

## Tinjauan Literatur: Efektivitas Butionin Sulfoksimin Dalam Meningkatkan Sensitivitas Sel Kanker Terhadap Agen Kemoterapi Secara *In Vivo*

### Literature Review: Buthionine Sulfoximine Effectiveness To Increase Cancer Cells Sensitivity Against Chemotherapy Agents In *Vivo*

Khoerunnisa Azamy<sup>1</sup>, Wahyu Utami<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl. Ahmad Yani, Pabelan, Surakarta 57162, Indonesia

\*E-mail: [wahyu.utami@ums.ac.id](mailto:wahyu.utami@ums.ac.id)

Received: 7 Oktober 2022; Accepted: 13 Desember 2022; Published: 31 Desember 2022

#### Abstrak

Glutathione (GSH) menjadi salah satu target dalam mengatasi resistensi agen kemoterapi. Sel kanker beradaptasi dengan meningkatkan produksi GSH yang berperan sebagai antioksidan untuk mereduksi peningkatan spesies oksigen reaktif (ROS) yang disebabkan oleh agen kemoterapi. GSH dapat berikatan dengan agen kemoterapi yang bersifat elektrophil menghasilkan konjugat elektrophil-GSH yang bersifat lebih polar sehingga mudah diekskresikan keluar tubuh. Butionin sulfoksimin (BS) adalah salah satu inhibitor GSH yang digunakan untuk menurunkan konsentrasi GSH dalam sel. BS merupakan inhibitor enzim  $\gamma$ -glutamyl-cysteine ligase (GCL) yang mengkatalisis langkah pertama sintesis GSH. Tinjauan literatur ini bertujuan untuk mengkaji penggunaan BS dalam meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap agen kemoterapi secara *in vivo*. Penelusuran literatur dilakukan pada dua database yaitu Pubmed dan Scienccdirect menghasilkan 357 jurnal. Selanjutnya dilakukan proses penyeleksian yang menghasilkan 10 jurnal. Penggunaan BS bersama agen kemoterapi golongan pengalkilasi, vinkristin, gefitinib, dan sitarabin+doksorubisin menghasilkan efek sinergis dan secara signifikan meningkatkan efektivitas terapi dibandingkan penggunaan agen kemoterapi saja. Namun, BS hanya memperlambat fase inisiasi kanker, dan tidak pada fase perkembangan tumor. Secara *in vivo*, penggunaan kombinasi BS dan agen kemoterapi golongan pengalkilasi, vinkristin, gefitinib, dan sitarabin+doksorubisin dapat menurunkan volume tumor, proliferasi sel kanker dan juga dapat meningkatkan kelangsungan hidup pada hewan uji.

**Kata Kunci:** kanker, glutathione, butionin sulfoksimin, *in vivo*.

#### Abstract

Glutathione (GSH) is one of the targets to overcome chemotherapy resistance. Cancer cells adapt by increasing the production of GSH which acts as an antioxidant to reduce the reactive oxygen species (ROS)-inducing of chemotherapy agents. GSH can bind to chemotherapy agents that are electrophile resulting a conjugate of electrophile-GSH which is more polar so it is easily excreted out of the body. Buthionine sulfoximine (BS) is a GSH inhibitor that decrease the concentration of GSH in cells. BS is a  $\gamma$ -glutamyl-cysteine ligase (GCL) enzyme inhibitor that catalyzes the first steps of GSH synthesis. This literature review aims to evaluate the use of BS to sensitize cancer cells against chemotherapy *in vivo*. The literature search was carried out of two databases (Pubmed and Scienccdirect) resulting in 357 journals. Furthermore, a selection process was carried out which yielded in 10 journals. BS synergize with chemotherapy of alkylating groups, vincristine, gefitinib, and cytarabine+doxorubicin and significantly increases the effectiveness of therapy compared to chemotherapy only. However, BS delay cancer in initiation phase, and not in tumor progression phase. *In vivo*, the combination of BS and chemotherapy of alkylating groups, vincristine, gefitinib, and cytarabine+doxorubicin reduce the tumor volume, cancer cell proliferation and also increasing the survival of experimental animals.

**Keywords:** cancer, glutathione, buthionine sulfoximine, *in vivo*.

## PENDAHULUAN

Adanya sel kanker yang resisten menyebabkan terapi pada pasien kanker menjadi tidak efektif. Stres oksidatif, ketidakseimbangan produksi antara *reactive oxygen species* (ROS) dan antioksidan dalam sel, terbukti menghambat dan membatasi penyebaran sel melanoma secara *in vivo* (Chio dan Tuveson, 2017; Piskounova *et al.*, 2015). Beberapa agen kemoterapi dapat meningkatkan ROS hingga ke tingkat sitotoksik, seperti cisplatin, gefitinib, dan doksorubisin pada berbagai jenis sel kanker (Kotamraju *et al.*, 2002; Marullo *et al.*, 2013; Okon *et al.*, 2015). Paparan gefitinib secara terus-menerus pada kanker paru menyebabkan sel kanker beradaptasi dan menimbulkan resistensi (Wang *et al.*, 2019). Salah satu mekanisme pertahanan sel untuk menghilangkan produksi ROS berlebih yaitu dengan memproduksi molekul antioksidan glutation (GSH) (Kim *et al.*, 2019).

GSH tersusun atas tiga molekul asam amino: glisin, sistein, dan glutamat (Pizzorno, 2014). Pada proses detoksifikasi dari senyawa xenobiotik, GSH yang berperan sebagai antioksidan dapat mereduksi ROS dengan dibantu oleh enzim glutation peroksidase (GPx) (Espinosa *et al.*, 2015; Traverso *et al.*, 2013). GSH yang bersifat nukleofil juga dapat bereaksi dengan agen kemoterapi yang bersifat elektrofил menghasilkan konjugat elektrofил-GSH (Cooper dan Hanigan, 2018; Traverso *et al.*, 2013). Konjugat elektrofил-GSH ini bersifat lebih polar sehingga mudah untuk diekskresikan dari tubuh.

Peningkatan GSH dilaporkan berperan dalam mendorong pertumbuhan kanker hati (Huang *et al.*, 2001). Pada kanker dewasa, fase inisiasi kanker oleh berbagai stimulus onkogenik terbukti disebabkan karena tingkat GSH yang tinggi (Harris *et al.*, 2015). Telah diketahui bahwa peningkatan GSH pada sel kanker ikut berkontribusi atas terjadinya resistensi pada agen kemoterapi (Traverso *et al.*, 2013). Resistensi cisplatin pada kanker paru dan resistensi temozolomid pada kanker

otak dikaitkan dengan adanya peningkatan GSH pada sel kanker (Lan *et al.*, 2018; Rocha *et al.*, 2016).

