

ACC Enziminin Metabolik Hastalıklarda Terapötik Hedef Olarak Değerlendirilmesi

Mehtap Şahin* , Özlem Yıldırım 

Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Bölümü, 06110, Ankara, Türkiye

Öne Çıkanlar

- ACC enzimi, yağ asit metabolizmasını düzenleyici fonksiyonlarından dolayı metabolik hastalıklara yönelik dikkat çekici bir hedef hâline gelmiştir.
- ACC enzim inhibitörleri, klinik çalışmalarda yerini almıştır ve metabolik hastalıklara yönelik ilaç geliştirme ve ilaç keşfi çalışmalarına öncülük etmektedir.
- ACC enzim inhibitörlerinin geliştirilmesinde terapötik avantaj ve risk faktörleri değerlendirilmelidir.

Makale Bilgileri

Geliş: 01/04/2022

Kabul: 04/07/2022

Anahtar Kelimeler

ACC enzim inhibitörleri,
Yağ asit metabolizması,
Metabolik hastalıklar

Öz

Perifer dokularda aşırı yağ birikimi ile meydana gelen lipotoksiste, metabolik hastalıklara neden olan en önemli faktörlerden biridir. Lipid metabolizmasının anahtar enzimlerinden olan Asetil-KoA karboksilaz (ACC), yağ asitlerinin biyosentezinin ve oksidasyonunun düzenlenmesinde önemli fonksiyonlara sahiptir, aşırı yağ konsantrasyonunun azaltılmasına yönelik stratejiler ile diyabet, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı, kanser, mikrobiyal enfeksiyon, metabolik sendrom, obezite, gibi hastalıkların tedavisinde büyük bir ilgi göyerek dikkat çekici bir hedef hâline gelmiştir. Onlarca yıllık araştırmalar sonucunda, ACC enziminin çok sayıda inhibitörü keşfedilmiştir ve yeni inhibitörlerin tasarlanmasına yönelik çalışmalar günümüzde de devam etmektedir. Bu çalışmada ACC enziminin yapısı, fonksiyonu ve katalitik mekanizmasının anlaşılmasına yönelik güncel bilgilere değinilmiştir ve ACC enzim inhibisyonunun moleküler temelleri incelenerek, güçlü ACC inhibitörleri ile ilgili son gelişmeler özetlenmiştir.

Evaluation of ACC Enzyme as Therapeutic Target in Metabolic Diseases

- The key regulator function of ACC in fatty acid metabolism makes it target for metabolic diseases.
- ACC inhibitors have entered clinical studies and leading development and discovering of novel drugs for metabolic diseases.
- Therapeutic advantages and risk factors should be evaluated in the development of ACC enzyme inhibitors.

Article Info

Received: 01/04/2022

Accepted: 04/07/2022

Keywords

ACC enzyme inhibitors,
Fatty acid metabolism,
Metabolic diseases

Abstract

Lipotoxicity results from the excessive lipid accumulation in peripheral tissues, is main contributing factor leading to metabolic diseases. Acetyl-CoA carboxylase (ACC) is a key enzyme regulating lipid metabolism and substantial function in the regulation of fatty acid synthesis and oxidation, has emerged as an attractive target for a plethora of emerging diseases, such as diabetes mellitus, non-alcoholic fatty liver disease, cancer, bacterial infections, metabolic syndrome, obesity and so on. Numerous inhibitors of ACC have been discovered for research on effort during the last decades and studies on the design of novel ACC inhibitors continue today. In this review, up-to-date information on the structure, function and catalytic mechanism of the ACC enzyme is highlighted, and the molecular basis of ACC enzyme inhibition is elucidated, and the latest developments in potent ACC inhibitors are summarized.



Makale, Creative Commons 4.0 (CC BY NC SA) uluslararası lisansı altında açık erişim olarak yayımlanmaktadır.

* Sorumlu Yazar/Corresponding Author: Mehtap Şahin, mhtpsahin@ankara.edu.tr



1. GİRİŞ

Yağ asitleri hidrofobik ve amfifilik kısımlara sahip olan, organizmanın metabolik ihtiyaçları için enerji sağlayan, hücrenin içinde ve dışında çeşitli homeostaz süreçlerini düzenleyen, sinyal moleküllerinin önemli yapı taşlarını oluşturarak hücrenin yaşamsal fonksiyonlarını gerçekleştiren ve enerji metabolizmasında görevli olan lipid molekülleridir. De Novo Lipogenez (DNL) olarak adlandırılan mekanizma sayesinde beslenme ile alınan fazla glukozdan dönüştürülen yağ asitleri, glukotoksisiteye karşı koruma ve açlık durumunda kalori bakımından en yoğun enerji depolama kapasitesi ile en yüksek enerji rezervini sağlarlar. Açlık ve tokluk sürecindeki besin dalgalanmalarına karşı hücrenin enerji taleplerini yanıtlayan DNL hayati öneme sahiptir. DNL, embriyonik gelişim ve adipogenezde çok önemli rol oynamasının yanında, ökalorik koşullarda bile vücut yağ depolarına az miktarlarda lipid katkısında bulunabilmektedir. Kronik DNL yükselmeleri organel disfonksiyonu, hücre ölümü, lipotoksisite sonucu gelişen metaflamasyon, enerji ve substrat metabolizmasında bozukluklar gibi oldukça zararlı olabilen durumlara neden olur ve böylece yağ asitleri sağlıklı doku ve hücrelere hasar veren patofizyolojik kaskadın kritik bir parçası hâline gelirler [1,2]. Bu durum, kardiyovasküler hastalıklar (KVH), tip 2 diyabet (T2D), obezite, non-alkolik yağlı karaciğer hastalığı (NAYKH), hipertrigliseridemi, kanser, viral enfeksiyonlar, otoimmün hastalıklar, akne vulgaris, nörodejenerasyon, ve yaşlanma gibi birçok yüksek riskli hastalık ve metabolik bozuklukların gelişimi ile sonuçlanmaktadır [3].

Adipoz doku, DNL'nin gerçekleştirildiği öncelikli dokudur, ancak uzun süreli besin fazlalığına maruz kalınması, non-adipoz dokularda kronik DNL yükselmeleri ile ektopik lipid birikimini tetikleyerek lipotoksisite ve kronik metabolik strese neden olmaktadır. DNL artışı ve yağ asidi oksidasyonunun zayıflaması ile yağ asidi metabolizmasında meydana gelen bozukluklar, metabolik hastalıkların gelişimi ile ilişkili vücut yağ kitlesinin artmasına neden olur. Yaşam tarzı değişiklikleri ile birlikte uygulanan diyet ve egzersiz, aşırı vücut yağ kitlesinin kontrolü ile ilgili beklentiyi karşılayamadığında farmakolojik müdahaleler ile metabolik hastalıkların tedavi edilebileceği öngörülmektedir. Aşırı vücut yağ kitlesi, bu hastalıkların oluşumu ile ilişkili metabolik durumun bir göstergesi olmasından dolayı, etkili tedavi edici stratejilerinin geliştirilmesinde yağ asidi metabolizmasına yönelik çalışmaların gerçekleştirilmesi, ilaç keşfinde çok acil bir ihtiyaç hâline gelmiştir [4,5].

Bu nedenle yağ asidi metabolizmasında anahtar düzenleyici role sahip olan ACC enziminin farmakolojik inhibisyonu, eşzamanlı olarak lipojenik dokularda yağ asidi sentezinin sınırlandırılmasına ve oksidatif dokularda yağ asidi oksidasyonunun uyarılmasına yönelik bimodal mekanizmalar sunarak, lipid metabolizmasındaki düzensizliklerin yeniden dengelenmesini sağlayarak metabolik hastalıkları olumlu yönde etkileyebilme potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur. ACC enzimi metabolik hastalıkların tedavisinde cazip bir hedef olarak günümüzde oldukça ilgi görmüştür ve yeni nesil ACC inhibitörleri ile oldukça başarılı sonuçlar elde edilmiştir [6]. Örneğin, NAYKH hastalığı dâhil metabolik hastalıkların tedavisine yönelik geliştirilen ACC enzim inhibitörü Faz II klinik deney aşamasında değerlendirilmektedir [7].

