

Proteínas glicosiladas en trasplante renal

C. QUEREDA, J. SABATER, J. L. TERUEL, J. GONZALEZ REVALDERIA y J. ORTUÑO.

Servicio de Nefrología. Centro Ramón y Cajal. Madrid.

RESUMEN

La diabetes esteroidea es una complicación frecuente del trasplante renal. El aumento de la glicosilación no enzimática de proteínas en la diabetes mellitus ha sido implicado en la génesis de la arteriopatía. Sin embargo, su situación en trasplantados renales no es conocida. Hemos estudiado en 32 enfermos con trasplante renal funcionando la concentración de hemoglobinas glicosiladas medidas por cromatografía con resinas de intercambio iónico (HbA₁) y por un método químico (reacción con ATB), selectivo para el estudio de glicosilación (HbG) y la concentración de proteínas glicosiladas plasmáticas (PGP), con la misma técnica. Grupos control: 26 controles sanos y 19 diabéticos sin insuficiencia renal. Sus concentraciones, significativamente superiores en trasplantados que en normales y ligeramente inferiores a los diabéticos, se relacionan con parámetros del metabolismo glucídico (media de glucemia basal, glucemia máxima, glucosuria en los 3 meses previos al estudio) y con la dosis de corticoides recibida. Disminuyen con el tiempo de trasplante renal, pero aún se encuentran significativamente elevadas en relación a las normales, en un grupo de trasplantados de más de un año de evolución. Concluimos que en el trasplante renal existe un aumento de glicosilación de proteínas, paralelo a la alteración clínica del metabolismo glucídico y que se relaciona con el tratamiento esteroideo. Su persistencia en trasplantados de más de un año de evolución, sin manifestaciones diabéticas, denota la existencia en este grupo de una diabetes subclínica.

Palabras clave: Proteínas glicosiladas. Trasplante renal. Corticosteroides.

GLYCOSYLATED PROTEINS IN RENAL TRANSPLANTATION

SUMMARY

Although diabetes is a frequent complication of corticosteroid therapy in renal transplantation, the levels of glycosylated proteins in transplanted patients have not been sufficiently studied and their relation with therapy and vascular complications are not known.

We have determined glycosylated haemoglobin levels in 32 transplant recipients using two different methods: a conventional microcolumn chromatographic technique (HbA₁) and the chemical thiobarbituric acid method (GHb), in order to avoid possible interference with carbamylated haemoglobin. Plasma glycosylated proteins (PGP) were also determined with this technique. Two control groups were used: 26 healthy controls and 19 non-uremic diabetic patients.

HbA₁, HbG and PGP levels were higher in the transplant group than in the healthy controls and slightly lower than in diabetic patients. There is a significant correlation between them and the means of fasting glycemia, highest glycemia and glycosuria during the previous three months, and, also, with the amount of prednisone administered in this period. Their levels decrease with time but remain significantly raised more than one year after renal transplantation.

We conclude that glycosylation of proteins is increased after renal transplantation, reflecting an abnormal carbohydrate metabolism, related to corticosteroid therapy.

Key words: Glycosylated proteins. Renal transplantation. Corticosteroid therapy.

Correspondencia Dr. C. Quereda.
Servicio de Nefrología.
Centro Ramón y Cajal.
Carretera de Colmenar, km. 9,100. Madrid-34.

INTRODUCCION

Diversos azúcares pueden unirse in vivo con grupos amino libres de la hemoglobina y de otras proteínas, con formación de una cetoamina. Estas reacciones de glicosilación son postsintéticas, no enzimáticas y dependen de la concentración de azúcar y proteína en el medio¹⁻³, siendo las más estudiadas las que ocurren con glucosa. En el momento actual, es perfectamente conocida la utilidad de la determinación de hemoglobinas y proteínas glicosiladas como índice de control diabético^{4,5}, ya que representan una integración de los niveles de glucemia durante el período que corresponde a la vida media de la proteína^{6,7}, lo que puede contribuir, incluso, al descubrimiento de estados de hiperglucemia larvada, no objetivables por los procedimientos clínicos habituales. Sin embargo, su estudio adquiere una nueva perspectiva al conocerse que la glicosilación de diversas proteínas puede alterar su función⁸⁻¹⁴, lo que se ha relacionado con algunas manifestaciones tardías de la diabetes (arteriopatía, catarata, nefropatía, trastorno lipídico).

