

Presencia de inmunoglobulinas antirreceptores autonomicos y alteraciones del ritmo cardiaco en diabeticos tipo 2

LUISA GIMENEZ¹, JORGE MITELMAN^{1, 2}, CLAUDIO GONZALEZ³, ENRI BORDA³,
LEONOR STERIN BORDA³

RESUMEN

Introduction

La diabetes mellitus tipo 2 (DM2) se asocia frecuentemente con alteraciones cardiovasculares potencialmente severas. Estas manifestaciones no se limitan solo al campo de la cardiopatía isquémica y pueden implicar un compromiso funcional miocárdico y trastornos del ritmo.

Objetivos

El presente trabajo se realizó con el propósito de estudiar la asociación entre DM2 y la presencia de inmunoglobulinas (IgG) antirreceptores autonomicos (AR) y alteraciones de la variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC), arritmias ventriculares graves (AV) y microalbuminuria (MAU).

Material y metodos

Se incluyeron 48 pacientes con DM2 y 25 controles, sin diferencias en edad y sexo (edad: 44,5 ± 3,4 versus 46,6 ± 5,1 años, $p > 0,05$). En ellos se determinaron la presencia de IgG anti-RA (método: ELISA), la variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC) y la presencia de arritmias ventriculares (AV) mediante Holter de 24 horas, microalbuminuria (MAU) (método: RIA), perfil lipídico y análisis de rutina. Estadística: chi cuadrado, t de Student (muestras independientes), correlación de Spearman, regresión logística múltiple (máxima verosimilitud, "cuasi-Newton").

Resultados

La presencia de IgG-AR fue más frecuente entre los diabeticos (56,3% versus 8,0%, $p < 0,001$). Asimismo, las alteraciones de VFC fueron más frecuentes en pacientes DM2 (54,2% versus 4,0%, $p < 0,001$), como también las arritmias ventriculares (43,7% versus 4,0%, $p < 0,001$). La positividad IgG-AR se asoció con DM2 ($r_s = 0,48$, $p < 0,001$), con la presencia de AV ($r_s = 0,26$, $p < 0,03$) y con MAU positiva ($r_s = 0,38$, $p < 0,001$). También las AV se asociaron con MAU ($r_s = 0,44$, $p < 0,001$). En el análisis multivariado, la presencia de IgG-AR se asoció con DM2 (OR = 10,4, $p = 0,006$) y de manera limitrofe con MAU+ (OR = 4,2, $p = 0,06$); la presencia de AV se asoció con DM2 (OR = 11,7, $p = 0,03$) y con MAU+ (OR = 5,3, $p = 0,02$).

Servicios de Cardiología del Hospital Municipal de Agudos Teodoro Alvarez - Instituto Universitario de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Fundación Barcelo - Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina (UBA)
Para optar a Miembro Titular SAC

¹ Hospital Municipal de Agudos Teodoro Alvarez, Unidad Cardiología

² Instituto Universitario de Ciencias de la Salud, Facultad de Medicina, Fundación Barcelo

³ Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina (UBA)

Trabajo recibido para su publicación: 6/2002. Aceptado: 8/2002

Direction para separatas: Luisa Giménez - Av. Belgrano 2124 - 6° Piso, Dpto. A (1094) Buenos Aires, Argentina

Conclusiones

La presencia de IgG-AR, las alteraciones de la VFC y las AV parecen mas frecuentes en la DM2. Las consecuencias clinicas de estos hallazgos deberan explorarse en estudios prospectivos, ya que podrian contribuir a la morbimortalidad cardiovascular en DM2.

REV ARGENT CARDIOL 2002; 70: 384-390.