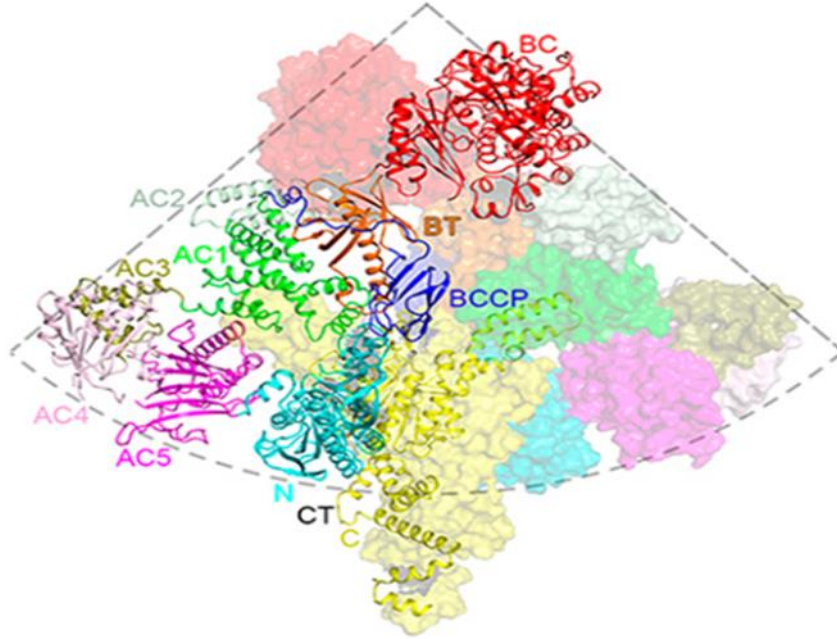
Son zamanlarda ACC enziminin kristal yapısının tanımlanması ile enzimin detaylı bilgileri elde edilmiştir. Yüksek verimli sanal tarama, yapı temelli ilaç tasarımı, moleküler kenetleme gibi teknolojik yöntemlerin kullanılması, çok sayıda güçlü potansiyel ACC inhibitörünün ortaya çıkmasına olanak vermiştir ancak henüz klinik ilaç aşamasına geçilememiştir

ACC enzimini düzenleyen moleküler mekanizmaların ve dinamik yapılarının daha iyi anlaşılması, artan klinik çalışmalarla birlikte yeni ve güçlü ACC inhibitörlerinin geliştirilmesine imkân sağlayacaktır ve gelecekte çeşitli hastalıklara yönelik kullanılacak yaklaşımlarda ACC inhibitörlerini kullanmak doğru bir hedef olacaktır [8].

2. GENEL BİLGİLER

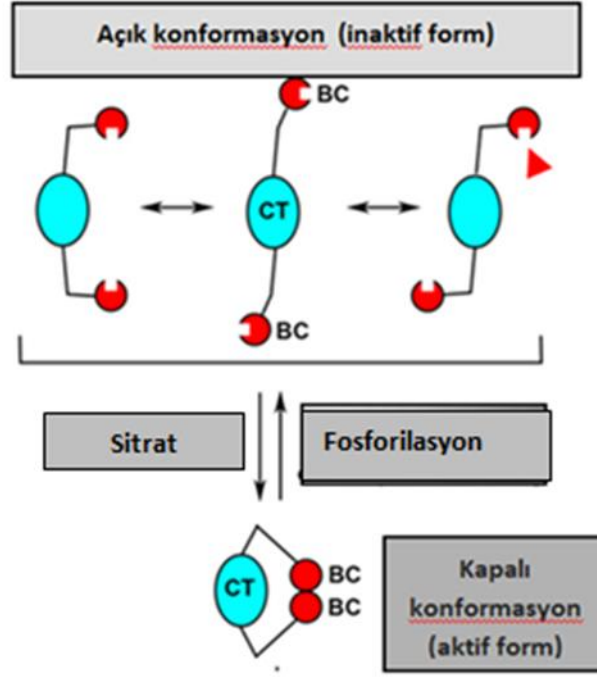
2.1. ACC Enziminin Biyokimyası

Ökaryotik memeli ACC enziminin birincil yapısı birden çok bölümden oluşur; C terminal ucunda karboksiltransferaz (CT) bölgesi, N terminal ucunda biyotin karboksilaz (BC) bölgesi, BC ve CT bölgeleri arasındaki bağlantıyı sağlayan interaksiyon bölgesi (BT), biyotinin kovalent olarak bağlandığı biyotin karboksil taşıyıcı protein (BCCP) ve ökaryotik ACC enzimine spesifik (homoloji göstermeyen) ACC merkezi bölgeden (AC) oluşmaktadır (Şekil 1). AC, kataliz esnasında BC ve CT bölgelerinin doğru bir şekilde konumlanması için yapısal iskele görevi görür.



Şekil 1. İnsan ACC enziminin kapalı, aktif yapısı [8]

BC dimeri, CT dimerine göre daha az karardır ve ACC enzime daha zayıf bağlarla bağlı olmasından dolayı aktif dimerik ve inaktif monomerik formları arasında kolayca geçiş yapabilen konformasyonel esnekliğe sahiptir. BC dimerinin arayüzündeki çukurda konformasyonel değişikliklere neden olan fosforilasyon ve/veya küçük moleküller, ACC enziminin inaktif olduğu açık konformasyonu destekler. Monomerik BC formunun stabilize edilmesi ile, BC bölgesinin dimerizasyonu engellenerek BCCP-biyotin substratının BC bölgesine bağlanması önlenir ve katalitik olarak enzimin inaktif olduğu konformasyona geçilir. BC bölgesi, enzimin inaktif olduğu durumlara neden olabilen çok sayıda konformasyon çeşitliliğine sahiptir. Sitrata, insan ACC1 enziminin aktif olduğu kapalı formu destekleyerek BC dimerizasyonunu stabilize eder (Şekil 2). Memeli ACC enzimi genellikle homodimer olarak bulunmasına rağmen, sitrata varlığında birçok ACC enziminin bir araya gelerek birleşmesi sonucunda polimerleşen ACC filament yapıları meydana gelir ve kriyo-elektron mikroskobu kullanılarak ortaya çıkarılan bu yapı, ACC1-sitrata filamentleri olarak adlandırılır. Palmitoil varlığında ise ACC-sitrata filament yapısı konformasyonel değişikliğe uğrar ve büyük olasılıkla globüler monomerik BC bölgesine eşdeğer olan bir alan ekstrüde edilir ve bu, palmitoil-KoA'nın enzim üzerindeki inhibitör etkisinin moleküler mekanizmasını açıklar. ACC enziminin düzenlenmesinde konformasyonel esneklik oldukça önemlidir. İnsan ACC1 ve ACC2 enziminin tanımlanan kristal yapısı ve ACC enziminin aktif/inaktif konformasyonel dinamiklerinin belirlenmesi, bu enzimin düzenlenmesinde kullanılan moleküler mekanizmalar daha iyi anlaşılmasını ve yeni inhibitörlerin geliştirilmesini sağlayacaktır [9-11].



Şekil 2. ACC enzim regülasyonunun moleküler mekanizması [8]

ACC, biyotin bağımlı merkezi metabolik bir enzimdir. ACC enzimi, üç fonksiyonel bölgenin dâhil olduğu iki basamaklı reaksiyon ile katalizlenmesi sonucunda, yağ asidi biyosentezi için Asetil-KoA' dan Malonil-KoA üretimini gerçekleştirir. İki basamaklı kataliz reaksiyonunun ilk basamağı, biyotin karboksilazın aktifliğini kazanmasıdır. Bu aktivite, ATP'ye bağımlı bir tepkimeyle bikarbonattan gelen CO₂ ile BCCP' ye bağlı bulunan biyotinin BC bölgesinde karboksillenmesi sonucunda gerçekleştirilir. Ayrıca ilk basamakta katalizin başlatılmasında gerekli olan divalent katyonlar (Mg⁺² veya Mn⁺²) ATP koordinasyonu için gereklidir. İkinci basamakta, CT bölgesine yerleşen biyotinin grubu, geçici olarak taşıdığı CO₂'i Asetil-KoA' ya transfer etmesi sonucunda Malonil-KoA üretimini sağlar [12-14].

