



Licenciatura em Ciências da Nutrição

**NÍVEIS SÉRICOS DE LUTEÍNA E SUA RELAÇÃO COM
FACTORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM DIABÉTICOS
TIPO 2 COM E SEM RETINOPATIA.**

Projeto Final de Licenciatura

Elaborado por Cátia Diana Amado Marques

Aluno nº 201092188

Orientador Interno: Prof.^a Doutora Ana Valente

Barcarena

Novembro 2014

Universidade Atlântica

Licenciatura em Ciências da Nutrição

**NÍVEIS SÉRICOS DE LUTEÍNA E SUA RELAÇÃO COM
FACTORES DE RISCO CARDIOVASCULAR EM DIABÉTICOS
TIPO 2 COM E SEM RETINOPATIA.**

Projeto Final de Licenciatura

Elaborado por Cátia Diana Amado Marques

Aluno nº 201092188

Orientador Interno: Prof.^a Doutora Ana Valente

Barcarena

Novembro 2014

Níveis séricos de luteína e sua relação com factores de risco cardiovascular em diabéticos tipo 2 com e sem retinopatia

Licenciatura em Ciências da Nutrição

Níveis séricos de luteína e sua relação com factores de risco cardiovascular em diabéticos tipo 2 com e sem retinopatia

Licenciatura em Ciências da Nutrição

O autor é o único responsável pelas ideias expressas neste relatório

Agradecimentos

Aos meus pais, agradeço o esforço que fizeram para me proporcionar a finalização desta etapa da minha vida, a dedicação e o amor que sempre me transmitiram e a motivação que me deram nos momentos menos positivos.

Não poderia deixar de agradecer, à Prof.^a Doutora Ana Valente, orientadora interna, pela disponibilidade e dedicação que teve em esclarecer as minhas dúvidas e ajudar no que fosse possível ao longo de ambos os estágios e na realização do projeto final de curso.

Fico grata à equipa da Associação Protetora dos Diabéticos de Portugal, especialmente à Dietista Margarida Barradas, pela hospitalidade, motivação e conhecimentos transmitidos, pois foi essencial para a realização do projeto final.

Ao meu namorado Carlos, por sempre encontrar uma forma de me mostrar apoio, motivação, amor, carinho, e por ter sido o meu pilar nesta fase do percurso académico.

Agradeço, finalmente, às minhas amigas e companheiras de curso, Diana Simão, Diana Rodrigues e Gilda Brandão, por todo o companheirismo, amizade, partilha de momentos felizes e inesquecíveis durante estes quatro anos de curso.

Resumo

Introdução: A diabetes mellitus constitui um problema mundial de saúde pública. A sua prevalência em 2012 foi de 12,9% para a população portuguesa com idades entre os 20 e os 79 anos, o que corresponde um valor estimado de 1 milhão de indivíduos. A diabetes mellitus tipo 2 é a mais prevalente, representando mais de 90% da população de indivíduos com diabetes. O stresse oxidativo pode ser responsável por diversas complicações angiopáticas na diabetes. Determinados carotenoides, como a luteína, têm revelado efeitos benéficos e as concentrações séricas de luteína têm sido estudadas com o objetivo de esclarecer qual a sua relação com factores de risco cardiovascular e se poderá ter um efeito protetor na retinopatia e na macroangiopatia.

Objectivo: Avaliar os níveis séricos de luteína em diabéticos tipo 2 com retinopatia e sem angiopatia, bem como a sua relação com factores clássicos do risco cardiovascular.

Métodos: Estudo epidemiológico observacional analítico do tipo caso-controlo numa amostra de 115 diabéticos tipo 2 com idades entre os 40 e os 75 anos. Foram constituídos 2 grupos: grupo I - 40 diabéticos com retinopatia e grupo II: 75 sem complicações. Ambos os grupos foram recrutados na Associação Protetora dos Diabéticos de Portugal. Os dados do estudo foram obtidos a partir da base de dados do projeto “Hábitos alimentares, hiperhomocisteína e doença cardiovascular na diabetes tipo 2” com a referência PIC/IC/82957/2007. Os dados foram tratados através do *software* SPSS® versão 20.0. Para comparação de médias ou proporções e em função do tipo de variável foram utilizados os testes de *t-student* e qui-quadrado. As possíveis associações foram determinadas pela aplicação de um modelo de regressão linear simples.

Resultados: Os níveis séricos de luteína foram semelhantes entre os grupos (I: $0,718 \pm 0,05 \mu\text{M}$ vs. II: $0,717 \pm 0,05 \mu\text{M}$). Foi observada uma associação direta da luteína sérica com o colesterol HDL, e inversa com o índice de massa corporal e o perímetro abdominal no grupo II. Simultaneamente verificou-se também uma associação inversa da luteína com a pressão arterial diastólica e com as pulsações no grupo I.

Conclusão: Parece existir um efeito protetor da luteína sérica no aparecimento de complicações angiopáticas da diabetes mellitus do tipo 2, visto que, níveis mais elevados de luteína no soro estão associados com a diminuição de factores de risco cardiovascular, como o índice de massa corporal, perímetro abdominal, pressão arterial diastólica ou pulsações e com o aumento de outros factores protetores, como o colesterol HDL.

Palavras-chave: Luteína, Diabetes tipo 2, Doença cardiovascular, Retinopatia e Estado nutricional.

Abstract

Introduction: Diabetes mellitus is a worldwide public health problem. In 2012, its prevalence in Portuguese population aged between 20 and 79 years was 12.9%, which represents an estimated number of 1 million of subjects with diabetes. There are many types of diabetes, but the most prevalent is diabetes mellitus type 2, representing more than 90% of the population with diabetes. The oxidative stress may be responsible for various angiopathic complications in diabetes, such as diabetic retinopathy. Certain carotenoids, such as lutein, have revealed beneficial effects, and serum concentrations of lutein have been studied in order to clarify its relationship with cardiovascular risk factors and their protective effect on retinopathy and macroangiopathy

Aim: Evaluate lutein serum levels in type 2 diabetics with retinopathy and without angiopathy and, as well as, its relationship with classic cardiovascular risk factors.

Methods: It was performed an analytical observational case-control study in a sample of 115 type 2 diabetics aged between 40 and 75 years. Two groups were formed: group I - 40 diabetics with retinopathy and group II - 75 diabetics without angiopathy. Both groups were recruited from the Diabetic Protective Association of Portugal. Study data were obtained from the database of the project "Food habits, hyperhomocisteine and cardiovascular disease in type 2 diabetes" with reference PIC/IC/82957/2007. Statistical analysis was performed in SPSS[®] software version 20.0. For comparison of means or proportions and according to the type of variable, the t-student tests and chi-square were used. Possible associations were accessed by applying a simple linear regression model.