Palabras clave Diabetes tipo 2 - Anticuerpos antirreceptores autonomicos - Microalbuminuria - Variabilidad de la frecuencia cardiaca - Arritmias cardiacas

INTRODUCCION

La diabetes tipo 2 es una enfermedad cronica, extraordinariamente compleja, determinada geneticamente, con alteraciones metabolicas y multisistemicas. (1) Su prevalencia estaria alrededor del 5% en los paises occidentales, lo cual representa el 90% de todas las formas de presentation de la enfermedad. (2) Dentro de sus complicaciones, la incidencia de enfermedad cardiaca es muy alta, (3, 4) con intervention de multiples factores en su desarrollo, como la lesion miocardica directa, agresion macrovascular y microvascular, trastornos metabolicos y la neuropatfa autonómica que se pone en evidencia en etapas avanzadas de la enfermedad. (5-7). Esta última, tambien conocida como disautonomia diabetica (disfuncion del sistema nervioso autonomo [SNA]) comprometeria al 30% a 70% de los enfermos con diabetes tipo 2, (8) con presentation de alteraciones en el ritmo cardiaco que implican la posibilidad de muerte subita. (9) Segun algunos estudios, (10) en ciertas condiciones (alteraciones metabolicas primarias), los receptores autonomicos podrian comportarse como inmunogenicos y conducir a la production de autoanticuerpos. Los anticuerpos antirreceptores autonomicos se han vinculado en otras patologfas como marcadores precoces de disautonomia. (11, 12) Sin embargo, su relation con las arritmias cardiacas no se ha investigado en forma sistematica en esos estudios, ni se ha profundizado en sus mecanismos. Asimismo, la microalbuminuria asociada con morbimortalidad cardiovascular elevada, relacionada con la disfuncion autonómica, (13-15), podria estar vinculada con la presencia de inmunoglobulinas antirreceptores autonomicos (IgG AR) en diabeticos, variables estas que se relacionan con la presencia de arritmias ventriculares (AV) y alteraciones de la variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC).

Por lo tanto, fueron objetivos de este trabajo: 1) determinar la frecuencia de positividad de IgG AR en diabeticos tipo 2 versus controles y 2) estudiar su posible asociacion con arritmias ventriculares, alteration de la variabilidad de la frecuencia cardiaca y presencia de microalbuminuria.

MATERIAL Y METODOS

Poblacion

En un estudio observacional, transversal, se incorporaron 73 individuos, 48 pacientes con diabetes tipo 2; 29 mujeres, 19 hombres, edad 38 a 51 años (promedio $44,5 \pm 3,4$ años). Como grupo control se incluyeron 25 sujetos sanos, 13 mujeres, 12 hombres; edad 37 a 50 (promedio $46,6 \pm 5,1$ años). Se excluyeron del estudio los individuos que presentaron factores de riesgo cardiovascular (hipertension arterial, dislipemia, obesidad, tabaquismo), miocardiopatfas, insuficiencia cardiaca, alcoholismo, embarazo, endocrinopatfa u otro tipo de enfermedad con repercusion cardiaca o renal (nefropatfas, insuficiencia renal, hematuria, infection urinaria), fiebre, use de antiinflamatorios no esteroides o inhibidores de la ECA e ingestion excesiva de protefnas. A toda la poblacion incluida en el estudio se le realizo un examen clínico, un analisis de laboratorio de rutina, glucemia en ayunas, posprandial, hemoglobina glucosilada total, orina completa, dosaje de creatinina, coeficiente albumina/creatinina, microalbuminuria, perfil lipídico completo (colesterol total, HDL y LDL colesterol, trigliceridos) serologfa para Chagas (tres reacciones), electrocardiograma, radiografra de torax, ecocardiograma bidimensional, cicloergometrfra, estudio Holter de 24 horas, variabilidad de la frecuencia cardiaca y dosaje de anticuerpos antirreceptores autonomicos (betaadrenérgicos y muscarfnicos colinérgicos).

