekvivalentů a GTP. Adaptováno z Yoo et al., 2020.

### 3.1.2 Syntéza neesenciálních aminokyselin

Glutamin je také důležitým zdrojem uhlíku a dusíku pro metabolické meziproducty a syntézu makromolekul. Přímou se podílí na syntéze proteinů a slouží jako prekurzor při tvorbě dalších aminokyselin. Aminokupina glutamátu, vzniklého hydrolyzou glutaminu, může být využita v několika transaminačních reakcích (Obr. 6). To zahrnuje syntézu alaninu z pyruvátu (Pyr), syntézu aspartátu z OAA a tvorbu fosfoserinu, který se následně defosforylován na serin. Alternativně může být glutamát dále přeměněn na prolin prostřednictvím oxidačně-redukčních reakcí. Jestliže je glutamát přeměněn na  $\alpha$ -KG, uhlíková kostra glutaminu může vstoupit do cyklu TCA a takto se podílet na syntéze aminokyselin (Obr. 6). Glutamin je také substrátem pro ASNS (viz kapitola 2.4.3; Obr. 3) (Higashiguchi et al., 1995; Jepson et al., 1988; Yoshida et al., 1995).



**Obrázek 6** Syntéza aminokyselin z glutaminu. Adaptováno z Choi & Coloff, 2019.

### 3.1.3 Syntéza nukleotidů

Glutamin je nezbytným donorem dusíku pro syntézu purinů i pyrimidinů *de novo*, a je proto zásadní pro tvorbu nukleových kyselin během buněčné proliferace (Gaglio et al., 2009). Při biosyntéze purinů se dva glutaminy využívají k tvorbě inosinmonofosfátu (IMP), prekursoru adenosinmonofosfátu (AMP) a guanosinmonofosfátu (GMP). Pro přeměnu IMP na GMP je zapotřebí další molekula glutaminu. Při biosyntéze pyrimidinů je jedna molekula glutaminu spotřebována na syntézu uridinmonofosfátu (UMP), a ještě jedna molekula je potřebná k přeměně uridintrifosfátu (UTP) na cytidintrifosfát (CTP) (Chiara et al., 2023; Cory & Cory, 2006). Glutamin také může přispívat k syntéze nukleotidů jinými způsoby, například prostřednictvím aspartátu, který vzniká buď z prekursoru TCA, anebo přímo transaminací z glutamátu (viz kapitola 3.1.2). Jelikož je glutamin klíčovým stavebním prvkem při biosyntéze nukleotidů, jeho nedostatek omezuje průběh buněčného cyklu, což může vést k jeho zastavení v S-fázi (Fontenelle & Henderson, 1969; Gaglio et al., 2009; Sullivan et al., 2015).



### 3.1.4 Regulace signální dráhy mTORC1

Glutaminolýza je mitochondriální dráha, při které dochází k deamidaci glutaminu a k následné deaminaci glutamátu, což vede k produkci  $\alpha$ -KG. V tomto procesu je glutamin nejprve přeměněn na glutamát pomocí enzymu GLS, který je následně přeměněn na  $\alpha$ -KG enzymem glutamátdehydrogenázou (GDH) anebo jednou z několika transamináz (Durán & Hall, 2012, viz kapitola 3.1.2). Nedávné studie ukázaly, že glutaminolýza aktivuje savčí cíl rapamycinu (mTOR, z angl. mammalian target of rapamycin), což inhibuje autofagii a podporuje růst buněk. To naznačuje, že metabolismus glutaminu je důležitou součástí signalizačního procesu pro regulaci buněčného růstu a proliferace (Durán et al., 2012).

mTOR je konzervovaná serin/threoninová kináza, která reguluje buněčný růst, metabolismus a stárnutí (Laplante & Sabatini, 2012; Wullschleger et al., 2006). Tvoří dva strukturně a funkčně odlišné komplexy, označované jako mTORC1 a mTORC2. Zatímco mTORC1 je aktivován aminokyselinami, růstovými faktory a buněčnou energií ve formě GTP, mTORC2 je aktivován pouze růstovými faktory (Hara et al., 1998; Laplante & Sabatini, 2013). Leucin je nejúčinnějším aminokyselinovým aktivátorem mTORC1 tím, že působí jako alosterický aktivátor GDH. Přímou vazbou na GDH leucin stimuluje deaminaci glutamátu za vzniku  $\alpha$ -KG.  $\alpha$ -KG následně aktivuje mTORC1 prostřednictvím aktivace prolylhydroxyláz, rodiny  $\alpha$ -KG-dependentních dioxygenáz (Durán et al., 2012, 2013).

### 3.1.5 Syntéza glutathionu

Existuje značné množství důkazů naznačujících, že glutamin hraje klíčovou roli při regulaci syntézy glutathionu. Glutathion je tripeptid složený z aminokyselinových zbytků glutamátu, cysteinu a glycinu; představuje hlavní zdroj buněčných redukčních ekvivalentů. Glutathion účinně odstraňuje intracelulární reaktivní formy kyslíku (ROS, z angl. reactive oxygen species) a tím chrání buňku před oxidačním poškozením (Lu, 2013). Glutamin poskytuje jeden ze stavebních bloků glutathionu – glutamát. Dále může nepřímo přispívat k syntéze glutathionu prostřednictvím výměny intracelulárního glutamátu (získaného z glutaminu) za extracelulární cystin, který je pak hned redukován na cystein, další důležitou složkou glutathionu (Koppula et al., 2021). Studie s radioaktivně značeným uhlíkem prokázaly, že atomy uhlíku odvozené od glutaminu jsou v různých tkáních *in vivo* zabudovány do glutathionu. Role glutaminu v syntéze glutathionu naznačuje, že dostupnost této aminokyseliny může mít významný vliv na udržení oxidoredukčního prostředí buňky (Hong et al., 1992; Welbourne, 1979).

## 3.2 Nádorový metabolismus glutaminu

Jedním ze znaků nádorů je přeprogramování buněčného metabolismu za účelem udržování vysokých nároků na energii potřebnou k proliferaci a přežití (Boroughs & Deberardinis, 2015). Nádorové buňky vykazují změny v mnoha metabolických drahách, jako jsou například glykolýza a glutaminolýza, aby získaly dostatek energie a buněčných stavebních kamenů potřebných k podpoře svého neustálého růstu. U nádorových buněk je často pozorován "Warburgův efekt" – využití glykolýzy i za přítomnosti kyslíku, kdy se glukóza přeměňuje převážně na kyselinu mléčnou, místo aby se zapojila do mitochondriální oxidativní fosforylace (Dang et al., 2011; Hensley et al., 2013; Liberti & Locasale, 2016). Některé typy nádorových buněk nedokážou růst při nedostatku glutaminu a vykazují "závislost na glutaminu" (Fuchs & Bode, 2006).

Metabolismus glutaminu hraje klíčovou roli jak ve fyziologii zdravých, tak i nádorových buněk. V těchto rychle se dělících buňkách je glutamin, stejně jako v zdravých buňkách, využíván jako zdroj energie, dusíku a uhlíku pro tvorbu aminokyselin, nukleových kyselin, glutathionu a je také důležitý pro aktivaci signální dráhy mTORC1 (Daye & Wellen, 2012). Aberantní aktivace mTORC1 je běžná u nádorů a signalizace mTORC1 podporuje progresi nádorů tím, že stimuluje dráhy, které podporují růst nádorových buněk, jejich proliferaci a odolnost vůči apoptóze (Tian et al., 2019). Avšak zatímco zdravé buňky využívají glutamin k podpoře základních biosyntetických a bioenergetických potřeb, nádorové buňky často vykazují změněný metabolismus glutaminu pro podporu rychlého růstu a proliferace, což se projevuje ve zvýšeném příjmu, spotřebě glutaminu a u některých typů nádorů i v alternativních cestách jeho využití (Daye & Wellen, 2012; M. A. Medina et al., 1992).

### 3.2.1 Metabolismus glutaminu v solidních nádorech

Spotřeba glutaminu u nádorových buněk je velmi variabilní a závisí na jejich etiologii, původu, prostorových podmínkách a buněčném okolí (Dang, 2009). Například nádor jater je metabolicky velmi závislý na glutaminu, což vede ke zvýšení počtu glutaminových transportérů a následnému zvýšení příjmu glutaminu nádorovou buňkou. Také během jaterní tumorigeneze dochází k přeprogramování exprese různých genů kódujících enzymy související s metabolismem glutaminu. Výzkumy ukázaly, že hlavní enzymy glutaminolýzy, jako jsou GLS a GDH, jsou významně nadměrně produkovány, což má za následek zvýšenou syntézu makromolekul prostřednictvím zvýšeného zdroje uhlíku a dusíku (Cox et al., 2016; Wise & Thompson, 2010).

Vzhledem k tomu, že  $\alpha$ -KG pocházející z glutaminu podporuje cyklus TCA, mohou nádorové buňky využívat glutaminolýzu k udržení biosyntézy mnoha důležitých molekul. U nádorů ledvin (RCC, z angl. renal cell carcinoma) s poruchou dýchacího řetězce nebo cyklu TCA bylo zjištěno, že tyto nádorové buňky jsou závislé na reduktivní karboxylaci (RK). Citrát získaný RK je pak využit k produkci acetyl-CoA a dalších prekurzorů cyklu TCA. Acetyl-CoA je nezbytným meziproduktem pro syntézu lipidů a bez něj nejsou nádorové buňky životaschopné. Kromě toho jsou meziprodukty cyklu TCA potřebné k syntéze dalších základních buněčných stavebních prvků. Nádorové buňky se tak mohou stát zcela závislými na glutaminolýze v důsledku genetických změn ovlivňujících oxidativní funkci mitochondrií (Mullen et al., 2011). Studie Gameira a kol. zjistila, že exprese transkripčních faktorů HIF-1 $\alpha$  a HIF-2 $\alpha$  snižuje hladinu intracelulárního citrátu, a zároveň je nezbytná pro indukci RK. RK plní kompenzační úlohu pro udržování dostatečné lipogeneze. Proto se buňky RCC, které exprimují HIF-1 $\alpha$  a/nebo HIF-2 $\alpha$ , stávají silně závislými na glutaminu pro proliferaci (Gameiro et al., 2013).

Studie Sona a kol. ukázala alternativní cestu využití glutaminu v buňkách lidského duktálního adenokarcinomu pankreatu (PDAC, z angl. pancreatic ductal adenocarcinoma), která je nezbytná pro růst nádoru. Zatímco většina buněk využívá enzym GDH k přeměně glutamátu získaného z glutaminu na  $\alpha$ -KG v mitochondriích, čímž podporuje TCA cyklus, PDAC upřednostňuje odlišnou cestu. Zde je glutamát transaminací přeměněn na aspartát, který je dál transportován do cytoplazmy, kde je poté přeměněn na OAA pomocí aspartáttransaminázy (AST). Následně je tento OAA přeměněn na malát a poté na pyruvát, což zvyšuje poměr NADPH/NADP<sup>+</sup>. Důležité je, že buňky PDAC jsou na této sérii reakcí silně závislé, protože deprivace glutaminu nebo inhibice kteréhokoli enzymu v této dráze vede ke zvýšení ROS a snížení redukovaného glutathionu. Navíc vyřazení jakéhokoli enzymu, který je součástí této řady reakcí, vede také k výraznému potlačení růstu PDAC jak *in vitro*, tak *in vivo*. Dále bylo v tomto výzkumu zjištěno, že přeprogramování metabolismu glutaminu je zprostředkováno onkogenním KRAS (z angl. Kirsten rat sarcoma virus oncogene homolog), který je charakteristickou genetickou změnou u PDAC, a to prostřednictvím transkripční regulace a represe klíčových metabolických enzymů v této dráze (Son et al., 2013).

