

UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA

FACULTAD DE FARMACIA



Trabajo de Fin de Grado:

Implicación y ubicación de las actividades relacionadas con el metabolismo del malonil-CoA. Papel de este metabolito como molécula de señalización en las células de mamífero.

Autora

Almudena del Barrio Hernández

Tutora

Dra. Marisol Guerra Marichal

Área

Bioquímica

Curso académico 2019/2020

Índice

ABSTRACT	1
RESUMEN	2
1. INTRODUCCIÓN	3
2. PALABRAS CLAVE	4
3. OBJETIVOS	4
4. MÉTODOS	5
5. DISCUSIÓN	5
5.1. Síntesis de ácidos grasos.	5
5.1.1. Conversión de la glucosa en acetil-CoA citosólico.	5
5.1.2. Conversión de la acetil-CoA en malonil-CoA. Regulación de la acetil CoA carboxilasa.	7
5.1.3. Complejo de la ácido graso sintasa (FAS).	10
5.1.4. Regulación recíproca de la síntesis y la degradación de los ácidos grasos.	15
5.2. Síntesis de malonil-CoA en la mitocondria.	17
5.2.1. Caracterización de la proteína ACSF3 de mamíferos, una malonil-CoA sintetasa mitocondrial.	17
5.2.2. Posibles fuentes de malonato.	19
5.2.3. Malonilación de la lisina.	19
5.2.4. Errores congénitos del metabolismo del malonato y el malonil- CoA.	20
6. CONCLUSIONES	22
7. BIBLIOGRAFÍA	24

ABSTRACT

The excessive consumption of calories promotes the synthesis of fatty acids; when the excess occurs in the form of carbohydrates, glycolysis, produces pyruvate in the cytosol, the pyruvate enters the mitochondria, where it becomes acetyl-CoA condenses with oxalacetate, producing citrate, this is exported to the cytoplasm and is transformed back into acetyl-CoA and oxalacetate. At the expense of acetyl-CoA and bicarbonate, ACC synthesizes malonyl-CoA in the cytoplasm. Malonyl-CoA, is an intermediate in the de novo synthesis of long chain fatty acids, and also regulates β -oxidation by inhibiting CPT1. Cytosolic and multifunctional mammalian FAS synthesizes long-chain fatty acids through a process of elongation of the precursors. Mitochondrial malonyl-CoA synthetase (mtFAS3), produces malonyl-CoA from malonate by promoting the synthesis of mitochondrial fatty acids type II, (mtFASII). Congenital errors of SCFA produce combined malonic and methylmalonic aciduria (CMAMMA). Dysfunction of mtFASII, due to deficiency of mtFAS3 and its role in regulating energy homeostasis, together with increased levels of malonic and methylmalonic, may lead in some patients to the onset of long-term neurological symptoms.

RESUMEN

El consumo excesivo de calorías propicia la síntesis de ácidos grasos; cuando el exceso ocurre en forma de carbohidratos, la glicólisis, produce piruvato en el citosol, el piruvato entra en la mitocondria, donde se convierte en acetil-CoA se condensa con oxalacetato, produciendo citrato, éste se exporta al citoplasma y se transforma de nuevo en acetil-CoA y oxalacetato. A expensas del acetil-CoA y bicarbonato, la ACC, sintetiza malonil-CoA en el citoplasma. El malonil-CoA, es un intermedio en la síntesis de novo de los ácidos grasos de cadena larga, y también regula la β -oxidación al inhibir CPT1. La FAS de mamífero citosólica y multifuncional sintetiza ácidos grasos de cadena larga mediante un proceso de elongación de los precursores. La malonil-CoA sintetasa mitocondrial (ACSF3), produce malonil-CoA a partir de malonato propiciando la síntesis de ácidos grasos mitocondrial tipo II, (mtFASII). Los errores congénitos de ACSF3 producen aciduria malónica y metilmalónica combinada (CMAMMA). La disfunción de mtFASII, por la deficiencia de ACSF3 y su papel en la regulación de la homeostasis de energía, junto al incremento en los niveles de malónico y metilmalónico, puede conducir en algunos pacientes al comienzo de síntomas neurológicos a largo plazo.

1. INTRODUCCIÓN

Los organismos vivos están expuestos a una gran variedad de ácidos grasos y sus derivados, que pueden proceder de fuentes exógenas o síntesis endógenas. Estos compuestos hidrofóbicos tienen muchas funciones metabólicas, estructurales y endocrinas. A causa de sus múltiples papeles en el bienestar de los mamíferos, el metabolismo de los ácidos grasos ha generado un amplio interés biomédico como posible diana potencial, para su intervención en los estados de enfermedad metabólica (1). Además, deficiencias en las enzimas de la degradación y síntesis de los ácidos grasos causan varias enfermedades congénitas en el humano (2). En eucariotas, el metabolismo lipídico es un proceso compartimentado que difiere entre órganos, tipos celulares, e incluso entre organelas dentro de una misma célula.

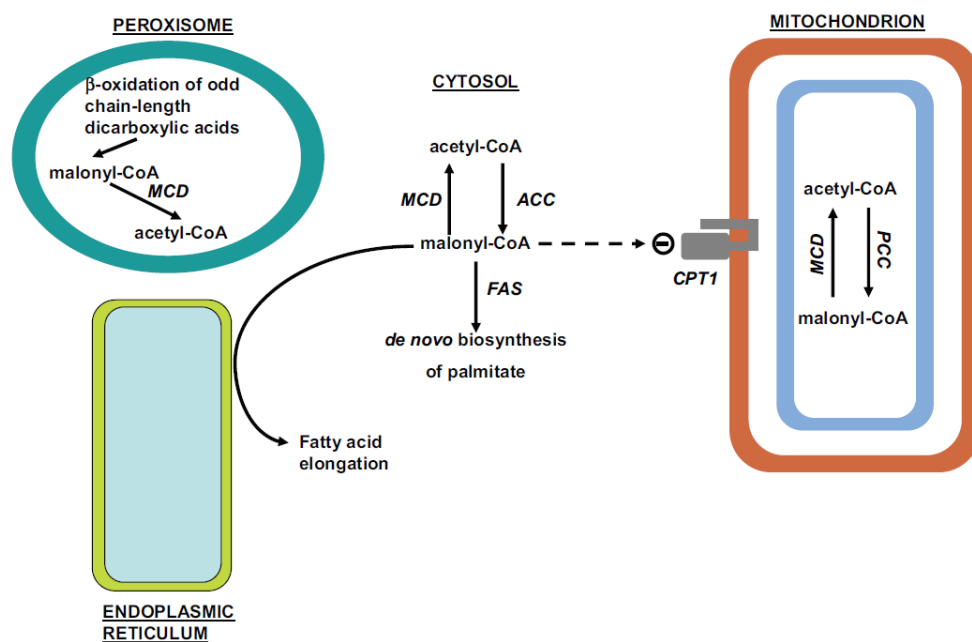


Figura 1. Resumen del metabolismo del malonil-CoA en células de mamífero. El malonil-CoA citosólico derivado de la ACC es relevante en la regulación de la CPT1. Se ha encontrado también, malonil-CoA en los peroxisomas y en la matriz mitocondrial. En la membrana del retículo endoplásmico, actúa como cosustrato para la elongación de los ácidos grasos (3).

La ACC en el citosol, juega un papel fundamental en el metabolismo de los ácidos grasos, el malonil-CoA, el producto de esta actividad, es tanto un intermedio en la síntesis de los ácidos grasos de cadena larga como un sustrato de distintas enzimas para

la elongación de los acilgraso-CoA. Además de su papel en la biosíntesis de ácidos grasos de cadena larga (4,5,6) el malonil-CoA controla el paso del transporte mitocondrial en la oxidación de los ácidos grasos de cadena larga, a través de la inhibición de la carnitina palmitoiltransferasa 1 (CPT1). Reflejando este papel fundamental, ACC está sujeta a una regulación compleja (7). Las ácido graso sintasas (FAS) tipo I eucariótica, son proteínas citosólicas, multifuncionales gigantes, que integran todos los pasos de la síntesis de ácidos grasos en ensamblajes biosintéticos complejos. La FAS animal integra todos los dominios funcionales en un único polipéptido y requiere homodimerización para la actividad catalítica (8,9). La química implicada en su función se asemeja a aquélla en la síntesis de ácidos grasos por FASII en bacterias y plástidos vegetales, que ocurre en proteínas monofuncionales disociadas (10). Debido a que el malonil-CoA juega un papel importante en el metabolismo celular y es imprescindible en la bioquímica de los ácidos grasos citoplasmáticos y que toda la maquinaria enzimática para su producción y uso están localizadas allí, se genera el interesante interrogante de la búsqueda de este metabolito en otra ubicación celular, su significado y posibles deficiencias en su síntesis y metabolismo.

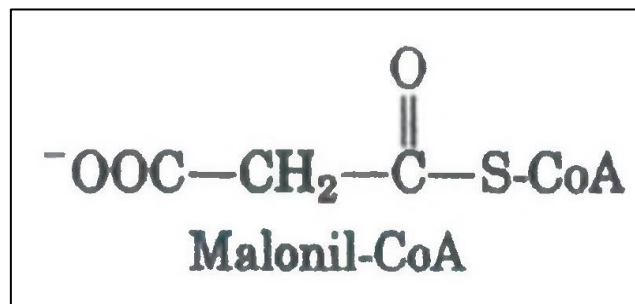


Figura 2. Estructura química del malonil-CoA, molécula situada en un nodo central de la regulación del metabolismo de los mamíferos para coordinar la síntesis y oxidación de los ácidos grasos (11).

