

INFILTRAÇÃO LINFOCÍTICA NO PARÊNQUIMA DA GLÂNDULA SALIVAR PARÓTIDA DE RATOS DIABÉTICOS SUPLEMENTADOS COM ACETIL-L-CARNITINA

Cássio Rafael Moreira

Acadêmico de Medicina da Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR.

Fernanda Ferrari

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Maringá (PR) e Acadêmica de Medicina da Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR.

Éder Paulo Belato Alves

Graduado em Farmácia Bioquímica e Doutor em Biologia Celular pela Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR.

Luiza Roberta Bin

Acadêmica de Odontologia da Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR.

Jéssica Santos Machado

Acadêmica de Odontologia na Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR.

Edilaine Dalzotto

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual do Oeste do Paraná e Mestre em Educação para a Ciência e a Matemática pela Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR.

Ângela Maria Pereira Alves

Graduada em Ciências Biológicas pela Universidade Estadual de Maringá e Doutora em Biologia Celular pela Universidade Estadual de Maringá - UEM, Maringá, PR.

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a infiltração linfocítica no parênquima da glândula salivar parótida de ratos diabéticos suplementados com acetil-l-carnitina (ALC). 20 ratos machos foram distribuídos em quatro grupos, normoglicêmico (C), diabético (D), normoglicêmico suplementado com ALC (CA) e diabético suplementado com ALC (DA). Aos 105 dias de idade o diabetes foi induzido pela administração endovenosa de estrepto-zotocina (35mg/Kg). No dia seguinte à indução foi iniciada a suplementação na água com ALC (200 mg/Kg) para os grupos CA e DA. Cortes histológicos das parótidas foram corados com Hematoxilina e Eosina para a contagem dos linfócitos presentes em 150 campos microscópios por grupo e os dados foram submetidos à análise de variância e teste de Tukey ($p < 0,05$). Houve aumento significativo na densidade linfocítica média nas parótidas dos animais dos grupos D e CA em relação aos grupos C e DA. A suplementação com ALC foi capaz de reduzir a infiltração linfocítica para os animais diabéticos, possivelmente por prevenir processos degenerativos do tecido glandular. Por outro lado, a maior infiltração linfocítica na glândula dos animais normoglicêmicos que receberam ALC, poderia ser resultante do excesso de estocagem da carnitina nos tecidos corporais, atingindo níveis de toxicidade para o tecido glandular.

PALAVRAS-CHAVE: Carnitina; Diabetes *Mellitus*; Glândula Parótida; Linfócitos.

Lymphocyte Infiltration in the Parenchyma of the Parotid Saliva Gland in Diabetic Rates Supplemented with Acetyl-L-Carnitine

ABSTRACT: Current analysis evaluates lymphatic infiltration in the parenchyma of the parotid saliva gland of diabetic rats supplemented with acetyl-l-carnitine (ALC). Twenty male rats were distributed into four groups, namely, normoglycemic group (C), diabetic group (D), normoglycemic supplemented with ALC group (CA) and diabetic supplemented with ALC group (DA). At the age of 105 days diabetes was induced by an endovenous administration of streptozotocin (35mg/kg). The day after, supplementation in water with ALC (200 mg/kg) started for CA and DA groups. Histological cuts of parotids were stained with hematoxylin and eosin to count lymphocytes in 150 microscope fields per group and data underwent analysis of variance and Tukey's test ($p < 0.05$). There was a significant increase in mean lymphatic density in parotids of the animals of groups D and CA when compared with those of groups C and DA. ALC supplementation induced lymphocyte infiltration for diabetic animals, perhaps by forecasting degenerative processes of the glandular tissue. On the other hand, the highest lymphatic infiltration in the gland of normoglycemic animals which received ALC may have resulted from excess of carnitine storage in the body tissues, reaching toxicity levels for the gland tissue.

KEY WORDS: Carnitine; Diabetes *Mellitus*; Parotid Gland; Lymphocytes.