Results: Lutein serum levels were similar between groups (I: 0.718 ± 0.05 μM vs. II: 0.717 ± 0.05 mM). A direct association of serum lutein with HDL cholesterol and inversely with body mass index and waist circumference was observed in group II. Simultaneously there was also an inverse association between lutein with diastolic blood pressure and pulse rates in group I.

Conclusion: There seems to be a protective effect of lutein in development of angiopathy in diabetes mellitus type 2, since higher serum lutein is associated with

decreased cardiovascular risk factors, such as body mass index, waist circumference, diastolic blood pressure or pulsations and with increased of other protective factors, such as HDL cholesterol.

Keywords: Lutein, Diabetes mellitus type 2, Cardiovascular disease, Retinopathy and Nutritional status.

Índice

Agradecimentos	v
Resumo	vii
Abstract	ix
Índice de tabelas.....	xiii
Lista de abreviaturas e siglas	xv
1. Introdução	1
1.1. Diabetes mellitus.....	1
1.2. Stresse oxidativo	1
1.3. Retinopatia diabética.....	2
1.4. Luteína	2
2. Metodologia	4
2.1. Desenho do estudo	4
2.2. Considerações éticas	5
2.3. Dados gerais, clínicos e fisiológicos	5
2.4. Antropometria	6
2.5. Avaliações bioquímicas	6
2.6. Análise estatística	7
3. Resultados	7
4. Discussão	12
5. Conclusão.....	15
6. Referências bibliográficas.....	16

Índice de tabelas

Tabela 1. Características iniciais da população em estudo.....	8
Tabela 2. Prevalência de factores clássicos de risco cardiovascular.....	9
Tabela 3. Dados antropométricos e concentrações de luteína na população em estudo.....	10
Tabela 4. Avaliação da prevalência de obesidade de acordo com dois critérios.....	11
Tabela 5. Associação da luteína com parâmetros relacionados com a diabetes e factores de risco cardiovascular.....	12

Lista de abreviaturas e siglas

DM – Diabetes mellitus

DM2 – Diabetes mellitus tipo 2

HDL – *High-density lipoprotein*

IMC – Índice de massa corporal

LDL – *Low-density lipoprotein*

PA – Perímetro abdominal

PAD – Pressão arterial diastólica

PAS – Pressão arterial sistólica

RD – Retinopatia diabética

1. Introdução

1.1. *Diabetes mellitus*

A diabetes mellitus (DM) é uma doença crónica que se caracteriza pela perda da capacidade de produção de insulina, por parte do pâncreas, e/ou pela resistência à insulina produzida, constituindo um problema mundial de saúde pública (Polikandrioti e Dokoutsidou, 2009).

A prevalência total da DM, em 2012, foi de 12,9% para a população portuguesa com idades entre os 20 e os 79 anos, o que corresponde um valor estimado de 1 milhão de indivíduos (Correia et al., 2013).

A DM divide-se em vários tipos, onde se inclui a diabetes mellitus tipo 2 (DM2), que representa mais de 90% da população de indivíduos com diabetes (Lyssenko e Laakso., 2013). Na maioria dos casos de DM2, a hiperglicemia desenvolve-se gradualmente e, numa fase inicial, os sintomas clássicos não são perceptíveis, permanecendo anos sem ser diagnosticada, o que leva a uma exposição destes indivíduos a um risco elevado de desenvolver complicações macro- e microvasculares (Coyne et al., 2005; American Diabetes Association, 2009).

1.2. *Stresse oxidativo*

Existem evidências que sugerem que um elevado grau de stresse oxidativo, para além de ser um dos fatores que aumenta o risco de progressão da DM2, pode também ser promotor do aparecimento de angiopatia (Coyne et al., 2005; Adela et al., 2008).

O seu aumento ocorre quando a produção de radicais livres é superior a capacidade de ação das defesas antioxidantes do organismo, e especificamente na diabetes, pode ter várias causas, tais como a autooxidação da glucose, o aumento da glicação avançada de proteínas e/ou a diminuição das defesas antioxidantes (Maritim, Sanders e Watkins, 2003; Coyne et al., 2005; Adela et al., 2008; Sindhu, Preethi e Kuttan, 2010; Wang, Chun e Song, 2013). Um grau elevado de stresse oxidativo afeta células capilares e outras células da retina, como fotorreceptores e células epiteliais, e pode levar ao

desenvolvimento de uma complicação específica da diabetes, a retinopatia diabética (RD) (Adela et al., 2008; Kowluru et al., 2014).

1.3. Retinopatia diabética

A RD é uma complicação microvascular da DM que pode levar à perda de visão. Em Portugal, a prevalência de diabéticos internados com retinopatia diabética em 2012 foi de 44,1% (Correia et al., 2013). Esta complicação é caracterizada pela lesão dos pequenos vasos sanguíneos que nutrem a retina e que podem causar hemorragia (Viswanath e McGavin, 2003).

Existem dois tipos de RD: 1) não proliferativa - forma mais prevalente e caracterizada pela presença de microaneurismas, originando o edema de mácula diabético; 2) proliferativa - surge quando os vasos da retina ou do nervo óptico não conseguem trazer os nutrientes para o fundo do olho e por consequência há formação de vasos anormais (neovasos) que causam o sangramento e hipóxia tecidual prolongada (Wilkinson et al., 2003; Viswanath e McGavin, 2003; Arevalo, 2013). Nesta fase podem ocorrer hemorragias vítreas e deslocamento de retina (Stanford, 2004).

Os factores de risco para o desenvolvimento desta complicação microvascular incluem a duração da doença, idade, controlo metabólico da diabetes, hipertensão arterial, dislipidémia, nefropatia diabética, e gravidez, tabagismo, obesidade, consumo de álcool e sedentarismo, para além dos factores genéticos (Coyne et al., 2005; American Diabetes Association, 2014). No entanto, alguns estudos sugerem que a presença de RD pode ser um marcador de risco aumentado para episódios clínicos de doença cardiovascular, já que é mediada, sobretudo, pelo stress oxidativo e inflamação (Kawasaki et al., 2011; Wang, Chung e Song, 2013).

1.4. Luteína

Segundo evidências epidemiológicas, os carotenoides podem desempenhar um papel protetor no desenvolvimento de aterosclerose, acidente vascular cerebral, certos tipos de

cancro, doenças inflamatórias, doenças oculares, entre outras (Ford et al., 2002; Ribaya-Mercado e Blumberg, 2004; Coyne et al., 2005).

