



JESÚS PÉREZ REY

ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA Y MASA ÓSEA EN MUJERES PREMENOPÁUSICAS  
DE EXTREMADURA

2020



# Tesis Doctoral

**ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA Y  
MASA ÓSEA EN MUJERES PREMENOPÁUSICAS  
DE EXTREMADURA**

JESÚS PÉREZ REY

AÑO 2020





**TESIS DOCTORAL**

**ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA Y MASA ÓSEA EN MUJERES  
PREMENOPÁUSICAS DE EXTREMADURA**

**JESÚS PÉREZ REY**

**PROGRAMA DE DOCTORADO:  
INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA APLICADA (R009)**

**AÑO 2020**





**TESIS DOCTORAL**

**ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA Y MASA ÓSEA EN  
MUJERES PREMENOPÁUSICAS DE EXTREMADURA**

**JESÚS PÉREZ REY**

**PROGRAMA DE DOCTORADO:**

**INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA APLICADA (R009)**

**Conformidad del director:**

**Conformidad del codirector:**

*"La conformidad del director/es de la tesis consta en el original en papel de esta Tesis Doctoral"*

**Fdo.: Dr. D. Juan Diego Pedrera Zamorano**

**Fdo.: Dr. D. Sergio Rico Martín**

**AÑO 2020**





D. Juan Diego Pedrera Zamorano, Catedrático de Universidad y D. Sergio Rico Martín, Profesor Contratado Doctor, adscritos al Departamento de Enfermería de la Facultad de Enfermería y Terapia Ocupacional de la Universidad de Extremadura,

CERTIFICAN:

Que el presente trabajo, titulado “ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA Y MASA ÓSEA EN MUJERES PREMENOPÁUSICAS DE EXTREMADURA” de la que es autor Jesús Pérez Rey, ha sido realizado bajo su dirección en el Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura.

Como directores del trabajo, hacemos constar que se ha realizado con todas las garantías técnicas y metodológicas y que las conclusiones obtenidas son plenamente válidas, reuniendo las condiciones necesarias para ser presentado como Tesis Doctoral.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, firmamos el presente certificado en Cáceres a 22 de junio de 2020.

Fdo. Dr. D. Juan Diego Pedrera Zamorano

Fdo. Dr. D. Sergio Rico Martín



*A mis padres, Jesús y M<sup>a</sup> Asunción*

*y a mi hermano Javier.*



## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo es fruto del esfuerzo de muchas personas que han colaborado para que lo que era inicialmente un sueño se haya convertido en realidad.

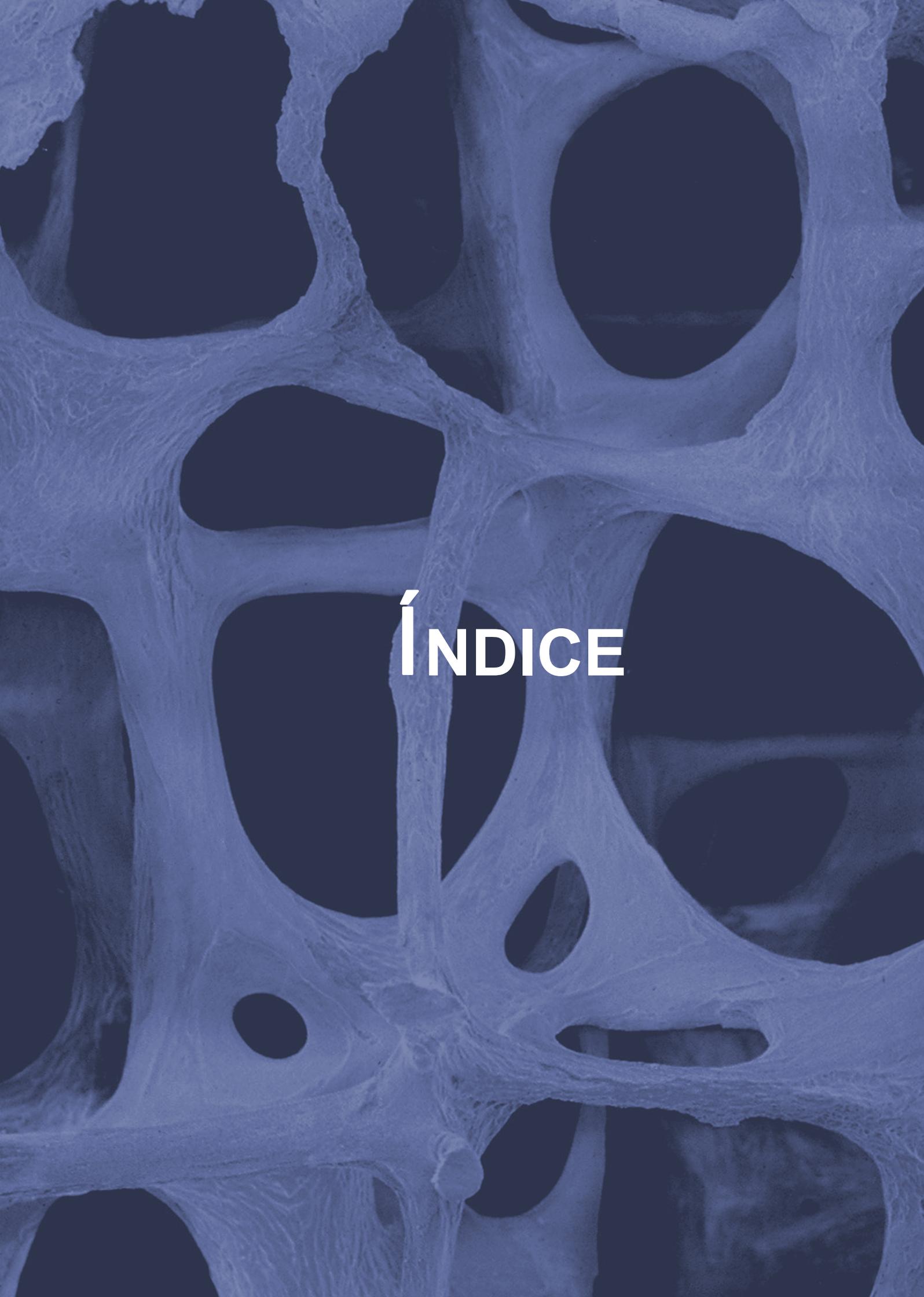
A mis padres, Jesús y M<sup>a</sup> Asunción, a mi tía Purificación y a mi hermano Javi, pilares fundamentales de mi trayectoria personal y profesional, siempre presentes en los buenos y malos momentos. Gracias por su apoyo y cariño incondicionales.

A mis directores de tesis, el Dr. Juan Diego Pedrera Zamorano, por confiar en mí, por definir con claridad las líneas de este proyecto y ser una referencia en todo momento de lo que es el trabajo bien hecho. Al Dr. Sergio Rico Martín por su dedicación, disponibilidad, cercanía, y sus impagables conocimientos estadísticos y científicos, sin su constante apoyo no hubiera llegado hasta aquí.

A los investigadores del grupo GIEMO, ellos forman parte fundamental de este trabajo. Su esfuerzo y su permanente curiosidad científica suponen un estímulo para acrecentar mi interés por la investigación.

A Manuel Solís Jara, por su valiosa ayuda en la etapa experimental de este trabajo.





# ÍNDICE



<b>ÍNDICE</b> .....	<b>11</b>
<b>Índice de Tablas</b> .....	<b>17</b>
<b>Índice de Figuras</b> .....	<b>21</b>
<b>Índice de Abreviaturas</b> .....	<b>23</b>
<b>RESUMEN / ABSTRACT</b> .....	<b>27</b>
<b>I INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>33</b>
<b>II ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA</b> .....	<b>39</b>
<b>2.1. Hueso y remodelamiento óseo</b> .....	<b>41</b>
2.1.1. Introducción.....	41
2.1.2. Células óseas.....	44
2.1.3. Remodelamiento óseo .....	47
2.1.4. Fisiopatología ósea: osteoporosis.....	58
<b>2.2. Técnicas de valoración de la masa ósea</b> .....	<b>60</b>
2.2.1. Introducción.....	60
2.2.2. Técnicas radiológicas de valoración ósea .....	64
2.2.3. Ultrasonido óseo cuantitativo .....	68
<b>2.3. Dieta mediterránea</b> .....	<b>71</b>
2.3.1. Introducción.....	71
2.3.2. Componentes de la Dieta Mediterránea .....	75
2.3.3. Dieta Mediterránea y enfermedad.....	82
<b>III OBJETIVOS</b> .....	<b>91</b>
<b>IV MATERIAL Y MÉTODOS</b> .....	<b>95</b>
<b>4.1. Muestra del estudio</b> .....	<b>97</b>
4.1.1. Criterios de inclusión:.....	97

4.1.2. Criterios de exclusión:.....	97
<b>4.2. Diseño del estudio .....</b>	<b>98</b>
<b>4.3. Historia personal .....</b>	<b>99</b>
<b>4.4. Procedimientos de medida.....</b>	<b>101</b>
4.4.1. Peso, talla e IMC.....	101
4.4.2. Estudios de composición corporal mediante bia.....	101
4.4.3. Encuesta dietética.....	102
4.4.4. Valoración de la adherencia a la Dieta Mediterránea .....	103
4.4.5. Evaluación de la masa ósea .....	106
<b>4.5. Análisis estadístico.....</b>	<b>113</b>
<b>V RESULTADOS .....</b>	<b>115</b>
5.1. Análisis descriptivo de la población de estudio .....	117
5.2. Estudio comparativo de factores antropométricos, biológicos y de estilos de vida según la adherencia a la Dieta Mediterránea.....	130
5.3. Estudio comparativo de la ingesta de nutrientes según la adherencia a la Dieta Mediterránea. ....	133
5.4. Estudio comparativo de la composición corporal según la adherencia a la Dieta Mediterránea .....	139
5.5. Estudio comparativo de la masa ósea según la adherencia a la Dieta Mediterránea .....	140
<b>VI DISCUSIÓN .....</b>	<b>149</b>
<b>VII CONCLUSIONES .....</b>	<b>163</b>
<b>VIII PUBLICACIÓN DERIVADA DE LA TESIS DOCTORAL.....</b>	<b>167</b>
<b>IX BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>179</b>
<b>X ANEXOS .....</b>	<b>205</b>





## ÍNDICE DE TABLAS

**Tabla 1:** Métodos de evaluación de la masa ósea

**Tabla 2:** Puntuación de la Dieta Mediterránea

**Tabla 3:** Características biológicas y antropométricas de la población de estudio

**Tabla 4:** Consumo de tabaco y actividad física en la población

**Tabla 5:** Características clínicas de la población de estudio

**Tabla 6:** Puntuación MED Score de la población de estudio

**Tabla 7:** Adherencia a la DM según terciles MED Score en la población de estudio

**Tabla 8:** Ingesta energética y de macronutrientes en la población de estudio

**Tabla 9:** Ingesta energética y de macronutrientes categorizados según las recomendaciones en la población de estudio

**Tabla 10:** Ingesta de vitaminas en la población de estudio

**Tabla 11:** Ingesta de vitaminas categorizadas según las recomendaciones en la población de estudio

**Tabla 12:** Ingesta de micronutrientes en la población de estudio

**Tabla 13:** Ingesta de micronutrientes categorizados según las recomendaciones en la población de estudio

**Tabla 14:** Composición corporal de la población de estudio

**Tabla 15:** Antecedentes familiares y de las participantes de fractura ósea

**Tabla 16:** Valores de ultrasonidos de falange en la población de estudio

**Tabla 17:** Valores de DMO en columna y cadera en la población de estudio

**Tabla 18:** Distribución de DMO en función del diagnóstico de la OMS de la población estudiada

**Tabla 19:** Valores de T-score y de % de T-score por áreas corporales

**Tabla 20:** Distribución de T-score en función del diagnóstico de la OMS de la población estudiada

**Tabla 21:** Valores de Z-score y % de Z-score por áreas corporales

**Tabla 22:** Valores de pQCT en radio en la población de estudio

**Tabla 23:** Datos biológicos y antropométricos de la población de estudio según adherencia a la DM

**Tabla 24:** Consumo de tabaco y actividad física según adherencia a la DM en la población de estudio

**Tabla 25:** Características clínicas de la población de estudio según adherencia a la DM

**Tabla 26:** Ingesta energética y de macronutrientes según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 27:** Ingesta energética y de macronutrientes categorizado en base a las RDA según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 28:** Ingesta de vitaminas según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 29:** Ingesta de vitaminas categorizadas en base a las RDA según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 30:** Ingesta de micronutrientes según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 31:** Ingesta de micronutrientes categorizados en base a las RDA según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 32:** Composición corporal según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 33:** Valores de ultrasonido de falange según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 34:** Valores de DMO de cadera y columna según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 35:** Distribución de DMO en función del diagnóstico de la OMS según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 36:** Valores de T-score y % de T-score por áreas corporales según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 37:** Distribución de T-score en función del diagnóstico de la OMS según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 38:** Valores de Z-score y %-Z-score por áreas corporales según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 39:** Valores de pQCT en radio según el grado de adherencia a la DM

**Tabla 40:** Análisis de regresión lineal múltiple para la asociación entre masa ósea y edad, edad de menarquia, IMC, ingesta de calcio, ingesta de vitamina D, ingesta energética, actividad física, consumo de tabaco y puntuación de adherencia a la DM



## ÍNDICE DE FIGURAS

**Figura 1:** Matriz ósea degradada por la activación osteoclástica.

**Figura 2:** Fases del remodelamiento óseo en la superficie del hueso trabecular.

**Figura 3:** Representación gráfica y cálculo de T-score y Z-score

**Figura 4:** Pirámide de la Dieta Mediterránea

**Figura 5:** Equipo TANITA BC-418MA. Tanita Corporation. Tokio. Japón

**Figura 6:** Densitómetro Norland XR-800R, en las instalaciones de GIEMO

**Figura 7:** Equipo Stratec XCT-2000® en las instalaciones del GIEMO

**Figura 8:** Equipo DBM Sonic Bone Prolifer® de IGEA en las instalaciones del GIEMO.



## ÍNDICE DE ABREVIATURAS

**Ad-SoS:** Amplitude-dependent speed of sound (Velocidad de transmisión ultrasonido de amplitud dependiente).

**ADA:** American Diabetes Association.

**AOV:** Aceite de oliva virgen.

**Apo:** Apolipoproteína.

**BMU:** Unidad básica multicelular.

**BIA:** Bioimpedance Analysis (Análisis de la bioimpedancia).

**BTM:** Bone turnover markers (Marcadores bioquímicos de recambio óseo).

**BTT:** Bone Transmission Time (Tiempo de transmisión ósea).

**BUA:** Broadband ultrasound attenuation.

**CFU-GM:** Unidad formadora de colonias de granulocitos-macrófagos.

**CMO:** Contenido mineral óseo.

**CTX:** Telopéptido C-terminal de colágeno.

**CTX-I:** Telopéptido C-terminal de colágeno tipo I.

**dB/MHZ:** decibelios por megahertzio.

**DHA:** Ácido docosahexaenoico.

**DM:** Dieta mediterránea.

**DM2:** Diabetes mellitus tipo 2.

**DMO:** Densidad mineral ósea.

**DPA:** Absorciometría fotónica dual.

**DXA:** Dual energy X-ray absorptiometry (Absorciometría Dual de Rayos X).

**EPA:** Ácido eicosapentaenoico.

**FAL:** Fosfatasa alcalina.

**FATR:** Fosfatasas ácido tartrato resistente.

**FAO:** Isoforma ósea.

**GH:** Hormona de crecimiento.

**g:** gramos.

**GIEMO:** Grupo de Investigación de Enfermedades Metabólicas Óseas.

**GM:** Gastrointestinal Microbiota (Microbiota intestinal).

**HDL-C:** Colesterol HDL.

**HTA:** Hipertensión arterial.

**IECA:** Enzima convertidora de angiotensina.

**IGF-1:** Insulin like growth factor 1 (Factor de crecimiento insulínico tipo 1).

**IMC:** Índice de Masa Corporal.

**ISCD:** Sociedad Internacional de Densitometría Clínica.

**kg:** kilogramo.

**L2:** segunda vértebra lumbar.

**L1:** primera vértebra lumbar.

**L4:** cuarta vértebra lumbar.

**m:** metro.

**m<sup>2</sup>:** metro cuadrado.

**MedDietScore:** Mediterranean Diet Score.

**MUFAs:** Monounsaturated fatty acids (Ácidos grasos monoinsaturados).

**NOF:** Fundación Nacional de Osteoporosis.

**NTX:** Telopéptido N-terminal de colágeno tipo I.

**OC:** Osteocalcina.

**OMS:** Organización Mundial de la Salud.

**PCR:** Proteína C Reactiva.

**PICP:** Propéptido C-terminal del protocógeno tipo I.

**PINP:** Propéptido N-terminal del protocógeno tipo I.

**PREDIMED:** Prevención con Dieta Mediterránea.

**PTH:** Hormona paratiroidea.

**pQCT:** Peripheral Quantitative Computed Tomography (Tomografía Computarizada Cuantitativa periférica).

**PUFA:** Ácidos grasos poliinsaturados.

**QCT:** Tomografía computarizada cuantitativa.

**QUS:** Quantitative Ultrasound (Ultrasonido Cuantitativo).

**ROS:** Especies reactivas de oxígeno.

**s:** segundo.

**SFA:** Grasas saturadas.

**SOS:** Speed of sound (Velocidad de transmisión del sonido).

**SPA:** Absorciometría fotónica simple.

**SPSS:** Statistical Package for the Social Sciences.

**TBM:** Tasa de Metabolismo Basal.

**TC/HDL-C:** Colesterol total/HDL-C.

**UBPI:** Ultrasound Bone Profiler Index (Índice de perfil óseo por ultrasonido).

**vDMO:** DMO volumétrica.





**RESUMEN /  
ABSTRACT**



## **Resumen**

La dieta mediterránea (DM) se ha asociado con una mejora en la salud y un aumento de la longevidad. Ciertos componentes de la DM pueden desempeñar un papel en la prevención de la osteoporosis y / o fractura de cadera. El objetivo de nuestro estudio fue evaluar la asociación entre el grado de adherencia a la DM con la composición corporal y la densidad mineral ósea (DMO), determinada en varias regiones corporales y con diferentes técnicas en una población de mujeres premenopáusicas españolas. Se analizó a 442 mujeres premenopáusicas con una media de edad de  $42,73 \pm 6,67$  años. Las mediciones óseas se realizaron mediante Ultrasonido Cuantitativo (QUS) en falange, Absorciometría Dual de Rayos X (DXA) en columna lumbar, triángulo de Ward, trocánter y cadera, y Tomografía Computarizada Cuantitativa periférica (pQCT) en el antebrazo no dominante. La composición corporal fue medida mediante el Análisis de la bioimpedancia (BIA). La adherencia a la DM se evaluó utilizando la herramienta Dietary Score. La población de estudio fue estratificada en tres grupos acorde a terciles de la puntuación total obtenida con dicha herramienta. La Velocidad de transmisión ultrasonido de amplitud dependiente (Ad-SoS), la DMO y la DMO volumétrica (vDMO) (densidad ósea total, trabecular y cortical) se asociaron con una mayor adherencia a la DM ( $p < 0.05$ ). La adherencia a la DM se relacionó significativamente con QUS, DMO y vDMO en el análisis de regresión múltiple: QUS: Ad-SoS (m/s)  $\beta = 0.099$  ( $p = 0.030$ ); DMO ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ): cuello del fémur  $\beta = 0.114$  ( $p = 0.010$ ) y triángulo de Ward  $\beta = 0.125$  ( $p = 0.006$ ); vDMO ( $\text{mg}/\text{cm}^3$ ): densidad total  $\beta = 0.119$  ( $p = 0.036$ ), densidad trabecular  $\beta = 0.120$  ( $p = 0.035$ ) y densidad cortical  $\beta = 0.122$  ( $p = 0.032$ ). Respecto a la asociación entre grado de adherencia a la DM y parámetros de composición corporal (masa grasa y masa magra) no hemos encontrado significación estadística ( $p > 0.05$ ). En conclusión, la adherencia a la DM se asoció positivamente con mejor masa ósea en mujeres premenopáusicas españolas, pero no con parámetros de composición corporal.



### **Abstract**

The mediterranean diet has been associated with an improvement in health and an increase in longevity. Certain components of a mediterranean diet can play a role in the prevention of osteoporosis and/or hip fracture. We investigated the association between the degree of adherence to a mediterranean diet with body composition and bone mineral density measured in several bone areas in a population of Spanish premenopausal women. We analyzed 442 premenopausal women aged  $42.73 \pm 6.67$  years. Bone measurements were obtained using Quantitative Ultrasound (QUS) for the phalanx, dual energy X-ray absorptiometry (DXA) for the lumbar spine, Ward's triangle, trochanter, and hip, and peripheral quantitative computed tomography (pQCT) for the non-dominant distal forearm. Body composition was evaluated by Bioimpedance Analysis (BIA). Mediterranean diet adherence was evaluated with Dietary Score. The participants were categorized into three groups according to tertiles of mediterranean diet adherence scores. Amplitude-dependent speed of sound (Ad-SoS), bone mineral density, and volumetric bone mineral density (total, trabecular, and cortical bone density) were positively associated with higher adherence to the mediterranean diet ( $p < 0.05$ ). Adherence to the mediterranean diet was significantly associated with QUS, bone mineral density, and volumetric bone mineral density in multiple regression analysis; QUS: Ad-SoS (m/s)  $\beta = 0.099$  ( $p = 0.030$ ); bone mineral density ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ): femur neck  $\beta = 0.114$  ( $p = 0.010$ ) and Ward's triangle  $\beta = 0.125$  ( $p = 0.006$ ); volumetric bone mineral density ( $\text{mg}/\text{cm}^3$ ): total density  $\beta = 0.119$  ( $p = 0.036$ ), trabecular density  $\beta = 0.120$  ( $p = 0.035$ ), and cortical density  $\beta = 0.122$  ( $p = 0.032$ ). However, body composition (fat mass and muscle mass) was not associated with the degree of adherence to mediterranean diet ( $p > 0.05$ ). We conclude that the adherence to the mediterranean diet was positively associated with better bone mass in Spanish premenopausal women, but not body composition.





I.

# INTRODUCCIÓN



La osteoporosis es una enfermedad esquelética sistémica caracterizada por baja masa ósea y deterioro de la microarquitectura del tejido óseo, con el consiguiente aumento de la fragilidad ósea y susceptibilidad a fracturas [1], siendo la enfermedad metabólica ósea más frecuente en España. Es un importante problema de salud pública en todo el mundo [2], que afecta a millones de personas y que será cada vez más importante dado el incremento en las expectativas de vida [3]. Además, las fracturas relacionadas con la osteoporosis son una de las principales causas de morbilidad y discapacidad en pacientes de edad avanzada y una importante carga económica para el sistema de salud.

A pesar de que los mecanismos implicados en la patogenia de la osteoporosis aún no están totalmente aclarados, los factores genéticos y medioambientales implicados en su desarrollo se están identificando y conociéndose mejor. La osteoporosis es principalmente un problema de edad, con una mayor prevalencia entre las mujeres postmenopáusicas [4], pero en el modelado y remodelado óseo influyen además, entre otros factores, herencia, nutrición, mecánica y los factores hormonales [5], además de un estilo de vida sedentario.

La dieta es uno de los principales factores modificables en el desarrollo y mantenimiento de la masa ósea [6]. Se considera que juega un papel importante durante la infancia y la adolescencia, mientras que en la edad adulta y en ancianos, cada vez hay más evidencias del efecto beneficioso de los patrones dietéticos saludables en el mantenimiento de la masa ósea. Tradicionalmente, en las investigaciones sobre el metabolismo óseo se ha puesto el foco en los efectos beneficiosos del calcio y la vitamina D [7,8], así como en el controvertido papel de las proteínas [9–11], sin embargo, los efectos beneficiosos de la dieta sobre el hueso van más allá de estos nutrientes.

Una parte importante de los estudios acerca de la influencia de la dieta en la salud se han centrado en la evaluación de nutrientes individuales o alimentos específicos, sin embargo, la población no consume nutrientes aislados sino comidas que consisten en una variedad de alimentos con combinaciones complejas de nutrientes [12]. De ahí que resulte más interesante estudiar el efecto que determinados patrones dietéticos pueden tener sobre la salud. En este contexto, la DM ha ganado reconocimiento e interés a nivel mundial desde hace décadas como un modelo de hábitos saludables de alimentación, tanto entre el público en general como entre la comunidad científica [13], siendo reconocida en el año 2010 como Patrimonio Cultural Inmaterial de la Humanidad durante la quinta reunión del Comité Intergubernamental de la Unesco celebrada en Nairobi (Kenia), como respuesta a la candidatura presentada, entre otros países por España, para salvaguardar esta forma tradicional de alimentarnos de la que nos estamos alejando en los últimos años, y preservar un legado cultural y gastronómico que identifica y caracteriza a los países del área mediterránea.

La DM tradicional se caracteriza por una alta ingesta de verduras, legumbres, frutas, nueces y cereales; una baja ingesta de grasas saturadas (SFA) y alta ingesta de grasas insaturadas, especialmente aceite de oliva, una moderada a alta ingesta de pescado y una baja a moderada ingesta de productos lácteos, generalmente en forma de queso o yogur, así como una baja ingesta de carne y aves y una ingesta modesta de alcohol en forma de vino [14,15].

La DM se ha asociado con una mejora en la salud y un aumento de la longevidad, así como protección frente al infarto de miocardio y algunos tipos de cáncer (cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, etc.), diabetes, Alzheimer y otras enfermedades asociadas con los procesos oxidativos [12], así como con una reducción del riesgo de mortalidad por toda causa [16].

Asimismo, se ha estudiado el posible efecto beneficioso de algunos de sus componentes, como frutas, verduras y pescado sobre la masa ósea [9,17], así como la relación entre la adherencia a un patrón de DM y la salud ósea. Sin embargo, la asociación de la DM con la DMO y el riesgo de fracturas aún no está del todo clara [18,19].

Es por ello que hemos considerado muy interesante sumarnos a este interés de analizar los posibles beneficios que la adherencia a la DM tiene sobre la masa ósea y, además hacerlo en un grupo de población aún poco estudiado, el de las mujeres premenopáusicas, por lo que el propósito de este estudio fue evaluar la relación entre la adherencia a la DM y la masa ósea valorada mediante tres técnicas de cuantificación ósea: DXA en cuello femoral, trocánter, triángulo de Ward y en columna lumbar (L2-L4), pQCT en radio distal, y QUS en falange.





II.

**ANTECEDENTES Y  
ESTADO ACTUAL  
DEL TEMA**



## **2.1. HUESO Y REMODELAMIENTO ÓSEO**

### **2.1.1. Introducción**

El hueso es un órgano que se caracteriza por ser muy dinámico ya que está sometido constantemente a procesos de formación y resorción, lo que permite el mantenimiento del volumen óseo, la reparación del daño tisular y la homeostasis del equilibrio fosfocálcico [20]. Presenta funciones estructurales y metabólicas. La función estructural es fundamental para la locomoción, la respiración y la protección de los órganos internos, mientras que la función metabólica se basa en que representa un gran depósito de calcio, fósforo y carbonato.

El hueso está constituido por células óseas especializadas (osteocitos, osteoblastos y osteoclastos), matriz de tejido conectivo mineralizado y no mineralizado, y espacios que incluyen la cavidad de la médula ósea, canales vasculares, canalículos y lagunas que contienen osteocitos. Un componente importante en este órgano es el agua, que representa alrededor del 25% de su peso y proporciona gran parte de su resistencia.

Desde un punto de vista histológico, el hueso está compuesto por tejido conjuntivo mineralizado muy vascularizado e innervado que se dispone en laminillas de matriz osteoide calcificada [21]. Es la disposición de estas laminillas, entre otros aspectos, lo que determina y clasifica al hueso en dos tipos: cortical o compacto, localizado en la parte cortical de los huesos largos, y esponjoso (también denominado trabecular o plexiforme) y que se localiza en la parte interna del hueso en el límite de la médula ósea [22].

El hueso cortical es denso y compacto y constituye la parte exterior de todas las estructuras esqueléticas. Su arquitectura se basa en una serie de sistemas columnares con orientación longitudinal llamadas osteonas, que conforman la unidad anatómica y funcional del hueso cortical [23]. Estas osteonas están formadas por láminas óseas situadas concéntricamente unas respecto a otras y sobre las que están dispuestos los osteocitos. Las láminas pueden ser extensas (circunferenciales) o bien estar empaquetadas en círculos concéntricos en las osteonas. Cada osteona presenta en su centro el conducto de Havers a través del cual discurren vasos sanguíneos, linfáticos y nervios. A la unión entre sí de dos conductos de Havers mediante otro conducto se la denomina conducto de Volkman.

El hueso cortical representa el 80% del peso esquelético adulto [21], suponiendo casi cuatro veces el volumen del hueso trabecular. Se distribuye principalmente en la región diafisaria de los huesos largos tubulares. Su función principal es proporcionar resistencia mecánica y protección, pero también puede participar en las respuestas metabólicas, particularmente ante déficit mineral grave o prolongado.

El hueso trabecular se localiza en el interior de los huesos largos, particularmente en las metáfisis y epífisis. Se encuentra en cuerpos vertebrales, en las partes internas de la pelvis y otros huesos grandes y planos. Está compuesto por un sistema de trabéculas, formando una red tridimensional orientada en función de las cargas que reciben. Las cavidades formadas por esta red trabecular constituyen el asiento de la médula ósea [24]. Este tipo de hueso contribuye al soporte mecánico, especialmente a nivel vertebral y es metabólicamente más activo que el hueso cortical, presentando una gran capacidad de remodelado óseo y proporcionando los suministros iniciales de mineral en estados de deficiencia aguda.

El hueso trabecular supone el 20% de la masa total del esqueleto, sin embargo, su actividad metabólica es 10 veces mayor que la del hueso cortical, debido a que la relación entre superficie y volumen es superior (representa un 60% de la superficie ósea total) [21].

Tanto el hueso cortical como el trabecular están formados por células especializadas, matriz orgánica y fase mineral [25].

Además, el hueso está recubierto por una membrana blanco-amarillenta denominada periostio. Este se encuentra adherido intensamente al hueso gracias a fibras colágenas y elásticas. El periostio va disminuyendo de grosor con el paso del tiempo, siendo mayor durante la infancia y menor en la edad adulta, en la que también presenta una menor capacidad osteogénica.

El hueso está formado por matriz orgánica y por sales inorgánicas. La matriz orgánica contiene en un 90% proteínas colágenas, fundamentalmente colágeno tipo I, y proteínas no colágenas [21]:

- Colágeno (Tipo I, Tipo III, Tipo V, Tipo XII).
- Proteoglicanos (Condroitín sulfato, Decorina, Biglicano, Hialuronano.)
- Glicoproteínas (Osteocalcina (OC), Osteonectina, Fosfatasa alcalina (FAL), Osteopontina, Fibronectina y Sialoproteínas óseas).
- Proteínas del plasma (Albúmina, Alfa-2-SH-glicoproteína).
- Factores de crecimiento (Factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1), TGF- $\beta$ , Platelet growth factor).

Por otro lado, el componente inorgánico fundamental de la matriz extracelular son los cristales de hidroxiapatita [ $3\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2(\text{OH})_2$ ], formados principalmente por calcio y fosfato, cuya unión a las fibras colágenas confiere

al hueso las características de, rigidez, flexibilidad y resistencia. Los cristales minerales del hueso constituyen el 99% del calcio del organismo, el 85% del fósforo y el 40-50% del sodio [26,27].

Actualmente se considera que la matriz mineralizada extracelular es más que un reservorio de calcio y fósforo, pues constituye la reserva de proteínas que participan en la regulación de la diferenciación celular, así como en la integridad y función del tejido óseo [28].

### **2.1.2. Células óseas**

Tanto el tejido óseo como el estroma conjuntivo de la médula ósea albergan los diferentes tipos de células óseas. Los osteoblastos y los osteoclastos son los representantes celulares más importantes del hueso ya que desempeñan un papel crucial en el remodelado óseo. El origen de estos dos tipos celulares es diferente: los osteoblastos proceden de un precursor mesenquimal pluripotencial de la médula ósea [29] mientras que los osteoclastos derivan de un precursor del compartimento hematopoyético denominado unidad formadora de colonias de granulocitos-macrófagos (CFU-GM), no pudiendo desarrollarse en ausencia de las células del mesénquima. Al existir una estrecha relación entre estos tipos de células se produce una adecuada articulación entre los fenómenos de formación y resorción óseos, por lo que en condiciones normales la masa ósea se mantiene estable [30].

#### **2.1.2.1. Osteoblastos**

Los osteoblastos son células voluminosas con un núcleo grande, de citoplasma basófilo y con un aparato de Golgi bastante desarrollado con numerosas mitocondrias, lo que les permite sintetizar la fracción orgánica de la matriz ósea (fibras de colágeno tipo I, proteínas no colágenas y factores

de crecimiento). Son células formadoras de hueso y que a su vez revisten la superficie que se encuentra en proceso de formación ósea. Los osteoblastos derivan de células madre mesenquimales pluripotentes de la médula ósea, pero también pueden diferenciarse a osteoblastos los pericitos o células murales de los vasos sanguíneos [31].

Los osteoblastos sintetizan la matriz orgánica o sustancia osteoide a un ritmo de 2 a 3  $\mu\text{m}$  por día y expresan una enzima característica, la FAL, que permite la mineralización a un ritmo de 1-2  $\mu\text{m}$  por día [21]. Entre sus funciones destacan: sintetizar las proteínas colágenas y no colágenas de la matriz orgánica del hueso, dirigir la disposición de las fibrillas de la matriz extracelular, contribuir a la mineralización de la sustancia osteoide gracias a la FAL, mediar en la resorción llevada a cabo por los osteoclastos a través de la síntesis de citoquinas específicas [32] y sintetizar factores de crecimiento.

Participan en la primera fase de la resorción ósea, ya que poseen receptores de superficie para factores endocrinos y paracrinos inductores de colagenasa, dejando expuesta la matriz ósea mineralizada y liberando factores que atraen a los osteoclastos. En la fase final de la formación ósea, los osteoblastos se pueden transformar en osteocitos o células de revestimiento [33].

#### **2.1.2.2. Osteocitos**

Al formarse la matriz mineralizada, algunos osteoblastos quedan atrapados dentro, transformándose en osteocitos. Los osteocitos se encuentran dentro de lagunas en el interior de la matriz mineralizada, mientras que osteoblastos, osteoclastos y células limitantes están en la superficie ósea. Los osteocitos son

células con morfología dendrítica que difiere según el tipo de hueso, así, los osteocitos del hueso trabecular son más redondeados que los del hueso cortical, que muestran una morfología alargada, y también en función de que el hueso sea maduro o inmaduro (disminuyen de volumen y aumentan su profundidad cuanto más maduro es el hueso). Constituyen el estadio final de la línea osteoblástica y son incapaces de renovarse.

A diferencia de los osteoblastos y osteoclastos, los osteocitos están dispersos por todo el esqueleto, presentan una vida larga y son las células óseas más numerosas (10 veces más numerosos que osteoblastos y en torno a 1000 veces más que osteoclastos) [34].

Los osteocitos maduros secretan una sustancia llamada esclerostina que mantiene inhibida la formación ósea. Sin embargo, cuando se aplican fuerzas mecánicas al hueso los osteocitos cesan la secreción de esclerostina y se inicia la síntesis de hueso en la superficie ósea. Aunque participan en la síntesis y mineralización de la matriz osteoide, se cree que su función principal es la de controlar el remodelado óseo, detectando las variaciones mecánicas de las cargas [21].

### **2.1.2.3. Osteoclastos**

Los osteoclastos son las células responsables de la resorción ósea y derivan de precursores hematopoyéticos que dan lugar a monocitos y macrófagos. Son células gigantes (100  $\mu\text{m}$ ) con complejos aparatos de Golgi alrededor de cada núcleo, redondeadas y multinucleadas (pudiendo contener entre 6 y 50 núcleos) con un protoplasma rico en fosfatasa ácido tartrato resistente (FATR). Están situadas en contacto con el hueso calcificado en cavidades formadas como resultado de la resorción ósea llamadas lagunas de Howship, dispuestas de manera aislada o en grupos poco numerosos. Presentan una estructura de la membrana plasmática

típica, con borde rizado o en cepillo altamente móvil. La unión de la célula a la matriz ósea se realiza a través de receptores de integrinas que precisan de activación por diversas señales moleculares para facilitar la adhesión y motilidad celular. La membrana del osteoclasto crea un pH ácido mediante la producción de hidrogeniones que solubiliza los minerales óseos, segregando una proteasa ácida que extrae los componentes orgánicos de la matriz por proteólisis ácida [35].

En la regulación de la osteoclastogénesis participan tres moléculas clave: OPG (osteoprotegerina, proteína sintetizada por osteoblastos y pre-osteoblastos), RANKL (ligando situado en la superficie de osteoblastos y pre-osteoblastos) y RANK (receptor del anterior situado en la membrana de osteoclastos y pre-osteoclastos). La interacción entre RANKL y su receptor RANK produce una activación de la diferenciación y de la actividad osteoclástica, aumentando la resorción. Asimismo, los efectos del RANKL tanto in vivo, como in vitro son inhibidos por la OPG. Cuando se unen OPG y RANKL se inhibe la unión de RANKL a RANK y se inhibe la diferenciación osteoclástica [21].

### **2.1.3. Remodelamiento óseo**

El hueso es un tejido metabólicamente activo en continuo proceso de remodelado, produciéndose la renovación del 3-4% del hueso cortical y el 25-30% del hueso trabecular en un año, lo que supone la renovación total del esqueleto al cabo de 10 años [36]. Este proceso se realiza mediante la acción sucesiva, o acoplamiento, de osteoblastos y osteoclastos sobre una misma superficie ósea. La unidad básica multicelular (BMU) que interviene durante un ciclo de remodelado óseo, comprende osteocitos, osteoclastos y osteoblastos. Su actividad está regulada por fuerzas mecánicas, recambio celular óseo, hormonas (por ejemplo, hormona paratiroidea (PTH), hormona de crecimiento (GH)), citocinas y factores locales [37].

El acoplamiento de la resorción ósea osteoclástica a la formación ósea osteoblástica es clave para preservar la arquitectura y la resistencia óseas (Lassen et al., 2017). La BMU activa consta de osteoclastos que cubren la superficie ósea recién expuesta preparándola para la deposición de hueso de reemplazo. Los osteoblastos siguen a los osteoclastos, secretando y depositando hueso osteoide no mineralizado. La disposición ordenada de las células dentro de la BMU es crítica para asegurar la secuencia correcta de las fases del proceso de remodelación ósea: activación, resorción, formación, mineralización y quiescencia.

En la infancia hay una tasa de rotación ósea muy alta en la que la formación excede la resorción. En edad adulta joven, formación y resorción están en un balance aproximado, pero con el envejecimiento hay una pérdida neta de hueso. La tasa de recambio óseo, matriz de colágeno, tamaño, estructura, geometría y densidad, todo combinado, determina las propiedades mecánicas del hueso. Los defectos en estos parámetros darán como resultado enfermedades como la osteoporosis, la enfermedad ósea de Paget, osteopetrosis y osteogénesis imperfecta [37].

Se conoce como **recambio óseo**, al volumen total de hueso que es renovado por unidad de tiempo, siendo directamente proporcional al número de BMU activas. Así mismo, la diferencia resultante entre el volumen de hueso formado y el volumen de hueso reabsorbido por unidad de tiempo se denomina balance óseo.

La edad exacta a la que la acumulación de hueso alcanza una meseta, varía con la región esquelética y con la forma en que se mide la masa ósea. Así, cuando se mide densidad areal, utilizando DXA, el **pico de masa ósea** se detectaría antes de los 20 años de edad en los sitios femorales proximales, mientras que, para la masa esquelética total, el pico se alcanzaría de 6 a 10 años después [38,39]. En la consecución del pico de masa ósea influyen diversos factores: nutricionales,

como la ingesta de calcio, vitamina D, fósforo, magnesio, flúor, cobre, manganeso, zinc, hierro, vitaminas C y K, proteínas, grasas, etc; ejercicio físico, y otros factores como, ingesta de alcohol, consumo de anticonceptivos orales, tabaco, edad de menarquia y patologías relacionadas con trastornos del comportamiento alimentario. Desde los 30 a los 40 años, el balance óseo en condiciones normales, permanece invariable siendo igual a cero [30,40] y, a partir de los 40 años la masa ósea disminuye progresivamente instaurándose un balance negativo. acción de colagenasas [41]. Los precursores de osteoclastos son atraídos a la superficie ósea mineralizada expuesta convirtiéndose en osteoclastos funcionales que reabsorben el hueso.