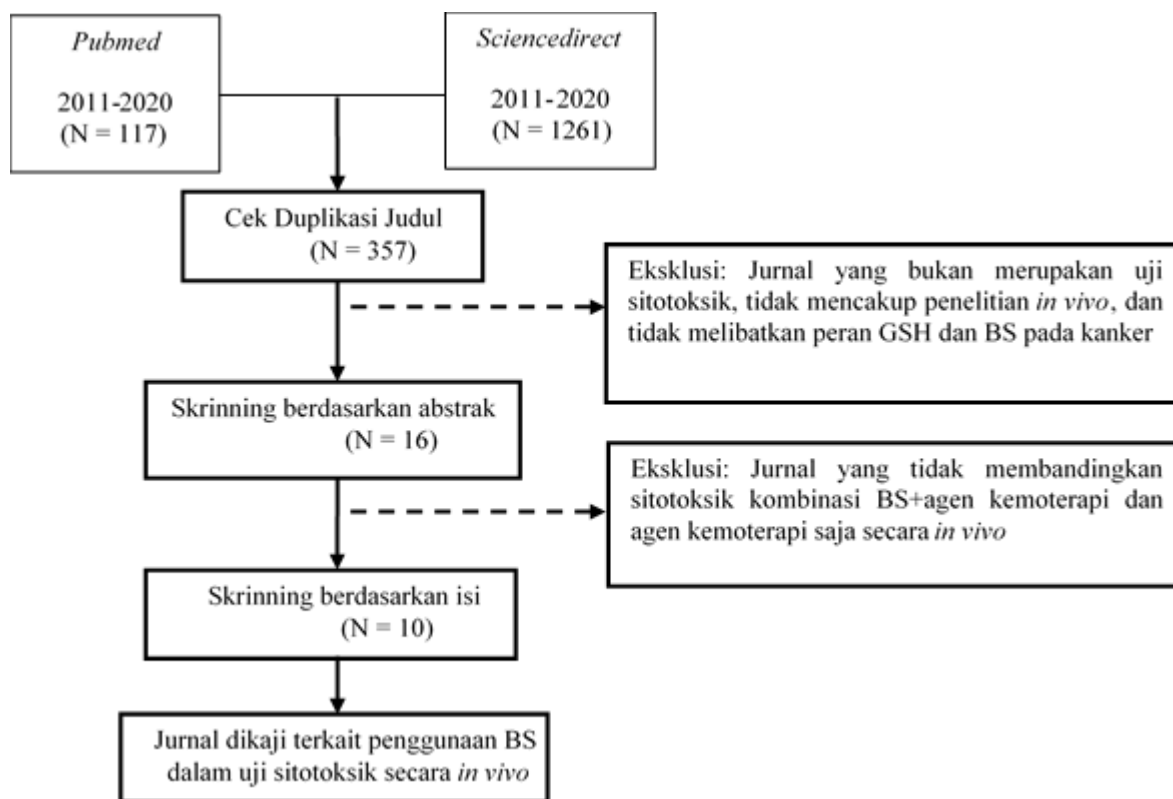
Untuk meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap agen kemoterapi dapat dilakukan dengan melalui pendekatan penurunan konsentrasi GSH dalam sel. Salah satu cara untuk menurunkan tingkat GSH adalah dengan penggunaan butionin sulfoksimin (BS) yang merupakan *inhibitor irreversible* dari enzim yang mengkatalisis langkah pertama sintesis GSH yaitu  $\gamma$ -glutamyl-cysteine ligase (GCL) (Desideri *et al.*, 2019). BS merupakan agen penghambat GSH populer dan sering digunakan untuk menurunkan GSH intraseluler pada penelitian sel kanker. Dalam beberapa tahun terakhir, telah dilakukan berbagai uji sitotoksik secara *in vivo* yang melibatkan BS untuk meningkatkan sensitivitas sel kanker terhadap agen kemoterapi. Keefektifan kemoterapi yang dapat dibuktikan secara *in vitro* tidak selalu berhasil ketika diterapkan pada uji *in vivo*. Uji *in vivo* juga penting dilakukan untuk membuktikan kemanjuran kemoterapi pada sistem biologis. Oleh karena itu, studi literatur ini dilakukan untuk mengkaji penggunaan butionin sulfoksimin dalam meningkatkan efektivitas terapi kanker secara *in vivo* pada berbagai tipe sel kanker.

## METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan metode *Systematic Literature Review*. Pencarian literatur dilakukan pada dua database yaitu *PubMed* dan *Scimedirect*. Pencarian literatur dilakukan pada bulan November dan Desember 2020. Teknik pencarian menggunakan *Boolean searching* dengan operator kata AND dan OR. Pencarian menggunakan kata kunci yang relevan, seperti “cancer”, “cisplatin”, “buthionine sulfoximine”, “glutathione”, “gsh”, “in vivo”, “l-buthionine sulfoximine”, “mice”, “rat”, dan “rats”. Kemudian kata kunci tersebut dikombinasikan dengan operator kata AND atau OR sebagai penghubung (**Tabel 1**).

Tabel 1. Kombinasi kata kunci

Kombinasi kata kunci	PubMed	Sciencedirect
("l-buthionine sulfoximine" OR "buthionine sulfoximine") AND ("cancer") AND ("in vivo")	25 jurnal	252 jurnal
("l-buthionine sulfoximine" OR "buthionine sulfoximine") AND ("cancer") AND ("mice" OR "rats" OR "rat")	31 jurnal	255 jurnal
("buthionine sulfoximine") AND ("cancer") AND ("in vivo")	25 jurnal	264 jurnal
("l-buthionine sulfoximine" OR "buthionine sulfoximine") AND ("cancer") AND ("in vivo") AND ("gsh")	10 jurnal	212 jurnal
("l-buthionine sulfoximine" OR "buthionine sulfoximine") AND ("cancer") AND ("in vivo") AND ("gsh" OR "glutathione")	23 jurnal	243 jurnal
("buthionine sulfoximine") AND ("cisplatin") AND ("mice")	3 jurnal	35 jurnal
Total	117 jurnal	1261 jurnal



Gambar 1. Proses penyeleksian jurnal

Penyeleksian dengan disesuaikan dengan kriteria eksklusi yang telah dibuat. Penyeleksian dilakukan melalui beberapa tahap seperti yang digambarkan pada diagram (**Gambar 1**). Semua jurnal berbahasa Inggris dan dipublikasikan antara tahun 2011-2020. Jurnal mencakup peran glutathione terhadap prognosis dan kunci dari pengobatan penyakit kanker. Semua studi menggunakan butionin sulfoksimin (BS) sebagai agen penghambat GSH. Apabila studi tidak membandingkan penggunaan kombinasi agen kemoterapi+BS dan agen kemoterapi saja secara *in vivo*, maka studi ditolak. Hasil akhir dari pencarian literatur didapatkan 10 jurnal.

kemoterapi golongan *alkylating agent*, satu studi dengan golongan *vinca alkaloid* dan satu studi dengan golongan *EGFR-Tyrosin kinase inhibitor*. Dua studi lainnya menggunakan regimen 5+3 (sitarabin 5 hari dan doksorubisin 3 hari pertama) pada leukemia mielositik akut. Rentang dosis BS yang diberikan pada hewan uji berdasarkan berat badan dari yang paling rendah yaitu 250 mg/kg/hari hingga yang paling tinggi 500 mg/kg/hari (Tagde *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2012). Sementara pada dua studi, BS 20 mM diberikan pada hewan studi dalam bentuk air minum (Habtetsion *et al.*, 2018; Lien *et al.*, 2016).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil penyeleksian jurnal menghasilkan sepuluh jurnal. Enam studi menggunakan

Tabel 2. Hasil analisis dari penggunaan BS pada beberapa sel kanker secara *in vivo*