ACC enziminin katalizi sırasında sallanan kol modeli ve hareketli bölge modelinin geçerliliği kabul edilmiştir. BC aktif bölgesi ve CT aktif bölgesi birbirine 80 Å uzaklıkta olup, biyotinin iki aktif bölge arasındaki bu mesafeye ulaşarak, yer değiştirmesi sağlanır. Sallanan kol modelinde, biyotin, BC ve CT aktif bölgeleri arasında yer değiştirir ve biyotinin BC ve CT aktif bölgeleri arasındaki mesafeyi tamamlayabilmesi için "hareketli bölge modeli" ile BCCP bölgesinin de yer değiştirdiği kabul edilmektedir [15].

Çeşitli organizmalardan izole edilmiş BC, BCCP ve CT bölgeleri incelendiğinde, BC alanının hem monomerik hem de dimerik formlarda bulunabildiği, BCCP alanının monomer olduğu ve CT alanının bir dimer olduğu gösterilmiştir [16].

2.2. ACC Enziminin Biyolojik Fonksiyonu

Memelilerde ACC enziminin farklı genler tarafından kodlanan, ACC1 (ACC α , 265kDa) ve ACC2 (ACC β , 275kDa) olmak üzere iki izoformu bulunmaktadır. ACC1 ve ACC2 enzimlerinin amino asit dizileri %75 ortaktır ve enzim aktivitesi için korunmuş bölgelere sahiptir. Hormon ve beslenme durumuna karşı duyarlı olan bu iki izoformun dokulardaki dağılımları ve hücresel yerleşimleri farklılık gösterir.

Her iki izoform aralarında yüksek homoloji göstermesine rağmen, ACC2 enziminin N terminal ucu, ACC1 enzimine kıyasla fazladan 114 amino asit içermektedir ve CPT1 (Karnitin palmitoil transferaz-I) enzimine yakın olan mitokondriyal hedef motifine sahiptir. Böylece yağ asidi oksidasyonunun düzenlenmesini sağlayabilmektedir. Sitozolda yerleşim gösteren çoğunlukla beyaz adipoz doku ve karaciğer gibi lipogenik dokularda bulunan ACC1, de novo yağ asidi sentezi için sitoplazmik Asetil-KoA' yı Malonil-KoA' ya dönüştürmekle görevlidir. Mitokondriyal dış membranında lokalize olan, çoğunlukla iskelet kası ve kalp gibi büyük mitokondriyal içeriğe ve yüksek oksidatif kapasiteye sahip olan oksidatif dokularda bulunan ACC2, Malonil-KoA tarafından CPT1 enziminin inhibe edilmesi ile yağ asitlerinin beta oksidasyonunu sınırlandırmakta görevlidir. Yağ asidi sentezi tarafından kontrol edilebilen hücre içi metabolik yollar arasındaki geçişler ile kanser ve metabolik hastalıkların ilerlemesi için gerekli enerji ve molekül ihtiyaçlar karşılanabilmektedir. ACC1, yağ asidi sentezinde merkezi bir enzim olmasından dolayı yağ asidi sentezi ile ilişkili diğer metabolik yolların da merkezi olarak kabul edilmektedir bu nedenle metabolik hastalıklarda ACC1 enziminin düzensizlikleri yoğun bir şekilde incelenmiştir. Ayrıca kofaktör olarak görevli olan Asetil-KoA ve Malonil-KoA, sırasıyla protein asetilasyonu ve malonilasyonundan sorumlu olduğu için hastalıklarda ACC1 enziminin metabolik olmayan farklı fonksiyonları ile ilgili çalışmalar yapılmaktadır. ACC, bu nedenle metabolik hastalıkların tedavisi için umut verici bir terapötik hedef olarak kabul edilmektedir [17].

2.3. ACC Enziminin Düzenlenmesi

ACC enziminin aktivitesi, hücrenin metabolik durumuna bağlı olarak gen ifadesi seviyesinde, fosforillenme-defosforillenme çevriminde kovalent modifikasyon ve geri bildirim/ ileri besleme döngülerinde allosterik modülatörler ile sıkı bir şekilde düzenlenir.

ACC gen ekspresyonu, yüksek glukoz diyeti sonrasında, insülin yolağı aracılığı ile aktive edilen sterol düzenleyici element bağlayıcı proteinler (SREBP1a ve SREBP1c) ve karbonhidrat yanıt elementi bağlayıcı protein (ChREBP) tarafından uyarılır. ACC enzimi, hormonal olarak kontrol edilen geri dönüşümlü fosforilasyon mekanizmaları ile düzenlenmektedir. Özellikle hücresel enerji homeostazında sensör olarak görevli AMP ile aktive olan protein kinaz (AMPK), ACC enziminin önemli bir düzenleyicisidir. Metabolik stres, glukoz ihtiyacı ve hipoksi koşullarında, ACC1 enziminin Ser-79 rezidülerinin ve ACC2 enziminin Ser-212 rezidülerinin, AMPK tarafından fosforillenmesi ile inaktif enzim yapısına geçiş sağlanır. Böylece sitrat ve palmitoil-KoA tarafından ACC'nin allosterik düzenlenmesi ve AMPK tarafından gerçekleştirilen fosforilasyon aracılığı ile enzimde konformasyonel değişiklikler meydana gelmektedir [18,19]. ACC enziminin allosterik düzenlenmesi, metabolik değişiklikler ile ilişkili metabolitler tarafından sağlanmaktadır. Asetil-KoA öncülü olan sitozolik sitrat ve glutamat tarafından enzimin aktivasyonu ve yağ asidi sentezinin son ürünü olan palmitoil-KoA tarafından enzimin inaktivasyonu gerçekleştirilir. Glutamat' ın ACC enzimini allosterik olarak aktive edebilmesi, amino asit metabolizmasından gelen sinyallerin yağ asidi metabolizması üzerinde etkisinin olduğunu düşündürmektedir.

Yakın tarihli bir çalışma, uzun zincirli yağ asidi-KoA esterlerinin, AMPK aktivatörü olduğunu ve böylece ACC enzim aktivitesini allosterik ve kovalent olmak üzere çift modlu mekanizma ile inhibe ederek, yağ asidi oksidasyonunu başlattığını ilk kez ortaya koymuştur [20,21]. ACC enzim aktivitesi; besinler, protein kinazlar, allosterik düzenleyiciler ve transkripsiyonel faktörler gibi çok sayıda faktör tarafından düzenlenmektedir. Bu düzenleyici faktörlerde meydana gelen düzensizlikler metabolik hastalıkların gelişimi ile ilişkili sinyallere neden olur.

3. ACC Enziminin Terapötik Etkileri

3.1. Terapötik Hedef Olarak ACC Enzimi

Lipogenez sürecinde meydana gelen düzensizlikler, obezite, diyabet, NAYKH gibi metabolik hastalıklara neden olabilmektedir. Yağ asidi sentezinde merkezi role sahip olan ACC enziminde ve bu enzimi düzenleyen faktörlerde gerçekleşen düzensizlikler, metabolik hastalıkların ilerlemesi ile doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle ACC enzim aktivitesini sınırlandırmaya yönelik ACC nakavt fareler ile yapılan çalışmalar, metabolik hastalıkların gelişiminde ACC enziminin rolünü anlamaya yardımcı olan güçlü tekniklerdir.

Dokulardaki farklı dağılımlarından dolayı, ACC1 ve ACC2 enzimlerinin seçici inhibisyonu farklı fizyolojik durumları beraberinde getirmektedir. ACC1 nakavt farelerde enzimin tüm vücutta eksikliği embriyonik ölüme neden olmuştur [22]. ACC1 enziminin pankreatik beta hücrelerinde nakavt edilmesi ile glukoz intoleransı ve insülin salınımında bozukluklar meydana gelmiştir. Glukoz homeostazı için gerekli olan insülin salınımının gerçekleştirilmesinde ve beta hücre fonksiyonunun sağlanmasında ACC1 enziminin gerekli olduğu son yapılan çalışmalarda kanıtlanmıştır. Böylece ACC1 enziminin, beta hücre yetmezliği sonucunda gelişen Tip 2 diyabet durumunda, beta hücre gelişimini sağladığı ve insülin salınımını güçlendirdiği gösterilmiştir [23]. Ayrıca yapılan bir diğer çalışmada, karaciğere özgü ACC1 nakavt farelerin karaciğerinde, aşırı beslenmeye bağlı trigliserit birikiminin yabani tip farelerinkinden %40-70 daha düşük olduğu gösterilmiştir [24].