La diabetes esteroidea es una alteración frecuente en el trasplante renal y las complicaciones vasculares constituyen, en este grupo, la principal causa de muerte¹⁵⁻¹⁷. A pesar de ello, el estado de la glicosilación de proteínas en trasplantados renales y su relación con la terapéutica y complicaciones no son conocidos.

El objetivo del presente trabajo es estudiar la hemoglobina y proteínas plasmáticas glicosiladas totales en enfermos con trasplante renal funcionante, analizando su relación con el tiempo de evolución, circunstancias clínicas de éste y con la terapéutica.

MATERIAL Y METODO

1. Población estudiada

Se han estudiado 32 enfermos con trasplante renal funcionante y dos grupos control: 19 enfermos diabéticos y 26 controles sanos. Las principales características de estos grupos se resumen en la tabla I.

Los enfermos diabéticos eran atendidos ambulatoriamente y ninguno tenía insuficiencia renal ($Cr < 1,5$ mg.) ni infección clínica. Todos seguían una dieta hipocalórica, 10 eran tratados con insulina y 5 con antidiabéticos orales.

El tiempo medio de evolución del trasplante renal era de $12,1 \pm 9,6$ meses. En la tabla II se clasifica a los pacientes según el tiempo que llevarán trasplantados (grupo I: 2-3 meses, grupo II: 4-12 meses y grupo III: más de 12 meses).

Se indican los niveles de urea y creatinina de estos grupos, así como la dosis de corticoides (en equivalentes de prednisona), recibidos durante los 3 meses previos al estudio, incluyendo el tratamiento de base y el recibido durante las crisis de rechazo. El tratamiento esteroideo se ajustó al siguiente esquema: dosis inicial, prednisona 80 mg/día con descenso rápido de la dosis hasta 20 mg/día en el tercer mes y posterior descenso lento para alcanzar la dosis de 10 mg/día alrededor del segundo año postrasplante. Las crisis de rechazo han sido tratadas con metil-prednisolona 250 mg. i.v./día, de acuerdo con la situación clínica.

Ningún enfermo tenía historia personal o familiar de diabetes ni era obeso. Dieciocho casos (56 %) habían sido tratados con diuréticos (furosemida o hidroclorotiazida) durante los 3 meses anteriores al estudio.

2. Técnicas

En todos los enfermos se realizaron extracciones de sangre en ayunas, a primera hora de la mañana, para hematocrito y hemoglobina (Coulter-Coulter S), urea, creatinina y glucosa (analizadores Beckman) y proteínas totales (Biuret), archivándose una alícuota de plasma a $-80^{\circ}C$ para posterior determinación de proteínas glicosiladas plasmáticas (PGP). Del paquete de hematíes lavados con $Cl Na 0,9\%$ en frío, se obtuvieron hemolizados con agua destilada que fueron también archivados a $-80^{\circ}C$ para determinación de hemoglobina total y de hemoglobinas glicosiladas, que fueron analizadas simultáneamente por dos procedimientos: cromatografía en microcolumna de intercambio iónico (Hb A1) y método químico con ácido tiobarbitúrico (HbG).

Se analizaron determinaciones de glucosuria en orina de las 24 horas previas, considerando como significativos los valores superiores a 1 g/24 horas. Asimismo se clasificaron como hiperglucemia las cifras de glucemia en ayunas superiores a 140 mg/dl.

La glicosilación de hemoglobina fue valorada en primer lugar mediante cuantificación, en microcolumnas comerciales de intercambio catiónico (Bio Rad), de la fracción de elución rápida (HbA1). El desarrollo cromatográfico se realizó a $24^{\circ}C$ y en todas las ocasiones se procesaron simultáneamente hemolizados control a nivel alto, medio y bajo obteniéndose unos coeficientes de variabilidad medios de 2 % intraensayo y 4 % interensayos.

