

Kanserde İlaç Direncinin Üstesinden Gelmenin Yolları: Yeni İlaçların Tasarımı

Ways for Overcoming Drug Resistance in Cancer: Designing New Drugs: Invited Commentary

Dr. Yasemin AKSOY^a

^aTıbbi Biyokimya AD,
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Ankara

Geliş Tarihi/Received: 21.10.2010
Kabul Tarihi/Accepted: 06.12.2010

Yazışma Adresi/Correspondence:
Dr. Yasemin AKSOY
Hacettepe Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyokimya AD, Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
yaseminb@hacettepe.edu.tr

ÖZET Kanser tedavisinde karşılaşılan ilaç direnci başarıyı engelleyen nedenlerden biridir. Bu nedenle mevcut ilaçların etkinliğini artırmak ya da yeni ilaçların tasarlanması yoluna gidilmektedir. Tümör hücrelerinde ilaç direncinin gelişmesinden iki mekanizma sorumlu tutulmaktadır. Bunlardan biri hücre dışına atılımı sağlayan proteinler “effluks transporter proteins” ve Faz II konjugasyon enzimleri arasındaki etkileşimdir. Özellikle glutatyon S-transferaz enziminin ve “effluks” pompalarının tümör hücrelerinde aşırı eksprese oldukları vurgulanmakta ve buna bağlı olarak da antikanser ilaçların reaktivitesinin azaldığı bildirilmektedir. Son yıllarda önem kazanan diğer mekanizma ise glutatyon S-transferazın programlı hücre ölümünde rol oynayan sinyal proteinlerinin kontrolünde rol oynadıklarının gösterilmesidir. Birçok kanser türünde, hücreye kemoterapötiklerin girişiyle birlikte glutatyon S-transferaz enziminin düzeyinde aşırı artış olduğu gözlenmektedir. Enzimin aşırı ifade edilmesiyle birlikte apoptozunda kesintiye uğradığı vurgulanmaktadır. Apoptotik sıklısta sinyal iletiminde sorumlu olan bazı proteinlerin glutatyon S-transferaz tarafından baskılandığı ve buna bağlı kanserli hücrenin yaşamına devam ettiği ortaya konmuştur. Sinyal iletiminde görevli proteinlerden olan c-jun NH2-terminal kinaz (JNK) ile enzimin oluşturduğu kompleksin ortadan kaldırılmasına ihtiyaç vardır. Bu nedenle son zamanlarda glutatyon S-transferaz enzimi anti-kanser ajanların etkinliğini artırmada farmasötik araştırmaların odağı haline gelmiş ve farklı özelliklere sahip inhibitörler üretilmeye başlanmıştır. Araştırmalar in vitro ve in vivo olarak sürdürülmektedir. Bugüne kadar birçok kanser türünde yapılan çalışma sonuçları ilaç direncini ortadan kaldırma ümit vericidir. Bu derleme tümör hücrelerinin apoptotik yola girmelerini, dolayısıyla ilaç direncini kırmalarını sağlamak amacıyla üretilen glutatyon S-transferaz inhibitörleri ve etki mekanizmaları hakkında genel bir bilgi vermeyi amaçlamaktadır. Edinilen bilgiler ışığında glutatyon S-transferaz kanser tedavisinde özgün ilaç tasarımında yeni hedef olarak gözükmektedir.

Anahtar Kelimeler: İlaç direnci, çoklu; glutatyon S-transferaz pi; enzim inhibitörleri