Závislost na glutaminu byla také zjištěna u gliomových buněk s mutací izocitrátdehydrogenázy 1 (IDH1). IDH1 katalyzuje přeměnu izocitrátu na  $\alpha$ -KG, ale mutovaná isoforma místo toho přeměňuje  $\alpha$ -KG na D-2-hydroxyglutarát (2-HG) (což je onkometabolit) (Dang et al., 2010; Janke et al., 2017). V důsledku funkce mutovaného IDH1

se gliomové buňky stávají stále více závislými na produkci  $\alpha$ -KG z glutaminu. Proto se tyto nádorové buňky spoléhají na enzym GLS. Z tohoto důvodu v případě inhibice GLS dochází k potlačení růstu gliomových buněk s mutací IDH1 (Seltzer et al., 2010).

### **3.2.2 Metabolismus glutaminu u leukémií**

Podle literatury jsou metabolické změny klíčovým faktorem i u leukemických buněk, což může významně ovlivnit průběh onemocnění a účinnou reakci na léčbu (Galluzzi et al., 2013; Hanahan & Weinberg, 2011). Leukemické buňky mají často změněný metabolismus glutaminu, což může být důsledek glykolytického fenotypu (Starkova et al., 2018). Některé studie poukázaly na to, že v leukemických buňkách je za přítomnosti kyslíku pyruvát převážně přeměňován na laktát místo toho, aby byl metabolizován v cyklu TCA (Starkova et al., 2018; Yu et al., 2020). Avšak nádorové buňky potřebují udržovat funkční cyklus TCA, aby mohly poskytovat biosyntetický prekurzor NADPH, který je důležitý pro syntézu nukleotidů a lipidů. Glutamin je prostřednictvím glutaminolýzy a cyklu TCA přeměněn na malát, který je následně oxidativně dekarboxylován na pyruvát za vzniku NADPH a oxidu uhličitého. Proto může vysoká míra glutaminolýzy proliferujícím buňkám pokrýt významnou část jejich potřeb NADPH. Glutamin také hraje důležitou roli při syntéze aminokyselin a proteinů (viz kapitola 3.1.2) (Heiden et al., 2009; Medina, 2001; Reitzer et al., 1979; Wise & Thompson, 2010). Závislost leukemických buněk, hlavně buněk ALL a AML, na glutaminu byla pozorována v mnoha studiích, které ukázaly, že vysoké extracelulární koncentrace glutaminu podporují růst nádorů, a zvýšená exprese enzymů, které zprostředkovávají metabolismus glutaminu, koreluje s maligní transformací buněk (Le et al., 2012; Timmerman et al., 2013; Wise & Thompson, 2010).

## **3.3 Cílení na metabolismus glutaminu při léčbě leukémie**

Inhibice metabolismu glutaminu byla zkoumána jako potenciální terapeutická strategie pro léčbu leukémií. Současný vývoj cílených léčiv zaměřených na metabolismus glutaminu v leukemických buňkách se soustředí na depleci glutaminu, inhibici glutaminolýzy a inhibici transportu glutaminu (Starkova et al., 2018).

### **3.3.1 Deplece glutaminu pomocí L-asparaginázy**

Depleci glutaminu může způsobit ASNáza, enzym schopný hydrolyzovat asparagin a glutamin, která je účinným lékem pro léčbu pacientů s ALL (Chan et al., 2019). Již v roce 1978 bylo zjištěno, že glutaminázová aktivita ASNázy pozitivně přispívá k protinádorové

aktivitě enzymu, ale zároveň může vést k toxickým vedlejším účinkům (Kafkewitz & Bendich, 1983; Wu et al., 1978). Proto existují protichůdné názory ohledně toho, jak zlepšit terapeutický index ASNázy (terapeutický index informuje o relativní bezpečnosti léčiva). Jedna strana předpokládá, že snížením glutaminázové aktivity lze zlepšit terapeutický index ASNázy, protože deplece glutaminu zvyšuje toxicitu ve větší míře než protinádorovou aktivitu, což vede k nízkému terapeutickému indexu (Kafkewitz & Bendich, 1983; Warrell et al., 1982). Druhá strana předpokládá, že terapeutický index ASNázy lze zlepšit zvýšením glutaminázové aktivity. Podpora této hypotézy vychází z údajů, které naznačují, že glutaminázová aktivita obecně zvyšuje účinnost ASNázy a někdy je k dosažení protinádorového účinku nezbytná (Ehsanipour et al., 2013; Fumarola et al., 2001; Kitoh et al., 1992; Labrou et al., 2010; Offman et al., 2011). Protinádorový účinek glutaminázové aktivity ASNázy lze vysvětlit tím, že glutamin je nezbytný pro přechod buněčného cyklu z fáze G1 do fáze S a slouží jako substrát pro biosyntézu asparaginu pomocí enzymu ASNS (viz kapitola 2.4.3) (Avramis & Panosyan, 2005; E. Panosyan, 2002). Výsledky studie Chan a kol. naznačují to, že oba přístupy mají smysl, a to zejména v závislosti na expresi ASNS v leukemických buňkách. Leukemické buňky lze rozdělit na ASNS-negativní a ASNS-positivní, přičemž druhá skupina se dále dělí na buňky s nízkou a vysokou hladinou ASNS. Pouze ASNS-positivní leukemické buňky jsou schopny syntetizovat asparagin z glutaminu importovaného z extracelulárního prostředí, což jim umožňuje proliferaci bez ohledu na dostupnost extracelulárního asparaginu. Výsledky experimentu Chan a kol. ukazují, že leukemické buňky s vysokou hladinou ASNS mohou po léčbě ASNázou pokračovat v proliferaci, ale pouze tehdy, pokud je intracelulární syntéza asparaginu a glutaminu dostatečná. Naopak, buňky s nízkou hladinou ASNS jsou citlivější a mají sníženou schopnost odolávat takové léčbě; snížená produkce asparaginu vede ke snížené proliferaci. ASNS-negativní leukemické buňky jsou citlivé na léčbu ASNázou, avšak zdá se, že glutaminázová aktivita ASNázy není pro inhibici proliferace ASNS-negativních buněk nutná. Z toho vyplývá, že glutaminázová aktivita ASNázy je nezbytná pro protinádorovou aktivitu vůči leukemickým buňkám, které významně exprimují ASNS, ale ASNS-negativní leukemické buňky jsou vysoce citlivé na samotnou asparaginázovou aktivitu ASNázy (Chan et al., 2014).

Nedávné studie naznačují, že ASNáza může mít také pozitivní účinky při léčbě AML. Willems a kol. odhalili, že glutaminázová aktivita ASNázy inhibuje aktivitu mTORC1 u AML (Obr. 7) (Willems et al., 2013). To je způsobeno tím, že jedním z hlavních procesů

ovlivňujících aktivitu mTORC1 je dostupnost aminokyselin, především leucinu (Avruch et al., 2009; Hara et al., 1998). Intracelulární leucin je potřebný k aktivaci rodiny proteinů Ras GTPáz, které umožňují lokalizaci komplexu mTORC1 na povrchu lysozomů blízko svého aktivátoru, Rheb (Kim et al., 2008; Sancak et al., 2008). Leucin může být do buňky importován výměnou za glutamin prostřednictvím dvousměrného transportéru aminokyselin typu L 1 (LAT1). Tím pádem intracelulární koncentrace glutaminu může ovlivnit koncentraci leucinu v buňce. Příjem glutaminu z extracelulárního prostředí je převážně zprostředkován vysokoafinitním transportérem SLC1A5, který spolupracuje s LAT1. Z tohoto důvodu je extracelulární dostupnost glutaminu limitujícím krokem pro aktivaci mTORC1 (Fuchs & Bode, 2005; Nicklin et al., 2009).

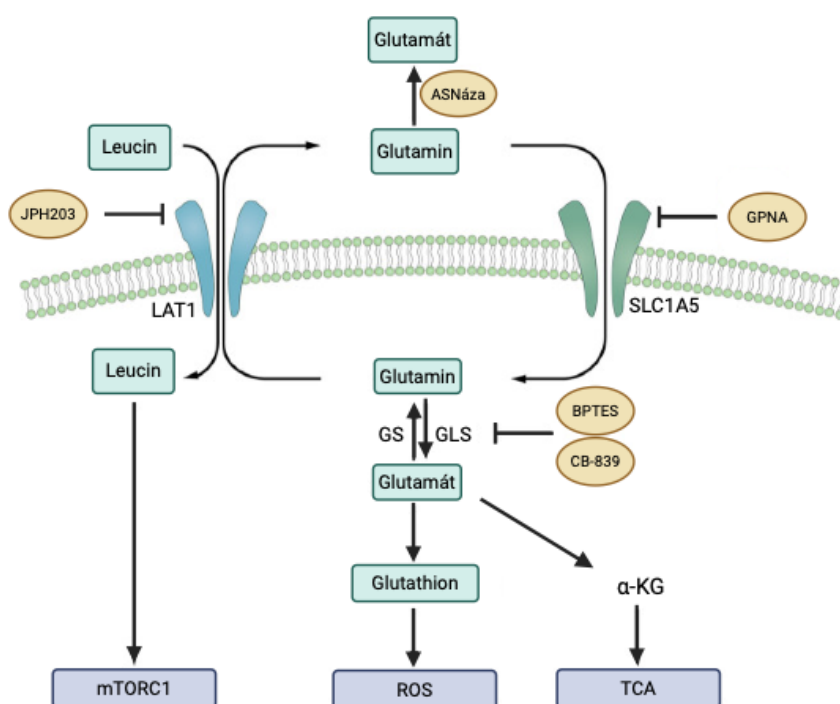
### 3.3.2 Inhibice glutaminolýzy

Inhibice glutaminolýzy může významně potlačit růst některých typů leukemických buněk. Například malé inhibitory, jako jsou BPTES a CB-839, které působí jako inhibitory glutaminázy, vedou k zástavě proliferace a apoptóze buněk AML a BCR-ABL-pozitivních buněk CML (Obr. 7) (Parlati et al., 2013; Sontakke et al., 2016). CB-839 také inhibuje produkci glutathionu a způsobuje akumulaci mitochondriálních ROS, což nakonec vede k apoptotické buněčné smrti u AML bez cytotoxických účinků na zdravé hematopoetické progenitory (Gallipoli et al., 2018; Gregory et al., 2018; Jacque et al., 2015). Navíc CB-839 prokázal antileukemické účinky nejen na buňky AML, ale i na buňky ALL *in vivo* (Gregory et al., 2019).

Dále bylo prokázáno, že podskupina leukemických a gliomových buněk s mutacemi v enzymu IDH1 (u buněk AML může činit až 16 %; viz kapitola 3.2.1), je obzvláště citlivá na inhibici glutaminázy (Seltzer et al., 2010). Studie Dang a kol. prokázala, že akumulace 2-HG může být příčinou onkogeneze u gliomů a jako pravděpodobný mechanismus onkogeneze bylo navrženo, že 2-HG vyvolává redoxní stres v důsledku poškození dýchacího řetězce. Toto naznačuje, že 2-HG může podporovat nádorové mutace. Nicméně mohou existovat i jiné možné mechanismy, kterými může 2-HG podporovat vznik nádorů. Bylo prokázáno, že glutamin je zdrojem  $\alpha$ -KG, který je také substrátem mutantní IDH1 a přeměněn na 2-HG, a proto se tyto buňky stávají závislými na glutaminu (Dang et al., 2010). Emadi a kol. také zjistili, že inhibice glutaminázy a snížení dostupnosti glutaminu pomocí inhibitoru BPTES vede ke snížení metabolitu 2-HG a tím k inhibici proliferace buněk AML s mutací IDH1/2 (Emadi et al., 2014).

