

# LA FUNCIÓN DE LA O- $\beta$ -N ACETILGLUCOSAMINA (O-GlcNAc) EN LOS PROCESOS DE ENFERMEDAD\*

Gabriela Fuentes-García<sup>1</sup>, Cristina Patlán-Castañeda<sup>1</sup>,  
Tony Lefebvre<sup>2</sup> y Martha Robles-Flores<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Bioquímica. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México. CDMX, México.

<sup>2</sup>UMR CNRS 8576, Universite de Lille. Lille, France. <sup>3</sup>Autor de correspondencia: rmartha@unam.mx

## RESUMEN

La O-GlcNAcilación es una glicosilación no-canónica que consta de la unión del motivo O-GlcNAc en las serinas y treoninas de diversas proteínas. Ya que la producción de O-GlcNAc depende del flujo de glucosa, aminoácidos, ácidos grasos y nucleótidos, se ha postulado como un sensor del estatus nutricional de la célula. Sin embargo, la literatura que describe su papel en la regulación de diversos procesos celulares ha incrementado de forma importante desde su descubrimiento. Por lo que ahora, no solo es considerado como un sensor nutricional, sino como una modificación postraduccional que interacciona con otras como la fosforilación, metilación, ubiquitinación para mantener la homeostasis celular. Asimismo, se ha descrito ampliamente que el desequilibrio en los niveles de O-GlcNAc se ha asociado con diversas patologías. Debido a lo anterior, el objetivo de esta revisión es describir algunos de las principales funciones que desempeña la O-GlcNAcilación durante diversas patologías y procesos celulares.

## ABSTRACT

O-GlcNAcylation is a non-canonical glycosylation that consists of a linkage of O-GlcNAc motif to Serine and Threonine residues of different proteins. Since O-GlcNAc depends on the flux of glucose, amino acids, fatty acids, and nucleotides, it has been postulated as a nutrient status sensor within the cell. However, literature describing its role in the regulation of several cellular processes has greatly increased since the discovery of O-GlcNAc. Now, O-GlcNAc is not only considered as a nutritional sensor, but as a posttranslational modification (PTM) which interacts with other PTMs, such as phosphorylation, methylation, ubiquitylation to maintain cellular homeostasis. Likewise, it has been widely described that a disturbance in the levels of O-GlcNAc is associated with several pathologies. Thus, the present review is aimed to summarize some of the main roles of O-GlcNAcylation during different pathologies and cellular processes.

## Introducción

La O-GlcNAcilación es una modificación postraduccional (PTM, post-translational modification, por sus siglas en inglés) que consta de la unión entre el grupo hidroxilo de la serina o treonina de proteínas citoplasmáticas, nucleares y mitocondriales y la N-acetil-glucosamina (GlcNAc) a

través de un enlace  $\beta$ -glucosídico (1). O-GlcNAc proviene del sustrato Uridina-Difosfato-GlcNAc (UDP-GlcNAc) que es el producto final del flujo de nutrientes a través de la vía biosintética de las hexosaminas (HBP, Hexosamine Biosynthetic Pathway), la cual integra el metabolismo de glucosa, aminoácidos, ácidos grasos y nucleótidos. Solo existen dos enzimas responsables de

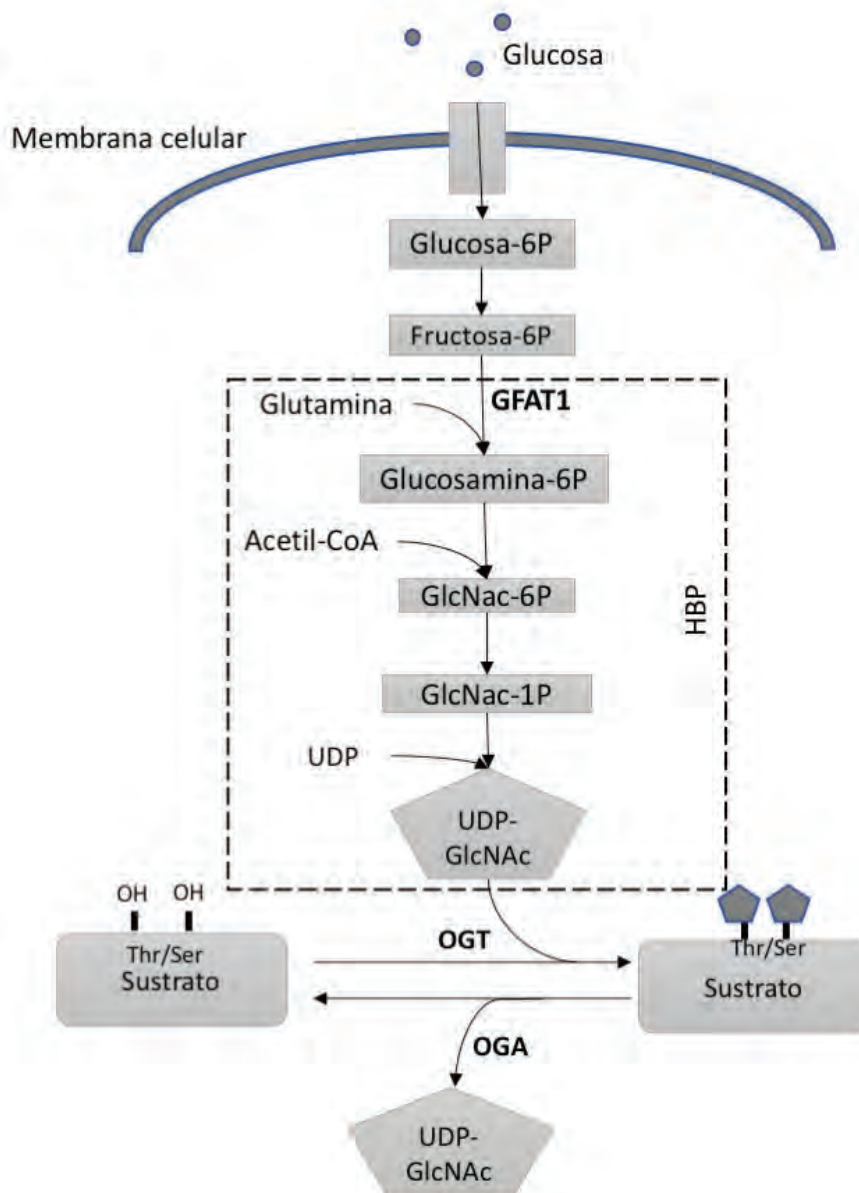
## PALABRAS

### CLAVE:

O-GlcNAc, modificación postraduccional, cáncer, diabetes, falla cardiaca.

## KEY WORDS:

O-GlcNAc, post-translational modification, cancer, diabetes, cardiac failure.



**Figura 1. El flujo de nutrientes a través de la vía Biosintética de las Hexosaminas (HBP) regula la O-GlcNAc.** La glucosa entra a la célula desde el medio extracelular por las proteínas transportadoras de glucosa (GLUT, Glucose Transporter). Mientras que la mayoría de la glucosa que ingresa a la célula se usa para la glucólisis y la síntesis de glucógeno, aproximadamente de 2-5% de la glucosa se destina a HBP. GFAT1 (Glutamine-Fructose-6-Phosphate Amidotransferase 1) cataliza el paso limitante de HBP, el cual convierte a la fructosa-6-fosfato en glucosamina-6-fosfato. Una subsecuente acetilación y uridilación produce el sustrato para la O-GlcNAc, Uridina-Difosfato-GlcNAc. O-GlcNAc Transferasa (OGT) y O-GlcNAcase (OGA) catalizan la adición y remoción de O-GlcNAc, respectivamente.

catalizar la adición y la remoción de O-GlcNAc: O-GlcNAc Transferasa (OGT), la cual cataliza la transferencia del GlcNAc desde el sustrato donador UDP-GlcNAc a los grupos hidroxilo de residuos de Ser y Thr de proteínas blanco; y O-GlcNAcase (OGA), que cataliza la hidrólisis de la modificación (2). Ya que la producción de O-GlcNAc requiere de diversos nutrientes derivados de otras vías metabólicas, se ha propuesto que la O-GlcNAc es un sensor metabólico y nutricional (Fig. 1). Sin embargo, evidencia creciente indica que interviene en la regulación de procesos celulares como la transcripción de genes, la traducción de proteínas, algunas vías de señalización, el metabolismo, la apoptosis; entre otros. A diferencia de las glucosilaciones

canónicas, la glucosilación mediante O-GlcNAc es muy dinámica y frecuentemente es trascendente en respuesta a diversas señales ambientales y fisiológicas. Incluso, se ha reportado que interactúa con otras PTMs, como la fosforilación, la ubiquitinación, la acetilación y la metilación (3). Gracias al desarrollo de diversas tecnologías que han permitido identificar la O-GlcNAc de proteínas específicas, se ha descrito que el número de proteínas modificadas en células humanas ha incrementado de algunos cientos a cerca de 4000, y la lista sigue en aumento (4). En este artículo se resumen algunas de las funciones que desempeña la O-GlcNAc en diferentes procesos biológicos, como la regulación de la función de diversas proteínas, y se describe el

papel que juega en algunas patologías como el cáncer y la enfermedad de Alzheimer.