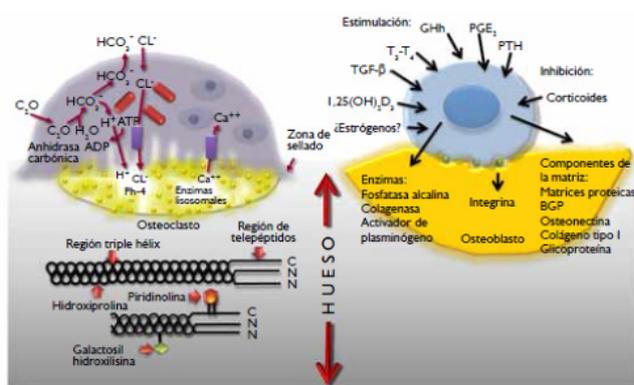
#### **2.1.3.1. Fases del remodelamiento óseo**

El proceso de modelado óseo ocurre durante las dos primeras décadas de la vida, e involucra tanto la formación como la resorción ósea, excediendo la formación a la resorción y no estando acoplado el proceso ni temporal ni espacialmente [41]. En el proceso de remodelación ósea intervienen los osteoclastos, que llevan a cabo la resorción de tejido óseo viejo mientras que los osteoblastos sintetizan hueso nuevo. En este proceso de remodelación, resorción y formación están estrechamente acopladas en las BMU.

En el ciclo de remodelamiento óseo se distinguen cinco fases: activación, resorción, formación, mineralización y quiescencia [41].

La primera etapa es la activación, que implica la detección de una señal inicial para la remodelación. Esta señal puede ser hormonal (por parte de estrógenos o PTH), o puede proceder de una tensión mecánica directa sobre el hueso que origine un daño estructural. En este proceso se produce la retracción de las células del revestimiento y la digestión de la membrana endosteal por la

acción de colagenasas [41]. Los precursores de osteoclastos son atraídos a la superficie ósea mineralizada expuesta convirtiéndose en osteoclastos funcionales que reabsorben el hueso.



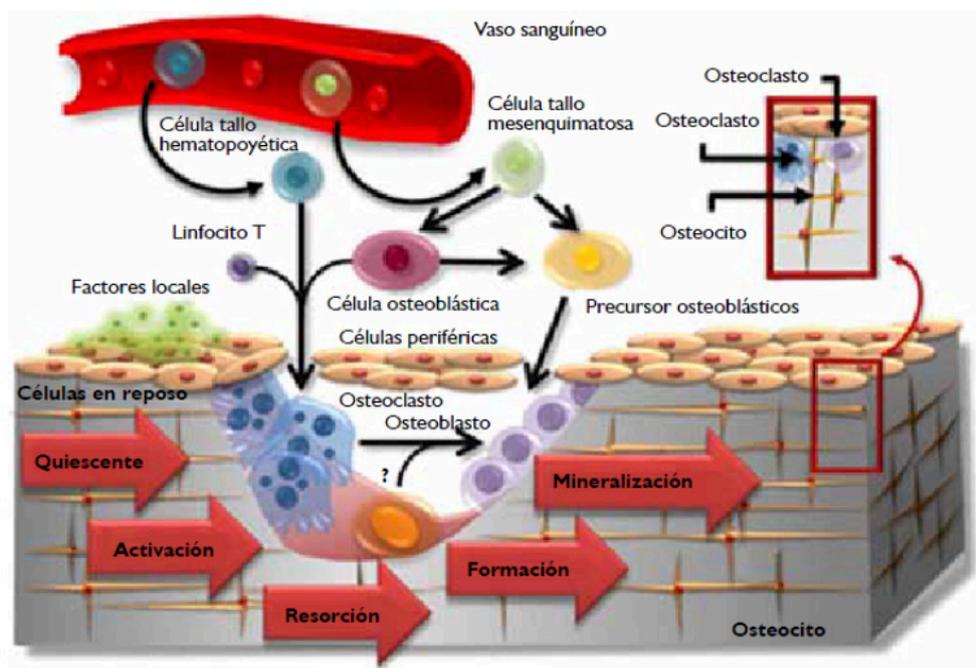
**Figura 1:** Matriz ósea degradada por la activación osteoclástica. Tomado de Barba Evia [42]

En la fase de resorción los osteoclastos segregan iones hidrógeno que reducen el pH, produciéndose en este medio ácido la disolución de la matriz mineralizada y la formación de cavidades que se conocen como lagunas de Howship. Asimismo, segregan enzimas como la metaloproteinasas o la catepsina K, que degradan la matriz orgánica ósea. Esta fase finaliza con la apoptosis de los osteoclastos.

En la fase de formación los osteoblastos sintetizan nueva matriz proteica para rellenar las cavidades horadadas por los osteoclastos. Esta nueva matriz ósea (osteoides) está compuesta de proteínas como el colágeno tipo I, mineralizándose gradualmente y formando hueso nuevo. Los osteoblastos continúan con esta formación de hueso hasta que se transforman en células

de revestimiento inactivas que cubren completamente la superficie ósea recién formada. Algunos osteoblastos quedan incluidos dentro de la matriz ósea recién formada convirtiéndose en osteocitos. Después de completar la formación ósea, entre el 50% y el 70% de los osteoblastos sufren apoptosis, convirtiéndose el resto en osteocitos o células de revestimiento óseo [43].

La fase de mineralización comienza tras 30 días del depósito osteoide, finalizando 90 días después en hueso trabecular, mientras que en hueso cortical termina a los 130 días.



**Figura 2:** Fases del remodelamiento óseo en la superficie del hueso trabecular. Tomado de Barba Evia [42]

Después de la mineralización el hueso entra en la fase de reposo o quiescente.

### **2.1.3.2. Factores reguladores del remodelamiento óseo**

#### **1. Factores genéticos:**

Son fundamentales en el pico de masa ósea, ya que entre el 60 y el 80% de ésta, se encuentra determinada genéticamente [44]. Gozan de tanta importancia que según la raza a la pertenezca un individuo, su masa ósea puede ser mayor o menor. Además, debido a ello la predisposición a padecer osteoporosis es mayor en hijas de madres que la padecen [45].

#### **2. Factores mecánicos:**

La actividad física contribuye al correcto desarrollo del hueso. Parece que la acción muscular transmite al hueso una tensión que es detectada por la red de osteocitos del interior del fluido óseo. Mediadores tales como IGF-1, prostaglandinas y óxido nítrico estimulan la actividad de osteocitos y osteoblastos dando lugar a una mayor formación ósea [46,47]. Por el contrario, una falta de actividad muscular, el reposo o la ingravidez, aceleran la resorción ósea [48].

#### **3. Factores vasculonerviosos:**

La vascularización permite el aporte de oxígeno, células sanguíneas, minerales, iones, glucosa, hormonas y factores de crecimiento al tejido óseo, constituyendo el primer paso para la osificación dado que la presencia de oxígeno es fundamental para que se produzca la restitución completa del tejido, y no tejido fibroso en la reparación de fracturas [20,49]. Se han encontrado fibras autónomas en periostio, endostio, hueso cortical y asociadas a los vasos sanguíneos de los conductos de Volkmann, así como neuropéptidos y sus receptores en el hueso [20].

#### **4. Factores nutricionales:**

Su interés radica sobre todo en que son modificables, aunque algunos autores defienden que la masa ósea está influida por la dieta, pero no

controlada por la misma ya que existen factores poligénicos que la pueden afectar [50].

Los hábitos tóxicos (tabaco, cafeína, alcohol, etc.) son factores de riesgo que pueden tener un efecto deletéreo sobre la masa ósea y son asimismo modificables.

### **5. Factores hormonales:**

El sistema endocrino es fundamental para el desarrollo normal del esqueleto. Algunas de las hormonas que regulan este proceso son: las hormonas calciotropas (paratohormona, calcitonina y metabolitos de la vitamina D) y la hormona somatotropa (GH). Ambas actúan de mensajeros sistémicos a distancia de su lugar de producción (efecto endocrino), regulando la síntesis y acción de los factores locales [20]. Además, las hormonas sexuales desempeñan un papel importante en la homeostasis esquelética.

### **6. Factores locales:**

Los factores locales incluyen moléculas autocrinas y paracrinas entre las que destacan los factores de crecimiento, las citoquinas y prostaglandinas (producidas por las células óseas), los factores de la matriz ósea que son liberados durante la resorción ósea [51,52], así como el óxido nítrico.

#### **2.1.3.3. Marcadores bioquímicos del remodelamiento óseo**

Hay dos grupos de Marcadores bioquímicos de recambio óseo (BTM): marcadores de formación y marcadores de resorción. Actualmente, el Propéptido N-terminal del protocógeno tipo I (PINP) y el Telopéptido C-terminal de colágeno tipo I (CTX-I) se consideran marcadores referentes de formación y resorción ósea, respectivamente [53,54].

Los BTM están sujetos a fuentes de variabilidad, incluyendo la alimentación (menor resorción), y fractura reciente (mayores niveles de todos los marcadores). Los factores controlables relacionados con el paciente deben adaptarse lo más posible (por ejemplo, la recogida de sangre después de un ayuno durante la noche) para minimizar la variabilidad pre-analítica. Los factores incontrolables deben ser considerados en la interpretación de las mediciones del BTM.

El BTM no mejora la predicción de la pérdida o fractura ósea en un individuo. Sin embargo, en pacientes osteoporóticos, el BTM puede ayudar a evaluar la respuesta a terapias anabólicas y antirresortivas, el cumplimiento del tratamiento o a indicar posibles causas secundarias de osteoporosis.

#### **2.1.3.3.a. Marcadores de formación ósea**

##### **1. Fosfatasa Alcalina:**

La FAL es una proteína tetramérica que presenta una vida media en torno a 1-2 días, por lo que su variación es mínima. En suero circula como un dímero con dos sitios activos simétricos y su actividad engloba a la de varias isoformas procedentes de diversos tejidos (hígado, hueso, placenta, etc), siendo las dos fracciones mayoritarias la isoforma ósea (FAO) y la hepática [55]. En condiciones normales los niveles plasmáticos de FAO corresponden al 40% de la FAL total y el resto es fundamentalmente de origen hepático. Sin embargo, en niños y adolescentes, la isoenzima predominante es la FAO que puede alcanzar entre el 70-90% de la FAL total. La FAO es sintetizada por los osteoblastos maduros y sus precursores. Aunque su función específica no se ha establecido todavía, se sabe que juega un papel importante en el inicio de la mineralización ósea, por lo que su determinación en suero es una medida indirecta del proceso de formación ósea más sensible y específica que la de la FAL. La FAO posee

la ventaja de no presentar variación entre sexos y no verse influida por el ritmo circadiano [56].

### **2. Osteocalcina:**

La OC es una de las principales proteínas no colágenas de la matriz ósea [57]. Contiene tres residuos de ácido  $\gamma$ -carboxiglutámico. Su  $\gamma$ -carboxilación postraslaccional es estimulada por vitamina K. La OC es degradada y excretada por el riñón y, por tanto, las concentraciones séricas de OC y sus fragmentos aumentan en los pacientes con insuficiencia renal. Los niveles circulantes de OC son altamente específicos del hueso dado que este marcador es sintetizado únicamente por osteoblastos y odontoblastos y además, los estudios demuestran que es un marcador específico de la formación de hueso [54]. Por otra parte, la medición de OC no carboxilada se puede considerar un índice de deficiencia de vitamina K, por lo que se podría utilizar como predictor de masa ósea y riesgo de fracturas [58].

### **3. Propéptidos de procolágeno tipo I:**

El procolágeno se sintetiza como un trímero de dos cadenas: dos cadenas  $\alpha 1$  y una cadena  $\alpha 2$ . El PINP y el Propéptido C-terminal del procolágeno tipo I (PICP) se escinden de la molécula de procolágeno en la matriz extracelular antes del ensamblaje de las moléculas de colágeno tipo I en fibras. El colágeno tipo I es una proteína no específica del hueso, sin embargo, la mayor parte de PINP y PICP circulantes se origina en el hueso por tres razones: el colágeno tipo I constituye el 90% de las proteínas de la matriz ósea, el peso del esqueleto es mayor que el de otros tejidos que contienen colágeno tipo I y además, el hueso presenta un metabolismo más rápido que el de otros tejidos. Por lo tanto, niveles en suero de PINP y PICP se correlacionan significativamente con los índices de formación ósea histomorfométrica [59,60]. En sangre hay dos formas de PINP: péptido trimérico "intacto" y péptidos monoméricos de bajo peso molecular.

PINP y PICP triméricos son absorbidos y degradados por el hígado, por lo que, algunas patologías del hígado, pulmón o del corazón influyen significativamente en los niveles circulantes de PINP y PICP. Por el contrario, los monómeros PINP son excretados por el riñón y sus niveles se incrementan en casos de insuficiencia renal [54].

#### **2.1.3.3.b. Marcadores de la resorción ósea**

Tradicionalmente, el calcio urinario (calciuria) fue la primera medida utilizada para evaluar la resorción ósea. Sin embargo, al estar influida por factores diversos (ingesta cálcica, absorción intestinal y excreción urinaria de calcio) esta determinación es poco sensible y específica, por lo que se encuentra en desuso [56].

Los marcadores de resorción ósea incluyen el CTX-I, Telopéptido N-terminal de colágeno tipo I (NTX), piridinolinas y FATR 5b. La mayoría de los biomarcadores de resorción ósea son productos de degradación del colágeno tipo I, excepto la FATR 5b, que es una enzima que refleja actividad metabólica de los osteoclastos.

##### **1. Hidroxiprolina:**

Es un aminoácido no esencial que proviene de la hidroxilación post-traslacional de prolina y constituye el 10% del contenido de colágeno maduro. El 90% de hidroxiprolina es liberada durante la degradación del colágeno tipo I, pasa a circulación, se metaboliza en el hígado y posteriormente es excretada en la orina donde se encuentra en forma libre sólo en un 10%.

##### **2. Piridinolina y Deoxipiridinolina:**

Las piridinolinas son productos de entrecruzamiento (cross-links) resultado del contacto de fibrillas de colágeno tipo I procedentes del procolágeno tipo I.

Deoxipiridinolina es relativamente específica del hueso, por lo que se considera un biomarcador más específico de resorción ósea que la piridinolina, mientras que piridinolina se encuentra en el cartílago articular y tejidos blandos. Los niveles se incrementan entre 50-100% en la menopausia, retornando a los niveles de premenopausia con la terapia hormonal de reemplazo. Cuando el colágeno es degradado por osteoclastos, ambas se vuelcan a la circulación y, a diferencia de la hidroxiprolina, no sufren metabolización posterior y son excretadas directamente en la orina.

### **3. Telopéptido carboxilo (C-) terminal (CTX) y Telopéptido amino (N-) terminal (NTX) del colágeno tipo I.**

Las regiones telopéptidas de colágeno tipo I son escindidas durante la resorción ósea, por lo que sus niveles se pueden correlacionar con esta actividad. Tanto CTX como NTX son productos de la resorción ósea mediada por catepsina K [61] y son excretados por la orina. Una variante de CTX denominada ICTP puede ser medida en suero sanguíneo. CTX es el biomarcador estándar para la resorción ósea y disminuye rápidamente con terapia antirresortiva. Sus niveles varían significativamente con el ritmo circadiano y la alimentación [53,62]. Los niveles no son precisos si la función renal está deteriorada y pueden aumentar en pacientes en hemodiálisis [63,64]. Se considera en la actualidad que los telopéptidos NTX, CTX e ICTP son los marcadores más sensibles y específicos de la resorción ósea, por lo que serían los más útiles en la práctica clínica y además, han demostrado una correlación significativa con la DMO en mujeres postmenopáusicas.

### **4. Fosfatasa ácida:**

La FATR se sintetiza en huesos, bazo y pulmones. La subforma b de la isoenzima 5 de esta enzima (FATR-5b) es más específica de los osteoclastos y, por tanto, está involucrada en la degradación del hueso. Los niveles de FATR-5b representan el número y actividad de los osteoclastos más

que el nivel de degradación ósea, aún así su actividad en suero aumenta en las condiciones clínicas en que el remodelamiento óseo se encuentra aumentado y un cambio en su concentración sérica se considera un índice específico de alteración aguda de la resorción ósea.

#### **5. Catepsina K:**

Esta proteasa se expresa de forma abundante y selectiva en osteoclastos donde se localiza en lisosomas, en el borde rugoso del osteoclasto maduro y en la laguna de resorción sobre la superficie ósea. Tiene capacidad para degradar el colágeno tipo I en las regiones helicoidal y telopeptídica, así como la de actuar a pH ácido y neutro.

#### **2.1.4. Fisiopatología ósea: Osteoporosis**

La masa ósea es el principal determinante cuantificable del riesgo de fracturas [1].

Se estima que 22 millones de mujeres entre 50 y 84 años padecen osteoporosis en la Unión Europea y que esta cifra crecerá hasta los 33.9 millones para el año 2025 [65,66], con el consiguiente riesgo de sufrir una fractura osteoporótica. Con el aumento de la esperanza de vida en los países desarrollados, este problema sociosanitario y económico será cada vez mayor.

Entre los factores de riesgo de disminución de la DMO y de fracturas, pueden destacarse: edad, disminución de la función gonadal, pico de masa ósea alcanzado alrededor de los 20 años, bajo índice de masa corporal (IMC), uso de glucocorticoides, menopausia precoz, las comorbilidades y los antecedentes de fracturas por fragilidad, entre otros. Estos factores de riesgo suelen clasificarse en no modificables y modificables.

**1. Factores de riesgo no modificables:**

- a. Factores genéticos: parece que la genética influye notablemente en la consecución del pico de masa ósea.
- b. Antecedentes de fracturas: los antecedentes de fracturas por fragilidad, incluidas las vertebrales, duplican el riesgo de padecer nuevas fracturas [67].
- c. Déficit estrogénico: en mujeres a partir de 50 años, la desmineralización ósea se relaciona con una disminución en la producción de hormonas sexuales.

**2. Factores de riesgo modificables:**

- a. Factores nutricionales: bajas ingestas de calcio, vitamina D y vitamina K, se han asociado con menor masa ósea.
- b. Vida sedentaria o práctica intensiva de ejercicio físico: en ambos casos se ha visto un efecto perjudicial para el hueso, con aumento de la resorción [68].
- c. IMC: aquellas mujeres con un IMC inferior a 19 presentan un riesgo muy superior de pérdida de masa ósea que las que tienen un IMC >19 [69].
- d. Consumo de fármacos: el efecto de los corticoides sobre el hueso es ampliamente conocido, inhibiendo los osteoclastos y aumentando la resorción ósea. Otros fármacos estudiados por su efecto negativo sobre el hueso son, anticonvulsivantes, antipsicóticos, anticoagulantes orales, etc.
- e. Hábitos tóxicos: evidencias recientes confirman que el consumo de tabaco produce desequilibrios en el recambio óseo que pueden conducir a una disminución de la masa ósea [70].

## **2.2. TÉCNICAS DE VALORACIÓN DE LA MASA ÓSEA**

### **2.2.1. Introducción**

Con el aumento progresivo de las expectativas de vida en los países desarrollados, la osteoporosis y la posibilidad de fracturas por fragilidad representan importantes problemas de salud pública, sobre todo en mujeres de edad avanzada [71,72]. Con el fin de adoptar un enfoque preventivo a este problema sanitario y socioeconómico, se hace imprescindible realizar un diagnóstico temprano de la enfermedad para su correcto tratamiento, minimizando el riesgo de fracturas, e incluso en una etapa anterior, detectar la posible disminución de la DMO, con el fin de implementar las medidas adecuadas en cuanto a recomendaciones de hábitos de vida saludables y en su caso, de tratamiento farmacológico.

Para ello es necesario contar con instrumentos de evaluación de la masa ósea, como la determinación de marcadores del remodelamiento óseo (que aunque no se consideran apropiados para el diagnóstico de osteoporosis, sí pueden aportar información adicional y complementaria a la suministrada por la cuantificación de la DMO, así como ser útiles a la hora de seleccionar a la población susceptible de tratamiento y de valorar la eficacia de este); y también la determinación de la DMO mediante técnicas cuantitativas densitométricas.

El primer método empleado en la evaluación de la masa ósea fue el estudio histológico mediante histomorfometría, aunque este método invasivo resulta cruento, lento y costoso. En las últimas décadas se han desarrollado diversos métodos no invasivos para cuantificar la DMO y diagnosticar la osteoporosis en diferentes localizaciones esqueléticas.

Entre las técnicas basadas en rayos X, las más utilizadas son DXA y la tomografía computarizada cuantitativa (QCT) que permiten cuantificar la DMO. DXA representa en la actualidad el “patrón de oro” en el diagnóstico de osteoporosis pudiendo realizar determinaciones en columna y cadera, pero presenta inconvenientes como el gran tamaño de los equipos, que dificulta su transportabilidad, su alto costo y el uso de pequeñas dosis de radiación. Además, la medida de DMO sólo puede explicar el 60-80% de la variabilidad en la resistencia ósea, y se ha demostrado que otros aspectos mecánicos del hueso (parámetros de microarquitectura, geometría ósea y las propiedades elásticas), no pueden evaluarse mediante técnicas densitométricas [72–74], pero son importantes para determinar el riesgo de fractura [73,75].

Las técnicas de QUS, sin embargo, han demostrado cierta capacidad para determinar la calidad ósea y proporcionar información sobre su estructura y propiedades elásticas [76,77], presentando ventajas como ser métodos seguros, simples, estar libres de radiación, ser portátiles y relativamente económicos [78,79]. Su principal limitación está representada por el hecho de que los dispositivos QUS disponibles solo se pueden aplicar a sitios periféricos del esqueleto: calcáneo, falanges proximales de la mano, eje tibial y radio.

**Tabla 1:** Métodos de evaluación de la masa ósea

<b>MÉTODOS DE EVALUACIÓN DE LA MASA ÓSEA</b>				
	Tipo de técnica	Técnica	Siglas	
<b>Directa</b>	<b>Histomorfometría</b>	Microtomografía	μQCT	
		Microrresonancia magnética	μRMN	
	<b>Cualitativa</b>	Microtomografía		
	<b>Semicuantitativa</b>	Microrresonancia magnética		
	<b>Radiogrametría</b>			
	<b>Técnicas Cuantitativas</b>	Radiología simple		
	<b>Densitométricas Axiales</b>	Índices Radiológicos		
		Índices Nordin-Barnet, Morgan, etc		
		Densitometría fotónica dual	DPA	
<b>Indirecta</b>		Tomografía Axial Cuantitativa	QCT	
		Tomografía Axial computarizada de alta resolución	hrQCT	
		Densitometría radiológica de doble energía	DXA	
		<b>Técnicas Cuantitativas</b>	Densitometría radiológica monoenergética	SXA
		<b>Densitométricas</b>	Densitometría fotónica simple	SPA
		<b>Periféricas</b>	Densitometría radiológica de doble energía periférica	pDXA
			Tomografía periférica cuantitativa	pQCT
			Ultrasonidos cuantitativos	QUS
			Radiogrametría digital cuantitativa	QDR

Tomado de Rodríguez-Velasco [80]

Para evaluar una técnica densitométrica hay que tener en cuenta su fiabilidad y reproducibilidad. La fiabilidad es la capacidad de una técnica para medir aquello que se desea, la reproducibilidad es la capacidad de una técnica para dar resultados sistemáticamente idénticos frente a distintos observadores, y se expresa como coeficiente de variación (mayor precisión cuanto menor sea este coeficiente). La exactitud o fiabilidad de una técnica indica el grado de aproximación del valor obtenido al valor real de la masa ósea. En los estudios diagnósticos la fiabilidad es más importante que la reproducibilidad para separar con precisión la población sana de la afectada. En los estudios de eficacia al tratamiento, interesa más la reproducibilidad para poder obtener resultados comparativos en cada paciente. La técnica aplicada en la valoración de masa ósea debe tener una elevada exactitud y buena precisión, para posteriormente poder evaluar cambios mínimos [81].

La morfología, situación, distribución y metabolismo del tejido óseo hacen que sea difícil encontrar un método de valoración que reúna todos los criterios de idoneidad [82].

Estos criterios serían:

1. Buen coeficiente de variabilidad, es decir, buena reproducibilidad de la medida, que permita estudios longitudinales comparativos.
2. Alta precisión en la valoración de la masa de tejido óseo calcificado, es decir, alta sensibilidad y especificidad en la detección de cambios precoces de la misma.
3. Correlación con el riesgo de aparición de fracturas.
4. Simplicidad, inocuidad, economía.

Estos criterios nos permiten, definir el síndrome de osteopenia en términos de masa ósea, identificar sujetos de riesgo de padecer fracturas y además, evaluar el resultado de los posibles tratamientos con mediciones seriadas.

Teniendo en cuenta las características del hueso, se plantean problemas a la hora de valorar su contenido mineral, por un lado, la superposición de tejidos, partes blandas y tejidos calcificados no óseos, que no pueden ser discriminados por algunas de las técnicas. Por otro, la irregular distribución del mineral óseo en sus formas cortical y trabecular. Considerando el esqueleto completo, un 80% supone el hueso cortical compacto y el 20% el hueso trabecular. Sin embargo, cada hueso y dentro de él cada zona, presenta proporciones variables.

### 2.2.2. Técnicas radiológicas de valoración ósea

La primera técnica densitométrica utilizada fue la absorciometría fotónica simple (SPA), en la cual un fotón procedente de una fuente radioactiva atraviesa el hueso periférico. El densitómetro mide la atenuación del haz de rayos X al paso por el tejido. Dado que sólo se utiliza un fotón, no se puede separar la atenuación producida por el tejido óseo de la producida por los tejidos blandos. Por ello, esta técnica sólo se puede usar en lugares como el calcáneo o el radio, donde casi todo el tejido atravesado es óseo [83].

La absorciometría fotónica dual (DPA), se asemeja a la SPA, pero utiliza dos fotones distintos procedentes de un radioisótopo. En este caso, al haber atenuación de dos haces fotónicos, el densitómetro es capaz de diferenciar la atenuación del hueso de la de los tejidos blandos. Se puede, por tanto, utilizar tanto en hueso periférico (antebrazo) como axial (cadera y columna). Esta técnica fue reemplazada por la DXA que no precisaba una fuente isotópica [83].

#### 2.2.2.1. Absorciometría Dual de Rayos X (DXA)

Como hemos señalado anteriormente, DXA constituye el patrón de oro en la evaluación incruenta de la masa ósea. Es la técnica que ha alcanzado la validación biológica y el desarrollo técnico más completos en el diagnóstico de osteoporosis [72]. DXA es el método más empleado para determinar la DMO ya que aporta mediciones muy precisas [84]. Dichas mediciones se realizan en localizaciones clínicamente relevantes, es decir, en aquellas que presentan consecuencias clínicas más graves cuando se produce una fractura.

Varios estudios han probado que una baja DMO en cualquier localización puede predecir el riesgo de fracturas osteoporóticas. Sin embargo, las mediciones

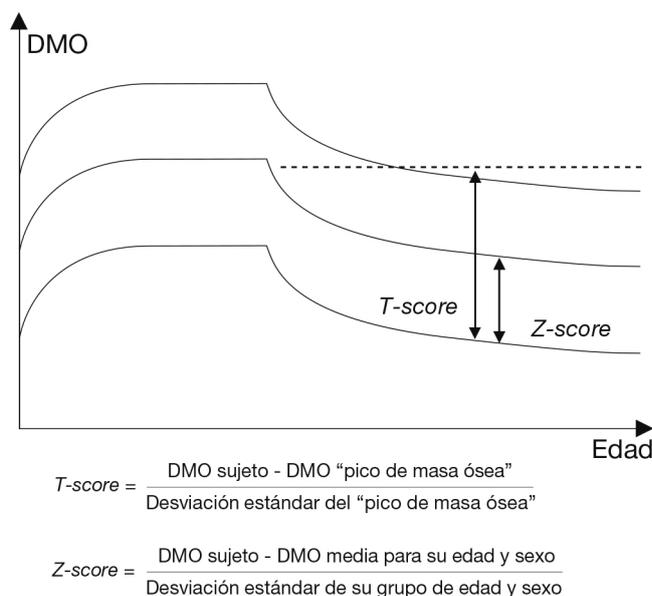
realizadas en cadera son superiores a las de columna vertebral respecto al diagnóstico de osteoporosis y a la predicción de fracturas osteoporóticas según la OMS [71]. Por otro lado, la Fundación Nacional de Osteoporosis (NOF) y la Sociedad Internacional de Densitometría Clínica (ISCD) recomiendan que el diagnóstico de osteoporosis se realice mediante DXA de la columna lumbar (primera vértebra lumbar-L4) (L1-L4), fémur proximal total, cuello femoral, o un tercio de radio [85,86].

DXA se utiliza para diagnosticar osteoporosis o baja DMO, valorar el riesgo de fractura y determinar cambios en la DMO a lo largo del tiempo. Sus indicaciones varían según las diferentes organizaciones, las poblaciones estudiadas, los factores de riesgo clínicos considerados, la definición de fractura por fragilidad, las metodologías utilizadas y la ponderación de los niveles de evidencia médica versus la opinión de los expertos. Sin embargo, de todas las guías publicadas, las de la NOF posiblemente sean las más completas y útiles en la práctica clínica [85,87]:

- Las mujeres de 65 años o más y los hombres de 70 años o más, independientemente de los factores de riesgo clínicos.
- Las mujeres postmenopáusicas más jóvenes, las mujeres en la transición a la menopausia y los hombres entre 50 y 69 años con factores de riesgo clínico de fractura.
- Adultos que tienen una fractura después de los 50 años.
- Adultos con determinadas patologías y/o en tratamiento con fármacos asociados con una masa ósea baja o pérdida ósea (por ejemplo, artritis reumatoide, administración de glucocorticoides en una dosis diaria  $\geq 5$  mg de prednisona o equivalente durante  $\geq 3$  meses).

La técnica DXA se basa en la generación de una imagen digitalizada en función de la atenuación de dos haces colimados de rayos X, de alta y baja energía en un determinado sector anatómico. El tubo de rayos X emite fotones de 70 a 140

keV, con escasa dosis de radiación, menor a 10 mRem en la piel y 2 mRem en médula ósea. La diferencia en la atenuación de los dos haces de fotones a medida que atraviesan el tejido corporal distingue el hueso del tejido blando y permite cuantificar la DMO. DXA mide el contenido mineral óseo (CMO) en gramos (g) y el área ósea explorada en centímetros cuadrados (cm<sup>2</sup>) obteniendo con el cociente de ambos la DMO por unidad de superficie (DMO, g/cm<sup>2</sup>) en cada subsector de la región ósea sometida a examen. Una vez obtenida la DMO en un determinado paciente, ésta debe ser considerada en función de los valores de su población control, bien respecto a su grupo de edad y sexo (Z-score), bien respecto al pico de masa ósea de la población joven sana (T-score) (Figura 3). La estandarización de estos valores debe realizarse, a ser posible, utilizando valores poblacionales válidos, de la misma población estudiada.



**Figura 3:** Representación gráfica y cálculo de T-score y Z-score  
Tomado de Gómez-Alonso [88]

Los criterios diagnósticos de osteoporosis basados en la masa ósea que clasifican a los pacientes de acuerdo al T-score, fueron establecidos por la OMS en 1994 [89]:

1. Normal: T-score mayor de -1.
2. Osteopenia: T-score igual o menor a -1 y mayor de -2,5.
3. Osteoporosis: T-score igual o menor a -2,5.
4. Osteoporosis grave o establecida: cuando la osteoporosis densitométrica se acompaña de, al menos, una fractura por fragilidad.

Se pueden resumir las razones por las que el DXA se ha impuesto como técnica densitométrica de elección [88]:

- Capacidad de examinar sectores anatómicos donde se asientan las fracturas osteoporóticas epidemiológicamente más relevantes (columna vertebral y extremidad proximal del fémur).
- Presenta una excelente precisión que permite el control evolutivo en un plazo razonable.
- La evolución de la masa ósea en dichos sectores con la edad es concordante con la epidemiología de la enfermedad.
- Permite observar la respuesta terapéutica de la masa ósea.
- La exposición radiológica resulta razonablemente baja, prediciendo el riesgo de fractura en cualquier sector anatómico de manera similar a la densitometría periférica.

#### **2.2.2.2. Tomografía Computarizada Cuantitativa periférica (pQTC)**

Previo al desarrollo de los primeros densitómetros DXA también existieron una serie de aparatos de escáner para determinar la masa ósea llamados QCT, que constituye la única técnica tridimensional y volumétrica de la que se dispone para medir la DMO. Dado que aporta una medida volumétrica, los valores que proporciona se expresan en  $\text{mg}/\text{cm}^3$ .

La QCT se desarrolló para cuantificar el CMO y evaluar la pérdida ósea [72,90]. Los QTC son los únicos densitómetros capaces de diferenciar el hueso cortical del trabecular, así al utilizarlos se toma una imagen de un corte transversal delgado a través del cuerpo con lo que la imagen se puede segmentar para dar una medida cuantitativa de la vDMO (a diferencia de DXA) de las vértebras, evaluando el hueso esponjoso independientemente del hueso cortical circundante y las posibles calcificaciones aórticas [91].

En las mediciones de QCT, los perfiles de absorción de rayos X se obtienen cuando la fuente y los detectores giran alrededor del objeto. Las proyecciones de absorción en diferentes ángulos se procesan para reconstruir una ilustración tridimensional del objeto con imagen [92], proporcionando una imagen que se basa en los coeficientes lineales de absorción de rayos X de los tejidos irradiados [72].

La QCT se puede realizar en columna vertebral, generalmente de dos a cuatro vértebras entre T12 y L4 inclusive, en escáneres convencionales de cuerpo entero, o en el esqueleto apendicular en sitios periféricos (radio, tibia) utilizando escáneres periféricos más pequeños y menos costosos (pQCT).

Se ha destacado la importancia de la geometría del hueso cortical como el principal determinante de la resistencia ósea [93–96]. En consecuencia, una determinación adecuada del hueso cortical podría ayudar a identificar individuos susceptibles de sufrir fracturas por fragilidad. A este respecto, pQCT, a pesar de la falta de resolución espacial suficiente para capturar rasgos microestructurales, proporciona una opción razonable para evaluar la geometría real de la sección ósea transversal y separar los compartimientos trabecular y cortical [97].

### 2.2.3. Ultrasonido óseo cuantitativo (QUS)

Los sistemas QUS cuantifican las modificaciones que produce el hueso sobre dos propiedades físicas de las ondas de ultrasonidos [88]:

1) Velocidad de transmisión (SoS) a través del hueso o a lo largo de una superficie ósea, expresada en metros/segundo (m/s). La SoS es proporcional al módulo de elasticidad (módulo de Young, específico de cada material) e inversamente a la densidad. A menor densidad menor SoS.

2) Atenuación de la amplitud de onda (BUA), a través del hueso, expresada en decibelios por megahertzio (dB/MHz). Cuanto mayor sea la densidad o más compleja la estructura a atravesar mayor será la modificación o atenuación que sufra la onda ultrasónica.

Los estudios QUS en falanges, han postulado que Ad-SoS en el hueso compacto está fuertemente relacionada con el grosor cortical y el área cortical, mientras que la atenuación parece estar más estrechamente relacionada con el área del canal medular [72].

El equipo QUS utilizado en este trabajo mide la Ad-SoS a través de falanges, presentando las cualidades ya mencionadas (sencillez de uso, libre de radiación, equipos transportables y bajo costo). Respecto a otros sitios esqueléticos en los que se ha usado QUS, las falanges ofrecen algunas ventajas para estudiar el estado óseo, entre las que se encuentran su capacidad para reflejar una mayor pérdida ósea sistémica y que además, la metáfisis presenta hueso cortical y esponjoso. Cuando se desarrolla osteopenia, el grosor cortical de estos pequeños huesos tubulares disminuye mientras que la cavidad medular se agranda debido a la resorción endosteal del hueso [98]. La metáfisis de las falanges de los últimos cuatro dedos de la mano ha sido investigada utilizando varias técnicas densitométricas periféricas: QUS, DXA y QCT, para evaluar la

asociación entre los parámetros morfométricos de la falange, Ad-SoS, índice de perfil óseo por ultrasonido (UBPI) y estado de fractura espinal, mostrando los resultados que la falange es sensible a los cambios en el tejido óseo que ocurren con el envejecimiento y en presencia de osteoporosis [72]. Y en el caso específico de las técnicas QUS en falanges, se ha sugerido que la sensibilidad de UBPI, Ad-SoS y las variables morfométricas para la discriminación de fracturas espinales eran similares a las de la columna lumbar medida por técnicas de rayos X [99].

## **2.3. DIETA MEDITERRÁNEA**

### **2.3.1. Introducción**

La DM es un patrón de alimentación y un estilo de vida que se desarrolló a lo largo de la historia como consecuencia del cruce de culturas de los países de la cuenca mediterránea. Ha sido la base de los hábitos de alimentación durante el siglo xx en los países mediterráneos, modelo que se va perdiendo progresivamente debido a la globalización de la producción y el consumo y a la homogeneización de costumbres alimentarias en épocas más recientes [100]. Las dietas consumidas por las poblaciones mediterráneas han sido objeto de interés desde la antigüedad, pero ha sido en las últimas décadas cuando las investigaciones se han centrado en sus evidentes beneficios para la salud [101].

Desde los estudios pioneros realizados por Ancel Keys en los años cincuenta, la mayor esperanza de vida observada en los países mediterráneos en comparación con el norte de Europa y Estados Unidos, se ha atribuido en gran parte a la DM [102]. Los investigadores señalaban que el riesgo de enfermedad cardíaca era mucho menor para las personas de toda la región mediterránea [103–105], a pesar de la alta ingesta de ácidos grasos monoinsaturados (MUFAs) presentes en el aceite de oliva, comenzando así la investigación sobre la DM.

La Organización Mundial de la Salud (OMS) patrocinó un estudio acerca de los hábitos alimentarios de la población de siete países de diferentes continentes (Grecia, Italia, Holanda, Finlandia, Estados Unidos, Japón y la antigua Yugoslavia), realizado a lo largo de treinta años y con una participación aproximada de 13.000 personas de 40 a 59 años. El estudio encontró que los hombres de Creta tenían tasas de mortalidad excepcionalmente bajas por enfermedad cardíaca a pesar de su consumo moderado de grasa [104]. La dieta cretense era similar a otras DM

tradicionales consistiendo principalmente en, aceite de oliva, pan, abundantes frutas y verduras, pescado y consumo moderado de productos lácteos y vino. Hay que tener en cuenta que cuando se realizaron estos estudios, el área mediterránea era una zona deprimida económicamente y la mayoría de la población tenía una dieta relativamente restringida, con poca carne y un estilo de vida que a menudo incluía un trabajo físico duro, por lo que las tasas de obesidad eran muy bajas [106]. Así, los beneficios para la salud de la DM reportados se podían relacionar también con un estilo de vida físicamente activo y otras cuestiones sociales y culturales.

Desde que las estadísticas de mortalidad identificaron por primera vez que la población mediterránea vivía más que la de otros países europeos, los investigadores han intentado determinar qué componentes de la DM son los responsables de sus efectos beneficiosos.

Así, desde los años setenta, diversos estudios se centraron en el análisis de los beneficios para la salud de cada uno de los ingredientes de la DM. Sin embargo, este tipo de análisis fue cuestionado al considerar que los alimentos no se consumen de forma aislada y, por tanto, su efecto es sinérgico [107]. Por ello, a finales del siglo pasado los estudios comenzaron a analizar los beneficios saludables de la DM como un patrón dietético global que tiene en cuenta múltiples exposiciones dietéticas simultáneamente [107].

La popularidad de la DM ha ido creciendo en las últimas décadas debido a su vinculación con una mayor longevidad y una menor tasa de enfermedad cardiovascular, cáncer y deterioro cognitivo asociado a la edad [108,109]. La DM es un modelo nutricional basado en las dietas tradicionales de varios países del área mediterránea, particularmente Grecia, sur de Italia, España, Portugal, Chipre y Turquía. Sin embargo, no es realmente una “dieta” en el sentido habitual del término, sino un patrón dietético existente en el área mediterránea desde hace siglos. Además, existen múltiples variaciones en la DM dependiendo de la situación

II. ANTECEDENTES Y ESTADO ACTUAL DEL TEMA

social, económica y política de los diferentes países mediterráneos [106], pero teniendo en cuenta que el patrón común enfatiza el consumo de frutas, verduras, legumbres cocidas, granos enteros y, con moderación, vino, frutos secos, pescado y productos lácteos, especialmente queso y yogur, y el consumo de aceite de oliva como principal fuente de grasa dietética. En contraste con otros patrones dietéticos como la dieta estándar americana, la dieta de la población mediterránea incluye principalmente verduras frescas de temporada en lugar de productos enlatados o importados [106], optando por los productos locales y los métodos culinarios tradicionales.

Además, este patrón dietético introduce otras variables recomendables para una vida saludable, como son la práctica diaria de ejercicio físico, mantener relaciones sociales y familiares y un descanso adecuados, tal y como se muestra en la Figura 4 [100].