### 3.3.3 Inhibice transportérů glutaminu

Vzhledem k závislosti buněk AML a ALL na glutaminu, může být inhibice glutaminových transportérů další strategií léčby leukémie. Glutamin je transportován přes buněčné a mitochondriální membrány specifickými transportéry – SLC1A5, SLC38A2, SLC38A1 a SLC1A1 (Oburoglu et al., 2014). K exportu glutaminu dochází prostřednictvím antiporteru LAT1 výměnou za extracelulární leucin (Fuchs & Bode, 2005). Inhibitor SLC1A5, GPNA, indukoval apoptózu a snižoval přežití buněk AML *in vitro* (Obr. 7). U myši s AML léčba GPNA účinně potlačila progresi leukémie. Bylo pozorováno zmírnění splenomegalie a hepatomegalie a snížení infiltrace nehematopoetických tkání a orgánů buňkami AML. Vliv GPNA na tvorbu zdravých krevních buněk byl však omezený (Ni et al., 2019). Kromě toho byl vyvinut nový analog tyrosinu nazvaný JPH203, který selektivně inhibuje transportní aktivitu LAT1 (Obr. 7) (Oda et al., 2010). Léčba pomocí JPH203 inhibuje mTORC1 a snižuje expresi c-Myc, který je klíčovým regulátorem glutaminolýzy u T-ALL. Navíc JPH203 neměl žádné toxické účinky na zdravé myši thymocyty a lidské lymfocyty periferní krve (Rosilio et al., 2014).



**Obrázek 7** Různé přístupy zaměřené na inhibici metabolismu glutaminu v leukemických buňkách.

Adaptováno z Xiao et al., 2023.

## 4 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zaměřila na současné poznatky v oblasti leukémie, zejména na její vznik, typy a léčbu. Dále se zabývá přeprogramovaným metabolismem glutaminu v leukemických buňkách a jejich závislostí na této aminokyselině. Na základě těchto poznatků byly ukázány možné terapeutické strategie zaměřené na inhibici metabolismu glutaminu jako potenciálního přístupu k léčbě leukémie.

Glutamin hraje významnou roli v metabolismu zdravých i leukemických buněk, jelikož reguluje bioenergetickou a redoxní homeostázu, slouží jako prekurzor pro syntézu biomasy a je důležitý pro aktivaci signální dráhy mTORC1. Nicméně, rozdíl v metabolismu glutaminu mezi zdravými a leukemickými buňkami spočívá v tom, že leukemické buňky vykazují zvýšenou spotřebu a příjem glutaminu, aby udržely své vysoké nároky na rychlý růst a proliferaci. I když glutamin může být buňkami syntetizován *de novo*, tato produkce není dostatečná pro potřeby nádorových buněk, což způsobuje závislost leukemických buněk na extracelulární dostupnosti glutaminu. Proto se cílení na metabolismus glutaminu v poslední době stává perspektivní strategií pro léčbu leukémie. Současný vývoj léčiv zaměřených na inhibici metabolismu glutaminu se soustředí na depleci extracelulárního glutaminu, inhibici transportérů glutaminu a na inhibici glutaminolýzy.

Budoucí výzkumy by měly směřovat k dalšímu studiu a charakterizaci metabolismu glutaminu v leukemických buňkách a k vývoji účinných léků. Důležité je také zkoumat kombinované terapeutické strategie, které zahrnují cílenou terapii spolu s dalšími standardními léčebnými postupy, s cílem maximalizovat terapeutický účinek a minimalizovat vedlejší účinky léčby.



## 5 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

"\*" označena sekundární citace

- Adjouadi, M., Ayala, M., Cabrerizo, M., Zong, N., Lizarraga, G., & Rossman, M. (2010). Classification of leukemia blood samples using neural networks. *Annals of Biomedical Engineering*, 38(4), 1473–1482.
- Al-Achkar, W., Wafa, A., Ikhtiar, A., & Liehr, T. (2013). Three-way Philadelphia translocation t (9;10;22) (q34;p11.2;q11.2) as a secondary abnormality in an imatinib mesylate-resistant chronic myeloid leukemia patient. *Oncology Letters*, 5(5), 1656.
- Alpar, H. O., & Lewis, D. A. (1985). Therapeutic efficacy of asparaginase encapsulated in intact erythrocytes. *Biochemical Pharmacology*, 34(2), 257–261.
- \*Altman, B. J., Stine, Z. E., & Dang, C. V. (2016). From Krebs to clinic: glutamine metabolism to cancer therapy. *Nature Reviews Cancer* 2016 16:10, 16(10), 619–634.
- Angstreich, G. R., Smith, B. D., & Jones, R. J. (2004). Treatment options for chronic myeloid leukemia: imatinib versus interferon versus allogeneic transplant. *Current Opinion in Oncology*, 16(2), 95–99.
- Annino, L., Vegna, M. L., Camera, A., Specchia, G., Visani, G., Fioritoni, G., Ferrara, F., Peta, A., Ciolli, S., Deplano, W., Fabbiano, F., Sica, S., Di Raimondo, F., Cascavilla, N., Tabilio, A., Leoni, P., Invernizzi, R., Baccarani, M., Rotoli, B., Mandelli, F. (2002). Treatment of adult acute lymphoblastic leukemia (ALL): Long-term follow-up of the GIMEMA ALL 0288 randomized study. *Blood*, 99(3), 863–871.
- Appelbaum, F. R., Gundacker, H., Head, D. R., Slovak, M. L., Willman, C. L., Godwin, J. E., Anderson, J. E., & Petersdorf, S. H. (2006). Age and acute myeloid leukemia. *Blood*, 107(9), 3481–3485.
- Arber, D. A., Orazi, A., Hasserjian, R., Thiele, J., Borowitz, M. J., Le Beau, M. M., Bloomfield, C. D., Cazzola, M., & Vardiman, J. W. (2016). The 2016 revision to the World Health Organization classification of myeloid neoplasms and acute leukemia. *Blood*, 127(20), 2391–2405.
- \*Avramis, V. I., & Panosyan, E. H. (2005). Pharmacokinetic/pharmacodynamic relationships of asparaginase formulations: The past, the present and recommendations for the future. *Clinical Pharmacokinetics*, 44(4), 367–393.
- Avruch, J., Long, X., Ortiz-Vega, S., Rapley, J., Papageorgiou, A., & Dai, N. (2009). Amino acid regulation of TOR complex 1. *American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism*, 296(4), E592.
- \*Baeker Bispo, J. A., Pinheiro, P. S., & Kobetz, E. K. (2020). Epidemiology and Etiology of Leukemia and Lymphoma. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 10(6).
- \*Batool, T., Makky, E. A., Jalal, M., & Yusoff, M. M. (2016). A Comprehensive Review on L-Asparaginase and Its Applications. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 178(5), 900–923.
- Beard, M. E. J., Crowther, D., Galton, D. A. G., Guyer, R. J., Fairley, G. H., Kay, H. E. M., Knapton, P. J., Malpas, J. S., & Scott, R. B. (1970). L-Asparaginase in Treatment of Acute Leukaemia and Lymphosarcoma. *British Medical Journal*, 1(5690), 191–195.
- Biondi, A., Schrappe, M., De Lorenzo, P., Castor, A., Lucchini, G., Gandemer, V., Pieters, R., Stary, J., Escherich, G., Campbell, M., Li, C. K., Vora, A., Aricò, M., Röttgers, S., Saha, V., & Valsecchi, M. G. (2012). Imatinib after induction for treatment of children and adolescents with Philadelphia-chromosome-positive acute lymphoblastic leukaemia (EsPhALL): a randomised, open-label, intergroup study. *The Lancet. Oncology*, 13(9), 936–945.

- Boroughs, L. K., & Deberardinis, R. J. (2015). Metabolic pathways promoting cancer cell survival and growth. *Nature Cell Biology*, *17*(4), 351–359.
- Broome, J. D. (1961). Evidence that the L-Asparaginase Activity of Guinea Pig Serum is responsible for its Antilymphoma Effects. *Nature 1961 191:4793*, *191*(4793), 1114–1115.
- Brown, J. R., Hallek, M. J., & Pagel, J. M. (2016). Chemoimmunotherapy Versus Targeted Treatment in Chronic Lymphocytic Leukemia: When, How Long, How Much, and in Which Combination? *American Society of Clinical Oncology Educational Book. American Society of Clinical Oncology. Annual Meeting*, *35*(36), e387–e398.
- \*Brunner, R. D. (2003). Classification of acute leukemias. *Seminars in Diagnostic Pathology*, *20*(3), 142–153.
- Burnett, A. K., Wheatley, K., Goldstone, A. H., Stevens, R. F., Hann, I. M., Rees, J. H. K., & Harrison, G. (2002). The value of allogeneic bone marrow transplant in patients with acute myeloid leukaemia at differing risk of relapse: results of the UK MRC AML 10 trial. *British Journal of Haematology*, *118*(2), 385–400.
- Burnett, A., Wetzler, M., & Löwenberg, B. (2011). Therapeutic advances in acute myeloid leukemia. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, *29*(5), 487–494.
- Byrd, J. C., Brown, J. R., O'Brien, S., Barrientos, J. C., Kay, N. E., Reddy, N. M., Coutre, S., Tam, C. S., Mulligan, S. P., Jaeger, U., Devereux, S., Barr, P. M., Furman, R. R., Kipps, T. J., Cymbalista, F., Pocock, C., Thornton, P., Caligaris-Cappio, F., Robak, T., ... Hillmen, P. (2014). Ibrutinib versus Ofatumumab in Previously Treated Chronic Lymphoid Leukemia. *New England Journal of Medicine*, *371*(3), 213–223.
- Byrd, J. C., Mrózek, K., Dodge, R. K., Carroll, A. J., Edwards, C. G., Arthur, D. C., Pettenati, M. J., Patil, S. R., Rao, K. W., Watson, M. S., Koduru, P. R. K., Moore, J. O., Stone, R. M., Mayer, R. J., Feldman, E. J., Davey, F. R., Schiffer, C. A., Larson, R. A., & Bloomfield, C. D. (2002). Pretreatment cytogenetic abnormalities are predictive of induction success, cumulative incidence of relapse, and overall survival in adult patients with de novo acute myeloid leukemia: results from Cancer and Leukemia Group B (CALGB 8461). *Blood*, *100*(13), 4325–4336.
- 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*(Suppl 1), 77.
- Cantor, J. R., Stone, E. M., Chantranupong, L., & Georgiou, G. (2009). The human asparaginase-like protein 1 hASRGL1 is an Ntn hydrolase with  $\beta$ -aspartyl peptidase activity. *Biochemistry*, *48*(46), 11026–11031.
- \*Capizzi, R. L., Bertino, J. R., & Handschumacher, R. E. (1970). L-asparaginase. *Annual Review of Medicine*, *21*, 433–444.
- Castaigne, S., Pautas, C., Terré, C., Raffoux, E., Bordessoule, D., Bastie, J. N., Legrand, O., Thomas, X., Turlure, P., Reman, O., De Revel, T., Gastaud, L., De Gunzburg, N., Contentin, N., Henry, E., Marolleau, J. P., Aljijakli, A., Rousset, P., Fenaux, P., ... Dombret, H. (2012). Effect of gemtuzumab ozogamicin on survival of adult patients with de-novo acute myeloid leukaemia (ALFA-0701): a randomised, open-label, phase 3 study. *Lancet (London, England)*, *379*(9825), 1508–1516.
- Cervantes, F., Ballesta, F., Mila, M., & Rozman, C. (1986). Cytogenetic studies in blast crisis of Ph-positive chronic granulocytic leukemia: results and prognostic evaluation in 52 patients. *Cancer Genetics and Cytogenetics*, *21*(3), 239–246.
- Chan, W. K., Horvath, T. D., Tan, L., Link, T., Harutyunyan, K. G., Pontikos, M. A., Anishkin, A., Du, D., Martin, L. A., Yin, E., Rempe, S. B., Sukharev, S., Konopleva, M., Weinstein, J. N., & Lorenzi, P. L. (2019). Glutaminase activity of L-asparaginase