Description de los procedimientos diagnosticos:

Holter: se registro durante 24 horas mediante un grabador de estado solido de tres canales, marca Galix modelo GBI-3 con tarjeta de memoria. Para las arritmias se utilizo la clasificacion de Lown (arritmias simples grados I y II y ventriculares complejas grados III, IVA, IVB y V). (16)

Variabilidad de la frecuencia cardiaca: se registro durante 24 horas mediante el mismo grabador Holter. Las mediciones se efectuaron en dominio de tiempo y en dominio de frecuencia de acuerdo con las recomendaciones de la Fuerza de Tareas del Comité de Electrocardiografra y Electrofisiologfa. (17-21)

En dominio de tiempo se obtuvieron el valor medio del intervalo RR, el desvfo estandar del total de los intervalos RR (SDNN; VN: 141 ± 39 mseg), el desvfo estandar de la media de los intervalos RR registrados cada 5 minutos (SDANN; VN: 127 ± 35 mseg), la rafz

cuadrada media de la diferencia de intervalos R-R consecutiva (RMSSD; VN: 27 ± 12) y la diferencia porcentual entre intervalos RR consecutivos mayor de 50 mseg (pNN50; VN: $> 15\%$ como alta variabilidad y $< 4\%$ como baja variabilidad).

En dominio de frecuencia se realizo el analisis espectral y del poder espectral de cada una de las frecuencias: muy baja (VLF debajo 0,04 Hz), baja (LF 0,04 - 0,40 Hz) y alta (HF 0,15 - 0,40 Hz). Para la relation LF/HF se considero VN: de 1,5 - 2,0.

Deteccion de anticuerpos antirreceptores: se utilizo equipo para ensayos inmunoenzimaticos ELISA (se empleo como antígeno un peptido sintetico cuya secuencia aminoacidica es identica al receptor muscarinico colinergico y betaadrenergico).

Deteccion de microalbuminuria: se utilizo el ensayo inmunoturbidimetrico para la determination cuantitativa, para lo cual se tomaron como valores de microalbuminuria 30 a 300 mg/24 h (ELISA de Roche Diagnostics). Se controlo que la toma se realizara correctamente sin actividad fisica durante el periodo de recoleccion con la entrega total del volumen de orina, evitando la contamination vaginal las mujeres. La presencia de microalbuminuria se confirmo en dos estudios positivos de tres determinaciones.

Metodos estadisticos: las diferencias univariadas entre grupos de datos cualitativos se evaluaron a traves del empleo de la prueba de chit con correction de Yates. Las diferencias entre grupos de datos cuantitativos se exploraron mediante la prueba de la t de Student para muestras independientes. La asociacion univariada entre variables cualitativas o cuantitativas tambien se analizo siguiendo la tecnica no parametrica de Spearman. Para el analisis multivariado de los datos se empleo la tecnica de regresion logistica multiple (cuasi-Newton; modelo de maxima verosimilitud). Se consideraron significativos los valores de $p < 0,05$, para dos colas.

Los *softwares* empleados fueron: CSS/Statistica, StatSoft, Tulsa, USA, 1993; Epi Info version 1.1.2.2001.

RESULTADOS

Los 48 sujetos diabeticos no mostraron diferencias con los 25 controles en terminos de edad, sexo

ni valores de trigliceridemia; se hallaron diferencias en los valores de glucemia y colesterolemia, como se observa en la Tabla 1.

La presencia de IgG AR resulto significativamente mas frecuente en diabeticos que en controles (56,3% versus 8,0%, $p < 0,001$) (Figura 1); asimismo, los diabeticos mostraron con mayor frecuencia alteraciones en la variabilidad de la frecuencia cardiaca asi como arritmias ventriculares (Figuras 2 y 3).

En la correlation de Spearman, la positividad IgG AR se asocio significativamente con la presencia de diabetes tipo 2 ($rS = 0,48$, $p < 0,001$), con la presencia de arritmias ventriculares ($rS = 0,26$, $p < 0,03$) y con MAU positiva ($rS = 0,38$, $p < 0,001$). La asociacion entre IgG RA y MAU mostro una sensibilidad del 78,6% y una especificidad del 70,5%. No se encontro asociacion con la variabilidad de la frecuencia cardiaca. Por otra parte, la presencia de arritmias ventriculares tambien se asocio con MAU positiva ($rS = 0,44$, $p < 0,001$). En el analisis multivariado, la presencia de diabetes persistio significativamente asociada con la positividad IgG AR (Tabla 2). La presencia de MAU se asocio con IgG AR de manera limitrofe en terminos de signification ($p = 0,06$). No se detecto interaccion multiplicativa en el modelo entre diabetes y MAU.