ABSTRACT Drug resistance in cancer treatment is one of the causes hindering success. Thus increasing the effectiveness of current drugs or designing new drugs are being tried. Two mechanisms are hold to account for drug resistance in tumor cells. One of these is the interaction between efflux transporter protein and Phase II conjugation enzymes. It is especially emphasized that glutathion S-transferase enzyme and efflux pumps are overexpressed in tumor cells and thereby reactivity of anticancer dugs are reported to decrease. Another mechanism that have gained importance in recent years is exhibition of glutathion S-transferases' playing role in control of signal proteins taking part in programmed cell death. In many cancer types, level of glutathion S-transferase is observed to increase with entry of chemotherapeutics into the cell. Apoptosis is emphasized to interrupt with overexpression of the enzyme. It was put forward that some proteins that are responsible for signal transmission in apoptotic cycle have been repressed by glutathion S-transferase and accordingly cancer cell survived. The complex generated by the enzyme needs to be cleared away by c-jun NH2-terminal kinase (JNK) that is one of the proteins taking part in signal transmission. Thus glutathion S-transferase enzyme have been the focus of pharmaceutical researches for increasing the effectiveness of anti-cancer drugs recently and inhibitors with distinct properties have begun to be produced. Researches are maintained in vivo and in vitro. Outcomes of studies conducted for many cancer types are encouraging for abolishing drug resistance. This review aims to provide a general information about GST inhibitors produced for providing the tumor cells' to enter apoptotic pathway and consequently for breaking drug resistance and their mechanisms of action. In the light of obtained data, GST seems to be the new target in designing original drugs for cancer treatment.

Key Words: Drug resistance, multiple; glutathione S-transferase pi; enzyme inhibitors

Kemoterapi, kanser tedavisinde uygulanan en yaygın ve etkili yöntemdir. Ancak gerek tedavi süresince gerekse tedavi sonrasında hastalığın iyileşme sürecinde olumlu yanıt alınmaması önemli bir sorun olarak karşımıza çıkmaktadır. Kanser tedavisinde başarıya ulaşmak için genellikle birden fazla anti-kanser ilaç uygulamasına gidilmekte, ancak sonradan kazanılan ya da tedavi öncesi kişide var olan ilaç direnci, kemoterapide başarıya ulaşmayı büyük ölçüde engellemektedir. Bu duruma çoklu ilaç direnci [multiple drug resistance (MDR)] denilmektedir. İlaç dozları artırıldığı zaman ise hastalarda yan etkiler açığa çıkmakta ve tedavi giderek zorlaşmaktadır.¹ Tedavinin etkinliğini artırmak ve ilaç direncini ortadan kaldırmak için birçok çalışma yapılmaktadır. Bu amaçla yapılan çalışmalar içerisinde son yıllarda glutatyon S-transferaz (GST) enzimi oldukça önem kazanmıştır.

GLUTATYON S-TRANSFERAZ

Glutatyon S-transferazlar (GSTs) endojen ve ekzojen kaynaklı ksenobiyotik bileşiklerin detoksifikasyonunu sağlayan Faz II enzim ailesidir. Glutatyon (GSH) transferaz aktivitesi gösteren bu enzimler sitozolik, mitokondriyal ve mikrozomal (membran bağlı-MAPEG) olmak üzere üç gruptan oluşmaktadır. Sitozolik GSTs aminoasit dizi benzerlikleri, substrat spesifisiteleri, immünolojik reaktivitelerine bağlı olarak günümüze kadar 7 sınıf (alfa, mü, omega, pi, sigma, teta, zeta) olarak tanımlanmıştır.^{2,3}

GSTs'nin birçoğu yüksek oranda polimorfizm göstermekte ve çeşitli alt birimler içermektedir. Her bir alt birim (199-244 aminoasit, 22-29 kDa) katalitik olarak bağımsız iki farklı fonksiyonel bölgeden oluşmaktadır. Bu fonksiyonel bölgeler fizyolojik substratı olan redükte glutatyon GSH'yi bağlayan hidrofilik G-bölgesi ve hidrofobik substratları bağlayan H bölgesidir. GST izozimleri hidrofobik H bölgesindeki aminoasit kompozisyonundaki farklılıklar nedeni ile substrat çeşitliliği (katekolaminler, prostaglandinler, lipid peroksidasyon ürünleri, aromatik hidrokarbonlar, epoksitler, kemoterapötik ajanlar) kazanmaktadır. Özellikle kanser tedavisinde sıklıkla kullanıldığı bilinen

alkilleyici ajanların birçoğunun GSTs'nin substratları olduğu bilinmektedir.⁴

GLUTATYON S-TRANSFERAZ VE İLAÇ DİRENCİ

Sitotoksik ajanlara karşı kanser hücrelerinin direnç geliştirmesinde çeşitli mekanizmalar söz konusudur. Bunlar içerisinde hücre siklusu, proliferasyon, detoksifikasyon, ilaç transportu (inflüks, eflüks, retransiyon) gibi biyokimyasal mekanizmalar ve DNA replikasyonu ve tamiri gibi mekanizmalar rol oynamaktadır. Antikanser ilaçlara direnç gelişiminde olası mekanizmaları sıralamak mümkündür,⁵

