

ARTÍCULO DE REVISIÓN
Glicosilación viral

ARTÍCULO DE REVISIÓN

GLICOSILACIÓN VIRAL

Itandehui Belem Gallegos Velasco (1), Vicente Vázquez Aguilar (1), María Dolores Sánchez Caballero (1), Miriam Salomé López Castellanos (1), Brenda Leticia Santiago Olivera (1), Pedro Antonio Hernández Cruz* (1)

(1) Centro de investigación Facultad de Medicina UNAM-UABJO. Laboratorio de Glicobiología, Genómica y Proteómica del cáncer. Facultad de Medicina UABJO. 68020. Oaxaca, Oax. México

* Autor de correspondencia correo E: fuegoblanco136@yahoo.com.mx

RESUMEN

Los glicanos son uno de los componentes celulares más importantes, sin embargo, debido a su diversidad estructural, sus funciones no han sido completamente estudiadas. La glicosilación es una modificación importante de muchas proteínas. Los virus dependen de la glicosilación para realizar funciones biológicas. Se han descrito múltiples funciones de la glicosilación de proteínas virales durante infecciones como el dengue, el Zika, la influenza, el virus de la inmunodeficiencia humana, y los coronavirus. En esta revisión, se explicará el proceso de glicosilación de proteínas virales y su papel en los procesos patológicos.

PALABRAS CLAVE

Interacciones virus-huésped, glicosilación, virus, glicoproteína, escudo de glicanos

ABSTRACT

Glycans are one of the most important cellular components; however, due to their structural diversity, their functions have not been fully studied. Glycosylation is an important modification of many proteins. Viruses depend on glycosylation to perform biological functions. Multiple functions of viral protein glycosylation have been described during infections such as dengue, Zika, influenza, human immunodeficiency virus, and coronaviruses. In this review, the glycosylation process of viral proteins and its role in pathological processes will be explained.

KEYWORDS

Virus-host interactions, glycosylation, virus, glycoprotein, glycan shielding

Introducción

Glicano es un término general que abarca la mayoría de los polímeros de carbohidratos que se encuentran en forma de polisacárido o como parte de un glicoconjugado, como los glicolípidos, glicopéptidos o glicoproteínas. Los glicanos juegan un papel esencial en varios procesos biológicos, como la proliferación y diferenciación celular, el desarrollo de organismos, la comunicación celular, la migración celular e inmunidad (1, 2). Los virus se consideran patógenos intracelulares obligatorios: para una infección, necesitan incorporar su material genético en la célula huésped, utilizar su maquinaria para replicarse, ensamblar nuevos viriones, y luego liberarlos para infectar más células y/u organismos (3, 4). Las glicoproteínas virales se producen a través de la vía secretora (como ocurre en las glicoproteínas de células eucariotas) y se glicosilan de la misma manera que las glicoproteínas del huésped. Por lo tanto, los virus dependen de la maquinaria de glicosilación presente en la célula infectada; además, cualquier alteración realizada en la síntesis de glicanos de la célula también se reflejará en las glicoproteínas virales (4). Los glicanos en las proteínas de la superficie viral están involucrados en el proceso de unión viral a las células huésped para la entrada, fusión viral, protección de epítomos específicos, y en el plegamiento, estabilidad y protección de las proteínas virales.

La glicosilación viral ha cobrado importancia clínica. En esta revisión se han seleccionado virus muy relevantes para la salud pública. Las investigaciones sobre glicosilación viral se han centrado en glicoproteínas de la envoltura viral (Tabla 1), como la glicoproteína de envoltura (Env) del virus de inmunodeficiencia humana-1 (VIH-1), la hemaglutinina (HA) del virus de la gripe, la glicoproteína espiga (S) de los coronavirus, la glicoproteína (GP) del virus del Ébola, el complejo glicoproteico (GPC) del virus de Lassa, y la glicoproteína de la envoltura (E) del virus del dengue, Zika y otros flavivirus (4). Sin embargo,

VIRUS	PROTEINA VIRAL	SITIO DE GLICOSILACION	FUNCION
DENV	Envoltura	Asn-67 Asn-153	Entrada, transmisión y replicación del virus
	NS1	Asn-130 Asn-207	Crecimiento viral, secreción de NS1, citopatología, neurovirulencia y destrucción del endotelio
ZIKV	Envoltura	Asn-154	Replicación, ensamble, apoptosis e invasión en el mosquito
	prM	Asn-69	Producción del virus. Expresión y secreción del ZIKV E
WNV	Envoltura	Asn-154	Ensamblaje e infectividad de la partícula. Replicación e infección en mosquitos. Neuroinvasividad en ratones
	NS1	Asn-130, Asn-175 y Asn-207	Internalización y neuroinvasividad en ratón
JEV	Envoltura	Asn-154	Replicación, neurovirulencia y neuroinvasividad en ratones
HCV	E1 y E2		Plegamiento de proteínas, entrada del virus, ensamble y secreción de las partículas virales
HIV	Env/gp120	Asn-260	Expresión de gp120 y gp41. Infectividad y entrada del virus
EBOV	GP1		Transducción de partículas virales. Sensibilidad a la cathepsina B
	GP2	Asn-563 y Asn-618	Entrada del virus
SARS-CoV-2	S	Asn-90 o Asn-322	Entrada del virus

Tabla 1. Proteínas virales glicosiladas. **DENV**, Virus del dengue; **ZIKV**, Virus del Zika; **WNV**, Virus del Nilo Occidental; **JEV**, virus de la encefalitis japonesa; **HCV**, Virus de la hepatitis C; **HIV**, Virus de inmunodeficiencia humana; **EBOV**, Virus del Ébola; **SARS-CoV-2**, Síndrome respiratorio agudo severo causado por el coronavirus 2.

la glicosilación en virus no se limita a las glicoproteínas de la envoltura. Muchas proteínas virales secretadas presentan glicanos que son necesarios para sus funciones, como la proteína no estructural-1 (NS1) de los flavivirus, la GP secretada del Ébola y la glicoproteína secretada G (sgG) del virus del herpes simple (VHS) (4).

Procesamiento de N-glicanos y O-glicanos

Los glicanos presentan una gran diversidad estructural. Sus funciones no han sido plenamente exploradas debido a que las enzimas responsables de sintetizarlos se expresan de manera específica en células y tejidos como respuesta a señales del entorno, lo que a veces imposibilita el desarrollo de estrategias experimentales para su estudio.