La presencia de arritmias ventriculares perdio signification en este modelo multivariado (cuando la variable dependiente es presencia de IgG AR).

Como information adicional, se comprobo asociacion multivariada entre la presencia de arritmias ventriculares y positividad MAU y presencia de diabetes tipo 2 (Tabla 3).

El 44% de los pacientes diabeticos presentaron arritmias ventriculares complejas segun Lown, (16) con la siguiente distribution: GIII 20%, GIV A 15%, GIV B 9% y GV 0%. El 4% de los controles presentaron arritmias simples GI.

Tabla 1
Caracteristicas generales de la muestra (n = 73)

	Diabeticos tipo 2 (n = 48)	Coat roles (n=27)	P
Edad (anos)	44,5 ± 3,4	46,6 ± 5,1	0,116
Sexo (f/m)	29/19	13/12	0,659
Glucemia en ayunas (mg/dl)	109,4 ± 10,1	94,8 ± 7,9	> 0,001
Colesterolemia (mg/dl)	197,8 ± 8,7	188,3 ± 10,7	0,001
Trigliceridemia (mg/dl)	145,4 ± 24,6	155,5 ± 32,1	0,137

Fig. 1. Presencia de IgG AR en diabeticos y controles (p < 0,001).

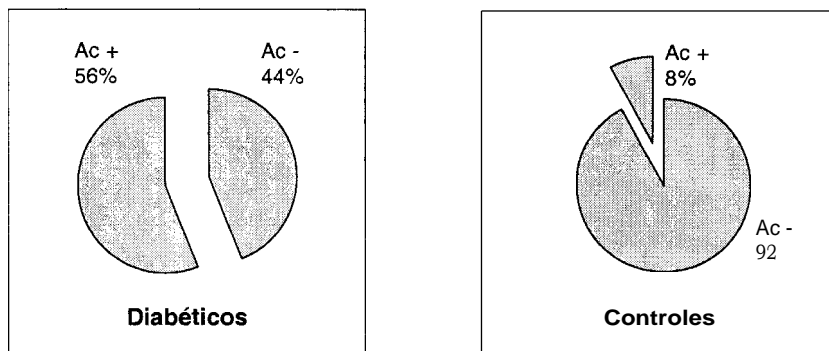


Fig. 2. Presencia de alteración en la VFC en diabeticos y controles (p < 0,001).

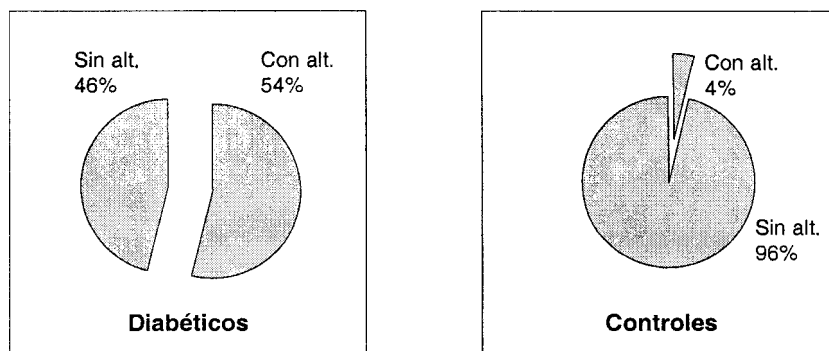


Fig. 3. Presencia de arritmias ventriculares en diabeticos y controles (p < 0,001).