1. Azalmış hücre içi ilaç düzeyi;

a. Hücre yüzeyinde reseptör veya taşıyıcı kaybı: İlacın hücre içine girişinde azalma,

b. İlacın hücre dışına atılmalarını sağlayan taşıyıcıların aşırı ekspresyonu: İlacın hücre içinde tutulmasında azalma.

2. Apoptotik ve antiapoptotik genlerin ekspresyon düzeylerindeki değişim,

3. Hücresel hedeflerdeki değişiklikler, örneğin; Topoizomeraz II inhibitörlerine (doksorubisin, etoposid, daunorubisin) duyarlılığın azalması,

4. İlacın biyoaktivasyonunda azalma,

5. İlaçla oluşan hasarın iyileşmesinde toleransın gelişmesi, örneğin; alkilleyici ajanlar ile indüklenen DNA hasarı tamirinde artış,

6. Hücresel ilaç detoksifikasyonundaki artış, örneğin; hücre içi GSH ve GST düzeylerinde artış.

GST'nin ilaç direnci üzerindeki rolünü iki şekilde açıklamak mümkündür:

1. Enzimin ve ilaç direnci proteinlerinin ekspresyonlarındaki ortak artış,

2. Enzimin sinyal iletimindeki rolü.

Tümör hücresine anti-kanser ajanın girmesiyle birlikte hücre içinde GSH düzeyinde ve GST enziminin ifadesinde artış olmaktadır.⁶ GSH hücre içinde en bol bulunan protein yapısında olmayan ve tiyol grubu içeren bir tripeptiddir.^{7,8} Bu bileşik GST enziminin fizyolojik substratı olarak görev yapmaktadır. Enzim, GSH yardımıyla ksenobiyoy-

tiklerin (örneğin; anti-kanser ilaçlar) protein yapısındaki çeşitli pompalar yardımıyla dışarı atılmasına neden olmaktadır. Artan GST aktivitesi ile birlikte ilacın hücre içinde uzun süre kalması bu nedenle zorlaşmaktadır. Kaldı ki, enzime paralel olarak bu dışarı pompalama proteinlerinin [MultiDrugResistance Proteins (MRPs)] ifadesinde de artış gözlenmektedir. Son yıllarda yapılan çalışmalar, tümör hücrelerinde GSH'nin yüksek düzeylere ulaşmasının ve GST'nin aşırı ekspresyonunun MDR gelişimini ile paralel geliştiği yönündedir.^{4,9}

Çeşitli insan kanser ve prekanser dokularında en fazla oranda üretimi olan GST P1-1 izozimidir. Ulusal Kanser Enstitüsü İlaç Tarama Programı tarafından yapılan taramada kullanılan 60 tümör hücre dizisinin hemen hepsinde GST P1-1'in dominant izozim olduğu saptanmıştır.¹⁰ Bu nedenle de farklı kanser tiplerinde sitostatik ilaçlara karşı gelişen klinik direnç için önemli bir belirteç olarak kullanılmaktadır.

Bunun yanı sıra alfa, mü, mikrozomal ve teta sınıfına ait GST'lerin de kanser hücrelerinde rol oynadıkları gözlenmektedir. Gerçekten de GST alfa'nın ekspresyonundaki artışın alkileyici ajanlara direnç gelişimi ile paralel gittiği saptanmıştır.¹¹ Diğer yandan insan over karsinoma hücre dizisinde GST mü artışının beraberinde klorambusile karşı direnç gelişimi gözlenmiştir.¹² Çoklu ilaç direnci proteini ailesi olan ve ksenobiyotiklerin taşınmasında görevli ATP-bağımlı taşıyıcı protein, ABC proteinleri (ATP Binding Casette Superfamily Transporters), P-glikoprotein (Pgp), çoklu-ilaç direnci ilişkili-protein 1 (MRP1 veya ABCC1), meme kanser direnci-proteini (BCRP veya ABCG2) gibi proteinlerdir ve büyük bir kısmının MDR fenotipine sahip oldukları saptanmıştır.¹³ MRPs GSH ve GSH konjugatlarının transportuyla onkolitik ajanların hücreden atılmalarına aracılık etmektedir.¹⁴ MRPs ve insan GSTs arasındaki sinerjizmi gösteren literatürde birçok örnek mevcuttur.⁶ Bu sinerjizm, yani ekspresyonlarındaki paralel artış sonucu tümör hücrelerinin etakrinik asit, etoposid, vinkristin, klorambusil gibi ajanlara karşı direnç geliştirdikleri bildirilmiştir (Tablo 1).