Tipe sel	Dosis BS pada hewan uji	Agen kemoterapi	Respon terapi	Referensi
Hepatoma 22 (H22)	500 mg/kg i.p	Nedaplatin i.p 25 mg/kg	Pada kelompok kombinasi proliferasi sel berkurang hingga <30 juta, sedangkan pada kelompok nedaplatin tunggal berada pada tingkat sekitar 300 juta sel (P<0,01).	Wang <i>et al.</i> (2012)
Kanker payudara T47D	20 mM p.o selama 7 hari sebelum pemberian cisplatin	Cisplatin 5mg/kg/minggu	Volume tumor relatif pada kombinasi cisplatin & BS lebih kecil dibandingkan cisplatin tunggal (P<0,001).	Lien <i>et al.</i> (2016)
Sel glioma	450 mg/kg i.p 3 hari berturut-turut lalu 1x seminggu selama 2 minggu	Cisplatin 1 mg/kg dan temozolomid 10 mg/kg	Terapi kombinasi BS+cisplatin+temozolomid secara signifikan (P<0,01) mengurangi ukuran volume tumor dibandingkan terapi cisplatin+temozolomid.	Rocha <i>et al.</i> (2014)

Melanoma B16	450mg/kg i.p 3 hari berturut-turut	Temozolomid (TMZ) 30mg/kg 3 hari berturut-turut	Sembilan hari setelah terapi, volume tumor pada TMZ tunggal meningkat 40x lipat dibandingkan terapi TMZ+BS yang meningkat 10x lipat (P<0,001).	Rocha <i>et al.</i> (2016)
Kanker kolorektal CT26	20 mM p.o selama 21 hari dimulai dari pemberian siklofosfamid	Siklofosfamid (CTX) 150 mg/kg	Terapi CTX & BS secara signifikan (P<0,001) mengurangi tumor area (mm <sup>2</sup> ) dibandingkan CTX tunggal ataupun BS tunggal.	Habtetsion <i>et al.</i> (2018)
Mieloma multipel	125 mg/kg 2x sehari i.p hari ke 1, 2 dan 3	Melphalan 10 mg/kg i.v hari ke 2 dan 3	Pengobatan BS+melphalan secara signifikan (P<0.001) lebih meningkatkan median-EFS ( <i>Event Free Survival</i> ) dibandingkan pengobatan melphalan tunggal	Tagde <i>et al.</i> (2014)
Neuroblastoma	500 mg/kg/hari p.o selama 5 hari/minggu	Vinkristin (VCR) 0,2 mg/kg/hari i.p selama 5 hari.	VCR+BS menurunkan persentase tikus yang berada pada fase perkembangan tumor dibandingkan VCR tunggal (P<0,0001)	Carter <i>et al.</i> (2016)
Kanker paru	450 mg/kg i.p	Gefitinib 50 mg/kg.i.p setiap hari	Terapi kombinasi BS dan gefitinib secara signifikan (P<0,001) mengurangi ukuran volume tumor dibandingkan terapi gefitinib saja.	Wang <i>et al.</i> (2019)
Leukemia mielositik akut (AML)	400mg/kg i.p selama 10 hari	Regimen 5+3, sitarabin 100mg/kg/hari selama 5 hari & doksorubisin 3mg/kg/hari selama 3 hari pertama	Efek sinergis BS+kemoterapi standar secara signifikan meningkatkan kelangsungan hidup tikus (P = 0,008)	Forte <i>et al.</i> (2020)
Leukemia mielositik akut (AML)	2,23 mg/kg dua kali sehari, i.p. + 4,45 mg/ml dalam air minum selama 4 hari	Regimen 5+3, sitarabin 100mg/kg/hari selama 5 hari & doksorubisin 3mg/kg/hari selama 3 hari pertama	Pengobatan dengan BS selama 4 hari setelah regimen 5+3 tidak menunjukkan perbedaan pada kurva percent survival dibandingkan terapi dengan regimen 5+3 saja	van Gastel <i>et al.</i> (2020)

## Peran BS Pada Uji Sitotoksik Secara *In Vivo*

Jurnal yang dikaji pada tinjauan ini berjumlah sepuluh jurnal (**Tabel 2**). Pada uji coba *in vivo* dengan kemoterapi golongan agen pengalkilasi, terbukti bahwa penambahan BS dapat meningkatkan efektivitas terapi cisplatin, nedaplatin, temozolomid, siklofosfamid, dan melphalan pada berbagai tipe sel kanker (Habtetsion *et al.*, 2018; Lien *et al.*, 2016; Rocha *et al.*, 2014; Rocha *et al.*, 2016; Tagde *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2012).

Penelitian Wang *et al.* (2012) menunjukkan bahwa nedaplatin dapat menginduksi perubahan morfologi sel kanker H22. Pada penggunaan nedaplatin sebagai monoterapi, volume sel kanker bertambah dan sel mengalami pembesaran. BS terbukti dapat mencegah perubahan morfologi yang disebabkan oleh nedaplatin. Untuk menganalisa efek BS terhadap GSH, dilakukan pengukuran NPFT (*non-protein free thiol*). NPFT dinyatakan sebagai jumlah nmol GSH/juta sel. Secara *in vivo*, kombinasi BS dan nedaplatin terbukti dapat menurunkan kadar NPFT sel kanker dibandingkan penggunaan nedaplatin saja ( $P < 0,001$ ). Selain itu terapi kombinasi juga dapat mencegah proliferasi sel kanker lebih banyak dibandingkan nedaplatin tunggal ( $P < 0,01$ ).

Lien *et al.* (2016) melaporkan adanya penghambatan biosintesis GSH oleh BS yang bersinergi dengan cisplatin dalam menginduksi regresi sel tumor payudara mutan jalur PI3K, baik secara *in vitro* maupun *in vivo*. Pada uji kombinasi terapi secara *in vivo*, digunakan dua jenis sel kanker payudara yaitu T47D dan MDA-MB-231. Pada *xenograft* T47D yang diberi perlakuan kombinasi, terjadi penurunan volume tumor relatif dibandingkan cisplatin tunggal ( $P < 0,001$ ). Volume tumor relatif tidak mengalami penurunan yang signifikan pada *xenograft* MDA-MB-231, diketahui akibat dari kurangnya mutasi jalur PI3K pada sel MDA-MB-231. Hal ini menunjukkan bahwa sel kanker yang bermutasi melalui jalur

PI3K/AKT sensitif terhadap kombinasi BS dan cisplatin.

Rocha *et al.* (2014) melakukan uji kombinasi BS dengan cisplatin (CIS) dan temozolomid (TMZ) secara *in vivo*. Sel glioma U87-Luc diinokulasikan ke dalam tubuh tikus *athymic*. Pada tikus yang diberi perlakuan kombinasi BS+CIS terjadi penurunan kelipatan volume tumor dibandingkan cisplatin tunggal ( $P < 0,01$ ). Begitu juga pada tikus yang diberi perlakuan kombinasi BS+TMZ terjadi penurunan kelipatan volume tumor dibandingkan temozolomid tunggal ( $P < 0,01$ ). Terapi kombinasi BS+CIS+TMZ secara signifikan ( $P < 0,01$ ) mengurangi volume tumor dibandingkan terapi CIS+TMZ. Ketika tiga obat digunakan bersama (BS+CIS+TMZ), persentase kelangsungan hidup hewan uji secara signifikan mengalami peningkatan sekitar tiga kali lipat. Pada hewan uji yang diberi perlakuan kombinasi tiga obat, dilakukan pengujian aktivitas efektor caspase 3/7, yaitu protein yang bertanggung jawab dalam memulai fase degradasi dari apoptosis termasuk fragmentasi DNA, penyusutan sel dan pelepasan membran sel (Brentnall *et al.*, 2013). Pendeteksian apoptosis dilakukan menggunakan reagen Z-DEVD-aminoluciferin. Peningkatan bioluminescence Z-DEVD-aminoluciferin secara signifikan terjadi ( $P < 0,001$ ) dibandingkan kelompok kontrol. Hal ini menunjukkan kombinasi BS+CIS+TMZ dapat mengaktifkan apoptosis sel melalui jalur caspase 3/7.