- contributes to durable preclinical activity against acute lymphoblastic leukemia. *Molecular Cancer Therapeutics*, 18(9), 1587.
- Chan, W. K., Lorenzi, P. L., Anishkin, A., Purwaha, P., Rogers, D. M., Sukharev, S., Rempe, S. B., & 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.
- Chandra, M. R. G. S., & Madakka, M. (2019). Comparative Biochemistry and Kinetics of Microbial Lignocellulolytic Enzymes. *Recent Developments in Applied Microbiology and Biochemistry*, 147–159.
- \*Chen, C., & Zhang, J. (2024). Enhancing Leukemia Treatment: The Role of Combined Therapies Based on Amino Acid Starvation. *Cancers 2024*, Vol. 16, Page 1171, 16(6), 1171.
- Chennamadhavuni, A., Lyengar, V., Mukkamalla, S. K. R., & Shimanovsky, A. (2023). *Leukemia*.
- Chhikara, B. S., & Parang, K. (2023). Global Cancer Statistics 2022: the trends projection analysis. *Chemical Biology Letters*, 10(1), 451–451.
- Chiara, F., Allegra, S., Mula, J., Puccinelli, M. P., Abbadessa, G., Mengozzi, G., & De Francia, S. (2023). The Strange Case of Orotic Acid: The Different Expression of Pyrimidines Biosynthesis in Healthy Males and Females. *Journal of Personalized Medicine 2023*, Vol. 13, Page 1443, 13(10), 1443.
- Choi, B. H., & Coloff, J. L. (2019). The Diverse Functions of Non-Essential Amino Acids in Cancer. *Cancers*, 11(5).
- Cimmino, A., Calin, G. A., Fabbri, M., Iorio, M. V., Ferracin, M., Shimizu, M., Wojcik, S. E., Aqeilan, R. I., Zupo, S., Dono, M., Rassenti, L., Alder, H., Volinia, S., Liu, C. G., Kipps, T. J., Negrini, M., & Croce, C. M. (2005). miR-15 and miR-16 induce apoptosis by targeting BCL2. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(39), 13944–13949.
- Clavell, L. A., Gelber, R. D., Cohen, H. J., Hitchcock-Bryan, S., Cassady, J. R., Tarbell, N. J., Blattner, S. R., Tantravahi, R., Leavitt, P., & Sallan, S. E. (1986). Four-agent induction and intensive asparaginase therapy for treatment of childhood acute lymphoblastic leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 315(11), 657–663.
- Cory, J. G., & Cory, A. H. (2006). Critical Roles of Glutamine as Nitrogen Donors in Purine and Pyrimidine Nucleotide Synthesis: Asparaginase Treatment in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. *In Vivo*, 20(5), 587–589.
- Cox, A. G., Hwang, K. L., Brown, K. K., Evason, K. J., Beltz, S., Tsomides, A., O'Connor, K., Galli, G. G., Yimlamai, D., Chhangawala, S., Yuan, M., Lien, E. C., Wucherpfennig, J., Nissim, S., Minami, A., Cohen, D. E., Camargo, F. D., Asara, J. M., Houvras, Y., ... Goessling, W. (2016). Yap reprograms glutamine metabolism to increase nucleotide biosynthesis and enable liver growth. *Nature Cell Biology 2016 18:8*, 18(8), 886–896.
- Cruzat, V., Rogero, M. M., Keane, K. N., Curi, R., & Newsholme, P. (2018). Glutamine: Metabolism and Immune Function, Supplementation and Clinical Translation. *Nutrients 2018*, Vol. 10, Page 1564, 10(11), 1564.
- Curi, R., Newsholme, P., Marzuca-Nassr, G. N., Takahashi, H. K., Hirabara, S. M., Cruzat, V., Krause, M., & De Bittencourt, P. I. H. (2016). Regulatory principles in metabolism-then and now. *The Biochemical Journal*, 473(13), 1845–1857.
- Dang, L., White, D. W., Gross, S., Bennett, B. D., Bittinger, M. A., Driggers, E. M., Fantin, V. R., Jang, H. G., Jin, S., Keenan, M. C., Marks, K. M., Prins, R. M., Ward, P. S., Yen, K. E., Liao, L. M., Rabinowitz, J. D., Cantley, L. C., Thompson, C. B., Vander Heiden, M. G., & Su, S. M. (2010). Cancer-associated IDH1 mutations produce 2-hydroxyglutarate. *Nature*, 465(7300), 966.

- Dang, C. V. (2009). MYC, microRNAs and glutamine addiction in cancers. *Cell Cycle (Georgetown, Tex.)*, 8(20), 3243–3245.
- Dang, C. V., Hamaker, M., Sun, P., Le, A., & Gao, P. (2011). Therapeutic targeting of cancer cell metabolism. *Journal of Molecular Medicine (Berlin, Germany)*, 89(3), 205–212.
- \*Daye, D., & Wellen, K. E. (2012). Metabolic reprogramming in cancer: unraveling the role of glutamine in tumorigenesis. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 23(4), 362–369.
- de Thé, G., Gazzolo, L., & Gessain, A. (1985). Viruses as risk factors or causes of human leukaemias and lymphomas? *Leukemia Research*, 9(6), 691–696.
- DeBerardinis, R. J., Mancuso, A., Daikhin, E., Nissim, I., Yudkoff, M., Wehrli, S., & Thompson, C. B. (2007). Beyond aerobic glycolysis: Transformed cells can engage in glutamine metabolism that exceeds the requirement for protein and nucleotide synthesis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 104(49), 19345–19350.
- Deininger, M. W. N., Goldman, J. M., & Melo, J. V. (2000). The molecular biology of chronic myeloid leukemia. *Blood*, 96(10), 3343–3356.
- Deininger, M. W., Shah, N. P., Altman, J. K., Berman, E., Bhatia, R., Bhatnagar, B., DeAngelo, D. J., Gotlib, J., Hobbs, G., Maness, L., Mead, M., Metheny, L., Mohan, S., Moore, J. O., Naqvi, K., Oehler, V., Pallera, A. M., Patnaik, M., Pratz, K., ... Sundar, H. (2020). Chronic Myeloid Leukemia, Version 2.2021, NCCN Clinical Practice Guidelines in Oncology. *Journal of the National Comprehensive Cancer Network*, 18(10), 1385–1415.
- DiNardo, C. D., Pratz, K., Pullarkat, V., Jonas, B. A., Arellano, M., Becker, P. S., Frankfurt, O., Konopleva, M., Wei, A. H., Kantarjian, H. M., Xu, T., Hong, W. J., Chyla, B., Potluri, J., Pollyea, D. A., & Letai, A. (2019). Venetoclax combined with decitabine or azacitidine in treatment-naive, elderly patients with acute myeloid leukemia. *Blood*, 133(1), 7–17.
- Durán, R. V., & Hall, M. N. (2012). Glutaminolysis feeds mTORC1. *Cell Cycle*, 11(22), 4107.
- Durán, R. V., Mackenzie, E. D., Boulahbel, H., Frezza, C., Heiserich, L., Tardito, S., Bussolati, O., Rocha, S., Hall, M. N., & Gottlieb, E. (2013). HIF-independent role of prolyl hydroxylases in the cellular response to amino acids. *Oncogene*, 32(38), 4549–4556.
- Durán, R. V., Oppliger, W., Robitaille, A. M., Heiserich, L., Skendaj, R., Gottlieb, E., & Hall, M. N. (2012). Glutaminolysis activates Rag-mTORC1 signaling. *Molecular Cell*, 47(3), 349–358.
- E. Panosyan, I. A. A. N. L. S. (2002). Glutamine (Gln) deamination by asparaginases (ASNases) in children with higher risk acute lymphoblastic leukemia (HR ALL), (CCG-1961 study) [abstract]. *Blood*, 100, 759A.
- Edlich, R. F., Arnette, J. A., & Williams, F. M. (2000). Global epidemic of human T-cell lymphotropic virus type-I (HTLV-I). *The Journal of Emergency Medicine*, 18(1), 109–119.
- Egler, R. A., Ahuja, S. P., & Matloub, Y. (2016). L-asparaginase in the treatment of patients with acute lymphoblastic leukemia. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics*, 7(2), 62–71.
- Eichhorst, B., Fink, A. M., Bahlo, J., Busch, R., Kovacs, G., Maurer, C., Lange, E., Köppler, H., Kiehl, M., Sökler, M., Schlag, R., Vehling-Kaiser, U., Köchling, G., Plöger, C., Gregor, M., Plesner, T., Trneny, M., Fischer, K., Döhner, H., ... Hallek, M. (2016). First-line chemoimmunotherapy with bendamustine and rituximab versus fludarabine, cyclophosphamide, and rituximab in patients with advanced chronic lymphocytic