### **O-GlcNAc y su interacción con proteínas nucleares**

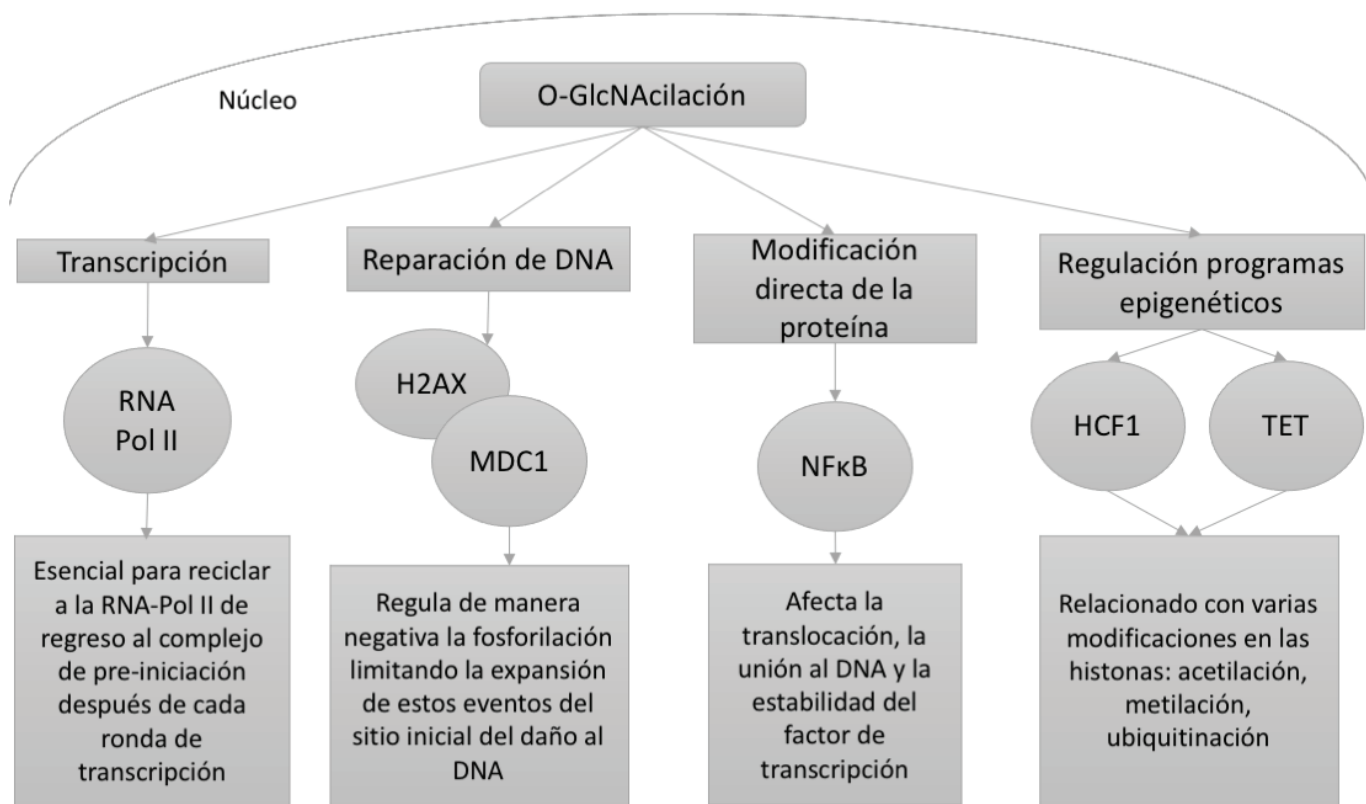
Entre las proteínas que son modificadas por O-GlcNAc, cerca del 25% de ellas son factores de transcripción o proteínas que están involucradas en la regulación de la expresión génica (5). La O-GlcNAcilación de estas proteínas puede determinar su localización subcelular, su interacción con otras proteínas, la fosforilación por proteínas cinasas para determinar su actividad, o incluso determinar su capacidad de unión a DNA en respuesta a ciertos estímulos fisiológicos (6). Desde hace décadas se mostró que la RNA polimerasa II (Pol II) se modifica por O-GlcNAc (7). El dominio C-Terminal (CTD) de RNA-Pol II se fosforila y es O-GlcNAcificado recíprocamente en las Ser2 y Ser5; la RNA-Pol II que está O-GlcNAcificada está enriquecida en sitios de inicio de la transcripción lo que permite el ensamblaje del complejo de pre-iniciación, mientras que la remoción de O-GlcNAc del CTD promueve la fosforilación necesaria durante el inicio de la transcripción y la elongación (8, 9). Se ha propuesto que, en genes activamente transcritos, la acción secuencial de OGT y OGA es esencial para reciclar a la RNA-Pol II de regreso al complejo de pre-iniciación después de cada ronda de transcripción y se ha sugerido que en el núcleo ambas enzimas pueden formar un complejo que interactúe de forma eficiente con sus proteínas blanco (3). También, existe evidencia que sugiere que la O-GlcNAcilación está involucrada con vías de reparación del DNA. Se ha mostrado que la enzima Topoisomerasa I (Topo I) se une a OGT y es O-GlcNAcificada. Se observó que al incrementar los niveles de O-GlcNAc, se incrementa también la actividad de Topo I (10). Asimismo, se ha descrito que OGT se repositona en los sitios de daño en el DNA y regula de manera negativa la fosforilación (inducida por el rompimiento de la doble cadena del DNA) de la histona H2AX y de la proteína MDC1 (Mediator of DNA Damage Checkpoint) limitando así la expansión de los eventos de fosforilación del sitio inicial del daño al DNA (11). Por otro lado, se observó que la O-GlcNAcilación de CRTC2, FOXO1 y PGC1 modula la expresión de genes involucrados en la gluconeogénesis en hepatocitos (12, 13, 14). Además, afecta la translocación, la unión al DNA y la estabilidad del factor de transcripción NF $\kappa$ B a través de la O-GlcNAcilación de la subunidad p65. Esto disminuye la unión del inhibidor I $\kappa$ B $\alpha$  e incrementa la translocación y la actividad trans-

cripcional mientras que la O-GlcNAcilación de c-REL es esencial para la unión al DNA (15, 16).

Aproximadamente el 50% de OGT en el núcleo existe en complejo con HCF1, por lo que OGT se ha relacionado con varias modificaciones en las histonas (17). Se ha demostrado que el complejo OGT-HCF1 (Host Cell Factor 1) interactúa con la proteína 1 asociada a BRCA1 (BAP1), un componente del complejo PR-DUB que desubiquitila la histona H2A (18). Asimismo, OGT se requiere para la trimetilación de la histona H3 en la Lys27, probablemente porque estabiliza la metiltransferasa de histonas EZH2 y mantiene la integridad del complejo represivo PCR2 (19, 20). También, se demostró que la O-GlcNAcilación de H2B facilita su mono-ubiquitinación, proceso que se ha asociado con la transcripción activa de genes (21). Más aún, OGT se asocia con el complejo co-represor deacetilasa de histonas SIN3A y se ha propuesto que la O-GlcNAcilación de los factores de transcripción y de RNA-Pol II actúen en paralelo con la deacetilación de las histonas para promover el silenciamiento de genes (22). De forma similar, se ha demostrado que OGT existe en complejo con las proteínas TET (Ten-eleven translocation methylcytosine dioxygenase, por sus siglas en inglés), las cuales regulan la desmetilación del DNA a través de la oxidación sucesiva de 5-metil-citocina. Algunos estudios indican que las proteínas TET facilitan el reclutamiento de OGT a la cromatina para incrementar la O-GlcNAcilación de las histonas, mientras que otros sugieren que OGT puede modificar directamente a las proteínas TET y modular su estabilidad o localización nuclear (23, 24). TET1 se une a OGT y es O-GlcNAcificada, promoviendo el transporte nuclear de TET1 y la inhibición de la formación de 5-hidroximetilcitosina (25). TET2 y TET3 también se unen a OGT y se O-GlcNAcifican lo que a su vez facilita la O-GlcNAcilación de H2B (26). Por lo que, a nivel del núcleo, OGT podría estar regulando programas epigenéticos de las histonas al modular su acetilación, ubiquitinación y metilación, pero la relación que existe entre las enzimas que modifican a las histonas y OGT, aún necesita ser dilucidada (Fig. 2).

### **O-GlcNAc y los sistemas de protección celular**

Las células y los tejidos responden a los daños fisiológicos y ambientales a través de la reprogramación en la transcripción, traducción, metabolismo y señalización para reparar el daño para sobrevivir, o sí es necesario, promover la muerte celular programada. De forma colectiva, esta reprogramación celular también es conocida como respuesta celular al estrés y se caracteriza por la inducción de chape-



**Figura 2. La O-GlcNAc en el núcleo afecta diversos procesos esenciales para la célula.** OGT y OGA interactúan con diversas proteínas y su papel es fundamental en dichos procesos, además se ha descrito su interacción con otras modificaciones post-traduccionales.

ronas, conocidas como proteínas de choque térmico HSP (Heat Shock Protein) (27, 28, 29). En mamíferos, esta respuesta es mediada por 6 grupos de proteínas muy relacionadas: HSP100, HSP90, HSP70, HSP60, HSP40 y las pequeñas HSPs, que están reguladas transcripcionalmente por HSF1 (Heat Shock Transcription Factor 1) (30). Se ha observado que la elevación inducida por estrés de los niveles de O-GlcNAc cumple con una función protectora contra el daño celular a través del incremento en los niveles de HSPs, incluyendo HSP70 y HSP90 (31). En fibroblastos de embrión de ratón, al disminuir los niveles de O-GlcNAc, se observó una disminución en la expresión de HSP70 y HSP40 (32). Asimismo, en ratones y en cardiomiocitos de rata aislados, el incremento del flujo de la vía HBP a través de tratamiento con glutamina para elevar O-GlcNAc promovió la expresión de HSF1 y HSP70 (33). Además de estar involucrada con la expresión de las HSPs, se reveló que HSP70 y HSP90 están O-GlcNAcadas (34, 35); HSP70 mostró una actividad de reconocimiento y unión hacia motivos específicos de O-GlcNAc, de manera similar a las lectinas (36), mientras que la inhibi-

ción de HSP90 desestabiliza a OGT y reduce los niveles de O-GlcNAc (37). Debido a lo anterior, se ha sugerido que la O-GlcNAc reduce el estrés celular a través de diversos mecanismos: inducción transcripcional de las HSPs, estabilización proteica a través de la O-GlcNAc directa y reclutamiento de las HSP a blancos específicos modificados por O-GlcNAc a través de la actividad similar a lectina en el caso de HSP70 (38). Por otro lado, también se ha demostrado que O-GlcNAc mitiga el estrés del retículo endoplásmico (RE) a través de la formación de gránulos de estrés y cuerpos de procesamiento, los cuales regulan la traducción de mRNA y su degradación (39). OGT y HSP son esenciales para el ensamblaje correcto inducido por estrés de dichos gránulos y algunas proteínas O-GlcNAcadas, como RACK1, GAPDH y subunidades ribosomales, son reclutadas de forma subsecuente en ellos (40).

### O-GlcNAc y la resistencia a la insulina

Ya que se ha implicado a la O-GlcNAc en la patogénesis de la resistencia a la insulina, el efecto

de la estimulación por insulina en la señalización de O-GlcNac está ampliamente estudiado (15). La sobreexpresión de OGT en tejido muscular y adiposo promueve resistencia a la insulina e hiper-leptinemia (41), así como la inhibición de OGA por PUGNac (O-(2-acetamido-2-desoxi-D-glucopiranosilideno) amino-N-fenilcarbamato,) también promueve la resistencia a la insulina en cultivo celular (42, 43, 44). Se ha demostrado que la señalización por insulina regula a OGT a través de diversos mecanismos, como la modulación de su expresión, su localización subcelular y su actividad enzimática. Además de regular de forma positiva la expresión de OGT a través de la vía dependiente de PI3K (Fosfoinositido 3-Cinasa), la estimulación por insulina promueve la translocación de OGT del núcleo al citoplasma y después a la membrana plasmática en balsas lipídicas donde es activada a través de su fosforilación por el receptor de insulina (45). También, se ha mostrado que la elevación de los niveles de O-GlcNacilación (a través de PUGNac) en adipocitos en cultivo bloquea la fosforilación de AKT estimulada por insulina (42). De manera contraria, la sobreexpresión de OGA en células de hepatoblastoma HepG2 provocó una disminución en la O-GlcNacilación de AKT, aumentando su fosforilación y su actividad (46). Anteriormente, los sitios de O-GlcNacilación en AKT ya habían sido identificados en Thr308 y Ser473, los cuales también son sitios cruciales para su fosforilación y activación, por lo que se ha sugerido que la O-GlcNacilación y la fosforilación de AKT compiten directamente (47). Así mismo, se ha descrito que después de una estimulación prolongada de insulina, PIP<sub>3</sub> (Fosfatidil Inositol 3, 4, 5 trisfosfato) recluta a OGT (la cual posee un motivo de unión a PIP<sub>3</sub>) a la membrana plasmática donde O-GlcNacila e inhibe a varios componentes de la vía de señalización de la insulina, lo cual gradualmente atenúa la cascada de señalización (15). Finalmente, se ha reportado que un polimorfismo de un solo nucleótido en el gen que codifica OGA, MGEA5 (Meningioma Expressed Antigen 5, por sus siglas en inglés) se ha asociado con un riesgo incrementado de desarrollar diabetes mellitus tipo 2 en una población México-Americana (48).