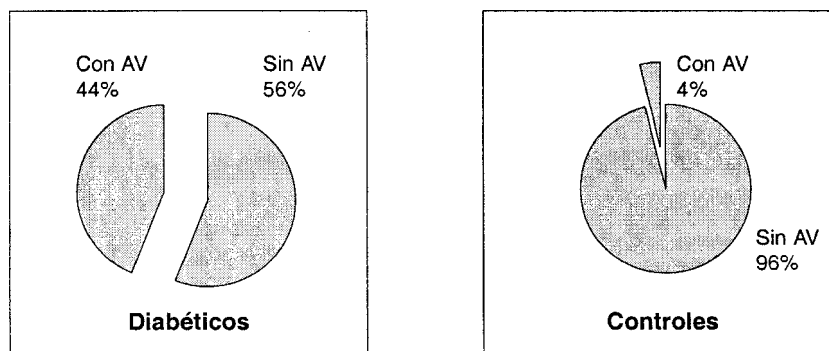


Tabla 2

Presencia de inmunoglobulinas antirreceptores autonomicos y diabetes. Regresion logistica multiple (maxima verosimilitud, cuasi-Newton) Variable dependiente = presencia de IgG anti-RA

Covariado	OR ajustado	IC 95%	P
Diabetes (si/no)	10,3	2,02-53,1	0,006
MAU +	4,2	0,91-19,4	0,06

Tabla 3

Presencia de arritmias ventriculares y diabetes. Regresion logistica multiple

Covariado	OR Ajustado	IC 95%	p
Diabetes (si/no)	11,7	1,3-103,6	0,03
MAU +	5,3	1,3-22,0	0,02

DISCUSION

Los estudios epidemiologicos recientes han evidenciado un aumento en la incidencia de la diabetes y se estima que para el año 2010 la cantidad total de personas afectadas alcanzaran a 221 millones y que en el 90% de ellos la presentation sera del tipo 2. (3, 22) Es un factor de riesgo de cardiopatía coronaria, con una morbilidad cuatro veces mayor que en los no diabeticos y es la causa del 70% al 80% de las muertes por diabetes. (6, 23) La evolution de la enfermedad conduce a complicaciones y disfunciones cardiovasculares y en ello se encuentran involucrados diferentes mecanismos fisiopatologicos, como aterosclerosis coronaria, lesiones macrovasculares y microvasculares y neuropatia autonómica. (24, 25) Esta última es causa de arritmias y aun de muerte subita. (9, 26) Si bien la autoinmunidad de-

sempena un papel importante en la diabetes tipo 1, su papel en la diabetes tipo 2 fue por mucho tiempo materia de debate hasta la detección de autoanticuerpos antiisletos y antiinsulina, los cuales parecería que aportan nuevos elementos sobre la presencia de alteraciones en la inmunorregulación. (27) Hasta el momento no se habían descrito anticuerpos antirreceptores autonómicos cardíacos en la diabetes tipo 2. Su presencia se ha descrito en otras patologías, como en la enfermedad de Chagas y la miocardiopatía dilatada idiopática. Así, algunos autores (28-32) han postulado que la presencia de estos anticuerpos antirreceptores autonómicos se podrían utilizar como marcadores precoces de disfunción autonómica y que su presencia podría estar vinculada a la génesis de arritmias ventriculares de alta frecuencia por estimulación simpática en el caso de los 43-adrenérgicos y de baja frecuencia en el caso de estimulación vagal por los receptores muscarínicos colinérgicos. En otros trabajos (33-35) se realizaron pruebas funcionales de IgG y anticuerpos inmunopurificados de pacientes portadores de arritmias. En ellos se evaluó la probable asociación entre las arritmias de los pacientes con cardiopatía dilatada idiopática y chagásica y la presencia de anticuerpos.

Sin embargo, en pacientes con arritmias y bloqueos de la conducción idiopáticos, o sea, con "corazones estructuralmente normales"; también se establecieron prevalencias elevadas de anticuerpos antirreceptores autonómicos.

La presencia de arritmias y anticuerpos antirreceptores en pacientes diabéticos nos llevó a realizar este trabajo para establecer si esta asociación era significativa.

Widen y colaboradores estudiaron la alteración del gen B3-adrenérgico en la grasa visceral, el cual puede predisponer a obesidad abdominal, resistencia a la insulina y diabetes tipo 2. (36) En el presente trabajo, las IgG AR estuvieron asociadas con la presencia de diabetes tipo 2 y posiblemente con la presencia de microalbuminuria.