Las moléculas glicosiladas se caracterizan por la naturaleza de la unión que se presenta entre el carbohidrato y la parte proteica o lipídica. Existen dos tipos de glicanos relacionados con la glicosilación viral: los N-glicanos y los O-glicanos. Los N-glicanos son complejos macro-moleculares formados a partir de un precursor sintetizado en el retículo endoplásmico rugoso (RER), formados por un oligosacárido compuesto por N-acetil glucosamina (GlcNAc), manosa (Man) y glucosa (Glc), el cual se une al grupo amino (NH₂) de la cadena lateral de la asparagina (Asn) de una proteína (Fig. 1) (5).

La N-glicosilación de proteínas es la modificación postraduccional más conservada y compacta en eucariotas que comienza con la transferencia de un oligosacárido que contiene 14 monosacáridos: Glc₃ Man₉ (GlcNAc₂) a una secuencia consenso Asn-X-Thr/Ser (6), donde X es cualquier aminoácido excepto la prolina. Los N-glicanos presentes en las proteínas se clasifican en tres grandes grupos. El primer grupo está compuesto por los N-glicanos con un alto contenido de manosa en su estructura son muy comunes en proteínas con diversos orígenes y funciones, como por ejemplo proteínas plasmáticas, hormonas, enzimas, receptores de superficie celular, inmunoglobulinas y lectinas; además, son intermediarios para otro tipo de estructuras N-glicánicas más complejas. El segundo grupo es el de los N-glicanos complejos o de estructuras del tipo lactosamínico, formados por el disacárido Galβ1-4GlcNAc en cantidad variable. Las glicoproteínas que presentan este tipo de estructuras normalmente se encuentran en la superficie celular actuando como señales de reconocimiento celular. El tercer tipo de estructura N-glicánica se conoce como híbrida y las proteínas que presentan este tipo de arreglo contienen una mezcla de estructuras lactosamínicas y manosas. Los N-glicanos también pueden proteger a las proteínas de la acción de proteasas (7).

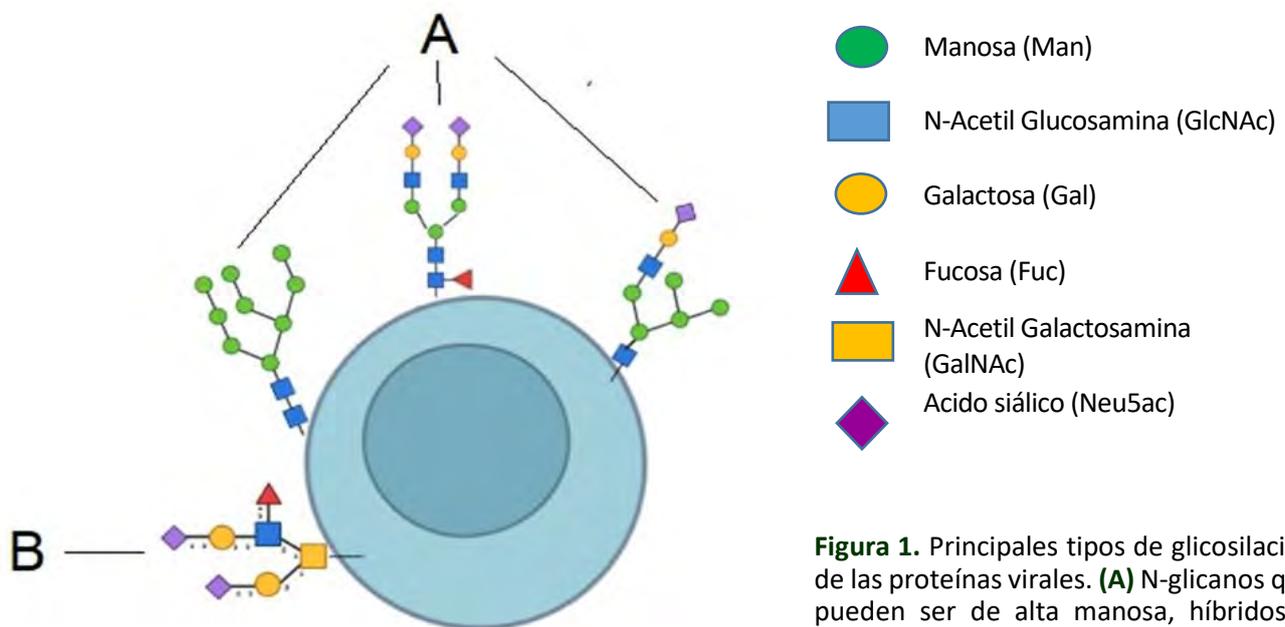


Figura 1. Principales tipos de glicosilación de las proteínas virales. (A) N-glicanos que pueden ser de alta manosa, híbridos o complejos. (B) O-glicanos.

La O-glicosilación consiste en glicanos unidos vía N-acetilgalactosamina (GalNAc) ligada al grupo hidroxilo de residuos serina (Ser) y treonina (Thr), y es una de las formas más abundantes de glicosilación de proteínas en animales, este proceso está controlado por una familia de genes que codifican las enzimas responsables del inicio de la

glicosilación. Las mucinas son un ejemplo de este tipo de glicoproteínas.

La O-glicosilación de tipo mucínico es un proceso controlado por una gran familia de hasta 20 genes homólogos que codifican UDP-GalNAc: polipéptido GalNAc-transferasa (GalNAc-Ts), con una

regulación diferencial en células y tejidos al poder generar una gran variedad de estructuras (8). Por su gran complejidad y diversidad, los O-glicanos participan en la conformación de la estructura secundaria y terciaria e inclusive de la cuaternaria de algunas proteínas como las mucinas.

La glicosilación de las proteínas es fundamental para una amplia gama de procesos moleculares y celulares que pueden dividirse según sus funciones en intrínsecas y extrínsecas. Las funciones intrínsecas se basan en las propiedades intramoleculares de las glicoproteínas, mientras que las

funciones extrínsecas resultan de la modulación de las interacciones intermoleculares de las glicoproteínas con los socios de unión de los glicanos, como las lectinas y los anticuerpos. Las proteínas víricas son glicosiladas por la célula huésped porque los virus no codifican los genes necesarios para realizar este proceso. Además, como los glicanos están codificados genéticamente, la glicosilación puede estar sometida a una importante presión selectiva por factores como la evasión inmunitaria y las funciones de plegamiento y ensamblaje de las glicoproteínas (Fig. 2) y (Fig. 3).