### O-GlcNac y cáncer

Las células cancerosas se caracterizan por presentar un metabolismo basado en glucólisis, y no en fosforilación oxidativa, como principal fuente de energía aún en presencia de oxígeno, fenómeno conocido como efecto Warburg. Este cambio en el metabolismo celular es impulsado por la hipoxia presente dentro del tumor y por mutaciones en

oncogenes y supresores tumorales (49). Estas mutaciones promueven una regulación positiva de las enzimas glucolíticas y transportadores de glucosa, lo que a su vez incrementa la ingesta de glucosa en estas células (50). La abundancia de glucosa en el citoplasma no solo contribuye al incremento de glucólisis, sino que también incrementa el flujo de algunas ramas de la vía, incluyendo la vía de las pentosas fosfato y la de biosíntesis de hexosamina (Hexosamine Biosynthetic Pathway, por sus siglas en inglés). De hecho, ciertos oncogenes como *Kras* regulan de forma positiva no solo los niveles de los transportadores de glucosa, sino también de otras enzimas como GFAT1 (glutamina-fructosa-6-fosfato amidotransferasa 1), que es la enzima limitante en la vía HBP (51). Asimismo, las células cancerosas son adictas a glutamina ya que la consumen a tasas elevadas *in vivo* en comparación con las células no transformadas, por lo que la requieren en altas concentraciones para sobrevivir y proliferar (52). Los oncogenes también regulan de forma positiva la ingesta de glutamina; por ejemplo, c-Myc promueve la expresión elevada de los transportadores de glutamina (54). La glutamina es el sustrato donador en la conversión de fructosa-6-fosfato a glucosamina-6-fosfato mediante GFAT en la vía HBP. Por lo que el incremento en la ingesta de glucosa debido al efecto Warburg, así como el incremento de la ingesta de glutamina, cooperan para provocar un incremento en el flujo de HBP, contribuyendo finalmente a un incremento en las concentraciones de UDP-GlcNac (55), sustrato donador de la OGT. Confirmando lo anterior, se han observado niveles de O-GlcNacilación aberrante con una tendencia al incremento, fenómeno conocido como hiper-O-GlcNacilación en diferentes tipos de cáncer: en cáncer de mama (56, 57), de próstata (58), de pulmón (59), colo-rectal (59, 60), de hígado (61), y en leucemia linfocítica crónica (62). Existe evidencia creciente que ha mostrado una relación entre los niveles de O-GlcNac y diversas características distintivas del cáncer, como angiogénesis y metástasis; además, muchos supresores tumorales y oncogenes conocidos por ser iniciadores clave del fenotipo maligno canceroso, están regulados por O-GlcNac (p53, NFκB, c-Myc, HIF-1 y AKT) (63). En el hígado se ha descrito que la hexocinasa IV (o también conocido como glucocinasa, GK) es modificada dinámicamente por O-GlcNac incrementando su estabilidad, lo que a su vez incrementa la ingesta de glucosa (64). Así mismo, se ha sugerido que la O-GlcNacilación de PKM2 incrementa su propia expresión, ya que posee una señal inducible de localización nuclear, su elevada expresión incrementa los niveles de producción de piruvato y ATP mediante glicólisis,

lo cual es típico de las células cancerosas (65, 66). Por otro lado, existe evidencia que indica que la angiogénesis tumoral puede mantenerse en parte debido a O-GlcNAc ya que al reducir los niveles de O-GlcNAc en la línea celular cancerosa de próstata PC-3ML por knock-down de OGT se inhibe tanto la expresión de VEGF como la angiogénesis *in vitro*. Mas aún, la reducción de la hiper-O-GlcNAcilación en la misma línea PC-3ML y en las células cancerosas HEPG2, suprime la expresión de las metaloproteasas MMP-2 y MMP-9 (67, 61). De forma interesante, se ha demostrado que al incrementar los niveles de O-GlcNAc se promueve la migración/invasión de células cancerosas de mama y próstata mientras que disminuir los niveles por knock-down de OGT, inhibe la invasión tumoral y metástasis (56, 57). Uno de los mecanismos que contribuye al desarrollo de metástasis es la transición epitelio-mesénquima (EMT) (68, 69). Este proceso promueve la pérdida de marcadores epiteliales como E-cadherina y la ganancia de marcadores mesenquimales como vimentina y N-cadherina (70). Se ha demostrado que reducir los niveles de hiper-O-GlcNAcilación en cáncer incrementa la expresión de E-cadherina y disminuye la expresión de vimentina mientras que elevarlos disminuye la expresión de E-cadherina en células de cáncer y mama (57, 55, 71). Además, se ha descrito que la O-GlcNAcilación de E-cadherina en su dominio citoplasmático durante el estrés de RE bloquea su transporte a membrana celular, inhibiendo la adhesión celular (72); mientras que la O-GlcNAcilación directa de Snail (el factor transcripcional que se une al promotor de E-cadherina) en la Ser112 lo estabiliza causando la represión de la expresión de E-Cadherina, potencialmente originando migración/metástasis (71). La O-GlcNAcilación de Myc se lleva a cabo en Thr58, un residuo que se encuentra en el dominio de transactivación de la proteína y esta modificación promueve un incremento en la capacidad de transformación y de formación de tumor en células de linfoma (73). También se ha descrito que c-Myc se encuentra modificado por O-GlcNAc y probablemente esté estabilizado, resultando en un mal pronóstico y recurrencia en muestras clínicas de pacientes con cáncer de próstata (74). En células de Leucemia linfocítica crónica, los niveles de O-GlcNAcilación se encuentran elevados y se ha sugerido que esto contribuye a la patogénesis de la enfermedad. Comparado con las células B circulantes normales, en las células de leucemia hay un incremento en la O-GlcNAcilación de p53, de AKT y de c-Myc (62). El mismo fenómeno fue observado en las células pre-B de leucemia linfocítica aguda (75). También se ha reportado en ambos tipos de leucemia que la

O-GlcNAcilación específica de STAT5 en Thr92 promueve la fosforilación de tirosinas y la proliferación neoplásica de las células mieloides (76).

### O-GlcNAc y la función cardíaca

Durante la falla cardíaca existen cambios metabólicos que promueven la utilización de diferentes sustratos y la reversión a un perfil metabólico fetal; el corazón suprime la oxidación de ácidos grasos y aumenta su dependencia a la oxidación de carbohidratos (77, 78). Lo anterior, resulta en un incremento del flujo de la glucosa que entra a la vía HBP, lo cual deriva en un incremento en los niveles de O-GlcNAc en cardiomiocitos. Se observó que en modelos de sobre carga de presión por hipertrofia, las concentraciones de UDP-GlcNAc están incrementadas y los niveles de O-GlcNAc y GFAT incrementan en hipertrofia cardíaca relacionada con la edad (79, 80). Además, durante la hipertrofia de cardiomiocitos se observó una activación de NFAT dependiente de O-GlcNAc; la O-GlcNAcilación de NFAT promueve hipertrofia, mientras que la inhibición de O-GlcNAc la reduce (81). Así mismo, se reportó un incremento en los niveles de O-GlcNAcilación y en la expresión de OGT durante la falla cardíaca en ratones; en este modelo de infarto inducido por falla cardíaca, la expresión de OGT es elevada mientras que la de OGA está disminuida (82). Además, se observó que la hiperglicemia induce un incremento en la O-GlcNAcilación de proteínas mitocondriales en cardiomiocitos, lo cual se asoció con una disfunción mitocondrial, movilización de calcio y disminución en los depósitos de ATP. También, se mostró que varias proteínas mitocondriales como NDUFA9 del complejo I, las subunidades 1 y 2 del complejo III y la subunidad I codificada por DNA mitocondrial del complejo IV (COX I) se encuentran O-GlcNAciladas (83). O-GlcNAc no solo afecta a la función mitocondrial, sino también a la función contráctil cardíaca a través de la alteración de los depósitos de calcio. Al tratar cardiomiocitos con altas concentración de glucosa, glucosamina o PUGNAc, se promovió un retraso en la liberación de calcio; la sobreexpresión de OGT exagera este efecto, mientras que la sobreexpresión de OGA lo abate (84; 85, 86). Mas aún, durante el desarrollo de diabetes, la O-GlcNAcilación en la Ser16 de PLN (Phospholamban, por sus siglas en inglés, fosfoproteína asociada al RE que regula el transporte de calcio en las células musculares cardíacas) está incrementada. Esto reduce su fosforilación y su asociación con SERCA2a, promoviendo una disminución en la actividad de la bomba y afectando a los depósitos de calcio (87, 88). Debido a lo anterior, se ha propuesto

que el incremento de O-GlcNAcilación durante la hiperglicemia puede ser parte de patología del fallo cardiaco, ya sea a nivel mitocondrial, o por la alteración en los depósitos de calcio (89). Sin embargo, también se ha observado que la O-GlcNAcilación confiere protección subsecuente a daños letales; por ejemplo, en respuesta al daño al miocardio por isquemia/perfusión, el cual se caracteriza por un aumento en los niveles de calcio, estrés oxidativo y estrés de RE, los niveles de O-GlcNAcilación se encuentran aumentados. Además, los niveles de O-GlcNAc disminuyen durante hipoxia y después incrementan en la re-oxigenación de corazones sometidos a isquemia simulada. Se observó el mismo efecto en cardiomiocitos de ratas neonatales, en donde esta elevación en la O-GlcNAcilación redujo la muerte celular (90-96). Algunos de estos efectos protectores se originan en la mitocondria donde O-GlcNAc es necesario para mantener el potencial de membrana mitocondrial y prevenir la formación de poro mitocondrial de transición. Uno de los mecanismos por los que estos efectos pueden ocurrir es mediante la O-GlcNAcilación directa y la regulación de los canales aniónicos dependientes de voltaje, que regulan el flujo de calcio a través de la mitocondria (94,96). Además, aumentar los niveles de O-GlcNAc promueve la supervivencia de las células troncales cardiacas, mientras que una reducción de los niveles a través de la inhibición farmacológica o una delección genética las sensibiliza al daño causado por hipoxia (97). De forma similar, el incremento de los niveles de O-GlcNAc, también protege a los cardiomiocitos de la muerte celular en respuesta al estrés del RE. Esta protección se asoció con la disminución en la expresión de las proteínas involucradas en la respuesta desadaptativa, que incluyen a las chaperonas de plegamiento enzimático GRp74, GRp90 y a CHOP (CCAAT/enhancer-Binding Protein Homologous Protein) (98).

### **O-GlcNAc y la función neural**

La O-GlcNAcilación se encuentra de forma permanente en el cerebro, pero su significado en la regulación de las funciones neuronales aún necesita ser dilucidada. Sin embargo, se ha observado que mantener los niveles de O-GlcNAc a un nivel adecuado es vital para prevenir las funciones neuronales aberrantes (99). Esta posibilidad se evidencia por el hecho de que el incremento o la disminución en los niveles de O-GlcNAc conlleva a un déficit en el aprendizaje dependiente del hipocampo (100, 101, 102), lo cual no es sorprendente dado que el hipotálamo es una de las regiones del cerebro con los niveles más altos de expresión de OGT y OGA