A luteína é um dos seis principais carotenoides presente nos alimentos e no soro humano (Wang, Chung e Song, 2013). Este composto bioativo, tem sido descrito como um antioxidante natural que está presente essencialmente em frutos e hortícolas, principalmente em hortícolas de folha verde (Granado, Olmedilla e Blanco, 2003; Ribaya-Mercado e Blumberg, 2004; Evans et al., 2013). É encontrada em vários tecidos humanos, no entanto apresenta uma concentração mais elevada na retina (0,1-1,1 mM), principalmente na mácula, onde desempenha um papel protetor, por ter a capacidade de absorver a luz azul de alta energia e neutralizar espécies reativas de oxigénio em condições de stresse oxidativo (Molldrem et al., 2004; Thurmann et al., 2005; Brazionis et al., 2009; Evans et al., 2013; Kowluru et al., 2014). Uma ingestão diária de 6 a 20 mg de luteína tem sido associada a um menor risco de distúrbios oculares (Koushan et al., 2013).

Algumas características da luteína, nomeadamente a acumulação seletiva na retina e a presença de proteínas de ligação com elevada afinidade para a luteína, sustentam a hipótese de que tem uma função relevante na saúde, especialmente da visão (Granado, Olmedilla e Blanco, 2003).

A biodisponibilidade da luteína nas fontes alimentares é um fator que requer melhor compreensão, pois é influenciada, principalmente, pela matriz alimentar e quantidade de gordura consumida na mesma refeição (Granado, Olmedilla e Blanco, 2003). A quantidade de gordura aumentam a biodisponibilidade, pois a luteína é incorporada em micelas para posteriormente ser absorvida pelos enterócitos, sendo de seguida incorporada em quilomicrons para o transporte até ao fígado (Granado, Olmedilla e Blanco, 2003). Já no sangue, a luteína é transportada por lipoproteínas de alta densidade (HDL) e de baixa densidade (LDL) (Evans et al., 2013; Granado, Olmedilla e Blanco, 2003; Koushan et al., 2013; Molldrem et al., 2004).

Um estudo prospetivo em indivíduos com RD não proliferativa foi realizado em 2011, por Hu *et al.*, onde se verificou que a concentração sérica de luteína e zeaxantina foi significativamente menor nestes indivíduos comparativamente com os indivíduos sem RD. Nesse estudo foi também sugerido que uma suplementação de luteína e zeaxantina nestes pacientes leva à melhoria da acuidade visual e diminuição na espessura da fóvea (Hu *et al.*, 2011).

Quanto à relação da luteína com o risco cardiovascular, Martin *et al.* (2000), e Panasenکو *et al.* (2000) observaram que a luteína, para além de outros carotenoides, tinha um efeito protetor na formação da placa de ateroma. Foram também encontradas associações negativas, entre níveis séricos ou alimentares de luteína com a prevalência de doença coronária e acidente vascular cerebral (Martin, Wu e Meydani, 2000; Panasenکو *et al.* 2000; Ribaya-Mercado e Blumberg, 2004).

No entanto, até à data ainda não são conhecidos estudos que estabeleçam uma associação entre a luteína e fatores clássicos de risco cardiovascular em indivíduos com RD e sem RD. Assim, o presente estudo tem como objetivo avaliar os níveis séricos de luteína em diabéticos tipo 2 com e sem retinopatia e relacionar com fatores clássicos de risco cardiovascular.

2. Metodologia

2.1. Desenho do estudo

Foi realizado um estudo epidemiológico observacional analítico do tipo caso-controlo, baseado nos resultados do projeto “Hábitos alimentares, hiperhomocisteína e doença cardiovascular na diabetes tipo 2” financiado pela Fundação para a Ciência e Tecnologia com a referência PIC/IC/82957/2007.

A amostra estudada é composta por 115 adultos com DM2 recrutados na Associação Protetora dos Diabéticos de Portugal. Foram constituídos dois grupos. O grupo I: 40 diabéticos tipo 2 com retinopatia e o grupo II: 75 diabéticos tipo 2 sem angiopatia. Foram definidos os seguintes critérios de inclusão: a) DM2 diagnosticada há pelo

menos 1 ano; b) ambos os géneros; c) idade entre os 40-75 anos; d) caucasianos e e) assinatura do consentimento informado. Como critério de inclusão adicional para o grupo I foi definida a presença de retinopatia proliferativa ou não proliferativa.

2.2. Considerações éticas

Este estudo foi previamente aprovado pelas Comissões de Ética da Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, da Associação Protetora dos Diabéticos de Portugal e do Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, I.P.

Todo o trabalho de investigação foi desenvolvido de acordo com as considerações constantes na Declaração de Helsínquia ([World Medical Association, 2000](#)). Todos os participantes convidados a participar no estudo receberam informação detalhada sobre projeto e assinaram um consentimento informado e esclarecido.

2.3. Dados gerais, clínicos e fisiológicos

Foram utilizados os dados de um questionário geral ([Valente, 2013](#)) aplicado a toda a população em estudo para a obtenção de dados gerais e de estilo de vida. As informações sobre os hábitos tabágicos, consumo de álcool, uso de suplementos, uso de medicação para o tratamento da DM2 e da doença cardiovascular, história clínica do participante, antecedentes pessoais e familiares com doença cardiovascular foram também obtidos pela consulta dos resultados do referido questionário.

Informação referente ao nível de atividade física foi obtida pela consulta dos resultados da aplicação do formato curto do Questionário Internacional de Atividade Física ([IPAQ Scientific Group, 2005](#)).

As informações sobre os anos de evolução da diabetes, presença de complicações angiopáticas e insulinodependência foram obtidas por acesso à ficha clínica dos participantes.

A pressão arterial e os batimentos cardíacos foram obtidos por medição no braço esquerdo após 10 min de descanso, com o participante na posição sentada. Para esta medição utilizou-se um equipamento de pulso, modelo R6 (HEM-6052-E) da Omron® (OMRON Management Center of America, Inc., Schaumburg, USA). O resultado médio de duas medições foi avaliado. Uma terceira medição foi efectuada sempre que a variação entre as duas medições foi superior a 10%.

2.4. Antropometria

As medições antropométricas descritas no projeto PIC/IC/82957/2007 foram efetuadas de acordo com procedimentos padrão internacionais e com equipamentos calibrados (Lohman et al., 1991).