Las determinaciones de hemoglobinas glicosiladas totales (HbG) y proteínas glicosiladas plasmáticas totales (PGP) han sido realizadas por un método químico, basado en el descrito por FLUCKIGER y WINTERHALTER¹⁸, valorando, mediante la reacción del ácido tiobarbitúrico (ATB), el 5-hidroxometil-furfural (HMF) generado por las cetoaminas de hexosa durante 24 ho-

TABLA I

CARACTERISTICAS DE LOS GRUPOS ESTUDIADOS

	Normales	Diabéticos	Trasplante
Número de casos	26	19	32
Varón/hembra	12/14	7/12	24/8
Edad media	35	47	35
Rango edad	22-43	35-72	25-71
Urea mg/dl. ($\bar{X} \pm DS$)	36 ± 9	38 ± 10	54 ± 28
Creatinina mg/dl. ($\bar{X} \pm DS$)	$0,8 \pm 0,2$	$0,8 \pm 0,3$	$1,3 \pm 0,5$
Glucosa mg/dl. ($\bar{X} \pm DS$)	86 ± 9	168 ± 75	88 ± 25
Proteínas totales g/dl. ($\bar{X} \pm DS$)	$6,7 \pm 0,5$	$6,9 \pm 0,5$	$6,1 \pm 0,6$
Hemoglobina g/dl. ($\bar{X} \pm DS$)	$14,9 \pm 1,2$	$15,3 \pm 1,7$	$14,6 \pm 2,5$

TABLA II

TRASPLANTE RENAL VS TIEMPO DE EVOLUCION

Grupo	Evolución (meses)	N	Urea (1)	Creatinina (1)	Corticoides (mg.) (2)
I	2-3	11	59 ± 20 (32-100)	1,2 ± 0,2 (0,9-1,5)	5,908 ± 2,162 (3,045-8,280)
II	4-12	7	38 ± 16 (39-58)	1,1 ± 0,2 (0,8-1,5)	2,486 ± 668 (1,620-4,610)
III	> 12	14	59 ± 29 (21-135)	1,15 ± 0,59 (0,6-2,7)	1,458 ± 712 (695-2,815)

(1) En mg/dl.; $\bar{X} \pm DS$ (rango).

(2) En equivalentes de prednisona durante los 3 meses previos.

ras de hidrólisis ácida de 100° C. En la determinación de PGP, previamente a la hidrólisis, se realiza un ajuste de la concentración plasmática de proteínas y una alícuota es incubada con NaHB₄ a fin de romper los enlaces cetamínicos y utilizarla como blanco¹⁹; dializándose a continuación tanto el problema como su blanco^{20,21}. La hidrólisis se ha llevado a cabo con ácido acético 2 M²¹ y los hidrolizados se han desproteinizado con ácido tricloroacético, procediéndose a medir la absorción (443 nm) del desproteinizado, en el caso de los hemolizados (HbG) previamente a ser sometidos a la reacción del ATB, lectura que será utilizada como blanco. Simultáneamente se procesan muestras control a tres niveles y soluciones standard de HMF, realizándose lecturas espectrofotométricas a 443 nm tras 15 minutos de incubación a 37° C y un período de estabilización a temperatura ambiente de 40 minutos. Los resultados se expresan como nmol., HMF generados por miligramo de hemoglobina y proteínas (HbG o PGP respectivamente). Los coeficientes de variabilidad a niveles medio y alto han sido de 5 % (HbG) y 7 % (PGP) intraensayo y de 7 % (HbG) y 10 % (PGP) en el análisis interensayos, siendo inferiores en ambos casos para niveles bajos.

RESULTADOS

1. Alteraciones glucídicas

En algún momento de su evolución, 22 casos (69 %) presentaron glucosuria significativa y 13 (41 %) hiperglucemia basal. Todos los que presentaron hiperglucemia lo hicieron en relación con la utilización de choques de esteroides como tratamiento de un episodio agudo de rechazo. En la mayoría, el trastorno metabólico se controló exclusivamente con dieta hipocalórica, pero en 7 ocasiones (22 %) fue necesaria la asociación de insulina al tratamiento. Sólo en tres enfermos las alteraciones persistieron al suspender los choques de corticoides: uno de ellos continúa precisando insulina 3 meses después, en otros dos, la hiperglucemia se controla con dieta a los 12 y 14 meses del comienzo de la anomalía metabólica. Ningún enfermo presentó fenómenos de cetoacidosis.

En la tabla III se indica la glucemia basal actual, el máximo nivel de glucemia y la glucemia basal media en los 3 meses previos al estudio en los enfermos trasplantados clasificados según su tiempo de evolución. También se muestra, en cada caso, el número de enfermos que presentaron hiperglucemia o glucosuria o que precisaron insulina.