2. PALABRAS CLAVE

Malonil-CoA, acetil-CoA carboxilasa (ACC), ácido graso sintasa (FAS), malonil-CoA sintetasa mitocondrial (ACSF3), aciduria malónica y metilmalónica combinada (CMAMMA), biosíntesis ácidos grasos mitocondrial tipo II (mtFASII).

3. OBJETIVOS

El presente trabajo tiene como finalidad, llevar a cabo una revisión actualizada de la implicación y ubicación de las actividades relacionadas con el metabolismo del

malonil-CoA, el papel de la formación de este metabolito en la eliminación del metabólico tóxico, malonato en la mitocondria, la malonización proteica y los errores congénitos de su metabolismo alterado.

4. MÉTODOS

Las fuentes de información utilizadas en la elaboración del presente trabajo han sido fuentes primarias, es decir, trabajos originales de investigación y fuentes secundarias, como buscadores científicos y/o páginas webs tales como CrossRef, Google Scholar, NCBI, PubMed Uniprot, etc. y libros de texto. La bibliografía está en inglés.

5. DISCUSIÓN

5.1. Síntesis de ácidos grasos.

Los ácidos grasos se sintetizan cuando se ingiere un exceso de calorías. La principal fuente de carbono para la síntesis de ácidos grasos lo constituyen los carbohidratos, aunque un exceso de proteínas también puede resultar en un incremento de la síntesis de ácidos grasos. Cuando se consume un exceso de carbohidratos, la glucosa se convierte en acetil-CoA, que proporciona unidades de dos carbonos que se condensan en una serie de reacciones sobre el complejo de FAS, este complejo está localizado en el citosol y, por tanto, usa acetil-CoA citosólico (12).

5.1.1. Conversión de la glucosa en acetil-CoA citosólico.

La vía para la síntesis del acetil-CoA citosólico a partir de la glucosa, comienza con la glicolisis, que convierte la glucosa en piruvato en el citosol. El piruvato entra en la mitocondria, donde se convierte en acetil-CoA por el complejo de la piruvato deshidrogenasa (PDH) y a oxalacetato por la piruvato carboxilasa (PC). La vía que siga el piruvato lo dictan los niveles de acetil-CoA en la mitocondria. Cuando los niveles de acetil-CoA son altos, se inhibe la PDH y la actividad PC se estimula, consecuentemente se incrementan los niveles de oxalacetato que se condensa con acetil-CoA y producen citrato. Esta condensación reduce los niveles de acetil-CoA, provocando la activación de la PDH e inhibición de la PC. A través de tal regulación recíproca, el citrato puede ser sintetizado continuamente y transportado a través de la membrana mitocondrial interna. Este circuito se requiere porque la PDH se encuentra exclusivamente en la mitocondria y porque el acetil-CoA no puede cruzar directamente la membrana mitocondrial (13).

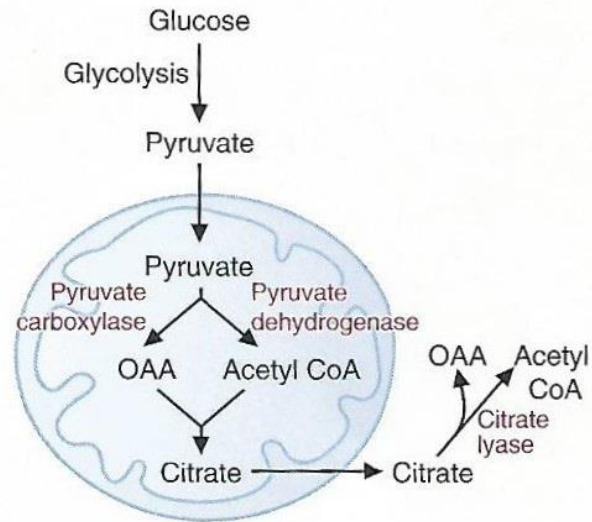


Figura 3. Conversión de glucosa a acetil-CoA citosólico. OAA, oxalacetato (14).

El citrato exportado al citoplasma desde la mitocondria es transformado de nuevo en acetil-CoA y oxalacetato por la enzima ATP citrato liasa (11).

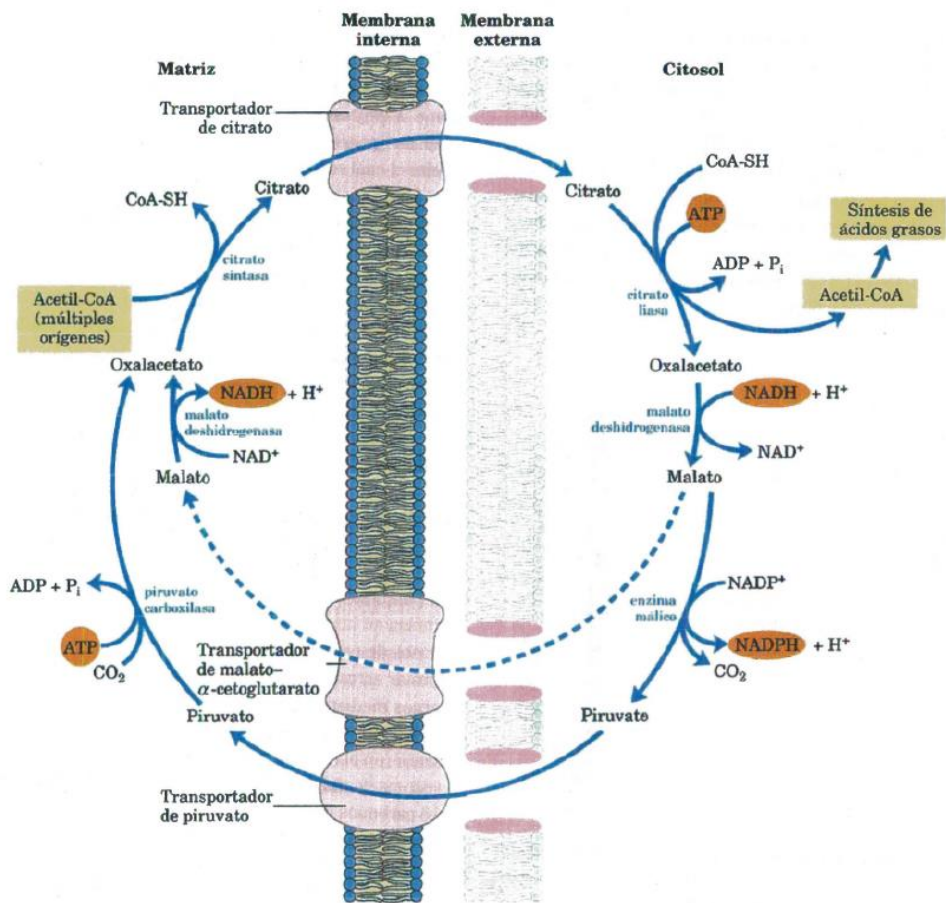


Figura 4. Lanzadera para la transferencia de grupos acetilo desde la mitocondria hasta el citoplasma. El acetil-CoA producido en la matriz mitocondrial sale de ésta en forma de

citrato y se libera en el citosol en forma de acetil-CoA para la síntesis de ácidos grasos. El oxalacetato producido es transformado en malato, del cual una parte volverá a la mitocondria en forma de malato y será transformado a oxalacetato; la mayoría de malato formado se utilizará para la formación de NADPH en el citosol. El piruvato que se produce regresa a la mitocondria y es transformado de nuevo en oxalacetato (11).

5.1.2. Conversión de la acetil-CoA en malonil-CoA. Regulación de la acetil CoA carboxilasa.

El malonil-CoA se forma a partir de acetil-CoA y bicarbonato en una reacción irreversible dependiente de ATP, catalizada por el enzima ACC (EC 6.4.1.2) (11).



ACC es miembro de una familia de enzimas, que catalizan la transferencia intermolecular de grupos carboxilo vía la formación transitoria de un intermedio carboxifosfato, covalentemente unido al grupo prostético biotina (11).

Las ACC eucarióticas son multienzimas homodiméricas grandes, formadas por tres dominios funcionales, la biotina carboxilasa (BC), la proteína portadora de carboxi-biotina (BCCP) y la Transcarboxilasa (CT). La reacción de carboxilación tiene lugar en dos pasos: en primer lugar, la fracción de biotina ligada a la BCCP es carboxilada por el dominio BC; seguidamente la carboxibiotina formada se traslada al dominio CT y el grupo carboxi se une al acetil-CoA, dando lugar a la molécula de malonil-CoA (11,15). La secuencia de reacción de ACC se ilustra en el siguiente esquema:



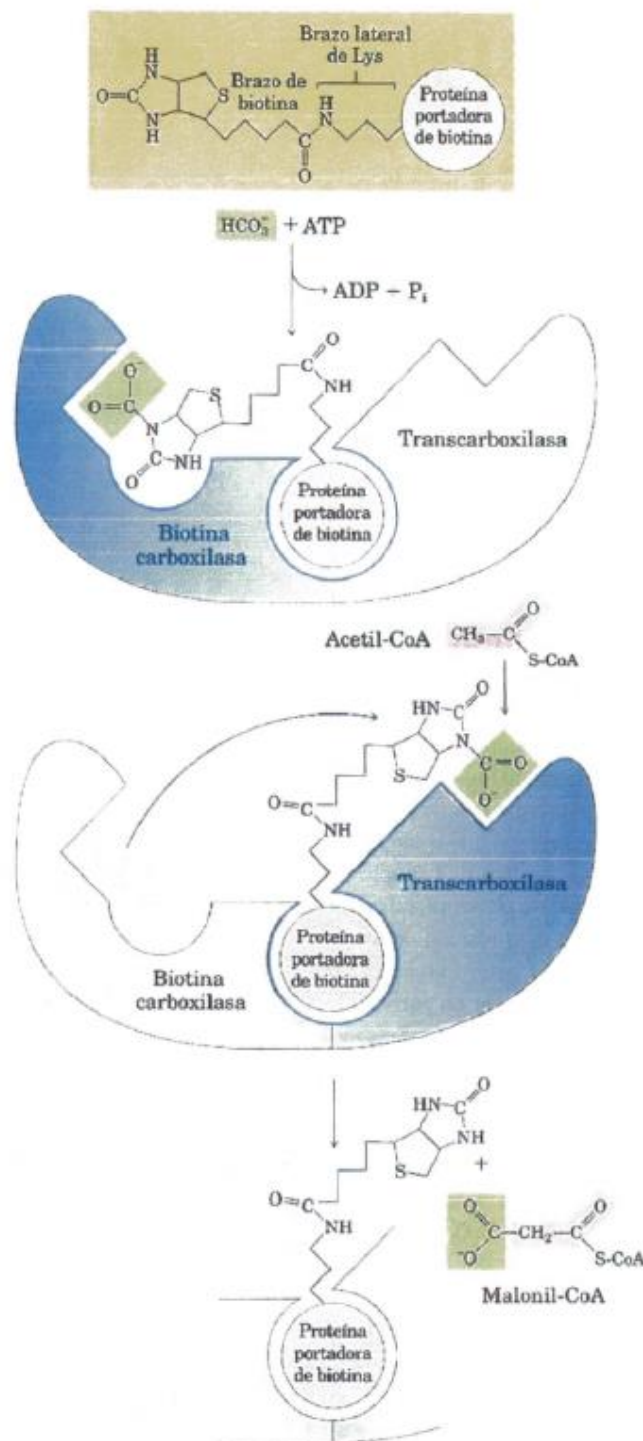


Figura 5. Reacción de la ACC. El grupo prostético biotina, está unido mediante un enlace covalente tipo amida al grupo ϵ -amino de un residuo de lisina que se encuentra en el dominio del polipéptido. La biotina carboxilasa une el nitrógeno del anillo de la biotina al CO_2 aportado por el bicarbonato, activándolo. La transcarboxilasa transfiere el CO_2 activado desde la biotina hasta el acetil-CoA y lo transporta desde la región de la biotina carboxilasa a la región activa de la transcarboxilasa (región activa indicada en azul) (11).

La ACC está codificada por dos genes separados en mamíferos, ACC1 y ACC2 que exhiben distribuciones tisulares y subcelulares únicas. ACC1 es una enzima grande que cuando se activa por el citrato, uno de sus activadores alostéricos, forma filamentos extensos. Se cree que la ACC1, también llamada ACC- α , tiene un papel mayor como proveedora de malonil-CoA para la lipogénesis. ACC2 no forma filamentos, está anclada a la membrana mitocondrial externa, encarada al citoplasma y abunda en los tejidos que llevan a cabo un alto grado de oxidación de los ácidos grasos, tales como el músculo esquelético y el corazón, donde regula la β -oxidación de ácidos grasos (15).

Regulación de la acetil-CoA carboxilasa.

La actividad ACC es el paso limitante de la velocidad de la síntesis de ácidos grasos, por lo que es un importante sitio de regulación. ACC es quizás la diana mejor caracterizada de la proteína quinasa activada por AMP (AMPK), ya que AMPK fosforila e inhibe ACC cuando existe carga energética baja, para suprimir la síntesis de ácidos grasos, un proceso que demanda energía (16). El enzima también se inactiva por fosforilación mediante PKA y se activa cuando se desfosforila mediante una fosfatasa dependiente de insulina. Por otro lado, el malonil-CoA inhibe competitivamente el ACC y por lo tanto, es capaz de actuar para autolimitar su propia producción (3,11). Además, el palmitoil-CoA, principal producto en la síntesis de ácidos grasos, actúa como retroinhibidor de este enzima, mientras que el citrato es un activador alostérico, probablemente vía la inducción de un cambio conformacional (17). Cuando las concentraciones mitocondriales de acetil-CoA y ATP aumentan, el citrato es transportado fuera de la mitocondria, donde además de ser un precursor del acetil-CoA citosólico, actúa como señal alostérica para la desfosforilación de la ACC1, activándola (11).

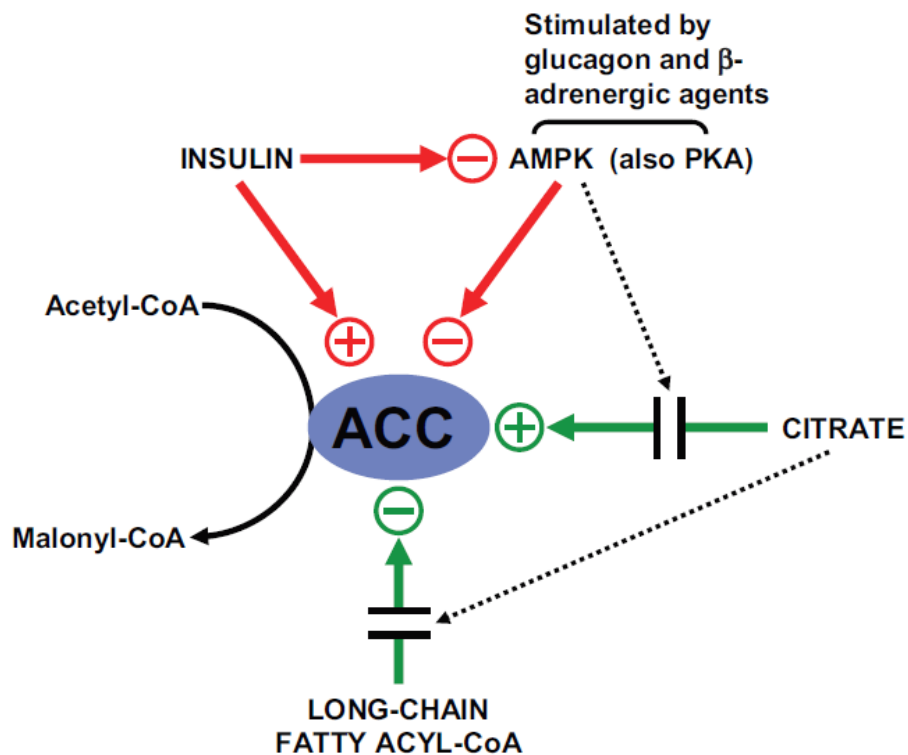


Figura 6 (3). Regulación del ACC hepático por efectores alostéricos (verde) y fosforilación del enzima (rojo). Hormonas como el glucagón y agentes β -adrenérgicos fosforilan el ACC inactivándolo mediante AMPK y PKA. Por el contrario, la insulina, desfosforila el enzima mediante la proteína fosfatasa dependiente de insulina. El citrato es un activador alostérico del enzima, su actividad puede verse disminuida cuando AMPK o la PKA aumentan su K_a . Además, la elongación de cadenas largas de ácidos grasos saturados a partir del palmitil-CoA inhiben el ACC (3,11).

5.1.3. Complejo de la ácido graso sintasa (FAS).

En una visión general, la ácido graso sintasa (EC 2.3.1.85), añade secuencialmente unidades de dos carbonos a partir de malonil-CoA a la cadena acil-graso en crecimiento para formar palmitato. Después de la adición de cada unidad de dos carbonos, la cadena en crecimiento se somete a dos reducciones, que requieren NADPH. (11).