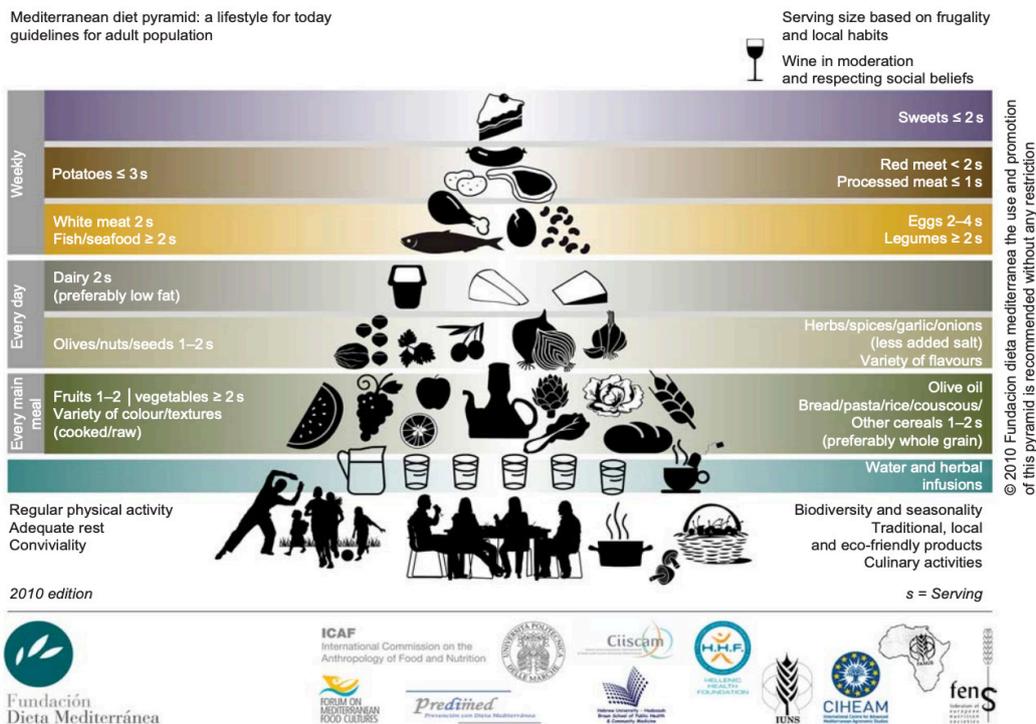


Figura 4: Pirámide de la Dieta Mediterránea.

La protección de la DM frente a las principales causas de muerte tiene una alta credibilidad científica que se ha ido confirmando con los sucesivos estudios en las últimas décadas. El equilibrio y el contenido adecuado de macronutrientes y micronutrientes que están presentes en un patrón general de alimentos compatible con la DM tradicional, pueden explicar algunos efectos beneficiosos sobre el metabolismo relacionados con las principales enfermedades crónicas que conducen a muertes prematuras. Estos mecanismos probables incluyen efectos antioxidantes y antiinflamatorios [110] y prevención del daño endotelial [111].

Asimismo, estos mecanismos están implicados en varias enfermedades, como el asma, la depresión y la demencia, y podrían explicar el efecto beneficioso atribuido a la adherencia a la DM en estas enfermedades [112–114]. Además, una mejor adherencia a la DM se ha asociado con una mejoría de los factores de riesgo tradicionales para la enfermedad cardiovascular. La DM se caracteriza por índices mejorados de homeostasis de la glucosa, reducciones de la presión arterial [115], de obesidad abdominal [116,117] y síndrome metabólico [118], así como niveles más altos de HDL-C [115]. Todo esto podría contribuir a una menor mortalidad general [102].

### **2.3.1.1. Índices de evaluación de adherencia a la Dieta Mediterránea**

Para evaluar la calidad de la DM se han definido diversos índices o scores, teniendo en cuenta las características de las distintas poblaciones, desarrollándose a partir de, alimentos, grupos de alimentos o nutrientes [119].

Entre los métodos desarrollados y validados para evaluar la adherencia a la DM pueden destacarse, el MedDietScore (Mediterranean Diet Score) propuesto por Trichopoulou et al en 2003 [15], el diseñado por el grupo español PREDIMED (PREvención con Dieta MEDiterránea) [120], así como la herramienta propuesta por Panagiotakos et al en 2006, Dietary Score [12].

### **2.3.2. Componentes de la Dieta Mediterránea**

#### **2.3.2.1. Aceite de oliva**

La ingesta dietética de aceite de oliva se ha recomendado como una fuente importante de compuestos fenólicos que desempeñan un papel en la prevención de enfermedades crónicas y en la consiguiente mejora en la calidad de vida [121,122]. Es importante para la salud humana, no solo porque tiene propiedades beneficiosas, sino también porque promueve un elevado consumo de verduras en forma de ensaladas y de legumbres en forma de alimentos cocidos [12].

El aceite de oliva es rico en varios microcomponentes que tienen un potencial antioxidante, y presenta un alto contenido MUFAs [123], por lo que su consumo puede proporcionar beneficios para la salud cardíaca, como efectos favorables en la regulación del colesterol y la oxidación del colesterol LDL, además de ejercer efectos vasodilatadores, antiinflamatorios, antitrombóticos y antihipertensivos [111,124,125]. Uno de los componentes más importantes del aceite de oliva, la oleuropeína, mejora la glucemia posprandial en sujetos sanos a través de un mecanismo mediado por el estrés oxidativo [126].

En los últimos años existe un gran interés en descifrar los principios que rigen la microbiota intestinal (GM) de los individuos debido a sus muchos roles en la salud humana. Estudios recientes [127] sugieren que cuando se utilizó AOV extra de alta calidad rico en polifenoles como principal componente graso de la DM, las bacterias de ácido láctico intestinal respondieron rápidamente aumentando en número. Aunque la interrelación entre nuestros hábitos alimenticios y la estructura de nuestra GM todavía es poco conocida, los datos preliminares sugieren que, en ratones, las grasas saturadas de la dieta en lugar de las grasas no saturadas, modulan indirectamente la composición de la GM y pueden contribuir al desarrollo del síndrome metabólico [128].

Algunos otros aceites de semillas, como el de girasol, soja y colza, comparten ciertas propiedades, sin embargo, el aceite de oliva es un jugo natural con cientos de microcomponentes no grasos de gran importancia biológica, como carotenos, compuestos fenólicos y clorofila [106].

### **2.3.2.2. Frutas y verduras**

Desde hace años, varios estudios observacionales han sugerido que la población que presenta altas ingestas de frutas, verduras y aceite de oliva, que son alimentos ricos en vitaminas C y E,  $\beta$ -caroteno, selenio,  $\alpha$ -tocoferol y flavonoides, experimenta un menor riesgo de enfermedades crónicas.

Se ha demostrado que un alto consumo de frutas y hortalizas frescas protege contra enfermedades del corazón y cáncer, probablemente debido a su contenido en antioxidantes. Estos antioxidantes, incluyendo vitaminas y flavonoides, contribuyen a un efecto antiinflamatorio [129–131]. La ingesta de fibra vegetal también puede ayudar a prevenir la inflamación, ya que existe una asociación inversa entre la ingesta de fibra y la Proteína C Reactiva (PCR) [132,133]. Una mayor frecuencia de ingesta de fruta y verduras se asocia con menores concentraciones de PCR y homocisteína [134].

Los tomates, por su importante presencia en la alimentación de los países mediterráneos, han sido sometidos a un escrutinio especial. Contienen antioxidantes conocidos como la vitamina C, carotenoides, flavonoides y ácidos hidroxicinámicos. Los principales beneficios de la ingesta de tomates, sin embargo, están relacionados con el antioxidante licopeno [135]. El licopeno es un pigmento rojo presente en muchas frutas y hortalizas rojas, aunque la cantidad es mayor en tomates cocidos [136,137], como consecuencia del procesamiento con calor que aumenta su disponibilidad, y preferible cuando dicho procesamiento no es industrial. Los suplementos dietéticos de extracto de tomate o derivados han demostrado mejorar la hipertensión y la enfermedad cardiovascular, proteger la

piel frente el sol (es decir, los rayos ultravioletas) y disminuir el riesgo de muchas enfermedades crónicas como el cáncer [135,138,139].

Las hortalizas de la familia “Brassicaceae”, que engloba a las crucíferas (col o repollo, coliflor, coles de Bruselas, brócoli), nabos, rábanos y mostaza, contienen compuestos bociógenos (glucosinolatos, progoitrina) que han demostrado tener efectos protectores contra el cáncer, por sus efectos antiproliferativos celulares [140]. Brócoli y col tienen además indol-3-carbinol, que en condiciones experimentales ha demostrado prevenir la progresión de diferentes cánceres. Este efecto anticancerígeno podría deberse a la inhibición de la elastasa, ya que los niveles altos de esta enzima se han relacionado con un mal pronóstico del cáncer y una respuesta disminuida a la quimioterapia [141].

### **2.3.2.3. Pescado graso y grasas poliinsaturadas**

El pescado, y en particular el pescado graso como las sardinas y las anchoas, tienen importantes beneficios para la salud. Los pescados grasos son una fuente de grasas poliinsaturadas omega-3 y de derivados complejos de cadena larga. Estas grasas parecen ser particularmente beneficiosas para la salud del corazón por sus propiedades antiinflamatorias y vasodilatadoras. Los ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) omega-3, ácido eicosapentaenoico (EPA) y ácido docosahexaenoico (DHA), son los componentes activos de los peces. Se han detectado bajos índices de muertes por cardiopatía coronaria en poblaciones que consumen grandes cantidades de pescado, aunque su ingesta elevada se ha relacionado con altos niveles de mercurio [142].

La Asociación Americana del Corazón aconsejó el consumo de pescado dos veces por semana en casos de enfermedad cardiovascular conocida [143]. Las directrices europeas respaldan el consumo isocalórico de pescado para la prevención primaria y secundaria de enfermedades cardiovasculares y

posiblemente para la protección contra la arritmia [144]. Por tanto, las dietas con una ingesta moderada de pescado parecen conferir beneficios para las enfermedades cardiovasculares, independientemente de su presencia en la DM [145].

Además, los PUFA omega-3 aumentan la sensibilidad a la insulina y reducen marcadores inflamatorios, así como leucocitos, plaquetas y factor de crecimiento endotelial vascular [146,147].

Por otra parte, algunos investigadores creen que la presencia de SFA en la dieta afecta la memoria y posiblemente aumenta el riesgo de desarrollar la enfermedad de Alzheimer, mientras que la ingesta elevada de ácidos grasos no saturados, MUFAs y PUFA y altos niveles de antioxidantes podrían actuar sinérgicamente para mejorar el rendimiento cognitivo [148]. Los ácidos grasos comprenden aproximadamente una quinta parte del peso seco del cerebro humano, un 20% de estos ácidos grasos se encuentran en forma de omega-3 (DHA), que se concentra en las sinapsis nerviosas y tiene propiedades antiinflamatorias que pueden proteger contra la enfermedad de Alzheimer.

#### **2.3.2.4. *Vino y cerveza***

Existe una extensa bibliografía que demuestra la asociación entre el consumo moderado de alcohol (10-30 g/día) y el menor riesgo de infarto de miocardio o muerte, en estudios basados en poblaciones con alto riesgo de enfermedad cardiovascular o bien en pacientes en prevención secundaria con antecedentes de cardiopatía isquémica [149–156]. Además, se ha demostrado que el consumo moderado de alcohol puede disminuir el riesgo de infarto de miocardio en varones adultos que siguen un estilo de vida saludable, no fumadores, que practican actividad física habitual, con una dieta apropiada y un IMC < 25 [154].

Sin embargo, cada vez hay mayor evidencia científica acerca de la importancia de tener en cuenta el patrón de bebida de la población para establecer si el consumo de las bebidas con alcohol puede ser o no adecuado [149]. En países de la cuenca mediterránea, tradicionalmente el patrón de consumo de bebidas con alcohol es diferente al de los países del norte de Europa, siendo en el primer caso con frecuencia su ingesta regular y moderada durante las comidas, con tiempo para beber espaciadamente o aprovechando el momento de los aperitivos, acciones que son generalmente gratificantes para las relaciones interpersonales [157]. Además, hay que considerar que en la mayoría de las ocasiones, la dieta de los habitantes de estos países suele ser saludable, con un alto consumo de verduras, frutas, frutos secos, legumbres, cereales, pescado y aceite de oliva.

El consumo moderado de vino con las comidas en todo el mediterráneo es frecuente. Se considera que, para los hombres, ese consumo moderado es de dos vasos por día, y para las mujeres un vaso por día.

El vino, y especialmente el vino tinto, contiene una gran variedad de fitonutrientes, entre ellos los polifenoles, que son poderosos antioxidantes, protegiendo frente a las secuelas patológicas del proceso oxidativo. Los polifenoles y la vitamina E son antioxidantes considerados como posibles agentes antiateroscleróticos en la DM. El polifenol resveratrol, presente en las uvas, protege las paredes vasculares de la oxidación, inflamación, agregación plaquetaria y formación de trombos. Puede actuar en múltiples niveles, como la señalización celular, las vías enzimáticas, la apoptosis y la expresión génica [158–160]. Datos recientes muestran que el resveratrol es capaz de inducir la diferenciación neuronal y, por lo tanto, imita la actividad de la neurotrofina. Podría ser de interés en la medicina regenerativa por favorecer la neurogénesis [161].

En cuanto a la cerveza, su contenido en flavonas con efecto estrogen-like, que produce un estímulo positivo sobre los osteoblastos además de aumentar la secreción de calcitonina, favorece una mayor masa ósea en las mujeres,

independientemente de su estado gonadal. Y, aunque está demostrado que con la edad disminuye el consumo de cerveza en las mujeres, se ha visto que aquellas que lo consumían de forma moderada en etapas previas de la vida, presentaban una mejor calidad ósea [162]. Además, su contenido en silicio, calcio, vitamina D, y magnesio, que ayuda en el metabolismo y en la absorción de calcio, y zinc, cobre y manganeso, que estimulan la formación ósea y el desarrollo normal del hueso, hacen que diversos estudios sugieran que el consumo moderado de cerveza es beneficioso para la salud ósea [4,163].

Por otra parte, la bibliografía muestra un efecto cardioprotector de la cerveza, posiblemente debido a una protección vascular que se genera a través de la reducción del estrés oxidativo y la apoptosis [164]. Asimismo, entre las sustancias antioxidantes presentes en la cerveza destacan los polifenoles y el silicio.

#### **2.3.2.5. Cereales integrales**

Se ha descrito por primera vez que el aumento real en el consumo durante 1 año de aceite de oliva virgen (AOV), nueces, legumbres, cereales integrales y pescado, puede conducir a mejoras relevantes en las funciones de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) en sujetos de alto riesgo cardiovascular [165]. Los cereales integrales son una fuente clave de fibra, polifenoles y otros componentes bioactivos que podrían contribuir a explicar estos resultados.

Los beneficios del aumento de ingesta de fibra a partir de cereales integrales parecen estar relacionados con la reducción de la inflamación, la oxidación reactiva, los perfiles de lípidos y la presión arterial [166]. Estudios observacionales han mostrado que los beneficios se extienden a una mejora en el metabolismo de glucosa [167,168], la reducción de peso [169] y las capacidades antioxidantes [170]. Además, las dietas integrales con alto contenido de fibra podrían inhibir la absorción de grasas, carbohidratos simples o toxinas [145].

### **2.3.2.6. Legumbres y nueces**

Las legumbres se consideran alimentos de bajo índice glucémico y una fuente dietética útil de proteínas y fibra. Algunos estudios observacionales han demostrado que la ingesta de legumbres y soja es beneficiosa para prevenir la enfermedad cardiovascular [171]. Así, los datos de las encuestas de los estudios NHANES mostraron una reducción del 11% en la enfermedad cardiovascular en mujeres que consumieron legumbres cuatro o más veces por semana en comparación con las que consumieron legumbres una o menos veces por semana. Estudios realizados en Japón [172] y China [173], han obtenido resultados similares.

Respecto a las nueces, en general, los datos sobre el efecto de su consumo moderado, son positivos. Así, diversos estudios han observado que la calidad de la dieta y la adecuación de nutrientes es mayor en los consumidores de nueces [174,175]. Un reciente trabajo confirma que además de la adecuación de nutrientes y calidad de la dieta, la adherencia a la DM es mayor en los consumidores de nueces que en quienes no lo son [176].

Las nueces tienen un alto contenido de MUFAs y PUFA, fibra soluble, vitaminas como ácido fólico y vitamina E, minerales como Ca, Mg, Cu, Zn, Se y K y compuestos bioactivos como fitosteroles, antioxidantes y compuestos fenólicos, que tanto individualmente como de forma conjunta confieren beneficios para la salud, asociándose su consumo frecuente a un menor riesgo de mortalidad por todas las causas y de forma más específica con una reducción de la mortalidad por enfermedad coronaria [177]. En general, el consumo frecuente de frutos secos podría desempeñar un papel en la reducción del riesgo de enfermedad cardiovascular [176,178].

### **2.3.3. Dieta Mediterránea y enfermedad**

#### **2.3.3.1. Dieta Mediterránea y enfermedad cardiovascular**

La adherencia a la DM tradicional se ha asociado con una reducción en la enfermedad coronaria, cáncer, y mortalidad global [15]. Una de sus características clásicas es mejorar el perfil de riesgo cardiovascular de lípidos [115]. Existen evidencias que muestran que la apolipoproteína (Apo) B y la ApoA-I, y la relación ApoB/ApoA-I, podrían predecir la enfermedad coronaria y el riesgo de accidente cerebrovascular con más precisión que las medidas convencionales de lípidos [179–181].

Entre los aceites de oliva consumidos en la cuenca mediterránea, el AOV (producido por prensa directa o métodos de centrifugación) es el que tiene el mayor contenido de polifenol antioxidante. Se ha detectado una disminución significativa en la relación ApoB/ApoA-I a medida que aumenta la cantidad de AOV que se consume [182]. Los frutos secos también son típicos de la DM. Se ha observado que un aumento en su consumo se asociaba significativamente con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular y niveles más bajos de ApoB en una cohorte de mujeres con diabetes tipo 2 [183].

Se ha demostrado en varios metaanálisis con más de 50.000 y 2.650 pacientes [118,184] que la DM reduce significativamente el riesgo de síndrome metabólico y protege frente a factores de riesgo como la circunferencia de la cintura, los lípidos, la glucosa y la presión arterial, así como que proporciona una reducción más sólida de los factores de riesgo de enfermedad cardiovascular y de los marcadores inflamatorios. De hecho, la DM es comparable a otras intervenciones como la aspirina, las estatinas, la actividad física e incluso los antihipertensivos como los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina

(IECA) o los betabloqueantes en términos de reducción del riesgo de morbilidad, mortalidad y eventos de enfermedades cardiovasculares [145]. Siempre teniendo en cuenta que estas estimaciones están condicionadas por la gran heterogeneidad de los estudios. En cualquier caso, los datos de que se dispone acerca de la influencia de la DM en la reducción de la morbilidad y mortalidad por enfermedades cardiovasculares son sólidos.

La hipercolesterolemia es uno de los factores de riesgo para la enfermedad cardiovascular. Se ha demostrado que una intervención de un año con DM, especialmente cuando está enriquecida con AOV, mejora varias funciones de HDL, como la capacidad de flujo de colesterol, su metabolismo, las propiedades antioxidantes/antiinflamatorias y la capacidad vasodilatadora en individuos con alto riesgo cardiovascular [185]. Asimismo, se ha descubierto que después de consumir aceites de oliva fenólicos el HDL-colesterol (HDL-C) aumenta, mientras que la relación colesterol total/HDL-C (TC/HDL-C) disminuye, produciéndose una disminución concomitante de la relación LDL-C/HDL-C y de triglicéridos [186].

### **2.3.3.2. Dieta Mediterránea y Diabetes mellitus**

Varios estudios han revelado una asociación significativa entre la adherencia a los patrones dietéticos que exhiben características específicas de la DM y la disminución del riesgo de diabetes mellitus tipo 2 (DM2) [187]. Entre los mecanismos de acción responsables de esta relación, parece haber un vínculo causal entre el estrés oxidativo, la inflamación, la disfunción endotelial y la diabetes [188]. En general, los estudios respaldan la relevancia y efectividad de una adherencia a largo plazo a un patrón de DM como una medida importante en la prevención primaria de la DM2 [187].

Además, un patrón de alimentación saludable, como es la DM podría ser un componente clave en el control de la DM2. Un reciente trabajo realizado por el grupo PREDIMED en el marco de los ensayos para la prevención con

DM [189], sometió a los participantes con DM2 a una prolongada intervención (3.2 años) con tres planes: DM suplementada con AOV extra y sin restricción de energía, DM suplementada con nueces, y una dieta baja en grasa como control, observándose que los pacientes con DM2 a los que se asignó el plan de DM suplementada con AOV extra tuvieron tasas significativamente más bajas de iniciación de medicamentos hipoglucemiantes (oral o inyectable), lo que refleja un mejor control de la glucemia en este grupo. Según los autores, el efecto favorable se debió probablemente a la composición general del patrón dietético.

### **2.3.3.3. Dieta Mediterránea y obesidad**

Existen evidencias que indican que la DM puede contrarrestar los efectos perjudiciales de la obesidad central asociada con inflamación crónica de bajo grado [190]. Además, una alta ingesta de PUFAs y MUFAs, asociada a una baja ingesta de ácidos grasos saturados en una DM tradicional, podría ser beneficiosa en la distribución del tejido adiposo central. La literatura publicada en este campo indica que una mayor adherencia a la DM se asocia con una menor adiposidad abdominal en una población mediterránea [191–193]. Asimismo, algunos estudios sugieren que la reducción de la obesidad abdominal puede desempeñar un papel importante en la vía por la cual la adherencia a la DM reduce la resistencia a la insulina y la inflamación [194].

Todavía hay pocos ensayos en humanos que se hayan llevado a cabo para evaluar la eficacia de la DM como tratamiento contra la obesidad al inducir una modificación de las bacterias del ácido láctico. Sin embargo, evidencias recientes indican que la GM desempeña un papel importante tanto en el desarrollo de enfermedades tales como, la obesidad, la enfermedad metabólica y la inflamación, como en el bienestar. Polifenoles dietéticos, como los presentes en el AOV extra de alta calidad, son sustratos que parecen contribuir al mantenimiento de GM, principalmente cepas de *Lactobacillus* y, por tanto, ejercen acciones prebióticas. En los últimos años diversos estudios han respaldado el papel de la GM como un

elemento importante en la regulación de la homeostasis energética y contribuido a revelar el papel potencial de la DM y en concreto, del AOV extra de alta calidad rico en polifenoles, como una posible intervención relacionada con la dieta, para disminuir la inflamación y el estrés oxidativo en la prevención y la rehabilitación, tanto en sujetos normales como con sobrepeso y obesos [127].

#### **2.3.3.4. Dieta Mediterránea y cáncer**

Aunque la mayor parte de los estudios proporcionan evidencias de que la nutrición es un importante factor que influye en la progresión tumoral, la recurrencia o la supervivencia, la mayoría de ellos investigan la composición de macronutrientes o nutrientes específicos en lugar de los patrones dietéticos [187,195].

Así, diversos estudios han mostrado que el consumo de pescado se correlaciona con una reducción del riesgo de cáncer [196]. Además, el AOV tiene efectos antiproliferativos y proapoptóticos *in vitro*, siendo las fracciones fenólicas de este aceite las responsables del efecto anticancerígeno debido a la supresión de enzimas lipogénicas específicas, incluyendo la inhibición de la ácido graso sintasa, una enzima clave en los mamíferos, involucrada en la conversión anabólica de carbohidratos de la dieta en grasa.

Una alta ingesta de alimentos con cereales integrales también reduce el riesgo de tumores malignos en todas las localizaciones excepto tiroides [197], y especialmente de algunos tipos de cáncer gastrointestinal. Parece que el consumo de cereales integrales protege contra el riesgo de cáncer colorrectal y pólipos, otros cánceres del tracto digestivo, cánceres relacionados con hormonas y cáncer de páncreas [198]. Una revisión sistemática de estudios de casos y controles realizada en el norte de Italia entre 1983 y 1996 indicó que una mayor frecuencia en el consumo de cereales integrales se asociaba con un menor riesgo de cáncer [197].

Los resultados del estudio EPIC de cohorte prospectivo multicéntrico diseñado para investigar la relación entre nutrición y cáncer, indicaron que una mayor adherencia a un patrón dietético mediterráneo se asocia con una reducción del riesgo de cáncer en los países mediterráneos y no mediterráneos, con un efecto protector algo mayor entre los fumadores y frente a los cánceres relacionados con el tabaco [199]. Asimismo, un metaanálisis publicado en 2017 [200] encontró que la mayor adherencia a la DM se asociaba inversamente con un menor riesgo de mortalidad por cáncer, y específicamente de cáncer gástrico, de hígado, de cabeza y cuello, de próstata, y especialmente cáncer colorrectal, encontrando además por primera vez una pequeña disminución en el riesgo de cáncer de mama (6%) al agrupar siete estudios de cohortes.

#### **2.3.3.5. Dieta Mediterránea y masa ósea**

La asociación del patrón dietético mediterráneo con la salud ósea se ha examinado en los últimos años. Varios autores han indicado que la baja incidencia de osteoporosis en los países mediterráneos podría explicarse por la dieta [201,202]. Se ha estudiado el posible efecto beneficioso de algunos de sus componentes, como las frutas, las verduras y el pescado sobre la masa ósea [9,17], sin embargo, la asociación de la DM con el riesgo de fracturas aún no está claro [18,19].

Se han realizado estudios para analizar esta asociación en países del área mediterránea, así como en otros países europeos e incluso en algunos tan alejados como China, evaluando la relación entre adherencia a la DM y masa ósea y riesgo de fracturas. Para evaluar la adherencia a la DM se han desarrollado y validado ampliamente varios métodos, como ya hemos comentado anteriormente. Teniendo en cuenta la disparidad de costumbres en cuanto a alimentación y acceso a determinados productos característicos de la DM según las zonas geográficas, en algunos casos se han utilizado “adaptaciones” de algunas de estas herramientas [203].

La DM podría prevenir la osteoporosis según distintos mecanismos de acción, por ejemplo, a través de una ruta antiinflamatoria. Se ha relacionado la sobreproducción de citoquinas proinflamatorias, como PCR e interleucina-6, con mayores tasas de reabsorción ósea osteoclástica y, por tanto, con un mayor riesgo de osteoporosis [204]. Una mayor adherencia a la DM se ha asociado con menores concentraciones de estas citoquinas proinflamatorias [111,205,206]. Además, la DM puede proporcionar resistencia a la oxidación contra el estrés oxidativo y las especies reactivas de oxígeno (ROS) [207], que inhiben la diferenciación de las células osteoblásticas y desempeñan un papel importante en el desarrollo de la osteoporosis [208].

Dado que la DM incluye frutas, verduras, aceite de oliva, granos enteros, nueces, semillas, etc, hemos de considerar que todos estos alimentos pueden influir en el proceso de inflamación y en el reciclaje de minerales y proteínas del hueso.

Parece que una ingesta diaria baja de frutas y verduras se asocia con un mayor riesgo de fractura de cadera en comparación con la ingesta moderada de estos alimentos [209]. Sin embargo, en el análisis de un patrón dietético, los efectos de los componentes individuales son difíciles de aislar y, por lo tanto, difíciles de interpretar. El interés en centrarse en el efecto individual de las frutas y verduras en la prevención de fracturas de cadera es importante porque su consumo se recomienda para prevenir otras enfermedades crónicas importantes, como las enfermedades cardiovasculares y las neoplasias malignas [209,210].

Se han propuesto varios mecanismos biológicos subyacentes para explicar los efectos beneficiosos potenciales de las verduras y frutas en la prevención de fracturas [211–214]. Algunos componentes de estos alimentos son antioxidantes (por ejemplo, vitaminas A, C, E y K, y carotenoides) y tienen propiedades antiinflamatorias (por ejemplo, flavonoides), que parecen estar involucrados en la

secuencia de remodelación ósea [211] o en la respuesta inflamatoria del organismo [212,213]. Tanto el estrés oxidativo como la inflamación han sido implicados en la patogénesis de la pérdida ósea [213,214].

En cualquier caso, los beneficios para la salud de las frutas y verduras parecen atribuirse a los efectos sinérgicos de sus componentes bioactivos y su interacción con alimentos integrales, así como a las cantidades consumidas, y no a la ingesta de nutrientes individuales. Por otra parte, hay que destacar la alta ingesta de frutas y verduras en todo el Mediterráneo, en general cultivadas localmente, así como su variedad y su contenido diverso en fibras dietéticas, fitoestrógenos, antioxidantes y otros micronutrientes, que pueden ejercer distintos efectos sobre la masa ósea [201].

La DM enriquecida con aceite de oliva se ha asociado con un aumento de los niveles séricos de OC y propéptido amino-terminal del marcador de remodelación ósea, lo que sugiere también un papel protector de esta dieta en la salud ósea [215]. El aceite de oliva contiene compuestos fenólicos que incluyen fenoles simples (por ejemplo, hidroxitirosol, tirosol, ácido cafeico, ácido vanílico, ácido p-cumárico, ácido ferúlico y vainillina), flavonoides (por ejemplo, luteolina y apigenina), y otros, como los derivados de oleuropeína, ligstroside, ligustalósido, verbascósido, y lignanos que pueden afectar positivamente la salud ósea [216,217]. Se ha sugerido que el aceite de oliva, probablemente a través de sus compuestos fenólicos, puede favorecer el mantenimiento de la densidad ósea [122,216], por un mecanismo que implica una mayor formación de hueso, inhibición de la reabsorción ósea y, probablemente, disminuyendo tanto el estrés oxidativo como la inflamación [218].

Se ha estudiado también la relación entre la ingesta de grasas y el riesgo de fracturas ostoporóticas, observándose asociación entre la ingesta de SFA y un mayor riesgo de pérdida de masa ósea y de fracturas osteoporóticas [202,219], efecto que se ha visto también en mujeres jóvenes [202,220].

Sin embargo, las grasas MUFAs tienen un efecto positivo sobre la salud ósea, incluso un alto ratio MUFAs/SFA presenta efectos beneficiosos sobre la masa ósea en mujeres premenopáusicas [202]. Sin embargo, se ha visto en estudios realizados en España que las mujeres jóvenes tienen con mayor probabilidad dietas con bajas cantidades de grasas MUFAs y, por tanto, poco beneficiosas para la salud ósea [221].

Por otra parte, se ha asociado un alto consumo de carne y carne procesada con un incremento en la incidencia de fractura de cadera respecto a un bajo consumo de estos alimentos [18]. Esto se ha relacionado con el posible efecto perjudicial que dietas altas en proteínas podrían tener sobre la salud ósea [222]. Se ha postulado que estas dietas inducen acidosis metabólica que produce una reabsorción ósea activa debido a la acumulación de tampón, menos reabsorción de calcio de los riñones y, en consecuencia, aumento de la excreción de calcio en la orina. Sin embargo, existen también evidencias de que la ingesta proteica, en realidad aumenta la absorción intestinal de calcio y los niveles séricos del IGF-1, (hormona con efecto anabólico sobre la masa ósea) y disminuye los niveles séricos de PTH para compensar los efectos negativos causados por la carga ácida proteica [223].

El interés de los estudios publicados acerca de este tema se centra en investigar la asociación entre adherencia a la DM y remodelamiento óseo, DMO e incidencia o riesgo de fracturas. Hay que tener en cuenta la variedad de “modelos” de DM estudiados según zonas geográficas y las modificaciones consecuentes en las herramientas utilizadas en la evaluación de la adherencia a la DM. Aún así, gran parte de los trabajos publicados coinciden en concluir que una mayor adherencia a un patrón dietético mediterráneo resulta beneficiosa para la salud ósea y para prevenir el riesgo de fracturas.

Una parte importante de estos estudios se han llevado a cabo en mujeres postmenopáusicas y en población anciana, muchos han correlacionado

adherencia a la DM e incidencia de fracturas o han evaluado la DMO parcialmente con ultrasonidos en calcáneo, por ejemplo. Es evidente que realizar estudios a gran escala con la considerada técnica “gold standard” que es el DXA, resulta complicado y costoso. Es por eso por lo que consideramos que este trabajo, realizado en una zona de tradición nutricional mediterránea, en población poco estudiada como es la de las mujeres premenopáusicas, en las que aún hay tiempo de realizar intervenciones encaminadas a prevenir la osteoporosis, y con tres técnicas de evaluación de la masa ósea ampliamente contrastadas, QUS óseo en falange, pQCT en radio distal y DXA en columna y cadera, nos permite un acercamiento profundo a un tema de salud de gran interés.



III.

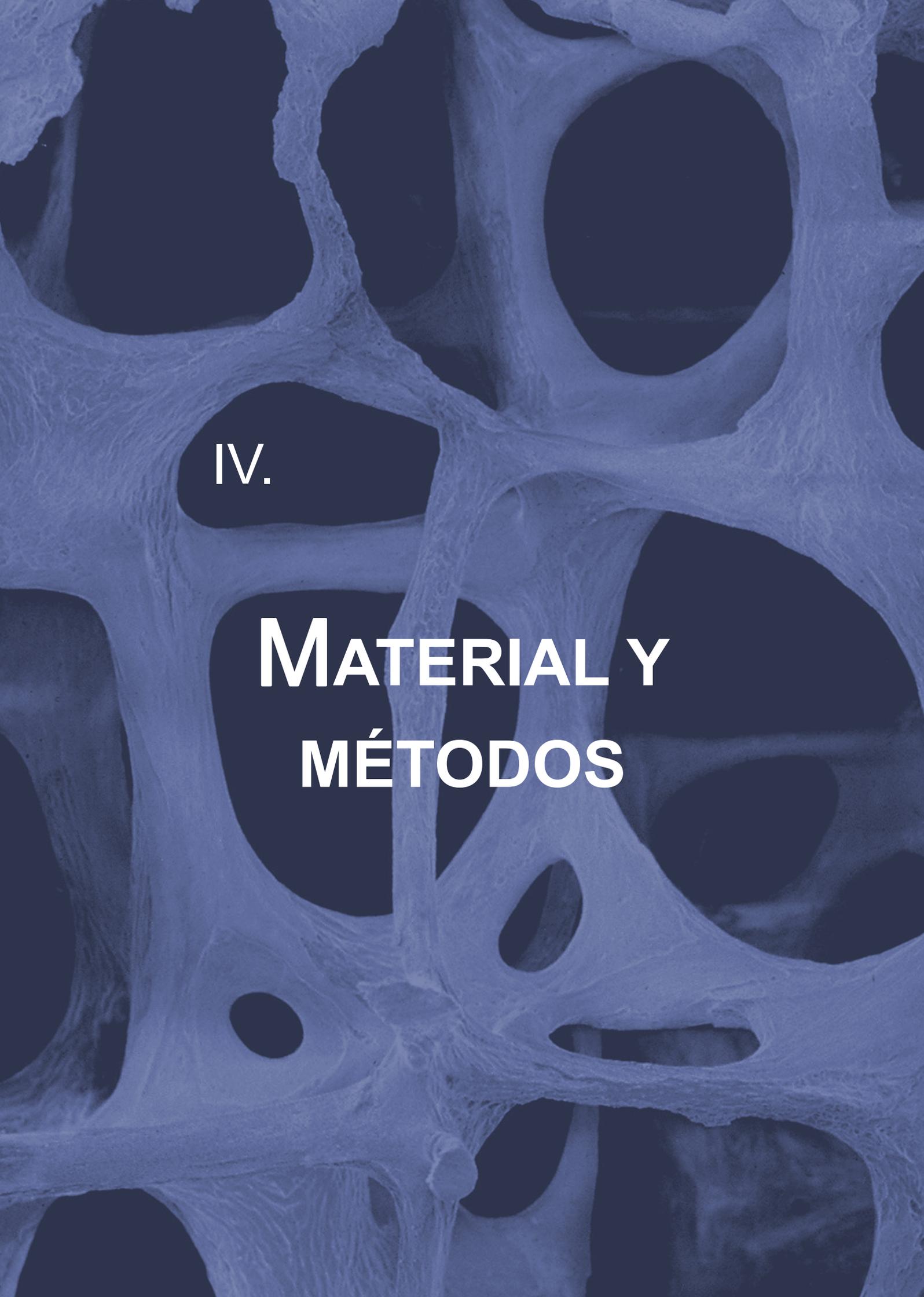
# OBJETIVOS



Los objetivos del presente estudio fueron:

1. Determinar la relación entre el grado de adherencia a la DM y la masa ósea valorada mediante DXA, pQCT y QUS en mujeres premenopáusicas de Extremadura.
2. Evaluar la asociación entre el grado de adherencia a la DM y los parámetros de composición corporal medidos por bioimpedancia eléctrica en mujeres premenopáusicas de Extremadura.





IV.

# MATERIAL Y MÉTODOS



#### **4.1. MUESTRA DEL ESTUDIO**

Se han estudiado un total de 442 mujeres premenopáusicas sanas de la Comunidad Autónoma de Extremadura, en los laboratorios del GIEMO del Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura, entre los años 2014 y 2017. La edad media de las participantes fue de  $42.73 \pm 6.67$  años. A todas las mujeres les fue requerido el consentimiento informado (ANEXO 1, página 207) y se contó con el informe favorable del Comité de Bioética de la Universidad de Extremadura para la investigación, de acuerdo a la Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica mundial (AMM, 1975).

##### **4.1.1. Criterios de inclusión:**

- Mayoría de edad.
- Encontrarse en situación de premenopausia confirmada (11-13 ciclos menstruales/año).
- Capacidad para cumplimentar la encuesta dietética y registrar la ingesta de alimentos durante, al menos, una semana.
- Consentimiento informado por escrito de la voluntariedad de participar en el estudio.

##### **4.1.2. Criterios de exclusión:**

- Encontrarse en situación de menopausia.
- Mujeres embarazadas.
- Existencia de contraindicaciones para la realización del estudio densitométrico.
- Ser portadora de marcapasos o prótesis metálica.
- Realización de densitometría en el último año.
- Tomar medicamentos o padecer alguna enfermedad o anomalía asociada al metabolismo mineral que pudiera interferir con el metabolismo del calcio.

#### **4.2. DISEÑO DEL ESTUDIO**

Se realizó un estudio transversal-observacional. La metodología seguida fue la siguiente:

1. Obtención de datos demográficos, antropométricos, dietéticos, antecedentes personales de fracturas, historia hormonal y reproductiva, estilo de vida, encuesta dietética y de adherencia a la DM.
2. Estudio densitométrico mediante DXA en cuello femoral, trocánter y triángulo de Ward's y en columna lumbar (segunda vértebra lumbar-cuarta vértebra lumbar) (L2-L4), pQCT en antebrazo no dominante y QUS en falange.
3. Procesamiento y análisis estadístico de los datos.

### **4.3. HISTORIA PERSONAL**

Todas las participantes del estudio fueron entrevistadas con el objetivo de recoger información para su historia clínica. Se utilizó un modelo de historia personal (ANEXO 2, página 208) en el cual se recogieron las siguientes variables:

- Edad.
- Edad de menarquia.
- Número de embarazos.
- Número de hijos.
- Lactancia acumulada (meses): definida como la suma del tiempo de lactancia de todos los hijos de la participante.
- Hábito tabáquico:
  - No fumadora.
  - < 5 cigarrillos/día.
  - $\geq 5$  y <10 cigarrillos/día.
  - $\geq 10$  y < 20 cigarrillos/días.
  - $\geq 20$  cigarrillos días.
- Actividad física: Se cuantificó mediante la respuesta a la siguiente pregunta [224]: ¿Cuánto ejercicio físico realiza en su tiempo libre?
  - Sedentaria (leer, ver la televisión)
  - Moderada (caminar, montar en bicicleta y hacer ejercicio de otras maneras al menos 4 horas por semana)
  - Activa (realizar deporte al menos tres veces por semana)
  - Deporte de competición

- Características clínicas:

- Hipertensión arterial (HTA): diagnóstico previo de HTA y/o tratamiento farmacológico antihipertensivo.
- Hipercolesterolemia: diagnóstico previo de dislipemia y/o tratamiento farmacológico hipolipemiente.
- Diabetes mellitus: diagnóstico previo de DM según criterios de la ADA (American Diabetes Association) y/o tratamiento hipoglucemiante.
- Hipotiroidismo: diagnóstico previo de hipotiroidismo y/o tratamiento farmacológico con levotiroxina.
- Histerectomía: historia previa de histerectomía parcial.
- Otras enfermedades: migrañas, mialgias, depresión...

#### **4.4. PROCEDIMIENTOS DE MEDIDA**

##### **4.4.1. Peso, Talla e IMC**

La altura se valoró mediante un estadiómetro tipo Harpenden y el peso en una balanza biomédica de precisión. El IMC fue calculado dividiendo el peso en kilogramos (kg) por el cuadrado ( $m^2$ ) de la talla ( $kg/m^2$ ).

##### **4.4.2. Estudios de Composición Corporal mediante BIA.**

Los estudios se realizaron con un equipo de BIA modelo Body Composition Analyzer BC-418MA® de TANITA (Tokio, Japón). Este dispositivo analiza la composición corporal por segmentación (tronco y extremidades) mediante sus 8 electrodos. De este modo, la lectura segmentada de la masa corporal proporciona un análisis detallado para: pierna derecha, pierna izquierda, brazo derecho, brazo izquierdo y tronco, calculando el porcentaje de grasa corporal, masa magra y agua, al mismo tiempo que el IMC y la Tasa de Metabolismo Basal (TBM), en base al principio de que la corriente eléctrica atraviesa a diferentes velocidades el cuerpo, dependiendo de su composición.



**Figura 5.** Equipo TANITA BC-418MA. Tanita corporation. Tokio. Japón.

#### 4.4.3. Encuesta dietética

Para evaluar los hábitos alimentarios de las mujeres estudiadas, se utilizó un cuestionario de consumo de alimentos que incorpora 131 ítems, los cuales recogen la ingesta de alimentos durante siete días [4]. La ingesta semanal de nutrientes fue transformada mediante “Tablas de composición de alimentos” [225]. Con el objetivo de facilitar el interrogatorio, todos los alimentos fueron codificados en forma de raciones de uso normalizado. En el ANEXO 3 (página 209) se muestra un ejemplo de la primera página del cuestionario utilizado.

