

Analysis of Cytotoxicity and Immunogenic Properties of L-Asparaginase Extracted from Fungi: *In Vivo* Animal Model Studies

Ghfren S. ALORAINI ¹, Abdulkarim S.BINSHAYA ¹, Suad A. ALGHAMDI ¹, Nahed S.ALHARTHI ¹, Ahmed HJAZI ¹, Abdullah A.ALQASEM ¹, Omar Saad ALKAHTANI ¹, Hassan H. ALMASOUDI ², Fahad M. ALDAKHEEL ³, & Mustafa Sawsan ALOAHD ^{4*}

¹ Department of Medical Laboratory Science, College of Applied Medical Sciences, Prince Sattam bin Abdulaziz University, Al-Kharj 11942, Saudi Arabia

² Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Applied Medical Sciences, Najran University, Najran, Saudi Arabia

³ Department of Clinical Laboratory Sciences, College of Applied Medical Sciences, King Saud University, Riyadh, Saudi Arabia

⁴ College of Life Science, Maulana Azad College of Arts and Science, Aurangabad, India

SUMMARY. This study was designed to *in-vivo* evaluate the enzyme's immunogenicity and cytotoxic characteristics of the L-asparaginase from fungi with the help of molecular methods. The isolated the L-asparaginase enzyme exhibited a heavy specific activity and showed no glutaminase activity. The study evaluated the dynamic balance between the proliferation and differentiation of the cells by determining the impact of L-asparaginase on growth factors like EGF, TGF- α , bFGF and VEGF. At the time of mucosal injury, these growth factors were found to be expressed at varying rates and times. In normal cells, these factors remained the same, which in turn infers that L-asparaginase caused no injury to normal cells in the rats. The current study found that *Phaseolus vulgaris* (P-Asp)-isolated L-asparaginase enhances the anti-proliferative nature and the apoptotic rate of cancerous cells than the necrosis or late apoptosis of the Jurkat leukemic cell line. Further, the *in vivo* study results found that the mice, when treated with P-Asp, showed less distinct immune responses. This can be confirmed through the low concentrations of IgG, IgE, IgM and mMCP-1 in the serum than the rest of the treated groups. So, P-Asp is proved to be a promising candidate for the treatment of ALL.

RESUMEN. Este estudio fue diseñado para evaluar *in vivo* la inmunogenicidad de la enzima y las características citotóxicas de la L-asparaginasa de hongos con la ayuda de métodos moleculares. La enzima L-asparaginasa aislada exhibió una fuerte actividad específica y no mostró actividad glutaminasa. El estudio evaluó el equilibrio dinámico entre la proliferación y la diferenciación de las células mediante la determinación del impacto de la L-asparaginasa en factores de crecimiento como EGF, TGF- α , bFGF y VEGF. En el momento de la lesión de la mucosa, se encontró que estos factores de crecimiento se expresaban a velocidades y tiempos variables. En las células normales, estos factores se mantuvieron iguales, lo que a su vez infiere que la L-asparaginasa no causó daño a las células normales en las ratas. El estudio actual encontró que la L-asparaginasa aislada de *Phaseolus vulgaris* (P-Asp) mejora la naturaleza antiproliferativa y la tasa apoptótica de las células cancerosas que la necrosis o la apoptosis tardía de la línea celular leucémica Jurkat. Además, los resultados del estudio *in vivo* encontraron que los ratones, cuando se trataron con P-Asp, mostraron respuestas inmunitarias menos distintas. Esto se puede confirmar a través de las bajas concentraciones de IgG, IgE, IgM y mMCP-1 en el suero que el resto de los grupos tratados. Por lo tanto, se ha demostrado que P-Asp es un candidato prometedor para el tratamiento de la ALL.

KEY WORDS: immunogenic, cytotoxicity properties, L-asparaginase

* Author to whom correspondence should be addressed. *E-mail:* malmutairik@gmail.com