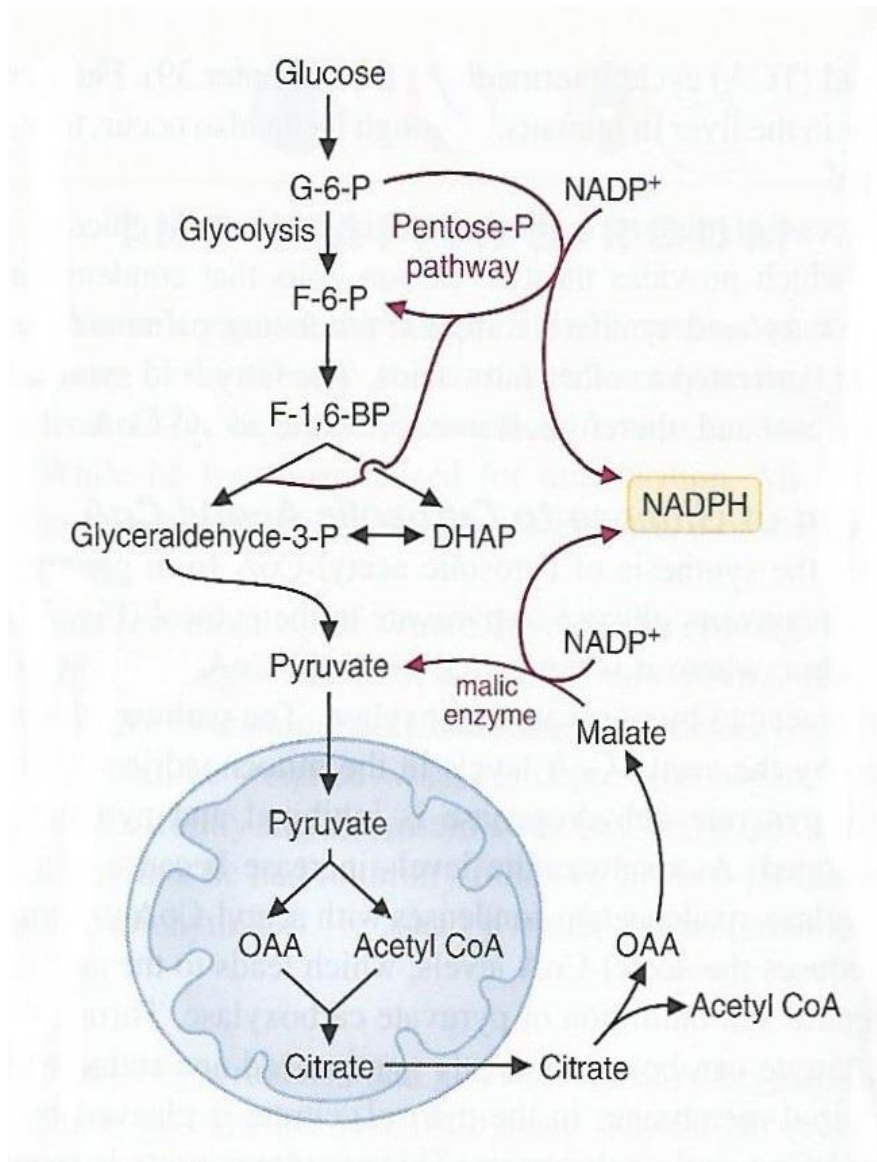


Figura 7. Fuente de NADPH para la síntesis de ácidos grasos. El NADPH se produce por la vía de las pentosas fosfato, mediante las enzimas glucosa-6-fosfato deshidrogenasa y la 6-fosfogluconato deshidrogenasa de esta vía, y a partir de la enzima málica (14).

El palmitato o hexadecanoato (C16:0), un ácido graso saturado de 16 carbonos es el producto principal de la reacción catalizada por FAS en el citosol. Además de ser un constituyente apolar de varios lípidos de membrana requerido para las funciones de la membrana y su biogénesis, los productos de FAS miristato (C14:0) y palmitato (C16:0), están implicados en la miristoilación y palmitoilación de proteínas celulares y virales para su focalización en las membranas. Además, los productos palmitato y estearato sirven como sustratos para la elongación de la cadena y producción de ácidos grasos de cadena

muy larga, que son constituyentes importantes de glicolípidos, ceramidas y esfingolípidos necesarios para la progresión de la división celular, las funciones neurológicas y las estructuras cerebrales (18).

Es notable que casi todos los tejidos del cuerpo humano tienen algún nivel de expresión de FAS, pero es altamente expresada en hígado, tejido adiposo y glándula mamaria lactante (18). FAS juega un papel importante en la homeostasis de energía al convertir el exceso de alimentos consumidos en lípidos para almacenaje que puede proporcionar energía cuando se necesita, vía β -oxidación (19,20,21).

La enzima humana FAS I, la variante que realiza este proceso (la FAS II en bacterias y plantas), es un homodímero y cada uno de los dos monómeros idénticos posee siete dominios estructurales y funcionales y un segmento ACP (proteína portadora de acilo), todo ello en una cadena polipeptídica continua. El segmento ACP, contiene un residuo 4'-fosfopanteteína, que deriva de la escisión del coenzima A (22).

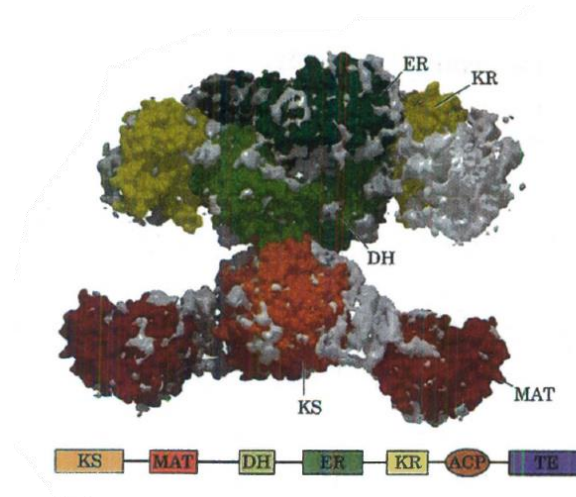


Figura 8. Estructura FAS I. Distinguimos diferentes actividades enzimáticas: β -cetoacil-ACP sintasa (KS); malonil/acetil-CoA-ACP transferasa (MAT), B-hidroxiacil-ACP deshidratasa (DH), enoil-ACP reductasa (ER) y B-cetoacil-ACP reductasa (KR). El ACP es la proteína portadora de acilo y TE es una tioesterasa que libera el producto palmitato del ACP cuando se ha completado la síntesis. Estos dos últimos dominios están desordenados en el cristal y no están representados en la figura (11).

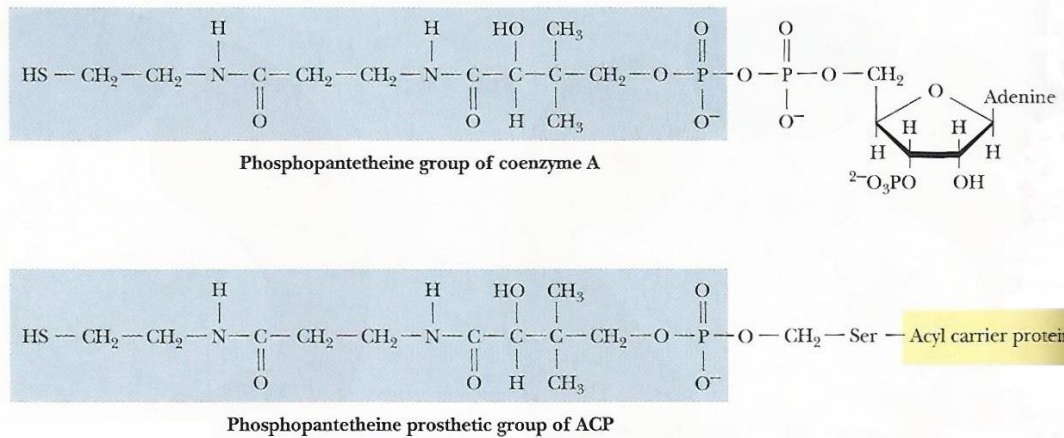


Figura 9. Los ácidos grasos se conjugan a la coenzima A y a la proteína portadora de acilo (ACP), a través del sulfhidrilo de los grupos prostéticos fosfopanteteína (23).

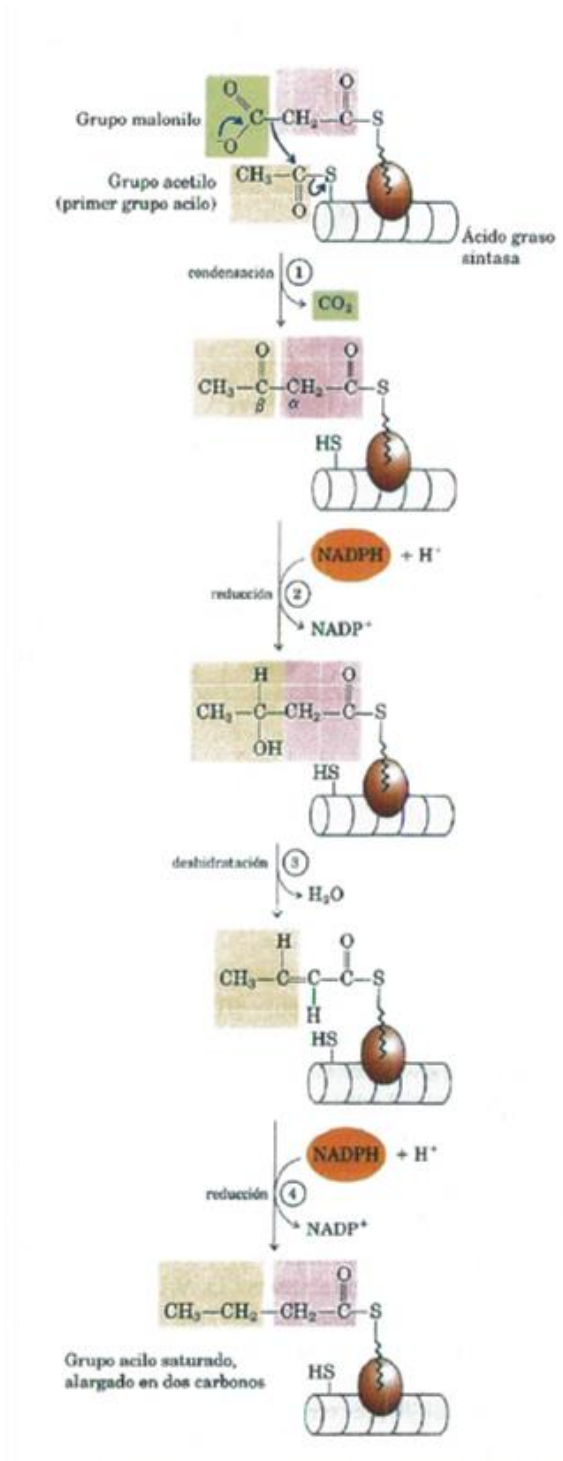


Figura 10. Secuencia de cuatro pasos de la adición de dos carbonos a una cadena de acilo graso en crecimiento. Un tioéster activa al grupo malonilo y acetilo (ó acilo más largo) uniéndolo a la ácido graso sintasa. 1. Condensación del primer grupo acilo activado (grupo acetilo procedente del acetil-CoA) y dos carbonos procedentes del malonil-CoA, eliminándose CO_2 ; 2. El grupo β -ceto se reduce a alcohol; 3. Se crea un doble enlace por la eliminación de H_2O ; 4. Reducción del doble enlace formándose el correspondiente acilo graso saturado (11).