TABLO 1: MRPs ve GSTs arasındaki ilişki.⁶

Eşlenik-ekspresyon	İlaç direnci
GSTP1-1, MRP1 ve γ -GCS	Klorambusil, etoposid, etakrinik asit, vinkristin, doksorubisin
GSTP1-1 ve MRP1	Etoposid
GSTA1-1 ve MRP1	Klorambusil
GSTA1-1 ve MRP2	Klorambusil
GSTM1-1 ve MRP1	Vinkristin

GLUTATYON S-TRANSFERAZ VE SİNYAL İLETİMİ

Normal şartlar altında hücreler zamanı geldiğinde ölmelidirler. Bunu sağlayan fizyolojik işlem programlı hücre ölümü, yani apoptozdur. Kanserli hücrelerde bu işlev bozulmaktadır.¹⁵ Bu duruma neden olan faktörlerden biri de GST'nin apoptotik yolda üstlendiği roldür. Apoptotik yolakların işleminde, yani sinyal iletiminde düzenleyici proteinler görev almaktadır. Sinyal iletiminde meydana gelen değişimlerle hücrenin çoğalma ve/veya yaşama işlevleri kontrol altında tutulmaktadır. Bunlar içerisinde yer alan mitojenle aktive olmuş protein kinaz (MAPK)'lar hücre membranından çekirdeğe bilgi aktarımında rol oynamaktadır.¹⁶ Birçok antikanser ilacın GSH konjugatlarının oksidatif stres ve ksenobiyotik varlığında oluşması, bunların hücre stresin indikatörleri olarak kullanılmasını akla getirmektedir. Gerçekten de GSH-konjugatlarının GST izoenzimleri aracılığıyla stresle aktive olmuş sinyal yolağını düzenledikleri bulunmuştur. Son çalışmalar alfa, mü ve pi izoenzimlerinin hücre canlılığında ve ölüm sinyalinde rol oynayan MAPK yolunda düzenleyici rol oynadığını göstermektedir. Bu kinaz ailesinin bir üyesi olan c-jun N-terminal kinaz (JNK) kemoterapötiklerin hücreyi uyarmasıyla birlikte aktive olmaktadır. JNK aktivasyonunu takiben bir transkripsiyon faktörü olan aktivatör protein-1 (AP-1)'in komponenti olan c-Jun fosforillenir. Bu sayede AP-1 indüklenmekte ve apoptotik genleri hedef almaktadır.¹⁷

MAP kinaz yolağını protein-protein ilişkisi yoluyla düzenleyen GST P1-1, apoptoz ve prolifere-

rasyonda rol alan JNK1'in endojen inhibitörü olarak davranmaktadır.¹⁸ Stres altında olmayan hücrelerde oluşan GSTP1-1-JNK heterokompleksi sayesinde apoptotik sinyal baskı altında tutulmaktadır. Bununla birlikte oksidatif stres altında bu kompleksin birbirinden ayrılması ve GSTP1-1 oligomerizasyonu apoptoz indüklenmektedir. Söz konusu olan iki proteinin birbirinden ayrılması farklı mekanizmaları da beraberinde getirmekte, ilaç tedavisi sırasında birçok tümör hücresinde artan GST üretimi hücrenin akibetini değiştirmektedir.¹⁹ Artan GST ile birlikte JNK üzerindeki baskının kalkması zorlaşmaktadır. Bu nedenle antineoplastik ajanların sitotoksik etkilerini artırmak ve antikanser ilaçlara hücrel direnci düzenlemek için spesifik GST inhibitörleri geliştirilmektedir. Bu ilaç adaylarını iki grupta toplamak mümkündür: 1. Glutatyona yapıcı benzer bileşikler (peptidomimetikler);^{20,21} 2. İn vivo şartlarda GSH konjugatı oluşturabilen elektrofilik fonksiyonel gruba sahip inhibitörler.^{22,23}