en el cuerpo. Otra región con alta expresión de OGT y OGA es la amígdala, un área central que se involucra con el miedo y la ansiedad, sin embargo, la función fisiológica de la O-GlcNAcilación en la amígdala no está bien comprendida (102, 103). Algunos estudios han reportado que O-GlcNAc regula la maduración y el desarrollo neuronal. En cultivos primarios de neuronas corticales, el silenciamiento de OGT conlleva a una reducción significativa del número de sinapsis y al incremento de la proporción de espinas inmaduras (104). De forma notable, la delección específica de OGA en el cerebro de ratones, promueve un desarrollo retardado del cerebro y un desequilibrio entre la proliferación y la diferenciación neuronal. Igualmente, la habilidad de diferenciación de las células troncales embrionarias derivadas de estos ratones se vio dramáticamente suprimida (105). Mas aún, O-GlcNAcilación del factor de transcripción CREB (Cyclic AMP-Response Element Binding Protein) podría regular el crecimiento neuronal. Esta proteína es O-GlcNAcilada en la Ser40 en respuesta a la actividad neuronal, y se mostró que su glicosilación suprime la transcripción mediada por CREB. Cuando el residuo Ser40 es mutado por alanina, las neuronas desarrollan axones y dendritas muy largas. El silenciamiento de OGT facilita el crecimiento de los axones en el cultivo de neuronas corticales, mientras que la sobreexpresión de OGT suprime su crecimiento, indicando que la O-GlcNAcilación de CREB inhibe el crecimiento neuronal (106). Por otro lado, las neuronas AgRP (Agouti-Related Protein, por sus siglas en inglés) en el hipotálamo controlan la ingesta de comida y se ha observado que la privación de alimentos incrementa la expresión de OGT y los niveles de O-GlcNAc en estas neuronas (107). La delección específica de OGT reduce la tasa de los potenciales de acción en las neuronas AgRP, indicando que la disminución de O-GlcNAc suprime la excitabilidad intrínseca neuronal; este cambio es mediado por la O-GlcNAcilación directa de los canales de potasio dependientes de voltaje (Kcnq3) y el silenciamiento de OGT causa una reducción en las corrientes de potasio (108). Por otro lado, OGT y OGA están presentes en las sinapsis neuronales y OGT está particularmente enriquecida en la zona de densidad postsináptica de sinapsis excitatorias en comparación con OGA (104). Muchas de las proteínas de sinapsis están O-GlcNAciladas, lo cual ha sugerido que un cambio en los niveles podría modular la fuerza de transmisión sináptica o la posible liberación de neurotransmisores en las terminales presinápticas (109, 110). Por otro lado, el papel de la O-GlcNAcilación también se ha descrito ampliamente en algunas patologías del sistema nervioso. Tau es una proteína asociada a

microtúbulos abundante en neuronas, la cual se une y estabiliza microtúbulos (111). Se han reportado diversos sitios de fosforilación de tau (112, 113) y su fosforilación juega un papel determinante en la regulación de sus funciones fisiológicas, incluyendo su dinámica con los microtúbulos, el transporte en axones, la transmisión sináptica y la estabilización del DNA (114-118). Cuando está hiper-fosforilada, tau pierde su afinidad por los microtúbulos y la proteína que se libera forma agregados conocidos como ovillos neurofibrilares, los cuales, son considerados como la verdadera razón de la neurotoxicidad asociada a tau y el desarrollo de déficits cognitivos (113). De forma interesante, la elevación de los niveles de O-GlcNAcilación de tau, por inhibición de OGA, conlleva a una disminución dramática de la fosforilación de tau y suprime su agregación, mientras que la inhibición de OGT desencadena el efecto opuesto (119). La característica principal de la enfermedad de Alzheimer es la formación de placas extracelulares compuestas por la proteína  $\beta$ -amiloide y ovillos neurofibrilares intracelulares compuestos por tau hiper-fosforilada (120-121).  $\beta$ -amiloide también está O-GlcNAcilada y se observó que elevar los niveles de O-GlcNAc incrementa el procesamiento no-amiloide de la proteína por lo que se reduce la producción de  $\beta$ -amiloide (122-123). Asimismo,  $\alpha$ -sinucleína es otro ejemplo de un agregado proteico tóxico y está enriquecido en las terminales sinápticas del cerebro. Su agregación se asocia con la enfermedad de Parkinson (124). De forma similar a tau, la O-GlcNAcilación de  $\alpha$ -sinucleína inhibe la formación de agregados tóxicos lo cual afianza la función protectora de la O-GlcNAcilación en la prevención de agregados proteicos (125). Estos resultados sugieren el efecto protector de la O-GlcNAcilación en enfermedades neurodegenerativas, y este efecto también se apoya en algunos otros hallazgos, por ejemplo, al silenciar OGT en neuronas corticales de ratones, se promueve la neurodegeneración junto a una reducción en el tamaño del cerebro. Estos ratones también mostraron niveles elevados de  $\beta$ -amiloide y altos niveles de fosforilación de tau. Más aún, en muestras de tejido cerebral *post-mortem* de pacientes humanos con la enfermedad de Alzheimer, los niveles de OGT están reducidos significativamente (121), lo cual indica una unión cercana entre la O-GlcNAcilación aberrante y la etiología de la enfermedad de Alzheimer.

### O-GlcNAc y las células troncales

En la literatura se ha reportado que el estado nutricional y el microambiente median las señales que determinan los cambios que regulan la

capacidad de auto-renovación y la diferenciación en las células troncales. Se ha observado que las células troncales embrionarias (ESC) (126), las células troncales hematopoyéticas (HSC) (127), las células troncales mesenquimales (MSC) (128) y las células troncales hepáticas (129) basan su metabolismo en la glucólisis como su principal fuente de energía. Además, está bien establecido que las células troncales que se originan en nichos hipóxicos tienden a tener una actividad glucolítica incrementada como resultado de una ingesta incrementada de glucosa en condiciones anaerobias (130). Más aún, se ha demostrado que la estimulación de la glucólisis a través de la hipoxia en células troncales pluripotentes (131), la inhibición de la respiración mitocondrial (132) o la suplementación con insulina (133) promueven la troncalidad mientras que la inhibición de la glucólisis impide la proliferación y precipita la muerte celular (134). Además de la glucosa, la glutamina también es ingerida activamente por las células troncales embrionarias (135) y como ya se mencionó anteriormente, esto promueve un aumento en el flujo a la vía HBP, un aumento en la concentración de UDP-GlcNAc y el subsecuente incremento de los niveles de O-GlcNAc. Ya que la actividad de OGT es dependiente del flujo de nutrientes y que a su vez el metabolismo influye en la capacidad de auto-renovación característica de las células troncales, se ha hipotetizado que OGT es un determinante clave entre los genes de auto-renovación y su interconexión con el estatus metabólico de la célula (136). Se ha demostrado que la completa pérdida de OGT resulta en la letalidad de las ESC, por lo que la función de O-GlcNAc es crítica para el mantenimiento de la capacidad de autorenovación y la pluripotencia (137). Además, se mostró que bloquear O-GlcNAc lleva a la inhibición de la capacidad de auto-renovación de ESC mientras que incrementar los niveles inhibe la diferenciación (138). Los factores de transcripción conocidos como "factores de Yamanaka" (Sox2, OCT4, Myc y KLF4) son considerados como las proteínas críticas que regulan la troncalidad y la capacidad de auto-renovación (139), y todos estos factores están modificados por O-GlcNAc, lo cual influye en su actividad. Además de regular transcripcionalmente a la capacidad de auto-renovación y a la diferenciación de las células troncales, O-GlcNAc también regula la troncalidad a un nivel epigenético. Un aumento en la O-GlcNAcilación promueve la regulación positiva de genes que normalmente están silenciados en ESC, apoyando el rol emergente de esta modificación postraduccional en la regulación de las modificaciones de las histonas y la metilación del DNA (140).



## O-GlcNAc y la regulación del sistema inmune

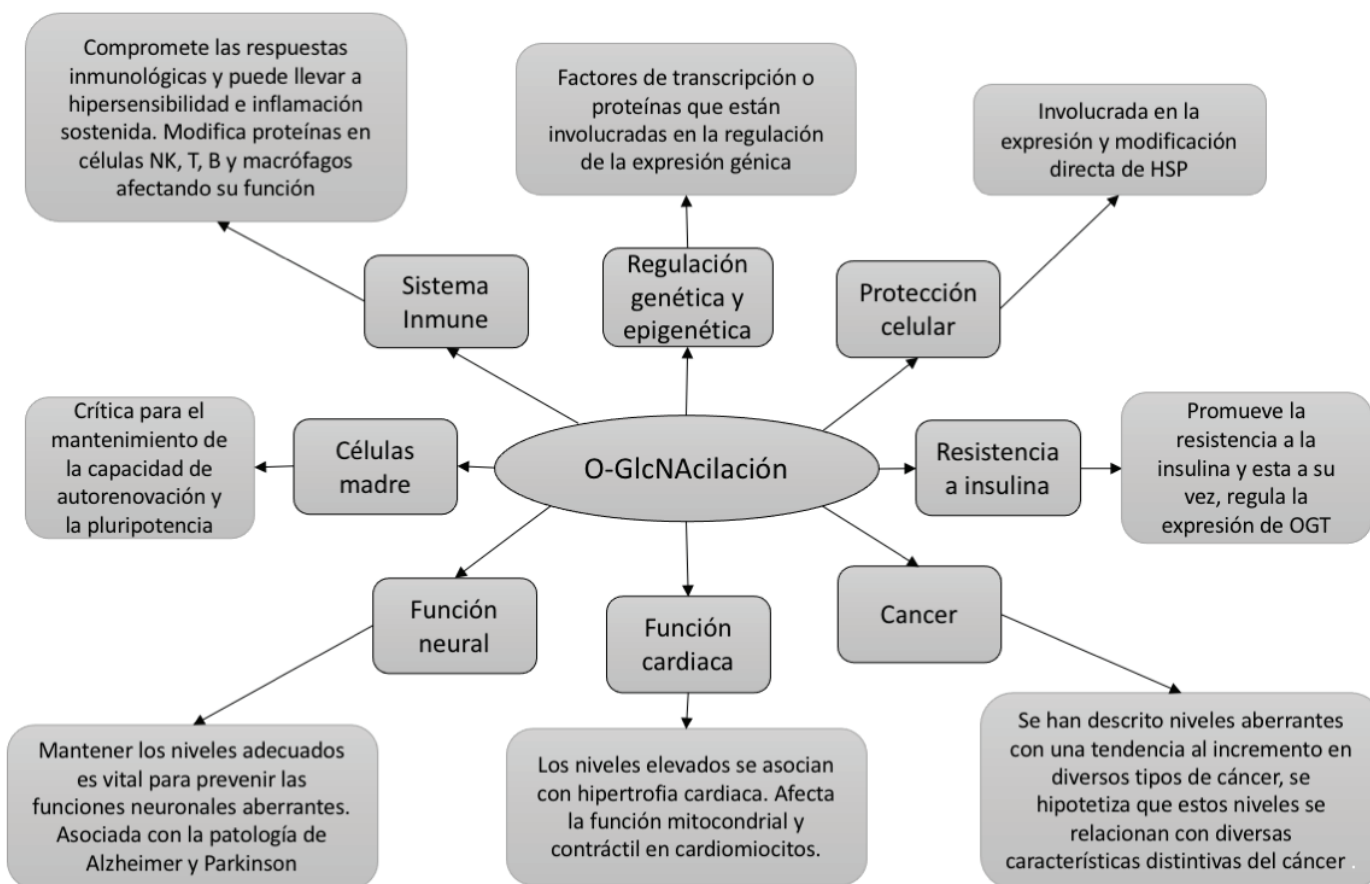
En años recientes se ha demostrado que la O-GlcNAcilación puede tener efectos importantes en el sistema inmune, comprometiendo las respuestas inmunológicas o llevando a una hipersensibilidad e inflamación sostenida (141-143). Esta modificación se ha reportado en diversas células del sistema inmune, como macrófagos, células NK, células T y células B. Se ha mostrado que la O-GlcNAcilación disminuye durante la citotoxicidad de las células NK y se ha sugerido que está involucrada en la traducción de señales de células NK (144). En macrófagos, a través de su interacción con mSin3a, OGT es capaz de interferir con la activación dependiente de LPS de NF $\kappa$ B y la expresión de iNOS (inducible Nitric Oxide Synthase) (145). Además, una delección específica de OGT promovió una señalización elevada de NF $\kappa$ B y producción de citocinas proinflamatorias, seguido de la estimulación de varios antagonistas de TLR (Toll Like Receptor). Estos hallazgos sugieren que la O-GlcNAcilación podría desempeñar un papel anti-inflamatorio en macrófagos (146). Sin embargo, también se ha mostrado que la inhibición experimental de O-GlcNAc promueve la disminución de una respuesta inflamatoria inducida por LPS en macrófagos (147). Adicionalmente, se mostró que la O-GlcNAcilación de STAT3 en Thr717 regula de forma negativa su fosforilación y la expresión de genes dependientes de STAT3; por lo que el efecto de la O-GlcNAcilación de STAT3 podría incrementar la señalización inflamatoria (148). Debido a lo anterior, el papel de la O-GlcNAcilación en las células mieloides es complejo, ya que puede tener efectos reguladores tanto positivos como negativos en la inflamación que dependen de diversos factores como la disponibilidad de glucosa, el microambiente en el que se presente la inflamación o de la proteína modificada (NF $\kappa$ B o STAT) (149). También se ha mostrado que la elevación de la O-GlcNAcilación al tratar a neutrófilos con glucosamina o PUGNAc, incrementa la migración tanto basal como inducida por el péptido quimiotáctico formilado Met-Leu-Phe (fMLP) de neutrófilos. Lo anterior sugiere que los neutrófilos tienen vías de activación dependientes de O-GlcNAc, sin embargo, las proteínas exactas que son afectadas por esta modificación aún se desconocen (150). De todas las células del sistema inmune, la relación entre la O-GlcNAcilación y las células T ha sido la más estudiada y parece que juega un papel esencial en la biología de los linfocitos T. Se ha observado que la modificación por O-GlcNAc es esencial para la supervivencia de las células T ya que la delección condicional de OGT induce apoptosis masiva y disminución del número de células en el timo y en la periferia (151). También