Selanjutnya, percobaan yang dilakukan Rocha *et al.* (2016) menunjukkan bahwa kombinasi temozolomid dan BS secara signifikan menurunkan volume tumor melanoma B16 ( $P < 0,001$ ) pada hari kesembilan setelah perlakuan dibandingkan temozolomid tunggal. Pada studi ini juga berfokus pada peran NRF2 dalam meregulasi ketersediaan GSH. Penurunan ekspresi NRF2 menyebabkan berkurangnya level GSH secara signifikan pada glioma tikus.

Habtetsion *et al.* (2018) menguji penggunaan kombinasi siklofosfamid dan BS

secara *in vivo* pada kanker kolorektal CT26. Tumor area (mm<sup>2</sup>) secara signifikan berkurang (P<0,001) dibandingkan monoterapi siklofosamid. Pada jurnal juga menjelaskan efek sinergis siklofosamid dengan imunoterapi yang berbasis sel CD4+ T. Peneliti juga menguji efek kombinasi melphalan dan TNF- $\alpha$  yang dapat mereduksi GSH pada sel CT26 secara *in vitro*. Terapi kanker dengan TNF (*tumor necrosis factor*) masih menjadi perdebatan karena TNF selain memiliki efek sitotoksik juga diduga dapat mendorong kelangsungan hidup sel kanker dengan bertindak sebagai *autocrine tumor growth factor* (Tian *et al.*, 2014).

Tagde *et al.* (2014) menjelaskan bahwa BS secara signifikan (P<0,05) menurunkan GSH pada *xenograft* mieloma multipel (MM). Peneliti juga melaporkan bahwa kombinasi BS+melphalan secara signifikan (P<0,001) lebih meningkatkan median-EFS (*Event Free Survival*) dibandingkan melphalan tunggal. EFS hewan uji dihitung sebagai jumlah hari dari dimulainya pengobatan hingga volume tumor mencapai 1500 mm<sup>3</sup> atau saat hewan uji mengalami kematian atau morbiditas yang memerlukan pembunuhan.

Pada penelitian Carter *et al.* (2016) terjadi peningkatan efektivitas terapi vinkristin (golongan *vinca alkaloid*) ketika dikombinasikan dengan BS. Pada percobaan ini menggunakan tikus TH-MYCN, yaitu neuroblastoma tikus yang mengekspresikan gen MYCN (onkogenik) secara berlebihan. Hasil menunjukkan BS hanya memperlambat inisiasi tumor tikus TH-MYCN, namun tidak mencegah perkembangan tumor. Masih belum jelas apakah ada mekanisme tersendiri yang menyebabkan peningkatan efikasi oleh kombinasi vinkristin dan BS. Namun, dijelaskan bahwa resistensi vinkristin diperantarai oleh peningkatan ekspresi MRP1 yang disebabkan gen MYCN (Burkhart *et al.*, 2009; Loe *et al.*, 1996). Induksi gen MYCN dapat meningkatkan protein dan mRNA dari MRP1, mengakibatkan neuroblastoma

manusia menjadi resisten (Manohar *et al.*, 2004).

Wang *et al.* (2019) melaporkan adanya efek sinergis dari gefitinib (golongan EFGR-TKI) dan BS pada pengobatan kanker paru *in vivo*. Penggunaan BS secara signifikan meningkatkan sensitivitas sel kanker yang kebal terhadap gefitinib. Pada uji coba tersebut juga dilaporkan bahwa NAC (N-asetilsistein) dapat menghilangkan efek BS. Akumulasi ROS pada sel kanker diinduksi oleh gefitinib (Okon *et al.*, 2015), namun paparan gefitinib terus-menerus pada sel PC9 dengan dosis subletal (10nM) selama lebih dari tiga bulan menyebabkan sel beradaptasi dan menimbulkan resistensi. Hal ini dikaitkan dengan enzim BCAT1 yang mengatur resistensi gefitinib melalui pembersihan ROS (Wang *et al.*, 2019).

Forte *et al.* (2020) mengaitkan peran BMSCs (*bone marrow mesenchymal stem cells*) dalam peningkatan ketersediaan GSH pada sel leukemia mielostik akut (AML) secara *in vivo*. Kombinasi terapi BS dan regimen 5+3 (sitarabin 5 hari dan doksorubisin 3 hari pertama) menghasilkan efek yang sinergis dan meningkatkan kelangsungan hidup hewan uji. Pada penelitian lain (van Gastel *et al.*, 2020) penambahan BS pada regimen 5+3 tidak menunjukkan adanya perbedaan pada persen kelangsungan hidup yang signifikan, namun BS tetap menurunkan total plasma GSH (p<0,001) pada tikus yang menderita AML. Meskipun pada percobaan menunjukkan peran BMSCs dalam menginduksi efek kemoprotektif GSH, tidak menutup kemungkinan adanya jalur antioksidan lain yang digunakan sel leukemia untuk menyeimbangkan produksi ROS berlebih (Forte *et al.*, 2020).

### **Kemoresistensi Akibat dari Peningkatan GSH**

Peningkatan GSH pada sel kanker dapat terjadi melalui berbagai mekanisme (**Tabel 3**).

Tabel 3. Mekanisme peningkatan GSH pada berbagai sel kanker

Mekanisme	Jenis sel	Referensi
Overekspresi NRF2	U87MG	Rocha <i>et al.</i> (2016)
	U251	Jia <i>et al.</i> (2017)
Mutasi jalur PI3/AKT	T47D	Lien <i>et al.</i> (2016)
Enzim BCAT1 meningkatkan produksi glutamat (prekursor GSH)	PC9	Wang <i>et al.</i> (2019)
	IDH1 mutant HOG	McBrayer <i>et al.</i> (2018)
	Tca8113	Zhang <i>et al.</i> (2016)
Peningkatan ekspresi xCT	A2780DDP	Okuno <i>et al.</i> (2003)

NRF2: *nuclear factor erythroid 2-related 2*; PI3/AKT: *Phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B*; BCAT1: *branched-chain amino acid aminotransferase 1*; xCT: *cystine/glutamate antiporter*; Jenis sel: glioma (U87MG), glioblastoma (U251), breast cancer (T47D), lung cancer (PC9), *isocitrate dehydrogenase 1 oligodendroglioma* (IDH1 mutant HOG), *tongue squamous cell carcinoma* (Tca8113), *human ovarian cisplatin-resistant cancer cell* (A2780DDP)

NRF2 merupakan faktor transkripsi yang berfungsi untuk mengatur respon antioksidan, menjaga homeostasis redoks dalam sel, termasuk metabolisme dan sintesis GSH (Jaramillo dan Zhang, 2013; Ma, 2013). Peningkatan ekspresi NRF2 (*Nuclear factor erythroid 2-related 2*) diketahui menjadi penyebab tingginya produksi GSH pada sel kanker. Hal ini didukung pada uji coba *in vivo*, NRF2 menginduksi sintesis GSH dan menyebabkan resistensi temozolomide pada sel glioma (Rocha *et al.*, 2016). Kekurangan NRF2 menyebabkan peningkatan ROS (*reactive oxygen species*) dan penurunan level GSH pada sel glioblastoma secara *in vitro* (Jia *et al.*, 2017).