Esta última podría tener su origen en la pérdida de la autorregulación renal de causa autonómica e investigadores del estudio de evaluación de la prevención de desenlaces cardíacos (HOPE) (15) han confirmado que su presencia se asocia con el riesgo de muerte cardiovascular, así como otros autores considerarían su hallazgo como un marcador de alteración autonómica precoz. (13, 37) Las arritmias estuvieron asociadas en nuestro trabajo con la diabetes tipo 2 y con la presencia de microalbuminuria. No se puede excluir que estén asociadas con las IgG, aunque nosotros solo lo hallamos en el análisis univariado y no en el multivariado.

La desnervación autonómica del corazón, primero parasimpática y luego simpática, es una complicación de la diabetes en la cual la neuropatía sería el origen de la isquemia silente y predeciría un riesgo aumentado en la morbilidad y la mortalidad cardiovascular. (8)

Las alteraciones de la variabilidad de la frecuencia cardíaca detectadas por Holter de 24 horas estuvieron presentes más frecuentemente en los diabéticos que en los controles, lo cual podría sugerir disautonomía. Si bien se han informado alteraciones de la variabilidad de la frecuencia en diabéticos con diversas pruebas (puntajes de Ewing, pararse, Valsalva, respiración profunda y *handgrip*), (38-40) no hemos podido encontrar asociación entre alteración de la variabilidad de la frecuencia y presencia de IgG.

Entre las principales limitaciones de este trabajo podemos señalar el tamaño reducido de la muestra y el tipo de diseño empleado (transversal). Estudios prospectivos con mayor población incluida deberán probar si la asociación entre IgG AR y arritmias ventriculares, así como su relación con la presencia de microalbuminuria, constituyen un marcador confiable, precoz e indicativo de cardioneuropatía autonómica diabética. En caso de que así sea tendría implicaciones no solo diagnósticas, sino también terapéuticas.

SUMMARY

ANTI-AUTONOMIC RECEPTORS, IGG PRESENCE AND CARDIAC RHYTHM DISORDERS IN TYPE 2 DIABETES MELLITUS

Introduction

Type 2 diabetes mellitus (DM2) is frequently associated with potentially severe cardiovascular disorders. These manifestations are not only related to myocardial ischemia, but also to functional myocardial compromise and rhythm alterations.

Objectives

To study the association between DM2 and a) anti-autonomic receptors (anti-RA) IgG ; b) heart rate variability alterations (VFC); c) severe ventricular arrhythmias (AV) and microalbuminuria (MAU).

Material and methods

Seventy-three patients were included (with no sex or age differences), 25 of them were recruited as a control group, and 48 with DM2 (age: 46.6±5.1 vs 44.5±3.4 y.o., p > 0.05). Anti-RA IgG presence was determined by ELISA essay while VFC and ventricular arrhythmias (AV)

were detected by a 24-hour Holter study, microalbuminuria (MAU) by RIA essay; total cholesterol, triglycerides, and HDL cholesterol were measured; and routine analysis were also included. All data were submitted to statistical analysis: chit, Student's *t* test, Spearman's rank correlation coefficient, multiple logistical regression analysis.

Results

The presence of anti-RA IgG was more frequent in diabetic patients (56.3% vs 8.0%, $p > 0.001$). Moreover, VFC alterations and ventricular arrhythmias were also more frequent in DM2 patients (54.2% vs 4.0%, $p > 0.001$; and 43.7% vs 4.0%, $p > 0.001$ respectively). IgG antibodies against RA were associated to DM2 ($rS = 0.48$, $p > 0.001$), with ventricular arrhythmias ($rS = 0.26$, $p > 0.03$) and positive MAU ($rS = 0.38$, $p > 0.001$). AV were also associated with MAU ($rS = 0.44$, $p > 0.001$). According to the multivariate test anti-RA IgG presence was associated with DM2 (OR = 11.7, $p = 0.03$) and there was a borderline association to positive MAU (OR = 5.3, $p = 0.02$).