se ha demostrado que la O-GlcNAcilación de proteínas clave en la señalización como NFAT (Nuclear Factor of Activated T Cells) y de NF $\kappa$ B tiene efectos importantes en el comportamiento, el destino y la función de las células. La activación de TCR (T cell Receptor) induce la O-GlcNAcilación de NFATc1 en el citoplasma y promueve su translocación al núcleo. Más aún, la delección de OGT disminuye la producción de IL-2, la expresión del marcador de activación CD69 y la actividad de NF $\kappa$ B ya que p65 está O-GlcNAcilada (152). La O-GlcNAcilación de c-Rel promueve su unión a la región CD28R, lo cual lleva a la expresión de moléculas proinflamatorias como IL-2, INF- $\gamma$  (Interferón gama) y GM-CSF (Granulocyte-Macrophage Colony Stimulation Factor) (153). Sin embargo, también se ha demostrado que esta modificación puede proteger a las células T de la muerte celular mediante vías alternas. La O-GlcNAcilación de DFF45 (DNA Fragmentation Factor 45) confiere resistencia al corte proteolítico de caspasas durante la apoptosis inducida por daño al DNA (154). Se han identificado alrededor de 214 proteínas O-GlcNAciladas inducidas por TCR en las células T, las cuales están asociadas con el metabolismo de RNA y se ha descrito que la función de OGT es esencial para la función efectora de las células T (155). También se ha descrito que la pérdida de la O-GlcNAcilación bloquea la capacidad de auto-renovación, la expansión clonal y la transformación maligna de las células T mientras que la O-GlcNAcilación se incrementa en las células T activadas (156). Más aún, la sobreexpresión de miR-15b bloquea la diferenciación de las células Th17 a través del bloqueo en la expresión de OGT, el bloqueo de NF $\kappa$ B y la expresión de ROR- $\gamma$  (Retineic-acid-receptor-related orphan nuclear receptor gamma) dependiente de NF $\kappa$ B (157). En comparación con las células T, el papel de O-GlcNAc en las células B se ha estudiado poco y se han hecho muchas especulaciones, pero se ha descrito que la delección de OGT en células pre-B conlleva a la expresión del receptor de células B (BCR) ineficiente, a la señalización por BAFF (B Cell Activation Factor) y al incremento en la apoptosis de células B maduras. Además, se encontró que la O-GlcNAcilación en la Ser19 de la cinasa Lyn es esencial para su interacción con la cinasa Syk en la señalización apropiada de BCR. Así mismo, la O-GlcNAcilación de las células B se requiere para el desarrollo de memoria y la producción de anticuerpos (158). De manera similar a lo observado en las células T, en células B NF $\kappa$ B y NFAT también están O-GlcNAcilados y esto incrementa su actividad transcripcional, por lo que se ha sugerido que la O-GlcNAcilación promueva la activación de células B (152).

**Conclusiones**

Como ya se ha mencionado anteriormente, O-GlcNAc afecta diversos procesos celulares y su papel en diversas patologías ha sido ampliamente estudiado. Mientras que se ha relacionado a O-GlcNAc con un efecto citoprotector (como en los modelos de daño al miocardio), la elevación crónica de la O-GlcNAcilación también se ha asociado con el desarrollo de hipertensión, falla cardíaca y diabetes tipo II. Los mecanismos moleculares subyacentes de la transición entre la protección y la patología aún no están bien definidos, pero se ha propuesto que una elevación aguda puede ser protectora mientras que la elevación crónica es tóxica, aunque no siempre sea el caso (159). Debido a su importancia en el mantenimiento de la homeostasis celular, la O-GlcNAcilación ya

es considerada como parte de las modificaciones postraduccionales que permiten a la célula responder propiamente a señales a través del control dinámico y directo de la función proteica (3). Asimismo, muchos autores han postulado a la O-GlcNAcilación como blanco terapéutico, incluso algunos inhibidores farmacológicos de OGA, como thiametG, han sido usados para suprimir los agregados proteicos en los modelos de patologías relacionadas a Tau; se ha observado que son bio-disponibles por vía oral y aparentemente no son tóxicos (160). Sin embargo, en cualquier caso, la regulación de la O-GlcNAcilación es un proceso mucho más complejo de lo que antes se imaginaba y muchos de los procesos en los que se involucra y su papel en los mecanismos de regulación de los procesos celulares aún dista mucho de ser haber sido descrito completamente (Figura 3).



**Figura 3. La O-GlcNAcilación influye distintos procesos celulares.** Anteriormente, la O-GlcNAcilación solo era considerada como un sensor nutricional que refleja el estado nutricional de las células. Sin embargo, desde su descubrimiento se ha descrito su papel fundamental en diversos procesos que van desde la regulación genética en el núcleo, hasta su efecto sobre el sistema inmune. Los roles de O-GlcNAc siguen siendo descritos a través de diversas líneas de investigación para poder entender esta modificación que es la unión del estado nutricional y su regulación sobre la homeostasis celular.

## REFERENCIAS

1. Hart GW, Slawson C, Ramirez-Correa G, Lagerlof O (2011) Cross talk between O-GlcNAcylation and phosphorylation: roles in signaling, transcription, and chronic disease. *Annu Rev Biochem* 80:825–858.
2. Hart GW, Housley MP, Slawson C (2007) Cycling of O-linked- $\beta$ -N-acetylglucosamine on nucleocytoplasmic proteins. *Nature* 446:1017–1022.
3. Yang X, Qian K (2017) Protein O-GlcNAcylation: emerging mechanisms and functions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18:452–465.
4. Ma J, Hart W (2014) O-GlcNAc profiling: from proteins to proteomes. *Clin Proteomics* 11:8.
5. Comer FI, Hart GW (1999) O-GlcNAc and the control of gene expression. *Biochim Biophys Acta* 1:161–171.
6. Ozcan S, Andrali SS, Cantrell JE (2010) Modulation of transcription factor function by O-GlcNAc modification. *Biochim Biophys Acta* 5-6:353–364.
7. Kelly WG, Dahmus ME, Hart GW (1993) RNA polymerase II is a glycoprotein. Modification of the COOH-terminal domain by O-GlcNAc. *J Biol Chem* 268:10416–10424.
8. Lewis BA, Burlingame AL, Myers SA (2016) Human RNA polymerase II promoter recruitment in vitro is regulated by OGT. *J Biol Chem* 291:14056–14061.
9. Lewis BA, Hanover JA (2014) O-GlcNAc and the epigenetic regulation of gene expression. *J Biol Chem* 289:34440–34448.
10. Noach N, Segev Y, Levi I, Segal S, Priel E (2007) Modification of topoisomerase I activity by glucose and by O-GlcNAcylation of the enzyme protein. *Glycobiology* 17:1357–1364.
11. Chen Q, Yu X (2016) OGT restrains the expansion of DNA damage signaling. *Nucleic Acids Res* 44:9266–9278.
12. Ruan HB, Han X, Li MD, Wu J, Yates II JR, Yang X (2012) O-GlcNAc transferase/host cell factor C1 complex regulates gluconeogenesis by modulating PGC-1 $\alpha$  stability. *Cell Metab* 16:226–237.
13. Dentin R, Hedrick S, Xie J, Yates III J, Montminy M (2008) Hepatic glucose sensing via the CREB coactivator CRTC2. *Science* 319:1402–1405.
14. Housley MP, Rodgers JT, Udeshi ND, Kelly TJ, Shabanowitz J, Hunt DF, Puigserver P, Hart GW (2008) O-GlcNAc regulates FoxO activation in response to glucose. *J Biol Chem* 283:16283–16292.
15. Yang WH, Park SY, Nam HW, Kin DH, Kang JG, Kang ES, Kin YS, Lee HC, Kim KS, Cho JW (2008) NF $\kappa$ B activation is associated with its O-GlcNAcylation state under hyperglycemic conditions. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:17345–17350.
16. Ramakrishnan P, Clark PM, Mason DE, Peters EC, Hsieh-Wilson LC Baltimore D (2013) Activation of the transcriptional function of the NF- $\kappa$ B protein c-Rel by O-GlcNAc glycosylation. *Sci Signal* 290:ra75.
17. Daou S, Mashtalir N, Hammond-Martel I, Pak H, Yu H, Sui G, Vogel JL, Kristie TM, Affar EB (2011) Crosstalk between O-GlcNAcylation and proteolytic cleavage regulates the host cell factor-1 maturation pathway. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:2747–2752.
18. Scheuermann JC, Gaytan-de-Ayala-Alonso A, Oktaba K, Ly-Hartig N, McGinty RK, Fraterman S, Wilm M, Muir TW, Müller J (2010) Histone H2A deubiquitinase activity of the Polycomb repressive complex PR-DUB. *Nature* 465:243–247.
19. Chu CS, Lo PW, Yeh YH, Hsu PH, Peng SH, Teng YC, Kang ML, Wonf CH, Juan LJ (2014) O-GlcNAcylation regulates EZH2 protein stability and function. *Proc Natl Acad Sci USA* 111:1355–1360.
20. Gambetta MC, Oktaba K, Muller J (2009) Essential role of the glycosyltransferase *sxc/Ogt* in polycomb repression. *Science* 325:93–96.
21. Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, Yokoyama A, Chikanishi T, Ito S, Imai Y, Kim J, He HH, Igarashi K, Kanno J, Ohtake F, Kitagawa H, Roeder RG, Brown M, Kato S (2011) GlcNAcylation of histone H2B facilitates its monoubiquitination. *Nature* 480:557–560.
22. Yang X, Zhang F, Kudlow JE (2002) Recruitment of O-GlcNAc transferase to promoters by corepressor mSin3A: coupling protein O-GlcNAcylation to transcriptional repression. *Cell* 110:69–80.
23. Shi FT, Kin H, Lu W, He Q, Liu D, Goodell MA, Wan M, Songyang Z (2013) Ten-eleven translocation 1 (Tet1) is regulated by O-linked N-acetylglucosamine transferase (Ogt) for target gene repression in mouse embryonic stem cells. *J Biol Chem* 288:20776–20784.
24. Vella P, Scelfo A, Jammula S, Chiaccheira F, Williams K, Cuomo A, Roberto A, Christensen J, Bonaldi T, Helin K, Pasini D (2013) Tet proteins connect the O-linked N-acetylglucosamine transferase Ogt to chromatin in embryonic stem cells. *Mol Cell* 49:645–656.
25. Zhang Q, Liu X, Gao W, Li P, Hou J, Li J, Wong J (2014) Differential regulation of the ten-eleven