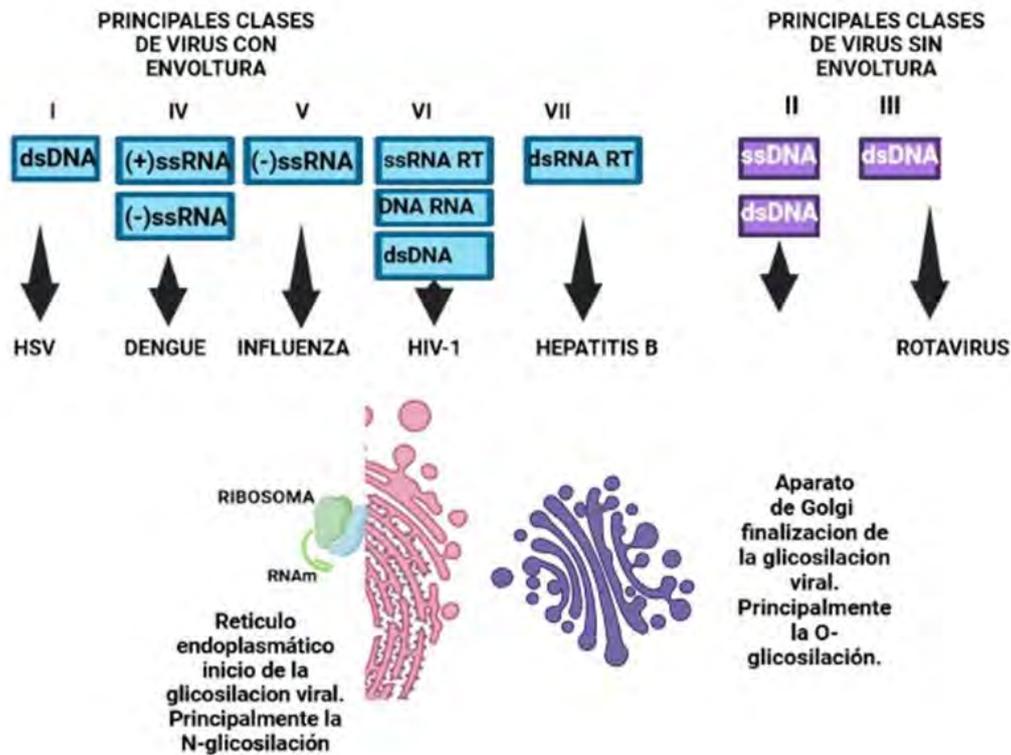


Figura 2. Glicosilación de una glicoproteína vírica. Las clases virales con virus con envoltura y sin envoltura están coloreadas en azul y morado, respectivamente. Aunque no están envueltos, virus como los rotavirus también pueden explotar las vías de glicosilación del huésped para modificar sus proteínas. Tras la síntesis de RNAm, se lleva a cabo la síntesis de N-glicanos, principalmente en el retículo endoplasmático, para que posteriormente se lleve a cabo la síntesis de O-glicanos en el aparato de Golgi.

Glicosilación de las proteínas del virus del dengue

El virus del dengue (DENV), miembro del género flavivirus de la familia *Flaviviridae*, causa enfermedades víricas en humanos transmitidas por artrópodos comunes y supone una enorme amenaza sanitaria y económica a la población (9). El DENV tiene cuatro serotipos diferentes (DENV-1, DENV-2, DENV-3 y DENV-4), todos los cuales pueden causar enfermedades (9). Las partículas víricas están compuestas por tres proteínas estructurales: la de la cápside (C), la de la envoltura (E) y la proteína (pre) de membrana (prM/M) (10).

Además, el DENV tiene siete proteínas no estructurales (NS), que incluyen NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5. La proteína E desempeña un papel esencial en la fijación viral al receptor del huésped, la captación celular de partículas víricas y la fusión de membranas (11); tiene dos sitios de N-glicosilación en Asn-67 y Asn-153. El sitio de glicosilación Asn-153 se conserva en la mayoría de los flavivirus, mientras que el sitio de glicosilación Asn-67 es exclusivo del DENV (11).

La glicosilación de la proteína E en Asn-67 tiene un papel importante en la transmisión del DENV

mejorando la entrada del virus ya que interactúa directamente con el receptor de células dendríticas DC-SIGN del huésped (12); el cual es una lectina tipo C y cuyo dominio de reconocimiento a carbohidrato reconoce el N-glicano en Asn-67 (11). La ausencia de glicosilación en Asn-67 suprime la replicación del DENV y hace que el

virus sea incapaz de producir nuevas partículas infecciosas debido a un transporte deficiente en la vía retículo endoplasmático-aparato de Golgi (11). Por otro lado, los N-glicanos localizados en Asn-153 de la proteína E del DENV son importantes para la supervivencia del DENV tanto en células de mamíferos como de mosquito (12).