INTRODUÇÃO

Dados da literatura que versam sobre o comportamento das glândulas salivares em humanos e em animais com diabetes *mellitus* (DM), têm demonstrado níveis distintos de alterações metabólicas e morfofuncionais que culminam em degeneração celular extensa com substituição de células parenquimais por tecido conjuntivo fibroso (ANDERSON; SULEIMAN; GARRET, 1994), acúmulo intracelular de lipídeos (COELHO et al., 2005), modificação no conteúdo e síntese de proteínas, bem como, no metabolismo de carboidratos (NICOLAU; SOUZA; NOGUEIRA, 2006), hiposecreção de enzimas digestivas (MAHAY et al., 2004) e infiltração de linfócitos (MARKOPOULOS; BELAZI, 1998). Estas alterações comprometem as funções dessas glândulas, e conseqüentemente geram problemas orais como xerostomia, candidíase (NEGRATO; TARZIA, 2010), intumescimento das glândulas salivares (BEN-ARYEH et al., 1996) e doença periodontal (ALVES; MENEZES; BRANDÃO, 2012).

A ocorrência da infiltração linfocítica nas glândulas salivares tem sido descrita no DM e em várias outras condições patológicas, tais como nas desordens auto-imunes, nos linfomas malignos e nas respostas imuno-regulatórias à neoplasias parenquimais (DIGIUSEPPE; CORIO; WEATRA, 1996). Contudo, no estado diabético, a infiltração de linfócitos está associada ao processo de degeneração de células e/ou tecidos, tanto que, em alguns casos, estes mecanismos inflamatórios têm sido relacionados à gênese da neuropatia diabética, pois a ocorrência de lesões inflamatórias, caracterizadas por infiltrações de linfócitos T e B, macrófagos e eosinófilos foram visualizadas ao redor de vasos epineurais onde há degeneração axonal de fibras mielínicas e amielínicas (SILVA; TEIXEIRA, 1999).

Anormalidades no metabolismo dos ácidos graxos, correlacionadas com o desenvolvimento de neuropatias diabéticas podem estar relacionadas com alterações nos níveis de carnitina (SIMA, 2007). O mecanismo pre-

ciso desta deficiência, observada em indivíduos e animais diabéticos, não está definido. Porém, a diminuição nos níveis de carnitina pode conduzir defeitos no transporte de ácidos graxos através da membrana mitocondrial interna, com conseqüente prejuízo da β -oxidação (EVANGELIOU et al., 2010).

A carnitina tem papel fundamental na geração de energia pela célula, agindo nas reações de transferência de ácidos graxos livres de cadeia longa do citosol para as mitocôndrias, facilitando a entrada destes ácidos graxos para a realização da oxidação e geração de ATP (STEPHENS et al., 2007). Possui também um papel depurador, permitindo o transporte de fragmentos acilados provenientes da β -oxidação para fora da mitocôndria e um papel regulador da relação acil-CoA/CoA livre (GOBB; SAMPAIO, 2001).

A L-carnitina tem recebido relevantes indicações para o melhoramento do desempenho durante exercício físico, de algumas desordens musculares, síndromes de deficiência genética de L-carnitina, desordens renais e hepáticas, hiperlipidemias (PROULX et al., 1997), cardiopatias (MINGORANCE et al., 2011) e DM (POWER, et al., 2007).

Apesar dos vários estudos referentes aos efeitos benéficos da suplementação com análogos da carnitina e seus ésteres sobre a condução nervosa periférica e outras complicações típicas do DM, nenhum enfoque acerca destes e/ou outros efeitos tem sido registrado na literatura em relação às glândulas salivares de animais nas mesmas condições patológicas. Desta forma, a proposta deste trabalho foi avaliar a infiltração linfocítica no parênquima da glândula salivar parótida de ratos diabéticos suplementados com acetil-L-carnitina (ALC).