Os dados antropométricos aferidos incluíram o peso, estatura e perímetro abdominal. O peso foi medido em quilogramas com uma precisão de 100 g utilizando uma balança BF552 da marca Tanita® (Tanita Corporation of America, Inc., Illinois, USA).

A estatura foi registada com uma precisão de 5 mm utilizando um estadiómetro de ultrassons da marca ADE® (ADE GmbH & Co., Hamburg, Alemanha).

O Índice de Massa Corporal (IMC) foi calculado de acordo com a equação peso/(estatura)² (kg/m²). O resultado obtido foi comparado com o valor de referência da *World Health Organization* (WHO) (World Health Organization, 2011).

Considerou-se obesidade para um IMC ≥ 30 kg/m² e pré-obesidade para um IMC ≥ 25 kg/m² e < 30 kg/m². A obesidade foi dividida de acordo com as seguintes classes: obesidade de classe I: IMC ≥ 30 kg/m² e < 35 kg/m²; obesidade de classe II: IMC ≥ 35 kg/m² e < 40 kg/m²; obesidade de classe III: IMC ≥ 40 kg/m².

De acordo com a WHO, a obesidade abdominal foi definida para um perímetro abdominal maior que 102 centímetros no sexo masculino e maior que 88 centímetros no sexo feminino ([World Health Organization, 2011](#)).

2.5. Avaliações bioquímicas

Os níveis de hemoglobina glicosilada (HbA1c), colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, triglicéridos e hemograma obtiveram-se através da avaliação de análises de rotina dos participantes, efetuadas nos últimos 6 meses. A hipertensão foi definida pela presença de uma pressão arterial sistólica (PAS) ≥ 140 mm Hg e/ou uma pressão arterial diastólica ≥ 80 mmHg ([American Diabetes Association, 2013](#)). A dislipidémia foi considerada presente quando uma das seguintes situações se verificou: triglicéridos (TG) ≥ 150 mg/dL, lipoproteínas de elevada densidade (HDL) menor que ≤ 40 mg/dL nos homens e ≤ 50 mg/dL nas mulheres, lipoproteínas de baixa densidade (LDL) ≥ 100 mg/dL ou diagnóstico prévio de dislipidémia ([American Diabetes Association, 2013](#)). O controlo metabólico da diabetes foi classificado como satisfatório quando a percentagem de HbA1c foi $\leq 7\%$ ([American Diabetes Association, 2013](#)).

As concentrações séricas de luteína foram avaliadas em duplicado por participante através de um método previamente validado, de Cromatografia Líquida de Elevada Resolução (HPLC) com um detetor de díodos (DAD) a comprimento de onda no visível ([Valente, 2013](#)).

2.6. Análise estatística

A análise estatística do estudo realizou-se utilizando o *software* informático SPSS®, versão 20.0 (SPSS INC, Chicago), para *Windows*. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (DP) ou como número e percentagem. Foi testada a normalidade da distribuição de todas as variáveis através da aplicação do teste *Kolmogorov-Smirnov*. A comparação dos valores médios das variáveis numéricas com distribuição normal

realizou-se através da aplicação do teste de *t-student*. As variáveis qualitativas foram comparadas pela aplicação do teste do Qui-quadrado. A luteína foi correlacionada com as outras variáveis numéricas através da aplicação de um modelo de regressão linear simples. Para todos os testes foi considerada significância estatística quando $p < 0,05$.

3. Resultados

Na **Tabela 1** estão apresentadas as características iniciais da amostra. No que diz respeito à duração da diabetes, o grupo I apresentou maior tempo médio de evolução da retinopatia ($20,4 \pm 8,44$ anos) em comparação com o grupo II ($13,5 \pm 7,95$ anos), e com diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ($p < 0,001$). A concentração média de hemoglobina glicosilada diferiu significativamente entre os grupos ($p = 0,044$), sendo que o grupo de diabéticos com retinopatia apresentou níveis superiores ($8,85 \pm 1,45$ %) em relação ao grupo de diabéticos sem complicações ($8,27 \pm 1,39$ %). No entanto, em ambos os grupos o valor médio é superior ao valor recomendado (≤ 7 %) para um controlo metabólico adequado.

Quanto à pressão arterial diastólica (PAD), o grupo II apresentou valores médios superiores ($82,0 \pm 12,7$ mmHg) quando comparado com o grupo I ($80,6 \pm 12,0$ mmHg). Já a pressão arterial sistólica (PAS) foi superior no grupo de diabéticos com retinopatia ($154 \pm 18,0$ mmHg) em relação ao grupo de diabéticos sem complicações ($146 \pm 25,9$ mmHg). Contudo, tanto na PAD como na PAS, não houve diferença significativa entre os grupos.

A concentração do colesterol HDL não diferiu entre grupos (I: $50,9 \pm 14,5$ mg/dL; II: $51,7 \pm 13,4$ mg/dL). Em relação ao colesterol LDL, ambos os grupos apresentaram valores semelhantes, não tendo sido encontrada nenhuma diferença estatisticamente significativa (I: $126 \pm 38,3$ mg/dL; II: $126 \pm 32,6$ mg/dL). No caso da concentração de triglicéridos, o grupo de diabéticos com retinopatia apresentou um valor superior (172 ± 93 mg/dL) quando comparado com o grupo de diabéticos sem complicações (171 ± 107 mg/dL), mas sem significância estatística.

Tabela 1. Características iniciais da população em estudo.

Características	Grupo I (n = 40)	Grupo II (n = 75)	p
Idade (anos)	62,3 ± 7,47	62,8 ± 7,01	0,723
Homens/Mulheres	17/23	31/44	0,592
Duração da diabetes (anos)	20,6 ± 8,44	13,5 ± 7,95	<0,001
Hb (g/dL)	13,4 ± 1,24	13,7 ± 1,42	0,345
HbA1c (%)	8,85 ± 1,45	8,27 ± 1,39	0,044
Hematocrito (%)	39,2 ± 3,33	40,3 ± 4,03	0,194
Eritrócitos (M/ μ L)	4,59 ± 0,439	4,64 ± 0,437	0,603
CT (mg/dL)	200 ± 51,4	199 ± 37,1	0,916
C-HDL (mg/dL)	50,9 ± 14,5	51,7 ± 13,4	0,762
C-LDL (mg/dL)	126 ± 38,3	126 ± 32,6	0,923
Triglicéridos (mg/dL)	172 ± 93	171 ± 107	0,994
PAS (mmHg)	154 ± 18,0	146 ± 25,9	0,056
PAD (mmHg)	80,6 ± 12,0	82,0 ± 12,7	0,553
Pulsações (batimentos/min)	76,0 ± 11,5	77,6 ± 12,9	0,523

Os resultados estão expressos como média \pm desvio padrão. CT, colesterol total; C-HDL, colesterol das lipoproteínas de alta densidade plasmática; C-LDL, colesterol das lipoproteínas de baixa densidade plasmática; Hb, hemoglobina; HbA1c, hemoglobina glicosilada; PAS, pressão arterial sistólica; PAD, pressão arterial diastólica.