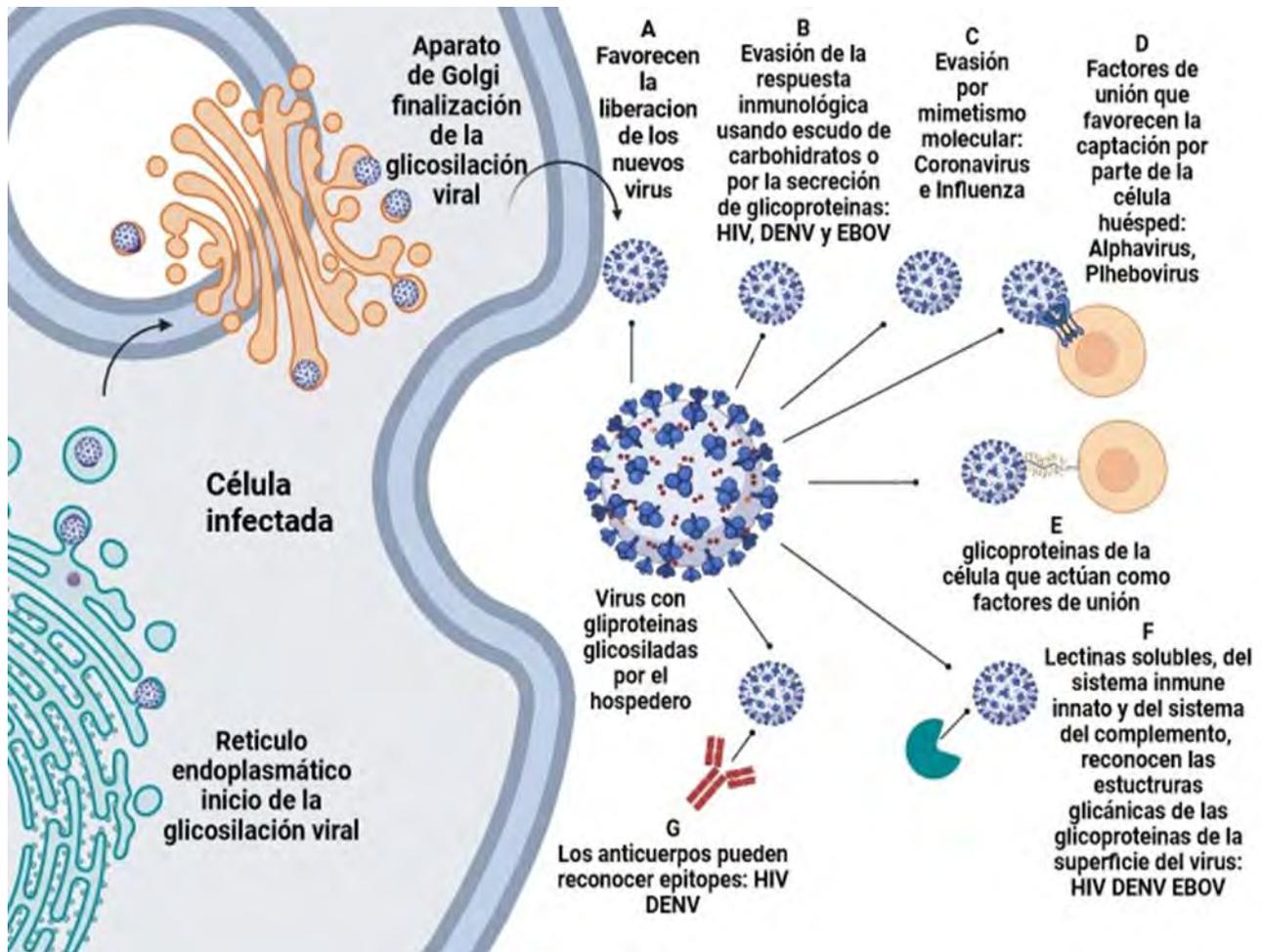


Figura 3. Funciones de la glicosilación en la patogénesis vírica. Las funciones que contribuyen a la patogénesis vírica y las estrategias de las células huésped utilizadas para responder a la infección vírica. El plegamiento y tráfico de glicoproteínas. Como ocurre con todas las glicoproteínas, los glicanos de las glicoproteínas víricas contribuyen a su plegamiento y tráfico a través de la vía secretora del huésped. **(A)** Glicosilación en la liberación viral. La glicosilación de las proteínas de las células huésped infectadas puede influir en la propagación vírica. **(B)** Evasión inmunitaria mediante glicoproteínas secretadas. Los virus pueden liberar o secretar glicoproteínas para actuar como señuelos inmunitarios o protegerse por un escudo de carbohidratos. **(C)** Evasión por mimetismo molecular. Las proteínas víricas extensamente glicosiladas protegen de la respuesta inmunitaria del huésped ocluyendo la superficie proteica inmunógena con una densa capa de glicanos derivados del huésped. **(D)** Glicanos actúan como factores de adhesión y captación mejorada por las células inmunitarias. Algunas glicoproteínas de la envoltura del virus contienen glicanos de tipo oligomanosídicos poco procesados que funcionan como factores de adhesión a las células huésped para aumentar o facilitar la infección de las células inmunitarias. **(E)** Glicanos del huésped como factores de adhesión. Los virus pueden reconocer los glicanos presentes en las proteínas de la superficie de la célula huésped para facilitar la adhesión a la célula huésped. **(F)** Lectinas solubles del sistema inmunitario innato y activación del complemento. Como los glicanos poco procesados raramente se presentan en las glicoproteínas maduras de la célula huésped, el sistema inmunitario innato es capaz de reconocer estos glicanos como patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP) utilizando lectinas solubles. **(G)** Glicanos como epítopos de anticuerpos. Cuando se conserva el blindaje de los glicanos en las glicoproteínas víricas, es posible que la respuesta inmunitaria humoral, en raras ocasiones, provoque anticuerpos neutralizantes dirigidos contra los azúcares como parte de sus epítopos. **HIV**, Virus de inmunodeficiencia humana; **DENV**, Virus del dengue; **EBOV**, Virus del Ébola.

Glicosilación de las proteínas del virus de Zika

El virus de Zika (ZIKV) es un flavivirus transmitido por mosquitos que causa graves enfermedades humanas, como malformaciones del neurodesarrollo (síndrome de Zika congénito) y síndrome de Guillain-Barré (13). El genoma codifica tres proteínas estructurales, es decir, proteínas de cápside (C), de membrana (prM) y de envoltura (E) que forma la partícula del virus con siete proteínas no estructurales (NS) (NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B y NS5). Las proteínas prM y E del virus ZIKV tienen sitios de glicosilación. La N-glicosilación en Asn-154 de la proteína E del ZIKV afecta al ensamblaje y la infectividad del virus *in vitro* (14) y también modula la invasión del ZIKV en el intestino medio del mosquito. La N-glicosilación de la proteína E del ZIKV puede potenciar la infectividad viral a través de lectinas de la superficie celular que participan en la adsorción del virus a células diana que soportan la replicación viral (14)

La N-glicosilación de la proteína prM también es esencial para el ciclo de vida del ZIKV. La proteína prM de todas las cepas del ZIKV contiene un único sitio de N-glicosilación en Asn-69 (15). Los N-glicanos de la proteína prM y de la proteína E del ZIKV son esenciales para la secreción eficaz de la proteína E del ZIKV y ambos son indispensables para la supervivencia del virus (15). La falta de N-glicosilación de la prM conduce a una expresión y secreción deficiente de la proteína E, lo que provoca la acumulación de la proteína E en el retículo endoplásmico (RE), desencadenando así la respuesta de estrés del RE, un fenómeno que es perjudicial para el ciclo de vida del ZIKV (15).

Glicosilación de las proteínas del virus del Nilo Occidental

El virus del Nilo Occidental (VNO) también es un virus transmitido por artrópodos que pertenece a la familia *Flaviviridae*. El genoma codifica una única poliproteína que se divide en tres proteínas estructurales y siete no estructurales. Las proteínas estructurales son las proteínas de la cápside (C), el precursor de la membrana (prM), y las proteínas de la envoltura identificadas como glicoproteínas (E). Esta poliproteína a su vez origina también las proteínas no estructurales NS1, NS2A, NS2B, NS3, NS4A, NS4B, y NS5). Las proteínas prM de todas las cepas del VNO contienen sitios de N-glicosilación; sin embargo, no todas las cepas contienen un sitio de N-glicosilación en la proteína E. El motivo de N-glicosilación (NYS/T) de la proteína E del VNO se localiza entre las posiciones amino-acídicas 154-156 (16). Las cepas que contienen glicosilación de la proteína E en el sitio N154 pueden utilizar DC-SIGN como receptor para po-

teciar la infección vírica (17). El VNO que carece de N-glicanos en la proteína E no puede replicarse y propagarse eficazmente en células de mosquito (18). Cuando se glicosila la proteína E del VNO, se potencia el ensamblaje del virus y aumenta la infectividad viral. Por otra parte, cuando se infectaron ratones con el VNO, sólo el virus con la proteína E glicosilada mostró neuroagresividad, lo que sugiere que la glicosilación de la proteína E es un determinante molecular de la neuroagresividad del VNO (19). La proteína prM del VNO tiene un sitio potencial de N-glicosilación en el aminoácido 15 del dominio extracelular. Los estudios han demostrado que los sitios de N-glicosilación en la prM del VNO desempeñan un papel en la regulación del ensamblaje y la liberación del virus, pero tienen poco efecto en la infectividad del virus. La eliminación de la glicosilación en la prM o en la proteína E resulta en una reducción de la liberación de partículas subvirales. Sin embargo, el papel específico de la glicosilación en la patogénesis del VNO necesita más evaluación (20).