*Phosphatidylinositol 3-kinase* (PI3K)/protein kinase B (AKT) adalah salah satu jalur transduksi yang terlibat dalam proliferasi sel, regulasi siklus sel, apoptosis, dan berperan penting dalam perkembangan tumor (Shi *et al.*, 2019). Sementara mutasi dan aktivasi pada jalur PI3K/AKT dikaitkan dengan peningkatan regulasi target NRF2 sehingga merangsang produksi GSH dalam sel kanker payudara (Lien *et al.*, 2016).

BCAT1 (*branched-chain amino acid aminotransferase 1*) merupakan enzim yang mengkatalisis reaksi antara BCAA (*branched-chain amino acid*) dan  $\alpha$ -ketoglutarat

menghasilkan BCKA (*branched chain  $\alpha$ -ketoacid*) dan glutamat (Selwan dan Edinger, 2017; Suh *et al.*, 2019). Glutamat diperlukan untuk sintesis GSH, berkontribusi pada pemeliharaan homeostasis redoks (McBrayer *et al.*, 2018). Pada kanker paru, peredaman ekspresi BCAT1 dapat menurunkan konsentrasi GSH dan mendorong akumulasi ROS (Wang *et al.*, 2019).

Peningkatan ekspresi xCT telah dilaporkan terjadi pada kanker paru, kanker kolon dan kanker CNS (Huang *et al.*, 2005). Penghambatan xCT menyebabkan penurunan glutation intraseluler pada kanker karsinoma lidah (Zhang *et al.*, 2016). Peningkatan GSH terjadi pada kanker ovarium yang resisten terhadap cisplatin dan mengekspresikan xCT secara berlebihan (Okuno *et al.*, 2003).

MRP1 (*multidrug resistance-associated protein 1*) adalah protein transpor yang mengangkut beragam substrat, termasuk GSH, GSSG, dan GSH yang terkonjugasi dengan kemoterapi (Cole dan Deeley, 2006). Pengangkutan doxorubicin dan vinkristin dimediasi oleh MRP1 bergantung pada GSH yang mungkin dipengaruhi oleh kumpulan GSH intraseluler atau aktivitas GST (Deeley *et al.*, 2006; Rocha, G. *et al.*, 2014; Sau *et al.*, 2010). Pada penelitian Marchan *et al.* (2008) teramati bahwa sel HEK293 yang



mengkespresikan MRP1 berlebihan, selama berlangsungnya peningkatan efluks GSH, ternyata konsentrasi GSH intraseluler tetap sama dan tidak berkurang. Hal ini membuktikan kemungkinan adanya peningkatan sintesis GSH oleh sel. Lebih lanjut, peredaman MRP1 tidak mempengaruhi induksi apoptosis dan deplesi GSH pada sel limfoma (Franco *et al.*, 2014).

### Mekanisme Agen Penghambat GSH

Selain BS juga dikenal agen penghambat GSH lain yang mempunyai mekanisme yang berbeda-beda dalam menghambat GSH (Tabel 4). BS merupakan penghambat GSH populer digunakan pada terapi kanker yang bekerja dengan menghambat enzim GCL (Desideri *et al.*, 2019). BS telah melewati uji klinis fase satu dengan mengkombinasikannya bersama melphalan menghasilkan efek yang dapat ditoleransi oleh pasien kanker neuroblastoma (Villablanca *et al.*, 2016).

Tabel 4. Mekanisme agen penghambat GSH

Agen penghambat	Mekanisme	Referensi
BS	Penghambat enzim GCL	Desideri <i>et al.</i> (2019)
DEM	Membentuk kompleks dengan GSH	Markovic <i>et al.</i> (2009)
Erastin	Inhibitor xCT	Sato <i>et al.</i> (2018)
Sulfalazin	Inhibitor xCT	
BPTES	Menghambat enzim glutaminase	Gross <i>et al.</i> (2014)
CB-839	Menghambat enzim glutaminase	
Ezatiostat	Menghambat enzim GST	Raza <i>et al.</i> (2012)

BS: *buthionine sulfoximine*; DEM: *diethylmaleate*; BPTES: *bis-2-(5-phenylacetamido-1,3,4-thiadiazol-2-yl)ethyl sulfide*; GCL: *γ-glutamyl-cysteine ligase*; xCT: *cystine/glutamate antiporter*; GST: *glutathione S-transferases*

Konsentrasi GSH nuklear mengalami penurunan akibat pembentukan kompleks/konjugat antara DEM dan GSH, sehingga dapat mengganggu proliferasi sel (Markovic *et al.*, 2009; Mirkovic *et al.*, 1997). Pada konsentrasi yang sama, DEM menurunkan GSH lebih cepat dibandingkan BS, namun penurunan GSH lebih banyak terjadi pada sel tumor MA-10 Leydig yang diberi perlakuan BS (Chen *et al.*, 2010). Hal yang sama juga terjadi pada sel kortikal yang diberi paparan DEM atau BS. Pada sel yang diberi paparan DEM, GSH menurun lebih cepat dan terjadi peningkatan GSH kembali setelah 24 jam (Albano *et al.*, 2015).

Erastin dan sulfalazin menghambat aktivitas dari xCT, subunit penyusun sistem  $x_c^-$  yang mengangkut *cystin* ke dalam sel dan

mereduksinya menjadi *cystein* (prekursor GSH) (Desideri *et al.*, 2019; Forman *et al.*, 2009; Sato *et al.*, 2018). Erastin secara selektif menghambat sistem  $x_c^-$  dan afinitasnya terhadap xCT lebih tinggi dari agen yang lainnya (Sato *et al.*, 2018). *In vivo*, erastin tidak menginduksi toksisitas dan perubahan berat badan yang signifikan pada tikus yang menderita kanker kolorektal (HT-29) dan hepatoma (SMMC-7721) (Huo *et al.*, 2016; Tang *et al.*, 2020). Akhir-akhir ini, penelitian tentang erastin dalam meningkatkan sensitivitas cisplatin terhadap kanker paru NSCLC telah dilakukan. Sel yang mempunyai karakteristik kebal terhadap cisplatin (N5CP) diinjeksikan ke tubuh hewan uji. Masing-masing dosis kecil erastin ataupun cisplatin tidak mempengaruhi pertumbuhan tumor.

Namun, penggunaan kombinasi erastin dan cisplatin secara signifikan mengurangi berat tumor dibandingkan cisplatin saja ( $P < 0,05$ ) (Li *et al.*, 2020). Sementara itu, uji klinik fase 1/2 sulfalazin pada pasien glioma dihentikan karena meningkatnya toksisitas dan *outcome* yang sulit ditentukan (Robe *et al.*, 2009).