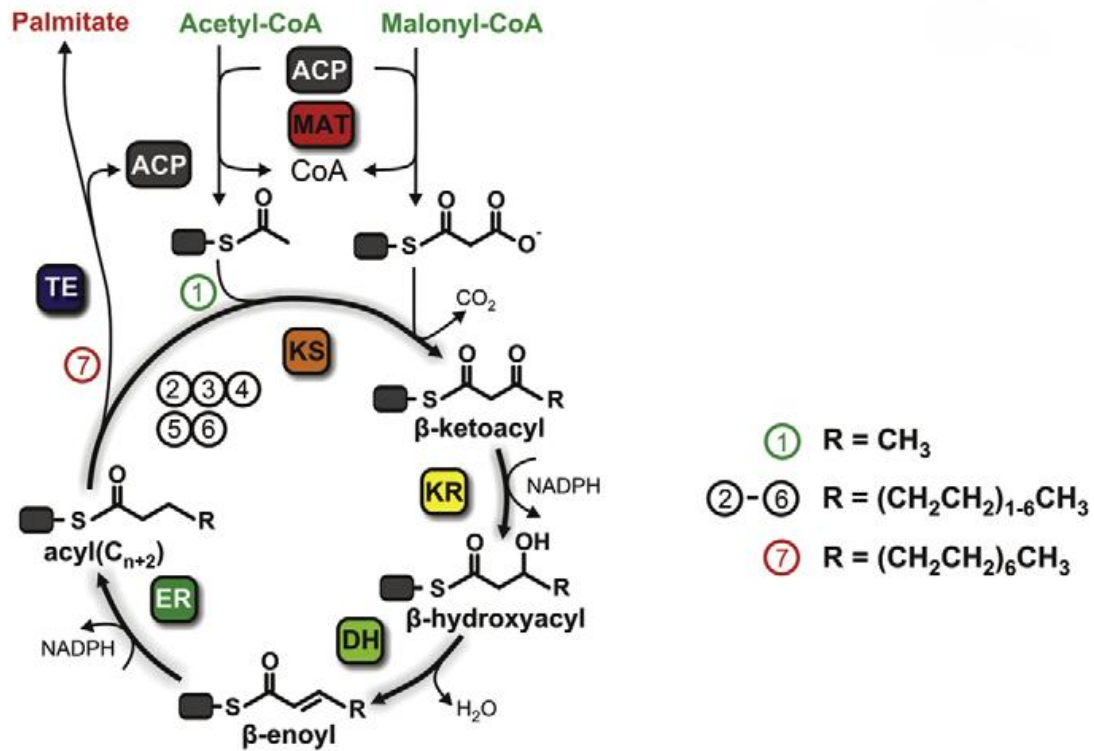


Figura 11. Ciclo de reacción catalítico de la FAS animal. Los sustratos se cargan en la proteína portadora de acilos (ACP), mediante una actividad enzimática doblemente específica, malonil/acetil-CoA-ACP transferasa (MAT), se condensan por la acción de la cetoacil sintasa (KS), posteriormente se modifica en la posición del carbono β por cetoacil reductasa (KR), la deshidratasa (DH) y la enoil reductasa (ER). Después de siete rondas de elongación, el producto final es liberado de la enzima como un ácido graso libre por una tioesterasa (TE) (24).

5.1.4. Regulación recíproca de la síntesis y la degradación de los ácidos grasos.

Cuando los niveles de glucosa en sangre aumentan, se activan una serie de mecanismos que darán lugar a la síntesis de ácidos grasos e inhiben su oxidación. Sin embargo, en estado de ayuno, el glucagón aumenta en sangre, activando otra serie de mecanismos que darán lugar a la β -oxidación de los ácidos grasos en la mitocondria, para obtener de esta manera la energía necesaria. Existen dos enzimas claves en el metabolismo de los ácidos grasos, la ACC y la CPT1, limitante en el paso de los ácidos grasos a la matriz mitocondrial para su posterior β -oxidación (11). Mc Garry y colaboradores constataron que el malonil-CoA, no sólo es el sustrato para la síntesis de

ácidos grasos, sino también un inhibidor de su oxidación, siendo una de las moléculas claves en su regulación (25).

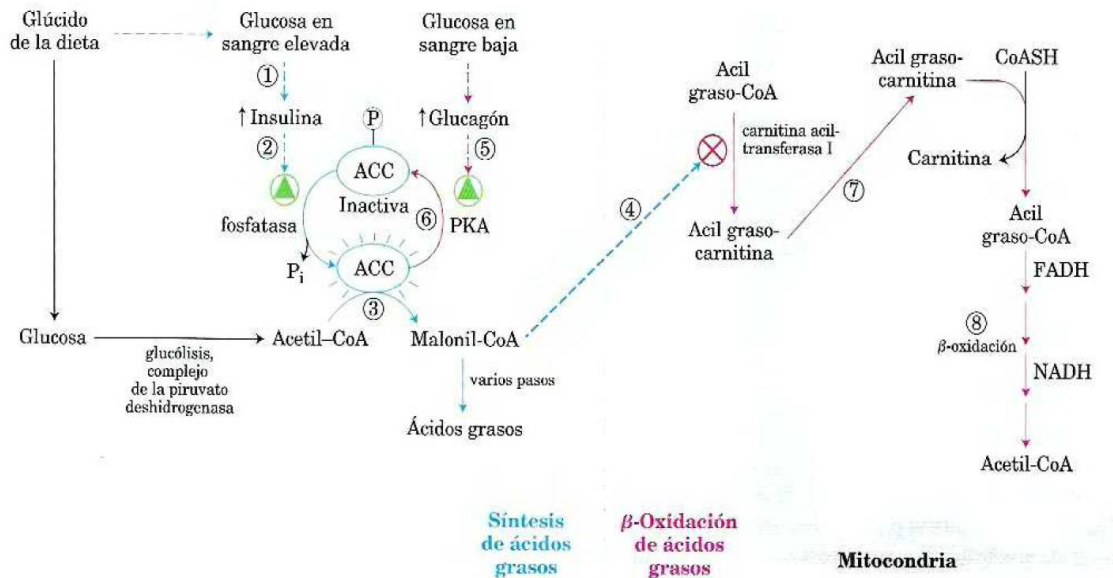


Figura 12 (11). Regulación coordinada de la síntesis y degradación de ácidos grasos. La liberación de insulina desencadenada por el aumento de los niveles de glucosa en sangre activa la proteína fosfatasa dependiente de insulina, que desfosforila la ACC activándola. La ACC cataliza la formación de malonil-CoA que inhibe la CPT1 bloqueando así la entrada de ácidos grasos a la matriz mitocondrial. Por el contrario, cuando los niveles sanguíneos de glucosa disminuyen, la señal del glucagón desencadena la fosforilación y la activación de la AMPK, que fosforila e inactiva la ACC. Esto provoca la disminución de malonil-CoA, deteniéndose la síntesis de ácidos grasos y activándose la CPT1, los ácidos grasos entran en la matriz mitocondrial y se convierten en combustible (11,26).

El sistema regulador del malonil-CoA está presente en numerosos tejidos, entre los que destacan el hígado, el músculo esquelético o el corazón. En el hipotálamo, contribuye a la regulación de la ingesta de alimentos, en el corazón una disminución de la β -oxidación de ácidos grasos posibilita la protección del corazón isquémico y postisquémico, además de influir en la respuesta al infarto de miocardio (3). En el hígado, durante el estado catabólico sin ingesta de alimentos, tiene lugar la producción de acetoacetato y β -hidroxibutirato a partir de la oxidación de ácidos grasos, proceso conocido como cetogénesis. En el cerebro sólo determinados tipos celulares son capaces de oxidar los ácidos grasos para obtener energía, por lo que la producción de cetonas es protectora de este órgano, una disminución en los niveles de malonil-CoA activa este

proceso, protegiendo al cerebro en el ayuno nocturno y durante períodos de hambruna (27,28). Por otro lado, una disminución de la concentración de malonil-CoA, también puede ser mortal en enfermedades como la diabetes de tipo 1 no controlada, pudiendo provocar una cetoacidosis completa si no se trata (29).

5.2. Síntesis de malonil-CoA en la mitocondria.

Tanto el acetil-CoA como el malonil-CoA son impermeables a la membrana y casi toda la maquinaria enzimática descrita hasta ahora, para la generación y uso del malonil-CoA, se localiza exclusivamente en el citoplasma. El músculo de mamíferos, con limitada expresión de FAS, genera malonil-CoA citoplasmático vía ACC para regular la β -oxidación de los ácidos grasos (30). Además, el músculo regula las concentraciones de malonil-CoA, principalmente vía su descarboxilación mediante la enzima malonil-CoA descarboxilasa (MLYCD), más bien que en su uso como sustrato de FAS (31). Dada la localización mitocondrial de MLCYD, se dedujo que su sustrato malonil-CoA, debería estar presente también en este orgánulo (32).

5.2.1. Caracterización de la proteína ACSF3 de mamíferos, una malonil-CoA sintetasa mitocondrial.

Las mitocondrias de mamíferos sintetizan los ácidos grasos de novo utilizando un conjunto de enzimas independientes similares a sus homólogos procariotas. El sistema mitocondrial está formado por una proteína portadora de acilo (ACP) y una maloniltransferasa, que juntas generan el sustrato utilizado para la extensión de la cadena, el malonil-ACP. Además, el trío de enzimas procesadoras de carbono (β -cetoacil reductasa, deshidratasa y enoil reductasa) saturan completamente la cadena de acilo antes de la siguiente ronda de extensión de la cadena (33).