- translocation (TET) family of dioxygenases by O-linked -N-acetylglucosamine transferase (OGT). *J Biol Chem* 289:5986–5996.
26. Chen Q, Chen Y, Bian C, Fujiki R, Yu X (2013) TET2 promotes histone O-GlcNAcylation during gene transcription. *Nature* 493:561–564.
  27. Nollen EAA, Morimoto RI (2002) Chaperoning signaling pathways: molecular chaperones as stress-sensing 'heat shock' proteins. *J Cell Sci* 14:2809–2816.
  28. Morimoto RI (2012) The heat shock response: systems biology of proteotoxic stress in aging and disease. *Cold Spring Harbor Symp Quant Biol* 76:91–99.
  29. Akerfelt M, Morimoto RI, Sistonen L (2010) Heat shock factors: integrators of cell stress, development, and lifespan. *Nat Rev Mol Cell Biol* 11:545–555.
  30. Dai C, Dai S, Cao J (2012) Proteotoxic stress of cancer: implication of the heat-shock response in oncogenesis. *J Cell Physiol* 227:2982–2987.
  31. Zachara NE, O'Donnell N, Cheung WD, Mercer JJ, Marth JD, Hart GW (2004) Dynamic O-GlcNAc modification of nucleocytoplasmic proteins in response to stress. A survival response of mammalian cells. *J Biol Chem* 279:30133–30142.
  32. Kazemi Z., Chang H., Haserodt S., Mcken C., Zachara N.E. (2010). O-Linked -N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) regulates stress-induced heat shock protein expression in a GSK-3-dependent manner. *J. Biol. Chem.* 285, 39096–39107.
  33. Gong J, Jing L (2011) Glutamine induces heat shock protein 70 expression via O-GlcNAc modification and subsequent increased expression and transcriptional activity of heat shock factor-1. *Minerva Anestesiol* 77:488–495.
  34. Walgren JL, Vincent TS, Schey KL, Buse MG (2003) High glucose and insulin promote O-GlcNAc modification of proteins, including beta-tubulin. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 284: E424–E434.
  35. Frank LA, Sutton-McDowall ML, Brown HM, Russell DL, Gilchrist RB, Thompson JG (2014) Hyperglycaemic conditions perturb mouse oocyte in vitro developmental competence via -O-linked glycosylation of heat shock protein 90. *Hum Reprod* 29:1292–1303.
  36. Guinez C, Lemoine J, Michalski JC, Lefebvre T (2004) 70-kDa heat shock protein presents an adjustable lectinic activity towards O-linked N-acetylglucosamine. *Biochem Biophys Res Commun* 319:21–26.
  37. Zhang F, Snead CM, Catravas JD (2012) Hsp90 regulates Olinked-N-acetylglucosamine transferase: a novel mechanism of modulation of protein O-linked -N-acetylglucosamine modification in endothelial cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 302: C1786–C1796.
  38. Ma Z, Vosseller K (2014) Cancer metabolism and elevated O-GlcNAc in oncogenic signaling. *J Biol Chem* 50:34457–34465.
  39. Kedersha N, Anderson P (2007) Mammalian stress granules and processing bodies. *Meth Enzymol* 431:61–81.
  40. Ohn T, Kedersha N, Hickman T, Tisdale S, Anderson P (2008) A functional RNAi screen links O-GlcNAc modification of ribosomal proteins to stress granule and processing body assembly. *Nat Cell Biol* 10:1224–1231.
  41. McClain DA, Lubas WA, Cooksey RC, Hazel M, Parker GJ, Love DC, Handover JA (2002) Altered glycan-dependent signaling induces insulin resistance and hyperleptinemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:10695–10699.
  42. Vosseller K, Wells L, Lane MD, Hart GW (2002) Elevated nucleocytoplasmic glycosylation by O-GlcNAc results in insulin resistance associated with defects in Akt activation in 3T3-L1 adipocytes. *Proc Natl Acad Sci USA* 99:5313–5318.
  43. Arias E.B., Kim J., Cartee G.D. (2004). Prolonged incubation in PUGNAc results in increased protein O-linked glycosylation and insulin resistance in rat skeletal muscle. *Diabetes* 53,921–930.
  44. Park SY, Ryu J, Lee W (2005) O-GlcNAc modification on IRS-1 and Akt2 by PUGNAc inhibits their phosphorylation and induces insulin resistance in rat primary adipocytes. *Exp Mol Med* 37:220–229.
  45. Perez-Cervera Y, Dehennaut V, Aquino-Gil M, Guedri K, Solorzano-Mata CJ, Olivier-Van Stichelen S, Foulquier F, Lefebvre T (2013) Insulin signaling controls the expression of O-GlcNAc transferase and its interaction with lipid microdomains. *FASEB J* 27:3478–3486.
  46. Soesanto YA, Luo B, Jones D, Taylor R, Gabrielsen JS, Parker G, McClain DA (2008) Regulation of Akt signaling by O-GlcNAc in euglycemia. *Am. J. Physiol. Endocrinol Metab* 295: E974–E980.
  47. Shi J, Gu J, Dai C, Gu J, Jin C, Sun J, Iqbal K, Liu F, Gong CX (2015) O-GlcNAcylation regulates ischemia-induced neuronal apoptosis through AKT signaling. *Sci Rep* 5:14500.
  48. Lehman DM, Fu DJ, Freeman AB, Hunt KJ, Leach RJ, Johnson-Pais T, Hamlington J, Dyer TD, Arya R, Abboud H, Göring HHH, Duggirala R, Blangero J, Konrad RJ, Stern MP (2005) A single nucleotide polymorphism in MGEA5 encoding O-GlcNAc-selective N-acetyl-β-D glucosaminidase is associated with type 2

- diabetes in Mexican Americans. *Diabetes* 54:1214–1221.
49. DeBerardinis RJ, Lum JJ, Hatzivassiliou G, Thompson CB. (2008). The biology of cancer: metabolic reprogramming fuels cell growth and proliferation. *Cell Metab.* 7(1):11–20
  50. Osthus RC, Shim H, Kim S, Li Q, Reddy R, Mukherjee M, Xu Y, Wonsey D, Lee LA, Dang CV (2000) Deregulation of glucose transporter 1 and glycolytic gene expression by c-Myc. *J Biol Chem* 29:21797–21800.
  51. Ying H, Kimmelman AC, Lyssiotis CA, Hua A, Chu GC, Fletcher-Sanankone E, Locasale JW, Son J, Zhang H, Coloff JL, Yan H, Wang W, Chen S, Viale A, Zheng H, Paik J, Lim C, Guimaraes AR, Martin ES, Chang J, Hezel AF, Perry SR, Hu J, Gan B, Xiao Y, Asara JM, Weissleder R, Wang YA, Chin L, Cantley LC, DePinho RA (2012) Oncogenic Kras maintains pancreatic tumors through regulation of anabolic glucose metabolism. *Cell* 3:656–70.
  52. Yuneva M, Zamboni N, Oefner P, Sachidanandam R, Lazebnik Y (2007) Deficiency in glutamine but not glucose induces MYC-dependent apoptosis in human cells. *J Cell Biol* 178:93–105.
  53. Wise D.R., DeBerardinis R.J., Mancuso A., Sayed N., Zhang X.Y., Pfeiffer H.K., Nissim I., Daikhin E., Yudkoff M., McMahon S.B., Thompson C.B. (2008). Myc regulates a transcriptional program that stimulates mitochondrial glutaminolysis and leads to glutamine addiction. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 105, 18782–18787.
  54. Wise DR, DeBerardinis RJ, Mancuso A, Sayed N, Zhang XY, Pfeiffer HK, Nissim I, Daikhin E, Yudkoff M, McMahon SB, Thompson CB (2008) Myc regulates a transcriptional program that stimulates mitochondrial glutaminolysis and leads to glutamine addiction. *Proc Natl Acad Sci USA* 105:18782–18787.
  55. Ma Z, Vocadlo DJ, Vosseller K (2013) Hyper-O-GlcNAcylation is anti-apoptotic and maintains constitutive NF- $\kappa$ B activity in pancreatic cancer cells. *J Biol Chem* 21:15121–15130.
  56. Caldwell SA, Jackson SR, Shahriari KS, Lynch TP, Sethi G, Walker S, Vosseller K, Reginato MJ (2010) Nutrient sensor O-GlcNAc transferase regulates breast cancer tumorigenesis through targeting of the oncogenic transcription factor FoxM1. *Oncogene* 29:2831–2842.
  57. Gu Y, Mi W, Ge Y, Liu H, Fan Q, Han C, Yang J, Han F, Lu X, Yu W (2010) GlcNAcylation plays an essential role in breast cancer metastasis. *Cancer Res* 70:6344–6351.
  58. Lynch TP, Ferrer CM, Jackson SR, Shahriari KS, Vosseller K, Reginato MJ (2012) Critical role of O-linked -N-acetylglucosamine transferase in prostate cancer invasion, angiogenesis, and metastasis. *J Biol Chem* 287:11070 –11081.
  59. Mi W, Gu Y, Han C, Liu H, Fan Q, Zhang X, Cong Q, Yu W (2011) O-GlcNAcylation is a novel regulator of lung and colon cancer malignancy. *Biochim Biophys Acta* 1812:514 –519.
  60. Yehezkel G, Cohen L, Kliger A, Manor E, and Khalaila I (2012) O-linked -N-acetylglucosaminylation (O-GlcNAcylation) in primary and metastatic colorectal cancer clones and effect of N-acetyl--D-glucosaminidase silencing on cell phenotype and transcriptome. *J Biol Chem* 287:28755–28769.
  61. Zhu Q, Zhou L, Yang Z, Lai M, Xie H, Wu L, Xing C, Zhang F, Zheng S (2012) O-GlcNAcylation plays a role in tumor recurrence of hepatocellular carcinoma following liver transplantation. *Med Oncol* 29:985–993.
  62. Shi Y, Tomic, J, Wen F, Shaha S, Bahlo A, Harrison R, Dennis JW, Williams R, Gross BJ, Walker S, Zuccolo J, Deans JP, Hart GW, Spaner DE (2010) Aberrant O-GlcNAcylation characterizes chronic lymphocytic leukemia. *Leukemia* 24:1588–1598.
  63. Handover JA, Weiping C, Bond MR (2017) O-GlcNAc in cancer: An oncometabolism-fueled vicious cycle. *J Bioenerg Biomembr* 3:155–173.
  64. Baldini SF, Steenackers A, Olivier-Van Stichelen S, Mir AM, Mortuaire M, Lefebvre T, Guinez C (2016) Glucokinase expression is regulated by glucose through O-GlcNAc glycosylation. *Biochem Biophys Res Commun* 478:942–948.
  65. Yu X, Li S (2017) Non-metabolic functions of glycolytic enzymes in tumorigenesis. *Oncogene* 36:2629–2636.
  66. Chaiyawat P, Chokchaichamnankit D, Lirdprapamongkol K, Srisomsap C, Svasti J, Champattanachai V (2015) Alteration of OGlcNAcylation affects serine phosphorylation and regulates gene expression and activity of pyruvate kinase M2 in colorectal cancer cells. *Oncol Rep* 34:1933–1942.
  67. Lynch TP, Ferrer CM, Jackson SR, Shahriari KS, Vosseller K, Reginato MJ (2012) Critical role of O-linked -N-acetylglucosamine transferase in prostate cancer invasion, angiogenesis, and metastasis. *J Biol Chem* 287:11070 –11081.
  68. Thiery JP, Acloque H, Huang RY, Nieto MA (2009) Epithelial-mesenchymal transitions in development and disease. *Cell* 139:871– 890.
  69. Thiery JP, Sleeman JP (2006) Complex networks orchestrate epithelial-mesenchymal transitions. *Nat Rev Mol Cell Biol* 7:131–142.
  70. Valastyan S, Weinberg RA (2011) Tumor metastasis: molecular insights and evolving paradigms. *Cell* 147:275–292.