ACC2 delesyonu ise, yağ asidi oksidasyonunun artması ve lipid birikiminin azalması ile sonuçlanmıştır. Ayrıca insülin duyarlılığının gelişmesi ile birlikte tüm vücutta insülin direncinin düzeltildiği ortaya koyulmuştur. Böylece farmakolojik ACC2 inhibisyonu, insülin direncinin tedavisinde terapötik bir yol olarak kabul edilmektedir. Yüksek yağlı ve şekerli diyetle maruz bırakılan ACC2 nakavt farelerin yaşam sürelerinde yabani tip farelere kıyasla bir değişiklik olmamıştır. Adipoz doku yağ asidi oksidasyonunda ve glukoz oksidasyonunda eş zamanlı artış görülmüştür ve böylece vücut kitesinde azalma meydana gelmiştir. Sonuç olarak, diyet ile indüklenen obezitenin ACC2 inhibisyonu ile önlenildiği gösterilmiştir [25,26]. İskelet kasında intramiyoselüler lipid içeriğinin artması insülin direnci ile yakından ilişkilidir. ACC2 nakavt farelerde yüksek yağlı diyet koşullarında bile intramiyoselüler lipid içeriğinin azaldığı görülmüştür. Bu çalışma ile ACC2 enziminin insülin direncine yönelik terapötik potansiyele sahip olduğu ortaya koyulmuştur [27]. Yüksek yağlı diyet ile beslenen ACC2 nakavt fareler ile yapılan deneylerde, insülin aracılığı ile glukozun hücre içine alındığı sinyal yolağının, AKT fosforilasyonu ile aktive olduğunu ve böylece diyabetten korundukları gösterilmiştir [28]. Diyet ile indüklenen NAYKH model ratlarda antisens oligonükleotid tekniği kullanılarak seçici (ACC1 veya ACC2) ve seçici olmayan (ACC1 ve ACC2) inhibisyonlarının hepatik lipid değerleri ve insülin duyarlılığı üzerindeki etkileri araştırılmıştır. ACC1 ve ACC2 enzimlerinin eş zamanlı inhibisyonu, seçici inhibisyona oranla hepatik yağ oksidasyonu artışında daha etkili olmuştur. Böylece NAYKH model ratlarda hepatik yağ oranının azaldığı ve hepatik insülin duyarlılığının kuvvetlendiği gösterilmiştir [29].

ACC enzimine yönelik geliştirilen alanin mutant fare modelinde, yüksek yağlı diyetle bağlı olarak gelişen insülin direnci, glukoz intoleransı ve NAYKH görülmemiştir. Çünkü alanin mutant fare modelinde eş zamanlı olarak ACC1 (Ser79) ve ACC2 (Ser212) bölgelerinin AMPK tarafından fosforilasyonu engellenmiştir [30].

Aşırı beslenme ve obezite durumunda artan ACC1 enzim aktivitesinin, lipogenezin hızlanması sonucunda hepatositlerde trigliserit birikimine neden olduğu ve NAYKH gelişiminden sorumlu olduğu gösterilmiştir. [31]. Hayvan deneylerine ek olarak insanlar üzerinde yapılan araştırmalar, obezite ve tip 2 diyabet görülen hastalarda artan ACC2 aktivitesinin ve Malonil-KoA değerlerinin düşük AMPK seviyeleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir [32]. Sağlıklı gönüllülerin katıldığı bir diğer çalışmada, üç aylık egzersiz programı uygulanmıştır ve çalışma süresi boyunca ACC2 mRNA seviyelerinde azalma ve yağ asidi oksidasyonunda artış olduğu kanıtlanmıştır [33].

ACC enzimi, metabolik süreçlerdeki fonksiyonu ile birlikte ayrıca hücre sinyal yollarının düzenlenmesinde oldukça önemli role sahiptir. Yağ asitleri, Asetil-KoA ve Malonil-KoA efektör molekül olarak hücre sinyalizasyonuna katılırlar. Örneğin, eikozanoid gibi çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA), karaciğerde lipogenezi düzenleyen SREBP1c aktivitesinden sorumlu sinyal molekülüdür. Bu nedenle ACC enzimi özellikle karaciğer hastalıklarının tedavisinde bir hedef olarak kabul edilmektedir [34].

Metabolik hastalıkların gelişiminde seçici ACC inhibisyonunun, metabolik parametreleri düzenleyebildiği gösterilmiştir ancak sonraki çalışmalar izozimlerden birinin diğerinin inhibisyonunu metabolik kompanse mekanizması ile baskılayabildiğini göstermiştir. Metabolik kompanse mekanizmasında ACC enzim inhibisyonuna rağmen Malonil-KoA değerlerinin korunduğu bu durum, Malonil-KoA dekarboksilaz enziminin ifadesi ile ilişkilidir [35,36].

Bu bulgular, obezite, tip 2 diyabet ve NAYHK gibi diyet ile indüklenen metabolik hastalıklarda ACC enziminin önemini ve ACC enziminin, metabolik hastalıkların tedavisine ışık tutabilecek terapötik bir hedef olduğunu ortaya koymaktadır. Yüksek yağlı diyet koşullarında eş zamanlı olarak ACC1 inhibisyonu ile lipogenik dokularda lipogenez sınırlandırılırken, ACC2 inhibisyonu ile oksidatif dokularda yağ asidi oksidasyonu uyarılır (Şekil 3). Böylece ACC1 ve ACC2 dual inhibisyonu metabolik hastalıklara yönelik daha etkili terapötik sonuçlar sunabilmektedir.

3.2. ACC Enzim İnhibisyonunun Güvenlik Durumları

Metabolik hastalıklara yönelik izlenen stratejilerden biri olan ACC enzim inhibisyonu, potansiyel terapötik etkilere sahiptir. ACC enzimi, metabolik fonksiyonlarından bağımsız olarak hücrenin fizyolojik süreçlerini düzenleyebilmektedir. Bu nedenle ACC enzim inhibisyonu terapötik etkilerin dışında farklı durumları da beraberinde getirebilmektedir.

ACC inhibisyonu ile azalan Malonil-KoA değerleri, SREBP1c ve gliserol-3-fosfat asiltransferaz (GPAT) aktivitesini düzenleyen hepatik PUFA miktarının konsantrasyonunun azalmasına yol açmaktadır. Azalan PUFA miktarı ile SREBP1c aktivitesinin artması sonucunda hepatik VLDL salınımı uyarılır ve hipertrigliseridemi gelişir. Hipertrigliseridemi, fare ve insan deneylerinde uzun süreli ACC inhibisyonu sonucunda gözlenen istenmeyen bir durumdur ve kardiyovasküler yan etkilere neden olabilmektedir.

Yapılan çalışmalar ACC inhibisyonu ile gelişen hipertrigliseridemini, omega-3 yağ asidi veya fenofibrat ile kontrol edilebildiğini göstermiştir. Böylece uzun süreli ACC inhibisyonu ile özellikle NAYKH' ye yönelik etkili terapötik avantajlar elde edilirken, oluşan kardiyovasküler risk ortadan kaldırılabilir ve bununla ilgili çalışmalar devam etmektedir [37,38].

Enerji homeostazında kritik öneme sahip olan Malonil-KoA, beyinde doyma sinyali ile birlikte besin alımının negatif düzenleyicisi olarak beslenme davranışı ve iştah kontrolünde rol oynamaktadır. Bu nedenle, ACC inhibisyonu, Malonil-KoA seviyelerinin azalmasına neden olarak iştahın ve besin alımının artması ile hiperfajiye neden olabilmektedir. ACC inhibisyonunun terapötik etkilerini azaltabilecek bu durum, kan-beyin bariyerini geçmeyen ACC inhibitörlerinin geliştirilmesi ile engellenebilmiştir [39].