Glicosilación de las proteínas del virus de la inmunodeficiencia humana

El VIH pertenece a la familia *Retroviridae*, género lentivirus y se clasifica en dos tipos: VIH-1 y VIH-2. El VIH-1 es el causante de la pandemia mundial SIDA mientras que el VIH-2, que también puede producir SIDA, se considera menos patogénico y menos transmisible. Las proteínas estructurales son codificadas por los genes gag, pol y env. El gen gag sintetiza al precursor p55 que es cortado para producir las proteínas p24, p17, p6 y p7; el gen pol, codifica un precursor de las enzimas necesarias para la replicación viral; mientras que el gen env codifica para gp41 y gp120, que forman parte de las espículas de la envoltura viral (21). La glicoproteína de envoltura (Env) del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) está compuesta por la subunidad de superficie gp120 y la subunidad transmembrana gp41 (21). Los N-glicanos de la proteína gp120 son esenciales para el correcto plegamiento de la proteína. La gp120 del VIH contiene nueve enlaces disulfuro y está altamente glicosilada, con una media de 24 N-glicanos, incluyendo el sitio de glicosilación Asn-260, que define la expresión correcta de gp120 y gp41 (21). La mutación N260Q podría afectar al plegamiento y la degradación lisosómica de la gp120, provocando la pérdida de infectividad viral. Otros estudios han demostrado que la reducción de la infectividad del virus se debe a la eliminación de glicanos en el dominio V1/V2 de la gp120. (22). Además, N-glicanos altamente conservados en la proteína gp120 se localizan preferentemente cerca de los puentes disulfuro, los que participan en el plegamiento de la proteína. La

eliminación de los enlaces disulfuro afecta significativamente la capacidad del receptor de células dendríticas DC-SIGN para unirse al VIH (23).

La capacidad de unirse al receptor CD4 se redujo en virus cuya proteína gp120 porta la mutación N260Q, lo que sugiere que la glicosilación N260 afecta al proceso de entrada del virus (24). Además, los N-glicanos podrían afectar a la función de la proteína y la respuesta de los anticuerpos neutralizantes. Dado el papel fundamental de los N-glicanos en los dominios V1/V2 de la gp120 del VIH-1, la mayoría de los estudios se han centrado en la respuesta de los anticuerpos neutralizantes frente a los N-glicanos ligados a la gp120, lo que podría constituir una nueva diana para la intervención terapéutica farmacológica específica (25).

Glicosilación de las proteínas del virus de la gripe A

El virus de la gripe A (IAV), género *Influenzavirus A*, pertenece a la familia *Orthomyxoviridae*. El genoma del *Virus influenza A* codifica diez proteínas: Hemaglutinina (HA), neuraminidasa (NA), nucleoproteína (NP), proteínas de la matriz 1 y 2 (M1, M2), proteínas no estructurales 1 y 2 (NS1, NS2), polimerasas (PA, PB1 y PB2). La proteína HA determina la antigenicidad del IAV. La HA de la mayoría de los H1N1 humanos tienen de 5 a 11 sitios de N-glicosilación, los cuales están situados en la cabeza globular de la molécula HA (26). La glicosilación de la proteína HA es importante para el plegamiento, el transporte y la estabilidad de la proteína (27). Cambios en la glicosilación cerca del sitio de unión al receptor de la HA modifica su afinidad por los receptores. (28). La glicosilación en la proteína HA, regula la patogenicidad del virus. La pérdida de un N-glicano se relaciona con la resistencia a la neutralización por colectinas, que actúan como β inhibidores, jugando un papel importante en la respuesta inmunológica innata; además la pérdida del N-glicano aumenta de la virulencia en ratones (29, 30). La N-glicosilación es importante en las funciones de la NA. La falta de glicosilación de la NA podría aumentar la neurovirulencia de la cepa IAV A/WSN/33 de ratón (31, 32).

Glicosilación de las proteínas del virus de Ébola

El virus del Ébola (EBOV) pertenece a la familia *Filoviridae* y su RNA contiene una secuencia de siete genes que codifican nucleoproteína (NP), cofactores de la polimerasa (VP35 y VP40), glicoproteína (GP), activadores de la transcripción (VP30 y VP24) y la RNA polimerasa RNA dependiente (RdRp o proteína-L) sin la cual el RNA del virus no podría transcribirse a mRNA. La glicoproteína de superficie (GP) está compuesta por trímeros de heterodímeros GP1/GP2.

La subunidad GP1 es importante para la unión a receptores, mientras que la subunidad GP2 es necesaria para la fusión de membranas. La GP1 del EBOV contiene 15 sitios de N-glicosilación. La pérdida de cualquiera de los sitios de N-glicosilación no afecta a la expresión de la GP, pero aumenta la síntesis del pseudovirión (33). La eliminación de los N-glicanos de GP1 no afecta a la unión de las partículas pseudovirales a la superficie celular, pero aumenta la sensibilidad a la proteasa cathepsina B, además aumenta la sensibilidad de neutralización de anticuerpos, mientras que la introducción de la mutación N618D en la subunidad GP1 (7Gm8 G), aumenta la sensibilidad de neutralización de las partículas de virus (33).

La subunidad GP2 de todos los filovirus contiene dos sitios de N-glicosilación altamente conservados en las posiciones N563 y N618 (33). La eliminación del sitio de glicosilación en N563 conduce a una mayor entrada del virus, posiblemente a través de la destrucción parcial de la estabilidad de la GP. La eliminación de un único glicano en N563 o N618 no aumenta la sensibilidad a los anticuerpos neutralizantes. Además, la sensibilidad a los anticuerpos aumenta en los virus que carecen de todos los N-glicanos en la GP1 o del glicano en N618 en la GP2, en comparación con los virus con una sola mutación en cualquiera de los sitios de N-glicosilación de la GP1 (34).