BPTES dikenal sebagai penghambat enzim glutaminase yang mengubah glutamin menjadi glutamat. Namun, BPTES mempunyai stabilitas dan kelarutan yang buruk sehingga sulit untuk mengembangkannya secara klinis. Oleh karena itu, telah dikarakterisasi penghambat glutaminase yang lebih poten dan selektif, yaitu CB-839 (Gross *et al.*, 2014). Uji *in vitro* dan *in vivo* CB-839 yang dilakukan oleh Gross *et al.* (2014) menunjukkan adanya aktivitas antitumor pada kanker payudara. Ezatiostat (EZA) merupakan penghambat enzim GST (Raza *et al.*, 2012). Ezatiostat diketahui dapat meningkatkan sensitivitas sel melanoma dan

glioma terhadap temozolomid secara *in vitro* (Rocha *et al.*, 2016).

## KESIMPULAN

Berbagai studi melibatkan butionin sulfoksimin (BS) yang merupakan penghambat enzim GCL telah banyak dilakukan. Penghambatan enzim GCL menyebabkan sintesis GSH terganggu sehingga konsentrasi GSH dalam sel menurun. Secara *in vivo*, kombinasi BS dan agen kemoterapi golongan pengalkilasi, vinkristin, gefitinib, dan sitarabin+doksorubisin dapat menurunkan volume tumor, proliferasi sel kanker dan juga dapat meningkatkan kelangsungan hidup pada hewan uji. Akan tetapi, penelitian lebih lanjut masih diperlukan untuk menguji keamanan penggunaan kombinasi BS dan agen kemoterapi. Uji klinis yang menggunakan BS masih terbatas dan pengkombinasannya dengan agen kemoterapi lain pada pasien kanker juga harus dilakukan dengan hati-hati.

## Daftar Pustaka (References)

- Albano, R., Raddatz, N. J., Hjelmhaug, J., Baker, D. A., & Lobner, D., 2015, Regulation of system xc- by pharmacological manipulation of cellular thiols, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015.
- Bansal, A., & Celeste Simon, M., 2018, Glutathione metabolism in cancer progression and treatment resistance, *Journal of Cell Biology*, 217(7), 2291–2298.
- Brentnall, M., Rodriguez-Menocal, L., De Guevara, R. L., Cepero, E., & Boise, L. H., 2013, Caspase-9, caspase-3 and caspase-7 have distinct roles during intrinsic apoptosis. *BMC cell biology*, 14, 32.
- Burkhart, C. A., Watt, F., Murray, J., Pajic, M., Prokvolit, A., Xue, C., Flemming, C., Smith, J., Purmal, A., Isachenko, N., Komarov, P. G., Gurova, K. V., Sartorelli, A. C., Marshall, G. M., Norris, M. D., Gudkov, A. V., & Haber, M., 2009, Small-molecule multidrug resistance-associated protein 1 inhibitor reverses increases the therapeutic index of chemotherapy in mouse models of neuroblastoma, *Cancer Research*, 69(16), 6573–6580.
- Carter, D. R., Sutton, S. K., Pajic, M., Murray, J., Sekyere, E. O., Fletcher, J., Beckers, A., De Preter, K., Speleman, F., George, R. E., Haber, M., Norris, M. D., Cheung, B. B., & Marshall, G. M., 2016, Glutathione biosynthesis is upregulated at the initiation of MYCN-driven neuroblastoma tumorigenesis, *Molecular Oncology*, 10(6), 866–878.
- Chen, H., Zhou, L., Lin, C. Y., Beattie, M. C., Liu, J., & Zirkin, B. R., 2010, Effect of

- glutathione redox state on Leydig cell susceptibility to acute oxidative stress, *Molecular and Cellular Endocrinology*, 323(2), 147–154.
- Chio, I. I. C., & Tuveson, D. A., 2017, ROS in Cancer: The Burning Question, *Trends in Molecular Medicine* (Vol. 23, Issue 5, pp. 411–429). Elsevier Ltd.
- Cole, S. P. C., & Deeley, R. G., 2006, Transport of glutathione and glutathione conjugates by MRP1, *Trends in Pharmacological Sciences* (Vol. 27, Issue 8, pp. 438–446). Elsevier.
- Cooper, A. J. L., & Hanigan, M. H., 2018, Metabolism of Glutathione S-Conjugates: Multiple Pathways, *Comprehensive Toxicology: Third Edition* (Vols. 10–15, pp. 363–406). Elsevier Inc.
- Deeley, R. G., Westlake, C., & Cole, S. P. C., 2006, Transmembrane Transport of Endo- and Xenobiotics by Mammalian ATP-Binding Cassette Multidrug Resistance Proteins, *Physiological Reviews*, 86(3), 849–899.
- Desideri, E., Ciccarone, F., & Ciriolo, M. R., 2019, Targeting glutathione metabolism: Partner in crime in anticancer therapy, *Nutrients* (Vol. 11, Issue 8). MDPI AG.
- Espinosa-Diez, C., Miguel, V., Mennerich, D., Kietzmann, T., Sánchez-Pérez, P., Cadenas, S., & Lamas, S., 2015, Antioxidant responses and cellular adjustments to oxidative stress, *Redox biology*, 6, 183–197.
- Forman, H. J., Zhang, H., & Rinna, A., 2009, Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis, *Molecular Aspects of Medicine* (Vol. 30, Issues 1–2, pp. 1–12). NIH Public Access.
- Forte, D., García-Fernández, M., Sánchez-Aguilera, A., Stavropoulou, V., Fielding, C., Martín-Pérez, D., López, J. A., Costa, A. S. H., Tronci, L., Nikitopoulou, E., Barber, M., Gallipoli, P., Marando, L., Fernández de Castillejo, C. L., Tzankov, A., Dietmann, S., Cavo, M., Catani, L., Curti, A., ... Méndez-Ferrer, S., 2020, Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Support Acute Myeloid Leukemia Bioenergetics and Enhance Antioxidant Defense and Escape from Chemotherapy, *Cell Metabolism*.
- Franco, R., Bortner, C. D., Schmitz, I., & Cidlowski, J. A., 2014, Glutathione depletion regulates both extrinsic and intrinsic apoptotic signaling cascades independent from multidrug resistance protein 1, *Apoptosis*, 19(1), 117–134.
- Gross, M. I., Demo, S. D., Dennison, J. B., Chen, L., Chernov-Rogan, T., Goyal, B., Janes, J. R., Laidig, G. J., Lewis, E. R., Li, J., Mackinnon, A. L., Parlati, F., Rodriguez, M. L., Shwonek, P. J., Sjogren, E. B., Stanton, T. F., Wang, T., Yang, J., Zhao, F., & Bennett, M. K., 2014, Antitumor activity of the glutaminase inhibitor CB-839 in triple-negative breast cancer, *Molecular cancer therapeutics*, 13(4), 890–901.
- Habtetsion, T., Ding, Z. C., Pi, W., Li, T., Lu, C., Chen, T., Xi, C., Spartz, H., Liu, K., Hao, Z., Mivechi, N., Huo, Y., Blazar, B. R., Munn, D. H., & Zhou, G., 2018, Alteration of Tumor Metabolism by CD4+ T Cells Leads to TNF- $\alpha$ -Dependent Intensification of Oxidative Stress and Tumor Cell Death, *Cell Metabolism*, 28(2), 228-242.e6.
- Harris, I. S., Treloar, A. E., Inoue, S., Sasaki, M., Gorrini, C., Lee, K. C., Yung, K. Y., Brenner, D., Knobbe-Thomsen, C. B., Cox, M. A., Elia, A., Berger, T., Cescon, D. W., Adeoye, A., Brüstle, A., Molyneux, S. D., Mason, J. M., Li, W. Y., Yamamoto, K., ... Mak, T. W., 2015, Glutathione and Thioredoxin Antioxidant Pathways Synergize to Drive Cancer Initiation and Progression, *Cancer Cell*, 27(2), 211–222.