71. Park SY, Kim HS, Kim NH, Ji S, Cha SY, Kang JG, Ota I, Shimada K, Konishi N, Nam HW, Hong SW, Yang WH, Roth J, Yook JI, Cho JW (2010) Snail1 is stabilized by O-GlcNAc modification in hyperglycaemic condition. *EMBO J* 29:3787–3796.
72. Zhu W, Leber B, Andrews DW (2001) Cytoplasmic O-glycosylation prevents cell surface transport of E-cadherin during apoptosis. *EMBO J* 20:5999-6007.
73. Chou TY, Hart GW, Dang CV (1995) C-Myc is glycosylated at threonine 58, a known phosphorylation site and a mutational hot spot in lymphomas. *J Biol Chem* 270:18961–18965.
74. Itkonen HM, Minner S, Guldvik IJ, Sandmann MJ, Tsourlakis MC, Berge V, Svindland A, Schlomm T, Mills IG (2013) O-GlcNAc transferase integrates metabolic pathways to regulate the stability of c-MYC in human prostate cancer cells. *Cancer Res* 16:5277–5287.
75. Zhang B, Zhou P, Li X, Shi Q, Li D, Ju X (2017) Bitterness in sugar: O-GlcNAcylation aggravates pre-B acute lymphocytic leukemia through glycolysis via the PI3K/Akt/c-Myc pathway. *Am J Cancer Res* 7:1337–1349.
76. Freund P, Kerenyi MA, Hager M, Wagner T, Wingelhofer B, Pham HTT, Elabd M, Han X, Valent P, Gouilleux F, Sexl V, Kramer OH, Groner B, Moriggl R (2017) O-GlcNAcylation of STAT5 controls tyrosine phosphorylation and oncogenic transcription in STAT5-dependent malignancies. *Leukemia* 31:2132–2142.
77. Allard, M. F., Schonekess, B. O., Henning, S. L., English, D. R., & Lopaschuk, G. D. (1994) Contribution of oxidative metabolism and glycolysis to ATP production in hypertrophied hearts. *Am J Physiol* 267, H742–H750.
78. Chatham, J. C., & Young, M. E. (2012). Metabolic remodeling in the hypertrophic heart: fuel for thought. *Circ Res* 111,666–668.
79. Young ME, Yan J, Razeghi P, Cooksey RC, Guthrie P H, Stepkowski SM, McClain DA, Tian R, Taegtmeier H (2007) Proposed regulation of gene expression by glucose in rodent heart. *Gene Regul Syst Biol* 1:251–262.
80. Fulop N, Feng W, Xing D, He K, Not LG, Brocks CA, Marchase RB, Miller AP, Chatham JC (2008) Aging leads to increased levels of protein o-linked n-acetylglucosamine in heart, aorta, brain, and skeletal muscle in Brown-Norway rats. *Biogerontology* 9:139–151.
81. Facundo HT, Brainard RE, Watson LJ, Ngoh GA, Hamid T, Prabhu SD, Jones SP (2012) O-GlcNAc signaling is essential for NFAT-mediated transcriptional reprogramming during cardiomyocyte hypertrophy. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 302:H2122-H2130.
82. Watson LJ, Facundo HT, Ngoh GA, Ameen M, Brainard RE, Lemma KM, Long BW, Prabhu SD, Xuan YT, Jones SP (2010) O-linked beta-N-acetylglucosamine transferase is indispensable in the failing heart. *Proc Natl Acad Sci USA* 107:17797–17802.
83. Hu Y, Suarez J, Fricovsky E, Wang H, Scott BT, Trauger SA, Han W, Hu Y, Oyeleye MO, Dillmann WH (2009) Increased enzymatic OGlcNAcylation of mitochondrial proteins impairs mitochondrial function in cardiac myocytes exposed to high glucose. *J Biol Chem* 284:547-555.
84. Clark RJ, McDonough PM, Swanson E, Trost SU, Suzuki M, Fukuda M, Dillmann WH (2003) Diabetes and the accompanying hyperglycemia impairs cardiomyocyte calcium cycling through increased nuclear O-GlcNAcylation. *J Biol Chem* 278:44230–44237.
85. Hu Y, Belke D, Suarez J, Swanson E, Clark R, Hoshijima M, Dillmann WH (2005) Adenovirus-mediated overexpression of O-GlcNAcase improves contractile function in the diabetic heart. *Circ Res* 96:1006–1013.
86. Ngoh GA, Facundo HT, Hamid T, Dillmann W, Zachara NE, Jones SP (2009) Unique hexosaminidase reduces metabolic survival signal and sensitizes cardiac myocytes to hypoxia/reoxygenation injury. *Circ Res* 104:41–49.
87. Mattiazii A, Kranias G (2014) The role of CaMKII regulation of phospholamban activity in heart disease. *Front Pharmacol* 27; 5:5.
88. Yokoe S, Asahi M, Takeda T, Otsu K, Taniguchi N, Miyoshi E, Suzuki K (2010) Inhibition of phospholamban phosphorylation by O-GlcNAcylation: implications for diabetic cardiomyopathy. *Glycobiology* 20:1217–1226.
89. Dassanayaka S, Jones SP (2014) O-GlcNAc and the cardiovascular system. *Pharmacology & Therapeutics* 142:62–71.
90. Liu J, Pang Y, Chang T, Bounelis P, Chatham JC, Marchase RB (2006) Increased hexosamine biosynthesis and protein O-GlcNAc levels associated with myocardial protection against calcium paradox and ischemia. *J Mol Cell Cardiol* 40:303–312.
91. Champattanachai V, Marchase RB, Chatham JC (2007) Glucosamine protects neonatal cardiomyocytes from ischemia-reperfusion injury via increased protein associated O-GlcNAc. *Am J Physiol Cell Physiol* 292:C178–C187.
92. Fulop N, Zhang Z, Marchase RB, Chatham JC (2007) Glucosamine cardioprotection in perfused rat hearts associated with increased o-linked n-acetylglucosamine protein

- modification and altered p38 activation. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 292:H2227–H2236.
93. Champattanachai V, Marchase RB, Chatham JC (2008) Glucosamine protects neonatal cardiomyocytes from ischemia–reperfusion injury via increased protein O-GlcNAc and increased mitochondrial Bcl-2. *Am J Physiol Cell Physiol* 294:C1509–C1520.
  94. Ngoh GA, Watson LJ, Facundo HT, Dillmann W, Jones SP (2008) Non-canonical glycosyltransferase modulates post-hypoxic cardiac myocyte death and mitochondrial permeability transition. *J Mol Cell Cardiol* 45:313–325.
  95. Jensen RV, Johnsen J, Kristiansen SB, Zachara NE, Botker HE (2013) Ischemic preconditioning increases myocardial O-GlcNAc glycosylation. *Scand Cardiovasc J* 47:168–174.
  96. Jones SP, Zachara NE, Ngoh GA, Hill BG, Teshima Y, Bhatnagar A, Hart GW, Marban E (2008) Cardioprotection by n-acetylglucosamine linkage to cellular proteins. *Circulation* 117:1172–1182.
  97. Zafir A, Readnower R, Long BW, McCracken J, Aird A, Alvarez A, Cummins TD, Li Q, Hill BG, Bhatnagar A, Prabhu SD, Bolli R, Jones SP (2013) Protein O-GlcNAcylation is a novel cytoprotective signal in cardiac stem cells. *Stem Cells* 31:765–775.
  98. Ngoh GA, Hamid T, Prabhu SD, Jones SP (2009) O-GlcNAc signaling attenuates ER stress-induced cardiomyocyte death. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 297:H1711–H1719.
  99. Hwangh, Rhim H (2018) Functional significance of O-GlcNAc neuronal modification in regulating properties. *Pharmacological Research* 129:295–307.
  100. Taylor EW, Wang K, Nelson AR, Puckett R, Bredemann TM, Fraser KB, Clinton SM, Marchase RB, Chatham JC, McMahon ALL (2014) O-GlcNAcylation of receptor GluA2 is associated depression with a novel form of long-term at hippocampal synapses. *J Neurosci.* 1:10–21.
  101. Yang YR, Song S, Hwang H, Lee JH, Jung SJ, Kim SJ, Yoon S, Hur JH, Park JI, Nam CD, Seo YK, Kim JH, Rhim H, Suh PG (2017) Memory and synaptic plasticity are impaired by dysregulated hippocampal O-GlcNAcylation. *Sci. Rep* 7:44921.
  102. Wang AC, Jensen eH, Rexach JE, Vinters HV, Hsieh-Wilson LC (2016) Loss of O-GlcNAc glycosylation in forebrain excitatory neurons induces neurodegeneration. *Proc Nat Acad Sc USA* 52:15120–15125.
  103. Liu Y, Li X, Yu Y, Shi J, Liang Z, Run X, Li Y, Dai CL, Grundke-Iqbal I, Iqbal KF, Liu F, Gong CX (2012) Developmental regulation of protein O-GlcNAcylation, O-GlcNAc transferase and O-GlcNAcase in mammalian brain. *PLoS One* 8: e43724.
  104. Lagerlof O, Hart GW, Haganir RL (2017) Excitatory O-GlcNAc transferase regulates excitatory synapse maturity. *Proc Natl Acad Sci USA* 7:1684–1689.
  105. Olivier-Van Stichelen S, Wang P, Comly M, Love DC, Hanover JA (2017) Nutrient-driven O-linked N-Acetylglucosamine (O-GlcNAc) cycling impacts neurodevelopmental timing and metabolism. *J Biol Chem* 15:6076–6085.
  106. Rexach JE, Clark PM, Mason DE, Neve RL, Peters EC, Hsieh-Wilson LC (2012) Dynamic O-GlcNAc modification regulates CREB-mediated gene expression and memory formation. *Nat Chem Biol* 3:253–261.
  107. Atasoy D, Betley JN, Su HH, Sternson SM (2012) Deconstruction of a neural circuit for hunger. *Nature* 7410:172–177.
  108. Ruan HB, Dietrich MO, Liu ZW, Zimmer MR, Li MD, Singh JP, Zhang K, Wu J, Horvath TL, Yang X (2014) O-GlcNAc transferase enables AgRP Neurons to suppress browning of white fat. *Cell* 2: 306–317.
  109. Khidekel N, Ficarro SB, Peters EC, Hsieh-Wilson LC (2004) Exploring the O-GlcNAc proteome: direct identification of O-GlcNAc-modified proteins from the brain. *Proc Nat. Acad Sci USA* 36:13132–13137.
  110. Trinidad JC, Barkan DT, Gullledge BF, Thalhammer A, Sali A, Schoepfer R, Burlingame AL (2012) Global identification and characterization of both O-GlcNAcylation and phosphorylation at the murine synapse. *Mol Cel. Proteomics* 8:215–229.
  111. Avila J, Lucas JJ, Perez M, Hernandez F (2004) Role of tau protein in both physiological and pathological conditions. *Physiol Rev* 2:361–384.
  112. Hanger DP, Noble W (2011) Functional implications of glycogen synthase kinase-3-mediated tau phosphorylation. *Int J Alzheimers Dis* 2011:352805.
  113. Noble W, Hanger DP, Miller CC, Lovestone S (2013) The importance of tau phosphorylation for neurodegenerative diseases. *Front Neurol* 4:83.
  114. Dixit R, Ross JL, Goldmanv YE, Holzbaur EL (2008) Differential regulation of dynein and kinesin motor proteins by tau. *Science* 5866:1086–1089.
  115. Cho JH, Johnson GV (2003) Glycogen synthase kinase 3beta phosphorylates tau at both primed and unprimed sites. Differential impact on microtubule binding. *J Biol Chem* 1:187–193.