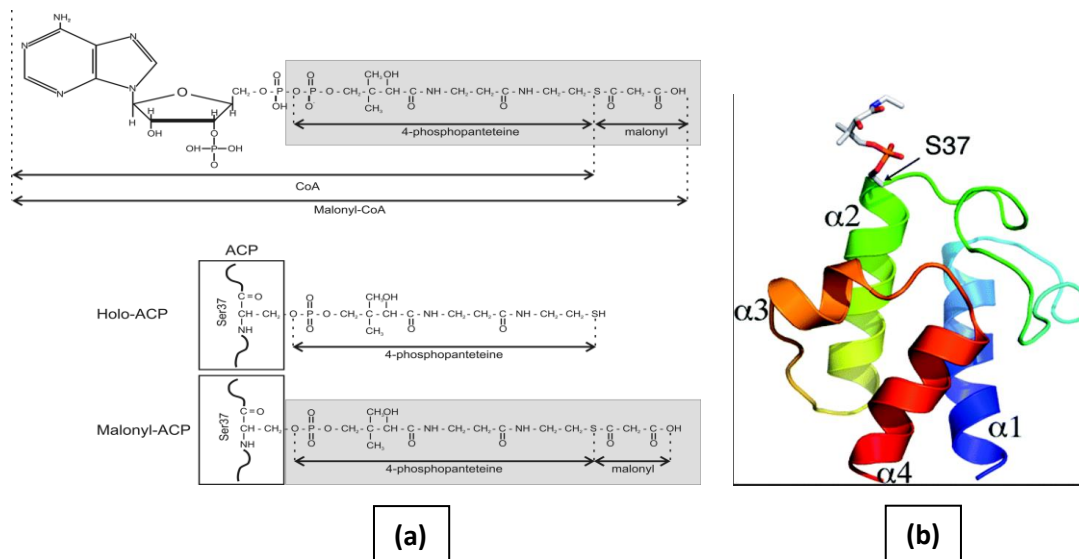


Figura 13. (a) Representación esquemática de las estructuras malonil-CoA, holo-ACP y malonil-ACP. (b) Estructura general del malonil-ACP (34).

No se conocía la fuente de malonil-CoA como sustrato del sistema mitocondrial, ya que las mitocondrias de los mamíferos carecen de una ACC que pueda generar malonil-CoA dentro de las mitocondrias, por lo que se investigó al malonato como posible precursor. En animales no se habían identificado previamente las sintetasas de malonil-CoA, hasta que en un estudio realizado por Witkowski y sus colaboradores en 2011, demostró la existencia de candidatos que mostraban secuencias de proteínas similares a las formas procariotas conocidas. La proteína candidata humana ACSF3 fue clonada, expresada y caracterizada como una acil-CoA sintetasa de 65 kDa con una alta especificidad para el malonato y el metilmalonato. Se encontró que un residuo de arginina, que en las células procariotas está implicado en la unión del malonato por las sintetasas de malonil-CoA, estaba conservado en posición en las enzimas animales ACSF3, siendo esencial para la actividad. Experimentos con células HEK293T confirmaron que la ACSF3 humana está presente únicamente en las mitocondrias y los experimentos de ARN de interferencia concluyeron que este enzima es responsable de toda la actividad malonil-CoA sintetasa en las mitocondrias (33). El ACSF3, al igual que otras acil-CoA sintetasas, une CoA a su co-sustrato, el malonato, en una reacción dependiente de ATP. El enzima ACSF3 humano está localizado en la matriz mitocondrial, donde producirá malonil-CoA a partir de malonato (32).

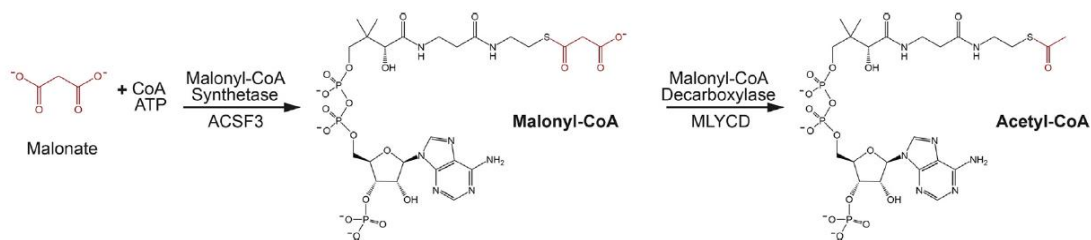


Figura 14. Esquema del metabolismo mitocondrial del malonil-CoA. El enzima ACSF3 humano está localizado en la matriz mitocondrial para producir malonil-CoA a partir de malonato en este orgánulo (32).

5.2.2. Posibles fuentes de malonato.

En los mamíferos la fuente de malonato no es del todo conocida, pero es probable que se pueda obtener tanto de fuentes endógenas como exógenas. El malonato libre se encuentra en plantas, especialmente en las leguminosas, y la comida estándar de roedores contiene altas cantidades de malonato (33). Por otro lado, se cree que lo más probable es que provenga, al menos en parte, de la hidrólisis no enzimática del malonil-CoA citoplasmático, dado que los tio-ésteres de CoA son muy susceptibles a hidrólisis no enzimática. Otra posible fuente de malonato, podría ser la producción involuntaria a partir de reacciones enzimáticas cuyos sustratos primarios no sean los precursores del malonato (32). Además, se ha demostrado que en plantas y en el corazón de vaca, puede generarse a partir de la descarboxilación del oxalacetato mitocondrial, posiblemente impulsado por el H₂O₂ generado por la cadena respiratoria (33,35,36). Se cree que podría provenir también de la oxidación del indicador de estrés oxidativo, malondialdehído (MDA) (37).

5.2.3. Malonilación de la lisina.

Los acil-CoA de cadena corta derivados de los ácidos dicarboxílicos también pueden transferir su grupo acil: malonil-CoA, succinil-CoA y glutaril-CoA. Estos ésteres de CoA acilan fuertemente los residuos de lisina (38). La malonilación de proteínas se ha reconocido como una modificación postraduccional de lisina regulada dinámicamente que puede afectar a las proteínas mitocondriales y nucleoplasmáticas, y es el malonil-CoA el sustrato probable para esta malonilación (39).

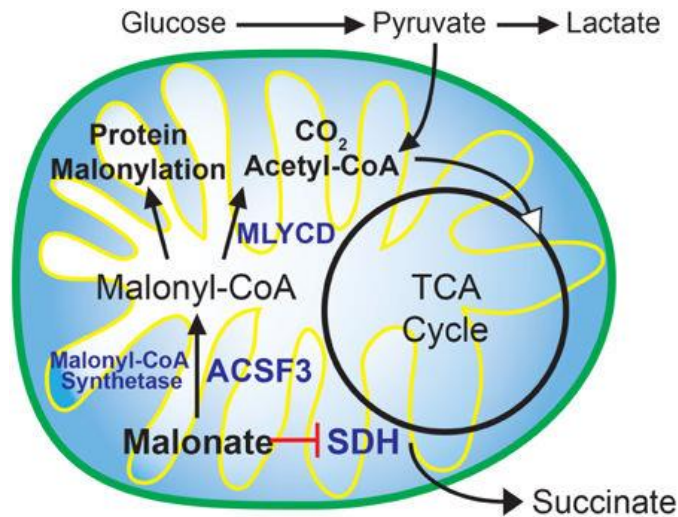


Figura 15. El malonato es un metabolito endógeno que inhibe competitivamente a la succinato deshidrogenasa, siendo en abundancia, un metabolito tóxico al bloquear el ciclo TCA y la respiración celular. El malonato puede ser oxidado por las células humanas por las actividades de la ACSF3 y MLYCD mitocondrial (39).

El estudio de células deficientes en ACSF3 mostró concentraciones elevadas de malonato y un metabolismo mitocondrial deteriorado. La malonilación de la lisina de las proteínas mitocondriales, se identificó como otro destino significativo del malonil-CoA derivado de la ACSF3, la cual resultó imprescindible para la malonilación. Juntos, estos datos describen el papel esencial de la ACSF3 para dictar el destino metabólico del malonato mitocondrial y el malonil-CoA en el metabolismo de los mamíferos (39).

5.2.4. Errores congénitos del metabolismo del malonato y el malonil-CoA.

Existen desórdenes heterogéneos que exhiben ácido metilmalónico (MMA) en los fluidos corporales, que se denominan acidemias metilmalónicas (MMAemias). Algunos pacientes tienen formas atípicas de MMAemia, por ejemplo, la aciduria combinada malónica y metilmalónica (CMAMMA), que carecía de definición enzimática y molecular. El primer caso de CMAMMA, fue observado en un niño con inmunodeficiencia, fallo del crecimiento, convulsiones, incremento de MMA en orina comparado a ácido malónico (MA) y actividad malonil-CoA descarboxilasa normal (40).

Hoy en día se conoce que la aciduria combinada malónica y metilmalónica (CMAMMA), es un error congénito del metabolismo causado por deficiencia de la enzima ACSF3 (33). Se ha propuesto como una función de ACSF3, la síntesis de malonil-

CoA en la matriz de la mitocondria para propiciar la síntesis de ácidos grasos mitocondrial tipo II (mtFASII) (42). La síntesis de ácidos grasos mediante mtFASII, es una forma ancestral de lipogénesis que solo ocurre en la matriz mitocondrial y genera octanoil-ACP, sustrato de la síntesis de ácido lipoico, un cofactor requerido para las 2-oxoácido-deshidrogenasas, tales como la PDH y α -cetoglutarato deshidrogenasa (43).