- Huang, Z.-Z., Chen, C., Zeng, Z., Yang, H., Oh, J., Chen, L., & C. Lu, S., 2001, Mechanism and significance of increased glutathione level in human hepatocellular carcinoma and liver regeneration, *The FASEB Journal*, 15(1), 19–21.
- Huang, Y., Dai, Z., Barbacioru, C., & Sadée, W., 2005, Cystine-Glutamate Transporter &lt;em>&lt;/em>SLC7A11&lt;/em> in Cancer Chemosensitivity and Chemoresistance, *Cancer Research*, 65(16), 7446 LP – 7454.
- Huo, H., Zhou, Z., Qin, J., Liu, W., Wang, B., & Gu, Y., 2016, Erastin disrupts mitochondrial permeability transition pore (mPTP) and induces apoptotic death of colorectal cancer cells, *PLoS ONE*, 11(5).
- Issa, F., Ioppolo, J. A., & Rendina, L. M., 2013, 3.30 - Boron and Gadolinium Neutron Capture Therapy (J. Reedijk & K. B. T.-C. I. C. I. I. (Second E. Poepelmeier (eds.); pp. 877–900). Elsevier.
- Jaramillo, M. C., & Zhang, D. D., 2013, The emerging role of the Nrf2-Keap1 signaling pathway in cancer, *Genes and Development* (Vol. 27, Issue 20, pp. 2179–2191). Cold Spring Harbor Laboratory Press.
- Jia, Y., Wang, H. D., Wang, Q., Ding, H., Wu, H. M., & Pan, H., 2017, GSH depletion and consequent AKT inhibition contribute to the Nrf2 knockdown-induced decrease in proliferation in glioblastoma U251 cells, *Oncology Reports*, 37(4), 2252–2260.
- Kim, S. J., Kim, H. S., & Seo, Y. R., 2019, Understanding of ROS-Inducing Strategy in Anticancer Therapy, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* (Vol. 2019). Hindawi Limited.
- Kotamraju, S., Chitambar, C. R., Kalivendi, S. V., Joseph, J., & Kalyanaraman, B., 2002). Transferrin receptor-dependent iron uptake is responsible for doxorubicin-mediated apoptosis in endothelial cells. Role of oxidant-induced iron signaling in apoptosis, *Journal of Biological Chemistry*, 277(19), 17179–17187.
- Lan, D., Wang, L., He, R., Ma, J., Bin, Y., Chi, X., Chen, G., & Cai, Z., 2018, Exogenous glutathione contributes to cisplatin resistance in lung cancer A549 cells, *American Journal of Translational Research*, 10(5), 1295–1309.
- Li, Y., Yan, H., Xu, X., Liu, H., Wu, C., & Zhao, L., 2020, Erastin/sorafenib induces cisplatin-resistant non-small cell lung cancer cell ferroptosis through inhibition of the Nrf2/xCT pathway, *Oncology Letters*, 19(1), 323–333.
- Lien, E. C., Lyssiotis, C. A., Juvekar, A., Hu, H., Asara, J. M., Cantley, L. C., & Toker, A., 2016, Glutathione biosynthesis is a metabolic vulnerability in PI(3)K/Akt-driven breast cancer, *Nature Cell Biology*, 18(5), 572–578.
- Loe, D. W., Almquist, K. C., Deeley, R. G., & Cole, S. P. C., 1996, Multidrug resistance protein (MRP)-mediated transport of leukotriene C4 and chemotherapeutic agents in membrane vesicles: Demonstration of glutathione-dependent vincristine transport, *Journal of Biological Chemistry*, 271(16), 9675–9682.
- Ma, Q., 2013, Role of Nrf2 in Oxidative Stress and Toxicity, *Annual Review of Pharmacology and Toxicology*, 53(1), 401–426.
- Manohar, C. F., Bray, J. A., Salwen, H. R., Madafiglio, J., Cheng, A., Flemming, C., Marshall, G. M., Norris, M. D., Haber, M., & Cohn, S. L., 2004, MYCN-mediated regulation of the

- MRP1 promoter in human neuroblastoma, *Oncogene*, 23(3), 753–762.
- Marchan, R., Hammond, C. L., & Ballatori, N., 2008, Multidrug resistance-associated protein 1 as a major mediator of basal and apoptotic glutathione release, *Biochimica et Biophysica Acta - Biomembranes*, 1778(10), 2413–2420.
- Markovic, J., Mora, N. J., Broseta, A. M., Gimeno, A., de-la-Concepción, N., Viña, J., & Pallardó, F. V., 2009, The Depletion of Nuclear Glutathione Impairs Cell Proliferation in 3t3 Fibroblasts, *PLoS ONE*, 4(7), e6413.
- Marullo, R., Werner, E., Degtyareva, N., Moore, B., Altavilla, G., Ramalingam, S. S., & Doetsch, P. W., 2013, Cisplatin Induces a Mitochondrial-ROS Response That Contributes to Cytotoxicity Depending on Mitochondrial Redox Status and Bioenergetic Functions, *PLoS ONE*, 8(11), e81162.
- McBrayer, S. K., Mayers, J. R., DiNatale, G. J., Shi, D. D., Khanal, J., Chakraborty, A. A., Sarosiek, K. A., Briggs, K. J., Robbins, A. K., Sewastianik, T., Shareef, S. J., Olenchock, B. A., Parker, S. J., Tateishi, K., Spinelli, J. B., Islam, M., Haigis, M. C., Looper, R. E., Ligon, K. L., ... Kaelin, W. G., 2018, Transaminase Inhibition by 2- Hydroxyglutarate Impairs Glutamate Biosynthesis and Redox Homeostasis in Glioma, *Cell*, 175(1), 101--116.e25.
- Meister, A., & Anderson, M. E., 1983, Glutathione, *Annual Review of Biochemistry*, 52(1), 711–760.
- Mirkovic, N., Voehringer, D. W., Story, M. D., McConkey, D. J., McDonnell, T. J., & Meyn, R. E., 1997, Resistance to radiation-induced apoptosis in Bcl-2-expressing cells is reversed by depleting cellular thiols, *Oncogene*, 15(12), 1461–1470.
- Okon, I. S., Coughlan, K. A., Zhang, M., Wang, Q., & Zou, M. H., 2015, Gefitinib-mediated reactive oxygen specie (ROS) instigates mitochondrial dysfunction and drug resistance in lung cancer cells, *Journal of Biological Chemistry*, 290(14), 9101–9110.
- Okuno, S., Sato, H., Kuriyama-Matsumura, K., Tamba, M., Wang, H., Sohda, S., Hamada, H., Yoshikawa, H., Kondo, T., & Bannai, S., 2003, Role of cystine transport in intracellular glutathione level and cisplatin resistance in human ovarian cancer cell lines, *British journal of cancer*, 88(6), 951–956.
- Piskounova, E., Agathocleous, M., Murphy, M. M., Hu, Z., Huddlestun, S. E., Zhao, Z., Leitch, A. M., Johnson, T. M., DeBerardinis, R. J., & Morrison, S. J., 2015, Oxidative stress inhibits distant metastasis by human melanoma cells, *Nature*, 527(7577), 186–191.
- Pizzorno, J., 2014, Glutathione! *Integrative Medicine (Encinitas, Calif.)*, 13(1), 8–12.
- Raza, A., Galili, N., Mulford, D., Smith, S. E., Brown, G. L., Steensma, D. P., Lyons, R. M., Boccia, R., Sekeres, M. A., Garcia-Manero, G., & Mesa, R. A., 2012, Phase 1 dose-ranging study of ezatiostat hydrochloride in combination with lenalidomide in patients with non-deletion (5q) low to intermediate-1 risk myelodysplastic syndrome (MDS), *Journal of hematology & oncology*, 5, 18.
- Robe, P. A., Martin, D. H., Nguyen-Khac, M. T., Artesi, M., Deprez, M., Albert, A., Vanbelle, S., Califice, S., Bredel, M., & Bours, V., 2009, Early termination of ISRCTN45828668, a phase 1/2 prospective, randomized study of sulfasalazine for the treatment of progressing malignant gliomas in adults, *BMC Cancer*, 9, 372.