#### **4.4.4. Valoración de la adherencia a la Dieta Mediterránea**

La adherencia a la DM se evaluó mediante el cuestionario propuesto por Panagiotakos et al en 2006 [12]. Esta herramienta valora la dieta según el consumo semanal de los siguientes 9 grupos de alimentos: cereales no refinados (pan integral y pasta, arroz integral, etc.), frutas, verduras, legumbres, patatas, pescado, carne y productos cárnicos, aves de corral, productos lácteos enteros (como queso, yogur, leche), así como ingesta de aceite de oliva y alcohol. Esta herramienta en base a la ingesta sugerida utiliza funciones monótonas (a excepción de la ingesta de alcohol) para registrar la frecuencia de consumo de estos alimentos. En particular, asigna una calificación individual (de 0 a 5 o al revés) a cada uno de los grupos de alimentos según su posición en la pirámide de la DM.

Para el consumo de alimentos que se presume que están próximos a este patrón (es decir, los que se sugiere un consumo diario o de más de 3 raciones por semana; por ejemplo, cereales no refinados, frutas, verduras, legumbres, aceite de oliva, pescado y patatas), se asigna una puntuación de 0 cuando el sujeto refiere no consumirlo y puntuaciones de 1 a 5 para consumo de poco frecuente a diario (en la Tabla 2 aparecen la puntuación y puntos de corte). Las patatas, aunque no están en la base de la pirámide de la DM, se incluyen en este grupo de alimentos ya que son una buena fuente de vitaminas C, B1 y B2, niacina, carbohidratos, fibra, potasio y magnesio, que se han asociado con marcadores de riesgo de enfermedad cardiovascular en estudios previos [226].

Por otro lado, para el consumo de alimentos presuntamente alejados de este patrón de dieta (es decir, poco frecuente o consumo mensual; carne y productos cárnicos, aves de corral y productos lácteos enteros) asignamos las puntuaciones en una escala inversa (es decir, desde 5 cuando alguien informó que no hubo consumo a 0 cuando se informó de consumo casi diario). Especialmente,

para el alcohol no usamos una función monótona, pero asignamos puntuación 5 para el consumo de menos de 300 ml de alcohol por día, puntuación 0 para no consumo o para el consumo >700 ml por día y puntuaciones de 4 a 1 para consumo de 300-400, 400-500, 500-600 y 600-700 ml por día (100 ml tienen 12 g de concentración de etanol). Por lo tanto, la puntuación total varía de 0 a 55.

La Tabla 2 ilustra el sistema de puntuación utilizado. Los valores más altos de la puntuación dietética sugerida indican una mayor adherencia a la DM. Para este estudio estratificamos a nuestra población en terciles según la puntuación obtenida en el cuestionario de adherencia a la DM, donde Tercil 1 = Baja adherencia a la DM (<29), Tercil 2 = Media adherencia a la DM (>29 y <32) y Tercil 3 = Alta adherencia a la DM (>32).

**Tabla 2.** Puntuación de la Dieta Mediterránea

Con qué frecuencia consume	Frecuencia de consumo: raciones a la semana u otras formas					
<b>Cereales no refinados (pan integral y pasta, arroz integral)</b>	Nunca	1-6	7-12	13-18	19-31	>32
<b>Patatas</b>	0	1	2	3	4	5
<b>Frutas</b>	Nunca	1-4	5-8	9-12	13-18	>18
<b>Verduras</b>	0	1	2	3	4	5
<b>Legumbres</b>	Nunca	1-4	5-8	9-15	16-21	>22
<b>Pescado</b>	0	1	2	3	4	5
<b>Carne roja</b>	Nunca	1-6	7-12	13-20	21-32	>33
<b>Aves de corral</b>	0	1	2	3	4	5
<b>Lácteos enteros (leche, yogur, queso)</b>	Nunca	<1	1-2	3-4	5-6	>6
<b>Uso de aceite de oliva (veces a la semana)</b>	0	1	2	3	4	5
<b>Bebidas alcohólicas (ml/día, 100 ml=12 g de etanol)</b>	Nunca	<1	1-2	3-4	5-6	>6

Adaptado de Panagiotakos et al, 2006 [12]

#### 4.4.5. Evaluación de la masa ósea

##### 4.4.5.1. Estudio densitométrico óseo mediante Absorciometría Dual de Rayos X

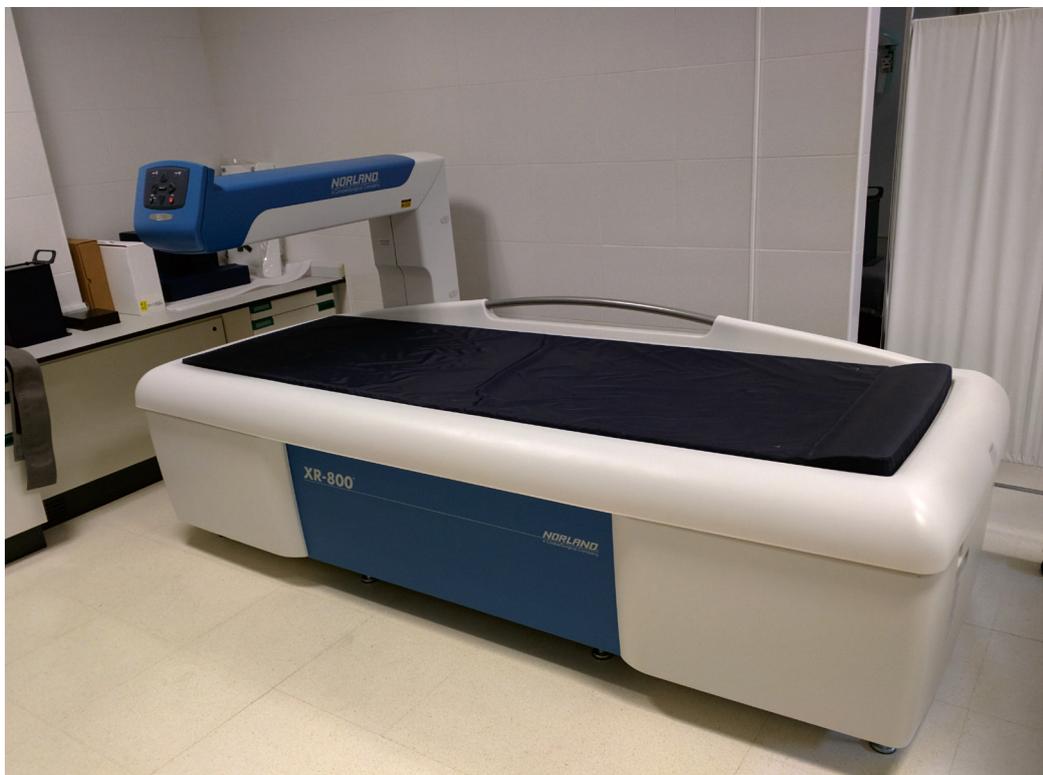
A todas las mujeres participantes en el estudio se les hicieron valoraciones de los niveles de DMO utilizando DXA a nivel de columna lumbar (L2-L4), cuello femoral, trocánter y triángulo de Ward.

El densitómetro determina el CMO (g) y el área (cm<sup>2</sup>) en las localizaciones anteriormente descritas. De esta manera permite calcular automáticamente la DMO en g/cm<sup>2</sup>. Para cada mujer se calcularon las puntuaciones T-score y Z-score correspondientes. El T-score consiste en una comparación del valor promedio de la DMO del paciente con una muestra de sujetos sanos de referencia del mismo sexo y etnia. Este índice es utilizado habitualmente para calcular el riesgo de desarrollar una fractura en un sujeto determinado. Las puntuaciones Z-score reflejan el número de desviaciones estándar de un paciente con un valor promedio de DMO diferente del valor promedio para su edad, sexo y etnia. Estos valores son utilizados habitualmente en mujeres premenopáusicas.

Los criterios diagnósticos de osteoporosis basados en la masa ósea, que clasifican a la población de acuerdo con el T-score, fueron establecidos por la OMS en 1994 [89]:

1. **Normal:** T-score mayor de -1.
2. **Osteopenia:** T-score igual o menor a -1 y mayor de -2.5.
3. **Osteoporosis:** T-score igual o menor a -2.5.
4. **Osteoporosis grave o establecida:** cuando la osteoporosis densitométrica se acompaña de, al menos, de una fractura por fragilidad.

El equipo utilizado fue un absorciómetro óseo modelo NORLAND XR-800R®, (Norland Corp®, Fort Atkinson, Wisconsin, USA), calibrado de acuerdo a las instrucciones del fabricante.



**Figura 6:** Densitómetro Norland XR-800R®, en las instalaciones del GIEMO.

Las imágenes obtenidas fueron procesadas mediante el software propio del densitómetro y almacenadas en el ordenador. El control de calidad que se utilizó para determinar el coeficiente de variación intrínseco del aparato fue un calibrador diseñado específicamente para el absorciómetro, escaneándose previamente a la realización de densitometrías.

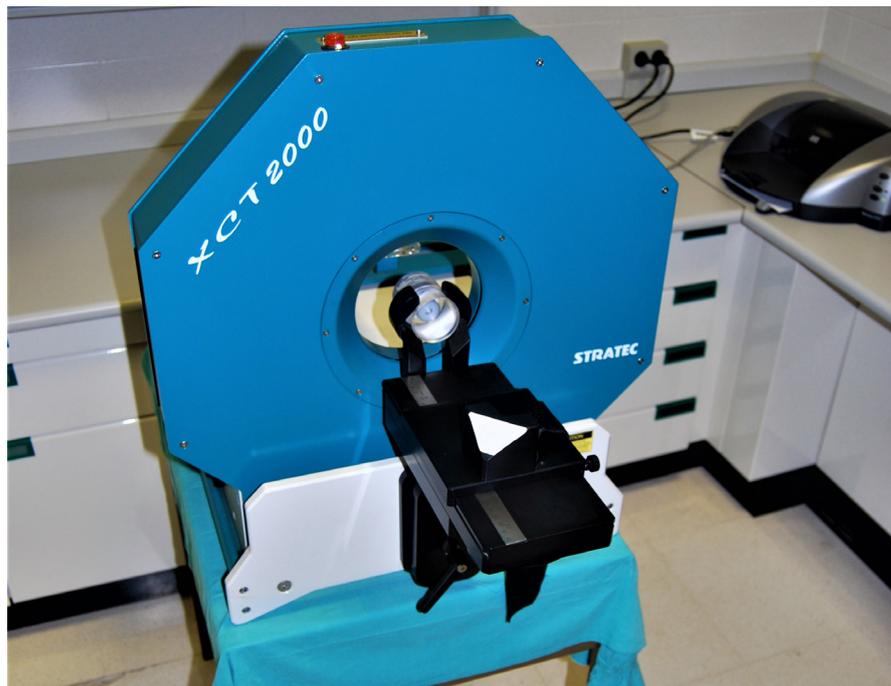
El equipo DXA envía un haz delgado e invisible de dosis baja de rayos X con dos picos de energía distintos a través de los huesos que son examinados. Un pico es absorbido principalmente por el tejido blando y el otro por el tejido óseo. La cantidad de tejido blando puede sustraerse del total y lo que resta es la DMO del paciente. El dispositivo utilizado está compuesto por una camilla donde se coloca al paciente, debajo de la cual se encuentra la fuente de rayos X. Por encima del paciente y en la misma línea de emisión de la fuente radioactiva, se ubican los detectores que realizan el barrido de la zona indicada. Este equipo está conectado a un ordenador con un software específico para interpretar los datos emitidos por el escáner: computa y visualiza las mediciones de densidad ósea. Todas las mediciones de la DMO fueron realizadas por el mismo investigador y utilizando el mismo absorciómetro.

Los datos de salida del absorciómetro aparecen detallados en el ANEXO 4 y ANEXO 5 (páginas 210 y 211 respectivamente).

#### ***4.4.5.2. Estudio densitométrico óseo mediante Tomografía Computarizada Cuantitativa periférica***

La pQCT es un método de estudio que aplicando rayos-X en cortes multiseccionales (escáner), reconstruye volumétricamente la distribución de densidades en el hueso. De esta manera, la DMO se presenta en  $\text{mg}/\text{cm}^3$  (densidad volumétrica).

Utilizamos un dispositivo Stratec XCT-2000 (Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Germany), para cuantificar DMO cortical, trabecular y conjunta en radio distal del antebrazo no dominante. Además, permite calcular la resistencia ósea a la rotura y torsión expresándolo como el índice de resistencia a la tensión axial y polar.



**Figura 7.** Equipo Stratec XCT-2000 en las instalaciones del GIEMO.

Realizamos la exploración en radio distal (principalmente hueso trabecular) del antebrazo no dominante, para aislar el fenómeno puramente metabólico y no estar influido por el estrés o componentes biomecánicos a los que están sometidos otros huesos del esqueleto. El procedimiento es fácil y cómodo para el paciente, empleándose en total unos 7 minutos. Por otro lado, no requiere ninguna instalación de protección radiológica dado que las dosis están localizadas en el lugar de la exploración y son prácticamente despreciables.

El antebrazo distal se coloca en pronación en el escáner y se realiza un escaneo exploratorio. Las mediciones se realizaron en sitios que correspondían al 3.6% y al 4% de la longitud del antebrazo desde la línea de referencia, proximal a la metáfisis del radio distal.

Después del posicionamiento, el equipo realiza automáticamente una QCT de la zona elegida, y una vez concluida ésta, se realiza la sustracción automática, por la que obtenemos los datos de densidad volumétrica trabecular, cortical y conjunta (ANEXO 6, página 212).

#### **4.4.5.3. Estudio densitométrico óseo mediante ultrasonido cuantitativo de falange.**

Los estudios se realizaron con un equipo de ultrasonidos modelo DBM Sonic Bone Profiler® de IGEA (Capri, Italia), que mide la Ad-SoS en m/s en las falanges (II-V) de la mano no dominante, valorando la condición relativa del hueso respecto a una población de referencia. Se trata de un equipo que por su diseño y dimensiones es sencillo de manejar y fácilmente transportable.



Figura 8. Equipo DBM Sonic Bone Profiler® de IGEA en las instalaciones del GIEMO.

Consta de una unidad central de medición integrada, informatizada mediante software (Windows®), transductor, cables de conexión y fantoma para calibración del aparato.

Dado que no es posible realizar una medida de tejido óseo exclusivamente, ya que el sonido además de atravesar el hueso debe pasar necesariamente a través del tejido blando, el equipo está preparado para realizar una corrección automática de la influencia del tejido blando en la medida. Para ello debemos medir en primer lugar la SoS en el tejido blando del paciente y dependiendo de esta medida, el equipo introducirá el factor de corrección adecuado.

La medida en tejido blando se realiza situando el calibre entre los dos primeros metacarpianos y utilizando un gel de ultrasonidos en los transductores para conseguir un buen contacto. Se comprime levemente y una vez que se estabiliza la curva, el equipo toma la medida como referencia.

La medida en tejido blando se realiza situando el calibre entre los dos primeros metacarpianos y utilizando un gel de ultrasonidos en los transductores para conseguir un buen contacto. Se comprime levemente y una vez que se estabiliza la curva, el equipo toma la medida como referencia.

Seguidamente hacemos la medición en tejido óseo, aplicando también gel de ultrasonidos en la metáfisis distal de la primera falange de los dedos II a V de la mano no dominante. En la pantalla aparecen unas curvas y una barra vertical (Trigger) que se sitúa automáticamente en el primer pico que representa al tejido óseo. Cuando la barra del trigger se estabiliza respecto del eje del tiempo (eje de ordenadas), el equipo empieza a realizar las medidas de velocidad (un total de 24, seleccionando como válida la de mayor valor). Tras repetir el procedimiento en los dedos II a V, el equipo almacena los valores medidos y calcula automáticamente la velocidad media en m/s. Además de la velocidad media, también se obtienen los valores de T-score y de Z-score. Todas las mediciones fueron realizadas por el mismo investigador.

Asimismo, el equipo muestra en imágenes el área cortical estimada y los parámetros físicos de la onda de ultrasonidos, además del UBPI (Ultrasound Bone Profiler Index) y Tiempo de transmisión ósea (BTT).

El UBPI (en unidades de probabilidad) es un índice derivado del análisis de una base de datos de medidas que, a través de la optimización de la capacidad para distinguir entre individuos con fractura de aquellos que no la sufren, proporciona una estimación de la probabilidad para que el sujeto presente una fractura osteoporótica.

El BTT (en microsegundos) es un parámetro extraído del rastro gráfico por medio del análisis de la onda ultrasonográfica al atravesar la falange. Y al contrario que el Ad-SoS, refleja las propiedades óseas independientemente de los efectos sobre el tejido blando, por lo que es el parámetro elegible para seguir el efecto de las terapias en un paciente de forma específica.

#### **4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Todos los valores fueron expresados como media  $\pm$  desviación típica, frecuencias y porcentajes. Se confirmó la distribución normal de los datos mediante la prueba Kolgomorov-Smirov de bondad de ajuste antes de aplicar las pruebas estándar. La homocedasticidad de los datos fue comprobada mediante el test de Levene.

Se compararon los parámetros (variables continuas) para cada subgrupo (variables nominales) utilizando el análisis de varianza (two-way ANOVA) o la prueba de Kruskal-Wallis. Para comparar la diferencia de grupos se utilizó la prueba post-hoc de diferencia de medias entre grupos de Bonferroni o Tamhane. Los resultados fueron ajustados mediante el análisis de la covarianza (ANCOVA). Las variables de ajuste fueron las siguientes: edad, edad de menarquia, IMC, energía, ingesta de calcio, ingesta de vitamina D, actividad física y consumo de tabaco. La prueba chi-cuadrado de Pearson se utilizó para comparar variables categóricas. Se realizó un análisis de regresión lineal (usando el método paso a paso) para examinar si las variables de ajuste fueron predictivas para los valores de masa ósea. Para todas las pruebas estadísticas, nuestro umbral de significación fue  $p < 0.05$ .

Para la realización de todas las pruebas estadísticas se utilizó el software IBM SPSS® Statistics 24 (Statistical Package for the Social Sciences).





V.

# RESULTADOS



### 5.1. ANÁLISIS DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se estudió un total de 442 mujeres premenopáusicas con edades comprendidas entre los 16 y 58 años. En la Tabla 3 se recogen los datos descriptivos referentes a características biológicas y antropométricas de las participantes en el estudio.

**Tabla 3.** Características biológicas y antropométricas de la población de estudio.

	Media $\pm$ SD	Mínimo	Máximo
Edad (años)	42.73 $\pm$ 6.67	18.00	58.00
Edad de menarquia (años)	12.64 $\pm$ 1.36	8.00	18.00
Embarazos (n)	1.74 $\pm$ 1.21	0.00	7.00
Hijos (n)	1.54 $\pm$ 1.00	0.00	5.00
Lactancia acumulada (meses)	5.35 $\pm$ 6.47	0.00	54.00
Peso (kg)	63.14 $\pm$ 8.67	41.70	88.90
Talla (cm)	1.59 $\pm$ 0.05	1.40	1.76
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24.80 $\pm$ 3.07	17.59	31.88

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

La Tabla 4 describe el consumo de tabaco y la práctica de actividad física por parte de las mujeres estudiadas. La mayoría de las participantes no eran fumadoras (68.6%) y un gran número se consideraban sedentaria (42.1%)

**Tabla 4.** Consumo de tabaco y actividad física en la población de estudio.

	n	%
<b>Fumadoras</b>	139	31,4%
<b>Cantidad de cigarrillos/día</b>		
No fumadora	303	68.6%
< 5 cig/día	29	6.6%
5-10 cig/día	44	10%
11-20 cig/día	44	10%
<20 cig/día	22	5%
<b>Actividad física</b>	256	57.9%
Sedentaria	186	42.1%
AF Moderada	100	22.6%
AF Activa	156	35.3%

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.

Las características clínicas de las participantes se muestran en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Características clínicas de la población de estudio

	n	%
Hipertensión	14	3,2%
Hipercolesterolemia	34	7,7%
Diabetes	7	1,6%
Hipotiroidismo	38	8,6%
Histerectomía	11	2,5%
Otras enfermedades	42	9,5%

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.

La puntuación media obtenida en la valoración de la adherencia a la DM mediante el cuestionario MED Score fue de  $30.53 \pm 4.09$  (Tabla 6). Al clasificar por terciles obtenemos que el 31.2% tiene una baja adherencia, el 27.6 % una adherencia media y el 41.2% una adherencia alta. Estos datos son mostrados en la Tabla 7.

**Tabla 6.** Puntuación MED Score de la población de estudio.

	Media $\pm$ SD	Mínimo	Máximo
Puntuación MED Score	$30.53 \pm 4.09$	15.00	42.00

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

**Tabla 7.** Adherencia a la DM según terciles MED Score en la población de estudio.

	n	%
<b>BAJA &lt; 29</b>	138	31.2%
<b>MEDIA ≥ 29 a &lt;32</b>	122	27.6%
<b>ALTA ≥ 32</b>	182	41.2%

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.

Los datos descriptivos de ingesta energética y de macronutrientes se describen en la Tabla 8.

**Tabla 8.** Ingesta energética y de macronutrientes en la población de estudio.

	Media ± SD	Mínimo	Máximo
<b>Proteínas (g)</b>	89.62 ± 30.78	13.84	301.84
<b>Glúcidos (g)</b>	288.25 ± 101.56	67.50	675.30
<b>Grasas (g)</b>	82.32 ± 29.77	27.76	257.02
<b>Energía (Kcal)</b>	2248.87 ± 641.31	436.30	5352.20

Datos expresados en media ± desviación estándar.

**Tabla 9.** Ingesta energética y de macronutrientes categorizados según las recomendaciones en la población de estudio.

	n	%
<b>Proteínas</b>		
< 47 g	21	4,8%
> 47 g	421	95,2%
<b>Glúcidos</b>		
< 330 g	300	67,9%
> 330 g	139	31,4%
<b>Grasas</b>		
< 90 g	296	67%
> 90 g	144	32,6%
<b>Energía</b>		
< 2267 Kcal	239	54,1%
> 2267 Kcal	201	45,5%

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.

Los valores medios de ingesta de vitamina D, E y ácido fólico se detallan en la Tabla 10. En la Tabla 11 se muestran categorizados según las recomendaciones dietéticas diarias.

**Tabla 10.** Ingesta de vitaminas en la población de estudio.

	Media ± SD	Mínimo	Máximo
<b>Vitamina D (UI)</b>	89.62 ± 30.78	13.84	301.84
<b>Vitamina E (mg)</b>	288.25 ± 101.56	67.50	675.30
<b>Ácido fólico ( µg )</b>	172.75 ± 67.69	10.00	584.50

Datos expresados en media ± desviación estándar.

**Tabla 11.** Ingesta de vitaminas categorizadas según las recomendaciones en la población de estudio

	n	%
<b>Vitamina D</b>		
< 400 UI	347	78.5%
> 400 UI	93	21.0%
<b>Vitamina E</b>		
< 8 mg	440	99.5%
> 8 mg	1	0.2%
<b>Ácido fólico</b>		
<200 µg	313	70.8%
>200 µg	129	29.2%

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.

Los valores medios de micronutrientes se describen en la Tabla 12.

**Tabla 12.** Ingesta de micronutrientes en la población de estudio.

	Media $\pm$ SD	Mínimo	Máximo
<b>Ca (mg)</b>	1110.35 $\pm$ 518.58	175.00	3149.00
<b>P (mg)</b>	1415.84 $\pm$ 503.70	359.00	3283.00
<b>Fe (mg)</b>	15.64 $\pm$ 6.99	1.02	46.65
<b>Zn (mg)</b>	10.27 $\pm$ 3.76	.49	30.78
<b>I (ng)</b>	327.02 $\pm$ 266.01	3.00	1281.00
<b>Mg (mg)</b>	287.92 $\pm$ 138.56	70.70	964.00
<b>F (<math>\mu</math>g)</b>	728.63 $\pm$ 343.08	154.00	2647.00
<b>Cu (mg)</b>	1.50 $\pm$ 1.74	.22	22.03
<b>Se (<math>\mu</math>g)</b>	88.23 $\pm$ 39.95	15.50	274.40

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

En la Tabla 13 se muestra la ingesta de micronutrientes categorizados según las recomendaciones dietéticas diarias.

**Tabla 13.** Ingesta de micronutrientes categorizados según las recomendaciones en la población de estudio

	n	%
<b>Calcio</b>		
< 800 mg	122	27.6%
800-1200	150	33.9%
>1200	167	37.8%
<b>Fósforo</b>		
< 800 mg	35	7.9%
> 800 mg	405	91.6%
<b>Hierro</b>		
<17 mg	304	68.8%
17-21 mg	57	12.9%
>17 mg	80	18.1%
<b>Zinc</b>		
<15 mg	397	89.8%
>15 mg	44	10%
<b>Iodo</b>		
<150 ng	132	29.9%
>150 ng	303	68.6%
<b>Magnesio</b>		
<350 mg	330	74.7%
>350 mg	110	24.9%
<b>Fluor</b>		
<1500 µg	423	95.7%
1500-3000 µg	12	2.7%
<b>Cobre</b>		
<2 mg	359	81.2%
>2 mg	81	18.3%
<b>Selenio</b>		
<55 µg	82	18.6%
>55 µg	357	80.8%

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.

Las medias obtenidas para toda la población con respecto a los datos de composición corporal se observan en la Tabla 14.

**Tabla 14.** Composición corporal de la población de estudio

	Media $\pm$ SD	Mínimo	Máximo
<b>Masa grasa (%)</b>	32.48 $\pm$ 5.86	3.30	44.90
<b>Masa grasa (kg)</b>	20.96 $\pm$ 6.01	4.20	38.10
<b>Masa magra (kg)</b>	42.20 $\pm$ 4.16	14.40	68.00
<b>Agua (kg)</b>	30.96 $\pm$ 3.48	3.90	60.70

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

El 2,5% de las participantes ha sufrido previamente alguna fractura ósea. Las madres del 11.1% de las participantes han tenido alguna fractura en algún momento de su vida (Tabla 15).

**Tabla 15.** Antecedentes familiares y de las participantes de fractura ósea

	n	%
<b>Participantes con fractura previa</b>	11	2.5%
<b>Madre</b>	49	11.1%
<b>Padre</b>	8	1.8%

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.

Los valores medios de QUS de falange se muestran en la Tabla 16.

**Tabla 16.** Valores de ultrasonidos de falange en la población de estudio.

	Media $\pm$ SD	Mínimo	Máximo
<b>Ad-SoS (m/s)</b>	2122.83 $\pm$ 48.99	1966	2275
<b>UBPI</b>	0.78 $\pm$ 0.10	0.40	1.00
<b>BTT (s)</b>	1.58 $\pm$ 0.17	1.13	2.23
<b>T-Score</b>	-0.01 $\pm$ 0.70	-2.26	2.43
<b>Z-Score</b>	0.09 $\pm$ 0.71	-2.26	2.16

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

Los valores medios de DMO determinado mediante DXA se describen en la Tabla 17.

**Tabla 17.** Valores de DMO en columna y cadera en la población de estudio.

	Media $\pm$ SD	Mínimo	Máximo
<b>DMO Cuello Femoral(g/cm<sup>2</sup>)</b>	0.889 $\pm$ 0.125	0.61	1.32
<b>DMO Trocánter (g//cm<sup>2</sup>)</b>	0.679 $\pm$ 0.106	0.37	1.07
<b>DMO Triángulo de Ward (g//cm<sup>2</sup>)</b>	0.684 $\pm$ 0.126	0.36	1.06
<b>DMO Columna L2-L4 (g/cm<sup>2</sup>)</b>	1.068 $\pm$ 0.143	0.59	1.49

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

Se clasificó a la población en normal, osteopenia y osteoporosis, según el diagnóstico establecido por la OMS (Tabla 18) y teniendo como referencia los valores de DMO realizada con DXA.

**Tabla 18.** Distribución de DMO en función del diagnóstico de la OMS de la población estudiada.

	Normal	Osteopenia	Osteoporosis
<b>DMO Cuello Femoral</b>	420 (95,0%)	22 (5,0%)	0 (0,0%)
<b>DMO Columna Lumbar</b>	381 (86,2%)	52 (11,8%)	8 (1,8%)

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

Los valores medios T-score y % de T-score obtenidos mediante DXA se reflejan en la Tabla 19.

**Tabla 19.** Valores de T-score y % de T-score por áreas corporales

	Media $\pm$ SD	Mínimo	Máximo
<b>T-score Cuello Femoral</b>	0.45 $\pm$ 1.15	-2.09	4.40
<b>% T-score Cuello Femoral</b>	105.84 $\pm$ 15.11	73.10	167.60
<b>T-score Trocánter</b>	0.94 $\pm$ 1.10	-2.29	5.05
<b>% T-score Trocánter</b>	115.52 $\pm$ 17.93	62.60	182.60
<b>T-score Triángulo de Ward</b>	1.73 $\pm$ 1.15	-1.26	5.15
<b>% T-score Triángulo de Ward</b>	138.17 $\pm$ 25.39	72.20	213.70
<b>T-score Columna L2-L4</b>	0.17 $\pm$ 1.35	-4.37	4.21
<b>% T-score Columna L2-L4</b>	101.76 $\pm$ 13.54	56.50	141.90

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

Se clasificó a las participantes de estudio en normal, osteopenia y osteoporosis en función del diagnóstico de la OMS atendiendo a los valores de T-score obtenidos mediante DXA (Tabla 20).

**Tabla 20.** Distribución de T-score en función del diagnóstico de la OMS de la población estudiada

	Normal	Osteopenia	Osteoporosis
<b>T- score Cuello Femoral</b>	403 (91.2%)	39 (8.8%)	
<b>T- score Trocánter</b>	427 (96.6%)	14 (3.2%)	
<b>T- score Triángulo de Ward</b>	439 (99.3%)	2 (0.5%)	
<b>T- score Columna L2-L4</b>	360 (81.4%)	70 (15.8%)	11 (2.5%)

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.

Los valores medios Z-score y % de Z-score obtenidos mediante DXA se describen en la Tabla 21.

**Tabla 21.** Valores de Z-score y %Z-score por áreas corporales.

	Media $\pm$ SD	Mínimo	Máximo
<b>Z-score Cuello Femoral</b>	0.81 $\pm$ 1.17	-1.74	5.60
<b>% Z-score Cuello Femoral</b>	111.08 $\pm$ 15.69	77.60	168.80
<b>Z-score Trocánter</b>	0.93 $\pm$ 1.08	-2.29	5.05
<b>% Z-score Trocánter</b>	115.23 $\pm$ 17.79	62.60	182.60
<b>Z-score Triángulo de Ward</b>	1.69 $\pm$ 1.13	-1.26	4.96
<b>% Z-score Triángulo de Ward</b>	137.79 $\pm$ 25.76	72.20	258.80
<b>Z-score Columna L2-L4</b>	0.57 $\pm$ 1.20	-4.27	4.17
<b>% Z-score Columna L2-L4</b>	107.02 $\pm$ 15.50	10.82	155.60

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

Los valores medios de pQTC de radio se muestran en la Tabla 22.

**Tabla 22.** Valores de pQCT en radio en la población de estudio.

	<b>Media <math>\pm</math> SD</b>	<b>Mínimo</b>	<b>Máximo</b>
<b>Densidad Total de Radio (mg/cm<sup>3</sup>)</b>	358.70 $\pm$ 50.12	217.70	560.10
<b>Área Total de Radio (mg/cm<sup>3</sup>)</b>	294.55 $\pm$ 41.60	204.70	418.80
<b>Densidad Trabecular de Radio (mg/cm<sup>3</sup>)</b>	181.59 $\pm$ 36.23	82.80	351.40
<b>Área Trabecular de Radio (mg/cm<sup>3</sup>)</b>	132.66 $\pm$ 18.96	91.90	188.30
<b>Densidad cortical + subcortical de Radio (mg/cm<sup>3</sup>)</b>	503.75 $\pm$ 73.07	310.10	766.50
<b>Área cortical + subcortical de Radio (mg/cm<sup>3</sup>)</b>	162.06 $\pm$ 22.89	108.30	230.40

Datos expresados en media  $\pm$  desviación estándar.

## 5.2. ESTUDIO COMPARATIVO DE FACTORES ANTROPOMÉTRICOS, BIOLÓGICOS Y DE ESTILOS DE VIDA SEGÚN LA ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA

Se realizó un análisis comparativo de los factores antropométricos y biológicos según los terciles de adherencia a la DM (Tabla 23). No se observaron diferencias significativas en ninguna de las variables estudiadas.

**Tabla 23.** Datos biológicos y antropométricos de la población de estudio según adherencia a la DM.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor
Edad (años)	43.10 ± 6.10	43.33 ± 6.64	42.04 ± 7.07	ns
Edad de menarquia (años)	12.75 ± 1.39	12.75 ± 1.34	12.48 ± 1.34	ns
Embarazos (n)	1.80 ± 1.35	1.71 ± 1.23	1.72 ± 1.08	ns
Hijos (n)	1.61 ± 1.12	1.49 ± 0.94	1.53 ± 0.94	ns
Lactancia acumulada (meses)	5.33 ± 7.10	5.16 ± 5.65	5.50 ± 6.52	ns
Peso (kg)	63.55 ± 9.36	63.08 ± 7.95	62.87 ± 8.62	ns
Talla (m)	1.59 ± 0.05	1.59 ± 0.06	1.59 ± 0.06	ns
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	24.94 ± 3.21	24.67 ± 2.76	24.77 ± 3.17	ns

Datos expresados en media ± desviación estándar. IMC: Índice de Masa Corporal  
Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

En la Tabla 24 se muestra la comparación del consumo de tabaco y la práctica de actividad física según el nivel de adherencia a la DM. Se observaron diferencias significativas con respecto al hábito tabáquico, pero no con respecto al número de cigarrillos consumidos. En cuanto al nivel de actividad física practicado no se encontraron diferencias.

**Tabla 24.** Consumo de tabaco y actividad física según adherencia a la DM en la población de estudio.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor
<b>Fumadoras</b>	54 (39.1%)	40 (32.8%)	45 (24.7%)	0,021
<b>Cantidad de cigarrillos/día</b>				
No fumadora	84 (60.9%)	82 (67.2%)	137 (75.3%)	
< 5 cigarrillos/día	6 (4.3%)	10 (8.2%)	13 (7.1%)	
5-10 cigarrillos/día	19 (13.8%)	12 (9.8%)	13 (7.1%)	ns
11-20 cigarrillos/día	19 (13.8%)	12 (9.8%)	13 (7.1%)	
20 cigarrillos/día	10 (7.2%)	6 (4.9%)	6 (3.3%)	
<b>Actividad física</b>				
Sedentaria	64 (46.4%)	42 (34.4%)	80 (44.0%)	
Actividad Física Moderada	32 (23.2%)	26 (21.3%)	42 (23.1%)	ns
Actividad Física Activa	42 (30.4%)	54 (44.3%)	60 (33.0%)	

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.

Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

Las relaciones de las características clínicas de la población de estudio con el grado de adherencia a la DM se exponen en la Tabla 25. Solamente se observaron diferencias significativas en otras enfermedades de menor prevalencia.

**Tabla 25.** Características clínicas de la población de estudio según adherencia a la DM.

	<b>BAJA (n=138)</b>	<b>MEDIA (n=122)</b>	<b>ALTA (n=182)</b>	<b>p-valor</b>
<b>Hipertensión</b>	4 (3.2%)	2 (1.9%)	8 (5.2%)	ns
<b>Hipercolesterolemia</b>	12 (9.6%)	6 (5.8%)	16 (10.5%)	ns
<b>Diabetes</b>	4 (3.2%)	1 (1%)	2 (1.3%)	ns
<b>Hipotiroidismo</b>	9 (6.5%)	8 (6.6%)	21 (11.5%)	ns
<b>Otras enfermedades</b>	5 (5.0%)	14 (15.1%)	23 (18.1%)	0.012

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.  
Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

### 5.3. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA INGESTA DE NUTRIENTES SEGÚN LA ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA.

Se cuantificó la ingesta de energía y nutrientes a partir de los datos obtenidos en el cuestionario dietético semanal. Posteriormente se realizó una comparación de los mismos en base al nivel de adherencia a la DM.

En la Tabla 26 se muestra la ingesta energética y de macronutrientes según el grado de adherencia a la DM. No se presentaron diferencias significativas en ninguna de las variables analizadas. Al categorizar según las RDA (Tabla 27) tampoco se encontraron diferencias significativas entre los distintos grados de adherencia.

**Tabla 26.** Ingesta energética y de macronutrientes según el grado de adherencia a la DM.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor
<b>Proteínas (g)</b>	87.38 ± 27.55	93.71 ± 34.84	88.58 ± 30.10	ns
<b>Glúcidos (g)</b>	297.12 ± 109.07	288.83 ± 95.16	281.25 ± 99.86	ns
<b>Grasas (g)</b>	83.42 ± 24.00	84.86 ± 33.46	79.82 ± 31.07	ns
<b>Energía (Kcal)</b>	2290.50 ± 620.07	2301.34 ± 664.23	2182.60 ± 638.93	ns

Datos expresados en media ± desviación estándar.  
Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

**Tabla 27.** Ingesta energética y de macronutrientes categorizado en base a las RDA según el grado de adherencia a la DM.

	<b>BAJA (n=138)</b>	<b>MEDIA (n=122)</b>	<b>ALTA (n=182)</b>	<b>p-valor</b>
<b>Proteínas</b>				
< 47 g	6 (4.3%)	8 (6.6 %)	7 (3.8%)	ns
> 47 g	132 (95.7%)	114 (93.4%)	175 (96.2%)	
<b>Glúcidos</b>				
< 330 g	87 (64.0%)	79 (65.3%)	134 (73.6%)	ns
> 330 g	49 (36.0%)	42 (34.7%)	48 (26.4%)	
<b>Grasas</b>				
< 90 g	89 (64.5%)	78 (65.0%)	129 (70.9%)	ns
> 90 g	49 (35.5%)	42 (35.0%)	53 (29.1%)	
<b>Energía</b>				
< 2267 Kcal	69 (50.7%)	60 (49.2%)	110 (60.4%)	ns
> 2267 Kcal	67 (49.3%)	62 (50.8%)	72 (39.6%)	

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.  
 Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

En la Tabla 28 se compara la ingesta de vitaminas D, E y ácido fólico según el grado de adherencia a la DM. Se obtuvieron diferencias significativas en la Vitamina E y ácido fólico. Según aumenta el grado de adherencia, la ingesta es mayor en ambos casos. En la vitamina E estas diferencias vienen dadas por las existentes entre adherencia baja y alta, mientras que, en el ácido fólico por las diferencias existentes entre adherencia baja y media y entre adherencia baja y alta.

**Tabla 28.** Ingesta de vitaminas según el grado de adherencia a la DM.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor
Vitamina D (UI)	268.08 ± 212.58	320.96 ± 320.27	281.32 ± 215.44	ns
Vitamina E (mg)	2.47 ± 0.91	2.72 ± 0.99	2.84 ± 1.13	0.006 <sup>b</sup>
Ácido fólico (µg)	144.52 ± 56.02	179.90 ± 66.19	189.36 ± 70.30	<0.001 <sup>a,b</sup>

Datos expresados en media ± desviación estándar. <sup>a</sup>Baja vs Media; <sup>b</sup>Baja vs Alta; <sup>c</sup>Media vs Alta  
Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

Al categorizar la ingesta de vitaminas en base a las RDA, solo se observaron diferencias significativas en el ácido fólico. La proporción mayor de individuos que ingirieron una cantidad >200 µg de ácido fólico se encontraban en el grupo de alta adherencia a la DM.

**Tabla 29.** Ingesta de vitaminas categorizadas en base a las RDA según el grado de adherencia a la DM.

	<b>BAJA</b> (n=138)	<b>MEDIA</b> (n=122)	<b>ALTA</b> (n=182)	<b>p-valor</b>
<b>Vitamina D</b>				
< 400 UI	108 (78.8%)	95 (78.5%)	144 (79.1%)	ns
> 400 UI	29 (21.2%)	26 (21.5%)	38 (20.9%)	
<b>Vitamina E</b>				
< 8 mg	136 (99.3%)	122 (100.0%)	182 (100.0%)	ns
> 8 mg	1 (0.7%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
<b>Ácido fólico</b>				
<200 µg	118 (85.5%)	79 (64.8%)	116 (63.7%)	<0.001
>200 µg	20 (14.5%)	43 (35.2%)	66 (36.3%)	

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.  
 Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

En la Tabla 30 se muestra la relación de la ingesta de los principales micronutrientes según el grado de adherencia a la DM. Se observaron diferencias significativas en la ingesta de calcio, fósforo, magnesio, flúor y cobre. En todos los micronutrientes la ingesta más alta se observó en el grupo de adherencia media.