GLUTATYON S-TRANSFERAZ İNHİBİTÖRLERİ

GSH'ye yapıcı benzer bileşikler (peptidomimetikler, GSH analogları) GSH bağlanma bölgesinin kompetitif inhibitörleri olarak bilinmektedir. Bu bileşiklerin kullanılmasındaki amaç ya izozim seçiciliğini ya da ilacın stabilitesini artırmaktır. Bu amaçla sentezlenen bileşiklerden TLK 199 [g-glutamil-S-(benzil)sisteinil fenil glisil dietil ester] miyelo proliferatif bir ajandır. 5-florourasil (5-FU) ile indüklenen nötropeni sonrası lökosit sayısında artışa neden olduğu ve nötrofil iyileşmesini hızlandırdığı gösterilmiştir. TLK 199'un HT-29 insan kolon adenokarsinoma ve SKOV-3 (insan over karsinoma) hücrelerinin adriyamisine karşı duyarlılığını artırırken, mitomisin C'ye karşı etkisiz olduğu tespit edilmiştir.²⁴ Diğer yandan bileşiğin etil esterinin meme kanser hücrelerinde tiyotepa, sisplatin ve doksorubisine karşı gelişen direnci geri çevirdiği gözlenmiştir.²⁵ Diğer bir GSH analogu bileşik TLK 117 [g-glutamil-S-(benzil)sisteinil-R(-)-fenilglisin]'nin ise alkilleyici ajanlar kadar melfalan, klo-rambusil gibi bileşiklerin etkinliğini artırdığı rapor edilmektedir.²⁶ Diğer yandan TLK 177'nin bir ana-

loğu olan UrPhg'nin seçici bir GST P1-1 inhibitörü olduğu ve adenokarsinoma hücre dizisinde GSTP1-1 oligomerizasyonunu indükleyerek hem JNK hem de c-jun fosforilasyonunu artırdığı saptanmıştır. Bu tepkime sayesinde hücreler apoptotik yola girebilmişlerdir.²⁷ GSH türevleri GST'lerin iyi birer inhibitörleri olmalarına karşın hücre içi birikimden kaçınmak için spesifik eksport pompaları aracılığıyla dışarı atıldıkları için kanser hücrelerinde etkilerini gösterememektedirler. Kanser hücrelerinde GSTP1-1 konsantrasyonu 0.05×10^{-3} M'a kadar ulaşmaktadır. Bu düzeydeki bir enzimi inhibe etmek için ya eşit ya da daha yüksek derişimlerde kullanılacak inhibitör hücre içinde birikecek, bu da MDR proteini açısından sorun yaratacaktır. Bu problemin üstesinden gelmek için GST'ye etkin bir şekilde bağlanabilen, fakat GSH türevi olmayan ve hücre membranını kolaylıkla geçebilen lipofilik özelliklere sahip yeni moleküllerin tasarımı yoluna gidilmektedir.²² Enzimin G bölgesinin (fizyolojik substratı glutatyonu bağlayan bölge) yanı sıra GSH'nin türevlerini tanıyabilen, değişik hidrofobik kosubstratlar ile interaksyona girebilen H bölgesi farklı topografi ve substrat spesifitesine sahiptir. GST alfa, pi ve mü izozimlerinde mikromolar, hatta nanomolar düzeyde Km değerleri ile bu bileşiklere karşı ılımlı afinite gösteren bileşiklere ihtiyaç vardır.^{21,27} Bu amaçla farklı benzoksazol, benzotiyazol türevi bileşikler üretilme yoluna gidilmekte ve özgün, GST spesifik, geri dönüşümsüz inhibitörler sentezlenmektedir.²⁸ Özgün bileşikler tasarlanırken spesifik pompalar aracılığıyla hücreden atılım gibi sorunlardan kaçınmak gereklidir. Bunun için üretilecek antikanser ajanın ABC transporterlerinin substratı olmaması yüksek influks hızı ve lipofilik özelliklere sahip olması önem kazanmaktadır. Bu amaçla, GST için güçlü inhibitör etkileri gözlenen 7-nitro-2,1,3-benzoksadiazol (NBD) gibi non-GSH peptidomimetik türevleri (GSH konjugatları) sentezlenme yoluna gidilmiştir. Bu NBD tiyoeterleri GST alfa, pi ve mü izoenzimlerine enzime yüksek afinite ile bağlandıkları bildirilen hidrofobik bileşiklerdir.^{22,29} NBD'lerin JNK-GSTP1-1 kompleksinin ayrılmasıyla apoptozu başlattıkları gösterilmiştir.^{22,29,30} Bunlar içerisinde 6-merkaptotetrazol türevi,