3. Estadística

Para cada técnica se ha realizado un análisis de varianza entre los grupos. Las diferencias entre dos medias han sido valoradas mediante un test-t de Student no pareado. Los análisis de correlación entre dos variables se han llevado a cabo utilizando el método de los mínimos cuadrados.

TABLA III

ALTERACIONES GLUCIDICAS VS TIEMPO EVOLUCION TR (3 MESES PREVIOS AL ESTUDIO)

Grupo		I	II	III
Glucemia actual	\bar{X}	93	87	90
	DS	32	8	12
	(Rango)	(73-150)	(81-90)	(74-116)
Glucemia máxima 3 meses	\bar{X}	141	94	93
	DS	71	17	12
	(Rango)	(77-370)	(79-135)	(79-116)
Glucemia media 3 meses	\bar{X}	108	82	88
	DS	31	5	10
	(Rango)	(77-171)	(73-88)	(77-109)
Hiperglucemia (> 140 mg/dl.)	n	7	1	0
	(%)	(64)	(14)	(0)
Glucosuria (> 1 g/24 h.)	n	9	1	2
	(%)	(81)	(14)	(14)
Tratados con insulina	n	3	1	0
	(%)	(27)	(14)	(0)

Puede observarse que la media de las determinaciones de glucemia basal y del mayor nivel de glucemia son significativamente superiores ($p < 0,001$) en el grupo con menor tiempo de evolución (grupo I) que en los otros dos. Congruentemente con esto, el número de casos que presentaron hiperglucemia o glucosuria significativas o precisaron tratamiento insulínico disminuye en los grupos con más larga permanencia en trasplante renal.

2. Niveles de hemoglobina y proteínas totales glicosiladas

En la tabla IV se indican los valores de HbA1, HbG y PGP en enfermos trasplantados y en los grupos control.

TABLA IV

VALORES DE HEMOGLOBINA Y PROTEÍNAS TOTALES GLICOSILADAS

$\bar{X} \pm DS$	Normales (N)	Diabéticos (D)	Trasplante (TR)
Casos n.º	26	19	32
HbA1 (%)	$7,3 \pm 0,77$ ***	$9,9 \pm 2,34$ *	$8,60 \pm 1,36$
HbG (nmol. HMF/mg. Hb)	$1,02 \pm 0,22$ ***	$1,54 \pm 0,52$	$1,43 \pm 0,34$
PGP (nmol. HMF/mg. Pt)	$0,58 \pm 0,20$ ***	$1,12 \pm 0,32$ **	$0,89 \pm 0,25$

Diferencias vs TR = * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

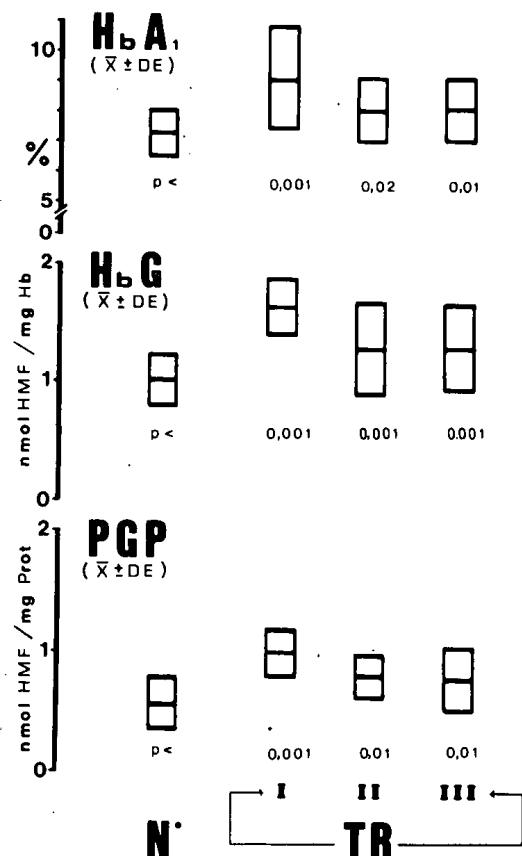
Los tres parámetros están significativamente elevados en trasplantados renales, en relación con los sujetos sanos. La HbA1 se encuentra por encima del rango de referencia en el 40 % de los casos, la HbG en el 45 % y las PGP en el 35 %. Las tres son inferiores a los valores encontrados en el grupo diabético, aunque la diferencia en los niveles de HbG no es significativa.