Glicosilación de las proteínas del SARS-CoV-2

El SARS-CoV-2 es un nuevo virus que ha causado la pandemia mundial "Enfermedad por Coronavirus 2019" (COVID-19), una enfermedad respiratoria aguda grave. El genoma del virus SARS-CoV-2 codifica 4 proteínas estructurales: la proteína S (proteína espiga), la proteína E (envoltura), la proteína M (membrana) y la proteína N (nucleocápside).

La proteína espiga, en su dominio de unión al receptor (RBD) contiene 22 sitios de N-glicosilación, mientras que su receptor, la enzima convertidora de angiotensina 2 (ACE2), contiene 7 sitios de N-glicosilación (35).

Los O-glicanos y N-glicanos de la proteína espiga del SARS-CoV-2 son menos importantes en la regulación de la unión directa entre la proteína espiga y su receptor, pero inhiben la entrada del virus, el bloqueo de la biosíntesis de los N-glicanos y del procesamiento de los O-glicanos, e inhibe la entrada del SARS-CoV-2. El análisis de la estructura cristalina mostró que los glicanos clave que regulan este proceso están localizados en la posición Asn-90 o Asn-322 de la proteína espiga (36).

Diferencia en la maquinaria de glicosilación entre especies

Debido a que las células presentan un grupo específico de enzimas de procesamiento de glicanos, el origen celular de la replicación viral tiene el potencial de influir significativamente en la glicosilación viral; del mismo modo, cualquier huésped multicelular mostrará una gama de glicosilación tejido-específica que influirá potencialmente en el tropismo viral. La composición de la glicosilación puede diferir de una especie a otra, lo que constituye una característica importante del potencial de transmisión entre especies, de hecho, muchos patógenos humanos son virus zoonóticos con reservorios animales, aunque la vía de N-glicosilación en los mamíferos este conservada (37). Por ejemplo, los humanos carecen del epítipo galactosa- α -1,3-galactosa que es una estructura común en las posiciones terminales de los glicanos de mamíferos y la inmunidad basada en anticuerpos contra estos epítipos puede limitar la infectividad viral entre especies (38).

Relevancia de las glicoproteínas virales secretadas

La presencia y distribución de lectinas en la superficie celular, junto con la glicosilación viral, también influyen en la transmisión. Por ejemplo, en virus transmitidos por insectos a mamíferos, el virus mostrará características específicas de la glicosilación de invertebrados, mientras que los viriones posteriores fabricados en el nuevo huésped contendrán glicosilación de mamíferos. Así, la glicosilación viral experimenta un cambio de composición en la transmisión entre especies que influirá en la interacción con los receptores inmunológicos y las respuestas que también influirán en el tropismo viral. Los invertebrados presentan estructuras paucimanosídicas, las cuales tienen, unidos al núcleo $\text{Man}_3\text{GlcNAc}_2$, residuos de α (1, 3) Fuc y/o residuos de β (1, 2) Xyl, sin terminar el proceso de síntesis. Así, en el caso de las enfermedades transmitidas por insectos, como el dengue y el Zika, estas estructuras pueden afectar a la utilización de las lectinas, la infectividad, y el tropismo en función del origen de la replicación vírica (39).

La excreción o secreción de glicoproteínas virales constituye una importante estrategia empleada por algunos virus para desviar la respuesta inmunitaria humoral. Esto puede ocurrir absorbiendo anticuerpos neutralizantes o modulando la respuesta inmunitaria para atacar epítipos no neutralizantes. El gen GP del virus del Ébola contiene una región de poli-U que impulsa el cambio de marco transcriptional que genera tres glicoproteínas: una GP dimérica secretada (sGP) que representa el 75% de los transcritos, la proteína de fusión (GP) que representa ~25% de los transcritos, y niveles traza

de una pequeña GP soluble (ssGP). Aunque se desconoce la función de la ssGP, se la ha asociado con la evasión inmunitaria viral al actuar como señuelo de anticuerpos. La sGP del ébola "subvierte antigénicamente" el sistema inmunitario, redirigiendo la respuesta inmunitaria humoral a epítipos diana compartidos con la GP completa (40).

Durante la fiebre de Lassa aguda en humanos también se ha observado el desprendimiento de la subunidad de la glicoproteína de fijación (GP1) del virus de Lassa. Aunque aún no se ha dilucidado la función exacta de la GP1 desprendida, se ha propuesto que ésta puede actuar como señuelo inmunológico de forma similar a la sGP del ébola (41).

La proteína no estructural-1 (NS1) del virus del dengue es una glicoproteína secretada por las células infectadas, presenta dos sitios de N-glicosilación que son esenciales para la formación de hexámeros, la secreción, y la modulación de la estabilidad de la proteína. La NS1 se une a glicosaminoglicanos de heparina sulfato y condroitina sulfato en la superficie de varias células. Desempeña un papel tanto en la replicación viral como en la evasión inmunológica, y se ha planteado la hipótesis de que el reconocimiento inmunológico de NS1 en las superficies de las células endoteliales puede facilitar la fuga vascular durante la infección grave por Dengue (42, 43).

Diversos virus, como el VIH-1, la gripe, el Lassa, los coronavirus y el Ébola, han evolucionado para proteger sus respectivas glicoproteínas de envoltura con glicanos derivados del huésped para evitar el reconocimiento de la superficie proteica subyacente por parte de los anticuerpos. La importancia de la N-glicosilación de las proteínas de la envoltura con respecto a la evasión inmunitaria, se ha observado en muchos virus, como hepatitis C, hepatitis B, Hendra, enfermedad de Newcastle y virus del herpes simple entre otros. Algunas proteínas de fusión de clase I muestran densidades particularmente altas de glicanos, lo que concuerda con su función de blindaje (42, 43).

La protección de glicanos se ha estudiado en la proteína Env del VIH-1, que es la única glicoproteína que se encuentra en la superficie del virus. El Env maduro existe como un trímero de heterodímeros gp120-gp41 asociados de forma no covalente que se generan por escisión de furina (enzima que corta residuos de aminoácidos de las proteínas para que se vuelvan funcionales), de un precursor polipeptídico gp160. La subunidad de unión al receptor gp120 ayuda a dictar el tropismo de la célula huésped y a facilitar la unión al receptor CD4 y a los co-receptores CXCR4/CCR5; mientras que gp41 facilita la fusión de las

membranas de la célula huésped y viral tras la unión al receptor por gp120, y los extensos cambios conformacionales de Env que siguen. El Env del VIH-1 presenta entre 18 y 33 glicanos por monómero de gp120, con una mediana de 25 sitios de glicanos en gp120 y 4 glicanos en la subunidad gp41 (44). La amplitud de estas modificaciones postraduccionales, combinada con la flexibilidad intrínseca del Env trimérico y la evolución constante del escudo de glicanos, hace que la respuesta inmunológica hacia Env sea muy difícil de alcanzar (45).