A **Tabela 2** mostra a prevalência de factores clássicos de risco cardiovascular na população estudada. Em relação ao consumo de álcool, verificou-se uma maior prevalência no grupo II (57,3%), mas sem diferença significativa entre grupos ($p = 0,106$). Não foram observadas diferenças significativas entre grupos no nível de atividade física e número de diabéticos insulino-dependentes.

Relativamente aos níveis de colesterol HDL e LDL, o grupo de diabéticos sem complicações teve uma maior prevalência de baixos níveis de colesterol HDL (62,2%) e ligeiramente inferior de níveis elevados de colesterol LDL (23,7%), no entanto não se verificaram diferenças estatisticamente significativas em ambos os parâmetros.

No grupo I a prevalência hipertensão arterial (87,5%) foi superior à do grupo II (64%), com diferença significativa neste fator de risco cardiovascular ($p = 0,044$). No caso da hipertrigliceridémia, foi igualmente encontrada uma diferença significativa ($p = 0,013$), sendo que o grupo I apresentou uma prevalência maior (47,2%) comparativamente com o grupo de diabéticos sem complicações (43,8%).

Tabela 2. Prevalência de fatores clássicos de risco cardiovascular.

Variáveis	Grupo I (n = 40)	Grupo II (n = 75)	p
Fumadores	4 (10,0)	11 (14,7)	0,113
Consumo de álcool	14 (35,0)	43 (57,3)	0,106
Diabéticos insulino-dependentes	25 (64,1) ^a	33 (44,6) ^e	0,153
Controlo metabólico da diabetes adequado	5 (13,2) ^b	24 (32,4) ^e	0,143
Antecedentes familiares de DCV	25 (64,1) ^a	40 (53,3)	0,725
Nível elevado de atividade física	1 (2,50)	0 (0,00)	NA
Nível moderado de atividade física	12 (30,0)	22 (29,3)	0,211
Nível baixo de atividade física	27 (67,5)	53 (70,7)	
Hipertensão arterial	35 (87,5)	48 (64,0)	0,044
Nível baixo de C-HDL	21 (56,8) ^c	46 (62,2) ^e	0,470
Nível elevado de C-LDL	9 (23,7) ^b	17 (23,0) ^e	0,418
Hipertrigliceridémia	17 (47,2) ^d	32 (43,8) ^f	0,013
Dislipidémia	33 (89,2) ^c	69 (93,2) ^e	0,481

Os resultados estão expressos como número de indivíduos e como (percentagem). C-HDL, colesterol das lipoproteínas de alta densidade plasmática; C-LDL, colesterol das lipoproteínas de baixa densidade plasmática; DCV, doença cardiovascular; NA, não aplicável. Estatisticamente significativo ($p < 0,05$).

Grupo I: ^an = 39; ^bn = 38; ^cn = 37; ^dn = 36

Grupo II: ^en = 74; ^fn = 73

Na **Tabela 3** estão representados os dados antropométricos e níveis séricos de luteína da na população em estudo. Relativamente aos dados antropométricos, o peso (I: $77,2 \pm 14,7$ kg; II: $78,0 \pm 15,4$ kg; $p = 0,495$), a estatura (I: $1,61 \pm 0,10$ m; II: $1,60 \pm 0,10$ m; $p = 0,499$), o IMC (I: $30,0 \pm 4,76$ kg/m²; II: $30,2 \pm 4,77$ kg/m²; $p = 0,134$) e o PA (I: $101,1 \pm 11,8$ mm; II: $100,9 \pm 14,3$ mm; $p = 0,222$) não diferiram entre o grupo de diabéticos com retinopatia e o grupo de diabéticos sem complicações.

Nas concentrações de luteína não se verificam diferenças significativas entre os dois grupos (I: $0,718 \pm 0,005 \mu\text{M}$; II: $0,717 \pm 0,05 \mu\text{M}$; $p = 0,245$).

Tabela 3. Dados antropométricos e níveis séricos de luteína na população em estudo.

	Grupo I (n = 40)			Grupo II (n = 75)			p
	Homens	Mulheres	Total	Homens	Mulheres	Total	
	média ± DP			média ± DP			
Luteína (μM)	$0,718 \pm 0,05$	$0,718 \pm 0,05$	$0,718 \pm 0,05$	$0,717 \pm 0,05$	$0,717 \pm 0,05$	$0,717 \pm 0,05$	0,245
Peso (kg)	$77,5 \pm 14,3$	$76,9 \pm 14,7$	$77,2 \pm 14,7$	$77,7 \pm 15,3$	$78,0 \pm 15,4$	$78,0 \pm 15,4$	0,495
Estatura (m)	$1,61 \pm 0,09$	$1,60 \pm 0,10$	$1,61 \pm 0,10$	$1,60 \pm 0,10$	$1,60 \pm 0,10$	$1,60 \pm 0,10$	0,499
IMC (kg/m^2)	$30,0 \pm 4,60$	$30,0 \pm 4,78$	$30,0 \pm 4,76$	$30,1 \pm 4,73$	$30,2 \pm 4,77$	$30,2 \pm 4,77$	0,134
PA (mm)	$101,2 \pm 11,1$	$101,2 \pm 12,0$	$101,1 \pm 11,8$	$101,2 \pm 11,9$	$100,6 \pm 14,3$	$100,9 \pm 14,3$	0,222

IMC, índice de massa corporal; DP, desvio padrão; PA, perímetro abdominal.

Na **Tabela 4** está apresentada a prevalência de obesidade por género e de acordo com dois critérios, o IMC e o perímetro abdominal. Foi encontrada uma diferença estatisticamente significativa na prevalência de indivíduos do sexo masculino normoponderais entre os dois grupos ($p = 0,023$). Quanto à pré-obesidade, a prevalência de participantes foi significativamente superior no grupo II em relação ao grupo I ($p=0,043$).