La vía mtFAS es un rasgo similar al bacteriano, mantenido por la mitocondria durante el evento endosimbiótico que generó la organela (33). La pérdida de proteínas mtFAS resulta en disfunción mitocondrial (33), que incluye deficiencia respiratoria, anormalidades de la morfología mitocondrial y crecimiento celular desequilibrado (44). Comunicaciones muy recientes, citadas en el punto anterior, puntualizan la importancia de esta vía en la malonización de la lisina para la eficiencia proteica (32). Defectos en ACSF3 resultan no sólo en una capacidad respiratoria menor, sino también en el inicio de cambios condicionados, a la disponibilidad de nutrientes y necesidades energéticas (41). Wehbe y colaboradores (2), han hipotetizado que la reducción de la eficiencia respiratoria es en particular, el resultado combinado de la fuerte inhibición competitiva de la succinato deshidrogenasa (Complejo II), por el malonato (45) y la biosíntesis reducida de acil-ACP (octanoil-ACP), que modula el ensamblaje de la cadena de transporte electrónico (46). La hipótesis anterior se corrobora mediante los resultados de análisis proteómicos y de inmunodetección que definen CMAMMA, no sólo como una aciduria orgánica sino como un defecto de mtFAS, vía enzimática para la que ACSF3 sintetiza malonil-CoA en la matriz mitocondrial (42,2). Los datos de Wehbe y colaboradores (2), en fibroblastos de pacientes CMAMMA demostraron también, un cambio hacia la β -oxidación para la producción de energía, debido a reducción de los complejos I y II respiratorios y consecuentemente de la fosforilación oxidativa (OXPHO). En lo referente al tejido nervioso, la oxidación de los ácidos grasos con el propósito específico de producción de energía, ocurre exclusivamente en células gliales (47), y para mantener la funcionalidad celular, existe una cooperación metabólica estrecha entre las neuronas y los astrocitos (48). Por lo tanto, los datos de Wehbe y colaboradores (2) en fibroblastos de pacientes CMAMMA, no son trasladables automáticamente a las células neurales, sin embargo se ha especulado, que podría ocurrir una posible regulación positiva, bajo condiciones fisiológicas, de la degradación de los ácidos grasos en las células cerebrales. Se concluye que, la disfunción de mtFASII, por la deficiencia de ACSF3 y su papel en la regulación de la homeostasis de energía, junto al incremento en los niveles de malónico y

metilmalónico, puede conducir en algunos pacientes según se hacen mayores, al comienzo de los síntomas neurológicos a largo plazo.

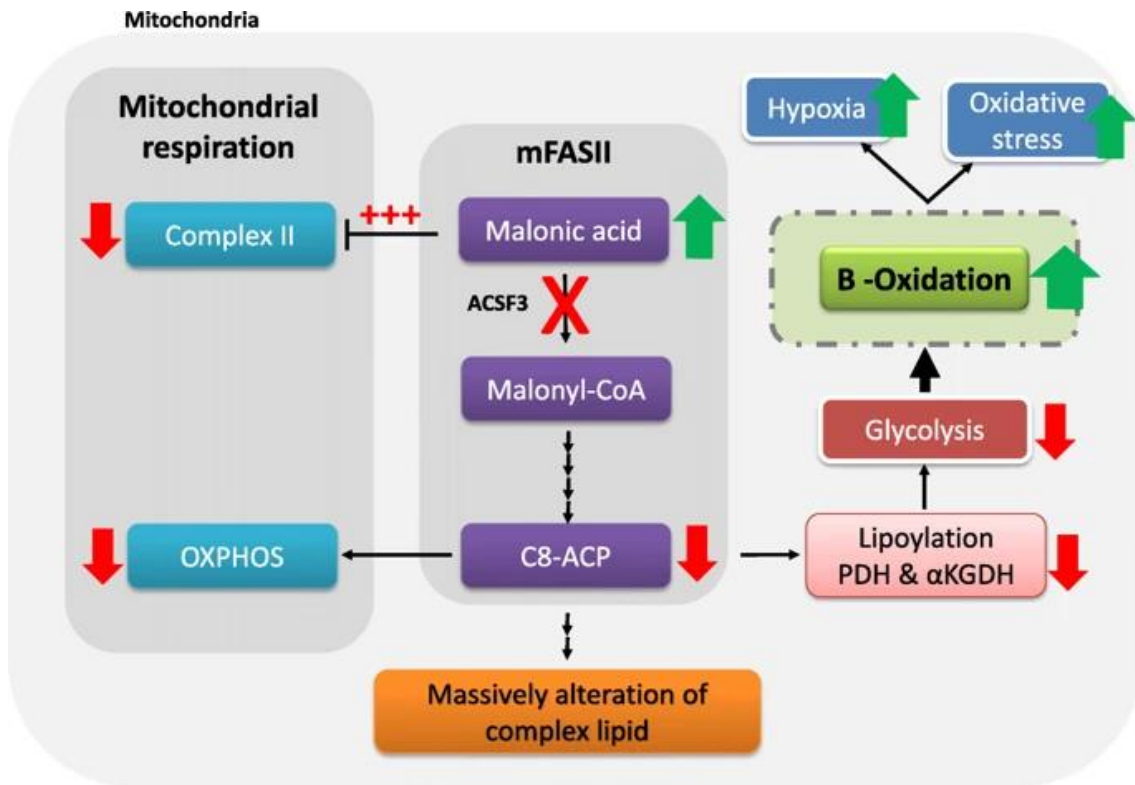


Figura 16. Representación esquemática de los mecanismos compensatorios adaptativos de la estimulación de la β -oxidación, en respuesta a la vía mtFAS hipofuncional, debido a mutaciones en el gen ACSF3 (49). OXPHOS: fosforilación oxidativa, C8-ACP: octanoil-ACP, PDH: piruvato deshidrogenasa, α -KGDH: α -cetoglutarato deshidrogenasa.

6. CONCLUSIONES

- El malonil-CoA es el primer intermediario en la síntesis citosólica de ácidos grasos, siendo además un metabolito clave para la elongación de la cadena de ácidos grasos.
- El malonil-CoA es generado por la carboxilación del acetil-CoA por la ACC, siendo además un inhibidor competitivo de la misma, autolimitando así su propia producción.
- Se ha establecido como molécula central en la regulación de la síntesis y la oxidación de los ácidos grasos.
- Al inhibir la CPT1, bloquea la β -oxidación de los ácidos grasos en la mitocondria.
- El enzima ACSF3 es una sintetasa mitocondrial que genera malonil-CoA a partir del antimetabolito tóxico, malonato.

- El malonil-CoA es el sustrato probable para la malonilación de la lisina.
- La deficiencia en la enzima ACSF3 causa un error congénito en el metabolismo, conocido como aciduria malónica y metilmalónica (CMAMMA), alterando las concentraciones de malonil-CoA mitocondriales y provocando una deficiencia en la vía mtFASII.
- La disfunción de mtFASII junto con el incremento en los niveles de malónico y metilmalónico pueden provocar el comienzo de síntomas neurológicos a largo plazo.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. **Wanders RJ.** Peroxisomes, lipid metabolism, and peroxisomal disorders. *Mol Genet Metab.* 2004;83(1-2):16-27.
doi:10.1016/j.ymgme.2004.08.016
2. **Wehbe Z, Behringer S, Alatibi K, et al.** The emerging role of the mitochondrial fatty-acid synthase (mtFASII) in the regulation of energy metabolism. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids.* 2019;1864(11):1629-1643.
doi:10.1016/j.bbalip.2019.07.012
3. **Saggerson D.** Malonyl-CoA, a key signaling molecule in mammalian cells. *Annu Rev Nutr.* 2008;28:253-272.
doi:10.1146/annurev.nutr.28.061807.155434
4. **Wakil SJ.** A malonic acid derivative as an intermediate in fatty acid synthesis. *Journal of the American Chemical Society.* 1958; 80(23), 6465-6465.
5. **Nugteren DH.** The enzymic chain elongation of fatty acids by rat-liver microsomes. *Biochim Biophys Acta.* 1965;106(2):280-290.
doi:10.1016/0005-2760(65)90036-6
6. **Hopwood DA, Sherman DH.** Molecular genetics of polyketides and its comparison to fatty acid biosynthesis. *Annu Rev Genet.* 1990;24:37-66.
doi:10.1146/annurev.ge.24.120190.000345
7. **Barber MC, Price NT, Travers MT.** Structure and regulation of acetyl-CoA carboxylase genes of metazoa. *Biochim Biophys Acta.* 2005;1733(1):1-28.
doi:10.1016/j.bbalip.2004.12.001
8. **Maier T, Jenni S, Ban N.** Architecture of mammalian fatty acid synthase at 4.5 Å resolution. *Science.* 2006;311(5765):1258-1262.
doi:10.1126/science.1123248