- leukaemia (CLL10): an international, open-label, randomised, phase 3, non-inferiority trial. *The Lancet. Oncology*, 17(7), 928–942.
- Eichhorst, B., Robak, T., Montserrat, E., Ghia, P., Hillmen, P., Hallek, M., & Buske, C. (2015). Chronic lymphocytic leukaemia: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*, 26, vi50–vi54.
- Emadi, A., Jun, S. A., Tsukamoto, T., Fathi, A. T., Minden, M. D., & Dang, C. V. (2014). Inhibition of glutaminase selectively suppresses the growth of primary acute myeloid leukemia cells with IDH mutations. *Experimental Hematology*, 42(4), 247–251.
- Fan, J., Kamphorst, J. J., Mathew, R., Chung, M. K., White, E., Shlomi, T., & Rabinowitz, J. D. (2013). Glutamine-driven oxidative phosphorylation is a major ATP source in transformed mammalian cells in both normoxia and hypoxia. *Molecular Systems Biology*, 9.
- \*Ferlay, J., Colombet, M., Soerjomataram, I., Parkin, D. M., Piñeros, M., Znaor, A., & Bray, F. (2021). Cancer statistics for the year 2020: An overview. *International Journal of Cancer*, 149(4), 778–789.
- Fernandez, H. F., Sun, Z., Yao, X., Litzow, M. R., Luger, S. M., Paietta, E. M., Racevskis, J., Dewald, G. W., Ketterling, R. P., Bennett, J. M., Rowe, J. M., Lazarus, H. M., & Tallman, M. S. (2009). Anthracycline dose intensification in acute myeloid leukemia. *The New England Journal of Medicine*, 361(13), 1249–1259.
- Fontenelle, L. J., & Henderson, J. F. (1969). Sources of nitrogen as rate-limiting factors for purine biosynthesis de novo in Ehrlich ascites tumor cells. *Biochimica et Biophysica Acta*, 177(1), 88–93.
- Foon, K. A., & Todd, R. F. (1986). Immunologic classification of leukemia and lymphoma. *Blood*, 68(1), 1–31.
- Fuchs, B. C., & Bode, B. P. (2005). Amino acid transporters ASCT2 and LAT1 in cancer: partners in crime? *Seminars in Cancer Biology*, 15(4), 254–266.
- Fuchs, B. C., & Bode, B. P. (2006). Stressing out over survival: glutamine as an apoptotic modulator. *The Journal of Surgical Research*, 131(1), 26–40.
- Furman, R. R., Sharman, J. P., Coutre, S. E., Cheson, B. D., Pagel, J. M., Hillmen, P., Barrientos, J. C., Zelenetz, A. D., Kipps, T. J., Flinn, I., Ghia, P., Eradat, H., Ervin, T., Lamanna, N., Coiffier, B., Pettitt, A. R., Ma, S., Stilgenbauer, S., Cramer, P., ... O'Brien, S. M. (2014). Idelalisib and Rituximab in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *New England Journal of Medicine*, 370(11), 997–1007.
- Gaglio, D., Soldati, C., Vanoni, M., Alberghina, L., & Chiaradonna, F. (2009). Glutamine Deprivation Induces Abortive S-Phase Rescued by Deoxyribonucleotides in K-Ras Transformed Fibroblasts. *PLOS ONE*, 4(3), e4715.
- Gaidano, G., Foà, R., & Dalla-Favera, R. (2012). Molecular pathogenesis of chronic lymphocytic leukemia. *The Journal of Clinical Investigation*, 122(10), 3432–3438.
- Gallipoli, P., Giotopoulos, G., Tzelepis, K., Costa, A. S. H., Vohra, S., Medina-Perez, P., Basheer, F., Marando, L., Lisio, L. Di, Dias, J. M. L., Yun, H., Sasca, D., Horton, S. J., Vassiliou, G., Frezza, C., & Huntly, B. J. P. (2018). Glutaminolysis is a metabolic dependency in FLT3ITD acute myeloid leukemia unmasked by FLT3 tyrosine kinase inhibition. *Blood*, 131(15), 1639–1653.
- \*Galluzzi, L., Kepp, O., Heiden, M. G. V., & Kroemer, G. (2013). Metabolic targets for cancer therapy. *Nature Reviews. Drug Discovery*, 12(11), 829–846.
- Gameiro, P. A., Yang, J., Metelo, A. M., Pérez-Carro, R., Baker, R., Wang, Z., Arreola, A., Rathmell, W. K., Olumi, A., López-Larrubia, P., Stephanopoulos, G., & Iliopoulos, O. (2013). In Vivo HIF-Mediated Reductive Carboxylation Is Regulated by Citrate Levels and Sensitizes VHL-Deficient Cells to Glutamine Deprivation. *Cell Metabolism*, 17(3), 372.

- Gary Gilliland, D., & Griffin, J. D. (2002). The roles of FLT3 in hematopoiesis and leukemia. *Blood*, *100*(5), 1532–1542.
- Goede, V., Fischer, K., Busch, R., Engelke, A., Eichhorst, B., Wendtner, C. M., Chagorova, T., de la Serna, J., Dilhuydy, M.-S., Illmer, T., Opat, S., Owen, C. J., Samoylova, O., Kreuzer, K.-A., Stilgenbauer, S., Döhner, H., Langerak, A. W., Ritgen, M., Kneba, M., Hallek, M. (2014). Obinutuzumab plus chlorambucil in patients with CLL and coexisting conditions. *The New England Journal of Medicine*, *370*(12), 1101–1110.
- \*Greaves, M. (2018). Author Correction: A causal mechanism for childhood acute lymphoblastic leukaemia. *Nature Reviews. Cancer*, *18*(8), 526.
- Greaves, M. F., & Alexander, F. E. (1993). An infectious etiology for common acute lymphoblastic leukemia in childhood? *Leukemia*, *7*(3), 349–360.
- Gregory, M. A., Nemkov, T., Park, H. J., Zaberezhnyy, V., Gehrke, S., Adane, B., Jordan, C. T., Hansen, K. C., D'Alessandro, A., & DeGregori, J. (2019). Targeting glutamine metabolism and redox state for leukemia therapy. *Clinical Cancer Research : An Official Journal of the American Association for Cancer Research*, *25*(13), 4079.
- Gregory, M. A., Nemkov, T., Reisz, J. A., Zaberezhnyy, V., Hansen, K. C., D'Alessandro, A., & DeGregori, J. (2018). Glutaminase inhibition improves FLT3 inhibitor therapy for acute myeloid leukemia. *Experimental Hematology*, *58*, 52.
- Grønningsæter, I. S., Reikvam, H., Aasebø, E., Bartaula-brevik, S., Tvedt, T. H., Bruserud, Ø., & Hatfield, K. J. (2020). Targeting Cellular Metabolism in Acute Myeloid Leukemia and the Role of Patient Heterogeneity. *Cells 2020, Vol. 9, Page 1155*, *9*(5), 1155.
- Halfon-Domenech, C., Thomas, X., Chabaud, S., Baruchel, A., Gueyffier, F., Mazingue, F., Auvrignon, A., Corm, S., Dombret, H., Chevallier, P., Galambrun, C., Huguet, F., Legrand, F., Mechinaud, F., Vey, N., Philip, I., Liens, D., Godfrin, Y., Rigal, D., & Bertrand, Y. (2011). L-asparaginase loaded red blood cells in refractory or relapsing acute lymphoblastic leukaemia in children and adults: results of the GRASPALL 2005-01 randomized trial. *British Journal of Haematology*, *153*(1), 58–65.
- Hallek, M. (2019). Chronic lymphocytic leukemia: 2020 update on diagnosis, risk stratification and treatment. *American Journal of Hematology*, *94*(11), 1266–1287.
- Hallek, M., Cheson, B. D., Catovsky, D., Caligaris-Cappio, F., Dighiero, G., Döhner, H., Hillmen, P., Keating, M., Montserrat, E., Chiorazzi, N., Stilgenbauer, S., Rai, K. R., Byrd, J. C., Eichhorst, B., O'Brien, S., Robak, T., Seymour, J. F., & Kipps, T. J. (2018). iwCLL guidelines for diagnosis, indications for treatment, response assessment, and supportive management of CLL. *Blood*, *131*(25), 2745–2760.
- Hamidi, M., Zarrin, A., Foroozesh, M., & Mohammadi-Samani, S. (2007). Applications of carrier erythrocytes in delivery of biopharmaceuticals. *Journal of Controlled Release*, *118*(2), 145–160.
- Hammel, P., Fabienne, P., Mineur, L., Metges, J. P., Andre, T., De La Fouchardiere, C., Louvet, C., El Hajbi, F., Faroux, R., Guimbaud, R., Tougeron, D., Bouche, O., Lecomte, T., Rebischung, C., Tournigand, C., Cros, J., Kay, R., Hamm, A., Gupta, A., ... El Hariry, I. (2020). Erythrocyte-encapsulated asparaginase (eryaspase) combined with chemotherapy in second-line treatment of advanced pancreatic cancer: An open-label, randomized Phase IIb trial. *European Journal of Cancer*, *124*, 91–101.
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell*, *144*(5), 646–674.
- Hara, K., Yonezawa, K., Weng, Q. P., Kozlowski, M. T., Belham, C., & Avruch, J. (1998). Amino acid sufficiency and mTOR regulate p70 S6 kinase and eIF-4E BP1 through a common effector mechanism. *The Journal of Biological Chemistry*, *273*(23), 14484–14494.

- Heiden, M. G. V., Cantley, L. C., & Thompson, C. B. (2009). Understanding the Warburg Effect: The Metabolic Requirements of Cell Proliferation. *Science*, 324(5930), 1029–1033.
- Hensley, C. T., Wasti, A. T., & DeBerardinis, R. J. (2013). Glutamine and cancer: cell biology, physiology, and clinical opportunities. *The Journal of Clinical Investigation*, 123(9), 3678–3684.
- Hermanova, I., Zaliova, M., Trka, J., & Starkova, J. (2012). Low expression of asparagine synthetase in lymphoid blasts precludes its role in sensitivity to L-asparaginase. *Experimental Hematology*, 40(8), 657–665.
- Higashiguchi, T., Noguchi, Y., Meyer, T., Fischer, J. E., & Hasselgren, P. O. (1995). Protein synthesis in isolated enterocytes from septic or endotoxaemic rats: regulation by glutamine. *Clinical Science (London, England : 1979)*, 89(3), 311–319.
- Ho, D. H., Whitecar, J. P., Luce, J. K., & Frei, E. (1970). L-asparagine requirement and the effect of L-asparaginase on the normal and leukemic human bone marrow. *Cancer Research*, 30(2), 466–472.
- \*Hoelzer, D., & Gökbuget, N. (2000). Recent approaches in acute lymphoblastic leukemia in adults. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, 36(1), 49–58.
- Hong, R. W., Rounds, J. D., Helton, W. S., Robinson, M. K., & Wilmore, D. W. (1992). Glutamine preserves liver glutathione after lethal hepatic injury. *Annals of Surgery*, 215(2), 114–119.
- Hunger, S. P., & Mullighan, C. G. (2015). Acute Lymphoblastic Leukemia in Children. *The New England Journal of Medicine*, 373(16), 1541–1552.
- Jabbour, E., & Kantarjian, H. (2022). Chronic myeloid leukemia: 2022 update on diagnosis, therapy, and monitoring. *American Journal of Hematology*, 97(9), 1236–1256.
- Jacque, N., Ronchetti, A. M., Larrue, C., Meunier, G., Birsén, R., Willems, L., Saland, E., Decroocq, J., Maciel, T. T., Lambert, M., Poulain, L., Hospital, M. A., Sujobert, P., Joseph, L., Chapuis, N., Lacombe, C., Moura, I. C., Demo, S., Sarry, J. E., ... Bouscary, D. (2015). Targeting glutaminolysis has antileukemic activity in acute myeloid leukemia and synergizes with BCL-2 inhibition. *Blood*, 126(11), 1346–1356.
- Janke, R., Iavarone, A. T., & Rine, J. (2017). Oncometabolite D-2-Hydroxyglutarate enhances gene silencing through inhibition of specific H3K36 histone demethylases. *ELife*, 6.
- Jepson, M. M., Bates, P. C., Broadbent, P., Pell, J. M., & Millward, D. J. (1988). Relationship between glutamine concentration and protein synthesis in rat skeletal muscle. *The American Journal of Physiology*, 255(2 Pt 1).
- Johansson, B., Fioretos, T., & Mitelman, F. (2002). Cytogenetic and molecular genetic evolution of chronic myeloid leukemia. *Acta Haematologica*, 107(2), 76–94.
- Juluri, K. R., Siu, C., & Cassaday, R. D. (2022). Asparaginase in the Treatment of Acute Lymphoblastic Leukemia in Adults: Current Evidence and Place in Therapy. *Blood and Lymphatic Cancer: Targets and Therapy*, 12, 55.
- Kafkewitz, D., & Bendich, A. (1983). Enzyme-induced asparagine and glutamine depletion and immune system function. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 37(6), 1025–1030.
- Kantarjian, H., O’Brisn, S., Cortes, J., Giles, F., Faderl, S., Jabbour, E., Garcia-Manero, G., Wierda, W., Pierce, S., Shan, J., & Estey, E. (2006). Results of intensive chemotherapy in 998 patients age 65 years or older with acute myeloid leukemia or high-risk myelodysplastic syndrome: predictive prognostic models for outcome. *Cancer*, 106(5), 1090–1098.
- Kawedia, J. D., & Rytting, M. E. (2014). Asparaginase in acute lymphoblastic leukemia. *Clinical Lymphoma, Myeloma and Leukemia*, 14, S14–S17.