A prevalência de diabéticos do grupo I com obesidade foi estatisticamente superior comparativamente ao observado no grupo II. Dentro do grupo II, não houve indivíduos que apresentassem obesidade de classe III. Relativamente à obesidade abdominal, não houve diferença significativa entre o grupo I (70%) e grupo II (70,7%), no entanto em ambos os grupos as mulheres apresentaram uma maior prevalência de obesidade.

Tabela 4. Avaliação da prevalência de obesidade de acordo com dois critérios.

	Grupo I (n = 40)			Grupo (II = 75)		
	Homens	Mulheres	Total	Homens	Mulheres	Total
	n (%)			n (%)		
IMC						
Peso normal	3(17,6)	4(17,4)	7(17,5)	3(9,70)	7(16,0)	10(13,3)
Pré-obesidade (25-29,9)	2(11,8)	5(21,7)	7(17,5)	13(41,9)	20(45,5)	33(44,0)
Obesidade (≥ 30)	12(70,6)	14(60,9)	26(65,0)	15(48,4)	17(38,6)	32(42,7)
Classe I (30-34,9)	10(58,8)	10(43,5)	20(50,0)	14(45,1)	13(29,5)	27(36,0)
Classe II (35-39,9)	2(11,8)	2(8,70)	4(10,0)	1(3,22)	4(9,09)	5(6,67)
Classe III (≥ 40)	0(0,00)	2(8,70)	2(5,00)	0(0,00)	0(0,00)	0(0,00)
Obesidade abdominal ^a	11(64,7)	17(73,9)	28(70)	19(61,3)	34(77,3)	53(70,7)

IMC, índice de massa corporal.

^aFoi definida para um perímetro abdominal >102 cm no género masculino e >88 cm no género feminino.

Na **Tabela 5** são apresentadas as correlações entre a luteína com alguns fatores de risco cardiovascular na população em estudo.

No grupo de indivíduos diabéticos com retinopatia, verificaram-se relações negativas entre a luteína e a PAD ($\beta = -0,402$; $p = 0,01$), e a luteína e as pulsações ($\beta = -0,471$; $p < 0,01$). No grupo de indivíduos diabéticos sem angiopatia, observou-se uma correlação negativa entre a luteína e o IMC ($\beta = -0,261$; $p = 0,02$) e o perímetro abdominal ($\beta = -0,386$; $p = 0,01$). Verificou-se uma correlação positiva entre a luteína com o colesterol HDL ($\beta = 0,405$; $p < 0,01$). Não foram observadas correlações entre a luteína e a HbA1c, duração da doença, PAS, triglicéridos e colesterol LDL em ambos os grupos.

Tabela 5. Associação da luteína com parâmetros relacionados com a diabetes e fatores de risco cardiovascular.

	Fatores de risco cardiovascular	Grupo I (n = 40)		Grupo II (n = 75)	
		β	<i>p</i>	β	<i>p</i>
Luteína (μM) vs.	IMC (kg/m^2)	-0,088	0,59	-0,261	0,02
	PA (cm)	-0,122	0,46	-0,386	0,01
	C-HDL (mg/dL)	0,150	0,38	0,405	<0,01
	C-LDL (mg/dL)	0,040	0,81	0,024	0,84
	Triglicéridos (mg/dL)	0,092	0,60	-0,037	0,76
	PAS (mmHg)	-0,133	0,41	-0,099	0,40
	PAD (mmHg)	-0,402	0,01	-0,030	0,80
	Pulsações (batimentos/min)	-0,471	<0,01	0,199	0,09
	HbA1c (%)	0,036	0,82	-0,035	0,77
	DD (anos)	0,248	0,13	-0,084	0,48

β , coeficiente de regressão linear; C-HDL, colesterol HDL; C-LDL, colesterol LDL; DD, duração da doença; HbA1c, hemoglobina glicosilada; IMC, índice de massa corporal; PA, perímetro abdominal; PAD, pressão arterial diastólica; PAS, pressão arterial sistólica. Estatisticamente significativo ($p < 0,05$).

4. Discussão

A avaliação das concentrações séricas de luteína tem sido útil como indicador de risco de aparecimento de determinadas patologias. No entanto, o número de estudos epidemiológicos que avaliam a relação da luteína com factores clássicos do risco cardiovascular é muito limitado.

O presente estudo possibilitou a obtenção de novos resultados através da análise de dados integrados no projeto “Hábitos alimentares, hiperhomocisteína e doença cardiovascular na diabetes tipo 2” com a referência PIC/IC/82957/2007. Os resultados deste estudo permitiram associar os níveis séricos de luteína com parâmetros tais como IMC, perímetro abdominal, colesterol HDL e LDL, triglicéridos, PAS e PAD, pulsações, HbA1c e duração da diabetes em indivíduos com DM2 com retinopatia e indivíduos com DM2 sem complicações angiopáticas.

Nas características iniciais da população em estudo, observou-se a existência de uma diferença significativa na duração da diabetes entre grupos e também na percentagem de HbA1c (grupo I: $8,85 \pm 1,45\%$; grupo II: $8,27 \pm 1,39\%$; $p = 0,044$). Estas diferenças podem ser justificadas pelo facto de que a duração da doença, associada ao controlo inadequado da diabetes, favorecem o aparecimento de retinopatia (Brazionis et al., 2009).

A informação disponível sobre os níveis séricos de luteína em diabéticos tipo 2 é escassa, no entanto num estudo realizado na Austrália por Coyne *et al.*, em 2011, foram avaliados os níveis séricos de luteína em diabéticos tipo 2. Os resultados obtidos foram inferiores (mediana no percentil 50 = $0,42 \mu\text{M}$) aos obtidos no presente estudo (grupo I: $0,718 \pm 0,05 \mu\text{M}$ vs. grupo II: $0,717 \pm 0,05 \mu\text{M}$). A divergência verificada pode ser justificada por possíveis diferenças a nível do padrão de consumo de alimentos ricos em luteína ou mesmo pela variação do teor deste carotenoide nas frutas e hortícolas consumidos na alimentação.

Portugal é um dos Países da Europa que apresenta maior concentração de luteína nos hortícolas de folha verde (Cruz et al., 2012; Dias et al., 2009), sendo que este carotenóide é actualmente considerado um indicador da ingestão deste tipo de hortícolas (Jansen et al., 2004).

No que se refere às associações observadas entre a luteína sérica e os parâmetros de avaliação do estado nutricional, verificou-se, para diabéticos sem angiopáticas, a presença de uma associação inversa significativa da luteína com o IMC e o perímetro abdominal, e uma associação positiva com o colesterol HDL. Estes resultados são concordantes com os de alguns estudos que associam a luteína com factores de risco cardiovascular, como o estudo de Broekmans *et al.* (2002) realizado em adultos não diabéticos no qual se observou uma associação inversa significativa da luteína com IMC em mulheres ($r = -0,24$; $p < 0,05$) e positiva com colesterol HDL em homens ($r = 0,21$; $p < 0,05$) e mulheres ($r = 0,25$; $p < 0,05$) (Broekmans et al., 2002).