El enmascaramiento de epítomos por glicosilación también se ha observado en las proteínas de espiga (S) de los coronavirus. Al igual que ocurre con el Env del VIH-1 y las HA de la gripe, que utilizan la N-glicosilación para proteger los sitios de unión del CD4, los coronavirus también parecen ocultar los dominios de unión a receptores utilizando N-glicanos. Las proteínas S de los coronavirus son grandes glicoproteínas con 23 y 38 sitios potenciales de N glicosilación (46).

Perspectivas

La capacidad de los virus envueltos para utilizar la maquinaria de glicosilación de la célula huésped y

adornar sus propias glicoproteínas con glicanos derivados del huésped es vital para múltiples facetas de la patogénesis viral. Los recientes avances en el campo del análisis de la glicosilación han permitido conocer mejor las funciones que desempeñan los glicanos en el tráfico y plegamiento de proteínas, la adhesión viral y las respuestas inmunitarias a la infección. A menudo, estas glicoproteínas víricas son los únicos antígenos expresados en la superficie vírica y constituyen objetivos cruciales para el desarrollo de vacunas. Dado que el mimetismo antigénico es fundamental para la mayoría de las vacunas autorizadas, es importante que la glicosilación de los inmunógenos sea representativa de la observada en el virus, además, la glicosilación de los inmunógenos puede desempeñar un papel central en el reconocimiento inmunitario innato para mejorar la inmunidad humoral. La comprensión de las estructuras de los glicanos, los modos de reconocimiento y su funcionalidad también han dado lugar al desarrollo de varias terapias para combatir una amplia gama de patógenos mortales, por eso es de vital importancia el conocimiento que la glicobiología viral proporcionará para desarrollar nuevas terapias y vacunas. 

Referencias

- Varki A, Gagneux P. Biological functions of glycans. En: Varki A, Cummings RD, Esko JD, Stanley P, Hart GW, Aebi M, Mohnen D, Kinoshita T, Packer NH, Prestegard JH, Schnaar RL y Seeberger PH editores. *Essentials of Glycobiology*, 4ta edición. Cold Spring Harbor New York: Harbor Laboratory Press; 2015. p. 77–88
- Johannssen T, Lepenies B. Glycan-based cell targeting to modulate immune responses. *Trends Biotechnol.* 2017; 35:334–346.
- Bagdonaite I, Wandall HH. Global aspects of viral glycosylation. *Glycobiology.* 2018; 28:443–467
- Watanabe Y, Bowden TA, Wilson IA, Crispin M. Exploitation of glycosylation in enveloped virus pathobiology. *Biochim Biophys Acta.* 2019; 1863(10):1480–1497
- Suzuki T, Kitajima K, Inoue S, Inoue Y. N-glycosylation/deglycosylation as a mechanism for the post-translational modification/remodification of proteins. *Glycoconj J.* 1995; 12:183–193.
- B S GK, Surolia A. Comprehensive analysis of α 2-3-linked sialic acid specific *Maackia amurensis leukagglutinin* reveals differentially occupied N-glycans and C-terminal processing. *Int J Biol Macromol.* 2017; 94:114–121.
- Burchell JM, Beatson R, Graham R, Taylor Papadimitriou J, Tajadura-Ortega V. O-linked mucin-type glycosylation in breast cancer. *Biochem Soc Trans.* 2018; 46:779–788.
- Bennett E, Mandel U, Clausen H, Gerken T, Fritz T y Tabak, L. Control of mucin type O-glycosylation: A classification of the polypeptide GalNAc-transferase gene family. *Glycobiology.* 2012; 22:736–756.
- Gubler, DJ. Dengue/dengue haemorrhagic fever: history and current status. En: Bock G, Goode J editores. *New Treatment Strategies for Dengue and Other Flaviviral Diseases: Novartis Foundation Symposium 277*. 1era edición. Chichester UK: John Wiley & Sons Ltd; 2006. p. 3–22.
- Chang CJ, Luh HW, Wang SH, Lin HJ, Lee SC, Hu ST. The heterogeneous nuclear ribonucleoprotein K (hnRNP K) interacts with dengue virus core protein. *DNA and cell biology.* 2001; 20(9), 569–577.