**Tabla 30.** Ingesta de micronutrientes según el grado de adherencia a la DM.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor
<b>Calcio (mg)</b>	1026.46 ± 520.07	1201.36 ± 579.74	1112.03 ± 463.32	0.025 <sup>a</sup>
<b>Fósforo (mg)</b>	1342.70 ± 480.46	1500.41 ± 573.74	1415.06 ± 463.37	0.042 <sup>a</sup>
<b>Hierro (mg)</b>	14.56 ± 6.55	16.53 ± 7.58	15.86 ± 6.84	ns
<b>Zinc (mg)</b>	9.93 ± 3.21	10.64 ± 3.94	10.27 ± 4.01	ns
<b>Iodo (µg)</b>	294.91 ± 263.09	353.90 ± 267.91	333.10 ± 265.96	ns
<b>Magnesio (mg)</b>	248.85 ± 114.78	315.68 ± 161.64	299.15 ± 132.52	<0,001 <sup>a,b</sup>
<b>Flúor (µg)</b>	652.13 ± 322.67	806.34 ± 366.20	738.59 ± 331.31	0.001 <sup>a</sup>
<b>Cobre (mg)</b>	1.20 ± 1.17	1.80 ± 2.44	1.53 ± 1.52	0.023 <sup>a</sup>
<b>Selenio (µg)</b>	82.87 ± 33.89	93.92 ± 46.80	88.49 ± 38.88	ns

Datos expresados en media ± desviación estándar. <sup>a</sup>Baja vs Media; <sup>b</sup>Baja vs Alta; <sup>c</sup>Media vs Alta. Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

Al categorizar la ingesta de micronutrientes en base a las RDA, se observaron diferencias significativas en la ingesta de magnesio y de cobre. En ambos la mayor proporción se dio en el grupo de adherencia media.

**Tabla 31.** Ingesta de micronutrientes categorizados en base a las RDA según el grado de adherencia a la DM.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor
<b>Calcio</b>				
< 800 mg	48 (35.3%)	29 (23.8%)	45 (24.9%)	ns
800-1200	47 (34.6%)	40 (32.8%)	63 (34.8%)	
>1200	41 (30.1%)	53 (43.4%)	73 (40.3%)	
<b>Fósforo</b>				
< 800 mg	13 (9.4%)	8 (6.6%)	14 (7.7%)	ns
> 800 mg	125 (90.6%)	113 (93.4%)	167 (92.3%)	
<b>Hierro</b>				
<17 mg	103 (74.6%)	78 (63.9%)	123 (68.0%)	ns
17-21 mg	13 (9.4%)	21 (17.2%)	23 (12.7%)	
>17 mg	22 (15.9%)	23 (18.9%)	35 (19.3%)	
<b>Zinc</b>				
<15 mg	129 (93.5%)	108 (89.3%)	160 (87.9%)	ns
>15 mg	9 (6.5%)	13 (10.7%)	22 (12.1%)	
<b>Iodo</b>				
<150 ng	48 (35.8%)	29 (24.4%)	55 (30.2%)	ns
>150 ng	9 (6.5%)	13 (10.7%)	22 (12.1%)	
<b>Magnesio</b>				
<350 mg	116 (84.1%)	82 (67.8%)	132 (72.9%)	0.007
>350 mg	22 (15.9%)	39 (32.2%)	49 (27.1%)	
<b>Fluor</b>				
<1500 µg	135 (97.8%)	114 (95.0%)	174 (98.3%)	ns
1500-3000 µg	3 (2.2%)	6 (5.0%)	3 (1.7%)	
<b>Cobre</b>				
<2 mg	122 (88.4%)	93 (77.5%)	144 (79.1%)	0.042
>2 mg	16 (11.6%)	27 (22.5%)	38 (20.9%)	
<b>Selenio</b>				
<55 µg	28 (20.4%)	21 (17.4%)	33 (18.2%)	ns
>55 µg	109 (79.6%)	100 (82.6%)	148 (81.8%)	

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.  
 Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

#### 5.4. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA COMPOSICIÓN CORPORAL SEGÚN LA ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA

En la Tabla 32 se muestran los datos de composición corporal según el grado de adherencia a la DM. No se presentaron diferencias significativas en ninguna de las variables analizadas.

**Tabla 32.** Composición corporal según el grado de adherencia a la Dieta Mediterránea.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor
<b>Masa grasa (%)</b>	32.43 ± 6.62	32.66 ± 4.83	32.39 ± 5.88	ns
<b>Masa grasa (kg)</b>	21.09 ± 6.71	20.93 ± 5.03	20.88 ± 6.06	ns
<b>Masa magra (kg)</b>	42.41 ± 4.03	42.38 ± 4.43	41.92 ± 4.09	ns
<b>Agua (kg)</b>	31.27 ± 3.90	31.06 ± 3.24	30.96 ± 3.48	ns

Datos expresados en media ± desviación estándar. <sup>a</sup>Baja vs Media; <sup>b</sup>Baja vs Alta; <sup>c</sup>Media vs Alta Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

### 5.5. ESTUDIO COMPARATIVO DE LA MASA ÓSEA SEGÚN LA ADHERENCIA A LA DIETA MEDITERRÁNEA

En la Tabla 33 se muestran los valores de ultrasonidos de falange según el grado de adherencia a la DM. Se presentaron diferencias significativas en Ad-SoS, T-Score y Z-Score. Estas diferencias se mantuvieron tras ajustar por variables que pueden afectar a las medidas de ultrasonido. UBPI presentó diferencias entre el grupo medio y alto que posteriormente desapareció tras ajustar por las covariables. Sin embargo, BTT fue significativo entre los grupos de baja y alta adherencia a la DM tras ajustar por edad, edad de menarquia, peso, talla, vitamina D, Ca y P.

**Tabla 33.** Valores de ultrasonido de falange según el grado de adherencia a la DM.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor	p-valor <sup>&amp;</sup>	p-valor <sup>*</sup>
<b>Ad-SoS (m/s)</b>	2112.23 ± 48.88	2126.25 ± 49.91	2128.58 ± 47.40	0.008 <sup>b</sup>	0.005 <sup>b</sup>	0.002 <sup>a,b</sup>
<b>UBPI</b>	0.77 ± 0.11	0.76 ± 0.09	0.79 ± 0.09	0.041 <sup>c</sup>	ns	ns
<b>BTT (s)</b>	1.56 ± 0.17	1.59 ± 0.18	1.59 ± 0.16	ns	ns	0.039 <sup>b</sup>
<b>T-Score</b>	-0.16 ± 0.69	0.04 ± 0.74	0.06 ± 0.67	0.007 <sup>a,b</sup>	0.005 <sup>b</sup>	0.002 <sup>a,b</sup>
<b>Z-Score</b>	-0.07 ± 0.71	0.17 ± 0.72	0.17 ± 0.69	0.004 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>	<0.001 <sup>a,b</sup>

Datos expresados en media ± desviación estándar. <sup>a</sup>Baja vs Media; <sup>b</sup>Baja vs Alta; <sup>c</sup>Media vs Alta. <sup>&</sup>Ajustado para edad, edad de menarquia, peso y talla. <sup>\*</sup>Ajustado para edad, edad de menarquia, peso, talla, vitamina D, Ca y P. Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

En la Tabla 34 se muestran los valores de DMO de cadera y columna obtenidos por DXA según el grado de adherencia a la DM. Se obtuvieron diferencias significativas entre los tres grupos en los valores de DMO de cuello, Tri Ward y L2-L4. Estas diferencias se mantuvieron tras ajustar por las covariables.

**Tabla 34.** Valores de DMO de cadera y columna según el grado de adherencia a la DM.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor	p-valor <sup>&amp;</sup>	p-valor <sup>*</sup>
<b>DMO Cuello</b>	0.85 ± 0.12	0.90 ± 0.12	0.90 ± 0.12	0.004 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
<b>DMO Trocánter</b>	0.66 ± 0.11	0.68 ± 0.09	0.68 ± 0.10	ns	ns	ns
<b>DMO Tri Ward</b>	0.65 ± 0.12	0.69 ± 0.12	0.70 ± 0.12	0.001 <sup>a,b</sup>	<0.001 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
<b>DMO L2-L4</b>	1.04 ± 0.14	1.09 ± 0.14	1.07 ± 0.13	0.029 <sup>a</sup>	0.009 <sup>a</sup>	0.009 <sup>a</sup>

Datos expresados en media ± desviación estándar. <sup>a</sup>Baja vs Media; <sup>b</sup>Baja vs Alta; <sup>c</sup>Media vs Alta. <sup>&</sup>Ajustado para edad, edad de menarquia, peso y talla. <sup>\*</sup>Ajustado para edad, edad de menarquia, peso, talla, vitamina D, Ca y P.  
Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

En la Tabla 35 se muestra la distribución de DMO en función del diagnóstico de osteopenia y osteoporosis establecido por la OMS según el grado de adherencia a la DM. En el diagnóstico de osteopenia en DMO de cuello, hubo una pequeña diferencia significativa, siendo las mujeres de adherencia baja (8.0%) las que mayor proporción tenían con respecto a las de adherencia alta (5.5%) y estas a su vez mayor proporción que las de adherencia media (0.8%). Al analizar el diagnóstico de osteopenia y osteoporosis en DMO de columna lumbar, no se apreciaron diferencias entre los tres grupos de adherencia a la DM.

**Tabla 35.** Distribución de DMO en función del diagnóstico de la OMS según el grado de adherencia a la DM.

		<b>BAJA</b> (n=138)	<b>MEDIA</b> (n=122)	<b>ALTA</b> (n=182)	<b>p-valor</b>
<b>DMO Cuello</b>	<b>NORMAL</b>	127 (92.0%)	121 (99.2%)	172 (94.5%)	0.028
	<b>OSTEOPENIA</b>	11 (8.0%)	1 (0.8%)	10 (5.5%)	
<b>DMO Columna lumbar</b>	<b>NORMAL</b>	111 (81.0%)	111 (91.0%)	159 (87.4%)	ns
	<b>OSTEOPENIA</b>	21 (15.3%)	11 (9.0%)	20 (11.0%)	
	<b>OSTEOPOROSIS</b>	5 (3.6%)	0 (0.0%)	3 (1.6%)	

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.  
 Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

En la Tabla 36 se describen los valores de T-score y % de T-score por áreas corporales según el grado de adherencia a la DM. Se observaron diferencias significativas entre los tres grupos en todas las variables analizadas a excepción del % de T Trocánter y en T Trocánter, aunque en este último caso si hubo cuando se ajustó por las covariables de confusión.

**Tabla 36.** Valores de T-score y % de T-score por áreas corporales según el grado de adherencia a la DM.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor	p-valor&	p-valor*
<b>T Cuello</b>	0.17 ± 1.16	0.56 ± 1.12	0.58 ± 1.13	0.003 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
<b>% T Cuello</b>	102.36 ± 15.60	107.36 ± 14.49	107.45 ± 14.76	0.005 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>	0.002 <sup>a,b</sup>
<b>T Trocánter</b>	0.78 ± 1.16	1.06 ± 1.02	0.98 ± 1.09	ns	0.023 <sup>a</sup>	0.029 <sup>a</sup>
<b>% T Trocánter</b>	113.13 ± 18.95	117.24 ± 16.76	116.18 ± 17.81	ns	ns	ns
<b>T Tri Ward</b>	1.41 ± 1.12	1.85 ± 1.19	1.90 ± 1.11	<0.001 <sup>a,b</sup>	<0.001 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
<b>% T Tri Ward</b>	130.53 ± 23.97	140.86 ± 26.34	142.17 ± 24.63	<0.001 <sup>a,b</sup>	<0.001 <sup>a,b</sup>	<0.001 <sup>a,b</sup>
<b>T L2-L4</b>	-0.06 ± 1.37	0.39 ± 1.34	0.21 ± 1.32	0.020 <sup>a</sup>	0.004 <sup>a</sup>	0.006 <sup>a</sup>
<b>% T L2-L4</b>	99.36 ± 13.74	103.97 ± 13.38	102.08 ± 13.29	0.021 <sup>a</sup>	0.004 <sup>a</sup>	0.006 <sup>a</sup>

Datos expresados en media ± desviación estándar. <sup>a</sup>Baja vs Media; <sup>b</sup>Baja vs Alta; <sup>c</sup>Media vs Alta.  
&Ajustado para edad, edad de menarquia, peso y talla. \*Ajustado para edad, edad de menarquia, peso, talla, vitamina D, Ca y P.

Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

En la Tabla 37 se muestra la distribución de T-score en función del diagnóstico de osteopenia y osteoporosis establecido por la OMS según el grado de adherencia a la DM. En el diagnóstico de osteopenia en T-score de cuello, hubo una pequeña diferencia significativa, siendo las mujeres de adherencia baja (13.8%) las que mayor proporción tenían con respecto a las de adherencia alta (7.1%) y estas a su vez mayor proporción que las de adherencia media (5.7%). Similares resultados se observaron en el diagnóstico de osteopenia en T-score de trocánter, siendo las mujeres de adherencia baja (5,8%) las que mayor proporción tenía con respecto a las de adherencia alta (3.3%) y estas a su vez mayor proporción que las de adherencia media (0.0%). Al analizar el diagnóstico de osteopenia y osteoporosis en T-score de Tri Ward y L2-L4 no se apreciaron diferencias entre los tres grupos de adherencia a la DM.

**Tabla 37.** Distribución de T-score en función del diagnóstico de la OMS según el grado de adherencia a la DM.

		BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor
<b>T Score Cuello</b>	NORMAL	119 (86.2%)	115 (94.3%)	169 (92.9%)	0.043
	OSTEOPENIA	19 (13.8%)	7 (5.7%)	13 (7.1%)	
<b>T Score Trocánter</b>	NORMAL	130 (94.2%)	121 (100.0%)	176 (96.7%)	0.029
	OSTEOPENIA	8 (5.8%)	0 (0.0%)	6 (3.3%)	
<b>T Score Tri Ward</b>	NORMAL	136 (98.6%)	121 (100.0%)	183 (100.0%)	ns
	OSTEOPENIA	2 (1.4%)	0 (0.0%)	0 (0.0%)	
<b>T Score L2-L4</b>	NORMAL	103 (75.2%)	105 (86.1%)	152 (83.5%)	ns
	OSTEOPENIA	28 (20.4%)	15 (12.3%)	27 (14.8%)	
	OSTEOPOROSIS	6 (4.4%)	2 (1.6%)	3 (1.6%)	

Datos expresados en frecuencias y porcentajes.  
 Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

En la Tabla 38 se describen los valores de Z-score y % Z-score por áreas corporales según el grado de adherencia a la DM. Se observaron diferencias significativas entre los tres grupos en todas las variables analizadas a excepción del % de Z Trocánter y en Z Trocánter.

**Tabla 38.** Valores de Z-score y % Z-score por áreas corporales según el grado de adherencia a la Dieta Mediterránea.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor	p-valor&	p-valor*
<b>Z Cuello</b>	0.52 ± 1.15	0.98 ± 1.15	0.93 ± 1.15	0.002 <sup>a,b</sup>	<0.001 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
<b>% Z Cuello</b>	107.52 ± 16.11	113.39 ± 15.31	112.28 ± 15.21	0.005 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
<b>Z Trocánter</b>	0.80 ± 1.15	1.06 ± 1.03	0.93 ± 1.07	ns	ns	ns
<b>% Z Trocánter</b>	113.17 ± 18.79	117.21 ± 16.85	115.51 ± 17.53	ns	ns	ns
<b>Z Tri Ward</b>	1.40 ± 1.12	1.84 ± 1.19	1.82 ± 1.06	0.001 <sup>a,b</sup>	<0.001 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
<b>% Z Tri Ward</b>	131.03 ± 24.82	140.59 ± 26.35	141.18 ± 25.19	0.001 <sup>a,b</sup>	<0.001 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
<b>Z L2-L4</b>	0.35 ± 1.23	0.82 ± 1.16	0.59 ± 1.18	0.008 <sup>a</sup>	0.002 <sup>a</sup>	0.003 <sup>a</sup>
<b>% Z L2-L4</b>	104.82 ± 15.51	110.31 ± 14.45	106.49 ± 15.89	0.015 <sup>a</sup>	0.003 <sup>a</sup>	0.004 <sup>a</sup>

Datos expresados en media ± desviación estándar. <sup>a</sup>Baja vs Media; <sup>b</sup>Baja vs Alta; <sup>c</sup>Media vs Alta. &Ajustado para edad, edad de menarquia, peso y talla. \*Ajustado para edad, edad de menarquia, peso, talla, vitamina D, Ca y P.

Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

En la Tabla 39 se muestran los valores de pQCT en radio según el grado de adherencia a la DM. Se observaron diferencias significativas entre el grupo de baja y alta adherencia a la DM en densidad mineral del radio y en densidad cortical + subcortical del radio. Estas diferencias se mantuvieron tras ajustar por variables que pueden influir directamente en los resultados de pQCT. También se observaron diferencias entre el grupo de baja y alta adherencia en los valores de área total de radio, área trabecular de radio y área cortical + subcortical de radio. Sin embargo, tras ajustar por covariables de confusión estas diferencias se perdieron. Con respecto a los valores de densidad trabecular de radio se observaron diferencias entre los grupos de baja y alta adherencia a la DM cuando se ajustó por edad, edad de menarquia, peso, talla, vitamina D, Ca y P.

**Tabla 39.** Valores de pQCT en radio según el grado de adherencia a la Dieta Mediterránea.

	BAJA (n=138)	MEDIA (n=122)	ALTA (n=182)	p-valor	p-valor <sup>&amp;</sup>	p-valor <sup>*</sup>
<b>Densidad Total de Radio (mg/cm<sup>3</sup>)</b>	346.45 ± 50.19	357.21 ± 50.62	368.46 ± 48.02	0.006 <sup>b</sup>	0.005 <sup>b</sup>	0.005 <sup>b</sup>
<b>Área Total de Radio (mg/cm<sup>2</sup>)</b>	304.99 ± 44.33	292.89 ± 42.98	288.89 ± 37.28	0.013 <sup>b</sup>	ns	ns
<b>Densidad Trabecular de Radio (mg/cm<sup>3</sup>)</b>	174.82 ± 36.25	182.85 ± 39.18	185.47 ± 33.50	ns	ns	0.044 <sup>b</sup>
<b>Área Trabecular de Radio (mg/cm<sup>2</sup>)</b>	137.55 ± 20.28	131.34 ± 18.88	130.15 ± 17.49	0.013 <sup>b</sup>	ns	ns
<b>Densidad cortical + subcortical de Radio (mg/cm<sup>3</sup>)</b>	485.23 ± 69.59	503.89 ± 71.53	516.77 ± 74.31	0.007 <sup>b</sup>	0.006 <sup>b</sup>	0.008 <sup>b</sup>
<b>Área cortical + subcortical de Radio (mg/cm<sup>2</sup>)</b>	167.75 ± 25.49	160.77 ± 22.63	158.96 ± 20.44	0.016 <sup>b</sup>	ns	ns

Datos expresados en media ± desviación estándar. <sup>a</sup>Baja vs Media; <sup>b</sup>Baja vs Alta; <sup>c</sup>Media vs Alta.

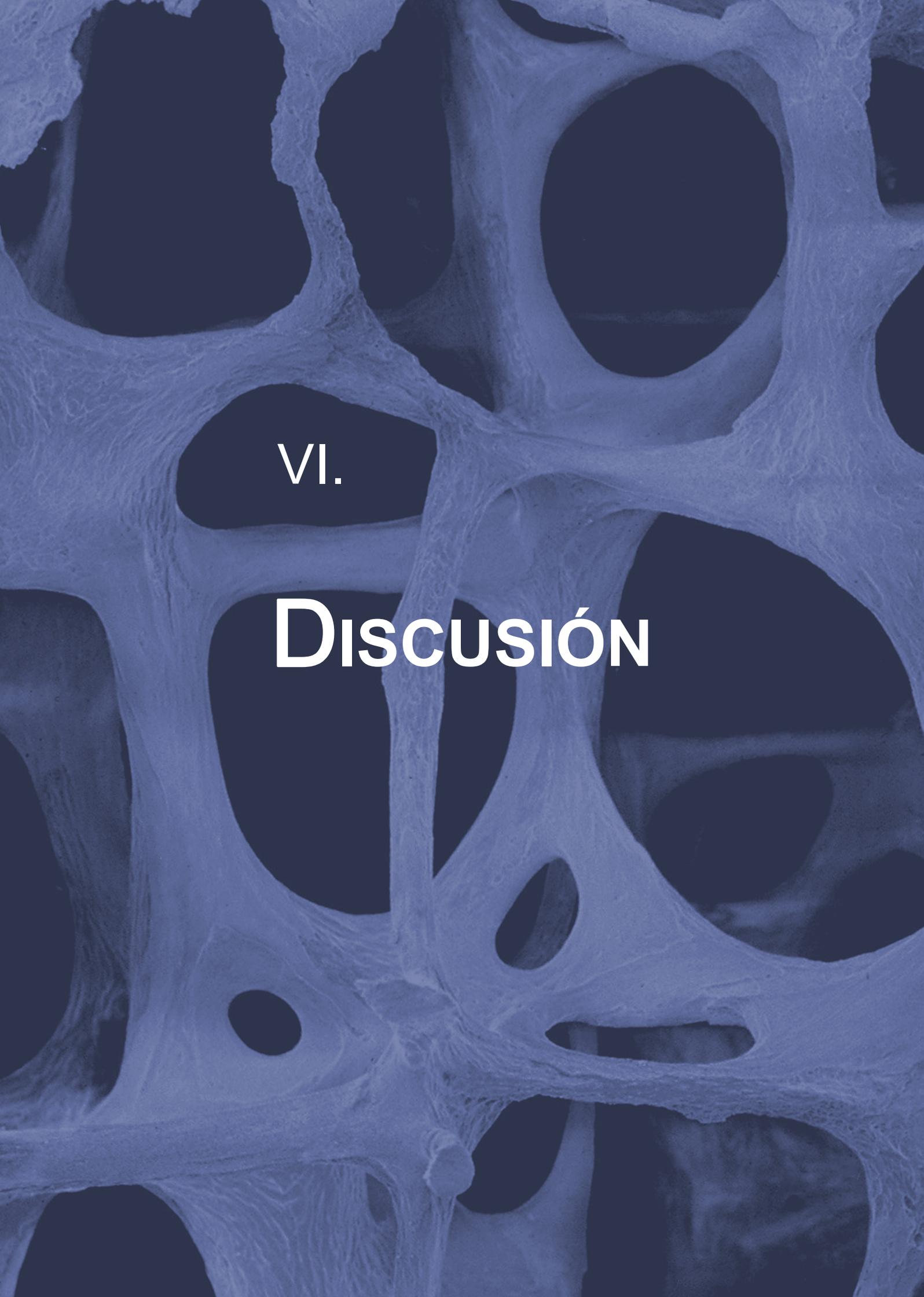
<sup>&</sup>Ajustado para edad, edad de menarquia, peso y talla. <sup>\*</sup>Ajustado para edad, edad de menarquia, peso, talla, vitamina D, Ca y P. Adherencia a la DM: Baja (<29), Media (>29 y <32), Alta (>32).

Por otro lado, evaluamos la influencia de diferentes variables en la DMO mediante un análisis de regresión múltiple (Tabla 40). La puntuación de adherencia a la DM se asoció positivamente con Ad-SoS ( $\beta = 0.099$ ;  $p = 0.030$ ), DMO de cuello femoral ( $\beta = 0.114$ ;  $p = 0.010$ ), DMO de Triángulo de Ward ( $\beta = 0.125$ ;  $p = 0.006$ ), vDMO total ( $\beta = 0.119$ ;  $p = 0.036$ ), vDMO trabecular ( $\beta = 0.120$ ;  $p = 0.035$ ) y vDMO cortical ( $\beta = 0.122$ ;  $p = 0.032$ ), pero no se asoció con DMO de trocánter ( $\beta = 0.081$ ;  $p = 0.073$ ) y DMO de L2 – L4 ( $\beta = 0.047$ ;  $p = 0.326$ ).

**Tabla 40.** Análisis de regresión lineal múltiple para la asociación entre masa ósea y edad, edad de menarquia, IMC, ingesta de calcio, ingesta de vitamina D, ingesta energética, actividad física, consumo de tabaco y puntuación de adherencia a la Dieta Mediterránea.

QUS Falanges: Ad-SoS (m/s)			
Modelo Óptimo	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajustada	
	0.115	0.111	
Variable independiente	$\beta$ estandarizado	t	p-valor
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	-0.326	-7.188	<0.001
Puntuación DM	0.099	2.171	0.030
DMO Cuello de fémur (g/cm <sup>2</sup> )			
Modelo Óptimo	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajustada	
	0.174	0.168	
Variable independiente	$\beta$ estandarizado	t	p-valor
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0.391	8.703	<0.001
Edad (años)	-0.183	-4.061	<0.001
Puntuación DM	0.114	2.584	0.010
DMO Trocánter (g/cm <sup>2</sup> )			
Modelo Óptimo	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajustada	
	0.147	0.143	
Variable independiente	$\beta$ estandarizado	t	p-valor
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0.392	8.597	<0.001
Edad (años)	-0.108	-2.368	0.018
Puntuación DM	0.081	1.794	0.073

<b>DMO Tri Ward (g/cm<sup>2</sup>)</b>			
Modelo Óptimo	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajustada	
	0.140	0.134	
Variable independiente	β estandarizado	t	p-valor
Edad (años)	-0.302	-6.568	<0.001
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0.241	5.264	<0.001
Puntuación DM	0.125	5.264	0.006
<b>DMO Columna Lumbar: L2-L4 (g/cm<sup>2</sup>)</b>			
Modelo Óptimo	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajustada	
	0.066	0.064	
Variable independiente	β estandarizado	t	p-valor
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0.256	5.499	<0.001
Puntuación DM	0.047	0.983	0.326
<b>vDMO: Densidad Total (mg/cm<sup>3</sup>)</b>			
Modelo Óptimo	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajustada	
	0.050	0.040	
Variable independiente	β estandarizado	t	p-valor
Menarche age (years)	-0.140	-2.476	0.014
Puntuación DM	0.119	2.108	0.036
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0.14	2.010	0.045
<b>vDMO: Densidad Trabecular (mg/cm<sup>3</sup>)</b>			
Modelo Óptimo	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajustada	
	0.026	0.020	
Variable independiente	β estandarizado	t	p-valor
Puntuación DM	0.120	2.114	0.035
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	0.114	2.003	0.046
<b>vDMO: Densidad Cortical (mg/cm<sup>3</sup>)</b>			
Modelo Óptimo	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> Ajustada	
	0.042	0.035	
Variable independiente	β estandarizado	t	p-valor
Edad de menarquia (años)	-0.158	-2.794	0.006
Puntuación DM	0.122	2.155	0.032



VI.

# DISCUSIÓN



En el presente estudio, encontramos una asociación positiva entre el grado de adherencia a DM y la masa ósea evaluada mediante DXA, pQCT y QUS en una población de mujeres premenopáusicas españolas.

Está ampliamente aceptado que la DM es un patrón alimentario específico considerado como factor protector en el desarrollo y progresión de diversas enfermedades crónicas [16].

Los resultados de numerosos estudios han relacionado la adherencia a la DM con una mayor supervivencia, protección contra el infarto de miocardio, algunos cánceres (cáncer de mama, cáncer colorrectal, cáncer de próstata, etc.), diabetes, Alzheimer y otras enfermedades asociadas con procesos oxidativos [15,227–231]. Dado que la DM se ha asociado durante mucho tiempo con un mejor estado de salud, se han propuesto varios índices que intentan evaluar el nivel de adherencia a este patrón dietético [232,233].

No fue hasta la primera década del siglo XXI cuando los estudios científicos comenzaron a explorar los patrones de alimentación en salud y enfermedad [234]. Hasta hace relativamente poco no existían sistemas para evaluar y resumir adecuadamente toda la información sobre patrones alimentarios [235], existiendo en la actualidad dos aproximaciones para su análisis: el desarrollo de índices de adherencia a alimentos, es decir, puntuaciones de alimentos de acuerdo con su ingesta, o derivar patrones a través de análisis multivariantes por medio de un análisis factorial, análisis de componente principal o análisis de grupos [236].

Los índices de adherencia a la DM intentan hacer una evaluación global de la calidad de la dieta basada en un patrón tradicional mediterráneo de “referencia”, descrito a priori, siendo general y cualitativo. Por tanto, resumen la dieta por medio de una puntuación única que resulta de una función de diferentes componentes, como alimentos, grupos de alimentos o una combinación de alimentos y nutrientes.

Estos componentes se seleccionan en base al conocimiento previo o la evidencia científica, siendo este enfoque una “aproximación a priori” [232].

Para evaluar la adherencia a la DM se han desarrollado y validado ampliamente varios índices, entre los que destacan, el diseñado por el grupo español PREDIMED [120], el MedDietScore propuesto por Trichopoulou et al en 2003 [15], así como la herramienta Dietary Score (DS) propuesta por Panagiotakos et al en 2006 [12], que incorpora las características inherentes del patrón dietético mediterráneo según el consumo semanal de 9 grupos de alimentos.

Las distintas herramientas de valoración de la adherencia a la DM han mostrado una gran variación en diversos elementos: el número de componentes (ingesta de nutrientes, de alimentos o de grupos de alimentos), categorías de clasificación para cada tema, escalas de medida, parámetros estadísticos (media, mediana o terciles de ingesta diaria), y la contribución de cada componente (positivo o negativo) a la puntuación total [237–239]. La ausencia de criterios comunes para identificar los componentes que constituyen el patrón dietético mediterráneo dificulta el desarrollo de estas herramientas (cada índice incluye los componentes que considera más adecuados según el objetivo de estudio y los datos disponibles), sin embargo, en general, todos ellos se muestran consistentes en la evaluación de la adherencia a la DM [239].

Nuestro trabajo presenta la ventaja de que hemos utilizado un cuestionario de consumo de alimentos con 131 ítems recogidos durante siete días por las participantes tras ser adiestradas por una enfermera, procesando posteriormente esos datos para evaluar la adherencia a la DM según la herramienta propuesta por Panagiotakos [12]. Esta misma metodología se ha empleado en estudios posteriores [240].

Está ampliamente aceptado que la nutrición es un factor esencial en la salud ósea, tanto para conseguir y mantener una masa ósea óptima como para prevenir la osteoporosis [241,242], además de ser un factor modificable. Se ha encontrado relación entre patrones dietéticos saludables con altas ingestas de pescado, frutas y vegetales y una ingesta baja de carne y carne procesada y un posible efecto beneficioso sobre la DMO en mujeres premenopáusicas [243]. También en mujeres postmenopáusicas se ha observado que el consumo de frutas, verduras, pescado, nueces, legumbres y grano entero, así como evitar carnes rojas y procesadas, está asociado a un menor riesgo de fractura [244].

La relación entre DM y salud ósea se ha estudiado en un número limitado de trabajos y en su mayoría en mujeres y en población de edad avanzada, orientados a evaluar su influencia en el riesgo de fractura osteoporótica. Nuestro trabajo se ha llevado a cabo en mujeres premenopáusicas, grupo de población del que existen pocos datos en cuanto a esta relación.

Para la valoración de la masa ósea hemos utilizado DXA, considerada la técnica “patrón de oro” actual para el diagnóstico de osteoporosis y la predicción de fracturas que nos proporciona una medida de la DMO en  $\text{g/cm}^2$ . Sin embargo, dado que es una técnica bidimensional tiene limitaciones, entre ellas, evalúa de forma conjunta hueso trabecular y cortical y, además, las características microestructurales óseas como la forma, tamaño, número y orientación de las trabéculas no pueden ser evaluadas. Es por ello que decidimos utilizar otras dos técnicas de valoración de la masa ósea: pQCT en radio distal, que permite sustraer y analizar el hueso trabecular y cortical de forma diferenciada, midiendo la vDMO y proporcionando los resultados en  $\text{mg/cm}^3$ ; y QUS en falange, técnica que además de aportar datos cuantitativos (Ad-SoS en m/s), evalúa aspectos cualitativos como la elasticidad, la estructura y la geometría del hueso. Es el único densitómetro que analiza estos aspectos de microarquitectura, cada vez más relevantes como factor de riesgo de fractura.

En nuestro estudio el aumento de la adherencia a la DM se asoció con valores más altos de DMO medidos por QUS en falange, pQCT en radio, y DXA en cuello femoral, triángulo de Ward y columna lumbar. Parte de estos resultados ya han sido publicados [245]. En este sentido, gran parte de los trabajos revisados observan una asociación en mayor o menor grado entre la adherencia a la DM y la masa ósea o la disminución del riesgo de fractura [18,202,203,240,244,246–250]. Sin embargo, ningún estudio publicado hasta la fecha, a excepción del publicado por nuestro grupo, ha usado pQTC o QUS de falange como medida de cuantificación de la masa ósea en su relación con la adherencia a la DM.

Hay que tener en cuenta la variabilidad entre los distintos “modelos” de DM según las costumbres, la disponibilidad de los alimentos, el estilo de vida propio de cada país, etc. También hemos de considerar los distintos grupos de población estudiados, ya que gran parte de los trabajos se han llevado a cabo en mujeres postmenopúsicas y en menor medida, en mujeres premenopáusicas y en hombres.

Así un estudio realizado en Suecia con 71.333 participantes, 37.903 hombres y 33.403 mujeres [250], en el que se valoraba si la tasa de fractura de cadera estaba asociada con el grado de adherencia a la DM, concluyó que la reducción del riesgo de fractura era mayor entre individuos jóvenes, pero estaba presente también en hombres y mujeres ancianos. Una particularidad de la dieta en Suecia es la utilización mayoritaria de aceite de colza y menor uso de aceite de oliva, a diferencia de otros países europeos y sobre todo de España. Ambos tipos de aceites tienen similitudes en cuanto a su alto contenido en MUFAs [251], siendo el aceite de oliva, además, rico en polifenoles que tienen efectos antioxidantes y podrían reducir la tasa de pérdida de hueso [216].

Un estudio publicado por Benetou et al en 2012 [18] y realizado en 8 países del norte, centro y sur de Europa con una gran cohorte de adultos, encontró

evidencias de que una mayor adherencia a la DM, modificada al aplicarse también a poblaciones no mediterráneas, parecía tener un efecto protector frente a la producción de fracturas de cadera, particularmente entre los hombres.

En 2016, Haring et al [244] publicaron un trabajo realizado en Alemania con 93.676 mujeres postmenopáusicas a las que se hizo un seguimiento durante casi 16 años y en el que encontró asociación entre una alta adherencia a la DM y un menor riesgo de fractura de cadera.

Sin embargo, en 2013 Feart et al [19] en un trabajo realizado en Francia con un grupo de 1.482 participantes ancianos, no encontraron asociación entre la adherencia a la DM y el riesgo de fractura, e incluso detectaron un cierto efecto deletéreo de la DM sobre el riesgo de los diversos tipos de fracturas que valoraron (cadera, vertebras y muñeca), posiblemente debido al bajo consumo de lácteos y alto consumo de frutas.

Kontogianni et al en 2009 [201] en un estudio realizado en Grecia con 220 mujeres pre y postmenopáusicas, tampoco encontraron asociación entre los parámetros óseos determinados con DXA y la adherencia a la DM, aunque sí encontraron asociación entre estos parámetros y unos patrones dietéticos caracterizados por altos consumos de pescado y aceite de oliva, así como bajo consumo de carne roja.

Un grupo italiano de la Universidad de Nápoles ha publicado varios estudios [247,248] en los que, trabajando con QUS en calcáneo como técnica de valoración ósea, han observado una relación positiva entre la adherencia a la DM y parámetros óseos saludables, sugiriendo que una mayor adherencia a la DM juega un papel beneficioso en la salud ósea y confirmando que un patrón dietético específico, como la DM puede representar un importante factor ambiental modificable para prevenir la osteoporosis. En nuestro trabajo también evaluamos

la calidad y microarquitectura ósea con QUS en falange, encontrando que las mujeres que tenían adherencia a la DM media y alta presentaban valores de Ad-SoS en m/s, T-score y Z-score significativamente mayores que las de baja adherencia a la DM.

También fuera de Europa y del ámbito de la cuenca mediterránea se han llevado a cabo trabajos que evaluaban la relación entre DM y DMO o riesgo de fracturas. En un trabajo realizado en China y publicado en 2014 por Zeng et al [246], se analizaron cuatro importantes sistemas de puntuación de la dieta, entre ellos un sistema alternativo al creado por Trichopoulou et al en 2003 [15] y centrado en el consumo de alimentos vegetales, incluidos proteínas vegetales, MUFAs y pescado, así como menor consumo de productos de origen animal y SFA [252]. Concluyeron que evitar una dieta de baja calidad se asocia con un menor riesgo de fractura de cadera, y que el puntaje alternativo a MedScore era el mejor sistema de puntuación de los analizados debido a su rendimiento y simplicidad para el usuario. Otro trabajo realizado en China por Chen et al en 2016 [203] y en el que se utilizó también el sistema alternativo de puntaje creado por Fung et al en 2009 [252], encontró que una mayor adherencia a la DM se asociaba favorablemente con la DMO en la población china de mediana edad y ancianos. La técnica de valoración de masa ósea utilizada en este estudio fue el DXA y, al igual que en nuestro trabajo se midieron varias localizaciones, columna, cuello femoral, trocánter y triángulo de Ward.

Por otra parte, un metaanálisis publicado en 2018 por Malmir et al [206], en el que se analizaron 13 estudios realizados en diferentes países europeos, China y EEUU y que evaluaban la asociación entre adherencia a la DM y la DMO y el riesgo de fractura, encontró que una alta adherencia a la DM se asociaba con un 21% de reducción del riesgo de fractura de cadera y además, estaba positivamente asociada con la DMO de columna y cuello femoral.

En cuanto a los trabajos realizados en España, existe un limitado número de estudios que se han ocupado de este tema. En 2009, Bulló et al analizaron el efecto de la carga ácida contenida en diferentes tipos de dieta en el metabolismo óseo [253]. Para ello seleccionaron tres grupos de población, el grupo control tomó una dieta baja en grasa, otro grupo DM suplementada con AOV y el tercer grupo DM suplementada con nueces, encontrando que un patrón de DM enriquecida con nueces, aunque produce una acidosis dietética, no parece tener un efecto significativo sobre el metabolismo óseo, como habían sugerido algunos estudios realizados in vitro que mostraban que condiciones de acidosis crónica disminuían la acción de los osteoblastos e incrementaban la acción resorptiva de los osteoclastos [254,255].

En 2013, Rivas et al [202], en un trabajo cuyo objetivo era evaluar los efectos de la adherencia a la DM en la DMO de 200 mujeres, 100 de ellas premenopáusicas y 100 postmenopáusicas, observaron que una dieta variada basada en los patrones dietéticos de la DM podría ser beneficiosa en la prevención de la osteoporosis y que el consumo de verduras y frutas estaba significativamente relacionado con la DMO en todas las mujeres. Estos autores realizaron la valoración de la masa ósea utilizando DXA en calcáneo.

En 2014 dos de los autores del estudio anterior [256], publicaron una revisión en la que examinaron las evidencias hasta ese momento de los efectos de la DM en la salud ósea, encontrando que los resultados no eran concluyentes pues diversos trabajos, algunos de los cuales ya hemos mencionado, mostraban que la adherencia a la DM se asociaba con una mayor DMO y un menor riesgo de fractura en la población adulta atribuyendo estos resultados a un efecto beneficioso combinado de los componentes de la DM, mientras que otros estudios no habían encontrado ninguna asociación entre adherencia a la DM y los índices de masa ósea.

En 2017, investigadores de la Universidad de Granada [257] publicaron un trabajo en el que analizaban la posible asociación entre condición física, composición corporal, marcadores cardiometabólicos y adherencia a la DM con la DMO en mujeres perimenopáusicas, no encontrando asociación entre la adherencia a este patrón dietético y la DMO o el menor riesgo de fractura. Estos autores utilizaron, al igual que nosotros, la herramienta propuesta por Panagiotakos et al en 2006 para valorar la adherencia a la DM [12]. Asimismo, utilizaron DXA para la valoración de la DMO.

Finalmente, dos trabajos recientes [240,249] evaluaron la relación entre adherencia a la DM, DMO y masa muscular. El estudio liderado por Jennings [240], en el que se evaluó la masa ósea utilizando QUS en calcáneo (BUA) y la composición corporal mediante BIA, encontró una asociación positiva y significativa entre la adherencia a un patrón de DM en un país no mediterráneo (Gran Bretaña), y una disminución del 23% del riesgo de incidencia de fractura total y del 21% del riesgo de fractura de cadera, siendo estas asociaciones mayores en mujeres que en hombres e independientes de la edad, IMC, consumo de tabaco, actividad física, menopausia y consumo de medicamentos, incluida la terapia hormonal de reemplazo. Demostraron además la potencial importancia de la masa libre de grasa como factor preventivo del riesgo de fractura. El estudio de Silva et al [249], realizado también en un país no mediterráneo (Brasil), encontró que tanto la DMO de columna lumbar como la masa muscular esquelética valoradas mediante DXA se asociaban positivamente con la adherencia a la DM en mujeres postmenopáusicas sanas, sugiriendo que en este grupo de mujeres el seguimiento de un patrón dietético mediterráneo combinado con un estilo de vida saludable supondría una estrategia útil para la prevención primaria de osteoporosis y fracturas.

Dentro de nuestra población de estudio el grupo más numeroso de mujeres es el de alta adherencia a la DM (41.2%) seguido por el de baja (31.2%)

y media (27.6%) adherencia a la DM. Hemos encontrado una mayor masa ósea en las mujeres premenopáusicas con adherencia a la DM media y alta respecto a las de baja adherencia a la DM. Sin embargo, no hemos encontrado diferencias significativas en la DMO entre los grupos de mujeres con adherencia a la DM media y alta, y además este resultado se ha repetido para las tres técnicas de medida de masa ósea que hemos utilizado. Entre los datos que podríamos asociar a estos resultados debemos destacar que aunque no hemos hallado diferencias significativas entre los tres grupos de mujeres en parámetros habitualmente relacionados con la masa ósea como el IMC, la composición corporal o la ingesta de vitamina D, sí existían diferencias significativas entre las mujeres con baja y media adherencia a la DM en cuanto a la ingesta de algunos nutrientes con un efecto positivo sobre la masa ósea como calcio, fósforo, flúor y cobre, siendo mayor en las de adherencia media; y para el magnesio, su ingesta era significativamente mayor en las mujeres con adherencia media y alta a la DM respecto a las de baja adherencia a la DM.