9. **Smith S, Witkowski A, Joshi AK.** Structural and functional organization of the animal fatty acid synthase. *Prog Lipid Res.* 2003;42(4):289-317.
doi:10.1016/s0163-7827(02)00067-x
10. **White SW, Zheng J, Zhang YM, Rock.** The structural biology of type II fatty acid biosynthesis. *Annu Rev Biochem.* 2005;74:791-831.
doi:10.1146/annurev.biochem.74.082803.133524
11. **David L. Nelson, Michael M. Cox. Lehninger.** Principios de bioquímica. 2009, Capítulo 21, En: W.H. Freeman and Company (eds.) 5th ed. Omega.; p 805-815
12. **McDevitt RM, Bott SJ, Harding M, Coward WA, Bluck LJ, Prentice AM.** De novo lipogenesis during controlled overfeeding with sucrose or glucose in lean and obese women. *Am J Clin Nutr.* 2001;74(6):737-746.
doi:10.1093/ajcn/74.6.737
13. **Sun T, Hayakawa K, Bateman KS, Fraser ME.** Identification of the citrate-binding site of human ATP-citrate lyase using X-ray crystallography. *J Biol Chem.* 2010;285(35):27418-27428.
doi:10.1074/jbc.M109.078667
14. **Lieberman M, Marks, AD.** Basic Medical Biochemistry, a clinical approach, 2013, Capítulo 36, En: Wolters Kluwer. (eds.), 4th ed, Lippincott Williams Wilkins; p 601-681
15. **Hunkeler M, Hagmann A, Stutfeld E, et al.** Structural basis for regulation of human acetyl-CoA carboxylase. *Nature.* 2018;558(7710):470-474.
doi:10.1038/s41586-018-0201-4
16. **Hardie DG, Ross FA, Hawley SA.** AMPK: a nutrient and energy sensor that maintains energy homeostasis. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2012;13(4):251-262. Published 2012 Mar 22.
doi:10.1038/nrm3311

17. **Moss J, Lane MD.** Acetyl coenzyme A carboxylase. IV. Biotinyl prosthetic group-independent malonyl coenzyme A decarboxylation and carbosyl transfer: generalization to other biotin enzymes. *J Biol Chem.* 1972;247(16):4952-4959.
18. **Jayakumar A, Huang WY, Raetz B, Chirala SS, Wakil SJ.** Cloning and expression of the multifunctional human fatty acid synthase and its subdomains in *Escherichia coli*. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1996;93(25):14509-14514. doi:10.1073/pnas.93.25.14509
19. **Wakil SJ, Stoops JK, Joshi VC.** Fatty acid synthesis and its regulation. *Annu Rev Biochem.* 1983;52:537-579. doi:10.1146/annurev.bi.52.070183.002541
20. **Wakil SJ.** Fatty acid synthase, a proficient multifunctional enzyme. *Biochemistry.* 1989;28(11):4523-4530. doi:10.1021/bi00437a001
21. **Smith S.** The animal fatty acid synthase: one gene, one polypeptide, seven enzymes. *FASEB J.* 1994;8(15):1248-1259.
22. **Brink J, Ludtke SJ, Yang CY, Gu ZW, Wakil SJ, Chiu W.** Quaternary structure of human fatty acid synthase by electron cryomicroscopy. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2002;99(1):138-143. doi:10.1073/pnas.012589499
23. **Garrett RH, Grisham Ch M,** *Biochemistry*, 2005 Capítulo 24, En: Kiselica, S 3rd ed. Thomson Brooks/Cole; p 768
24. **Leibundgut M, Maier T, Jenni S, Ban N.** The multienzyme architecture of eukaryotic fatty acid synthases. *Curr Opin Struct Biol.* 2008;18(6):714-725. doi:10.1016/j.sbi.2008.09.008

25. **McGarry JD, Mannaerts GP, Foster DW.** A possible role for malonyl-CoA in the regulation of hepatic fatty acid oxidation and ketogenesis. *J Clin Invest.* 1977;60(1):265-270.
doi:10.1172/JCI108764
26. **Foster DW.** The role of the carnitine system in human metabolism. *Ann N Y Acad Sci.* 2004;1033:1-16.
doi:10.1196/annals.1320.001
27. **Cahill GF Jr.** Fuel metabolism in starvation. *Annu Rev Nutr.* 2006;26:1-22.
doi:10.1146/annurev.nutr.26.061505.111258
28. **Cahill GF Jr, Veech RL.** Ketoacids? Good medicine?. *Trans Am Clin Climatol Assoc.* 2003;114:149-163
29. **Foster DW, McGarry JD.** The metabolic derangements and treatment of diabetic ketoacidosis. *N Engl J Med.* 1983;309(3):159-169.
doi:10.1056/NEJM198307213090307
30. **Funai K, Song H, Yin L, et al.** Muscle lipogenesis balances insulin sensitivity and strength through calcium signaling [published correction appears in *J Clin Invest.* 2013 Aug 1;123(8):3634]. *J Clin Invest.* 2013;123(3):1229-1240.
doi:10.1172/JCI65726
31. **Rodriguez S, Ellis JM, Wolfgang MJ.** Chemical-genetic induction of Malonyl-CoA decarboxylase in skeletal muscle. *BMC Biochem.* 2014;15:20. Published 2014 Aug 25.
doi:10.1186/1471-2091-15-20
32. **Bowman CE, Wolfgang MJ.** Role of the malonyl-CoA synthetase ACSF3 in mitochondrial metabolism. *Adv Biol Regul.* 2019;71:34-40.
doi:10.1016/j.jbior.2018.09.002

33. **Witkowski A, Thweatt J, Smith S.** Mammalian ACSF3 protein is a malonyl-CoA synthetase that supplies the chain extender units for mitochondrial fatty acid synthesis. *J Biol Chem.* 2011;286(39):33729-33736.
doi:10.1074/jbc.M111.291591
34. **Martinez MA, Zaballa ME, Schaeffer F, Bellinzoni M, Albanesi D, Schujman GE, Vila AJ, Alzari PM, de Mendoza D.** A novel role of malonyl-ACP in lipid homeostasis. *Biochemistry.* 2010 Apr;49(14) 3161-3167.
doi:10.1021/bi100136n
35. **de Vellis J, Shannon LM, Lew JY.** Malonic Acid Biosynthesis in Bush Bean Roots. I. Evidence for Oxaloacetate as Immediate Precursor. *Plant Physiol.* 1963;38(6):686-690.
doi:10.1104/pp.38.6.686
36. **Vennesland B, Evans, E.A.** The formation of malonic acid from oxalacetic acid UX pig heart preparations. *J. Biol. Chem.* 1994; 156 (2), 783–784.
37. **Chen H, Kim HU, Weng H, Browse J.** Malonyl-CoA synthetase, encoded by ACYL ACTIVATING ENZYME13, is essential for growth and development of Arabidopsis. *Plant Cell.* 2011;23(6):2247-2262.
doi:10.1105/tpc.111.086140
38. **Bowman CE, Wolfgang MJ.** Role of the malonyl-CoA synthetase ACSF3 in mitochondrial metabolism. *Adv Biol Regul.* 2019;71:34-40.
doi:10.1016/j.jbior.2018.09.002
39. **Bowman CE, Rodriguez S, Selen Alpergin ES, et al.** The Mammalian Malonyl-CoA Synthetase ACSF3 Is Required for Mitochondrial Protein Malonylation and Metabolic Efficiency. *Cell Chem Biol.* 2017;24(6):673-684.e4.
doi:10.1016/j.chembiol.2017.04.009

40. **Gregg AR, Warman AW, Thorburn DR, O'Brien WE.** Combined malonic and methylmalonic aciduria with normal malonyl-coenzyme A decarboxylase activity: a case supporting multiple aetiologies. *J Inherit Metab Dis.* 1998; 21:382–90.
41. **Levtova A, Waters PJ, Buhas D, et al.** Combined malonic and methylmalonic aciduria due to ACSF3 mutations: Benign clinical course in an unselected cohort. *J Inherit Metab Dis.* 2019;42(1):107-116.
doi:10.1002/jimd.12032
42. **Guan X, Nikolau BJ.** AAE13 encodes a dual-localized malonyl-CoA synthetase that is crucial for mitochondrial fatty acid biosynthesis. *Plant J.* 2016;85(5):581-593.
doi:10.1111/tbj.13130
43. **Solomonson A, DeBerardinis RJ.** Lipoic acid metabolism and mitochondrial redox regulation. *J Biol Chem.* 2018;293(20):7522-7530.
doi:10.1074/jbc.TM117.000259
44. **Feng D, Witkowski A, Smith S.** Down-regulation of mitochondrial acyl carrier protein in mammalian cells compromises protein lipoylation and respiratory complex I and results in cell death. *J Biol Chem.* 2009;284(17):11436-11445.
doi:10.1074/jbc.M806991200
45. **Greene JG, Porter RH, Eller RV, Greenamyre JT.** Inhibition of succinate dehydrogenase by malonic acid produces an "excitotoxic" lesion in rat striatum. *J Neurochem.* 1993 Sep;61(3) 1151-1154.
doi:10.1111/j.1471-4159.1993.tb03634
46. **Van Vranken JG, Nowinski SM, Clowers KJ, et al.** ACP Acylation Is an Acetyl-CoA-Dependent Modification Required for Electron Transport Chain Assembly. *Mol Cell.* 2018;71(4):567-580.e4.
doi:10.1016/j.molcel.2018.06.039

47. **Panov A, Orynbayeva Z, Vavilin V, Lyakhovich V.** Fatty acids in energy metabolism of the central nervous system. *Biomed Res Int.* 2014: 472459)
48. **Belanger M, Allaman I, Magistretti PJ.** Brain energy metabolism: focus on astrocyte-neuron metabolic cooperation. *Cell Metab.* 2011;14(6):724-38)
49. **Tucci S.** Brain metabolism and neurological symptoms in combined malonic and methylmalonic aciduria. *Orphanet J Rare Dis.* 2020;15(1):27. Published 2020 Jan 22.
doi:10.1186/s13023-020-1299-7.