Conclusions

Anti-RA IgGs presence, VFC alterations and AV seem to be more frequent in DM2 patients. The clinical consequences of these findings should be explored in future prospective studies, because they could contribute to cardiovascular morbimortality in DM2.

Key words: Type 2 diabetes mellitus- antiautonomic receptor immunoglobulins - mic i-oalbuminuria - heart rate variability alterations - cardiac arrhythmias

BIBLIOGRAFIA

- Rodrigues B, Cam MC, McNeill JH. Myocardial substrate metabolism: Implications for diabetic cardiomyopathy. *J Mol Cell Cardiol* 1995;27:169-179.
- Pinhas-Hamiel O, Dolan LM, Daniel SR y col. Increased incidence of non-insulin-dependent diabetes mellitus among adolescents. *J Pediatr* 1996;128: 608-615.
- Zimmet P. Type 2 (non-insulin-dependent) diabetes: An epidemiological overview. *Diabetologia* 1982; 22: 399-411.
- Schernthaner G. Cardiovascular mortality and morbidity in type 2 diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 1996; 31: S3-S13.
- Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *BMJ* 1998; 317: 703-713.
- Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease: The Framingham study. *JAMA* 1979; 241: 2035-2038.
- Shehadeh A, Regan TJ. Cardiac consequences of diabetes mellitus. *Clin Cardiol* 1995; 18:301-305.
- Valensi P, Sachs RN, Harfouche B y col. Predictive value of cardiac autonomic neuropathy in diabetic patients with or without silent myocardial ischemia. *Diabetes Care* 2001; 24: 339-343.
- Potolochnaia MD, Burvalova GI. The incidence of heart rhythm disorders in diabetes mellitus (based on Holter electrocardiographic monitoring data). *Lik Sptava* 1999; 6:27-31.
- Leiros CP, Sterin Borda L, Borda ES. Beta-adrenergic cardiac antibody in autoimmune myocarditis. *Autoimmunity* 1989;2:223-234.
- Goin JC, Borda E, Leiros C y col. Identification of antibodies with muscarinic cholinergic activity in human Chagas' disease: Pathological implications. *J Aut New System* 1994;47:45-52.
- Sterin-Borda L, Leiros C, Wald M y col. Antibodies to betal and beta2 adrenoceptors in Chagas' disease. *Clin Exp Immunol* 1988; 74: 349-354.
- Smulders YM, Jager A, Gerritsen J y col. Cardiovascular autonomic function is associated with (micro-)albuminuria in elderly Caucasian subjects with impaired glucose tolerance or type 2 diabetes. The Hoorn Study. *Diabetes Care* 2000; 23: 1369-1374.
- Haffner SM, Stern MP, Gruber MK y col. Microalbuminuria. Potential marker for increased cardiovascular risk factors in non diabetic subjects? *Arteriosclerosis* 1990; 10: 727-731.
- Effects of ramipril on cardiovascular and microvascular outcomes in people with diabetes mellitus: Results of the HOPE study and MICRO-HOPE substudy. Heart Outcomes Prevention Evaluation Study Investigators. *Lancet* 2000; 355:253-259.
- Lown B, Graboyes R. Management of patients with malignant ventricular arrhythmias. *Am J Cardiol* 1977; 39: 910-918.
- Heart rate variability. Standards of measurements, physiological interpretation, and clinical use. Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Circulation* 1996; 93: 1043-1065.
- Assessment: Clinical autonomic testing report of the Therapeutics and Technology Assessment Subcommittee of American Academy of Neurology. *Neurology* 1996; 46: 873-880.
- Consensus statement: Report and reconmlendations of the San Antonio Conference on diabetic neuropathy. American Diabetes Association, American Academy of Neurology. *Diabetes Care* 1988;11: 592-597.
- Ducher M, Cerutti K, Gustin MP y col. Noninvasive exploration of cardiac autonomic neuropathy. Four reliable methods for diabetes? *Diabetes Care* 1999; 22: 388-393.
- Consensus Statement. Diagnosis and management of nephroterapy in patients with diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1996; 19: S103-S106.
- Amos AF, McCarty DJ, Zimmet P. The rising global burden of diabetes and its complications: Estimates and projections to the year 2010. *Diabet Med* 1997; 14: S7-S85.
- Bell DS. Diabetes mellitus and coronary artery disease. *Coron Artery Dis* 1996; 7: 715-722.
- Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA y col. Pathogenesis of the atherosclerotic lesion. Implications for diabetes mellitus. *Diabetes Care* 1992; 15: 1156-1167.
- Pfeifer MA, Schumer MP. Cardiovascular autonomic neuropathy: Where have we been and where are we going? *Diabetes Care* 1994;17: 1545-1546.
- Davis TM, Parsons RW, Broadhurst RJ y col. Arrhythmias and mortality after myocardial infarction in diabetic patients. Relationship to diabetes treatment. *Diabetes Care* 1998; 21: 637-640.
- Acosta AG, Hernandez RM, Reyes MM y col. Aspectos