NBDHEX'in lösemi, hepatik karsinoma, küçük hücreli akciğer karsinomalarında GSTM2-2 ve GSTP1-1'e karşı güçlü inhibitör etki gösterdikleri saptanmıştır.^{29,30} Diğer yandan bu bileşiğin iki farklı melanoma hücre dizisinde (Me501 ve A375) apoptozu indüklediği, in vivo olarak da efektif olduğu ve melanoma modellerinde tümör büyümesinde %70 azalmaya yol açtığı da rapor edilmiştir.^{29,31} GSH konjugatları içerisinde en iyi bilinen ve kanser tedavisinde en çok kullanılan bileşiklerden biri olan doksorubisin (GSH-DXR), GSTP1-1'in nonkompetitif inhibitörüdür. Ard arda yapılan çalışmalar GSH-DXR'nin GSTP1-1'e bağlanmasının sadece enzimatik aktiviteyi baskılamadığı, aynı zamanda JNK aktivasyonunda da artışa neden olduğu gösterilmiştir.³² GST inhibitörü olarak üzerinde en çok çalışılan molekül ise etakrinik asittir. GST P1-1'in geri dönüşümlü inhibitörü olan bu molekül enzimin H bölgesine düşük afinite ile bağlanmakta, GSH ile konjuge halde hücreden dışarı kolaylıkla atılmaktadır. Aynı zamanda Faz I çalışmalarında diürez, metabolik anomaliler, miyelosüpresyon gibi çeşitli sorunlarla karşılaşılması ve izozim spesifik olmaması nedeni ile etkinliği kısıtlı kalmıştır.³³ Sitotoksikite için JNK yolunu kullanarak tümör hücrelerinin apoptoza gitmesini sağlayan ilaçlar (antimikrotübül ilaçlar, topoizomeraz I ve II inhibitörleri, mitomisin C, adriyamisin ve sisplatin) için zaman içerisinde oluşabilecek ilaç direncini orta-

dan kaldırmada GST inhibitörlerini beraberinde tedaviye sokmak yararlı olacaktır.⁴

TARTIŞMA

Son yıllarda çeşitli GST izoenzimleri ile yapılan çalışmalar bu enzim grubunun yeni bir rolünü ortaya koymuştur. Özellikle alfa, mü ve pi izoenzimlerinin sinyal iletiminde rol oynadığı, hücre proliferasyonu, farklılaşması ve hücre ölümünü kontrol etmede önemli sinyal proteinleri ile interaksyona girdikleri gösterilmiştir. Son zamanlarda farklı GST izoenzimleri içerisinde GSTP1-1'in kanser hücrelerinde yüksek oranda eksprese olduğunun saptanması ve tümör hücrelerinde anti-kanser ilaçlara karşı direnç geliştirmeleri ile ilişkilen- dirilmesi araştırmaların bu yöne kaymasına neden olmuştur. Bu amaçla hücre zarında yer alan ilaç taşıyıcıları ile interaksyona girmeyen yeni pro-apoptotik ajanların tasarlanması önem kazanmıştır. GSTP1-1 apoptotik siklusta işe karışan JNK ve diğer bazı protein kinazların represörü olarak tanımlanmaktadır. Bugüne kadar yapılan çalışmalardan elde edilen kanıtlar GSTP1-1 inhibitörlerinin terapötik ajan olarak kullanılmasının yararlı olacağı yönündedir. Bu enzime özgü olarak üretilen inhibitörlerle ilgili ümit verici sonuçlar alınması nedeni ile çalışmalar devam etmektedir.