En la figura 12 se representa su concentración media (+ 1 DS) en los tres grupos de enfermos establecidos, según el tiempo de evolución de su trasplante renal y en sujetos sanos.

Todos los grupos evolutivos presentan niveles de HbA1, HbG y PGP significativamente superiores a los controles. Sin embargo, son significativamente superiores en los enfermos con menos tiempo de evolución (grupo I vs II y III, $p < 0,001$ en todos los casos) y se estabilizan a partir del primer trimestre posttrasplante.

3. Correlación con parámetros del metabolismo glucídico

La glucemia basal actual se correlaciona con los niveles de HbA1 ($r = 0,58$; $p < 0,01$), de HbG ($r = 0,48$; $p < 0,05$) y PGP ($r = 0,56$; $p < 0,01$). Lo mismo sucede con la glucemia máxima alcanzada en los tres meses previos: HbA1 ($r = 0,65$ $p < 0,001$); HbG ($r = 0,50$; $p <$



* Se indican las diferencias con normales

Fig. 1.—Evolución de HbA1, HbG y PGP en trasplante renal. Se indican los valores para sujetos normales (N) y trasplantados con distintos tiempos evolutivos: I (< 3 meses), II (4-12 meses), III (más de 12 meses).

0,01), así como con la glucemia basal media durante ese período (Fig. 2).

Por otra parte, los enfermos que presentaron glucosuria en el trimestre anterior al estudio tenían niveles de HbA1, HbG y PGP superiores al resto: HbA1 ($9,3 \pm 1,5$ vs $7,9 \pm 0,7$; $p < 0,001$), HbG ($1,53 \pm 0,37$ vs $1,37 \pm 0,14$; $p < 0,05$) y PGP ($1 \pm 0,25$ vs $0,77 \pm 0,20$; $p < 0,001$).

4. Relación con otros parámetros

No hemos encontrado diferencias significativas entre los valores de HbA1, HbG y PGP al clasificar a los enfermos según recibieron o no tratamiento con diuréticos.

Por el contrario, existe una correlación débil pero significativa con la dosis de corticoides recibidas durante los 3 meses previos a la determinación y para las tres técnicas analizadas: HbA1 ($r = 0,46$; $p < 0,01$), HbG ($r = 0,46$; $p < 0,01$) PGP ($r = 0,43$; $p < 0,05$).

Por otra parte, no se ha objetivado una relación significativa con las cifras de hemoglobina, proteínas totales, urea, creatinina, triglicéridos y colesterol, ni con la edad de los pacientes.

DISCUSION

La diabetes mellitus es una complicación frecuente en el trasplante renal. Las alteraciones glucídicas se produ-

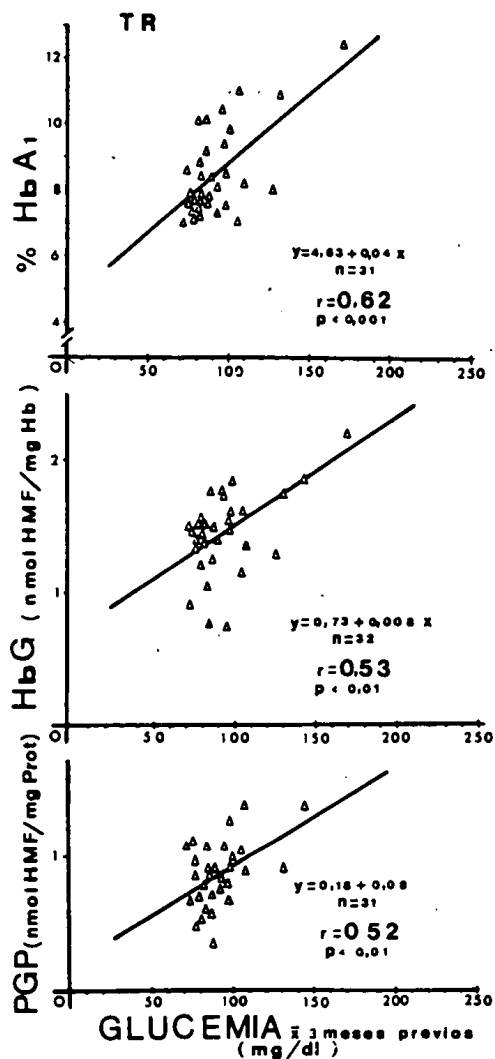


Fig. 2.—Correlaciones entre la glucemia basal media de los 3 meses previos al estudio y los valores obtenidos para HbA₁, HbG y PGP.