2 METODOLOGIA

Foi utilizada a parótida de 20 ratos machos Wistar, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Todos os procedimentos descritos no presente trabalho estão de acordo com os princípios éticos adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e foram previamente submetidos à análise pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal

da referida Universidade. Precedendo a indução do diabetes, os animais foram mantidos em jejum por 14 horas e a estreptozotocina foi injetada via endovenosa, dissolvida em tampão citrato 10 (mM, pH 4,5) na dose de 35 mg/Kg de peso corporal. A injeção de estreptozotocina resultou na síndrome diabética caracterizada por hiperglicemia, rápida perda de peso e polidipsia.

Os ratos com 105 dias de idade foram distribuídos em quatro grupos (n = 5/grupo): diabéticos (D); diabéticos suplementados com ALC (DA); normoglicêmicos (C) e normoglicêmicos suplementados com ALC (CA). Os animais dos grupos C e D receberam água, enquanto os dos grupos CA e DA receberam água acrescida de acetil-L-carnitina (SPfarma - São Paulo - BR), na dosagem de 200 mg/Kg de peso corporal, diariamente, em vidro âmbar. Para tal, o consumo de água ingerida pelos animais foi monitorado diariamente, e o peso corporal, quinzenalmente.

Durante o período experimental que teve duração de 105 dias, os animais foram alojados em caixas individuais mantidas em ambiente com fotoperíodo (ciclo de 12 horas claro/12 horas escuro) e temperatura ($24 \pm 2^\circ\text{C}$) controlados. Água e ração Nuvilab^a para ratos foram permitidas *ad libitum*.

Após jejum de 14 horas ao final do período experimental, cada animal então com 210 dias de idade foi pesado e morto por dose letal do anestésico tiopental (40 mg/kg de peso corporal). Amostra de sangue foi coletada por punção cardíaca para dosagens dos níveis de glicose, pelo método da glicose oxidase (BERGMEYER; BERNET, 1974), e de hemoglobina glicada (KOENIG et al., 1976).

Após a extração das parótidas, as mesmas foram pesadas e lavadas em tampão fosfato salinado (PBS) 0,1M pH 7,4 e fixadas em solução de Bouin; desidratadas em série de concentrações crescentes de álcool, diafanizadas

em xilol e incluídas em parafina para realização de cortes histológicos semi-seriados, com $6 \mu\text{m}$ de espessura corados com Hematoxilina e Eosina (H.E).

2.1 ANÁLISE QUANTITATIVA DOS LINFÓCITOS

A densidade média linfocítica foi obtida através da contagem dos linfócitos presentes em 150 campos microscópios por grupo, com auxílio de microscópio Olympus BX40, aumento de 1000X. A área de cada campo microscópico foi de $0,0278 \text{ mm}^2$. Os resultados foram expressos como número médio de linfócitos por cm^2 de glândula salivar parótida.

2.2 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados obtidos foram submetidos ao teste de análise de variância e teste de Tukey. O nível de significância foi de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A síndrome diabética em ratos que receberam injeção de estreptozotocina foi constatada através da hiperglicemia e dos níveis de hemoglobina glicada ($p < 0,05$). No entanto, os ratos diabéticos suplementados com ALC mostraram menor glicemia se comparados com os ratos diabéticos. Porém, não foram observadas diferenças no nível de hemoglobina glicada entre os grupos de ratos diabéticos.

Além da hiperglicemia, os ratos dos grupos D e DA apresentaram polidipsia e perda de massa corpórea ($p < 0,05$). A suplementação com ALC reduziu a ingestão de água no grupo DA ($p < 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1. Massa corpórea inicial (PCI) na idade de 105 dias, massa corpórea final (PCF) na idade de 210 dias, consumo diário de água (CDA), glicemia (Gl) e hemoglobina glicada (HbG) dos animais dos grupos: diabético (D), diabético suplementado com ALC (DA), normoglicêmico (C) e normoglicêmico suplementado com ALC (CA). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média (n=5 ratos por grupo).