Los resultados de nuestro estudio podrían atribuirse a la combinación de los efectos beneficiosos de los componentes individuales de la DM. Existen evidencias de que componentes específicos de esta dieta puede desempeñar un papel en la prevención de la osteoporosis y/o de la producción de distintos tipos de fractura. Así, diversos estudios han encontrado que un consumo moderado de pescado podría ser útil en el mantenimiento de una adecuada masa ósea [224] debido al aporte de proteínas de alta calidad, PUFAs, vitaminas A y D, y minerales como selenio, calcio, iodo y cinc [258]. Algunos de estos nutrientes tienen efectos beneficiosos sobre la salud ósea. El efecto positivo del calcio y la vitamina D está reconocido y se sabe que en España una alta cantidad (87%) de la ingesta de vitamina D procede del consumo de pescado [221]. También el cinc de la dieta podría presentar una correlación positiva con la DMO [259], así como los PUFAs se asocian con un incremento de la masa ósea [260–262].

El efecto protector de la DM frente a diversas enfermedades parece estar mediado por las propiedades antiinflamatorias de algunos componentes beneficiosos como los polifenoles, presentes en alimentos como verduras, frutas y vino tinto [263]. Un trabajo realizado en España y publicado en 2012 [215] encontró un efecto positivo de la DM en los marcadores séricos de la formación ósea y una reducción de la concentración circulante de los marcadores de la resorción ósea cuando la DM estaba enriquecida con AOV. Anteriormente, en 1997, Trichopoulou et al [14] observaron una asociación positiva entre DMO y MUFAs contenidos principalmente en el aceite de oliva en un estudio en mujeres y hombres griegos, sugiriendo además una posible influencia de la vitamina E, abundante en el aceite de oliva, en los niveles de prostaglandinas y por tanto, en la formación y resorción ósea. Asimismo, se ha encontrado un efecto protector dosis-respuesta de la oleuropeína, polifenol del aceite de oliva, en un modelo experimental in vivo en ratas sobre la pérdida ósea [264]. Un estudio reciente concluyó que la ingesta dietética de aceite de oliva se asocia positivamente con la DMO total, trabecular y cortical [122].

El aceite de oliva es la principal fuente de grasa dietética para la población que vive en la cuenca mediterránea [12]. Su mayor consumo se refleja en una mayor cantidad de MUFAs respecto a los saturados, encontrándose que esto está asociado a una reducción de la prevalencia de factores de riesgo de enfermedades inflamatorias crónicas, incluida la osteoporosis [242,247,256,265]. Existen evidencias que indican un efecto positivo de la DM y del aceite de oliva en el hueso mediante la prevención de los daños inducidos por la oxidación en las células óseas [216,266].

El consumo de legumbres y cereales es alto en el área Mediterránea. Estos alimentos son muy ricos en vitamina B, calcio, fitoestrógenos y otros fitoquímicos. Se ha asociado una adecuada ingesta de estos alimentos con mayor DMO, disminución de la pérdida ósea con la edad y reducción del riesgo de fracturas [202,267].

Algunos componentes de la DM, incluidos frutas, verduras, aceite de oliva, granos enteros, nueces y semillas, pueden afectar a procesos inflamatorios y al reciclaje mineral óseo y de las proteínas. Una mayor adherencia a la DM se ha asociado con una menor concentración de citoquinas proinflamatorias, como la PCR y la interleucina-6 [111,205,206], lo que podría reducir las tasas de resorción ósea [204].

Por otro lado, en nuestro trabajo no hemos encontrado asociación significativa entre los parámetros de composición corporal medidos por BIA (masa grasa y masa magra) y la adherencia a la DM. Entre los estudios que examinan las asociaciones entre la adherencia a la DM y los parámetros de composición corporal algunos han encontrado asociaciones positivas significativas entre el patrón dietético mediterráneo y el índice de masa libre de grasa medido por DXA y BIA en mujeres del norte de Europa [240,268]. También se han observado efectos positivos de la DM en la masa magra apendicular corporal total valorada por DXA en personas mayores [269]. En un estudio realizado en Croacia con estudiantes universitarios, la adherencia a la DM se asoció con una mayor masa libre de grasa evaluada utilizando BIA [270]. Sin embargo, un análisis en 7961 mujeres reclutadas para el estudio Iniciativa de Salud de la Mujer en Estados Unidos no encontró asociaciones entre adherencia a DM y masa magra corporal medida con DXA [244].

Las discrepancias de nuestros resultados con los estudios previamente mencionados podrían deberse a que la medición de la adherencia a la DM en nuestra investigación se realizó con una herramienta diferente.

El impacto favorable de la adherencia a la DM en la prevención de la pérdida de masa muscular podría ser el resultado de una disminución en la producción de ROS en la masa muscular a través de una mayor ingesta de antioxidantes, que se encuentran en frutas y vegetales y que pueden eliminar ROS y proporcionar

resistencia contra el estrés oxidativo. Otros nutrientes asociados con una mayor adherencia a la DM y que podrían estar relacionados con mayor masa muscular esquelética son magnesio y selenio. El magnesio mejora el rendimiento muscular, el metabolismo energético, el transporte transmembrana y la contracción y relajación muscular [271]. El selenio aporta selenio-enzimas como la glutatión peroxidasa y la glutatión reductasa, que protegen a los miocitos de las ROS [249,272].

Nuestro trabajo tiene varias limitaciones. Primero, el diseño del estudio fue transversal y, por lo tanto, solo puede indicar asociaciones y no causalidad. En segundo lugar, todas las participantes fueron reclutadas en nuestra región y áreas circundantes y, por tanto, los diferentes patrones de adherencia a la DM en España podrían no estar representados. Tercero, la actividad física fue evaluada con un cuestionario, por lo que su cuantificación podría no ser suficientemente eficiente. Cuarto, algunos de los resultados en los que no se obtuvo significación estadística como esperábamos podrían reflejar una falta de poder estadístico (error tipo 2). Finalmente, hay varios métodos para calcular y evaluar la adherencia a la DM [239], por lo que el grado de adherencia a la DM en nuestra población de estudio puede no ser similar a los resultados con el uso de otra herramienta. Sin embargo, el cuestionario utilizado ha demostrado ser una herramienta eficaz [12] y se ha confirmado que es comparable a otras utilizadas en estudios previos [239].

Por otro lado, nuestro estudio también tiene fortalezas que deben destacarse. Proporcionó un examen exhaustivo de las asociaciones entre varios factores modificables que pueden influir en la DMO en mujeres premenopáusicas. Además, las mediciones que evaluaron la DMO con tres técnicas de cuantificación importantes (DXA, pQCT y QUS) y escaneos de diferentes áreas del cuerpo, nos permitió comprender mejor su asociación con la DM. Estas técnicas están ampliamente validadas y, por lo tanto, la precisión de los resultados está garantizada. Este estudio es el primero en relacionar la adherencia a la DM con DMO medida con pQCT y QUS de falange.



VII.

# CONCLUSIONES



Las principales conclusiones de nuestro estudio fueron:

1. El grado de adherencia a la DM se asoció positivamente con la DMO medida por DXA, pQCT y QUS de falange en las mujeres premenopáusicas estudiadas.
2. Los parámetros de composición corporal evaluados no se relacionaron con la adherencia a la DM en la población estudiada.





VIII.

**PUBLICACIÓN  
DERIVADA DE LA  
TESIS DOCTORAL**



Article

# Adherence to a Mediterranean Diet and Bone Mineral Density in Spanish Premenopausal Women

Jesús Pérez-Rey <sup>†</sup>, Raúl Roncero-Martín <sup>†</sup>, Sergio Rico-Martín <sup>\*</sup>, Purificación Rey-Sánchez ,  
Juan D. Pedrera-Zamorano , María Pedrera-Canal , Fidel López-Espuela and  
Jesús M. Lavado-García 

Metabolic Bone Disease Research Group, University of Extremadura, 10003 Cáceres, Spain; jpezrey@hotmail.com (J.P.-R.); rronmar@unex.es (R.R.-M.); prey@unex.es (P.R.-S.); jpedrera@unex.es (J.D.P.-Z.); mariapedreracanal@gmail.com (M.P.-C.); fidellopez@unex.es (F.L.-E.); jmlavado@unex.es (J.M.L.-G.)

<sup>\*</sup> Correspondence: sergiorico@unex.es; Tel.: +34-927-251-270

<sup>†</sup> These authors contributed equally to this work.

Received: 18 January 2019; Accepted: 28 February 2019; Published: 5 March 2019



**Abstract:** The Mediterranean diet (MD) has been associated with an improvement in health and an increase in longevity. Certain components of a MD can play a role in the prevention of osteoporosis and/or hip fracture. We investigated the association between the degree of adherence to a MD and bone mineral density (BMD) measured in several bone areas in a population of Spanish premenopausal women. We analyzed 442 premenopausal women aged  $42.73 \pm 6.67$  years. Bone measurements were obtained using quantitative bone ultrasound (QUS) for the phalanx, dual energy X-ray absorptiometry (DXA) for the lumbar spine, Ward's triangle, trochanter, and hip, and peripheral quantitative computed tomography (pQCT) for the non-dominant distal forearm. MD adherence was evaluated with MedDietScore. Amplitude-dependent speed of sound (Ad-SOS), BMD, and volumetric bone mineral density (vBMD) (total, trabecular, and cortical bone density) were positively associated with higher adherence to the MD ( $p < 0.05$ ). Adherence to the MD was significantly associated with QUS, BMD, and vBMD in multiple regression analysis; QUS: Ad-SOS (m/s)  $\beta = 0.099$  ( $p = 0.030$ ); BMD ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ): femur neck  $\beta = 0.114$  ( $p = 0.010$ ) and Ward's triangle  $\beta = 0.125$  ( $p = 0.006$ ); vBMD ( $\text{mg}/\text{cm}^3$ ): total density  $\beta = 0.119$  ( $p = 0.036$ ), trabecular density  $\beta = 0.120$  ( $p = 0.035$ ), and cortical density  $\beta = 0.122$  ( $p = 0.032$ ). We conclude that the adherence to the MD was positively associated with better bone mass in Spanish premenopausal women.

**Keywords:** Mediterranean diet; adherence; bone mineral density; premenopausal women; quantitative bone ultrasound; dual-energy X-ray absorptiometry scan; peripheral quantitative computed tomography

## 1. Introduction

Diet is a modifiable factor in the development and maintenance of bone mass [1]. Diet is considered to have an important role during childhood and adolescence, but there is no clear evidence on the effect of diet on bone mass in adults and in the elderly. Traditionally, research on bone metabolism has focused on the beneficial effects of calcium and vitamin D [2,3], as well as the controversial role of proteins in bone metabolism [4]. However, the beneficial effects of diet on bone health go beyond these nutrients [5].

A traditional Mediterranean diet (MD) is characterized by a high intake of vegetables, legumes, fruits, nuts, cereals, and unsaturated fats, especially olive oil; a low intake of saturated fats, meat, and poultry; a moderate to high intake of fish; a low to moderate intake of dairy products, usually in the form of cheese or yogurt; and a modest intake of alcohol in the form of wine [6–8]. There is consistent

evidence that adherence to a traditional MD is associated with a reduction in the risk of all causes of mortality as well as with a reduction in the incidence of and mortality from coronary heart disease and cancer [9–11].

Osteoporosis is an important worldwide public health concern that affects millions of people [12,13]. This disease is characterized by low bone mass and the microarchitectural deterioration of bone tissue, with a consequent increase in bone fragility and susceptibility to fracture [14]. Although the mechanisms involved in the pathogenesis of osteoporosis are not fully understood yet, the genetic and environmental factors affecting osteoporosis development are currently being identified and are better known. Osteoporosis is mainly an age-related problem, with a higher prevalence among postmenopausal women [15], but bone modelling and remodelling are also influenced, among other factors, by genetics, nutrition, mechanics, hormones [16], and a sedentary lifestyle [17,18].

Several authors have indicated that the low incidence of osteoporosis in Mediterranean countries could be explained by diet [19–21]. The possible beneficial effects of some of the components of a Mediterranean diet, such as fruits, vegetables, and fish, on bone mass have been previously studied [5,22]; however, the association between MD and a risk of fractures is not yet clear [23,24].

In this cross-sectional study, we investigated the association between the degree of adherence to a MD and bone mineral density (BMD) measured in several bone areas by quantitative bone ultrasound (QUS), dual energy X-ray absorptiometry (DXA), and peripheral quantitative computed tomography (pQCT) in a population of Spanish premenopausal women.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Study Population

This cross-sectional study was performed between 2014 and 2017. The participants were recruited from a clinical convenience sample from the area of Cáceres (Spain) and nearby communities via web advertising and primary care consults. All participants provided written informed consent, and the University of Extremadura Ethical Committee approved the research in accordance with the 1975 Declaration of Helsinki (approval code: 55/2015).

We aimed to have enough statistical power to detect medium-low effect sizes (anticipated Cohen's  $f = 0.15$ ) with a  $\beta = 0.80$  and  $\alpha = 0.05$ , which required a minimum sample size of 432 participants [25]. A total of 442 healthy premenopausal women were included in this study (mean age:  $42.73 \pm 6.67$  years). All the women were Caucasian, and none had dietary restrictions, neurological impairments, or physical disabilities; their medical histories showed no presence of low-trauma fractures. None of the women were using anti-osteoporotic drugs.

Before each candidate was enrolled in the study, a complete medical history was taken. Height was measured using a Harpenden stadiometer, and weight was measured using a biomedical precision balance. Both measurements were determined when participants were wearing only light clothing and no shoes. Body mass index (BMI) was calculated as the weight in kilograms divided by the square of the height in meters ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ). We assessed the participants' physical activity status on the basis of their answer to the following question [26]: "How much do you exercise or strain yourself physically in your leisure time?" The response categories were (1) sedentary (reading, watching television), (2) moderate (walking, cycling, and exercising in other ways for at least 4 h per week), (3) active (fitness-improving sport at least three times per week), and (4) competitive sport. Alcohol intake was sporadic, not exceeding 100 mL/day in any case. In total, 68.6% of the participants were non-smokers ( $n = 303$ ).

### 2.2. Dietary Assessment and Mediterranean Diet Adherence

Nutrient intake was quantified using a 131-item food frequency questionnaire (FFQ) that has been previously validated [15]. This FFQ used dietetic scales, measuring cups, cans, small bottles, and spoons, on the basis of current 7-day dietary records, as in previous studies [5,15].

The questionnaire used was self-reported, and the person completing the interview was blinded to the research question and hypothesis. Using this FFQ, we assessed the dietary intake of carbohydrates, protein, fat, calcium, and vitamin D from the Spanish Food Composition database [27].

MD adherence was assessed using the questionnaire proposed by Panagiotakos et al. in 2006 [28]. The questionnaire consisted of 11 items (non-refined cereals, fruits, vegetables, legumes, potatoes, fish, meat and meat-based products, poultry, full-fat dairy products, olive oil, and alcohol), which were scored from 0–5 based on the frequency of consumption and on the level of adherence to the Mediterranean dietary pattern. In particular, for the consumption of non-refined cereals, fruits, vegetables, legumes, olive oil, fish, and potatoes, a score of 0 is assigned when someone reports no consumption, a score of 1 is assigned when the consumption of 1–4 servings/month is reported, a score of 2 for 5–8 servings/month, a score of 3 for 9–12 servings/month, a score of 4 for 13–18 servings/month, and a score of 5 for more than 18 servings/month. On the other hand, for meat and meat products, poultry, and full-fat dairy products, the scores are assigned on a reverse scale. For alcohol, a monotonic function is not used; instead, a score of 5 is assigned for the consumption of less than 300 mL of alcohol/day, a score of 0 is assigned for the consumption of more than 700 mL/day, and scores 4–1 are assigned for the consumption of 300, 400–500, 600, and 700 mL/day (100 mL has 12 g ethanol concentration), respectively. Thus, the total score ranged from 0 to 55, with higher scores showing greater adherence to the MD. The participants were stratified according to tertiles of MD adherence scores: Low (<29), Medium (>29 and <32), and High (>32).

### 2.3. Measurement of Bone Mineral Density

Ultrasounds were performed on the second to the fifth proximal phalanx of the non-dominant hand using a DBM Sonic Bone Profiler (IGEA, Capri, Italy), which measures amplitude-dependent speed of sound (Ad-SOS). The femoral neck and L2–L4 vertebrae BMDs were analyzed via DXA (Norland XR-800, Norland Inc., Fort Atkinson, WI, USA), and the measurements were expressed as the quantity of mineral divided by the area scanned ( $\text{g}/\text{cm}^2$ ). pQCT measurements were performed on the non-dominant distal forearm using a Stratec XCT-2000 device (Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Germany).

### 2.4. Statistical Analysis

The continuous variables are presented as the means  $\pm$  standard deviation (SD), and the categorical variables are presented as frequencies and percentages. Some of the studied variables were not normally distributed; thus, when appropriate, a two-step approach was used to normalize the data before statistical analyses were conducted [29]. This approach included transforming the variable into a percentile rank, and after, we examined the transformed versions of those variables. The participants were categorized into three groups according to tertiles of MD adherence scores: Low (<29), Medium (>29 and <32), and High (>32). The Pearson chi-square test was used to compare categorical variables between groups, and an analysis of variance (ANOVA) was used to compare continuous variables between groups. In addition, the mean BMD values were compared between groups using an analysis of covariance (ANCOVA), controlling for age (years), menarche age (years), BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), energy (kcal/day), calcium (mg/day), vitamin D ( $\mu\text{g}/\text{day}$ ), physical activity (sedentary, moderate, and active), and smoking. A multiple linear regression (using the stepwise method) was used to examine whether the studied variables, age (years), menarche age (years), BMI ( $\text{kg}/\text{m}^2$ ), calcium intake (mg/day), vitamin D intake ( $\mu\text{g}/\text{day}$ ), energy intake (kcal/day), physical activity, smoking, and Mediterranean diet score, were predictive of selected BMD parameters. All of the analyses were performed with SPSS 24.0 for Windows (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA).

## 3. Results

A total of 442 women participated in the study. The main characteristics of the participants in terms of biological status, anthropometric values, and dietary intake are shown in Table 1. Based on

the tertiles of the MD adherence scores, there were significant differences between groups in smoking status ( $p = 0.021$ ) and Ca intake ( $p = 0.025$ ). There were no significant differences in the other analyzed variables.

**Table 1.** Biological, anthropometric, and dietetic factors in the study according to tertile of Mediterranean diet score.

	Tertile 1 ( <i>n</i> = 138)	Tertile 2 ( <i>n</i> = 122)	Tertile 3 ( <i>n</i> = 182)	<i>p</i> -Value
Age (years)	43.10 ± 6.10	43.33 ± 6.64	42.04 ± 7.07	0.190
Menarche Age (years)	12.75 ± 1.39	12.75 ± 1.34	12.48 ± 1.34	0.129
Gravidity ( <i>n</i> )	1.80 ± 1.35	1.71 ± 1.23	1.72 ± 1.08	0.773
Births ( <i>n</i> )	1.61 ± 1.12	1.49 ± 0.94	1.53 ± 0.94	0.643
Breastfeeding (months)	5.33 ± 7.10	5.16 ± 5.65	5.50 ± 6.52	0.904
Weight (kg)	63.55 ± 9.36	63.08 ± 7.95	62.87 ± 8.62	0.782
Height (m)	1.59 ± 0.05	1.59 ± 0.06	1.59 ± 0.06	0.708
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24.94 ± 3.21	24.67 ± 2.76	24.77 ± 3.17	0.770
Smoking				
No	84 (60.9%)	82 (67.2%)	137 (75.3%)	0.021 <sup>b</sup>
Yes	54 (39.1%)	40 (32.8%)	45 (24.7%)	
Physical Activity				
Sedentary	64 (46.4%)	42 (34.4%)	80 (44.0%)	0.161
Moderate	32 (23.2%)	26 (21.3%)	42 (23.1%)	
Active	42 (30.4%)	54 (44.3%)	60 (33.0%)	
Dietary Intake				
kcal/day	2290.50 ± 620.07	2301.34 ± 664.23	2182.60 ± 638.93	0.189
Proteins (g/day)	87.38 ± 27.55	93.71 ± 34.84	88.58 ± 30.10	0.214
Carbohydrates (g/day)	297.12 ± 109.07	288.83 ± 95.16	281.25 ± 99.86	0.386
Fats (g/day)	83.42 ± 24.00	84.86 ± 33.46	79.82 ± 31.07	0.310
Vitamin D (µg/day)	6.70 ± 5.31	7.95 ± 8.00	7.03 ± 5.38	0.243
Ca (mg/day)	1026.46 ± 520.07	1201.36 ± 579.74	1112.03 ± 463.32	0.025 <sup>a</sup>

BMI: body mass index. <sup>a</sup> Tertile 1 vs. Tertile 2; <sup>b</sup> Tertile 1 vs. Tertile 3

Table 2 describes the associations between the tertiles of adherence to MD and QUS, BMD, and volumetric BMD. We found statistically significant differences in Ad-SOS ( $p = 0.008$ ), femoral neck ( $p = 0.004$ ), Ward's triangle ( $p = 0.001$ ), lumbar spine ( $p = 0.029$ ), and volumetric BMD total density ( $p = 0.006$ ) and cortical density ( $p = 0.007$ ). Post hoc tests indicated that there were significant differences between tertile 1 and tertile 2 in femoral neck BMD, Ward's triangle BMD, and lumbar spine BMD and between tertile 1 and tertile 3 in Ad-SOS, femoral neck BMD, Ward's triangle BMD, and volumetric BMD total density and cortical density. After adjustments for age (years), menarche age (years), BMI (kg/m<sup>2</sup>), energy (kcal/day), calcium (mg/day) vitamin D (µg/day), physical activity (sedentary, moderate, and active), and smoking, there were statistically significant differences in all bone density variables studied ( $p < 0.05$ ). Post hoc tests indicated that there were significant differences between tertile 1 and tertile 2 in Ad-SOS, femoral neck BMD, trochanter BMD, and Ward's triangle BMD and between tertile 1 and tertile 3 in Ad-SOS, femoral neck BMD, Ward's triangle BMD, and volumetric BMD total density, trabecular density, and cortical density.

We further explored BMD density by multiple regression analysis (Table 3). The MD score was positively associated with Ad-SOS ( $\beta = 0.099$ ;  $p = 0.030$ ), femoral neck BMD ( $\beta = 0.114$ ;  $p = 0.010$ ), Ward's triangle BMD ( $\beta = 0.125$ ;  $p = 0.006$ ), volumetric BMD total density ( $\beta = 0.119$ ;  $p = 0.036$ ), volumetric BMD trabecular density ( $\beta = 0.120$ ;  $p = 0.035$ ), and volumetric BMD cortical density ( $\beta = 0.122$ ;  $p = 0.032$ ) but was not associated with trochanter BMD ( $\beta = 0.081$ ;  $p = 0.073$ ) and L2–L4 BMD ( $\beta = 0.047$ ;  $p = 0.326$ ).

**Table 2.** Bone density by tertiles of Mediterranean diet score.

	Tertile 1 (n = 138)	Tertile 2 (n = 122)	Tertile 3 (n = 182)	p-Value	p-Value &
<b>Quantitative Bone Ultrasound</b>					
Ad-SOS (m/s)	2112.23 ± 48.88	2126.25 ± 49.91	2128.58 ± 47.40	0.008 <sup>b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
BMD (g/cm <sup>2</sup> )					
BMD Femur Neck	0.859 ± 0.126	0.902 ± 0.121	0.902 ± 0.123	0.004 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
BMD Trochanter	0.665 ± 0.112	0.688 ± 0.098	0.683 ± 0.107	0.172	0.036 <sup>a</sup>
BMD Ward’s Triangle	0.650 ± 0.123	0.696 ± 0.129	0.701 ± 0.121	0.001 <sup>a,b</sup>	0.001 <sup>a,b</sup>
BMD Lumbar Spine (L2–L4)	1.044 ± 0.147	1.091 ± 0.140	1.070 ± 0.139	0.029 <sup>a</sup>	0.009 <sup>a</sup>
<b>Volumetric BMD (mg/cm<sup>3</sup>)</b>					
Total Density	346.45 ± 50.19	357.21 ± 50.62	368.46 ± 48.02	0.006 <sup>b</sup>	0.001 <sup>b</sup>
Trabecular Density	174.82 ± 36.25	182.85 ± 39.18	185.47 ± 33.50	0.095	0.013 <sup>b</sup>
Cortical Density	485.23 ± 69.59	503.89 ± 71.53	516.77 ± 74.31	0.007 <sup>b</sup>	0.003 <sup>b</sup>

BMD: body mass density. <sup>a</sup> Tertile 1 vs. Tertile 2; <sup>b</sup> Tertile 1 vs. Tertile 3. & After further adjustment for age (years), menarche age (years), BMI (kg/m<sup>2</sup>), energy (kcal/day), calcium (mg/day), vitamin D (µg/day), physical activity (sedentary, moderate, and active), and smoking.

**Table 3.** Multiple linear regression analysis for the association between bone density and age (years), menarche age (years), BMI (kg/m<sup>2</sup>), calcium intake (mg/day), vitamin D intake (µg/day), energy intake (kcal/day), physical activity, smoking, and Mediterranean diet score.

<b>Quantitative Bone Ultrasound: Ad-SOS (m/s)</b>			
Optimal Model	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	
	0.115	0.111	
Selected Independent Variable	Standardized β	t	p-value
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	−0.326	−7.188	<0.001
Mediterranean Diet Score	0.099	2.171	0.030
<b>BMD Femur Neck (g/cm<sup>2</sup>)</b>			
Optimal Model	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	
	0.174	0.168	
Selected Independent Variable	Standardized β	t	p-value
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.391	8.703	<0.001
Age (years)	−0.183	−4.061	<0.001
Mediterranean Diet Score	0.114	2.584	0.010
<b>BMD Trochanter (g/cm<sup>2</sup>)</b>			
Optimal Model	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	
	0.147	0.143	
Selected Independent Variable	Standardized β	t	p-value
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.392	8.597	<0.001
Age (years)	−0.108	−2.368	0.018
Mediterranean Diet Score	0.081	1.794	0.073
<b>BMD Ward’s Triangle (g/cm<sup>2</sup>)</b>			
Optimal Model	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	
	0.140	0.134	
Selected Independent Variable	Standardized β	t	p-value
Age (years)	−0.302	−6.568	<0.001
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.241	5.264	<0.001
Mediterranean Diet Score	0.125	5.264	0.006
<b>BMD Lumbar Spine: L2–L4 (g/cm<sup>2</sup>)</b>			
Optimal Model	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	
	0.066	0.064	
Selected Independent Variable	Standardized β	t	p-value
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.256	5.499	<0.001
Mediterranean Diet Score	0.047	0.983	0.326
<b>Volumetric BMD: Total Density (mg/cm<sup>3</sup>)</b>			
Optimal Model	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	
	0.050	0.040	
Selected Independent Variable	Standardized β	t	p-value
Menarche Age (years)	−0.140	−2.476	0.014
Mediterranean Diet Score	0.119	2.108	0.036
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.14	2.010	0.045
<b>Volumetric BMD: Trabecular Density (mg/cm<sup>3</sup>)</b>			
Optimal Model	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	
	0.026	0.020	
Selected Independent Variable	Standardized β	t	p-value
Mediterranean Diet Score	0.120	2.114	0.035
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	0.114	2.003	0.046
<b>Volumetric BMD: Cortical Density (mg/cm<sup>3</sup>)</b>			
Optimal Model	R <sup>2</sup>	Adjusted R <sup>2</sup>	
	0.042	0.035	
Selected Independent Variable	Standardized β	t	p-value
Menarche Age (years)	−0.158	−2.794	0.006
Mediterranean Diet Score	0.122	2.155	0.032

#### 4. Discussion

In the present study, we found a positive association between the degree of adherence to MD and bone density assessed by QUS, pQCT, and DXA in a population of Spanish premenopausal women. Although DXA is the gold standard technique for the diagnosis of osteoporosis, the use of pQCT in radius assessment provides a measure of volumetric bone mineral density (vBMD) and distinguishes trabecular from cortical bone. QUS is an alternative and/or integrative technique to DXA scan; it is a radiation-free, transportable technique that uses sound waves to evaluate bone properties that are not measured by the DXA scan.

While a MD has been associated with a lower risk for many chronic diseases in populations worldwide, its associations with bone health and especially BMD are less well-known; however, these relationships have been analyzed in recent years [30]. Most studies have been conducted on the elderly, especially elderly women. Our study was carried out with premenopausal women, which is a population group of which there are few data regarding the relationship between a MD and bone health.

The favorable associations observed in our study were consistent with those in several other studies but not those in all studies. In our study, increased adherence to a MD was associated with higher BMD values measured by phalanx QUS, radius pQCT, and DXA in the femoral neck, Ward's triangle, and lumbar spine. Similar findings have been reported in European studies [21,31,32], but bone density was determined by calcaneus DXA and calcaneus QUS. In addition, in a Chinese population, bone density was evaluated by DXA in the femoral neck, lumbar spine, trochanter, and Ward's triangle, and it was found that greater adherence to a MD was associated with higher BMD in the middle-aged and elderly populations [33]. In an American population, this association was also found [34,35]. However, Kontogianni et al. [20] found no association between MD adherence and bone parameters determined with DXA in 220 pre- and postmenopausal women; however, they observed an association between these parameters and dietary patterns characterized by high intakes of fish and olive oil, as well as a low consumption of red meat.

The potential protective effect of MD adherence has been positively related to the risk for hip fractures [23,34,36–38]. However, other authors did not observe this relationship [24,39].

Our results are consistent with the findings of a meta-analysis published in 2018 by Malmir et al. [30] that included 13 studies carried out in different European countries, China, and the USA. They evaluated the associations between MD adherence and BMD as well as the risk for fractures. The meta-analysis found that a high adherence to a MD was associated with a 21% reduction in the risk for hip fractures and was positively associated with the BMD of the spine and femoral neck. Currently, there are no studies that associate MD adherence with BMD measured by pQCT and phalanx ultrasound; therefore, our study is the first to relate MD adherence to these two techniques.

The results of our study could be attributed to the combination of the beneficial effects of the individual MD components. It is widely accepted that nutrition, as well as being a modifiable factor, is an essential factor in bone health, both to achieve and maintain optimal bone mass and to prevent osteoporosis [40,41]. Specific components of this diet may play a role in the prevention of osteoporosis and/or in the prevention of different types of fractures [42]. Thus, several studies have found that a moderate consumption of fish could be useful in maintaining an adequate bone mass [5] due to its contribution of high quality proteins, polyunsaturated fatty acids n-3 (PUFAs), vitamins A and D, and minerals such as selenium, calcium, iodine, and zinc [43]. Some of these nutrients have beneficial effects on bone health. The positive effect of calcium and vitamin D is recognized, and it is known that in Spain a high amount (87%) of vitamin D intake comes from the consumption of fish [27]. Zinc in the diet could also be positively correlated with BMD [44], and PUFAs are associated with an increase in bone mass [45–47].

The protective effect of a MD against various diseases seems to be mediated by the anti-inflammatory properties of some of its beneficial components, such as the polyphenols, present in foods such as vegetables, fruits, and red wine [48]. A study carried out in Spain and published in

2012 [49] found that a MD had a positive effect on serum markers of bone formation and a reduction in the circulating concentration of markers of bone resorption when the MD was enriched with virgin olive oil. A dose-dependent protective effect of oleuropein, which is a polyphenol from olive oil, has been found in an in vivo experimental model of rats with bone loss [19]. A recent study concluded that the dietary intake of olive oil is positively associated with total, trabecular, and cortical BMD [50].

Our work has several limitations. First, the design of the study was cross-sectional and therefore can only indicate associations and not causality. Second, all of the participants were recruited in our region and surrounding areas; thus, the different patterns of MD adherence across Spain might not be represented. Third, we measured physical activity with a questionnaire that might not efficiently quantify it. Fourth, some of the results in which statistical significance was not obtained but was expected could be reflecting a lack of statistical power (type 2 error). Finally, there are several methods to calculate and evaluate adherence to the MD [51], so the degree of adherence to the MD in our study population may not be similar to the results from the use of another tool. However, the questionnaire used has proven to be an effective tool [28] and has been shown to be comparable with other Med Scores in previous studies [51]. This study also has strengths that need to be highlighted. This research provided a comprehensive examination of the associations between several modifiable factors that can influence BMD in premenopausal women. In addition, the measurements that evaluated BMD with three important assessment techniques (DXA, pQCT, and ultrasound) and scans of different areas of the body allowed us to gain a better understanding of their association with MD; these techniques are widely validated, and therefore the accuracy of the results is guaranteed. This study is the first to relate MD adherence with BMD measured by pQCT and phalanx ultrasound.

In conclusion, we found that better MD adherence was positively associated with BMD measured by DXA, pQCT, and phalanx ultrasound in Spanish premenopausal women. We encourage further investigations, particularly longitudinal studies or clinical trials that consider the observed association.

**Author Contributions:** Conceptualization: S.R.-M., P.R.-S., J.D.P.-Z., and J.M.L.-G.; Methodology: J.P.-R., R.R.-M., F.L.-E., M.P.-C., J.M.L.-G., and J.D.P.-Z.; Formal Analysis: S.R.-M. and J.D.P.-Z.; Writing—Original Draft Preparation: S.R.-M., J.P.-R., R.R.-M., P.R.-S., and J.M.L.-G.; all authors revised and edited the manuscript.

**Funding:** This research was funded by Junta de Extremadura grant number GR15144.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Kitchin, B.; Morgan, S. Nutritional considerations in osteoporosis. *Curr. Opin. Rheumatol.* **2003**, *15*, 476–480. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Hasling, C.; Charles, P.; Jensen, F.T.; Mosekilde, L. Calcium metabolism in postmenopausal osteoporosis: The influence of dietary calcium and net absorbed calcium. *J. Bone Miner. Res.* **1990**, *5*, 939–946. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Dawson-Hughes, B.; Heaney, R.P.; Holick, M.F.; Lips, P.; Meunier, P.J.; Vieth, R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos. Int.* **2005**, *16*, 713–716. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Hannan, M.T.; Tucker, K.L.; Dawson-Hughes, B.; Cupples, L.A.; Felson, D.T.; Kiel, D.P. Effect of dietary protein on bone loss in elderly men and women: The Framingham Osteoporosis Study. *J. Bone Miner. Res.* **2000**, *15*, 2504–2512. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Calderon-Garcia, J.F.; Moran, J.M.; Roncero-Martin, R.; Rey-Sanchez, P.; Rodriguez-Velasco, F.J.; Pedrera-Zamorano, J.D. Dietary habits, nutrients and bone mass in Spanish premenopausal women: The contribution of fish to better bone health. *Nutrients* **2012**, *5*, 10–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Trichopoulou, A.; Lagiou, P. Healthy traditional Mediterranean diet: An expression of culture, history, and lifestyle. *Nutr. Rev.* **1997**, *55*, 383–389. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Trichopoulou, A.; Costacou, T.; Bamia, C.; Trichopoulos, D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N. Engl. J. Med.* **2003**, *348*, 2599–2608. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

8. Willett, W.C.; Sacks, F.; Trichopoulou, A.; Drescher, G.; Ferro-Luzzi, A.; Helsing, E.; Trichopoulos, D. Mediterranean diet pyramid: A cultural model for healthy eating. *Am. J. Clin. Nutr.* **1995**, *61*, 1402S–1406S. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Fung, T.T.; Rexrode, K.M.; Mantzoros, C.S.; Manson, J.E.; Willett, W.C.; Hu, F.B. Mediterranean diet and incidence of and mortality from coronary heart disease and stroke in women. *Circulation* **2009**, *119*, 1093–1100. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Sofi, F.; Abbate, R.; Gensini, G.F.; Casini, A. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: An updated systematic review and meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* **2010**, *92*, 1189–1196. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Bamia, C.; Lagiou, P.; Buckland, G.; Grioni, S.; Agnoli, C.; Taylor, A.J.; Dahm, C.C.; Overvad, K.; Olsen, A.; Tjønneland, A.; et al. Mediterranean diet and colorectal cancer risk: Results from a European cohort. *Eur. J. Epidemiol.* **2013**, *28*, 317–328. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Ashwell, M.; Stone, E.; Mathers, J.; Barnes, S.; Compston, J.; Francis, R.M.; Key, T.; Cashman, K.D.; Cooper, C.; Khaw, K.T.; et al. Nutrition and bone health projects funded by the UK Food Standards Agency: Have they helped to inform public health policy? *Br. J. Nutr.* **2008**, *99*, 198–205. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Lee, Y.-K.; Yoon, B.-H.; Koo, K.-H. Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures in South Korea. *Endocrinol. Metab.* **2013**, *28*, 90–93. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Consensus development conference: Diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am. J. Med.* **1993**, *94*, 646–650. [[CrossRef](#)]
15. Pedrera-Zamorano, J.D.; Lavado-Garcia, J.M.; Roncero-Martin, R.; Calderon-Garcia, J.F.; Rodriguez-Dominguez, T.; Canal-Macias, M.L. Effect of beer drinking on ultrasound bone mass in women. *Nutrition* **2009**, *25*, 1057–1063. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Montalban Sanchez, J.; Rico Lenza, H.; Cortes Prieto, J.; Pedrera Zamorano, J.D. Cortical bone mass and risk factors for osteoporosis among postmenopausal women in our environment. *Rev. Clin. Esp.* **2001**, *201*, 16–20. [[PubMed](#)]
17. Pines, A. Sedentary women: Sit less, live more! *Climacteric* **2015**, *18*, 770–772. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Herrera, A.; Mateo, J.; Gil-Albarova, J.; Lobo-Escolar, A.; Artigas, J.M.; Lopez-Prats, F.; Mesa, M.; Ibarz, E.; Gracia, L. Prevalence of osteoporotic vertebral fracture in Spanish women over age 45. *Maturitas* **2015**, *80*, 288–295. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Puel, C.; Coxam, V.; Davicco, M.-J. Mediterranean diet and osteoporosis prevention. *Med. Sci.* **2007**, *23*, 756–760.
20. Kontogianni, M.D.; Melistas, L.; Yannakoulia, M.; Malagaris, I.; Panagiotakos, D.B.; Yiannakouris, N. Association between dietary patterns and indices of bone mass in a sample of Mediterranean women. *Nutrition* **2009**, *25*, 165–171. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Rivas, A.; Romero, A.; Mariscal-Arcas, M.; Monteagudo, C.; Feriche, B.; Lorenzo, M.L.; Olea, F. Mediterranean diet and bone mineral density in two age groups of women. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2013**, *64*, 155–161. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Tucker, K.L.; Hannan, M.T.; Chen, H.; Cupples, L.A.; Wilson, P.W.; Kiel, D.P. Potassium, magnesium, and fruit and vegetable intakes are associated with greater bone mineral density in elderly men and women. *Am. J. Clin. Nutr.* **1999**, *69*, 727–736. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Benetou, V.; Orfanos, P.; Pettersson-Kymmer, U.; Bergstrom, U.; Svensson, O.; Johansson, I.; Berrino, F.; Tumino, R.; Borch, K.B.; Lund, E.; et al. Mediterranean diet and incidence of hip fractures in a European cohort. *Osteoporos. Int.* **2013**, *24*, 1587–1598. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Feart, C.; Lorrain, S.; Ginder Coupez, V.; Samieri, C.; Letenneur, L.; Paineau, D.; Barberger-Gateau, P. Adherence to a Mediterranean diet and risk of fractures in French older persons. *Osteoporos. Int.* **2013**, *24*, 3031–3041. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Cohen, J. Statistical Power Analysis for the Behavioural Science. In *Statistical Power Analysis for the Behavioural Science*, 2nd ed.; Lawrence Erlbaum Associates: New York, NY, USA, 1988; ISBN 0805802835.
26. Calderon-Garcia, J.F.; Lavado-Garcia, J.M.; Martin, R.R.; Moran, J.M.; Canal-Macias, M.L.; Pedrera-Zamorano, J.D. Bone ultrasound and physical activity in postmenopausal Spanish women. *Biol. Res. Nurs.* **2013**, *15*, 416–421. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