KAYNAKLAR

1. Kars MD, İşeri ÖD, Arpacı F, Gündüz U. [Determination of mechanisms of multiple drug resistance in MCF-7 cell line developed against paclitaxel and vincristine by microarray analysis]. *Türk Onkoloji Dergisi* 2009;24(4):153-8.
2. Mannervik B, Board PG, Hayes JD, Listowsky I, Pearson WR. Nomenclature for mammalian soluble glutathione transferases. *Methods Enzymol* 2005;401:1-8.
3. Aksoy Y. [Catalytic mechanism and structure of Glutathione-transferases and significance at detoxification]. *Klinik Laboratuvar Araştırma Dergisi* 2005;2(9):67-72.
4. Townsend DM, Tew KD. The role of glutathione-S-transferase in anti-cancer drug resistance. *Oncogene* 2003;22(47):7369-75.
5. Young AM, Allen CE, Audus KL. Efflux transporters of the human placenta. *Adv Drug Deliver Rev* 2003;55(1):125-32.
6. Sau A, Pellizzari Tregno F, Valentino F, Federici G, Caccuri AM. Glutathione transferases and development of new principles to overcome drug resistance. *Arc Biochem Biophys* 2010;500(2):116-22.
7. Aksoy Y. [The role of Glutathione in antioxidant mechanism]. *Turkiye Klinikleri J Med Sci* 2002;22(4):442-8.
8. Oğus H, Balk M, Aksoy Y, Muftuoğlu M, Ozer N. The effects of oxidative stress on the redox system of the human erythrocyte. In: Özben T, ed. *Free Radicals, Oxidative Stress and Antioxidants: Pathological and Physiological Significance*. 1sted. NATO ASI Series A, Life Sciences. New York: Plenum Press; 1998. p. 25-37.
9. Franco R, Cidlowski JA. Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant. *Cell Death Differ* 2009;16(10):1303-14.
10. Tew KD, Monks A, Barone L, Rosser D, Akerman G, Montali JA, et al. Glutathione associated enzymes in the human cell lines of the National Cancer Institute Drug Screening Program. *Mol Pharmacol* 1996;50(1):149-59.
11. Lewis AD, Hickson ID, Robson CN, Harris A, Hayes JD, Griffiths SA, et al. Amplification and increased expression of alpha class glutathione S-transferase-encoding genes associated with resistance to nitrogen mustards. *Proc Natl Acad Sci USA* 1988;85(22): 8511-5.