- 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. *The Journal of Experimental Medicine*, 98(6), 565–582.
- Killander, D., Dohlwitz, A., Engstedt, L., Franzén, S., Gahrton, G., Gullbring, B., Holm, G., Holmgren, A., Höglund, S., Killander, A., Lockner, D., Mellstedt, H., Moe, P. J., Palmblad, J., Reizenstein, P., Skårberg, K. O., Swedberg, B., Udén, A. M., Wadman, B., ... Ahström, L. (1976). Hypersensitive reactions and antibody formation during L-asparaginase treatment of children and adults with acute leukemia. *Cancer*, 37(1), 220–228.
- Kim, E., Goraksha-Hicks, P., Li, L., Neufeld, T. P., & Guan, K. L. (2008). Regulation of TORC1 by Rag GTPases in nutrient response. *Nature Cell Biology*, 10(8), 935.
- Kinlen, L. J. (1995). Epidemiological evidence for an infective basis in childhood leukaemia. *British Journal of Cancer*, 71(1), 1–5.
- \*Koppula, P., Zhuang, L., & Gan, B. (2021). Cystine transporter SLC7A11/xCT in cancer: ferroptosis, nutrient dependency, and cancer therapy. *Protein and Cell*, 12(8), 599–620.
- Koprivnikar, J., McCloskey, J., & Faderl, S. (2017). Safety, efficacy, and clinical utility of asparaginase in the treatment of adult patients with acute lymphoblastic leukemia. *OncoTargets and Therapy*, 10, 1413–1422.
- Kosmider, O., & Moreau-Gachelin, F. (2006). *Cell Cycle From Mice to Human: The 'Two-Hit Model' of Leukemogenesis*.
- Krebs, H. A. (1935). Metabolism of amino-acids: The synthesis of glutamine from glutamic acid and ammonia, and the enzymic hydrolysis of glutamine in animal tissues. *The Biochemical Journal*, 29(8), 1951–1969.
- Kumar, K., Kaur, J., Walia, S., Pathak, T., & Aggarwal, D. (2014). L-asparaginase: an effective agent in the treatment of acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia & Lymphoma*, 55(2), 256–262.
- Kuo, M. T., Chen, H. H. W., Feun, L. G., & Savaraj, N. (2021). Targeting the Proline–Glutamine–Asparagine–Arginine Metabolic Axis in Amino Acid Starvation Cancer Therapy. *Pharmaceuticals 2021, Vol. 14, Page 72*, 14(1), 72.
- 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.
- Kwok, K. K., Vincent, E. C., & Gibson, J. N. (2017). Antineoplastic Drugs. *Pharmacology and Therapeutics for Dentistry: Seventh Edition*, 530–562.
- Kwon, Y. M., Chung, H. S., Moon, C., Yockman, J., Park, Y. J., Gitlin, S. D., David, A. E., & Yang, V. C. (2009). L-Asparaginase encapsulated intact erythrocytes for treatment of acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society*, 139(3), 182–189.
- Labow, B. I., & Souba, W. W. (2000). Glutamine. *World Journal of Surgery*, 24(12), 1503–1513.
- \*Lacey, J. M., & Wilmore, D. W. (1990). Is Glutamine a Conditionally Essential Amino Acid? *Nutrition Reviews*, 48(8), 297–309.
- Lancet, J. E., Uy, G. L., Cortes, J. E., Newell, L. F., Lin, T. L., Ritchie, E. K., Stuart, R. K., Strickland, S. A., Hogge, D., Solomon, S. R., Stone, R. M., Bixby, D. L., Kolitz, J. E., Schiller, G. J., Wieduwilt, M. J., Ryan, D. H., Hoering, A., Banerjee, K., Chiarella, M., Medeiros, B. C. (2018). CPX-351 (cytarabine and daunorubicin) Liposome for Injection Versus Conventional Cytarabine Plus Daunorubicin in Older Patients With Newly



- Diagnosed Secondary Acute Myeloid Leukemia. *Journal of Clinical Oncology : Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(26), 2684–2692.
- Laplante, M., & Sabatini, D. M. (2012). mTOR signaling in growth control and disease. *Cell*, 149(2), 274–293.
- Laplante, M., & Sabatini, D. M. (2013). Regulation of mTORC1 and its impact on gene expression at a glance. *Journal of Cell Science*, 126(Pt 8), 1713–1719.
- Laurenzana, I., Lamorte, D., Trino, S., De Luca, L., Ambrosino, C., Zoppoli, P., Ruggieri, V., Vecchio, L. Del, Musto, P., Caivano, A., & Falco, G. (2018). Extracellular Vesicles: A New Prospective in Crosstalk between Microenvironment and Stem Cells in Hematological Malignancies. *Stem Cells International*, 2018.
- Le, A., Lane, A. N., Hamaker, M., Bose, S., Gouw, A., Barbi, J., Tsukamoto, T., Rojas, C. J., Slusher, B. S., Zhang, H., Zimmerman, L. J., Liebler, D. C., Slebos, R. J. C., Lorkiewicz, P. K., Higashi, R. M., Fan, T. W. M., & Dang, C. V. (2012). Glucose-independent glutamine metabolism via TCA cycling for proliferation and survival in b cells. *Cell Metabolism*, 15(1), 110–121.
- Lee, S. M., Wroble, M. H., & Ross, J. T. (1989). L-asparaginase from *Erwinia carotovora* - An improved recovery and purification process using affinity chromatography. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 22(1), 1–11.
- \*Li, W. (2022). Measurable Residual Disease Testing in Acute Leukemia: Technology and Clinical Significance. *Leukemia*, 79–100.
- Liberti, M. V., & Locasale, J. W. (2016). The Warburg Effect: How Does it Benefit Cancer Cells? *Trends in Biochemical Sciences*, 41(3), 211–218.
- Lin, Y. W., & Aplan, P. D. (2004). Leukemic Transformation. *Cancer Biology & Therapy*, 3(1), 13–20.
- Liu, J., Zhou, Y., Yuan, Q., & Xiao, M. (2020). Myeloid Blast Crisis of Chronic Myeloid Leukemia Followed by Lineage Switch to B-Lymphoblastic Leukemia: A Case Report. *OncoTargets and Therapy*, 13, 3259.
- Lomelino, C. L., Andring, J. T., McKenna, R., & Kilberg, M. S. (2017). Asparagine synthetase: Function, structure, and role in disease. *The Journal of Biological Chemistry*, 292(49), 19952–19958.
- Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1830(5), 3143–3153.
- Lynggaard, L. S., Vaitkeviciene, G., Langenskiöld, C., Lehmann, A. K., Lähteenmäki, P. M., Lepik, K., El Hariry, I., Schmiegelow, K., & Albertsen, B. K. (2022). Asparaginase encapsulated in erythrocytes as second-line treatment in hypersensitive patients with acute lymphoblastic leukaemia. *British Journal of Haematology*, 197(6), 745–754.
- Maese, L., & Rau, R. E. (2022). Current Use of Asparaginase in Acute Lymphoblastic Leukemia/Lymphoblastic Lymphoma. *Frontiers in Pediatrics*, 10, 902117.
- Malard, F., & Mohty, M. (2020). Acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet (London, England)*, 395(10230), 1146–1162.
- Manns, A., Hisada, M., & La Grenade, L. (1999). Human T-lymphotropic virus type I infection. *Lancet*, 353(9168), 1951–1958.
- Martens, J. H. A., & Stunnenberg, H. G. (2010). The molecular signature of oncofusion proteins in acute myeloid leukemia. *FEBS Letters*, 584(12), 2662–2669.
- \*Matthews, H. K., Bertoli, C., & de Bruin, R. A. M. (2022). Cell cycle control in cancer. *Nature Reviews. Molecular Cell Biology*, 23(1), 74–88.
- Medina, M. Á. (2001). Glutamine and Cancer. *The Journal of Nutrition*, 131(9), 2539S–2542S.

- Medina, M. A., Sánchez-Jiménez, F., Márquez, J., Rodríguez Quesada, A., & de Castro Núñez, I. (1992). Relevance of glutamine metabolism to tumor cell growth. *Molecular and Cellular Biochemistry*, *113*(1), 1–15.
- \*Moen, M. D., McKeage, K., Plosker, G. L., & Siddiqui, M. A. A. (2007). Imatinib: A review of its use in chronic myeloid leukaemia. *Drugs*, *67*(2), 299–320.
- Moreadith, R. W., & Lehninger, A. L. (1984). The pathways of glutamate and glutamine oxidation by tumor cell mitochondria. Role of mitochondrial NAD(P)<sup>+</sup>-dependent malic enzyme. *Journal of Biological Chemistry*, *259*(10), 6215–6221.
- Mrózek, K., Radmacher, M. D., Bloomfield, C. D., & Marcucci, G. (2009). Molecular signatures in acute myeloid leukemia. *Current Opinion in Hematology*, *16*(2), 64.
- Mullen, A. R., Wheaton, W. W., Jin, E. S., Chen, P. H., Sullivan, L. B., Cheng, T., Yang, Y., Linehan, W. M., Chandel, N. S., & Deberardinis, R. J. (2011). Reductive carboxylation supports growth in tumour cells with defective mitochondria. *Nature* *2011* *481*:7381, *481*(7381), 385–388.
- \*Müller, H. J., & Boos, J. (1998). Use of L-asparaginase in childhood ALL. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*, *28*(2), 97–113.
- Nemkov, T., D'Alessandro, A., & Reisz, J. A. (2019). Metabolic underpinnings of leukemia pathology and treatment. *Cancer Reports*, *2*(2).
- Neu, J., Shenoy, V., & Chakrabarti, R. (1996). Glutamine nutrition and metabolism: where do we go from here? *FASEB Journal : Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, *10*(8), 829–837.
- Nguyen, H. A., Durden, D. L., & Lavie, A. (2017). The differential ability of asparagine and glutamine in promoting the closed/active enzyme conformation rationalizes the *Wolinella succinogenes* L-asparaginase substrate specificity. *Scientific Reports*, *7*.
- Nguyen, H. A., Su, Y., & Lavie, A. (2016). Structural Insight into Substrate Selectivity of *Erwinia chrysanthemi* L-Asparaginase. *Biochemistry*, *55*(8), 1246–1253.
- Ni, F., Yu, W. M., Li, Z., Graham, D. K., Jin, L., Kang, S., Rossi, M. R., Li, S., Broxmeyer, H. E., & Qu, C. K. (2019). Critical role of ASCT2-mediated amino acid metabolism in promoting leukaemia development and progression. *Nature Metabolism*, *1*(3), 390.
- Nicklin, P., Bergman, P., Zhang, B., Triantafellow, E., Wang, H., Nyfeler, B., Yang, H., Hild, M., Kung, C., Wilson, C., Myer, V. E., MacKeigan, J. P., Porter, J. A., Wang, Y. K., Cantley, L. C., Finan, P. M., & Murphy, L. O. (2009). Bidirectional Transport of Amino Acids Regulates mTOR and Autophagy. *Cell*, *136*(3), 521.
- Nomme, J., Su, Y., Konrad, M., & Lavie, A. (2012). Structures of apo and product-bound human L-asparaginase: insights into the mechanism of autoproteolysis and substrate hydrolysis. *Biochemistry*, *51*(34), 6816–6826.
- Oburoglu, L., Tardito, S., Fritz, V., De Barros, S. C., Merida, P., Craveiro, M., Mamede, J., Cretenet, G., Mongellaz, C., An, X., Klysz, D., Touhami, J., Boyer-Clavel, M., Battini, J. L., Dardalhon, V., Zimmermann, V. S., Mohandas, N., Gottlieb, E., Sitbon, M., ... Taylor, N. (2014). Glucose and glutamine metabolism regulate human hematopoietic stem cell lineage specification. *Cell Stem Cell*, *15*(2), 169–184.
- Oda, K., Hosoda, N., Endo, H., Saito, K., Tsujihara, K., Yamamura, M., Sakata, T., Anzai, N., Wempe, M. F., Kanai, Y., & Endou, H. (2010). l-Type amino acid transporter 1 inhibitors inhibit tumor cell growth. *Cancer Science*, *101*(1), 173–179.
- Oinonen, C., Tikkanen, R., Rouvinen, J., & Peltonen, L. (1995). Three-dimensional structure of human lysosomal aspartylglucosaminidase. *Nature Structural Biology*, *2*(12), 1035–1037.
- Osman, A. E. G., & Deininger, M. W. (2021). *Chronic Myeloid Leukemia: Modern therapies, current challenges and future directions*.