27. Varela-Moreiras, G.; Avila, J.M.; Cuadrado, C.; del Pozo, S.; Ruiz, E.; Moreiras, O. Evaluation of food consumption and dietary patterns in Spain by the Food Consumption Survey: Updated information. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2010**, *64* (Suppl. 3), S37–S43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Panagiotakos, D.B.; Pitsavos, C.; Stefanadis, C. Dietary patterns: A Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2006**, *16*, 559–568. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Templeton, G.F. A two-step approach for transforming continuous variables to normal: Implications and recommendations for IS research. *Commun. Assoc. Inf. Syst.* **2011**, *28*, 41–58. [[CrossRef](#)]
30. Malmir, H.; Saneei, P.; Larijani, B.; Esmailzadeh, A. Adherence to Mediterranean diet in relation to bone mineral density and risk of fracture: A systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur. J. Nutr.* **2018**, *57*, 2147–2160. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Savanelli, M.C.; Barrea, L.; Macchia, P.E.; Savastano, S.; Falco, A.; Renzullo, A.; Scarano, E.; Nettore, I.C.; Colao, A.; Di Somma, C. Preliminary results demonstrating the impact of Mediterranean diet on bone health. *J. Transl. Med.* **2017**, *15*, 81. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Vuolo, L.; Barrea, L.; Savanelli, M.C.; Savastano, S.; Rubino, M.; Scarano, E.; Soprano, M.; Illario, M.; Colao, A.; Di Somma, C. Nutrition and Osteoporosis: Preliminary data of Campania Region of European PERSONALISED ICT Supported Service for Independent Living and Active Ageing. *Transl. Med. UniSa* **2015**, *13*, 13–18. [[PubMed](#)]
33. Chen, G.-D.; Dong, X.-W.; Zhu, Y.-Y.; Tian, H.-Y.; He, J.; Chen, Y.-M. Adherence to the Mediterranean diet is associated with a higher BMD in middle-aged and elderly Chinese. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 25662. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Haring, B.; Crandall, C.J.; Wu, C.; LeBlanc, E.S.; Shikany, J.M.; Carbone, L.; Orchard, T.; Thomas, F.; Wactawaski-Wende, J.; Li, W.; et al. Dietary Patterns and Fractures in Postmenopausal Women: Results from the Women’s Health Initiative. *JAMA Intern. Med.* **2016**, *176*, 645–652. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Noel, S.E.; Arevalo, S.; Smith, C.E.; Lai, C.-Q.; Dawson-Hughes, B.; Ordovas, J.M.; Tucker, K.L. Genetic admixture and body composition in Puerto Rican adults from the Boston Puerto Rican Osteoporosis Study. *J. Bone Miner. Metab.* **2017**, *35*, 448–455. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Zeng, F.F.; Xue, W.Q.; Cao, W.T.; Wu, B.H.; Xie, H.L.; Fan, F.; Zhu, H.L.; Chen, Y.M. Diet-quality scores and risk of hip fractures in elderly urban Chinese in Guangdong, China: A case-control study. *Osteoporos. Int.* **2014**, *25*, 2131–2141. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Byberg, L.; Bellavia, A.; Larsson, S.C.; Orsini, N.; Wolk, A.; Michaëlsson, K. Mediterranean Diet and Hip Fracture in Swedish Men and Women. *J. Bone Miner. Res.* **2016**, *31*, 2098–2105. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Benetou, V.; Orfanos, P.; Feskanich, D.; Michaëlsson, K.; Pettersson-Kymmer, U.; Byberg, L.; Eriksson, S.; Grodstein, F.; Wolk, A.; Jankovic, N.; et al. Mediterranean diet and hip fracture incidence among older adults: The CHANCES project. *Osteoporos. Int.* **2018**, *29*, 1591–1599. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Aparicio, V.A.; Ruiz-Cabello, P.; Borges-Cosic, M.; Andrade, A.; Coll-Risco, I.; Acosta-Manzano, P.; Soriano-Maldonado, A. Association of physical fitness, body composition, cardiometabolic markers and adherence to the Mediterranean diet with bone mineral density in perimenopausal women. The FLAMENCO project. *J. Sports Sci.* **2017**, *35*, 880–887. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Prentice, A. Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutr.* **2004**, *7*, 227–243. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Sahni, S.; Mangano, K.M.; McLean, R.R.; Hannan, M.T.; Kiel, D.P. Dietary Approaches for Bone Health: Lessons from the Framingham Osteoporosis Study. *Curr. Osteoporos. Rep.* **2015**, *13*, 245–255. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Okubo, H.; Sasaki, S.; Horiguchi, H.; Oguma, E.; Miyamoto, K.; Hosoi, Y.; Kim, M.-K.; Kayama, F. Dietary patterns associated with bone mineral density in premenopausal Japanese farmwomen. *Am. J. Clin. Nutr.* **2006**, *83*, 1185–1192. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Chen, Y.; Ho, S.C.; Lam, S.S. Higher sea fish intake is associated with greater bone mass and lower osteoporosis risk in postmenopausal Chinese women. *Osteoporos. Int.* **2010**, *21*, 939–946. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Hyun, T.H.; Barrett-Connor, E.; Milne, D.B. Zinc intakes and plasma concentrations in men with osteoporosis: The Rancho Bernardo Study. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *80*, 715–721. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

45. Lavado-García, J.; Roncero-Martin, R.; Moran, J.M.; Pedrera-Canal, M.; Aliaga, I.; Leal-Hernandez, O.; Rico-Martin, S.; Canal-Macias, M.L. Long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acid dietary intake is positively associated with bone mineral density in normal and osteopenic Spanish women. *PLoS ONE* **2018**, *13*, e0190539. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Farina, E.K.; Kiel, D.P.; Roubenoff, R.; Schaefer, E.J.; Cupples, L.A.; Tucker, K.L. Protective effects of fish intake and interactive effects of long-chain polyunsaturated fatty acid intakes on hip bone mineral density in older adults: The Framingham Osteoporosis Study. *Am. J. Clin. Nutr.* **2011**, *93*, 1142–1151. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Hogstrom, M.; Nordstrom, P.; Nordstrom, A. n-3 Fatty acids are positively associated with peak bone mineral density and bone accrual in healthy men: The NO2 Study. *Am. J. Clin. Nutr.* **2007**, *85*, 803–807. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Tresserra-Rimbau, A.; Rimm, E.B.; Medina-Reimon, A.; Martinez-Gonzalez, M.A.; Lopez-Sabater, M.C.; Covas, M.I.; Corella, D.; Salas-Salvado, J.; Gomez-Gracia, E.; Lapetra, J.; et al. Polyphenol intake and mortality risk: A re-analysis of the PREDIMED trial. *BMC Med.* **2014**, *12*, 77. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Fernandez-Real, J.M.; Bullo, M.; Moreno-Navarrete, J.M.; Ricart, W.; Ros, E.; Estruch, R.; Salas-Salvado, J. A Mediterranean diet enriched with olive oil is associated with higher serum total osteocalcin levels in elderly men at high cardiovascular risk. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2012**, *97*, 3792–3798. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Roncero-Martin, R.; Aliaga Vera, I.; Moreno-Corral, L.J.; Moran, J.M.; Lavado-Garcia, J.M.; Pedrera-Zamorano, J.D.; Pedrera-Canal, M. Olive Oil Consumption and Bone Microarchitecture in Spanish Women. *Nutrients* **2018**, *10*, 968. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Mila-Villaruel, R.; Bach-Faig, A.; Puig, J.; Puchal, A.; Farran, A.; Serra-Majem, L.; Carrasco, J.L. Comparison and evaluation of the reliability of indexes of adherence to the Mediterranean diet. *Public Health Nutr.* **2011**, *14*, 2338–2345. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).



IX.

# BIBLIOGRAFÍA



1. Consensus development conference: diagnosis, prophylaxis, and treatment of osteoporosis. *Am J Med.* 1993;94(6):646-50.
2. Lee Y-K, Yoon B-H, Koo K-H. Epidemiology of osteoporosis and osteoporotic fractures in South Korea. *Endocrinol Metab Seoul Korea.* 2013;28(2):90-3.
3. de Souza Genaro P, Araújo Martini L. Effect of protein intake on bone and muscle mass in the elderly. *Nutr Rev.* 2010;68(10):616-23.
4. Pedrera-Zamorano JD, Lavado-Garcia JM, Roncero-Martin R, Calderon-Garcia JF, Rodriguez-Dominguez T, Canal-Macias ML. Effect of beer drinking on ultrasound bone mass in women. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif.* 2009;25(10):1057-63.
5. Montalbán Sánchez J, Rico Lenza H, Cortés Prieto J, Pedrera Zamorano JD. [Cortical bone mass and risk factors for osteoporosis among postmenopausal women in our environment]. *Rev Clin Esp.* 2001;201(1):16-20.
6. Kitchin B, Morgan S. Nutritional considerations in osteoporosis. *Curr Opin Rheumatol.* 2003;15(4):476-80.
7. Hasling C, Charles P, Jensen FT, Mosekilde L. Calcium metabolism in postmenopausal osteoporosis: the influence of dietary calcium and net absorbed calcium. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 1990;5(9):939-46.
8. Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2005;16(7):713-6.
9. Calderon-Garcia JF, Moran JM, Roncero-Martin R, Rey-Sanchez P, Rodriguez-Velasco FJ, Pedrera-Zamorano JD. Dietary habits, nutrients and bone mass in Spanish premenopausal women: the contribution of fish to better bone health. *Nutrients.* 2012;5(1):10-22.
10. Darling AL, Millward DJ, Torgerson DJ, Hewitt CE, Lanham-New SA. Dietary protein and bone health: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2009;90(6):1674-92.
11. Jesudason D, Clifton P. The interaction between dietary protein and bone health. *J Bone Miner Metab.* 2011;29(1):1-14.
12. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Stefanadis C. Dietary patterns: a Mediterranean diet score and its relation to clinical and biological markers of cardiovascular disease risk. *Nutr Metab Cardiovasc Dis NMCD.* 2006;16(8):559-68.
13. Regmi A, Ballenger N, Putnam J. Globalisation and income growth promote

- the Mediterranean diet. *Public Health Nutr.* 2004;7(7):977-83.
14. Trichopoulou A, Lagiou P. Healthy traditional Mediterranean diet: an expression of culture, history, and lifestyle. *Nutr Rev.* 1997;55(11 Pt 1):383-9.
  15. Trichopoulou A, Costacou T, Bamia C, Trichopoulos D. Adherence to a Mediterranean diet and survival in a Greek population. *N Engl J Med.* 2003;348(26):2599-608
  16. Sofi F, Abbate R, Gensini GF, Casini A. Accruing evidence on benefits of adherence to the Mediterranean diet on health: an updated systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr.* 2010;92(5):1189-96.
  17. Tucker KL, Hannan MT, Chen H, Cupples LA, Wilson PW, Kiel DP. Potassium, magnesium, and fruit and vegetable intakes are associated with greater bone mineral density in elderly men and women. *Am J Clin Nutr.* 1999;69(4):727-36
  18. Benetou V, Orfanos P, Pettersson-Kymmer U, Bergström U, Svensson O, Johansson I, et al. Mediterranean diet and incidence of hip fractures in a European cohort. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2013;24(5):1587-98.
  19. Feart C, Lorrain S, Ginder Coupez V, Samieri C, Letenneur L, Paineau D, et al. Adherence to a Mediterranean diet and risk of fractures in French older persons. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2013;24(12):3031-41.
  20. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration II. The remodeling process. *Med Oral Patol Oral Cirugia Bucal.* 2006;11(2):E151-157.
  21. Fernández-Tresguerres-Hernández-Gil I, Alobera-Gracia MA, del-Canto-Pingarrón M, Blanco-Jerez L. Physiological bases of bone regeneration I. Histology and physiology of bone tissue. *Med Oral Patol Oral Cirugia Bucal.* 2006;11(1):E47-51.
  22. Cundy T, Reid I. Metabolic bone disease. En: Marshall WJ, Bangert SK, editores. *Clinical biochemistry: metabolic and clinical aspects.* 1st ed. New York: Churchill Livingstone; 1995.
  23. Marrero RCM, Rull IM, Cunillera MP. *Biomecánica clínica de los tejidos y las articulaciones del aparato locomotor* [Internet]. 2nd ed. Masson; 2005 [citado 25 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/libro?codigo=691568>

24. Wheeler PR, Burkitt G, Daniels VG. *Histología funcional: texto y atlas en color*. Barcelona: Jims; 1987.
25. Almagro Fernández MI. Efectos de diferentes tratamientos antiosteoporóticos sobre la osteointegración de implantes dentales en un modelo experimental en conejos [Internet] [info:eu-repo/semantics/doctoralThesis]. [Madrid]: Universidad Complutense de Madrid, Servicio de Publicaciones; 2010 [citado 25 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://eprints.ucm.es/11521/>
26. Baron R. General principles of bone biology. En: Favus MJ, editor. *Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism*. 5. ed. Washington, DC: American Soc. for Bone and Mineral Research; 2003.p. 1-8.
27. Comín M, Sánchez-Lacuesta J, Prat J, Instituto de Biomecánica de Valencia. *Biomecánica de la fractura ósea y técnicas de reparación*. Valencia: Instituto Biomecánica de Valencia; 1999.
28. Young MF. Bone matrix proteins: more than markers. *Calcif Tissue Int*. 2003;72(1):2-4.
29. Masi L, Brandi ML. Physiopathological basis of bone turnover. *Q J Nucl Med Off Publ Ital Assoc Nucl Med AIMN Int Assoc Radiopharmacol IAR*. 2001;45(1):2-6.
30. Parfitt AM, Mundy GR, Roodman GD, Hughes DE, Boyce BF. A new model for the regulation of bone resorption, with particular reference to the effects of bisphosphonates. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 1996;11(2):150-9.
31. Parfitt AM. The mechanism of coupling: a role for the vasculature. *Bone*. 2000;26(4):319-23.
32. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell*. 1997;89(2):309-19.
33. Mackie EJ. Osteoblasts: novel roles in orchestration of skeletal architecture. *Int J Biochem Cell Biol*. 2003;35(9):1301-5.
34. Manolagas SC, Parfitt AM. What old means to bone. *Trends Endocrinol Metab TEM*. 2010;21(6):369-74.
35. Mundy GR. Cytokines and growth factors in the regulation of bone remodeling. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 1993;8 Suppl 2:S505-510.

36. Davies JE, Hosseini MM. Histodinamics of endosseous wound healing. En: Davies JE, editor. Bone engineering. Toronto: EM Squared; 2000. p. 1-14.
37. Datta HK, Ng WF, Walker JA, Tuck SP, Varanasi SS. The cell biology of bone metabolism. *J Clin Pathol.* 2008;61(5):577-87.
38. Matkovic V, Jelic T, Wardlaw GM, Ilich JZ, Goel PK, Wright JK, et al. Timing of peak bone mass in Caucasian females and its implication for the prevention of osteoporosis. Inference from a cross-sectional model. *J Clin Invest.* 1994;93(2):799-808.
39. Heaney RP, Abrams S, Dawson-Hughes B, Looker A, Looker A, Marcus R, et al. Peak Bone Mass. *Osteoporos Int.* 2001;11(12):985-1009.
40. Serrano S, Mariñoso ML. Bases histológicas de la histomorfometría ósea. En: Aubia Marimón J, Serrano S, editores. *Patología ósea metabólica.* Barcelona: Sandoz; 1990. p. 55-70.
53. Vasikaran S, Cooper C, Eastell R, Griesmacher A, Morris HA, Trenti T, et al. International Osteoporosis Foundation and International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine position on bone marker standards in osteoporosis. *Clin Chem Lab Med.* 2011;49(8):1271-4.
54. Szulc P. Bone turnover: Biology and assessment tools. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2018;32(5):725-38.
55. Reynaga Montecinos B, Zeni SN. Marcadores bioquímicos del remodelamiento óseo. Utilidad clínica. *Acta Bioquímica Clínica Latinoam.* 2009;43(2):177-93.
56. Romero Barco CM, Manrique Arijia S, Rodríguez Pérez M. Biochemical markers in osteoporosis: usefulness in clinical practice. *Reumatol Clin.* 2012;8(3):149-52.
57. Szulc P, Bauer DC. Chapter 67 - Biochemical Markers of Bone Turnover in Osteoporosis. En: Marcus R, Feldman D, Dempster DW, Luckey M, Cauley JA, editores. *Osteoporosis (Fourth Edition)* [Internet]. San Diego: Academic Press; 2013 [citado 25 de mayo de 2020]. p. 1573-610. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780124158535000674>
58. Booth SL, Broe KE, Peterson JW, Cheng DM, Dawson-Hughes B, Gundberg CM, et al. Associations between vitamin K biochemical measures and bone mineral density in men and women. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004;89(10):4904-9.

59. Chavassieux P, Portero-Muzy N, Roux J-P, Garnero P, Chapurlat R. Are Biochemical Markers of Bone Turnover Representative of Bone Histomorphometry in 370 Postmenopausal Women? *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(12):4662-8.
60. Eriksen EF, Charles P, Melsen F, Mosekilde L, Risteli L, Risteli J. Serum markers of type I collagen formation and degradation in metabolic bone disease: correlation with bone histomorphometry. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 1993;8(2):127-32.
61. Garnero P, Ferreras M, Karsdal MA, Nicamhlaioibh R, Risteli J, Borel O, et al. The type I collagen fragments ICTP and CTX reveal distinct enzymatic pathways of bone collagen degradation. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res.* 2003;18(5):859-67.
62. Clowes JA, Hannon RA, Yap TS, Hoyle NR, Blumsohn A, Eastell R. Effect of feeding on bone turnover markers and its impact on biological variability of measurements. *Bone.* 2002;30(6):886-90.
63. Delanaye P, Souberbielle J-C, Lafage-Proust M-H, Jean G, Cavalier E. Can we use circulating biomarkers to monitor bone turnover in CKD haemodialysis patients? Hypotheses and facts. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2014;29(5):997-1004.
64. Jain S, Camacho P. Use of bone turnover markers in the management of osteoporosis. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2018;25(6):366-72.
65. Hernlund E, Svedbom A, Ivergård M, Compston J, Cooper C, Stenmark J, et al. Osteoporosis in the European Union: medical management, epidemiology and economic burden. A report prepared in collaboration with the International Osteoporosis Foundation (IOF) and the European Federation of Pharmaceutical Industry Associations (EFPIA). *Arch Osteoporos.* 2013;8:136.
66. Otero M, Esain I, González-Suarez ÁM, Gil SM. The effectiveness of a basic exercise intervention to improve strength and balance in women with osteoporosis. *Clin Interv Aging.* 2017;12:505-13.
67. Soto-Subiabre M, Mayoral V, Fiter J, Valencia L, Subirana I, Gómez-Vaquero C. Vertebral fracture: clinical presentation and severity are linked to fracture risk factors. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2020;
68. Varo JJ, Martínez-González MA, De Irala-Estévez J, Kearney J, Gibney

- M, Martínez JA. Distribution and determinants of sedentary lifestyles in the European Union. *Int J Epidemiol*. 2003;32(1):138-46.
69. Radak TL. Caloric restriction and calcium's effect on bone metabolism and body composition in overweight and obese premenopausal women. *Nutr Rev*. 2004;62(12):468-81.
70. Al-Bashaireh AM, Haddad LG, Weaver M, Chengguo X, Kelly DL, Yoon S. The Effect of Tobacco Smoking on Bone Mass: An Overview of Pathophysiologic Mechanisms. *J Osteoporos*. 2018;2018:1206235.
71. Kanis JA, Burlet N, Cooper C, Delmas PD, Reginster J-Y, Borgstrom F, et al. European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 2008;19(4):399-428.
72. Pisani P, Renna MD, Conversano F, Casciaro E, Muratore M, Quarta E, et al. Screening and early diagnosis of osteoporosis through X-ray and ultrasound based techniques. *World J Radiol*. 2013;5(11):398-410.
73. Albanese CV, De Terlizzi F, Passariello R. Quantitative ultrasound of the phalanges and DXA of the lumbar spine and proximal femur in evaluating the risk of osteoporotic vertebral fracture in postmenopausal women. *Radiol Med (Torino)*. 2011;116(1):92-101.
74. Glüer CC, Wu CY, Jergas M, Goldstein SA, Genant HK. Three quantitative ultrasound parameters reflect bone structure. *Calcif Tissue Int*. 1994;55(1):46-52.
75. Hayes WC, Piazza SJ, Zysset PK. Biomechanics of fracture risk prediction of the hip and spine by quantitative computed tomography. *Radiol Clin North Am*. 1991;29(1):1-18.
76. Kaufman JJ, Einhorn TA. Ultrasound assessment of bone. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 1993;8(5):517-25.
77. Njeh CF, Boivin CM, Langton CM. The role of ultrasound in the assessment of osteoporosis: a review. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 1997;7(1):7-22.
78. Wüster C, Hadji P. Use of quantitative ultrasound densitometry (QUS) in male osteoporosis. *Calcif Tissue Int*. 2001;69(4):225-8.
79. Rey-Sánchez P, Lavado-García JM, Canal-Macías ML, Gómez-Zubeldia MA, Roncero-Martín R, Pedrera-Zamorano JD. Ultrasound bone mass in schizophrenic patients on antipsychotic therapy. *Hum Psychopharmacol*. 2009;24(1):49-54.

80. Rodríguez Velasco FJ. Estudio de la prevalencia de los polimorfismos comunes del gen del VDR y su relación con la densidad mineral ósea en mujeres españolas postmenopáusicas [Internet] [<http://purl.org/dc/dcmitype/Text>]. Universidad de Extremadura; 2013 [citado 25 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=26912>
81. Tremollieres FA, Pouilles JM, Ribot C. Vertebral postmenopausal bone loss is reduced in overweight women: a longitudinal study in 155 early postmenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab*. 1993;77(3):683-6.
82. Horton JA, Murray GM, Spadaro JA, Margulies BS, Allen MJ, Damron TA. Precision and accuracy of DXA and pQCT for densitometry of the rat femur. *J Clin Densitom Off J Int Soc Clin Densitom*. 2003;6(4):381-90.
83. Ibáñez R. [Bone mineral density measurement techniques]. *An Sist Sanit Navar*. 2003;26 Suppl 3:19-27.
84. Mazess R, Chesnut CH, McClung M, Genant H. Enhanced precision with dual-energy X-ray absorptiometry. *Calcif Tissue Int*. 1992;51(1):14-7.
85. Cosman F, de Beur SJ, LeBoff MS, Lewiecki EM, Tanner B, Randall S, et al. Clinician's Guide to Prevention and Treatment of Osteoporosis. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 2014;25(10):2359-81.
86. International Society for Clinical Densitometry. ISCD Official Positions - Adult - [Internet]. 2013 [citado 12 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www.iscd.org/official-positions/2013-iscd-official-positions-adult/>
87. The Advisory Board of the National Osteoporosis Guideline Group, Kanis JA, Harvey NC, Cooper C, Johansson H, Odén A, et al. A systematic review of intervention thresholds based on FRAX: A report prepared for the National Osteoporosis Guideline Group and the International Osteoporosis Foundation. *Arch Osteoporos*. 2016;11(1):25.
88. Gómez Alonso C, Díaz López JB. Métodos de determinación de la densidad mineral ósea. *Rev Clínica Esp*. 2009;209:15-22.
89. Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. Report of a WHO Study Group. *World Health Organ Tech Rep Ser*. 1994;843:1-129.
90. Adams JE. Radiogrammetry and radiographic absorptiometry. *Radiol Clin North Am*. 2010;48(3):531-40.
91. Adams JE. Quantitative computed tomography. *Eur J Radiol*. 2009;71(3):415-24.

92. Macdonald HM, Nishiyama KK, Kang J, Hanley DA, Boyd SK. Age-related patterns of trabecular and cortical bone loss differ between sexes and skeletal sites: a population-based HR-pQCT study. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2011;26(1):50-62.
93. Pistoia W, van Rietbergen B, Rügsegger P. Mechanical consequences of different scenarios for simulated bone atrophy and recovery in the distal radius. *Bone*. 2003;33(6):937-45.
94. Seeman E. Periosteal bone formation--a neglected determinant of bone strength. *N Engl J Med*. 2003;349(4):320-3.
95. Holzer G, von Skrbensky G, Holzer LA, Pichl W. Hip fractures and the contribution of cortical versus trabecular bone to femoral neck strength. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2009;24(3):468-74.
96. Roux J-P, Wegrzyn J, Arlot ME, Guyen O, Delmas PD, Chapurlat R, et al. Contribution of trabecular and cortical components to biomechanical behavior of human vertebrae: an ex vivo study. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2010;25(2):356-61.
97. Cervinka T, Sievänen H, Lala D, Cheung AM, Giangregorio L, Hyttinen J. A new algorithm to improve assessment of cortical bone geometry in pQCT. *Bone*. 2015;81:721-30.
98. Aguado F, Revilla M, Villa LF, Rico H. Cortical bone resorption in osteoporosis. *Calcif Tissue Int*. 1997;60(4):323-6.
99. Guglielmi G, Njeh CF, de Terlizzi F, De Serio DA, Scillitani A, Cammisa M, et al. Palangeal quantitative ultrasound, phalangeal morphometric variables, and vertebral fracture discrimination. *Calcif Tissue Int*. 2003;72(4):469-77.
100. Bach-Faig A, Berry EM, Lairon D, Reguant J, Trichopoulou A, Dernini S, et al. Mediterranean diet pyramid today. Science and cultural updates. *Public Health Nutr*. 2011;14(12A):2274-84.
101. Nestle M. Mediterranean diets: historical and research overview. *Am J Clin Nutr*. 1995;61(6 Suppl):1313S-1320S.
102. Martínez-González MA, Guillén-Grima F, De Irala J, Ruíz-Canela M, Bes-Rastrollo M, Beunza JJ, et al. The Mediterranean diet is associated with a reduction in premature mortality among middle-aged adults. *J Nutr*. 2012;142(9):1672-8.

103. Keys A, Grande F. Role of dietary fat in human nutrition. III. Diet and the epidemiology of coronary heart disease. *Am J Public Health Nations Health.* 1957;47(12):1520-30.
104. Keys A, Aravanis C, Blackburn HW, Van Buchem FS, Buzina R, Djordjević BD, et al. Epidemiological studies related to coronary heart disease: characteristics of men aged 40-59 in seven countries. *Acta Med Scand Suppl.* 1966;460:1-392.
105. Keys A, Menotti A, Karvonen MJ, Aravanis C, Blackburn H, Buzina R, et al. The diet and 15-year death rate in the seven countries study. *Am J Epidemiol.* 1986;124(6):903-15.
106. Pérez-López FR, Chedraui P, Haya J, Cuadros JL. Effects of the Mediterranean diet on longevity and age-related morbid conditions. *Maturitas.* 2009;64(2):67-79.
107. Kant AK. Dietary patterns and health outcomes. *J Am Diet Assoc.* 2004;104(4):615-35.
108. Trichopoulou A, Orfanos P, Norat T, Bueno-de-Mesquita B, Ocké MC, Peeters PHM, et al. Modified Mediterranean diet and survival: EPIC-elderly prospective cohort study. *BMJ.* 2005;330(7498):991.
109. Serra-Majem L, Roman B, Estruch R. Scientific evidence of interventions using the Mediterranean diet: a systematic review. *Nutr Rev.* 2006;64(2 Pt 2):S27-47.
110. Mena M-P, Sacanella E, Vazquez-Agell M, Morales M, Fitó M, Escoda R, et al. Inhibition of circulating immune cell activation: a molecular antiinflammatory effect of the Mediterranean diet. *Am J Clin Nutr.* 2009;89(1):248-56.
111. Esposito K, Marfella R, Ciotola M, Di Palo C, Giugliano F, Giugliano G, et al. Effect of a mediterranean-style diet on endothelial dysfunction and markers of vascular inflammation in the metabolic syndrome: a randomized trial. *JAMA.* 2004;292(12):1440-6.
112. Chatzi L, Kogevinas M. Prenatal and childhood Mediterranean diet and the development of asthma and allergies in children. *Public Health Nutr.* 2009;12(9A):1629-34.
113. Sánchez-Villegas A, Delgado-Rodríguez M, Alonso A, Schlatter J, Lahortiga F, Serra Majem L, et al. Association of the Mediterranean dietary pattern

- with the incidence of depression: the Seguimiento Universidad de Navarra/ University of Navarra follow-up (SUN) cohort. *Arch Gen Psychiatry*. 2009;66(10):1090-8.
114. Féart C, Samieri C, Rondeau V, Amieva H, Portet F, Dartigues J-F, et al. Adherence to a Mediterranean diet, cognitive decline, and risk of dementia. *JAMA*. 2009;302(6):638-48.
115. Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, Salas-Salvadó J, Ruiz-Gutiérrez V, Covas MI, et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med*. 2006;145(1):1-11.
116. Romaguera D, Norat T, Vergnaud A-C, Mouw T, May AM, Agudo A, et al. Mediterranean dietary patterns and prospective weight change in participants of the EPIC-PANACEA project. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(4):912-21.
117. Shai I, Schwarzfuchs D, Henkin Y, Shahar DR, Witkow S, Greenberg I, et al. Weight loss with a low-carbohydrate, Mediterranean, or low-fat diet. *N Engl J Med*. 2008;359(3):229-41.
118. Kastorini C-M, Milionis HJ, Esposito K, Giugliano D, Goudevenos JA, Panagiotakos DB. The effect of Mediterranean diet on metabolic syndrome and its components: a meta-analysis of 50 studies and 534,906 individuals. *J Am Coll Cardiol*. 2011;57(11):1299-313.
119. Benítez-Arciniega AA, Mendez MA, Baena-Díez JM, Rovira Martori M-A, Soler C, Marrugat J, et al. Concurrent and construct validity of Mediterranean diet scores as assessed by an FFQ. *Public Health Nutr*. 2011;14(11):2015-21.
120. Schröder H, Fitó M, Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, Salas-Salvadó J, et al. A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *J Nutr*. 2011;141(6):1140-5.
121. Garcia-Martinez O, Ruiz C, Gutierrez-Ibanez A, Illescas-Montes R, Melguizo-Rodriguez L. Benefits of Olive Oil Phenolic Compounds in Disease Prevention. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*. 2018;18(4):333-40.
122. Roncero-Martín R, Aliaga Vera I, Moreno-Corral LJ, Moran JM, Lavado-García JM, Pedrera-Zamorano JD, et al. Olive Oil Consumption and Bone Microarchitecture in Spanish Women. *Nutrients*. 2018;10(8).
123. Trichopoulou A, Dilis V. Olive oil and longevity. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(10):1275-8

124. Pérez-Jiménez F, Ruano J, Perez-Martinez P, Lopez-Segura F, Lopez-Miranda J. The influence of olive oil on human health: not a question of fat alone. *Mol Nutr Food Res*. 2007;51(10):1199-208.
125. Covas M-I. Olive oil and the cardiovascular system. *Pharmacol Res*. 2007;55(3):175-86.
126. Carnevale R, Silvestri R, Loffredo L, Novo M, Cammisotto V, Castellani V, et al. Oleuropein, a component of extra virgin olive oil, lowers postprandial glycaemia in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol*. 2018;84(7):1566-74.
127. Luisi MLE, Lucarini L, Biffi B, Rafanelli E, Pietramellara G, Durante M, et al. Effect of Mediterranean Diet Enriched in High Quality Extra Virgin Olive Oil on Oxidative Stress, Inflammation and Gut Microbiota in Obese and Normal Weight Adult Subjects. *Front Pharmacol*. 2019;10:1366.
128. de Wit N, Derrien M, Bosch-Vermeulen H, Oosterink E, Keshtkar S, Duval C, et al. Saturated fat stimulates obesity and hepatic steatosis and affects gut microbiota composition by an enhanced overflow of dietary fat to the distal intestine. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2012;303(5):G589-599.
129. Maron DJ. Flavonoids for reduction of atherosclerotic risk. *Curr Atheroscler Rep*. 2004;6(1):73-8.
130. van Herpen-Broekmans WMR, Klöpping-Ketelaars IAA, Bots ML, Klufft C, Princen H, Hendriks HFJ, et al. Serum carotenoids and vitamins in relation to markers of endothelial function and inflammation. *Eur J Epidemiol*. 2004;19(10):915-21.
131. Brighenti F, Valtueña S, Pellegrini N, Ardigo D, Del Rio D, Salvatore S, et al. Total antioxidant capacity of the diet is inversely and independently related to plasma concentration of high-sensitivity C-reactive protein in adult Italian subjects. *Br J Nutr*. 2005;93(5):619-25.
132. King DE, Egan BM, Geesey ME. Relation of dietary fat and fiber to elevation of C-reactive protein. *Am J Cardiol*. 2003;92(11):1335-9.
133. Ajani UA, Ford ES, Mokdad AH. Dietary fiber and C-reactive protein: findings from national health and nutrition examination survey data. *J Nutr*. 2004;134(5):1181-5.
134. Gao X, Bermudez OI, Tucker KL. Plasma C-reactive protein and homocysteine concentrations are related to frequent fruit and vegetable intake in Hispanic and non-Hispanic white elders. *J Nutr*. 2004;134(4):913-8.

135. Rizwan M, Rodriguez-Blanco I, Harbottle A, Birch-Machin M, Watson REB, Rhodes LE. Lycopene protects against biomarkers of photodamage in human skin. *Br J Dermatol Annu Meet Br Soc Investig Dermatol* [Internet]. 2008 [citado 25 de mayo de 2020]; Disponible en: <https://eprint.ncl.ac.uk/151064>
136. Unlu NZ, Bohn T, Francis DM, Nagaraja HN, Clinton SK, Schwartz SJ. Lycopene from heat-induced cis-isomer-rich tomato sauce is more bioavailable than from all-trans-rich tomato sauce in human subjects. *Br J Nutr*. 2007;98(1):140-6.
137. Gärtner C, Stahl W, Sies H. Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *Am J Clin Nutr*. 1997;66(1):116-22.
138. Paran E, Novack V, Engelhard YN, Hazan-Halevy I. The effects of natural antioxidants from tomato extract in treated but uncontrolled hypertensive patients. *Cardiovasc Drugs Ther*. 2009;23(2):145-51.
139. Jamshidzadeh A, Baghban M, Azarpira N, Mohammadi Bardbori A, Niknahad H. Effects of tomato extract on oxidative stress induced toxicity in different organs of rats. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*. 2008;46(12):3612-5.
140. Moreno DA, Carvajal M, López-Berenguer C, García-Viguera C. Chemical and biological characterisation of nutraceutical compounds of broccoli. *J Pharm Biomed Anal*. 2006;41(5):1508-22.
141. Nguyen HH, Aronchik I, Brar GA, Nguyen DHH, Bjeldanes LF, Firestone GL. The dietary phytochemical indole-3-carbinol is a natural elastase enzymatic inhibitor that disrupts cyclin E protein processing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2008;105(50):19750-5.
142. Mozaffarian D, Rimm EB. Fish intake, contaminants, and human health: evaluating the risks and the benefits. *JAMA*. 2006;296(15):1885-99.
143. Kris-Etherton PM, Harris WS, Appel LJ, American Heart Association. Nutrition Committee. Fish consumption, fish oil, omega-3 fatty acids, and cardiovascular disease. *Circulation*. 2002;106(21):2747-57.
144. Graham I, Atar D, Borch-Johnsen K, Boysen G, Burell G, Cifkova R, et al. European guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice: executive summary: Fourth Joint Task Force of the European Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (Constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J*. 2007;28(19):2375-414.

145. Widmer RJ, Flammer AJ, Lerman LO, Lerman A. The Mediterranean diet, its components, and cardiovascular disease. *Am J Med.* 2015;128(3):229-38.
146. Ambring A, Johansson M, Axelsen M, Gan L, Strandvik B, Friberg P. Mediterranean-inspired diet lowers the ratio of serum phospholipid n-6 to n-3 fatty acids, the number of leukocytes and platelets, and vascular endothelial growth factor in healthy subjects. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(3):575-81.
147. Tsitouras PD, Gucciardo F, Salbe AD, Heward C, Harman SM. High omega-3 fat intake improves insulin sensitivity and reduces CRP and IL6, but does not affect other endocrine axes in healthy older adults. *Horm Metab Res Horm Stoffwechselforschung Horm Metab.* 2008;40(3):199-205.
148. Solfrizzi V, Capurso C, D'Introno A, Colacicco AM, Frisardi V, Santamato A, et al. Dietary fatty acids, age-related cognitive decline, and mild cognitive impairment. *J Nutr Health Aging.* 2008;12(6):382-6.
149. Marcos A, López Díaz-Ufano M, Pascual Fuster V. ¿El consumo moderado de cerveza podría incluirse dentro de una alimentación saludable? *Med Fam SEMERGEN.* 2015;41:1-12.
150. Fuhrman B, Lavy A, Aviram M. Consumption of red wine with meals reduces the susceptibility of human plasma and low-density lipoprotein to lipid peroxidation. *Am J Clin Nutr.* 1995;61(3):549-54.
151. Klatsky AL, Armstrong MA, Friedman GD. Risk of cardiovascular mortality in alcohol drinkers, ex-drinkers and nondrinkers. *Am J Cardiol.* 1990;66(17):1237-42.
152. Kloner RA, Rezkalla SH. To drink or not to drink? That is the question. *Circulation.* 2007;116(11):1306-17.
153. Levantesi G, Marfisi R, Mozaffarian D, Franzosi MG, Maggioni A, Nicolosi GL, et al. Wine consumption and risk of cardiovascular events after myocardial infarction: results from the GISSI-Prevenzione trial. *Int J Cardiol.* 2013;163(3):282-7.
154. Mukamal KJ, Chiuve SE, Rimm EB. Alcohol consumption and risk for coronary heart disease in men with healthy lifestyles. *Arch Intern Med.* 2006;166(19):2145-50.
155. Renaud S, de Lorgeril M. Wine, alcohol, platelets, and the French paradox for coronary heart disease. *Lancet Lond Engl.* 1992;339(8808):1523-6.

156. St Leger AS, Cochrane AL, Moore F. Factors associated with cardiac mortality in developed countries with particular reference to the consumption of wine. *Lancet Lond Engl.* 1979;1(8124):1017-20.
157. Romeo J, Wärnberg J, Marcos A. Drinking pattern and socio-cultural aspects on immune response: an overview. *Proc Nutr Soc.* 2010;69(3):341-6.
158. Bradamante S, Barenghi L, Villa A. Cardiovascular protective effects of resveratrol. *Cardiovasc Drug Rev.* 2004;22(3):169-88.
159. de la Lastra CA, Villegas I. Resveratrol as an antioxidant and pro-oxidant agent: mechanisms and clinical implications. *Biochem Soc Trans.* 2007;35(Pt 5):1156-60.
160. Ungvari Z, Orosz Z, Rivera A, Labinskyy N, Xiangmin Z, Olson S, et al. Resveratrol increases vascular oxidative stress resistance. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2007;292(5):H2417-2424.
161. Namsi A, Nury T, Hamdouni H, Yammine A, Vejux A, Vervandier-Fasseur D, et al. Induction of Neuronal Differentiation of Murine N2a Cells by Two Polyphenols Present in the Mediterranean Diet Mimicking Neurotrophins Activities: Resveratrol and Apigenin. *Dis Basel Switz.* 2018;6(3).
162. Pérez Medina T, de Argila Fernández-Durán N, Pereira Sánchez A, Serrano González L. [Benefits of moderate beer consumption at different stages of life of women]. *Nutr Hosp.* 2015;32 Suppl 1:32-4.
163. Feskanich D, Korrick SA, Greenspan SL, Rosen HN, Colditz GA. Moderate alcohol consumption and bone density among postmenopausal women. *J Womens Health.* 1999;8(1):65-73.
164. Vilahur G, Casani L, Guerra JM, Badimon L. Intake of fermented beverages protect against acute myocardial injury: target organ cardiac effects and vasculoprotective effects. *Basic Res Cardiol.* 2012;107(5):291.
165. Hernández Á, Sanllorente A, Castañer O, Martínez-González MÁ, Ros E, Pintó X, et al. Increased Consumption of Virgin Olive Oil, Nuts, Legumes, Whole Grains, and Fish Promotes HDL Functions in Humans. *Mol Nutr Food Res.* 2019;63(6):e1800847.
166. Anderson JW, Hanna TJ, Peng X, Kryscio RJ. Whole grain foods and heart disease risk. *J Am Coll Nutr.* 2000;19(3 Suppl):291S-299S.
167. Jenkins DJ, Wesson V, Wolever TM, Jenkins AL, Kalmusky J, Guidici S, et al. Wholemeal versus wholegrain breads: proportion of whole or cracked grain and the glycaemic response. *BMJ.* 1988;297(6654):958-60.

168. Tarini J, Wolever TMS. The fermentable fibre inulin increases postprandial serum short-chain fatty acids and reduces free-fatty acids and ghrelin in healthy subjects. *Appl Physiol Nutr Metab Physiol Appl Nutr Metab*. 2010;35(1):9-16.
169. Good CK, Holschuh N, Albertson AM, Eldridge AL. Whole grain consumption and body mass index in adult women: an analysis of NHANES 1999-2000 and the USDA pyramid servings database. *J Am Coll Nutr*. 2008;27(1):80-7.
170. Adom KK, Liu RH. Antioxidant activity of grains. *J Agric Food Chem*. 2002;50(21):6182-7
171. Bazzano LA, He J, Ogden LG, Loria C, Vupputuri S, Myers L, et al. Legume consumption and risk of coronary heart disease in US men and women: NHANES I Epidemiologic Follow-up Study. *Arch Intern Med*. 2001;161(21):2573-8.
172. Sasazuki S, Fukuoka Heart Study Group. Case-control study of nonfatal myocardial infarction in relation to selected foods in Japanese men and women. *Jpn Circ J*. 2001;65(3):200-6.
173. Zhang X, Shu XO, Gao Y-T, Yang G, Li Q, Li H, et al. Soy food consumption is associated with lower risk of coronary heart disease in Chinese women. *J Nutr*. 2003;133(9):2874-8.
174. O'Neil CE, Keast DR, Fulgoni VL, Nicklas TA. Tree nut consumption improves nutrient intake and diet quality in US adults: an analysis of National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2004. *Asia Pac J Clin Nutr*. 2010;19(1):142-50.
175. Brown RC, Tey SL, Gray AR, Chisholm A, Smith C, Fleming E, et al. Nut consumption is associated with better nutrient intakes: results from the 2008/09 New Zealand Adult Nutrition Survey. *Br J Nutr*. 2016;115(1):105-12.
176. Bibiloni M, Julibert A, Bouzas C, Martínez-González M, Corella D, Salas-Salvadó J, et al. Nut Consumptions as a Marker of Higher Diet Quality in a Mediterranean Population at High Cardiovascular Risk. *Nutrients*. 2019;11(4):754.
177. Chen G-C, Zhang R, Martínez-González MA, Zhang Z-L, Bonaccio M, van Dam RM, et al. Nut consumption in relation to all-cause and cause-specific mortality: a meta-analysis 18 prospective studies. *Food Funct*. 2017;8(11):3893-905.
178. Ros E. Nuts and CVD. *Br J Nutr*. 2015;113 Suppl 2:S111-120.