12. Horton JK, Roy G, Piper JT, Van Houten B, Awasthi YC, Mitra S, et al. Characterization of a chlorambucil-resistant human ovarian carcinoma cell line overexpressing glutathione S-transferase mu. *Biochem Pharmacol* 1999; 58(4):693-702.
13. Szakacs G, Paterson JK, Ludwig JA, Booth-Genthe C, Gottesman MM. Targeting multidrug resistance in cancer. *Nat Rev Drug Discovery* 2006;5(3):219-34.
14. Morrow CS, Peklak-Scott C, Bishwokarma B, Kute TE, Smitherman PK, Townsend AJ. Multidrug resistance protein 1 (MRP1, ABCC1) mediates resistance to mitoxantrone via glutathione-dependent drug efflux. *Mol Pharmacol* 2006;69(4):1499-505.
15. Tcherven G. [Apoptotic pPathways, cell cycle regulation and cancer progression: review]. *Türkiye Klinikleri J Med Sci* 2009;29(4):952-8.
16. Laborde E. Glutathione transferases as mediators of signaling pathways involved in cell proliferation and cell death. *Cell Death Differ* 2010;17(9):1373-80.
17. Karin M, Gallagher E. From JNK to pay dirt: jun kinases, their biochemistry, physiology and clinical importance. *IUBMB Life* 2005;57(4-5):283-95.
18. Adler V, Yin Z, Fuchs SY, Benerza M, Rosario L, Tew KD, et al. Regulation of JNK signaling by GSTp. *EMBO J* 1999;18(5):1321-34.
19. Burg D, Mulder GJ. Glutathione conjugates and their synthetic derivatives as inhibitors of glutathione-dependent enzymes involved in cancer and drug resistance. *Drug Met Rev* 2002;34(4):821-63.
20. Cui H, Shen J, Lu D, Zhang T, Zhang W, Sun D, et al. 4-Aryl-1,3,2-oxathiazolium-5-olate: a novel GST inhibitor to release JNK and activate c-Jun for cancer. *Cancer Chemother Pharmacol* 2008;62(3):509-15.
21. Flatgaard JE, Bauer KE, Kauvar LM. Isozyme specificity of novel glutathione-S-transferase inhibitors. *Cancer Chemother Pharmacol* 1993;33(1):63-70.
22. Ricci G, De Maria F, Antonini G, Turella P, Bullo A, Stella L, et al. 7-Nitro-2,1,3-benzoxadiazole derivatives, a new class of suicide inhibitors for glutathione S-transferases: mechanism of action of potential anticancer drugs. *J Biol Chem* 2005;280(28):26397-405.
23. Turella P, Cerella C, Filomeni G, Bullo A, De Maria F, Ghibelli L, et al. Proapoptotic activity of new glutathione S-transferase inhibitors. *Cancer Res* 2005;65(9):3751-61.
24. Morgan AS, Ciaccio PJ, Tew KD, Kauvar LM. Isozyme-specific glutathione S-transferase inhibitors potentiate drug sensitivity in cultured human tumor cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996;37(4):363-70.
25. Burg D, Riepsaame J, Pont C, Mulder G, van de Water B. Peptide-bond modified glutathione conjugate analogs modulate GSTpi function in GSH-conjugation, drug sensitivity and JNK signaling. *Biochem Pharmacol* 2006;71(3):268-77.
26. Morgan AS, Ciaccio PJ, Tew KD, Kauvar LM. Isozyme-specific glutathione S-transferase inhibitors potentiate drug sensitivity in cultured human tumor cell lines. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996;37(4):363-70.
27. Burg D, Filippov DV, Hermanns R, van der Marel GA, van Boom JH, Mulder GJ. Peptidomimetic glutathione analogues as novel gammaGT stable GST inhibitors. *Bioorg Med Chem* 2002;10(1):195-205.
28. Caccuri AM, Ascenzi P, Antonini G, Parker MW, Oakley AJ, Chiessi E, et al. Structural flexibility modulates the activity of human glutathione transferase P1-1. Influence of a poor co-substrate on dynamics and kinetics of human glutathione transferase. *JBC* 1996; 271(27):16193-8.
29. Pellizzari Tregno F, Sau A, Pezzola S, Geroni C, Lapenta C, Spada M, et al. In vitro and in vivo efficacy of 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio)hexanol (NBDHEX) on human melanoma. *Eur J Cancer* 2009;45(14):2606-17.
30. Tew KD. Redox in redux: Emergent roles for glutathione S-transferase P (GSTP) in regulation of cell signaling and S-glutathionylation. *Biochem Pharmacol* 2007;73(9):1257-69.
31. Federici L, Lo Sterzo C, Pezzola S, Di Matteo A, Scaloni F, Federici G, et al. Structural basis for the binding of the anticancer compound 6-(7-nitro-2,1,3-benzoxadiazol-4-ylthio) hexanol to human glutathione s-transferases. *Cancer Res* 2009;69(20):8025-34.
32. Asakura T, Sasagawa A, Takeuchi H, Shibata S, Marushima H, Mamori S, et al. Conformational change in the active center region of GST P1-1, due to binding of a synthetic conjugate of DXR with GSH, enhanced JNK-mediated apoptosis. *Apoptosis* 2007;12(7):1269-80.
33. Tew KD, Dutta S, Schultz M. Inhibitors of glutathione S-transferases as therapeutic agents. *Adv Drug Deliv Rev* 1997;26(2-3):91-104.