11. Yap SS, Nguyen-Khuong T, Rudd PM, Alonso S. Dengue virus glycosylation: what do we know? *Frontiers in microbiology*. 2017; 8, 1415.
12. Alen MM, Dallmeier K, Balzarini J, Neyts J, Schols D. Crucial role of the N-glycans on the viral E-envelope glycoprotein in DC-SIGN-mediated dengue virus infection. *Antiviral research*. 2012; 96(3), 280-287.
13. Muñoz LS, Parra B, Pardo CA. Neuroviruses Emerging in the Americas Study. Neurological implications of Zika virus infection in adults. *The Journal of infectious diseases*. 2017; 216(suppl_10), S897-S905.
14. Wen D, Li S, Dong F, Zhang Y, Lin Y, Wang J, Zheng A. N-glycosylation of viral E protein is the determinant for vector midgut invasion by flaviviruses. *Mbio*. 2018; 9(1), e00046-18.
15. Maharaj PD, Langevin SA, Bolling BG, Andrade CC, Engle XA, Ramey WN, Boscolauth A, Bowen RA, Sanders TA, Huang CY, Reisen WK, Brault AC. N-linked glycosylation of the West Nile virus envelope protein is not a requisite for avian virulence or vector competence. *PLoS Neglected Tropical Diseases*. 2019; 13(7), e0007473.
16. Martina BE, Koraka P, Van den Doel P, Rimmelzwaan GF, Haagmans BL, Osterhaus AD. DC-SIGN enhances infection of cells with glycosylated West Nile virus in vitro and virus replication in human dendritic cells induces production of IFN- α and TNF- α . *Virus research*. 2008; 135(1), 64-71.
17. Moudy RM, Payne AF, Dodson BL, Kramer LD. Requirement of glycosylation of West Nile virus envelope protein for infection of, but not spread within, *Culex quinquefasciatus* mosquito vectors. *The American journal of tropical medicine and hygiene*. 2011; 85(2), 374.
18. Shirato K, Miyoshi H, Goto A, Ako Y, Ueki T, Kariwa, H, Takashima I. Viral envelope protein glycosylation is a molecular determinant of the neuroinvasiveness of the New York strain of West Nile virus. *Journal of General Virology*. 2004; 85, 3637-3645.
19. Hanna SL, Pierson TC, Sanchez MD, Ahmed AA, Murtadha MM, Doms RW. N-linked glycosylation of west nile virus envelope proteins influences particle assembly and infectivity. *Journal of virology*. 2005; 79(21), 13262-13274.
20. Mathys L, François K O, Quandte M, Braakman I, Balzarini J. Deletion of the highly conserved N-glycan at Asn260 of HIV-1 gp120 affects folding and lysosomal degradation of gp120, and results in loss of viral infectivity. *PloS one*. 2014; 9(6), e101181.
21. Auwerx J, François KO, Covens K, Van Laethem K, Balzarini J. Glycan deletions in the HIV-1 gp120 V1/V2 domain compromise viral infectivity, sensitize the mutant virus strains to carbohydrate-binding agents and represent a specific target for therapeutic intervention. *Virology*. 2008; 382(1), 10-19.
22. Mathys L, Balzarini J. Several N-glycans on the HIV envelope glycoprotein gp120 preferentially locate near disulphide bridges and are required for efficient infectivity and virus transmission. *PLoS One*. 2015; 10(6), e0130621.
23. François KO, Balzarini J. The highly conserved glycan at asparagine 260 of HIV-1 gp120 is indispensable for viral entry. *Journal of Biological Chemistry*. 2011; 286(50), 42900-42910.
24. Quiñones-Kochs MI, Buonocore L, Rose JK. Role of N-linked glycans in a human immunodeficiency virus envelope glycoprotein: effects on protein function and the neutralizing antibody response. *Journal of virology*. 2002; 76(9), 4199-4211.
25. Schulze IT. Effects of glycosylation on the properties and functions of influenza virus hemagglutinin. *Journal of Infectious Diseases*. 1997; 176(Supplement_1), S24-S28.
26. Roberts PC, Garten Wolfgang, Klenk HD. Role of conserved glycosylation sites in maturation and transport of influenza A virus hemagglutinin. *Journal of virology*. 1993; 67(6), 3048-3060.
27. Gambaryan AS, Marinina VP, Tuzikov AB, Bovin NV, Rudneva I.A, Sinitsyn BV, Matrosovich MN. Effects of host-dependent glycosylation of hemagglutinin on receptor-binding properties of H1N1 human influenza A virus grown in MDCK cells and in embryonated eggs. *Virology*. 1998; 247(2), 170-177.
28. Deshpande KL, Fried VA, Ando M, Webster RG. Glycosylation affects cleavage of an H5N2 influenza virus hemagglutinin and regulates virulence. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 1987; 84(1), 36-40.
29. Reading PC, Pickett DL, Tate MD, Whitney PG, Job ER, Brooks AG. Loss of a single N-linked glycan from the hemagglutinin of influenza virus is associated with resistance to collectins and increased virulence in mice. *Respiratory research*. 2009; 10(1), 1-11.
30. Wagner R, Wolff T, Herwig A, Pleschka S, Klenk HD. Interdependence of hemagglutinin glycosylation and neuraminidase as regulators of influenza virus growth: a study by reverse genetics. *Journal of virology*. 2000; 74(14), 6316-6323.

31. Li SHENGQIANG, Schulman J, Itamura S, Palese P. Glycosylation of neuraminidase determines the neurovirulence of influenza A/WSN/33 virus. *Journal of virology*. 1993; 67(11), 6667-6673.
32. Lennemann NJ, Rhein BA, Ndungo E, Chandran K, Qiu X, Maury W. Comprehensive functional analysis of N-linked glycans on Ebola virus GP1. *MBio*. 2014; 5(1), e00862-13.
33. Lennemann NJ, Walkner M, Berkebile AR, Patel N, Maury W. The role of conserved N-linked glycans on Ebola virus glycoprotein 2. *The Journal of infectious diseases*. 2015; 212(suppl_2), S204-S209.
34. Shajahan A, Archer-Hartmann S, Supekar NT, Gleinich AS, Heiss C, Azadi P. Comprehensive characterization of N- and O-glycosylation of SARS-CoV-2 human receptor angiotensin converting enzyme 2. *Glycobiology*. 2021; 31(4), 410-424.
35. Lan J, Ge J, Yu J, Shan S, Zhou H, Fan S, Wang, X. Structure of the SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain bound to the ACE2 receptor. 2020; *nature*, 581(7807), 215-220.
36. Kornfeld R, Kornfeld S. Assembly of asparagine-linked oligosaccharides. *Annual review of biochemistry*. 1985; 54(1), 631-664.
37. Galili U. Natural anti-carbohydrate antibodies contributing to evolutionary survival of primates in viral epidemics? *Glycobiology*. 2016; 26(11), 1140-1150.
38. Shi X y Jarvis DL. Protein N-glycosylation in the baculovirus-insect cell system. *Current drug targets*. 2007; 8(10), 1116-1125.
39. Mohan GS, Li W, Ye L, Compans RW, Yang, C. Antigenic subversion: a novel mechanism of host immune evasion by Ebola virus. *PLoS pathogens*. 2012; 8(12), e1003065.
40. Cohen-Dvashi, H, Cohen N, Israeli H, Diskin, R. Molecular mechanism for LAMP1 recognition by Lassa virus. *Journal of virology*. 2015; 89(15), 7584-7592.
41. Avirutnan, P, Zhang L, Punyadee N, Manuyakorn A, Puttikhunt C, Kasinrek W, Diamond MS. Secreted NS1 of dengue virus attaches to the surface of cells via interactions with heparan sulfate and chondroitin sulfate E. *PLoS pathogens*. 2007; 3(11), e183.
42. Thiemmecca S, Tamdet C, Punyadee N, Prommool T, Songjaeng A, Noisakran S, Avirutnan P. Secreted NS1 protects dengue virus from mannose-binding lectin-mediated neutralization. *The Journal of Immunology*. 2016; 197(10), 4053-4065.
43. Korber B, Gaschen B, Yusim K, Thakallapally R, Kesmir C, Detours, V. Evolutionary and immunological implications of contemporary HIV-1 variation. *British medical bulletin*. 2001; 58(1), 19-42.
44. Wyatt R, Kwong PD, Desjardins E, Sweet RW, Robinson J, Hendrickson WA, Sodroski JG. The antigenic structure of the HIV gp120 envelope glycoprotein. 1998; *Nature*, 393(6686), 705-711.
45. Xu R, Ekiert DC, Krause JC, Hai R, Crowe Jr JE, Wilson IA. Structural basis of preexisting immunity to the 2009 H1N1 pandemic influenza virus. *Science*. 2010; 328(5976), 357-360.