ACC tarafından kontrol edilebilen Asetil-KoA ve Malonil-KoA, sırasıyla protein asetilasyonu ve malonilasyonunda kofaktörler olarak hücrelerin protein fonksiyon ve çeşitliliğini artırmak üzere kullanılan posttranslasyonel modifikasyonları ve böylece hücrelerde önemli biyolojik faaliyetleri etkileyebilmektedirler. Yapılan bir çalışmada ACC enziminin kontrol ettiği hücre içi Asetil-KoA konsantrasyonu ile düzenlenen protein asetilasyonunun hastalık gelişiminde oldukça önemli olduğunu göstermiştir. ACC ile ilişkili hiperasetilasyonun altında yatan mekanizmalar henüz tam olarak anlaşılabilmiştir [40,41]. Protein modifikasyonlarında ACC enziminin düzenleyici etkileri ve hastalıklarla ilişkilerinin daha iyi anlaşılması için yapılacak çalışmalar bu hastalıkların tedavisinde ACC enzimlerine yönelik terapötik stratejilerin geliştirilmesini sağlayacaktır.

3.3. ACC Enzimine Yönelik Küçük Molekül İnhibitörler

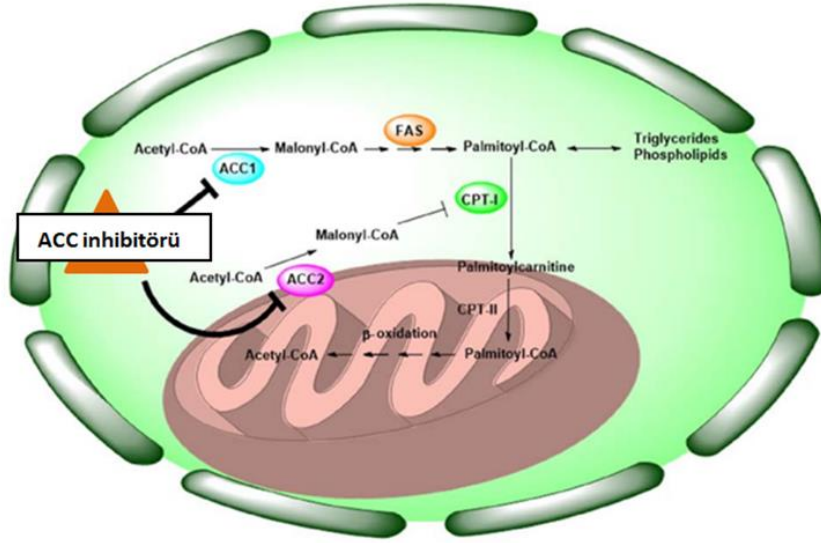
Metabolik süreçler ve hücre fizyolojisi ile ilgili biyolojik faaliyetlerin önemli bir parçası olan ACC enziminin moleküler yapısı ve metabolik hastalıklar ile doğrudan ilişkili olduğunu gösteren çok sayıda çalışmadan elde edilen bulgulardan faydalanılarak, sayısız ACC inhibitör madde geliştirilmiştir. Bu inhibitörlerden bazıları klinik faz aşamasına kadar gelebilmiştir [42-45]. ACC enziminin küçük molekül inhibitörleri, CT bölgesini ve BC bölgesini inhibe ederek etkinliklerini gösterirler.

ACC enziminin BC bölgesinde bulunan dimerizasyon alanında bulunan hidrofilik cep, memeli karboksilazlarından sadece ACC enzimine özgü olmasından dolayı bu bölgeye üstün fizyokimyasal özellikler sağladığı için farmasötik hedef olarak oldukça ilgi çekmektedir. ACC enziminin BC bölgesine yönelik inhibitörler, BC bölgesinde dimerizasyonunu engelleyerek ACC enziminin inaktivasyonunu gerçekleştirirler [46].

Birinci nesil ACC enzim inhibitörlerinden biri olan ve doğada bulunan Soraphen A, mikrobakteri türü olan *Sorangium cellulosum* bakterisinden elde edilmektedir ve enzime BC dimerinin arayüzünden bağlanıp, AMPK fosforilasyonunu taklit ederek BC dimerizasyonunu engellenmesi ile ACC enzim aktivitesini önleyen seçici olmayan ACC1 ve ACC2 inhibitörüdür. Diyet ile indüklenen obezitede gelişen insülin direncini düzenleyerek steatozun iyileşmesini desteklemesi prelinik çalışmalar ile ortaya koyulmuştur. ACC enziminin Soraphen A ile oluşturduğu kompleksin karakterize edilmesi, yapı temelli ilaç tasarım teknikleri kullanılarak gerçekleştirilen optimizasyon çalışmaları ile metabolik kararlılığı yüksek, daha güçlü biyolojik aktiviteye sahip inhibitörlerin geliştirilmesine öncülük etmektedir [47,48].

BC dimerizasyon alanında bulunan serin rezidülerinin AMPK tarafından fosforilasyonu ile ACC enziminin inhibe edildiği mekanizmayı taklit eden GS-0976/ND-630 inhibitörü, seçici olmayan dual ACC1 ve ACC2 inhibitörüdür. Obezite ile ilişkili metabolik sendromun tedavisinde ve hepatik lipogenezin azaltılmasında oldukça etkili olduğu ortaya koyulmuştur. Ayrıca GS-0976/ND-630 inhibitörü ile hepatik steatozda ve hiperinsülinemide düzelmeye sağlanır. GS-0976/ND-630 inhibitörünün kombine çalışmaları ile fibrozis ve siroz evresine geçiş yapmakta olan hastalarda çok iyi sonuçlar elde edilmiştir ve klinik çalışmalar devam etmektedir. Ayrıca önemli bir sonuç olarak yeni nesil GS-0976/ND-630 inhibitörü karaciğer hedefli olup, kan beyin bariyerini geçmediğinden, azalan hipotalamik Malonil-KoA değerlerinin neden olduğu iştah artışı görülmeksizin dislipidemiye hafifletmesi ve trombosit üretimini etkilememesi oldukça avantajlı bir durumdur [49-51].

ACC enziminin CT bölgesinde biyotinin bağlanmasını önleyerek etkinliğini gösteren seçici olmayan ACC inhibitörlerinden CP-640186, klinik öncesi aşamaya gelmiştir ve optimizasyon çalışmaları devam etmektedir (Şekil 3). CP-640186 türevli inhibitör, yüksek yağ diyetinin neden olduğu kilo artışını ve obeziteye bağlı metabolik sendromu düzenlediği gösterilmiştir [52,53]. CP-640186 ile gerçekleştirilen sonraki çalışmalar ile geliştirilen karaciğere yönelik seçici olmayan ACC1 ve ACC2 inhibitörü PF-05221304 için faz II klinik çalışmalar tamamlanmıştır. NAYKH ve steatohepatite yönelik etkisini serum trigliserit değerlerini yükseltmeden ve trombosit üretimini etkilemeden göstermesi gelecekte başarılı bir ilaç adayı olma potansiyeli olduğunu göstermektedir. Ayrıca HbA1c değerlerini düşürdüğü ve antidiyabetik özelliklere sahip olduğu ilk kez kanıtlanmıştır [54-57].



Şekil 3. ACC inhibitörlerinin etki mekanizmalarının şematik gösterimi [53]

İskelet kasında intramiyoselüler lipid içeriğinin artması ile yakından ilişkili olan insülin direnci, ACC enziminin farmakolojik inhibisyonu sonucunda intramiyoselüler lipid konsantrasyonunun azaltılması ile düzenlenebilmektedir. Bu inhibitör ACC2 enzimine karşı oldukça seçiciliği yüksektir ve kas dokusunda Malonil-KoA değerlerini düşürürken, karaciğerdeki Malonil-KoA değerlerinde bir değişiklik oluşturmamıştır. Olefin türevli seçici ACC2 inhibitörü, antidiyabetik etkileri ile insülin direnci ve tip 2 diyabet tedavisine yönelik yeni yaklaşımlar sunmaktadır. Ayrıca geliştirilmiş güvenlik profili ile hedeflenmeyen metabolik yolları etkilememesi, daha önce ortaya çıkan ACC2 inhibitörlerinden daha güçlü olduğunu göstermektedir [58].