Parâmetros/Grupos	D	DA	C	CA
MCI/g	$363,6 \pm 3,5^a$	$356,2 \pm 8,6^a$	$362 \pm 17,9^a$	$328,4 \pm 6,3^a$
MCF/g	$311,8 \pm 7,0^a$	$343,8 \pm 16,1^a$	$472 \pm 23,9^b$	$452,6 \pm 13,1^b$
CDA/ml	$173,4 \pm 5,2^a$	$156,6 \pm 4,9^b$	$62,13 \pm 0,9^c$	$51,1 \pm 1,1^c$
Gl/ mg.dl ⁻¹	$362,4 \pm 15,1^a$	$286 \pm 21,1^b$	$105,4 \pm 11,2^c$	$99,8 \pm 5,9^c$
HbG/ %	$6,8 \pm 0,2^a$	$6,7 \pm 0,3^a$	$3,9 \pm 0,2^b$	$3,9 \pm 0,2^b$

Médias seguidas por letras diferentes na mesma linha são diferentes ($P < 0,05$) pelo teste de Tukey

Observamos aumento significativo na densidade média linfocítica nas glândulas parótidas dos animais dos grupos D ($373,2 \pm 65,33$) e CA ($363,6 \pm 63,65$) quando comparados com os grupos C ($100 \pm 17,51$) e DA ($110 \pm 19,26$) ($p < 0,05$) (Figura 1).

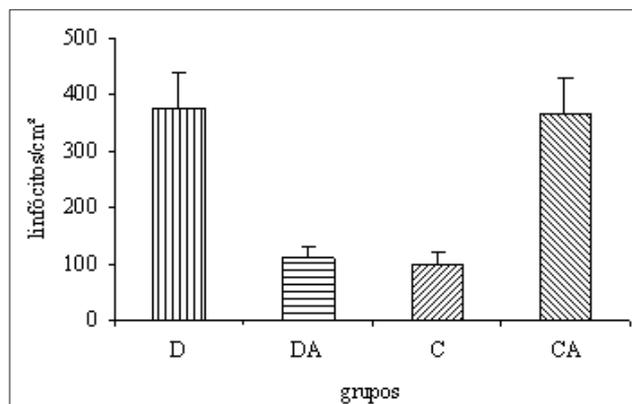


Figura 1. Densidade média de linfócitos infiltrados por cm^2 de glândula parótida dos animais dos grupos diabético (D), diabético suplementado com ALC (DA), normoglicêmico (C) e normoglicêmico suplementado com ALC (CA). Os resultados são expressos como média \pm erro padrão da média ($n=5$ ratos por grupo). Teste de Tukey ($p < 0,05$).

Na Figura 2, são apresentados os parênquimas da glândula salivar parótida de ratos dos grupos diabético, diabético suplementado com ALC, controle e controle suplementado com ALC.

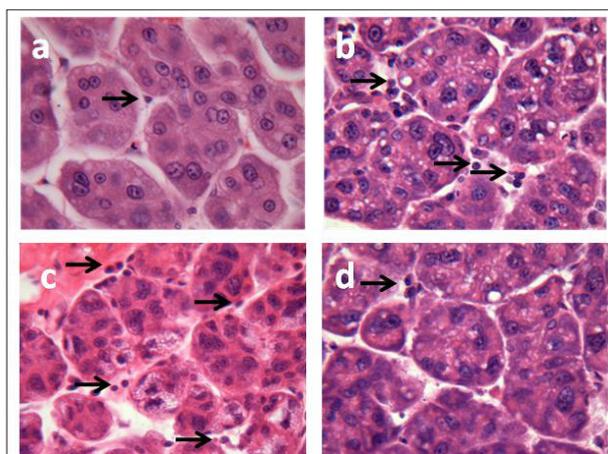


Figura 2. Infiltração linfocítica observada no parênquima da glândula salivar parótida dos animais dos quatro grupos: normoglicêmico (a), normoglicêmico suplementado com ALC (b), diabético (c), diabético suplementado com ALC (d). Setas indicam linfócitos. Coloração em HE; aumento 400X.