la misma fracción que las hemoglobinas glicosiladas. Las técnicas cromatográficas no son, pues, adecuadas para el estudio de la glicosilación en la uremia. En nuestros enfermos se han producido aumentos de la concentración de urea, coincidiendo con episodios de rechazo agudo y por hipercatabolismo esteroideo. En estas condiciones existe, pues, la posibilidad de que se formen complejos carbamilados con la hemoglobina, que persistan a lo largo de la vida media del hematíe. Por eso, para evitar esta fuente de interferencias, para el estudio de los fenómenos de glicosilación en el trasplante renal, además de una técnica cromatográfica convencional para determinación de HbA₁ hemos utilizado un procedimiento químico específico (reacción de ATB) para detectar uniones entre carbohidratos y proteínas con formación de una cetoamina, tal como sucede en las proteínas glicosiladas postsintéticas.

La situación de las hemoglobinas glicosiladas en el trasplante renal apenas ha sido estudiada. FREEDMAN y cols.²⁷, utilizando una técnica microcromatográfica para determinación de HbA₁, encuentran niveles disminuidos en ésta en un grupo de enfermos en hemodiálisis periódica —en total discrepancia con el resto de la literatura publicada²²⁻²⁶— y en trasplantados de menos de un trimestre de evolución, normalizándose en enfermos con más de 3 meses postrasplante renal. Sus diferencias con el resto de los autores en enfermos urémicos y con las nuestras en trasplante renal, sólo pueden explicarse en base a diferencias metodológicas. Por otra parte, no conocemos trabajos publicados sobre proteínas totales glicosiladas en trasplante renal.

Tanto las hemoglobinas como las proteínas totales glicosiladas estaban significativamente elevadas en nuestros trasplantados en relación con los normales y eran inferiores que en los diabéticos.

Estas alteraciones deben ser interpretadas como secundarias y representativas de las experimentadas por el metabolismo glucídico. En efecto, en nuestros enfermos existe una correlación significativa entre hemoglobinas o proteínas glicosiladas plasmáticas y parámetros del metabolismo de la glucosa, especialmente la glucemia media durante los 3 meses previos al estudio y con el máximo nivel de glucosa alcanzado en este período. Por otra parte, los casos que presentaban glucosuria significativa tienen concentraciones de HbA₁, HbG y PGP, superiores al resto de los enfermos. Estos hallazgos son similares a los encontrados por nosotros en el grupo de diabéticos, y a lo referido en la literatura^{4-7,19}.

En paralelo con la situación clínica, la concentración de hemoglobina y proteínas plasmáticas glicosiladas es más alta en el grupo de enfermos de más corta evolución (primer trimestre postrasplante), y desciende significativamente a partir de este momento. Sin embargo, aún continúan elevadas en relación con los normales en enfermos de más de un año de evolución. Esto implica la existencia en este grupo de una diabetes subclínica, que afecta a un 35 % de los casos.

cen generalmente en los primeros meses del postoperatorio en relación con el empleo de altas dosis de corticosteroides como tratamiento del rechazo^{15,16}.

Esta alta incidencia en el postrasplante inmediato fue, efectivamente, observada en nuestros casos, en todos los cuales el desencadenante fue la utilización de choques de corticosteroides para el control de un episodio de rechazo agudo. Es, sin embargo, una complicación fácilmente controlable: aunque el 27 % de los casos que la padecieron precisaron tratamiento con insulina, la alteración desapareció en la mayoría de los casos al interrumpir el tratamiento antirrechazo. Se ha descrito un aumento de la glicosilación de proteínas en la diabetes mellitus, en el síndrome de Cushing y en la uremia^{4-8,19,22-26}.