4. TARTIŞMA

Yağ asidi sentezi, hücrenin ihtiyaçlarına göre karbon ve enerji kaynaklarının depolanmasını veya kullanılmasını kontrol ederek glukoz ve amino asit metabolizması gibi diğer metabolik yolları da düzenleyebilmektedir. Bu nedenle yağ asidi sentezinde meydana gelen düzensizlikler obezite, insülin direnci, tip 2 diyabet, NAYKH gibi metabolik hastalıkların gelişimini uyarabilmektedir. ACC enzimi, yağ asidi sentezi ile ilişkili metabolik ağın çekirdeği olmasının yanında hücre sinyalizasyonundaki fonksiyonları ile hücrenin fizyolojik ve patofizyolojik süreçlerini düzenler. Bu nedenle metabolik hastalıklara yönelik terapötik stratejilerin geliştirilmesinde ACC enzimi oldukça ilgi çekici bir hedef olarak görülmektedir.

ACC enzim aktivitesinin düzenlenmesinde besinler, transkripsiyon faktörleri, metabolik ürünler, hormonlar gibi çok sayıda faktör etkilidir. ACC enziminin düzenlenmesinde aktif ve inaktif formları arasında konformasyon çeşitliliğine neden olan BC dimer ara yüzündeki ve ACC filamentindeki etkileşimler oldukça önemlidir. ACC enzim aktivitesini düzenleyen faktörler ve farklı konformasyonların daha iyi anlaşılması, metabolik hastalıklara karşı ACC enzimini hedefleyen yeni stratejilerin geliştirilmesine olanak sağlayacaktır. Ayrıca ACC enziminin metabolik ağdaki ve metabolik ağdan bağımsız fonksiyonları göz önünde bulundurulduğunda, ACC enzime yönelik çok yönlü düzenlemeler ile terapötik hedeflerin gerçekleştirilmesi, metabolik güvenliğin sağlanması açısından önemlidir.

ACC enziminin metabolik hastalıklardaki öneminin anlaşılmasına yönelik yapılan in vivo çalışmalardan ACC nakavt fare deneyleri, ACC antisens oligonükleotidleri, alanine mutant fare deneyleri ile seçici (ACC1 veya ACC2) ve seçici olmayan (ACC1 ve ACC2) ACC enzim inhibisyonunun etkileri değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ACC1 ve ACC2' nin seçici olmayan dual inhibisyonunun, ACC1 veya ACC2 seçici inhibisyonundan daha etkili olduğuna dair görüşler çoğunluktadır ve geliştirilen ACC enzim inhibitörlerinin çoğunun seçici olmayan dual ACC1/ACC2 inhibitörü olması bir tesadüf değildir. Genetik çalışmalar, ACC2 nakavt farelerin normal ve sağlıklı fenotipe sahip olduğunu ve diyet ile indüklenen obezitede, yabancıl farelere kıyasla yağ asidi oksidasyonunun daha yüksek ve vücut ağırlıklarının daha düşük olduğunu göstermiştir. Bu nedenle dokuya yönelik seçici ACC2 inhibitörleri, metabolik hastalıklara yönelik güvenli terapötik hedef olarak literatürde yerini almıştır. ACC2 inhibisyonunun oldukça etkili olduğunu gösteren çalışmalar vardır ancak Olson ve arkadaşları (2010) ACC1 enziminin ACC2 enzim inhibisyonunun etkilerini ortadan kaldırdığı kompanse mekanizmasına sahip olduğunu göstermiştir. İstenilen farmakolojik yanıtın elde edilmesinde ACC1/ACC2 dual inhibisyon veya ACC2 seçici inhibisyon arasından en etkili olanın saptanmasında daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

ACC enzim inhibisyonuna yönelik aydınlatılması gereken diğer konulardan biri, sistemik veya organa özgü DNL inhibisyon hedeflerinden hangisinin tercih edileceği ve inhibisyonun ne oranda olacağına saptanmasıdır. ACC inhibitörlerinin uzun süreli ve aşırı derecede uygulanması bazı yan etkilere neden olabilmektedir. Bu nedenle dokuya özgü optimize edilmiş inhibitörlerin ideal inhibisyon oranlarının uygulanması ile yan etkiler önlenebilecektir. Risk faktörlerinin iyi değerlendirilerek, inhibitörlerin oluşturduğu farklı yanıtların anlaşılması, etkili çözüm stratejilerinin sunulmasına yardımcı olacaktır

Henüz tedavi onayı alan bir ACC inhibitörü yoktur ancak metabolik hastalıklar üzerinde oldukça güçlü terapötik etkilere sahip olan çok sayıda ACC inhibitörü prelinik ve klinik faz aşamalarına kadar gelebilmiştir. Genetik ve farmakolojik ACC inhibisyonu sonucunda obezite, tip 2 diyabet, NAYKH ve insülin direncinin tedavisine yönelik umut verici terapötik sonuçlar elde edilmiştir. Özellikle karaciğerde lipid içeriğinin artması ile birlikte ortaya çıkan NAYKH patofizyolojisi oldukça karmaşıktır ve non-alkolik steatohepatit (NASH), siroz ve hepatoselüler karsinoma evrelerinden geçerek ilerleyebilmektedir. NAYKH tedavisine yönelik ilaçların etkileri sınırlıdır ve bu metabolik hastalığın tedavisine yönelik ilaçların geliştirilmesine ihtiyaç vardır. NAYKH' nin tedavisine yönelik yeni nesil terapötik ACC inhibitörleri klinik çalışmalarda oldukça ilerlemiştir. Özellikle karaciğere yönelik optimize edilmiş yeni nesil bu inhibitörler serum trigliserit seviyelerini yükseltmeden etkinliklerini gösterirler. Örneğin Bergman ve arkadaşları (2020) tarafından yapılan çalışmada, PF-05221304 inhibitörü hepatik lipogenezi inhibe ederken, trombosit sayısında azalma ve serum trigliserit seviyelerini yükseltme gibi yan etkiler göstermediğini kanıtlamışlardır.

Sanal tarama, yapı temelli ilaç tasarımı ve moleküler kenetleme tekniklerinin kullanılması ile yeni nesil inhibitörlerin geliştirilmesi için çalışmalar devam etmektedir ve bu prototip inhibitörler gelecekte ilaç geliştirme çalışmalarına hizmet ederek, metabolik hastalıklara yönelik ümit verici potansiyel tedavi imkânı sunacağı düşünülmektedir. Bir dizi ACC inhibitörünün etkinliği ve gücü kanıtlanmıştır ve bunlardan bazıları klinik deney aşamalarında onaylanmıştır. Bu inhibitörlerin tedavi amaçlı kullanılabilmesi için bu alanda çok fazla araştırmanın gerçekleştirilmesi gerekir.

ÇIKAR ÇATIŞMASI/ÇAKIŞMASI BİLDİRİMİ

Yazarlar arasında çıkar çatışması/çakışması bulunmamaktadır.