O quadro característico de diabetes foi observado através do aumento do consumo diário de água e glicemia, além de menor massa corpórea nos animais dos grupos D

e DA quando comparados aos animais normoglicêmicos dos grupos C e CA.

A redução na glicemia de jejum em ratos suplementados com ALC observada em nosso trabalho é um indicativo da influência da carnitina sobre a distribuição da glicose plasmática. Este resultado é reforçado por Galloway, Craig e Cleland (2011) que ao estudarem indivíduos suplementados com carnitina durante um teste de tolerância à glicose, constataram o efeito da carnitina semelhante ao da insulina, no tocante ao baixo pico inicial de concentração de glicose. Em adição, De Gaetano et al., (1999) sugerem que a carnitina pode exercer sua ação sobre metabolismo da glicose ao nível do receptor da insulina, pelo aumento do transporte transmembrana de glicose ou em nível de pós-receptores, ou seja, através da cascata de sinalização da insulina. Molino et al., (2010) atentaram para o fato de que a carnitina poderia ser benéfica para o metabolismo da glicose ao melhorar a regeneração do pâncreas endócrino através da modulação de fatores de crescimento semelhante à insulina (IGF) e de proteínas ligantes à IGF. Esta hipótese foi baseada na observação de que em ratos com diabetes induzido por estreptozotocina, a expressão de RNA mensageiro de IGF-1 é reduzida no fígado, mas é restaurada pela carnitina.

Em contraste, a hemoglobina glicada foi similar para ambos os grupos. Nas mesmas condições experimentais utilizadas em nosso estudo, Miranda-Neto et al., (2004) ao avaliarem os parâmetros fisiológicos de ratos diabéticos suplementados com ALC, também constataram a incapacidade da ALC em provocar alterações significantes na glicemia pós prandial. Assim, baseando-se nos resultados de hemoglobina glicada, podemos considerar que o grau de diabetes foi semelhante para os ratos diabéticos com e sem suplementação com ALC. Considerando este parâmetro, é possível investigar o impacto da suplementação com ALC sobre a glândula salivar parótida, na condição de diabetes.

Os ratos do grupo DA perderam 8,3% de massa corpórea, enquanto o grupo D perdeu 14,7%, em relação ao grupo C. Estes dados estão coerentes com os de Ferrannini et al., (1988) os quais sugerem que a suplementação com ALC ameniza a perda de massa corpórea por possivelmente melhorar o nível de carnitina

essencial para oxidação e síntese lipídica. Portanto, a diminuição da mobilização da gordura de reserva está associada à melhora na síntese lipídica, acarretando em menor perda de massa corpórea.

O estudo dos níveis de carnitina em indivíduos com DM tipo II sem nenhum tipo de complicação e em indivíduos com algum tipo de complicação (retinopatia, hiperlipidemia e neuropatia) demonstrou que os indivíduos diabéticos com complicações apresentam níveis reduzidos de carnitina quando comparados àqueles indivíduos diabéticos sem complicação. Este aspecto é um indício de que a deficiência de carnitina exerce um papel importante nas complicações do DM (MAMOULAKIS et al., 2004). Embora o mecanismo preciso desta anormalidade metabólica ainda permaneça obscuro, sabe-se que a administração de análogos de carnitina como a ALC, tem mostrado eficácia na prevenção das disfunções dos nervos periféricos e nas alterações bioquímicas e histopatológicas (MALONE et al., 1996).

No presente estudo, a infiltração de linfócitos na glândula salivar parótida de animais suplementados ou não com ALC foi analisada, e os resultados referentes aos aspectos quantitativos podem ser observados na figura 1. Os animais dos grupos D e CA exibiram maior densidade média linfocítica quando comparados aos animais dos grupos DA e C.

Markopoulos e Belazi (1998), através das análises histopatológica e imunohistoquímica, observaram infiltração de linfócitos em glândulas salivares labiais de crianças com diabetes tipo I. De modo semelhante, em nosso trabalho, a infiltração de linfócitos também foi notada na glândula salivar parótida dos animais diabéticos, confirmando os dados de literatura, onde são descritos a ocorrência da infiltração destes tipos celulares nas glândulas salivares durante o processo de envelhecimento (VERED et al., 2001) bem como, em várias condições patológicas como o DM (DIGIUSEPPE; CORIO; WESTRA, 1996).