- Othus, M., Sekeres, M. A., Nand, S., Garcia-Manero, G., Appelbaum, F. R., Erba, H. P., & Estey, E. H. (2016). Complete Remissions (CRs) with Azacitidine Regimens Compared to Crs with 7+3 Induction Chemotherapy and the Effect on Overall Survival. *Blood*, *128*(22), 1613–1613.
- Owen, O. E., Kalhan, S. C., & Hanson, R. W. (2002). The key role of anaplerosis and cataplerosis for citric acid cycle function. *The Journal of Biological Chemistry*, *277*(34), 30409–30412.
- Parlati, F., Bromley-Dulfano, S., Demo, S., Janes, J., Gross, M., Lewis, E., MacKinnon, A., Rodriguez, M., Yang, J., Zhao, F., & Bennett, M. (2013). Antitumor Activity Of The Glutaminase Inhibitor CB-839 In Hematological Malignances. *Blood*, *122*(21), 4226–4226.
- Patel, B., Kirkwood, A. A., Dey, A., Marks, D. I., McMillan, A. K., Menne, T. F., Micklewright, L., Patrick, P., Purnell, S., Rowntree, C. J., Smith, P., & Fielding, A. K. (2017). Pegylated-asparaginase during induction therapy for adult acute lymphoblastic leukaemia: toxicity data from the UKALL14 trial. *Leukemia*, *31*(1), 58–64.
- Paulsson, K., Lilljebjörn, H., Biloglav, A., Olsson, L., Rissler, M., Castor, A., Barbany, G., Fogelstrand, L., Nordgren, A., Sjögren, H., Fioretos, T., & Johansson, B. (2015). The genomic landscape of high hyperdiploid childhood acute lymphoblastic leukemia. *Nature Genetics*, *47*(6), 672–676.
- Pejovic, T., & Schwartz, P. E. (2002). Leukemias. *Clinical Obstetrics and Gynecology*, *45*(3), 866–878.
- \*Pelcovits, A., & Niroula, R. (2020). Acute Myeloid Leukemia: A Review. *Rhode Island Medical Journal* (2013), *103*(3), 38–40.
- Pieters, R., Hunger, S. P., Boos, J., Rizzari, C., Silverman, L., Baruchel, A., Goekbuget, N., Schrappe, M., & Pui, C. H. (2011). L-asparaginase treatment in acute lymphoblastic leukemia. *Cancer*, *117*(2), 238–249.
- Pinheiro, J. P. V., Lanvers, C., Würthwein, G., Boos, J., Avramis, V. I., & Holcenberg, J. S. (2002). Pharmacology of PEG-asparaginase in childhood acute lymphoblastic leukemia (ALL). *Blood*, *100*(5), 1923–1925.
- Prakasham, R. S., Rao, C. S., Rao, R. S., Lakshmi, G. S., & Sarma, P. N. (2007). l-asparaginase production by isolated *Staphylococcus* sp. – 6A: design of experiment considering interaction effect for process parameter optimization. *Journal of Applied Microbiology*, *102*(5), 1382–1391.
- Radivoyevitch, T., Weaver, D., Hobbs, B., Maciejewski, J. P., Hehlmann, R., Jiang, Q., Hochhaus, A., & Gale, R. P. (2019). Do persons with chronic myeloid leukaemia have normal or near normal survival? *Leukemia* 2019 34:2, *34*(2), 333–335.
- Raza, Y., Salman, H., & Luberto, C. (2021). Sphingolipids in Hematopoiesis: Exploring Their Role in Lineage Commitment. *Cells* 2021, Vol. 10, Page 2507, *10*(10), 2507.
- Reitzer, L. J., Wice, B. M., & Kennell, D. (1979). Evidence that glutamine, not sugar, is the major energy source for cultured HeLa cells. *The Journal of Biological Chemistry*, *254*(8), 2669–2676.
- Richards, N. G. J., & Kilberg, M. S. (2006). Asparagine Synthetase Chemotherapy. *75*, 629–654.
- Richards, S., Gray, R., Peto, R., Gaynon, P., Masera, G., Pession, A., Rondelli, R., Valsecchi, M. G., Reiter, A., Riehm, H., Schrappe, M., McIntyre, O. R., Bleyer, A., Cairo, M., Gaynon, P., Reaman, G., Sather, H., Trigg, M., & Auclerc, M. F. (1996). Duration and intensity of maintenance chemotherapy in acute lymphoblastic leukaemia: overview of 42 trials involving 12 000 randomised children. *Lancet (London, England)*, *347*(9018), 1783–1788.

- Rigolin, G. M., Cibien, F., Martinelli, S., Formigaro, L., Rizzotto, L., Tammiso, E., Saccenti, E., Bardi, A., Cavazzini, F., Ciccone, M., Nichele, I., Pizzolo, G., Zaja, F., Fanin, R., Galieni, P., Dalsass, A., Mestichelli, F., Testa, N., Negrini, M., & Cuneo, A. (2012). Chromosome aberrations detected by conventional karyotyping using novel mitogens in chronic lymphocytic leukemia with “normal” FISH: correlations with clinicobiologic parameters. *Blood*, *119*(10), 2310–2313.
- Rinsky, R. A. (1989). Benzene and leukemia: an epidemiologic risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, *82*, 189–191.
- Rizzari, C., Conter, V., Starý, J., Colombini, A., Moericke, A., & Schrappe, M. (2013). Optimizing asparaginase therapy for acute lymphoblastic leukemia. *Current Opinion in Oncology*, *25*.
- Roberts, A. W., Davids, M. S., Pagel, J. M., Kahl, B. S., Puvvada, S. D., Gerecitano, J. F., Kipps, T. J., Anderson, M. A., Brown, J. R., Gressick, L., Wong, S., Dunbar, M., Zhu, M., Desai, M. B., Cerri, E., Heitner Enschede, S., Humerickhouse, R. A., Wierda, W. G., & Seymour, J. F. (2016). Targeting BCL2 with Venetoclax in Relapsed Chronic Lymphocytic Leukemia. *New England Journal of Medicine*, *374*(4), 311–322.
- Rosilio, C., Nebout, M., Imbert, V., Griessinger, E., Neffati, Z., Benadiba, J., Hagenbeek, T., Spits, H., Reverso, J., Ambrosetti, D., Michiels, J. F., Bailly-Maitre, B., Endou, H., Wempe, M. F., & Peyron, J. F. (2014). L-type amino-acid transporter 1 (LAT1): a therapeutic target supporting growth and survival of T-cell lymphoblastic lymphoma/T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Leukemia* *2015* *29*:6, *29*(6), 1253–1266.
- Russo, D., Garcia-gutierrez, J. V., Soverini, S., & Baccarani, M. (2020). Chronic Myeloid Leukemia Prognosis and Therapy: Criticisms and Perspectives. *Journal of Clinical Medicine* *2020*, *Vol. 9*, Page 1709, *9*(6), 1709.
- Sancak, Y., Peterson, T. R., Shaul, Y. D., Lindquist, R. A., Thoreen, C. C., Bar-Peled, L., & Sabatini, D. M. (2008). The Rag GTPases bind raptor and mediate amino acid signaling to mTORC1. *Science (New York, N.Y.)*, *320*(5882), 1496.
- Schultz, K. R., Carroll, A., Heerema, N. A., Bowman, W. P., Aledo, A., Slayton, W. B., Sather, H., Devidas, M., Zheng, H. W., Davies, S. M., Gaynon, P. S., Trigg, M., Rutledge, R., Jorstad, D., Winick, N., Borowitz, M. J., Hunger, S. P., Carroll, W. L., & Camitta, B. (2014). Long-term follow-up of imatinib in pediatric Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia: Children’s Oncology Group study AALL0031. *Leukemia*, *28*(7), 1467–1471.
- Seltzer, M. J., Bennett, B. D., Joshi, A. D., Gao, P., Thomas, A. G., Ferraris, D. V., Tsukamoto, T., Rojas, C. J., Slusher, B. S., Rabinowitz, J. D., Dang, C. V., & Riggins, G. J. (2010). Inhibition of glutaminase preferentially slows growth of glioma cells with mutant IDH1. *Cancer Research*, *70*(22), 8981.
- Siegel, R. L., Miller, K. D., & Jemal, A. (2017). Cancer statistics, 2017. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, *67*(1), 7–30.
- \*Siegel, S. E., Stock, W., Johnson, R. H., Advani, A., Muffly, L., Douer, D., Reed, D., Lewis, M., Freyer, D. R., Shah, B., Luger, S., Hayes-Lattin, B., Jaboin, J. J., Coccia, P. F., DeAngelo, D. J., Seibel, N., & Bleyer, A. (2018). Pediatric-Inspired Treatment Regimens for Adolescents and Young Adults With Philadelphia Chromosome-Negative Acute Lymphoblastic Leukemia: A Review. *JAMA Oncology*, *4*(5), 725–734.
- Slayton, W. B., Schultz, K. R., Kairalla, J. A., Devidas, M., Mi, X., Pulsipher, M. A., Chang, B. H., Mullighan, C., Iacobucci, I., Silverman, L. B., Borowitz, M. J., Carroll, A. J., Heerema, N. A., Gastier-Foster, J. M., Wood, B. L., Mizrahy, S. L., Merchant, T., Brown, V. I., Siegel, L., Hunger, S. P. (2018). Dasatinib Plus Intensive Chemotherapy in Children, Adolescents, and Young Adults With Philadelphia Chromosome-Positive Acute Lymphoblastic Leukemia: Results of Children’s Oncology Group Trial