KAYNAKLAR

- [1] Hotamisligil, G. S. and Ertunc, M. E. (2016). Lipid signaling and lipotoxicity in metaflammation: indications for metabolic disease pathogenesis and treatment. *Journal of Lipid Research*, 57, 2099–2114.
- [2] Smedley, I. and Lubrzynska, E. (1913). The biochemical synthesis of the fatty acids. *Biochemistry Journal*, 7, 364–374.
- [3] Batchuluun, B., Pinkosky, S. L. and Steinberg, G. R. (2022). Lipogenesis inhibitors: therapeutic opportunities and challenges. *Nature Reviews Drug Discover*, 4, 283-305.
- [4] Lenhard, J. M. (2011). Lipogenic Enzymes as Therapeutic Targets for Obesity and Diabetes. *Current Pharmaceutical Design*, 17, 325-331.
- [5] Chen, L., Duan, Y., Wei, H., Ning, H., Bi, C., Zhao, Y., Qin, Y. & Yiliang, L. (2019). Acetyl-CoA carboxylase (ACC) as a therapeutic target for metabolic syndrome and recent developments in ACC1/2 inhibitors. *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 382(8), 727-733.
- [6] Xin, W. & Tonghui, H. (2020). Recent development in acetyl-CoA carboxylase inhibitors and their potential as novel drugs. *Future Medicinal Chemistry*, 12(6), 27-34.
- [7] Harriman, G., Greenwood, J., Bhat, S., Huang, X., Wang, R., Paul, D., Tong, L., Saha, A. K., Westlin, W. F., Kapeller, R., and Harwood, H. J., Jr. (2016). Acetyl-CoA carboxylase inhibition by ND630 reduces hepatic steatosis, improves insulin sensitivity, and modulates dyslipidemia in rats. *The Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.*, 113, E1796–E1805.
- [8] Wei, J. and Tong, L. (2018). How does polymerization regulate human acetyl-CoA carboxylase 1? *Biochemistry*, 57(38), 5495–5496.
- [9] Wei, J. and Tong, L. (2015). Crystal structure of the 500-kDa yeast acetyl-CoA carboxylase holoenzyme dimer. *Nature*, 526(7575), 723–727.
- [10] Hunkeler, M., Hagmann, A., Stutfeld, E., Chami, M., Guri, Y., Stahlberg, H. and Maier, T. (2018). Structural basis for regulation of human acetyl-CoA carboxylase. *Nature*, 558(7710), 470–474.
- [11] Wei, J. and Zhang, Y. X., Yu, T. Y. (2016). A unified molecular mechanism for the regulation of acetyl-CoA carboxylase by phosphorylation. *Cell Discovery*, 2, 16044–16055.
- [12] Tong, L. (2005). Acetyl-coenzyme a carboxylase: crucial metabolic enzyme and attractive target for drug discovery. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(16), 1784–1803.
- [13] Kim, K. H. (1997). Regulation of mammalian acetyl-coenzymeA carboxylase. *Annual Review of Nutrition*, 17, 77–99.
- [14] Tong, L. (2013). Structure and function of biotin-dependent carboxylases. *Cellular and Molecular Life Science*, 70(5), 863–891.
- [15] Perham, R. N. (2000). Swinging arms and swinging domains in multifunctional enzymes: catalytic machines for multistep reactions. *Annual Review of Biochemistry*, 69, 961–1004.
- [16] Wang, Y., Yu, W., Li, S., Guo, D., He, J., and Wang, Y. (2022). Acetyl-CoA Carboxylases and Diseases. *Frontiers in Oncology*, 12, 836058.
- [17] Abu-Elheiga, L., Brinkley, W.R., Zhong, L. (2000). The subcellular localization of acetyl-CoA carboxylase 2. *The Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.*, 97, 1444–1449.
- [18] Brownsey, R. W., Boone, A. N., Elliott, J. E., Kulpa, J. E. & Lee, W. M. (2006). Regulation of acetyl-CoA carboxylase. *Biochemical Society Transactions*, 34, 223–227.
- [19] Ha, J., Daniel, S., Broyles, S. S. & Kim, K. H. (1994). Critical phosphorylation sites for acetyl-CoA carboxylase activity. *J. Biol. Chem.*, 269, 22162–22168.
- [20] Vagelos, P.R., Alberts, A.W. and Martin, D.B. (1962). The mechanism of tricarboxylic acid cycle regulation of fatty acid synthesis. *Journal of Biological Chemistry*, 237(6), 1787–92.
- [21] Boone, A.N., Chan, A., Kulpa, J.E., Brownsey, R.W. (2000). Bimodal Activation of Acetyl CoA Carboxylase by Glutamate. *Journal of Biological Chemistry*, 275, 10819–25.
- [22] Abu-Elheiga, L., Matzuk, M.M., Kordari, P., Oh, W., Shaikenov, T., Gu, Z., Wakil, S.J. (2005). Mutant mice lacking acetyl-CoA carboxylase 1 are embryonically lethal. *The Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.*, 102(34), 12011-12016.
- [23] Cantley, J., Davenport, A., Vetterli, L., Nemes, N.J., Whitworth, P.T., Boslem E. (2019). Disruption of Beta Cell Acetyl-CoA Carboxylase-1 in Mice Impairs Insulin Secretion and Beta Cell Mass. *Diabetologia*, 62, 99–111.
- [24] Abu-Elheiga, L., Matzuk, M.M., Abo-Hashema, K.A., Wakil, S.J. (2001). Continuous Fatty Acid Oxidation and Reduced Fat Storage in Mice Lacking Acetyl-CoA Carboxylase 2. *Science*, 291, 2613–2626.
- [25] Takagi, H., Tanimoto, K., Shimazaki, A., Tonomura, Y., Momosaki, S., Sakamoto, S., Abe, K., Notoya, M., and Yukioka, H. (2019). A Novel Acetyl-CoA Carboxylase 2 Selective Inhibitor Improves Whole-Body Insulin Resistance and Hyperglycemia in Diabetic Mice through Target-Dependent Pathways. *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 372, 256–263.

- [26] Abu-Elheiga, L., Oh, W., Kordari, P., Wakil, S. J. (2003). Acetyl-CoA carboxylase 2 mutant mice are protected against obesity and diabetes induced by high-fat/highcarbohydrate diets. *The Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.*, 100, 10207–10212.
- [27] Takagi, H., Ikehara, T., Kashiwagi, Y., Hashimoto, K., Nanchi, I., Shimazaki, A., Nambu, H., Yukioka, H. (2018). ACC2 deletion enhances IMCL reduction along with acetyl-CoA metabolism and improves insulin sensitivity in male mice. *Endocrinology*, 159, 3007–3019.
- [28] Abu-Elheiga, L., Wu, H., Gu, Z., Bressler, R., Wakil, S.J. (2012). Acetyl-CoA Carboxylase 2-/- Mutant Mice are Protected Against Fatty Liver Under High-Fat, HighCarbohydrate Dietary and De Novo Lipogenic Conditions. *Journal of Biological Chemistry*, 287, 12578–88.
- [29] Savage, D. B., Choi, C. S., Samuel, V. T., Liu, Z. X., Zhang, D., Wang, A., Zhang, X. M., Cline, G. W., Yu, X. X., Geisler, J. G., Bhanot, S., Monia, B. P., Shulman, G. I. (2006). Reversal of diet-induced hepatic steatosis and hepatic insulin resistance by antisense oligonucleotide inhibitors of acetyl-CoA carboxylases 1 and 2. *Journal of Clinical Investigation*, 116, 817–824.
- [30] Fullerton, M.D., Galic, S., Marcinko, K. (2013). Single phosphorylation sites in ACC1 and ACC2 regulate lipid homeostasis and the insulin-sensitizing effects of metformin. *Nature Medicine*, 19(12), 1649–1654.
- [31] Alves-Bezerra, M., Cohen, D.E. (2017). Triglyceride Metabolism in the Liver. *Comprehensive Physiology*, 8, 1–8.
- [32] Bandyopadhyay, G.K., Yu, J.G., Ofrecio, J., Olefsky, J.M. (2006). Increased malonyl-CoA levels in muscle from obese and type 2 diabetic subjects lead to decreased fatty acid oxidation and increased lipogenesis; thiazolidinedione treatment reverses these defects. *Diabetes*, 55(8), 2277–2285.
- [33] Schrauwen, P., van Aggel-Leijssen, D. P. C., Hul, G., Wagenmakers, A. J. M., Vidal, H., Saris, W. H. M., van Baak, M. A. (2002). The Effect of a 3-Month Low-Intensity Endurance Training Program on Fat Oxidation and Acetyl-CoA Carboxylase-2 Expression. *Diabetes*, 51, 2220–2226.
- [34] Wang, M., Ma, L.J., Yang, Y., Xiao, Z., Wan, J.B. (2019). N-3 Polyunsaturated Fatty Acids for the Management of Alcoholic Liver Disease: A Critical Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, 116–129.
- [35] Olson, D. P., Pulinilkunnil, T., Cline, G. W., Shulman, G. I., and Lowell, B. B. (2010). Gene knockout of *Acc2* has little effect on body weight, fat mass, or food intake. *The Proceedings of the National Academy of Sciences U. S. A.*, 107, 7598–7603.
- [36] Mizojiri, R., Asano, M., Tomita, D., Banno, H., Nii, N., Sasaki, M., Sumi, H., Satoh, Y., Yamamoto, Y., Moriya, T., Satomi, Y., and Maezaki, H. (2018). Discovery of Novel Selective Acetyl-CoA Carboxylase (ACC) 1Inhibitors. *Journal of Medicinal Chemistry*. 8;61(3), 1098-1117.
- [37] Kim, C. W., Addy, C., Kusunoki, J., Anderson, N. N., Deja, S., Fu, X., Burgess, S. C., Li, C., Chakravarthy, M., Previs, S., Milstein, S., Fitzgerald, K., Kelley, D. E., and Horton, J. D. (2017). Acetyl CoA carboxylase inhibition reduces hepatic steatosis but elevates plasma triglycerides in mice and humans: a bedside to bench investigation. *Cell Metabolism*. 26, 394–406.
- [38] Goedeke, L., Bates, J., Vatner, D.F., Perry, R.J., Wang, T., Ramirez, R., Li, L., Ellis, M.W., Zhang, D., Wong, K.E., Beysen, C., Cline, G.W., Ray, A.S., Shulman, G.I. (2018). Acetyl-CoA Carboxylase inhibition reverses NAFLD and hepatic insulin resistance but promotes hypertriglyceridemia. *Hepatology*, 68(6), 2197.
- [39] Fadó R, Rodriguez-Rodriguez R, Casals N. (2021). The Return of Malonyl-CoA to the Brain: Cognition and Other Stories. *Progress in Lipid Research*, 81, 101071.
- [40] Galdieri, L., Vancura, A. (2012). Acetyl-CoA Carboxylase Regulates Global HistoneAcetylation. *Journal of Biological Chemistry*. 287, 23865–76.
- [41] Rios Garcia, M., Steinbauer, B., Srivastava, K., Singhal, M., Mattijssen, F., Maida, A. (2017). Acetyl-CoA Carboxylase 1-Dependent Protein Acetylation Controls Breast Cancer Metastasis and Recurrence. *Cell Metabolism*, 842-855.
- [42] Lawitz, E.J., Coste, A., Poordad, F. (2018). Acetyl-CoA carboxylase inhibitor GS-0976 for 12 weeks reduces hepatic de novo lipogenesis and steatosis in patients with nonalcoholic steatohepatitis. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 16(12), 1983–91.
- [43] Kim, C. W., Addy, C., Kusunoki J, Anderson, N. N., Deja, S., Fu, X., Burgess, S. C., Li, C., Chakravarthy, M., Previs, S., Milstein, S., Fitzgerald, K., Kelley, D. E., and Horton, J. D. (2017). Acetyl CoA carboxylase inhibition reduces hepatic steatosis but elevates plasma triglycerides in mice and humans: a bedside to bench investigation. *Cell Metabolism*. 26, 394–406.
- [44] Amin, N., Carvajal-Gonzalez, S., Arggawal, N. (2019). PF-05221304 (PF'1304), a liver-targeted acetyl-CoA carboxylase inhibitor (ACCI), in adults with non-alcoholic fatty liver disease demonstrates robust reductions in liver fat and ALT - phase 2a, dose ranging study. *Hepatology*, 70, 12.
- [45] Griffith, D.A., Kung, D.W., Esler, W.P., Amor, P.A., Bagley, S.W., Beysen, C. (2014). Decreasing the Rate of Metabolic Ketone Reduction in the Discovery of a Clinical Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitor for the Treatment of Diabetes. *Journal of Medicinal Chemistry*, 57, 10512–10526.