FLUCKIGER y cols.²⁵ demostraron que el aumento de HbA₁ encontrado en pacientes con insuficiencia renal utilizando técnicas cromatográficas, se debe, al menos en parte, a la unión del ácido isociánico derivado de la urea con el aminoácido terminal de la cadena beta de la hemoglobina, dando lugar a un complejo carbamilado que co-cromatografía, en columnas de intercambio iónico, en

Es interesante destacar que en el grupo de trasplantados el porcentaje de casos que presentan elevación de las PGP es inferior al hallado para HbG. El fenómeno es exactamente contrario al encontrado por nosotros en diabéticos y en urémicos (datos no publicados) y a lo referido por otros autores en diabéticos^{19,28,29} y puede explicarse por la disminución de la vida media de las proteínas, inducida por el hipermetabolismo esteroideo³⁰. Este hecho invalidaría el empleo de las PGP para el control de la glucosilación en el trasplante renal.

Por último, los niveles de HbA_{1c}, HbG y PGP presentan en nuestros enfermos una débil, pero significativa asociación, con la dosis de corticosteroides recibidos durante los 3 meses previos al estudio, sin que se haya encontrado ninguna relación con el empleo de diuréticos. Dada la relación descrita en diabéticos entre aumento de la glucosilación y la génesis de la arteriopatía¹⁰, catarata¹² o alteraciones del metabolismo lipídico⁹, estos datos constituyen un argumento más a favor del intento de reducir las dosis de corticosteroides en el manejo del enfermo trasplantado.

No obstante, nuestro grupo de enfermos estudiados con más de un año de evolución desde el trasplante renal es pequeño. Para evaluar las consecuencias del empleo crónico de corticosteroides sobre la glucosilación de proteínas es necesario ampliar el estudio de enfermos con más tiempo de evolución y tratados con dosis bajas de corticoides por períodos más prolongados.