- autoinmunitarios en la diabetes mellitus. *Rev Hosp Jua Mex* 1999; 66: 75-84.
28. Sterin-Borda L, Fink S, Diez C y col. (3-adrenergic effect of antibodies from chagasic patients and normal human lymphocytes on isolated rat atria. *Clin Exp Immunol* 1982; 50:534-540.
 29. Sterin-Borda L, Cossio PM, Gimeno MF y col. Effect of chagasic sera on the rat isolated atrial preparation: Immunological, morphological and function aspects. *Cardiovasc Res* 1976; 10: 613-622.
 30. Sterin-Borda L, Gorelik G, Borda ES. Chagasic IgG binding with cardiac muscarinic cholinergic receptors modifies cholinergic-mediated cellular transmembrane signals. *Clin Immunol Immunopathol* 1991; 61: 387-397.
 31. Pascual J, Borda E, Cossio PM y col. Modification of sarcolemmal enzymes of chagasic IgG and its effect on cardiac contractility. *Biochem Pharmacol* 1987; 35: 3839-3845.
 32. Pascual J, Borda ES, Sterin-Borda L. Chagasic IgG modifies the activity of sarcolemmal ATPases through a beta-adrenergic mechanisms. *Life Sci* 1987; 40: 313-319.
 33. Chiale PA, Rosenbaum MB, Elizari MV y col. High prevalence of antibodies against beta-1 and beta-2 adrenoceptors in patients with primary electrical cardiac abnormalities. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:864-869.
 34. Chiale PA, Ferrari I, Mahler E y col. Prevalencia y efectos funcionales y bioquimicos de los anticuerpos anti-receptores autonomicos cardiacos en pacientes con arritmias ventriculares y disfuncion sinusal. *Rev Argent Cardiol* 2000; 68: 399-413.
 35. de Oliveira S, Pedrosa RC, Nascimento JHM y col. Sera from chagasic patients with complex cardiac arrhythmias depress electrogenesis and conduction in isolated rabbit hearts. *Circulation* 1997;96: 2031-2037.
 36. Widen E, Lehto M, Konninen T y col. Association of polymorphism in the beta 3-adrenergic receptor gene with features of the insulin resistance syndrome in Finns. *N Engl J Med* 1995; 333: 348-351.
 37. Winocour PH, Dhar H, Anderson DC. The relationship between autonomic neuropathy and urinary sodium and albumin excretion in insulin-treated diabetics. *Diabet Med* 1986; 3: 436-440.
 38. Liao D, Sloan RP, Cascio WE y col. Multiple metabolic syndrome is associated with lower heart rate variability. The Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Diabetes Care* 1998; 21: 2116-2122.
 39. Bellavere F, Balzani I, De Masi G y col. Power spectral analysis of heart-rate variations improves assessment of diabetic cardiac autonomic neuropathy. *Diabetes* 1992; 41: 633-640.
 40. Freeman R, Saul JP, Roberts MS y col. Spectral analysis of heart rate in diabetic autonomic neuropathy. A comparison with standard tests of autonomic function. *Arch Neurol* 1991; 48: 185-190.