Resultados similares também foram obtidos por Kurashima e Hirokawa (1986), ao examinarem a prevalência da infiltração linfocítica focal na glândula salivar submandibular de humanos saudáveis. Foi constatado significativo aumento da sua prevalência em idosos. A comparação dos estudos de Kurashima e

Hirokawa (1986) e Markopoulos e Belazi (1998) mostra que a infiltração de linfócitos T citotóxicos está associada à destruição tecidual das glândulas salivares. Outro fator que contribui para esta condição histopatológica é a aceleração do envelhecimento que é uma condição característica do diabetes (ROMANO; MIRANDA-NETO; CARDOSO, 1996), sendo a mesma relacionada ao aumento da produção de óxido nítrico (NO) e outros radicais livres que medeiam a degeneração celular neste estado patológico (VINCENT et al., 2004).

A suplementação com ALC para os animais diabéticos foi capaz de reduzir a infiltração linfocítica em níveis equiparados aos dos animais normoglicêmicos, possivelmente por prevenir processos degenerativos do tecido glandular oriundos do estresse oxidativo, o qual é intensificado pela condição hiperglicêmica. Dobrzyńska et al. (2010) relataram efeito protetor da carnitina sobre fosfolípidos e proteínas das membranas celulares de hepatócitos prevenindo modificações oxidativas, constatadas em animais com intoxicação causada pelo etanol. Atentando para estes resultados, é possível associar alguns dos aspectos benéficos da suplementação com ALC à sua ação no combate ao estresse oxidativo; sobretudo, na varredura de radicais livres e quelação do ferro (REZNICK et al., 1992) bem como, pela redução das alterações na atividade da via do poliol e nos níveis de mediadores inflamatórios (DAVISON et al., 2002) que culminam em complicações crônico-degenerativas (SILVA; TEIXEIRA, 1999).

Os dados referentes à infiltração de linfócitos observada na glândula parótida dos animais normoglicêmicos suplementados com ALC permitem inferir que as concentrações elevadas de carnitina obtidas tanto pela biossíntese como pela ingestão durante o período experimental, poderiam atingir níveis tóxicos ao tecido glandular; já que a estocagem de carnitina é dose-dependente, ou seja, quanto maior for o conteúdo de carnitina proveniente da dieta, maior será o seu conteúdo nos tecidos (LEIBOVITZ; MUELLER, 1993). Embora as pesquisas raramente apontem relatos de possíveis efeitos colaterais através da administração de ALC em doses elevadas, alguns autores destacaram episódios de diarreia (CONKLING, 2000) náuseas e vômitos (TAMAMOGULLARI et al., 1999).

Estudo realizado por Alves et al. (2006), para avaliar o efeito da suplementação com acetil-L-carnitina sobre os neurônios mioentéricos NADPH-diaforase positivos do íleo de ratos com DM induzido por estreptozotocina, mostrou que nos animais normoglicêmicos suplementados com ALC, houve fragilização da parede do íleo durante a microdissecação dos preparados de membrana, sugerindo possível efeito colateral da carnitina.

Embora o uso da carnitina seja amplamente difundido em diversas disfunções, são necessários mais estudos a fim de se determinar doses mais precisas para evitar os possíveis efeitos prejudiciais que podem ser constatados com sua administração (ALVES et al., 2004).

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conjunto desses dados sugere que em condição de diabetes, a suplementação com ALC minimizou o nível de glicemia e o consumo de água, a perda de massa corpórea e a infiltração linfocítica no parênquima da glândula salivar parótida para níveis similares aos dos animais normoglicêmicos. Por outro lado, a maior infiltração linfocítica na glândula dos animais normoglicêmicos que receberam ALC poderia ser resultante de um efeito colateral decorrente do excesso de estocagem da carnitina nos tecidos corporais, atingindo níveis de toxicidade para o tecido glandular.