- [46] Stiede, K., Miao, W., Blanchette, H. S., Beysen, C., Harriman, G., Harwood, H. J., Kelley, H., Kapeller, R., Schmalbach, T., Westlin, W. F. (2017). Acetyl-coenzyme A carboxylase inhibition reduces de novo lipogenesis in overweight male subjects: a randomized, double-blind, crossover study. *Hepatology*, 66, 324–334.
- [47] Shen, Y., Volrath, S.L., Weatherly, S.C., Elich, T.D., Tong, L. (2004). A Mechanism for the Potent Inhibition of Eukaryotic Acetyl-Coenzyme A Carboxylase by Soraphen A, a Macrocyclic Polyketide Natural Product. *Molecular Cell*, 16, 881–91.
- [48] Alkhouri, N.; Lawitz, E., Noureddin, M., DeFronzo, R., Shulman, G. I. (2020). GS-0976 (Firsocostat): An Investigational Liver-Directed Acetyl-CoA Carboxylase (ACC) Inhibitor for the Treatment of Non-Alcoholic Steatohepatitis (NASH). *Expert Opinion on Investigational Drugs*, 29, 135–141.
- [49] Stiede, K., Miao, W., Blanchette, H. S., Beysen, C., Harriman, G., Harwood, H. J., Kelley, H., Kapeller, R., Schmalbach, T., Westlin, W. F. (2017). Acetyl-coenzyme A carboxylase inhibition reduces de novo lipogenesis in overweight male subjects: a randomized, double-blind, crossover study. *Hepatology*, 66, 324–334.
- [50] Vyas, V.K., Dabasia, M., Qureshi, G., Gulamnizami, Qureshi., Patel, P. & Ghate, M. (2017). Molecular modeling study for the design of novel Acetyl-CoA carboxylase inhibitors using 3D QSAR, molecular docking and dynamic simulation. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 35, 2003–2015.
- [51] Loomba, R. (2021). Combination therapies including cilofexor and firsocostat for bridging fibrosis and cirrhosis attributable to NASH. *Hepatology*, 73, 625–643.
- [52] Zhang, H., Tweel, B., Li, J., Tong, L. (2004). Crystal structure of the carboxyltransferase domain. Accepted Manuscript Information Classification: General of acetyl-CoA carboxylase in complex with CP-640186. *Structure*, 12, 1683–1691.
- [53] Liu, T., Gou, L., Yan, S. & Huang, T. (2020). Inhibition of acetyl-CoA carboxylase by PP-7a exerts beneficial effects on metabolic dysregulation in a mouse model of diet-induced obesity. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 20, 521–529.
- [54] Bergman, A., Gonzalez, S. C., Tarabar, S., Saxena, A. R., Esler W. P., Amin, N. B. (2018). Safety, tolerability, pharmacokinetics and pharmacodynamics of a liver-targeting ACC inhibitor (PF-05221304) following single and multiple oral doses. *Journal of Hepatology*, 68, 582.
- [55] Bergman, A., Carvajal-Gonzalez, S., Tarabar, S., Saxena, A. R., Esler, W. P., Amin, N. B. (2020). Safety, Tolerability, Pharmacokinetics, and Pharmacodynamics of a Liver-Targeting Acetyl-CoA Carboxylase Inhibitor (PF-05221304): A Three-Part Randomized Phase 1 Study. *Clinical Pharmacology in Drug Development*, 9, 514–526.
- [56] Esler W. P., Amin, N. B., Ross, T., Bergman, A., Crowley, C., Gonzalez, S. C., Pfefferkorn, J. A. And Beebe, D. (2019). Partial inhibition of de novo lipogenesis with the acetyl-CoA carboxylase inhibitor PF-05221304 does not increase circulating triglycerides in humans and is sufficient to lower steatosis in rats. *Journal of Hepatology*, 70(1), 69.
- [57] Calle, R. A., Amin, N. B., Carvajal-Gonzalez, S., Ross, T.T., Bergman, A., Aggarwal, S., Crowley, C., Rinaldi, A., Mancuso, J., Aggarwal, N., Somayaji, V., Ingot, M., Tuthill, T. A., Kou, K., Boucher, M., Tesz, G., Dullea, R., Bence, K., Kim, A.M., Pfefferkorn, J.A. & Esler, W.P. (2021). ACC inhibitor alone or co-administered with a DGAT2 inhibitor in patients with non-alcoholic fatty liver disease: two parallel, placebo-controlled, randomized phase 2a trial. *Nature Medicine*. 27, 1836–1848.
- [58] Nishiura, Y., Matsumura, A., Kobayashi, N., Shimazakib, A., Sakamoto, S., Kitadec, N., Tonomurac, Y., Inoa, A., Okuno, T. (2018) Discovery of a novel olefin derivative as a highly potent and selective acetyl-CoA carboxylase 2 inhibitor with in vivo efficacy. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 28(14), 2498–2503.