BIBLIOGRAFIA

- BUNN, H. F.; HANEY, D. M.; KAMIN, S.; GABBAY, K. H., y GALLOP, P. M.: «The biosynthesis of human hemoglobin A_{1c}». *J. Clin. Invest.*, 57: 1652-1659, 1976.
- STEVEN, V. J.; VLASSARA, H.; ABATI, A., y CERAMI, A.: «Nonenzymatic glycosylation of hemoglobin». *J. Biol. Chem.*, 252: 2998-3002, 1977.
- SPICER, K. M.; ALLEN, R. C.; HALLETT, D., y BUSE, M. G.: «Synthesis of hemoglobin A_{1c} and related minor hemoglobins by erythrocytes». *J. Clin. Invest.*, 64: 40-48, 1979.
- MAYER, T. K., y FREEDMAN, Z. R.: «Protein glycosylation in diabetes mellitus: a review of laboratory measurements and of their clinical utility». *Clin. Chim. Acta*, 127: 147-184, 1983.
- LEIVA HIDALGO, A.: «Glucosilación de la hemoglobina y otras proteínas en la diabetes mellitus». *Med. Clín.*, 81: 160-161, 1983.
- GABBAY, K. H.; HASTY, K.; BRESLOW, J. L.; ELLISON, R. C.; BUNN, H. F., y GALLOP, P. M.: «Glycosylated hemoglobins and long-term blood glucose control in diabetes mellitus». *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 44: 859-864, 1977.
- KENNEDY, L.; MEHL, T. D.; RILEY, W. J., y MERIMEE, T. J.: «Non-enzymatically glycosylated serum protein in diabetes mellitus: an index of short-term glycaemia». *Diabetologia*, 21: 94-98, 1981.
- PETERSON, C. M., y JONES, R. L.: «Minor hemoglobins diabetic «control», and diseases of postsynthetic protein modification». *Ann. Intern. Med.*, 87: 489-491, 1977.
- WITZTUM, J. L.; MAHONEY, B. M.; BRANKS, M. J.; FISHER, N.; ELAN, R., y STEINBERG, L.: «Nonenzymatic glycosylation of low-density lipoprotein alters its biologic activity». *Diabetes*, 31: 283-291, 1982.
- MEANS, G. E., y CHANG, M. K.: «Nonenzymatic glycosylation of proteins: structure and function changes». *Diabetes*, 31 (suppl. 3): 1-4, 1982.
- KOHN, R. R., y SCHNIDER, S. L.: «Glucosylation of human collagen». *Diabetes*, 31 (suppl. 3): 47-51, 1982.
- MONNIER, V. M., y CERAMI, A.: «Nonenzymatic glycosylation and browning in diabetes and aging: studies on lens proteins». *Diabetes*, 31 (suppl. 3): 57-63, 1982.
- SCHÖBER, E., y BROOKS, S. M.: «Erythrocyte spectrin glycosylation in diabetes». *Diabetes*, 31 (suppl. 3): 64-69, 1982.
- SCHÖBER, E.; POLLAK, A.; CORADELLO, H., y LUBEC, G.: «Glycosylation of glomerular basement membrane in type I (Insulin-dependent) diabetic children». *Diabetologia*, 23: 485-487, 1982.
- CHATTERJEE, S. N.: «Manual of renal transplantation». *Springer-Verlag*, New York, 1979.
- CAMERON, J. S.: «Effect of the recipient's disease on the results of transplantation (other than diabetes mellitus)». *Kidney Int.*, 23 (suppl. 14): S-24-S-33, 1983.
- European Dialysis and Transplant Association: «Combined report on regular dialysis and transplantation in Europe». XI, 1981.
- FLUCKIGER, R., y WINTERHALTER, K. H.: «In vitro synthesis of hemoglobin A_{1c}». *FEBS Lett.*, 71: 356-360, 1976.
- McFARLAND, K. F.; CATALANO, E. W.; DAY, J. F.; THORPE, S. R., y BAYNES, J. W.: «Nonenzymatic glycosylation of serum proteins in diabetes mellitus». *Diabetes*, 28: 1011-1014, 1979.
- KENNEDY, A. L.; MEHL, T. D., y MERIMEE, T. M.: «Nonenzymatically glycosylated serum protein: spurious elevation due to free glucose in serum». *Diabetes*, 29: 413-415, 1980.
- DOLHOFER, R., y WIELAND, O. H.: «Improvement of the thiobarbituric acid assay for serum glycosylprotein determination». *Clin. Chim. Acta*, 112: 197-204, 1981.
- CASPARIE, A. F., y MIEDEMA, K.: «Glycosylated haemoglobin in diabetes and renal failure». *Lancet*, 2: 758-759, 1977.
- ZAWADA, B. T., y VIRGI, A.: «Glycosylated hemoglobin test in diabetic and non diabetic hemodialysis patients». *Dialysis & Transplantation*, 9: 360-362, 1980.
- OIMONI, M.; ISHIKAWA, K.; KAWASAKI, T.; KUBOTA, S.; YOSHIMURA, Y., y BABA, S.: «Glycosylated haemoglobin in renal failure». *Diabetologia*, 21: 163, 1981.
- FLUCKIGER, R.; HARMON, W.; MEIER, W.; LOO, S., y GABBAY, K.: «Hemoglobin carbamylation in uremia». *New Engl. Med.*, 304: 823-827, 1981.
- LANTZ, B.; WAJCMAN, H.; BEAUFILS, M.; MEYRIER, A.; LABIE, D., y ASSAN, R.: «Minor haemoglobin fractions in uremic and diabetic patients». *Diab. Métab.*, 7: 109-114, 1981.
- FREEDMAN, D.; DANDONA, P.; FERNANDO, O., y MOORHEAD, J. R.: «Glycosylated haemoglobin in chronic renal failure and after renal transplantation». *J. Clin. Pathol.*, 38: 737-739, 1982.
- DOLHOFER, R.; RENNER, R., y WIELAND, O. H.: «Different behaviour of haemoglobin A_{1a-c} and glycosyl-albumin levels during recovery from diabetic ketoacidosis and non-acidotic coma». *Diabetologia*, 21: 211-215, 1981.
- DAY, J. F.; INGEBRETSEN, C. G.; INGEBRETSEN, W. R. Jr.; BAYNES, J. W., y THORPE, S. R.: «Nonenzymatic glycosylation of serum protein and hemoglobin: response to changes in blood glucose levels in diabetic rats». *Diabetes*, 29: 524-527, 1980.
- EISENTEIN, A.: «Effects of adrenal cortical hormones on carbohydrate, protein, and fat metabolism». *Am. J. Clin. Nutr.*, 26: 113-120, 1973.