Em 2007, num outro estudo epidemiológico, realizado por Waters *et al.* (2007) em 22 mulheres pós-menopausa, foi estabelecida uma associação negativa dos níveis séricos da luteína com o IMC ($r = -0,44$; $p < 0,05$) e com PA ($r = -0,45$; $p < 0,05$) (Waters et al., 2007).

As evidências científicas que observaram uma associação positiva entre a luteína sérica e o colesterol HDL poderão ter como fundamentação o facto de este carotenoide ser transportado no sangue maioritariamente por lipoproteínas de alta densidade (Evans et al., 2013).

O estudo de Broekmans *et al.* (2002) mostrou uma relação positiva significativa entre a luteína e colesterol LDL, o que não se verificou no presente estudo.

No grupo dos diabéticos com retinopatia, foram apenas verificadas associações inversas entre as concentrações de luteína no soro e a PAD ($\beta = -0,402$; $p = 0,01$), e as pulsações ($\beta = -0,471$; $p = 0,01$).

Também num trabalho de investigação realizado por Hozawa *et al.* (2009) em jovens adultos foi demonstrado que a soma das concentrações de quatro carotenoides, incluindo a luteína, estava inversamente associada com a pressão arterial, mas neste caso a PAS (Hozawa *et al.*, 2009). Os autores concluíram que concentrações mais elevadas de carotenóides totais (excepto licopeno) estavam associadas com um menor risco hipertensão arterial. Em concordância com a conclusão de Hozawa *et al.* (2009), no estudo de Zou *et al.* (2011) concluiu-se que a luteína poderia ter uma função protetora no aparecimento de aterosclerose precoce.

Estudos epidemiológicos nos quais foram observadas associações positivas entre a luteína sérica e o colesterol HDL não foram realizados em diabéticos, deste modo o presente trabalho permitiu aumentar a evidência científico neste tipo de população.

Para o futuro são necessários mais estudos epidemiológicos que sustentem a evidência científica observada nos indivíduos com DM2 e na população portuguesa.

5. Conclusão

Os níveis de luteína obtidos nos diabéticos com retinopatia e sem angiopatia foram semelhantes e relativamente elevados quando comparados com os resultados obtidos por outros estudos epidemiológicos em diabéticos e não diabéticos, o que indica que os participantes evidenciaram um padrão alimentar de consumo de frutos e legumes adequado.

Em diabéticos sem complicações, a luteína está diretamente relacionada com o colesterol HDL e inversamente com o estado nutricional, quando se utiliza critérios antropométricos como o IMC e o PA. Já nos diabéticos com retinopatia, a luteína apenas se associou de forma inversa com a PAD e as pulsações.

Parece existir um efeito protetor da luteína sérica no aparecimento de complicações angiopáticas da DM2, visto que, níveis mais elevados de luteína no soro estão associados com a diminuição de factores de risco cardiovascular, como o IMC, PA, PAD ou pulsações e com o aumento de outros factores protetores, como o colesterol HDL.

6. Referências Bibliográficas

- Adela, P., Rugină, D. e Momeu, C. (2008). 'Beta-Cryptoxanthin Uptake In Retinal Pigment Epithelial Cells'. *Buletin USAMV*; 65, 1, pp.182-187.
- American Diabetes Association (2014). 'Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus'. *Diabetes Care*, 37,1, pp. S81-90.
- American Diabetes Association (2013). 'Standards of medical care in diabetes'. *Diabetes Care*, 7, 1, pp. S11-S66.
- Arevalo, J.F. (2013). 'Diabetic macular edema: Current management 2013'. *World J Diabetes*, 4, 6, pp. 231-233.
- Brazionis, L., Rowley, K., Itsiopoulos, C. e O'Dea, K. (2009). 'Plasma carotenoids and diabetic retinopathy'. *Brit J Nutr*, 101, pp. 270-277.
- Broekmans, W., Berendschot, T., Klöpping-Ketelaars, I., Vries, A., Goldbohm, R., Tijburg, L., Kardinaal, A. e Poppel, G. (2002). 'Macular pigment density in relation to serum and adipose tissue concentrations of lutein and serum concentrations of zeaxanthin'. *Am J Clin Nutr*, 76, pp. 595-603.
- Correia, L., Boavida, J.M., Almeida, J.P., Cardoso, S., Dores, J., Duarte, R., Ferreira, H., Medina, J.L., Nunes, J.S., Pereira, M. e Raposo, J. D. (2013). *Diabetes: Factos e Números 2013 – Relatório Anual do Observatório Nacional da Diabetes*. Lisboa: Sociedade Portuguesa de Diabetologia.
- Coyne, T., Ibiebele, T., Baade, P., Dobson, A., McClintock, C., Dunn, S., Leonard, D. e Shaw, J. (2005). 'Diabetes mellitus and serum carotenoids: findings of a population-based study in Queensland, Australia'. *Am J Clin Nutr*, 82, pp. 685–693.
- Cruz, R., Baptista, P., Cunha, S., Pereira J.A., Casal, S. (2012). 'Carotenoids of Lettuce (*Lactuca sativa* L.) Grown on Soil Enriched with Spent Coffee Grounds'. *Molecules*, 17, pp. 1535-47