- AALL0622. *Journal of Clinical Oncology: Official Journal of the American Society of Clinical Oncology*, 36(22), 2306–2313.
- Snyder, R. (2012). Leukemia and Benzene. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 9(8), 2875.
- Son, J., Lyssiotis, C. A., Ying, H., Wang, X., Hua, S., Ligorio, M., Perera, R. M., Ferrone, C. R., Mullarky, E., Shyh-Chang, N., Kang, Y., Fleming, J. B., Bardeesy, N., Asara, J. M., Haigis, M. C., Depinho, R. A., Cantley, L. C., & Kimmelman, A. C. (2013). Glutamine supports pancreatic cancer growth through a KRAS-regulated metabolic pathway. *Nature* 2013 496:7443, 496(7443), 101–105.
- Sontakke, P., Koczula, K. M., Jaques, J., Wierenga, A. T. J., Brouwers-Vos, A. Z., Pruis, M., Günther, U. L., Vellenga, E., & Schuringa, J. J. (2016). Hypoxia-Like Signatures Induced by BCR-ABL Potentially Alter the Glutamine Uptake for Maintaining Oxidative Phosphorylation. *PLoS ONE*, 11(4).
- Stankovic, T., Weber, P., Stewart, G., Bedenham, T., Murray, J., Byrd, P. J., Moss, P. A. H., & Taylor, A. M. R. (1999). Inactivation of ataxia telangiectasia mutated gene in B-cell chronic lymphocytic leukaemia. *The Lancet*, 353(9146), 26–29.
- \*Starkova, J., Hermanova, I., Hlozkova, K., Hararova, A., & Trka, J. (2018). Altered Metabolism of Leukemic Cells: New Therapeutic Opportunity. *International Review of Cell and Molecular Biology*, 336, 93–147.
- Stieglitz, E., & Loh, M. L. (2013). Genetic predispositions to childhood leukemia. *Therapeutic Advances in Hematology*, 4(4), 270.
- Stock, W., Luger, S. M., Advani, A. S., Yin, J., Harvey, R. C., Mullighan, C. G., Willman, C. L., Fulton, N., Laumann, K. M., Malnassy, G., Paietta, E., Parker, E., Geyer, S., Mrózek, K., Bloomfield, C. D., Sanford, B., Marcucci, G., Liedtke, M., Claxton, D. F., ... Larson, R. A. (2019). A pediatric regimen for older adolescents and young adults with acute lymphoblastic leukemia: results of CALGB 10403. *Blood*, 133(14), 1548–1559.
- Suciu, S., Mandelli, F., De Witte, T., Zittoun, R., Gallo, E., Labar, B., De Rosa, G., Belhabri, A., Giustolisi, R., Delarue, R., Liso, V., Mirto, S., Leone, G., Bourhis, J. H., Fioritoni, G., Jehn, U., Amadori, S., Fazi, P., Hagemeijer, A., & Willemze, R. (2003). Allogeneic compared with autologous stem cell transplantation in the treatment of patients younger than 46 years with acute myeloid leukemia (AML) in first complete remission (CR1): an intention-to-treat analysis of the EORTC/GIMEMAAML-10 trial. *Blood*, 102(4), 1232–1240.
- Sugimoto, H., Odani, S., & Yamashita, S. (1998). Cloning and expression of cDNA encoding rat liver 60-kDa lysophospholipase containing an asparaginase-like region and ankyrin repeat. *The Journal of Biological Chemistry*, 273(20), 12536–12542.
- Sullivan, L. B., Gui, D. Y., Hosios, A. M., Bush, L. N., Freinkman, E., & Vander Heiden, M. G. (2015). Supporting aspartate biosynthesis is an essential function of respiration in proliferating cells. *Cell*, 162(3), 552.
- Sun, C., Chang, L., & Zhu, X. (2017). Pathogenesis of ETV6/RUNX1-positive childhood acute lymphoblastic leukemia and mechanisms underlying its relapse. *Oncotarget*, 8(21), 35445.
- Swaminathan, M., Bannon, S. A., Routbort, M., Naqvi, K., Kadia, T. M., Takahashi, K., Alvarado, Y., Ravandi-Kashani, F., Patel, K. P., Champlin, R., Kantarjian, H., Strong, L., & DiNardo, C. D. (2019). Hematologic malignancies and Li–Fraumeni syndrome. *Cold Spring Harbor Molecular Case Studies*, 5(1).
- Szczepański, T., van der Velden, V. H. J., & van Dongen, J. J. M. (2003). Classification systems for acute and chronic leukaemias. *Best Practice & Research Clinical Haematology*, 16(4), 561–582.

- Teachey, D. T., Hunger, S. P., & Loh, M. L. (2021). Optimizing therapy in the modern age: differences in length of maintenance therapy in acute lymphoblastic leukemia. *Blood*, *137*(2), 168–177.
- \*Tebbi, C. K. (2021). Etiology of Acute Leukemia: A Review. *Cancers*, *13*(9).
- Thomas, X. (2009). Chemotherapy of acute leukemia in adults. *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, *10*(2), 221–237.
- Thomas, X., Boiron, J. M., Huguet, F., Dombret, H., Bradstock, K., Vey, N., Kovacsovics, T., Delannoy, A., Fegueux, N., Fenaux, P., Stamatoullas, A., Vernant, J. P., Tournilhac, O., Buzyn, A., Reman, O., Charrin, C., Boucheix, C., Gabert, J., Lhéritier, V., & Fiere, D. (2004). Outcome of treatment in adults with acute lymphoblastic leukemia: Analysis of the LALA-94 Trial. *Journal of Clinical Oncology*, *22*(20), 4075–4086.
- Tian, T., Li, X., & Zhang, J. (2019). mTOR Signaling in Cancer and mTOR Inhibitors in Solid Tumor Targeting Therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, *20*(3).
- Timmerman, L. A., Holton, T., Yuneva, M., Louie, R. J., Padró, M., Daemen, A., Hu, M., Chan, D. A., Ethier, S. P., van'tVeer, L. J., Polyak, K., McCormick, F., & Gray, J. W. (2013). Glutamine sensitivity analysis identifies the xCT antiporter as a common triple-negative breast tumor therapeutic target. *Cancer Cell*, *24*(4), 450–465.
- van Oers, M. H. J. (2016). Analysis of prognosis in CLL: collaboration makes the difference. *The Lancet Oncology*, *17*(6), 691–692.
- \*Verma, N., Kumar, K., Kaur, G., & Anand, S. (2007). L-Asparaginase: A Promising Chemotherapeutic Agent. *Critical Reviews in Biotechnology*, *27*(1), 45–62.
- Wang, J. C. Y., & Dick, J. E. (2005). Cancer stem cells: Lessons from leukemia. *Trends in Cell Biology*, *15*(9), 494–501.
- Ward, J. M., Cherian, S., & Linden, M. A. (2017). Hematopoietic and Lymphoid Tissues. *Comparative Anatomy and Histology: A Mouse, Rat, and Human Atlas, Second Edition*, 365–401.
- Warrell, R. P., Arlin, Z. A., Gee, T. S., Chou, T. C., Roberts, J., & Young, C. W. (1982). Clinical evaluation of succinylated Acinetobacter glutaminase-asparaginase in adult leukemia. *Cancer Treatment Reports*, *66*(7), 1479–1485.
- Watson, L., Wyld, P., & Catovsky, D. (2008). Disease burden of chronic lymphocytic leukaemia within the European Union. *European Journal of Haematology*, *81*(4), 253–258.
- Welbourne, T. C. (1979). Ammonia production and glutamine incorporation into glutathione in the functioning rat kidney. *Canadian Journal of Biochemistry*, *57*(3), 233–237.
- \*Whiteley, A. E., Price, T. T., Cantelli, G., & Sipkins, D. A. (2021). Leukaemia: a model metastatic disease. *Nature Reviews. Cancer*, *21*(7), 461.
- Willems, L., Jacque, N., Jacquet, A., Neveux, N., Maciel, T. T., Lambert, M., Schmitt, A., Poulain, L., Green, A. S., Uzunov, M., Kosmider, O., Radford-Weiss, I., Moura, I. C., Auberger, P., Ifrah, N., Bardet, V., Chapuis, N., Lacombe, C., Mayeux, P., ... Bouscary, D. (2013). Inhibiting glutamine uptake represents an attractive new strategy for treating acute myeloid leukemia. *Blood*, *122*(20), 3521.
- Winkler, D., Schneider, C., Kröber, A., Pasqualucci, L., Lichter, P., Döhner, H., & Stilgenbauer, S. (2005). Protein expression analysis of chromosome 12 candidate genes in chronic lymphocytic leukemia (CLL). *Leukemia* *2005 19:7*, *19*(7), 1211–1215.
- Wise, D. R., & Thompson, C. B. (2010). Glutamine addiction: a new therapeutic target in cancer. *Trends in Biochemical Sciences*, *35*(8), 427–433.
- Wu, M. C., Arimura, G. K., & Yunis, A. A. (1978). Mechanism of sensitivity of cultured pancreatic carcinoma to asparaginase. *International Journal of Cancer*, *22*(6), 728–733.
- Wullschleger, S., Loewith, R., & Hall, M. N. (2006). TOR signaling in growth and metabolism. *Cell*, *124*(3), 471–484.

- \*Xiao, Y., Hu, B., Guo, Y., Zhang, D., Zhao, Y., Chen, Y., Li, N., & Yu, L. (2023). Targeting Glutamine Metabolism as an Attractive Therapeutic Strategy for Acute Myeloid Leukemia. *Current Treatment Options in Oncology*, 24(8), 1021.
- Xu, M., Yang, X., Yang, X. A., Zhou, L., Liu, T. Z., Fan, Z., & Jiang, T. (1989). The Affinity of L-asparaginase and PEG<sub>2</sub>-L-asparaginase to Asparagine and Glutamine. *Chinese Journal of Biochemistry and Molecular Biology*, 5(02), 102–106.
- \*Yang, L., Venneti, S., & Nagrath, D. (2017). Glutaminolysis: A Hallmark of Cancer Metabolism. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 19(Volume 19, 2017), 163–194.
- Yoneda, K. Y., & Cross, C. E. (2010). The Pulmonary Toxicity of Anticancer Agents. *Comprehensive Toxicology, Second Edition*, 8, 477–510.
- Yoo, H. C., Yu, Y. C., Sung, Y., & Han, J. M. (2020). Glutamine reliance in cell metabolism. *Experimental & Molecular Medicine* 2020 52:9, 52(9), 1496–1516.
- Yoshida, S., Yunoki, T., Aoyagi, K., Ohta, J., Ishibashi, N., Noake, T., & Kakegawa, T. (1995). Effect of glutamine supplement and hepatectomy on DNA and protein synthesis in the remnant liver. *The Journal of Surgical Research*, 59(4), 475–481.
- Yu, H., Yin, Y., Yi, Y., Cheng, Z., Kuang, W., Li, R., Zhong, H., Cui, Y., Yuan, L., Gong, F., Wang, Z., Li, H., Peng, H., & Zhang, G. (2020). Targeting lactate dehydrogenase A (LDHA) exerts antileukemic effects on T-cell acute lymphoblastic leukemia. *Cancer Communications*, 40(10), 501–517.
- Zatloukalová, S., Azeem, K., Čerňan, M., & Holý, O. (2021). Epidemiology, risk factors and possibilities for the prevention of acute leukaemia. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Imunologie: Casopis Společnosti pro Epidemiologii a Mikrobiologii Ceske Lekarske Společnosti J.E. Purkyne*, 70(3), 208–220.
- Zhao, Z., Hu, Y., Li, J., Zhou, Y., Zhang, B., & Deng, S. (2020). Applications of PET in Diagnosis and Prognosis of Leukemia. *Technology in Cancer Research & Treatment*, 19.