116. Sultan A, Nesslany F, Violet M, Begard S, Loyens A, Talahari S, Mansuroglu Z, Marzin D, Sergeant N, Humez S, Colin M, Bonnefoy E, Buee L, Galas MC (2011) Nuclear tau, a key player in neuronal DNA protection. *J Biol Chem* 6:4566–4575.
117. Mondragon-Rodriguez S, Trillaud-Doppia E, Dudillot A, Bourgeois C, Lauzon M, Leclerc N, Boehm J (2012) Interaction of endogenous tau protein with synaptic proteins is regulated by tauphosphorylation, N-methyl-D-aspartate receptor-dependent. *J Biol Chem* 38:32040–32053.
118. Kimura T, Whitcomb DJ, Jo J, Regan P, Piers T, Heo S, Brown C, Hashikawa T, Murayama M, Seok M, Sotiropoulos I, Kim E, Collingridge GL, Takashima A, Cho K (2014) Microtubule-associated protein tau is essential for long-term depression in the hippocampus. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 1633:20130144.
119. Lim S, Haque MM, Nam G, Ryoo N, Rhim H, Kim YK (2015) Monitoring of intracellular tau aggregation regulated by OGA/OGT inhibitors. *Int. J. Mol. Sci.* 6 (9) (2015) 20212–20224.
120. LaFerla FM, Green KN, Oddo S (2007) Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci* 7:499–509.
121. Wang Y, Mandelkow E (2016) Tau in Physiology and pathology. *Nat Rev Neurosci* 1: 5–21.
122. Griffith LS, Mathes M, Schmitz B (1995) Beta-amyloid precursor protein is modified with O-linked N-acetylglucosamine. *J Neurosci Res* 2:270–278.
123. Jacobsen KT, Iverfeldt K (2011) O-GlcNAcylation increases non-amyloidogenic processing of the amyloid-beta precursor protein (APP). *Biochem Biophys Res Commun* 3:882–886.
124. Maries E, Dass B, Collier TJ, Kordower JH, Steece-Collier K (2003) The role of alpha-synuclein in Parkinson's disease: insights from animal models. *Nat Rev Neurosci* 9: 727–738.
125. Marotta NP, Lin YH, Lewis YE, Ambroso MR, Zaro BW, Roth MT, Arnold DB, Langen R, Pratt MR (2015) O-GlcNAc modification blocks the aggregation and toxicity of the protein alpha-synuclein associated with Parkinson's disease. *Nat Chem* 11:913–920.
126. Folmes CD, Dzeja PP, Nelson TJ, Terzic A (2012) Metabolic plasticity in stem cell homeostasis and differentiation. *Cell Stem Cell* 5:596–606.
127. Zhang H, Badur MG, Divakaruni AS, Parker SJ, Jager C, Hiller K, Murphy AN, Metallo CM (2016) Distinct metabolic states can support self-renewal and Lipogenesis in human pluripotent stem cells under different culture conditions. *Cell Rep* 16:1536–1547.
128. Chen CT, Shih YR, Kuo TK, Lee OK, Wei YH (2008) Coordinated changes of mitochondrial biogenesis and antioxidant enzymes during osteogenic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Stem Cells* 4:960–968.
129. Turner WS, Seagle C, Galanko JA, Favorov O, Prestwich GD, Macdonald JM, Reid LM (2008) Nuclear magnetic resonance metabolomic footprinting of human hepatic stem cells and hepatoblasts cultured in hyaluronan-matrix hydrogels. *Stem Cells* 6:1547–1555.
130. Simsek T, Kocabas F, Zheng J, Deberardinis RJ, Mahmoud AI, Olson EN, Schneider JW, Zang CC, Sadek H (2010) The distinct metabolic profile of hematopoietic stem cells reflects their location in a hypoxic niche. *Cell Stem Cell* 3:380–390.
131. Mohyeldin A, Garzon-Muvdi T, Quinones-Hinojosa A (2010) Oxygen in stem cell biology: a critical component of the stem cell niche. *Cell Stem Cell* 2:150–161.
132. Varum S, Momcilovic O, Castro C, Ben-Yehudah A, Ramalho-Santos J, Navara CS (2009) Enhancement of human embryonic stem cell pluripotency through inhibition of the mitochondrial respiratory chain. *Stem Cell Res* 2–3:142–156
133. Chen G, Gulbranson DR, Hou Z, Bolin JM, Ruotti V, Probasco MD, Smuga-Otto K, Howden SE, Diol NR, Popson NE, Wagner R, Lee GO, Antonsiewics-Bourget J, Teng JMC, Thomson JA (2011) Chemically defined conditions for human iPSC derivation and culture. *Nat Methods* 5:424–429.
134. Kondoh H, Leonart ME, Nakashima Y, Yokode M, Tanaka M, Bernard D, Gil J, Beach D (2007) A high glycolytic flux supports the proliferative potential of murine embryonic stem cells. *Antioxid Redox Signal* 3:293–299.
135. Marsboom G, Zhang GF, Pohl-Avila N, Zhang Y, Yuan Y, Kang H, Hao B, Brunengraber H, Malik AB, Rehman J (2016) Glutamine metabolism regulates the pluripotency transcription factor OCT4. *Cell Rep* 2:323–332.
136. Sharma NS, Saluja AK, Banerjee S (2018) Nutrient-sensing and self-renewal: O-GlcNAc in a new role. *J Bioenerg Biomembr* 50: 205–211.
137. Shafi R, Iyer SPN, Ellies LG, O'Donnell N, Marek KW, Chui D, Hart GW, Marth JD (2000) The O-GlcNAc transferase gene resides on the X chromosome and is essential for embryonic stem cell viability and mouse ontogeny. *PNAS* 11:5735–5739.
138. Jang H, Kim TW, Yoon S, Choi SY, Kang TW, Kim SY, Kwon YW, Cho EJ, Youn HD (2012) O-GlcNAc regulates pluripotency and reprogramming by



- directly acting on core components of the pluripotency network. *Cell Stem Cell* 11:62–74.
139. Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126:663–76.
  140. Speakman CM, Domke TC, Wongpaiboonwattana W, Sanders K, Mudaliar M, van Aalten DM, Barton GJ, Stavridis MP (2014) Elevated O-GlcNAc levels activate epigenetically repressed genes and delay mouse ESC differentiation without affecting naive to primed cell transition. *Stem Cells* 32(10):2605–2615.
  141. Pathak S, Borodkin VS, Albarbarawi O, Campbell DG, Ibrahim A, van Aalten DM (2012) O-GlcNAcylation of TAB1 modulates TAK1-mediated cytokine release. *EMBO J* 31:1394–1404.
  142. Chikanishi T, Fujiki R, Hashiba W, Sekine H, Yokoyama A, Kato S (2010) Glucose induced expression of MIP-1 genes requires O-GlcNAc transferase in monocytes. *Biochem Biophys Res Commun* 394:865–870.
  143. Dias WB, Cheung WD, Wang Z, Hart GW (2009) Regulation of calcium/calmodulin dependent kinase IV by O-GlcNAc modification. *J Biol Chem* 284:21327–21337.
  144. Yao AY, Tang HY, Wang Y, Feng MF, Zhou RL (2004) Inhibition of the activating signals in NK92 cells by recombinant GST-sHLA-G1a chain. *Cell Res* 14:155–160.
  145. Hwang SY, Hwang JS, Kim SY, Han IO (2013) O-GlcNAc transferase inhibits LPS-mediated expression of inducible nitric oxide synthase through an increased interaction with mSin3A in RAW264.7 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 305:C601–C608.
  146. Li X, Gong W, Li L, Wen H (2017) Downregulation of the O-GlcNAc signaling promotes activation of the innate immune response in microbial sepsis. *J Immunol* 70:78.
  147. Ryu IH, Do SI (2011) Denitrosylation of S-nitrosylated OGT is triggered in LPS-stimulated innate immune response. *Biochem Biophys Res Commun* 408:52–57.
  148. Li X, Zhang Z, Li L, Gong W, Lazenby AJ, Swanson BJ, Herring LE, Asara JM, Singer JD, Wen H (2017) Myeloid-derived cullin 3 promotes STAT3 phosphorylation by inhibiting OGT expression and protects against intestinal inflammation. *J Exp Med* 214:1093–1109.
  149. de Jesus T, Shukla S, Ramakrishnan P (2018) Too sweet to resist: Control of immune cell function by O-GlcNAcylation. *Cellular Immunology* 333:85–92.
  150. Kneass ZT, Marchase RB (2005) Protein O-GlcNAc modulates motility-associated signaling intermediates in neutrophils. *J Biol Chem* 280:14579–14585.
  151. O'Donnell N, Zachara NE, Hart GW, Marth JD (2004) Ogt-dependent X-chromosome-linked protein glycosylation is a requisite modification in somatic cell function and embryo viability. *Mol Cell Biol* 24:1680–1690.
  152. Golks A, Tran TT, Goetschy JF, Guerini D (2007) Requirement for O-linked N-acetylglucosaminyltransferase in lymphocytes activation. *EMBO J* 26:4368–4379.
  153. Ramakrishnan P, Clark PM, Mason DE, Peters EC, Hsieh-Wilson LC, Baltimore D (2013) Activation of the transcriptional function of the NF-kappaB protein c-Rel by O-GlcNAc glycosylation. *Sci Signal* 6:ra75.
  154. Johnson B, Opimba M, Bernier J (2014) Implications of the O-GlcNAc modification in the regulation of nuclear apoptosis in T cells. *Biochim Biophys Acta* 1840:191–198.
  155. Lund PJ, Elias JE, Davis MM (2016) Global analysis of O-GlcNAc glycoproteins in activated human T cells. *J Immunol* 197:3086–3098.
  156. Swamy M, Pathak S, Grzes KM, Damerow S, Sinclair LV, van Aalten DM, Cantrell DA (2016) Glucose and glutamine fuel protein O-GlcNAcylation to control T cell self-renewal and malignancy. *Nat Immunol* 17:712–720.
  157. Liu R, Ma X, Chen L, Yang Y, Zeng Y, Gao J, Jiang W, Zhang F, Li D, Han B, Han R, Qiu R, Huang W, Wang Y, Hao J (2017) MicroRNA-15b suppresses Th17 differentiation and is associated with pathogenesis of multiple sclerosis by targeting O-GlcNAc transferase. *J Immunol* 198:2626–2639.
  158. Wu JL, Chiang MF, Hsu PH, Tsai DY, Hung KH, Wang YH, Angata T, Lin KI (2017) O-GlcNAcylation is required for B cell homeostasis and antibody responses. *Nat Commun* 8:1854.
  159. Martinez MR, Dias TB, Natov PS, Zachara NE (2017) Stress-induced O-GlcNAcylation: an adaptive process of injured cells. *Biochemical Society Transactions* 45:237–249
  160. Yuzwa SA, Shan X, Macauley MS, Clark T, Skorobogatko Y, Vosseller K, Voadlo DJ (2012) Increasing O-GlcNAc slows neurodegeneration and stabilizes tau against aggregation. *Nat Chem Biol* 8:393–399.