- Rocha, C R R, Garcia, C. C. M., Vieira, D. B., Quinet, A., de Andrade-Lima, L. C., Munford, V., Belizário, J. E., & Menck, C. F. M., 2014, Glutathione depletion sensitizes cisplatin- and temozolomide-resistant glioma cells in vitro and in vivo, *Cell Death & Disease*, 5(10), e1505–e1505.
- Rocha, Clarissa Ribeiro Reily, Kajitani, G. S., Quinet, A., Fortunato, R. S., & Menck, C. F. M., 2016, NRF2 and glutathione are key resistance mediators to temozolomide in glioma and melanoma cells, *Oncotarget*, 7(30), 48081–48092.
- Rocha, G. da G., Oliveira, R. R., Kaplan, M. A. C., & Gattass, C. R., 2014, 3 $\beta$ -Acetyl tormentic acid reverts MRP1/ABCC1 mediated cancer resistance through modulation of intracellular levels of GSH and inhibition of GST activity, *European Journal of Pharmacology*, 741, 140–149.
- Sato, M., Kusumi, R., Hamashima, S., Kobayashi, S., Sasaki, S., Komiyama, Y., Izumikawa, T., Conrad, M., Bannai, S., & Sato, H., 2018, The ferroptosis inducer erastin irreversibly inhibits system xc- and synergizes with cisplatin to increase cisplatin's cytotoxicity in cancer cells, *Scientific Reports*, 8(1).
- Sau, A., Pellizzari Tregno, F., Valentino, F., Federici, G., & Caccuri, A. M., 2010, Glutathione transferases and development of new principles to overcome drug resistance, *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 500(2), 116–122.
- Selwan, E. M., & Edinger, A. L., 2017, Branched chain amino acid metabolism and cancer: the importance of keeping things in context, *Translational Cancer Research*, 6(3).
- Shi, X., Wang, J., Lei, Y., Cong, C., Tan, D., & Zhou, X., 2019, Research progress on the PI3K/AKT signaling pathway in gynecological cancer (Review), *Molecular Medicine Reports*, 19(6), 4529–4535.
- Suh, E. H., Hackett, E. P., Wynn, R. M., Chuang, D. T., Zhang, B., Luo, W., Sherry, A. D., & Park, J. M., 2019, In vivo assessment of increased oxidation of branched-chain amino acids in glioblastoma, *Scientific Reports*, 9(1), 1–9.
- Tagde, A., Singh, H., Kang, M. H., & Reynolds, C. P., 2014, The glutathione synthesis inhibitor buthionine sulfoximine synergistically enhanced melphalan activity against preclinical models of multiple myeloma, *Blood Cancer Journal*, 4(7).
- Tang, B., Zhu, J., Li, J., Fan, K., Gao, Y., Cheng, S., Kong, C., Zheng, L., Wu, F., Weng, Q., Lu, C., & Ji, J., 2020, The ferroptosis and iron-metabolism signature robustly predicts clinical diagnosis, prognosis and immune microenvironment for hepatocellular carcinoma, *Cell Communication and Signaling*, 18(1).
- Tian, T., Wang, M., & Ma, D., 2014, TNF- $\alpha$ , a good or bad factor in hematological diseases?, *Stem cell investigation*, 1, 12.
- Traverso, N., Ricciarelli, R., Nitti, M., Marengo, B., Furfaro, A. L., Pronzato, M. A., Marinari, U. M., & Domenicotti, C., 2013, Role of glutathione in cancer progression and chemoresistance, *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*.
- van Gastel, N., Spinelli, J. B., Sharda, A., Schajnovitz, A., Baryawno, N., Rhee, C., Oki, T., Grace, E., Soled, H. J., Milosevic, J., Sykes, D. B., Hsu, P. P., Vander Heiden, M. G., Vidoudez, C., Trauger, S. A., Haigis, M. C., & Scadden, D. T., 2020, Induction of a Timed Metabolic Collapse to Overcome Cancer Chemoresistance, *Cell Metabolism*, 32(3), 391–403.e6.

- Villablanca, J. G., Volchenbom, S. L., Cho, H., Kang, M. H., Cohn, S. L., Anderson, C. P., Marachelian, A., Groshen, S., Tsao-Wei, D., Matthay, K. K., Maris, J. M., Hasenauer, C. E., Czarnecki, S., Lai, H., Goodarzian, F., Shimada, H., & Reynolds, C. P., 2016, A Phase I New Approaches to Neuroblastoma Therapy Study of Buthionine Sulfoximine and Melphalan With Autologous Stem Cells for Recurrent/Refractory High-Risk Neuroblastoma, *Pediatric Blood and Cancer*, 63(8), 1349–1356.
- Wang, Yijun, Lu, H., Wang, D., Li, S., Sun, K., Wan, X., Taylor, E. W., & Zhang, J., 2012, Inhibition of glutathione synthesis eliminates the adaptive response of ascitic hepatoma 22 cells to nedaplatin that targets thioredoxin reductase, *Toxicology and Applied Pharmacology*, 265(3), 342–350.
- Wang, Yuetong, Zhang, J., Ren, S., Sun, D., Huang, H. Y., Wang, H., Jin, Y., Li, F., Zheng, C., Yang, L., Deng, L., Jiang, Z., Jiang, T., Han, X., Hou, S., Guo, C., Li, F., Gao, D., Qin, J., ... Ji, H., 2019, Branched-Chain Amino Acid Metabolic Reprogramming Orchestrates Drug Resistance to EGFR Tyrosine Kinase Inhibitors, *Cell Reports*, 28(2), 512–525.e6.
- Zhang, P., Wang, W., Wei, Z., Xu, L. I., Yang, X., & DU, Y., 2016., xCT expression modulates cisplatin resistance in Tca8113 tongue carcinoma cells, *Oncology letters*, 12(1), 307–314.