REFERÊNCIAS

- ALVES, A. M. P. et al. Carnitina: aspectos gerais e enfoque na neuropatia diabética. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v. 8, n. 2, p. 151-163, 2004.
- ALVES, A. M. P. et al. Morphoquantitative aspects of NADH-diaforase myenteric neurons in the ileum of diabetic rats treated with acetyl-L-carnitine. **Anatomia, Histologia, Embryologia**, v. 35, n. 1, p. 13-18, 2006.
- ALVES, C.; MENEZES, R.; BRANDÃO, M. Salivary flow and dental caries in Brazilian youth with type 1 diabetes mellitus. **Indian Journal of Dental Research**, v. 23, n. 6, 2012.
- ANDERSON, L. C; SULEIMAN, A. H.; GARRETT, J. R. Morphological effects of diabetes on the granular ducts and acini of the rat submandibular gland. **Microscopy Research and Technique**, v. 27, n. 1, p. 61-70, 1994.
- BEN-ARYEH, H. et al. Autonomic neuropathy and salivary composition in diabetic patients. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v. 10, n. 4, p. 226-227, 1996.
- BERGMEYER, H. U.; BERNET, E. **Determination of glucose-oxidase and peroxidase: methods of enzymatic analysis**. New York: Verlag Chemie-Academic Press, 1974.
- COELHO, C. F. et al. Aplicações clínicas da suplementação de L-carnitina. **Revista de Nutrição**, v. 18, n. 5, p. 651-659, 2005.
- CONKLING, W. **The Carnitine Connection**. USA: St. Martin's Paperbacks, 2000.
- DAVISON, G. W. et al. Exercise, free radicals, and lipid peroxidation in type I diabetes mellitus. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 33, n. 11, p. 1543-1551, 2002.
- DE GAETANO, A. et al. Carnitine increases glucose disposal in humans. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 18, n. 4, p. 289-295, 1999.
- DIGIUSEPPE, J. A.; CORIO, R. L.; WESTRA, W. H. Lymphoid infiltrates of the salivary glands: pathology, biology and clinical significance. **Current Opinion in Oncology**, v. 8, n. 3, p. 232-237, 1996.
- DOBRZYNSKA, I. et al. Effect of L-carnitine on liver cell membranes in ethanol-intoxicated rats. **Chemico Biological Interactions**, v. 188, n.1, p. 44-51, 2010.
- EVANGELIOU, A. et al. Carnitine status and lactate increase in patients with type I juvenile diabetes. **Minerva Pediatrica**, v. 62, n. 6, p. 551-557, 2010.
- FERRANNINI, E. et al. Interaction of carnitine with insulin-stimulated glucose metabolism in humans. **The American Journal of Physiology**, v. 255, n. 6, p. 946-952, 1988.
- GALLOWAY, S. D.; CRAIG, T. P.; CLELAND, S. J. Effects of