- Dias, M., Camões M. F. e Oliveira L. (2009). ‘Carotenoids in tradicional Portuguese fruits and vegetables’. *Food Chem*, 113, 3, 808-815.
- Evans, M., Beck, M., Elliot, J., Etheve, S., Roberts, R. e Schalch, W. (2013) ‘Effects of formulation on the bioavailability of lutein and zeaxanthin: a randomized, double-blind, cross-over, comparative, single-dose study in healthy subjects’. *Eur J Nutr*, 52, pp. 1381–1391.
- Ford, E., Gillespie, C., Ballew, C., Sowell, A. e Mannino, D. (2002). ‘Serum carotenoid concentrations in US children and adolescents’. *Am J Clin Nutr*, 76, pp. 818–827.
- Granado, F., Olmedilla, B. e Blanco, I. (2003). ‘Nutritional and clinical relevance of lutein in human health’. *Brit J Nutr*, 90, pp. 487-502.
- Hozawa, A., Jacobs, D., Steffes, M., Gross, M., Steffen, L. e Lee, D. (2009). ‘Circulating Carotenoid Concentrations and Incident Hypertension: The Coronary Artery Risk Development in Young Adults (CARDIA) study’. *J Hypertens* , 27, 2, pp. 237-242.
- Hu, B., Hu, Y., Lin, S., Ma, W. e Li, X. (2011). ‘Application of Lutein and Zeaxanthin in nonproliferative diabetic retinopathy’. *Int. J Ophthalmol*, 4, pp. 303–306.
- IPAQ scientific group (2005). *Guidelines for Data Processing and Analysis of the International Physical Activity Questionnaire (IPAQ)*. Geneva. Disponível on-line em: <http://www.ipaq.ki.se/scoring.pdf>. Último acesso em: 3-9-2014.
- Jansen, M.C., Kappel, A.V., Ocké, M.C., Veer, P.V., Boshuizen, H.C. and Riboli, E. (2004). ‘Plasma carotenoid levels in Dutch men and women, and the relation with vegetable and fruit consumption’. *Eur J Clin Nutr.*,58, 10, pp. 1386-1395.

- Johnson, E., Chung, H., Caldarella, S. e Snodderly, D. (2008). ‘The influence of supplemental lutein and docosahexaenoic acid on serum, lipoproteins, and macular pigmentation’. *Am J Clin Nutr*, 87, pp. 1521-1529.
- Kawasaki, R., Cheung, N., Islam, F., Klein, R., Klein, B., Cotch, F., Sharrett, R., O’Leary, D. e Wong T. (2011). ‘Is Diabetic Retinopathy Related to Subclinical Cardiovascular Disease?’ *Ophthalmology*, 118, 5, pp. 860-865.
- Koushan, K., Rusovici, R., Li, W., Ferguson, L. e Chalam, K. (2013) ‘The Role of Lutein in Eye-Related Disease’. *Nutrients*, 5, pp. 1823–1839.
- Kowluru, R., Zhong, Q., Santos, J., Thandampallayam, M., Putt, D. e Giehart, D. (2014) ‘Beneficial effects of the nutritional supplements on the development of diabetic retinopathy’. *Nutr Metab*, 11, 8, pp. 1-10.
- Lyssenko, V. e Laakso, M. (2013) ‘Genetic Screening for the Risk of Type 2 Diabetes’. *Diabetes Care*, 36, 2, pp. S120-S126
- Lohman, T. G., Roche, A. F. e Martorell, R. (1991). *Anthropometric standardization reference manual*. USA: Human Kinetics Books.
- Martin, K. R., Wu, D. e Meydani, M. (2000), ‘The effect of carotenoids on the expression of cell surface adhesion molecules and binding of monocytes to human aortic endotelial cells’. *Atherosclerosis*, 150, 2, pp. 265-274.
- Maritim, A., Sanders, R. e Watkins, J. (2003). ‘Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review’. *J Biochem Mol Toxic*, 17, 1, pp. 24-38.
- Molldrem, K., Li, J., Simon, P. e Tanumihardjo, S. (2004). ‘Lutein and -carotene from lutein-containing yellow carrots are bioavailable in humans’. *Am J Clin Nutr*, 80, pp. 131–136.

- Panasenکو, O. M., Sharov, V. S., Briviba, K. e Sies, H. (2000). 'Interaction of peroxynitrite with carotenoids in human low density lipoproteins'. *Arch Biochem Biophys*, 373, pp. 302–305.
- Polikandrioti, M. e Dokoutsidou, H. (2009). 'The role of exercise and nutrition in type II diabetes mellitus management'. *Health Sci J*, 3, 4, pp. 216–221.
- Ribaya-Mercado, J. e Blumberg, J. (2004). 'Lutein and Zeaxanthin and Their Potential Roles in Disease Prevention'. *J Am Coll of Nutr*, 23, 6, pp. 567S-587S
- Sindhu, E., Preethi, K. e Kuttan, R. (2010). 'Antioxidant Activity of Carotenoid Lutein *in vitro* and *in vivo*'. *J Exp Biol*, 48, pp. 843-848.
- Stanford, M. (2004). 'The pathogenesis of diabetic retinopathy'. *Br J Ophthalmology*, 88, 4, pp. 444-445
- Thurmann, P., Schalch, W., Aebischer, J., Tenter, U. e Cohn, W. (2005). 'Plasma kinetics of lutein, zeaxanthin, and 3'-dehydro-lutein after multiple oral doses of a lutein supplement'. *Am J Clin Nutr*, 82, pp. 88 –97.
- Valente A. (2013). *Hábitos alimentares, hiperhomocisteinémia e doença cardiovascular na diabetes tipo 2* [PhD]. Lisboa: Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa.
- Viswanath, K. e McGavin, D. (2003). 'Diabetic Retinopathy: Clinical Finding and Management'. *Community Eye Health*, 16, 46, pp. 21-24.
- Wang, Y., Chun, O. e Song, W. (2013). 'Plasma and Dietary Antioxidant Status as Cardiovascular Disease Risk Factors: A Review of Human Studies'. *Nutrients*, 5, pp. 2969-3004.
- Waters, D., Clark, R., Greene, C., Contois, J. e Fernandez, M. (2007). 'Change in Plasma Lutein after Egg Consumption Is Positively Associated with Plasma

Cholesterol and Lipoprotein Size but Negatively Correlated with Body Size in Postmenopausal Women'. *J. Nutr*, 137, pp. 959-963.

- Wilkinson, C., Ferris, F., Klein, R., Lee, P., Agardhm C., Davis, M., Davism M., Dills, D., Kampikm A., Pararajasegaramm R. e Verdaguer, J. (2003). 'Proposed International Clinical Diabetic Retinopathy and Diabetic Macular Edema Disease Severity Scales'. *Ophthalmology*, 110, 9, pp. 1677-82.
- World Medical Association (2000). *Declaration of Helsinki: Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects*. Disponível *on-line* em: <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/>. Ultimo acesso em 3-9-2014.
- World Health Organization (2011). *Waist circumference and waist-hip ratio: report of a WHO expert consultation*. Geneva: WHO. Disponível *on-line* em:http://whqlibdoc.who.int/publications/2011/9789241501491_eng.pdf. Ultimo acesso em: 3-9-2014.
- Zou, Z., Xu, X., Huang, Y., Xiao, X., Ma, L. e Sun, T. (2011). 'High serum level of lutein may be protective against early atherosclerosis: the Beijing atherosclerosis study'. *Atherosclerosis*, 219, 2, pp. 789-793.