179. McQueen MJ, Hawken S, Wang X, Ounpuu S, Sniderman A, Probstfield J, et al. Lipids, lipoproteins, and apolipoproteins as risk markers of myocardial infarction in 52 countries (the INTERHEART study): a case-control study. *Lancet Lond Engl.* 2008;372(9634):224-33.
180. Parish S, Peto R, Palmer A, Clarke R, Lewington S, Offer A, et al. The joint effects of apolipoprotein B, apolipoprotein A1, LDL cholesterol, and HDL cholesterol on risk: 3510 cases of acute myocardial infarction and 9805 controls. *Eur Heart J.* 2009;30(17):2137-46.
181. Walldius G, Aastveit AH, Jungner I. Stroke mortality and the apoB/apoA-I ratio: results of the AMORIS prospective study. *J Intern Med.* 2006;259(3):259-66.
182. Violante B, Gerbaudo L, Borretta G, Tassone F. Effects of extra virgin olive oil supplementation at two different low doses on lipid profile in mild hypercholesterolemic subjects: a randomised clinical trial. *J Endocrinol Invest.* 2009;32(10):794-6.
183. Li TY, Brennan AM, Wedick NM, Mantzoros C, Rifai N, Hu FB. Regular consumption of nuts is associated with a lower risk of cardiovascular disease in women with type 2 diabetes. *J Nutr.* 2009;139(7):1333-8.
184. Nordmann AJ, Suter-Zimmermann K, Bucher HC, Shai I, Tuttle KR, Estruch R, et al. Meta-analysis comparing Mediterranean to low-fat diets for modification of cardiovascular risk factors. *Am J Med.* 2011;124(9):841-851.e2.
185. Hernández Á, Castañer O, Goday A, Ros E, Pintó X, Estruch R, et al. The Mediterranean Diet decreases LDL atherogenicity in high cardiovascular risk individuals: a randomized controlled trial. *Mol Nutr Food Res.* 2017;61(9).
186. Covas M-I, Nyssönen K, Poulsen HE, Kaikkonen J, Zunft H-JF, Kieseletter H, et al. The effect of polyphenols in olive oil on heart disease risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med.* 2006;145(5):333-41.
187. Schwingshackl L, Missbach B, König J, Hoffmann G. Adherence to a Mediterranean diet and risk of diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Public Health Nutr.* 2015;18(7):1292-9.
188. Marín C, Yubero-Serrano EM, López-Miranda J, Pérez-Jiménez F. Endothelial aging associated with oxidative stress can be modulated by a healthy mediterranean diet. *Int J Mol Sci.* 2013;14(5):8869-89.

189. Basterra-Gortari FJ, Ruiz-Canela M, Martínez-González MA, Babio N, Sorlí JV, Fito M, et al. Effects of a Mediterranean Eating Plan on the Need for Glucose-Lowering Medications in Participants With Type 2 Diabetes: A Subgroup Analysis of the PREDIMED Trial. *Diabetes Care*. 2019;42(8):1390-7.
190. Rallidis LS, Lekakis J, Kolomvotsou A, Zampelas A, Vamvakou G, Efstathiou S, et al. Close adherence to a Mediterranean diet improves endothelial function in subjects with abdominal obesity. *Am J Clin Nutr*. 2009;90(2):263-8.
191. Bertoli S, Leone A, Vignati L, Bedogni G, Martínez-González MÁ, Bes-Rastrollo M, et al. Adherence to the Mediterranean diet is inversely associated with visceral abdominal tissue in Caucasian subjects. *Clin Nutr Edinb Scotl*. 2015;34(6):1266-72.
192. Boghossian NS, Yeung EH, Mumford SL, Zhang C, Gaskins AJ, Wactawski-Wende J, et al. Adherence to the Mediterranean diet and body fat distribution in reproductive aged women. *Eur J Clin Nutr*. 2013;67(3):289-94.
193. Romaguera D, Norat T, Mouw T, May AM, Bamia C, Slimani N, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with lower abdominal adiposity in European men and women. *J Nutr*. 2009;139(9):1728-37.
194. Park Y-M, Zhang J, Steck SE, Fung TT, Hazlett LJ, Han K, et al. Obesity Mediates the Association between Mediterranean Diet Consumption and Insulin Resistance and Inflammation in US Adults. *J Nutr*. 2017;147(4):563-71.
195. Rowland JH, Kent EE, Forsythe LP, Loge JH, Hjorth L, Glaser A, et al. Cancer survivorship research in Europe and the United States: where have we been, where are we going, and what can we learn from each other? *Cancer*. 2013;119 Suppl 11:2094-108.
196. Tang F-Y, Cho H-J, Pai M-H, Chen Y-H. Concomitant supplementation of lycopene and eicosapentaenoic acid inhibits the proliferation of human colon cancer cells. *J Nutr Biochem*. 2009;20(6):426-34.
197. Chatenoud L, Tavani A, La Vecchia C, Jacobs DR, Negri E, Levi F, et al. Whole grain food intake and cancer risk. *Int J Cancer*. 1998;77(1):24-8.
198. Jacobs DR, Marquart L, Slavin J, Kushi LH. Whole-grain intake and cancer: an expanded review and meta-analysis. *Nutr Cancer*. 1998;30(2):85-96.
199. Couto E, Boffetta P, Lagiou P, Ferrari P, Buckland G, Overvad K, et al. Mediterranean dietary pattern and cancer risk in the EPIC cohort. *Br J Cancer*. 2011;104(9):1493-9.

200. Schwingshackl L, Schwedhelm C, Galbete C, Hoffmann G. Adherence to Mediterranean Diet and Risk of Cancer: An Updated Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2017;9(10).
201. Kontogianni MD, Melistas L, Yannakoulia M, Malagaris I, Panagiotakos DB, Yiannakouris N. Association between dietary patterns and indices of bone mass in a sample of Mediterranean women. *Nutr Burbank Los Angel Cty Calif*. 2009;25(2):165-71.
202. Rivas A, Romero A, Mariscal-Arcas M, Monteagudo C, Feriche B, Lorenzo ML, et al. Mediterranean diet and bone mineral density in two age groups of women. *Int J Food Sci Nutr*. 2013;64(2):155-61.
203. Chen G-D, Dong X-W, Zhu Y-Y, Tian H-Y, He J, Chen Y-M. Adherence to the Mediterranean diet is associated with a higher BMD in middle-aged and elderly Chinese. *Sci Rep*. 2016;6:25662.
204. Mundy GR. Osteoporosis and inflammation. *Nutr Rev*. 2007;65(12 Pt 2):S147-151.
205. Dai J, Miller AH, Bremner JD, Goldberg J, Jones L, Shallenberger L, et al. Adherence to the mediterranean diet is inversely associated with circulating interleukin-6 among middle-aged men: a twin study. *Circulation*. 2008;117(2):169-75.
206. Malmir H, Saneei P, Larijani B, Esmailzadeh A. Adherence to Mediterranean diet in relation to bone mineral density and risk of fracture: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Eur J Nutr*. 2018;57(6):2147-60.
207. Pitsavos C, Panagiotakos DB, Tzima N, Chrysohoou C, Economou M, Zampelas A, et al. Adherence to the Mediterranean diet is associated with total antioxidant capacity in healthy adults: the ATTICA study. *Am J Clin Nutr*. 2005;82(3):694-9.
208. Wilson C. Bone: Oxidative stress and osteoporosis. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10(1):3.
209. Benetou V, Orfanos P, Feskanich D, Michaëlsson K, Pettersson-Kymmer U, Eriksson S, et al. Fruit and Vegetable Intake and Hip Fracture Incidence in Older Men and Women: The CHANCES Project. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2016;31(9):1743-52.
210. Perk J, De Backer G, Gohlke H, Graham I, Reiner Z, Verschuren M, et al. European Guidelines on cardiovascular disease prevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of the European Society

- of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular Disease Prevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societies and by invited experts). *Eur Heart J.* 2012;33(13):1635-701.
211. Schulman RC, Weiss AJ, Mechanick JI. Nutrition, bone, and aging: an integrative physiology approach. *Curr Osteoporos Rep.* 2011;9(4):184-95.
  212. Daly RM. Dietary Factors and Chronic Low-Grade Systemic Inflammation in Relation to Bone Health. En: Holick MF, Nieves JW, editores. *Nutrition and Bone Health* [Internet]. 2.a ed. New York: Humana Press; 2015. p. 659-80.(Nutrition and Health). Disponible en: <https://www.springer.com/gp/book/9781493920006>
  213. Nieves JW. Skeletal effects of nutrients and nutraceuticals, beyond calcium and vitamin D. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2013;24(3):771-86.
  214. Holick MF, Nieves JW, editores. *Nutrition and bone health*. Second edition. New York: Humana Press; 2015.718 p. (Nutrition and health).
  215. Fernández-Real JM, Bulló M, Moreno-Navarrete JM, Ricart W, Ros E, Estruch R, et al. A Mediterranean diet enriched with olive oil is associated with higher serum total osteocalcin levels in elderly men at high cardiovascular risk. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012;97(10):3792-8.
  216. García-Martínez O, Rivas A, Ramos-Torrecillas J, De Luna-Bertos E, Ruiz C. The effect of olive oil on osteoporosis prevention. *Int J Food Sci Nutr.* 2014;65(7):834-40
  217. Servili M, Esposto S, Fabiani R, Urbani S, Taticchi A, Mariucci F, et al. Phenolic compounds in olive oil: antioxidant, health and organoleptic activities according to their chemical structure. *Inflammopharmacology.* 2009;17(2):76-84.
  218. Chin K-Y, Ima-Nirwana S. Olives and Bone: A Green Osteoporosis Prevention Option. *Int J Environ Res Public Health.* 2016;13(8).
  219. Martínez-Ramírez MJ, Palma S, Martínez-González MA, Delgado-Martínez AD, de la Fuente C, Delgado-Rodríguez M. Dietary fat intake and the risk of osteoporotic fractures in the elderly. *Eur J Clin Nutr.* 2007;61(9):1114-20.
  220. Corwin RL, Hartman TJ, Maczuga SA, Graubard BI. Dietary saturated fat intake is inversely associated with bone density in humans: analysis of NHANES III. *J Nutr.* 2006;136(1):159-65.

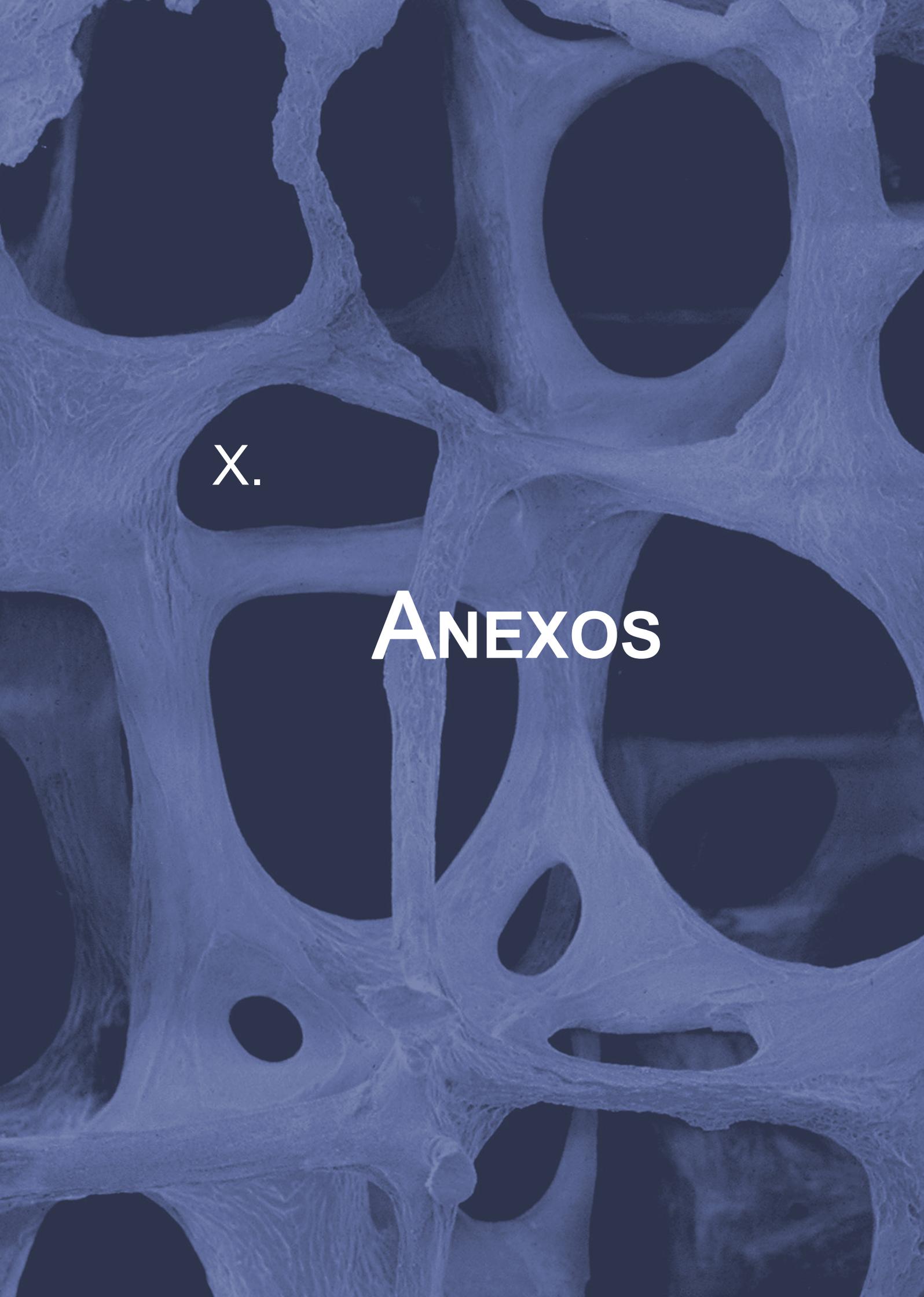
221. Varela-Moreiras G, Avila JM, Cuadrado C, del Pozo S, Ruiz E, Moreiras O. Evaluation of food consumption and dietary patterns in Spain by the Food Consumption Survey: updated information. *Eur J Clin Nutr.* 2010;64 Suppl 3:S37-43.
222. New SA. Nutrition Society Medal lecture. The role of the skeleton in acid-base homeostasis. *Proc Nutr Soc.* 2002;61(2):151-64.
223. Fenton TR, Tough SC, Lyon AW, Eliasziw M, Hanley DA. Causal assessment of dietary acid load and bone disease: a systematic review & meta-analysis applying Hill's epidemiologic criteria for causality. *Nutr J.* 2011;10:41.
224. Calderon-Garcia JF, Lavado-Garcia JM, Martin RR, Moran JM, Canal-Macias ML, Pedrera-Zamorano JD. Bone ultrasound and physical activity in postmenopausal Spanish women. *Biol Res Nurs.* 2013;15(4):416-21.
225. Moreiras-Varela O. Tablas de composición de alimentos: guía de prácticas. 2018.
226. Friedman M. Analysis of biologically active compounds in potatoes (*Solanum tuberosum*), tomatoes (*Lycopersicon esculentum*), and jimson weed (*Datura stramonium*) seeds. *J Chromatogr A.* 2004;1054(1-2):143-55.
227. Trichopoulou A, Vasilopoulou E. Mediterranean diet and longevity. *Br J Nutr.* 2000;84 Suppl 2:S205-209.
228. Fernández-Jarne E, Martínez-Losa E, Prado-Santamaría M, Brugarolas-Brufau C, Serrano-Martínez M, Martínez-González MA. Risk of first non-fatal myocardial infarction negatively associated with olive oil consumption: a case-control study in Spain. *Int J Epidemiol.* 2002;31(2):474-80.
229. Barzi F, Woodward M, Marfisi RM, Tavazzi L, Valagussa F, Marchioli R, et al. Mediterranean diet and all-causes mortality after myocardial infarction: results from the GISSI-Prevenzione trial. *Eur J Clin Nutr.* 2003;57(4):604-11.
230. Hu FB. The Mediterranean diet and mortality--olive oil and beyond. *N Engl J Med.* 2003;348(26):2595-6.
231. Tur JA, Romaguera D, Pons A. Adherence to the Mediterranean dietary pattern among the population of the Balearic Islands. *Br J Nutr.* 2004;92(3):341-6.
232. Bach A, Serra-Majem L, Carrasco JL, Roman B, Ngo J, Bertomeu I, et al. The use of indexes evaluating the adherence to the Mediterranean diet in epidemiological studies: a review. *Public Health Nutr.* 2006;9(1A):132-46.

233. Panagiotakos DB, Pitsavos C, Arvaniti F, Stefanadis C. Adherence to the Mediterranean food pattern predicts the prevalence of hypertension, hypercholesterolemia, diabetes and obesity, among healthy adults; the accuracy of the MedDietScore. *Prev Med.* 2007;44(4):335-40.
234. Hu FB, Rimm EB, Stampfer MJ, Ascherio A, Spiegelman D, Willett WC. Prospective study of major dietary patterns and risk of coronary heart disease in men. *Am J Clin Nutr.* 2000;72(4):912-21.
235. Trichopoulos D, Lagiou P. Dietary patterns and mortality. *Br J Nutr.* 2001;85(2):133-4.
236. Hu FB. Dietary pattern analysis: a new direction in nutritional epidemiology. *Curr Opin Lipidol.* 2002;13(1):3-9.
237. van Dam RM. New approaches to the study of dietary patterns. *Br J Nutr.* 2005;93(5):573-4.
238. Bamia C, Trichopoulos D, Ferrari P, Overvad K, Bjerregaard L, Tjønneland A, et al. Dietary patterns and survival of older Europeans: the EPIC-Elderly Study (European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition). *Public Health Nutr.* 2007;10(6):590-8.
239. Milà-Villarroya R, Bach-Faig A, Puig J, Puchal A, Farran A, Serra-Majem L, et al. Comparison and evaluation of the reliability of indexes of adherence to the Mediterranean diet. *Public Health Nutr.* 2011;14(12A):2338-45.
240. Jennings A, Mulligan AA, Khaw K-T, Luben RN, Welch AA. A Mediterranean Diet Is Positively Associated with Bone and Muscle Health in a Non-Mediterranean Region in 25,450 Men and Women from EPIC-Norfolk. *Nutrients.* 2020;12(4).
241. Prentice A. Diet, nutrition and the prevention of osteoporosis. *Public Health Nutr.* 2004;7(1A):227-43.
242. Sahni S, Mangano KM, McLean RR, Hannan MT, Kiel DP. Dietary Approaches for Bone Health: Lessons from the Framingham Osteoporosis Study. *Curr Osteoporos Rep.* 2015;13(4):245-55.
243. Okubo H, Sasaki S, Horiguchi H, Oguma E, Miyamoto K, Hosoi Y, et al. Dietary patterns associated with bone mineral density in premenopausal Japanese farmwomen. *Am J Clin Nutr.* 2006;83(5):1185-92.
244. Haring B, Crandall CJ, Wu C, LeBlanc ES, Shikany JM, Carbone L, et al. Dietary Patterns and Fractures in Postmenopausal Women: Results From the Women's Health Initiative. *JAMA Intern Med.* 01 de 2016;176(5):645-52.

245. Pérez-Rey J, Roncero-Martín R, Rico-Martín S, Rey-Sánchez P, Pedrera-Zamorano JD, Pedrera-Canal M, et al. Adherence to a Mediterranean Diet and Bone Mineral Density in Spanish Premenopausal Women. *Nutrients*. 2019;11(3).
246. Zeng FF, Xue WQ, Cao WT, Wu BH, Xie HL, Fan F, et al. Diet-quality scores and risk of hip fractures in elderly urban Chinese in Guangdong, China: a case-control study. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 2014;25(8):2131-41.
247. Savanelli MC, Barrea L, Macchia PE, Savastano S, Falco A, Renzullo A, et al. Preliminary results demonstrating the impact of Mediterranean diet on bone health. *J Transl Med*. 2017;15(1):81.
248. Vuolo L, Barrea L, Savanelli MC, Savastano S, Rubino M, Scarano E, et al. Nutrition and Osteoporosis: Preliminary data of Campania Region of European PERsonalised ICT Supported Service for Independent Living and Active Ageing. *Transl Med UniSa*. 2015;13:13-8.
249. Silva TR da, Martins CC, Ferreira LL, Spritzer PM. Mediterranean diet is associated with bone mineral density and muscle mass in postmenopausal women. *Climacteric J Int Menopause Soc*. 2019;22(2):162-8.
250. Byberg L, Bellavia A, Larsson SC, Orsini N, Wolk A, Michaëlsson K. Mediterranean Diet and Hip Fracture in Swedish Men and Women. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2016;31(12):2098-105.
251. Swedish Food Agency. The food database [Internet]. Livsmedelsverket. 2020 [citado 25 de mayo de 2020]. Disponible en: <https://www.livsmedelsverket.se/en/food-and-content/naringsamnen/livsmedelsdatabasen>
252. Fung TT, Rexrode KM, Mantzoros CS, Manson JE, Willett WC, Hu FB. Mediterranean diet and incidence of and mortality from coronary heart disease and stroke in women. *Circulation*. 2009;119(8):1093-100.
253. Bulló M, Amigó-Correig P, Márquez-Sandoval F, Babio N, Martínez-González MA, Estruch R, et al. Mediterranean diet and high dietary acid load associated with mixed nuts: effect on bone metabolism in elderly subjects. *J Am Geriatr Soc*. 2009;57(10):1789-98.
254. Martin GR, Jain RK. Noninvasive measurement of interstitial pH profiles in normal and neoplastic tissue using fluorescence ratio imaging microscopy. *Cancer Res*. 1994;54(21):5670-4.

255. Arnett TR, Spowage M. Modulation of the resorptive activity of rat osteoclasts by small changes in extracellular pH near the physiological range. *Bone*. 1996;18(3):277-9.
256. Romero Pérez A, Rivas Velasco A. Adherence to Mediterranean diet and bone health. *Nutr Hosp*. 2014;29(5):989-96.
257. Aparicio VA, Ruiz-Cabello P, Borges-Cosic M, Andrade A, Coll-Risco I, Acosta-Manzano P, et al. Association of physical fitness, body composition, cardiometabolic markers and adherence to the Mediterranean diet with bone mineral density in perimenopausal women. The FLAMENCO project. *J Sports Sci*. 2017;35(9):880-7.
258. Chen Y -m, Ho SC, Lam SS. Higher sea fish intake is associated with greater bone mass and lower osteoporosis risk in postmenopausal Chinese women. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA*. 2010;21(6):939-46.
259. Hyun TH, Barrett-Connor E, Milne DB. Zinc intakes and plasma concentrations in men with osteoporosis: the Rancho Bernardo Study. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(3):715-21.
260. Farina EK, Kiel DP, Roubenoff R, Schaefer EJ, Cupples LA, Tucker KL. Protective effects of fish intake and interactive effects of long-chain polyunsaturated fatty acid intakes on hip bone mineral density in older adults: the Framingham Osteoporosis Study. *Am J Clin Nutr*. 2011;93(5):1142-51.
261. Höglström M, Nordström P, Nordström A. n-3 Fatty acids are positively associated with peak bone mineral density and bone accrual in healthy men: the NO2 Study. *Am J Clin Nutr*. 2007;85(3):803-7.
262. Virtanen JK, Mozaffarian D, Cauley JA, Mukamal KJ, Robbins J, Siscovick DS. Fish consumption, bone mineral density, and risk of hip fracture among older adults: the cardiovascular health study. *J Bone Miner Res Off J Am Soc Bone Miner Res*. 2010;25(9):1972-9.
263. Tresserra-Rimbau A, Rimm EB, Medina-Remón A, Martínez-González MA, López-Sabater MC, Covas MI, et al. Polyphenol intake and mortality risk: a re-analysis of the PREDIMED trial. *BMC Med*. 2014;12:77.
264. Puel C, Mathey J, Agalias A, Kati-coulibaly S, Mardon J, Obled C, et al. Dose-response study of effect of oleuropein, an olive oil polyphenol, in an ovariectomy/inflammation experimental model of bone loss in the rat. *Clin Nutr*. 2006;25(5):859-68.

265. Tucker KL, Chen H, Hannan MT, Cupples LA, Wilson PWF, Felson D, et al. Bone mineral density and dietary patterns in older adults: the Framingham Osteoporosis Study. *Am J Clin Nutr.* 2002;76(1):245-52.
266. Cicerale S, Lucas L, Keast R. Biological activities of phenolic compounds present in virgin olive oil. *Int J Mol Sci.* 2010;11(2):458-79.
267. Thorpe DL, Knutsen SF, Beeson WL, Rajaram S, Fraser GE. Effects of meat consumption and vegetarian diet on risk of wrist fracture over 25 years in a cohort of peri- and postmenopausal women. *Public Health Nutr.* 2008;11(6):564-72.
268. Kelaiditi E, Jennings A, Steves CJ, Skinner J, Cassidy A, MacGregor AJ, et al. Measurements of skeletal muscle mass and power are positively related to a Mediterranean dietary pattern in women. *Osteoporos Int J Establ Result Coop Eur Found Osteoporos Natl Osteoporos Found USA.* 2016;27(11):3251-60.
269. Nikolov J, Spira D, Aleksandrova K, Otten L, Meyer A, Demuth I, et al. Adherence to a Mediterranean-Style Diet and Appendicular Lean Mass in Community-Dwelling Older People: Results From the Berlin Aging Study II. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2016;71(10):1315-21.
270. Štefan L, Čule M, Milinović I, Sporiš G, Juranko D. The relationship between adherence to the Mediterranean diet and body composition in Croatian university students. *Eur J Integr Med.* 2017;13:41-6.
271. Chen H-Y, Cheng F-C, Pan H-C, Hsu J-C, Wang M-F. Magnesium enhances exercise performance via increasing glucose availability in the blood, muscle, and brain during exercise. *PLoS One.* 2014;9(1):e85486.
272. Lauretani F, Semba RD, Bandinelli S, Ray AL, Guralnik JM, Ferrucci L. Association of low plasma selenium concentrations with poor muscle strength in older community-dwelling adults: the InCHIANTI Study. *Am J Clin Nutr.* 2007;86(2):347-52.



X.

# ANEXOS





**PROF. DR. JUAN DIEGO PEDRERA ZAMORANO**  
ESCUELA UNIVERSITARIA DE ENFERMERÍA Y TERAPIA OCUPACIONAL  
DEPARTAMENTO DE ENFERMERÍA  
Campus Universitario  
Apdo. de Correos 969  
10071. - Cáceres (España)  
Tlf. - 927-25-74-50  
Fax. - 927-25-74-51  
E-mail: [jpedrera@unex.es](mailto:jpedrera@unex.es)

### CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo, D./D<sup>a</sup> \_\_\_\_\_, mayor de edad, con documento nacional de identidad número \_\_\_\_\_, hago constar que he recibido suficiente información sobre las técnicas de valoración ósea (mediante ultrasonidos, tomografía cuantitativa computerizada periférica y/o absorciometría radiológica de doble energía) y sobre las técnicas de valoración de la composición corporal mediante bioimpedancia a las que me voy a someter; habiendo podido realizar preguntas sobre el estudio para su mejor entendimiento. Comprendo que mi participación es voluntaria y que puedo retirarme de dicho estudio cuando estime oportuno sin tener que dar explicaciones. He sido informado/a de que los tejidos/muestras que cedo serán utilizados exclusivamente con finalidad de investigación sin ánimo de lucro.

Manifestando que: a) no tengo marcapasos, b) ni prótesis metálica, c) no estoy, ni sospecho estar, embarazada y c) no me he realizado ninguna densitometría DEXA en el último año.

Así mismo, cedo\* al Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura (exclusivamente para fines de investigación) el uso de los datos obtenidos, prestando libremente mi conformidad para participar.

En Cáceres a \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_ de \_\_\_\_\_.

Fdo. \_\_\_\_\_

\*En cumplimiento de lo dispuesto en la LO 15/99 de Protección de Datos de Carácter Personal, le informamos que los datos personales facilitados por Vd. Serán tratados de forma totalmente confidencial e incorporados a un fichero responsabilidad de la Unidad de Investigación de Enfermedades Metabólicas Óseas del Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura, para finalidades de investigación. La cumplimentación del presente documento implica la autorización para usar los datos personales facilitados con la finalidad citada. No obstante, podrá ejercitar sus derechos de acceso, rectificación y cancelación, en su caso, dirigiéndose a nuestra unidad a través de cualquiera de los medios indicados.

**Anexo 1:** Modelo de consentimiento informado utilizado en el estudio

**FICHA CLÍNICA**

Fecha recogida datos **ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN**

Sexo: H  M

Teléfono de contacto:  Localidad:

Edad:  Edad de menarquia:  Años desde la menopausia:

Número de embarazos:  Número de hijos:  Lactancia Acumulada (meses):

Perimenopausia (Trastornos Regla): Sí:  No:  Peso:  Talla:

Patología de mama: Sí:  No:  Cadera  Cintura

ULTRASONIDO TALÓN BUA:  SOS:  T-Score:  Z-Score:

Cigarrillos/día:  Ejercicio Físico:

Cigarrillos/día		Ejercicio Físico	
No fumador.		No ejercicio físico.	
Menos de 5.		Menos de 30 minutos/día.	
Entre 5 y 10.		Menos de 1 hora/semana.	
Entre 10 y 20.		Más de 1 hora semana.	
Más de 20.		Más de 30 minuto/día.	
<b>Ex-fumador (periodo):</b>			

**Historia de Fracturas de Bajo Trauma (no accidentales).**

	Paciente	Padre	Madre
Muñeca	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Húmero	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Vertebras	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Cadera	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Hipotiroidismo: Sí:  No:

Dosis Levotiroxina: \_\_\_\_\_

Terapia Hormonal Sustitut.: Sí:  No:

Tiempo: \_\_\_\_\_

**Suplementos:**

<b>Calcio</b>	Dosis:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>
<b>Vitamina D</b>	Dosis:	<input type="text"/>	<input type="text"/>	<input type="text"/>

PROF. DR. JUAN DIEGO PEDRERA ZAMORANO - DEPARTAMENTO DE ENFERMERÍA - UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

**Anexo 2:** Modelo de historia personal utilizado en el estudio

ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN

INSTRUCCIONES

- 1.- No escribir en la columna con el símbolo  $\Sigma$ .
  - 2.- Dejar en blanco las casillas no utilizadas
  - 3.- Escribir con bolígrafo, preferentemente de color rojo o azul.
  - 4.- Señalar con **números** las raciones o cantidades de alimento comida, **no utilizar otros signos, por ejemplo X.**
- MUCHAS GRACIAS**

	Producto	Lunes	Martes	Miércoles	Jueves	Viernes	Sábado	Domingo	$\Sigma$
01	Aceite - Cucharada								
<b>BEBIDAS</b>									
02	Café - taza								
03	Cerveza - vaso/botellín								
04	Cola - vaso/botellín								
05	Te - taza								
06	Zumo frutas - vaso								
07	Zumo naranjas - vaso								
08	Zumo tomate - vaso								
<b>CARNES</b>									
09	Carne vacuno mayor - ración								
10	Cerdo chuleta - ración								
11	Cerdo lomo - ración								
12	Conejo/liebre - ración								
13	Cordero chuleta - ración								
14	Cordero pierna - ración								
15	Embutido - ración								
16	Foiegras/Paté - ración								
17	Hígado - ración								
18	Jamón curado - tapa								
19	Jamón York - Loncha								
20	Mortadela - Loncha								
21	Pollo alas (completa) - unidad								
22	Pollo filetes - ración								
23	Pollo muslo - ración								
24	Pollo pechuga - ración								
25	Pollo - ración de 1/4								
26	Salchicha Frankfurt - unidad								
27	Salchichas - unidad								
28	Salchichón - loncha								

**Anexo 3:** Cuestionario dietético empleado en el estudio  
Tomado de Pedrera-Zamorano et al., 2009

Nombre: Raza: Caucásico-152  
 ID: Altura: 152  
 Edad: Peso: 73  
 Sexo: Femenino

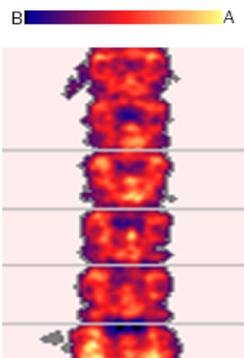
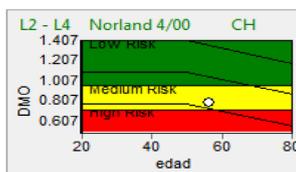


Imagen no válida para diagnóstico.

Columna AP en: 21/03/2011 11:41:20



Emparejado con Joven (%) 70.7  
 T-Score -2.07  
 Emparejado por Edad(%) 75.5  
 Z-Score -1.62

Region	DMO (g/cm <sup>2</sup> )	CMO (g)	Area (cm <sup>2</sup> )	Longitud (cm)	Anchura (cm)	T-Score	Emparejado con Joven (%)	Z-Score	Emparejado por Edad(%)	Var. Estand (%)	Var. Estand (%/año)	Var. Largo Plazo (%)	Var. Largo Plazo (%/año)
L2 - L4	0.7886	33.13	42.01	10.1	12.0	-2.07	70.7	-1.62	75.5	*****	*****	*****	*****
L2	0.8633	11.39	13.19	3.30	12.0	-1.64	76.8	-1.12	82.9	*****	*****	*****	*****
L3	0.7463	10.28	13.77	3.30	12.0	-2.32	65.9	-1.90	70.1	*****	*****	*****	*****
L4	0.7619	11.47	15.05	3.45	12.0	-1.95	70.3	-1.62	74.0	*****	*****	*****	*****
Total sDMO	848.7mg/cm <sup>2</sup>	35654mg	42.01	10.1	12.0	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****

Estándar CVs para L2-L4 DMO: 1.0 CMO: 1.5 Consulte el manual para otros valores estimados.  
 1.5 mm X 1.5 mm, 130 mm/s, 12.00 cm, Rev. 4.3.0/2.3.1 Calib. 21/03/11 8:36:39 S/N 8570

Comentarios:



Anexo 4: Ejemplo de datos de salida del densitómetro Norland XR-800 R del Laboratorio GIEMO

25/05/2020 10:37:05

Page 1

Nombre: Raza: Caucasico-152  
ID: Altura: 152  
Edad: Peso: 73  
Sexo: Femenino

B  A

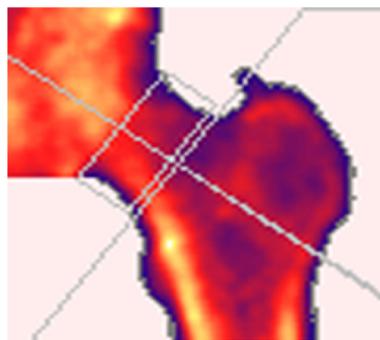
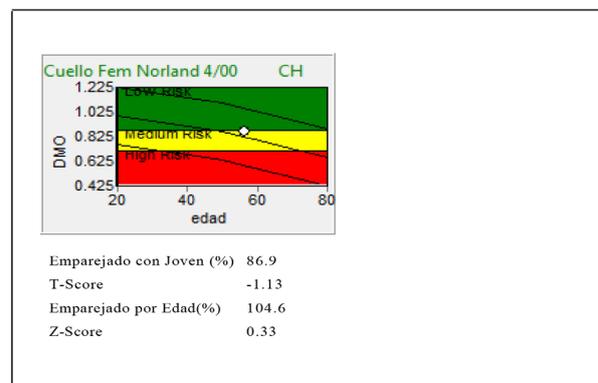


Imagen no válida para diagnóstico.

Cadera Izquierda en: 21/03/2011 11:47:24



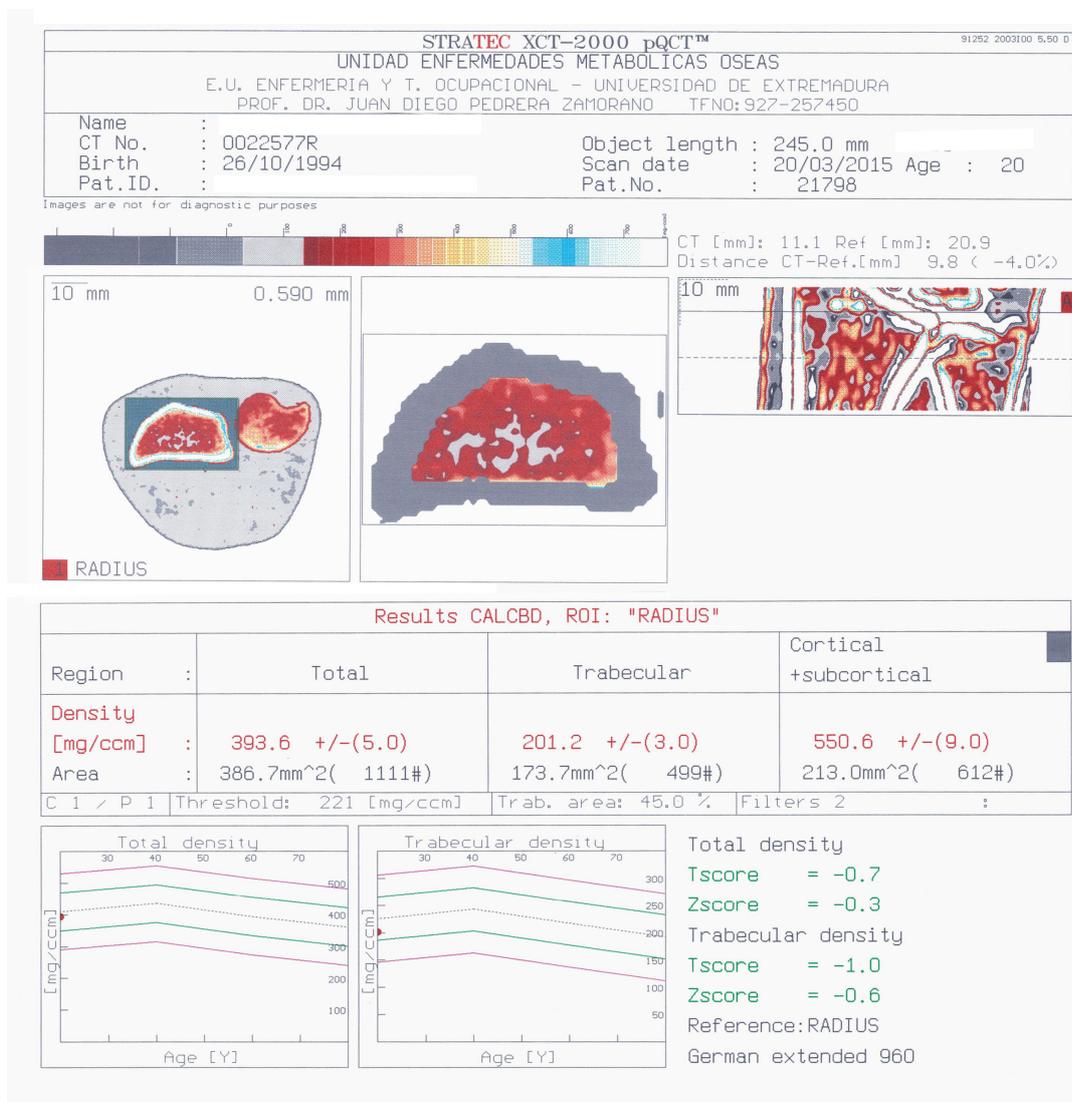
Region	DMO (g/cm <sup>2</sup> )	CMO (g)	Area (cm <sup>2</sup> )	Longitud (cm)	Anchura (cm)	T-Score	Emparejado con Joven (%)	Z-Score	Emparejado por Edad(%)	Var. Estand (%)	Var. Estand (%/año)	Var. Largo Plazo (%)	Var. Largo Plazo (%/año)
Cuello Fem	0.8642	3.821	4.422	1.50		-1.13	86.9	0.33	104.6	*****	*****	*****	*****
Tronco	0.6751	7.559	11.20			-0.96	86.7	0.06	100.9	*****	*****	*****	*****
Total sDMO	902.5mg/cm <sup>2</sup>	27154mg	30.09			*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****

Estándar CVs para Cuello DMO: 1.2 CMO: 1.7 Consulte el manual para otros valores estimados.  
1.0 mm X 1.0 mm, 90 mm/s, 9.00 cm, Rev. 4.3.0/2.3.1 Calib. 21/03/11 8:36:39 S/N 8570

Comentarios:

**NORLAND**

Anexo 5: Ejemplo de datos de salida del densitómetro Norland XR-800 R del Laboratorio GIEMO



**Anexo 6:** Ejemplo de datos de salida del tomógrafo Stratec - XCT-2000 del Laboratorio GIEMO