- oral L-carnitine supplementation on insulin sensitivity indices in response to glucose feeding in lean and overweight/obese males. **Amino Acids**, n. 41, p. 507–515, 2011.
- GOBB, J. I. F.; SAMPAIO, L. M. M. Complementação e suplementação de nutrientes. In: DÂMASO, A. **Nutrição e exercício na prevenção de doenças**. Rio de Janeiro: Medsi, 2001. p. 363-406.
- KOENIG, R. J. et al. Correlation of glucose regulation and hemoglobin A_{1c} in diabetes mellitus. **The New England Journal of Medicine**, v. 295, n. 8, p. 417-420, 1976.
- KURASHIMA, C.; HIROKAWA, K. Age-related increase of focal lymphocytic infiltration in the human submandibular glands. **Journal of Oral Pathology**, v.15, n. 3, p.172-178, 1986.
- LEIBOVITZ, B.; MULLER, J. Carnitine. **Journal of Optimal Nutrition**, v. 2, p. 90-109, 1993.
- MAHAY, S. et al. Streptozotocin-induced type I diabetes mellitus alters the morphology, secretory function and acyl lipid contents in the isolated rat parotid salivary gland. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 261, n.1-2, p. 175-181, 2004.
- MALONE, J. I. et al. The effect of hyperglycemia on nerve conduction and structure is age dependent. **Diabetes**, v. 45, n. 2, p. 209-215, 1996.
- MAMOULAKIS, D. et al. Carnitine deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v. 18, n. 5, p. 271-274, 2004.
- MARKOPOULOS, A. K.; BELAZI, M. Histopathological and immunohistochemical features of the labial salivary glands in children with type I diabetes. **Journal of diabetes and Its complications**, v. 12, n. 1, p. 39-42, 1998.
- MINGORANCE, C. et al. Critical update for the clinical use of L-carnitine analogs in cardiometabolic disorders. **Vascular Health and Risk Management**, v. 7, p. 169-76, 2011.
- MIRANDA-NETO, M. H. et al. Evaluation of the nitrergic myenteric neurons in the distal colon of diabetic rats treated with acetyl-L-carnitine. **Brazilian Journal of Morphological Sciences**, v. 21, n. 2, p. 105-110, 2004.
- MOLFINO, A. et al. Caloric restriction and L-carnitine administration improves insulin sensitivity in patients with impaired glucose metabolism. **Journal of Parenteral & Enteral Nutrition**, n. 34, n. 3, p. 295-299, 2010.
- NEGRATO, C. A.; TARZIA, O. Buccal alterations in diabetes Mellitus. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 2, n. 3, 2010.
- NICOLAU, J.; SOUZA, D. N.; NOGUEIRA, F. N. Activity, distribution and regulation of phosphofructokinase in salivary gland of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Brazilian Oral Research**, v. 20, n. 2, p. 108–113, 2006.
- POWER, R. A. et al. Carnitine revisited: potential use as adjunctive treatment in diabetes. **Diabetologia**, v. 50, p. 824–832, 2007.
- PROULX, F. et al. Acquired carnitine abnormalities in critically ill children. **European Journal of Pediatrics**, v. 156, p. 864-869, 1997.
- REZNICK, A. Z. et al. Vitamin E inhibits protein oxidation in skeletal muscle of resting and exercised rats. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v. 189, n. 2, p. 801-806, 1992.
- ROMANO, E. B.; MIRANDA-NETO, M. H.; CARDOSO, R. C. Preliminary investigation about the effects of streptozotocin-induced chronic diabetes on the nerve cell number and size of myenteric ganglia in rat colon. **Revista Chilena de Anatomía**, v. 14, p. 139-145, 1996
- SILVA, C. B.; TEIXEIRA, M. J. Neuropatia diabética. **Revista Médica**, v. 78, p. 150-162, 1999.
- SIMA, A. A. Acetyl-L-carnitine in diabetic polyneuropathy: experimental and clinical data. **CNS Drugs**, v. 1, p. 13-23, 2007.
- STEPHENS, F. B.; CONSTANTIN-TEODOSIU, D.; GREENHAFF, P. L. New insights concerning the role of

carnitine in the regulation of fuel metabolism in skeletal muscle. **The Journal of Physiology**, v. 581, n. 2, p. 431-444, 2007.

TAMAMOGULLARI, N. et al. Carnitine deficiency in diabetes mellitus complications. **Journal of Diabetes and Its Complications**, v. 13, N. 5-6, p. 251-253, 1999.

VERED, M. et al. Focal lymphocytic infiltration in aging human palatal salivary glands: a comparative study with labial salivary glands. **Journal of Oral Pathology and Medicine**, v. 30, n. 1, p. 7-11, 2001.

VINCENT, A. M. et al. Oxidative stress in the pathogenesis of diabetic neuropathy. **Endocrine Reviews**, v. 25, n. 4, p. 612-628, 2004.

Recebido em: 05 de março de 2014

Aceito em: 24 de março de 2014