



CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA

Jesús Francisco García Gavilán

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi doctoral i la seva utilització ha de respectar els drets de la persona autora. Pot ser utilitzada per a consulta o estudi personal, així com en activitats o materials d'investigació i docència en els termes establerts a l'art. 32 del Text Refós de la Llei de Propietat Intel·lectual (RDL 1/1996). Per altres utilitzacions es requereix l'autorització prèvia i expressa de la persona autora. En qualsevol cas, en la utilització dels seus continguts caldrà indicar de forma clara el nom i cognoms de la persona autora i el títol de la tesi doctoral. No s'autoritza la seva reproducció o altres formes d'explotació efectuades amb finalitats de lucre ni la seva comunicació pública des d'un lloc aliè al servei TDX. Tampoc s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant als continguts de la tesi com als seus resums i índexs.

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis doctoral y su utilización debe respetar los derechos de la persona autora. Puede ser utilizada para consulta o estudio personal, así como en actividades o materiales de investigación y docencia en los términos establecidos en el art. 32 del Texto Refundido de la Ley de Propiedad Intelectual (RDL 1/1996). Para otros usos se requiere la autorización previa y expresa de la persona autora. En cualquier caso, en la utilización de sus contenidos se deberá indicar de forma clara el nombre y apellidos de la persona autora y el título de la tesis doctoral. No se autoriza su reproducción u otras formas de explotación efectuadas con fines lucrativos ni su comunicación pública desde un sitio ajeno al servicio TDR. Tampoco se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al contenido de la tesis como a sus resúmenes e índices.

WARNING. Access to the contents of this doctoral thesis and its use must respect the rights of the author. It can be used for reference or private study, as well as research and learning activities or materials in the terms established by the 32nd article of the Spanish Consolidated Copyright Act (RDL 1/1996). Express and previous authorization of the author is required for any other uses. In any case, when using its content, full name of the author and title of the thesis must be clearly indicated. Reproduction or other forms of for profit use or public communication from outside TDX service is not allowed. Presentation of its content in a window or frame external to TDX (framing) is not authorized either. These rights affect both the content of the thesis and its abstracts and indexes.

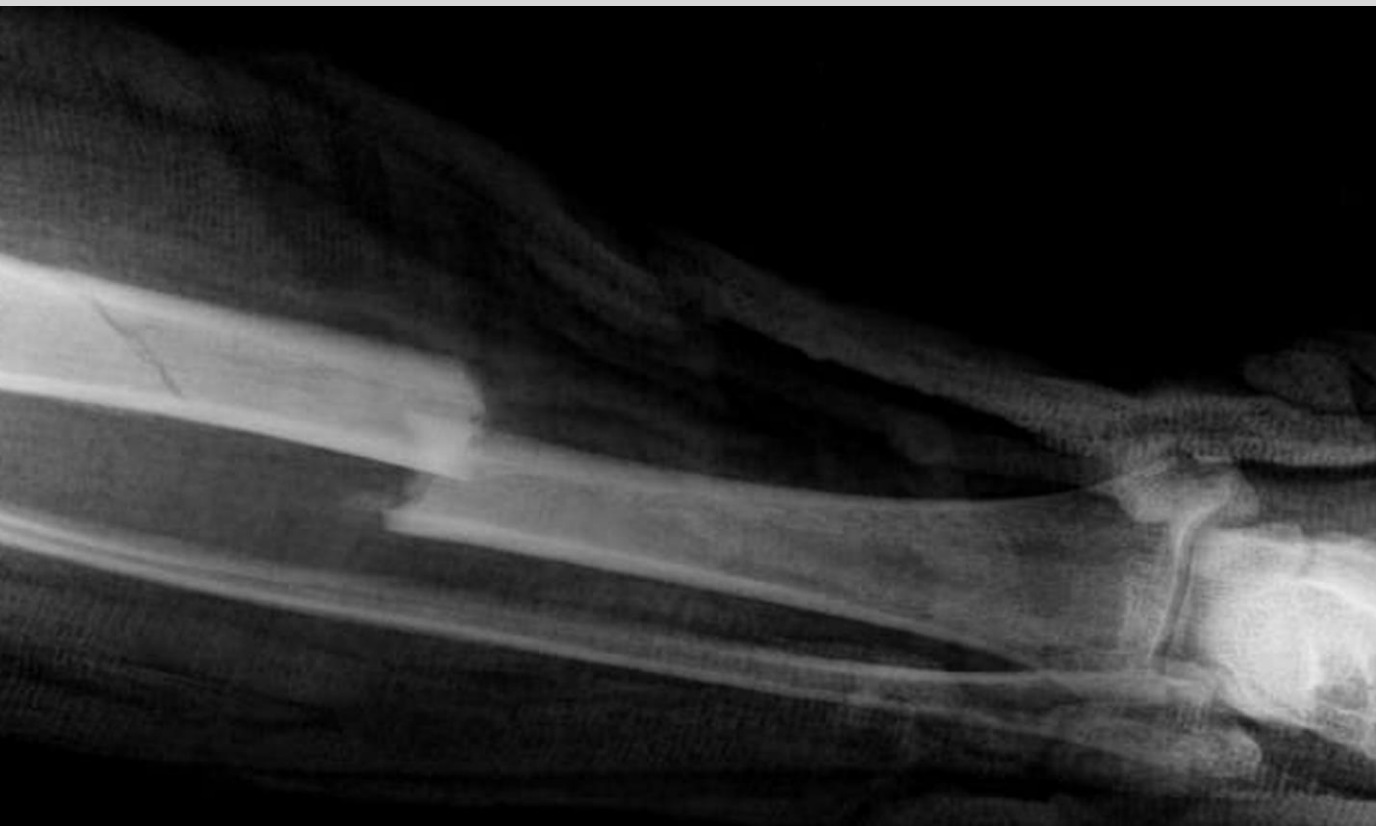
UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán



UNIVERSITAT
ROVIRA i VIRGILI

CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA

JESÚS FRANCISCO GARCÍA GAVILÁN



TESIS DOCTORAL
2021

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

Jesús Francisco García Gavilán

Calidad de la alimentación y salud ósea

TESIS DOCTORAL

Supervisada por: Dra. Mònica Bulló y Prof. Jordi Salas-Salvadó

Departamento de Bioquímica y Biotecnología

Unidad de Nutrición Humana



**UNIVERSITAT
ROVIRA i VIRGILI**

Universidad Rovira i Virgili

Reus, Tarragona

2021

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán



Mònica Bulló Bonet, Profesora Agregada de Nutrición y Ciencias de la Salud en el Departamento de Bioquímica y Biotecnología de la Universidad Rovira i Virgili,

HAGO CONSTAR que el presente trabajo, titulado "Calidad de la alimentación y salud ósea", que presenta Jesús Francisco García Gavilán para la obtención del título de Doctor, ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento Bioquímica y Biotecnología de esta universidad.

Reus, 23 de abril del 2021

La directora de la tesis doctoral

CPISR-1 C
Mònica
Bulló Bonet

Firmado digitalmente por
CPISR-1 C Mònica
Bulló Bonet
Fecha: 2021.04.23
14:12:10 +02'00'

Dr. Mònica Bulló

Grupo de Investigación Nutrición y Salud mental

Departamento de Bioquímica y Biotecnología
Universitat Rovira i Virgili

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

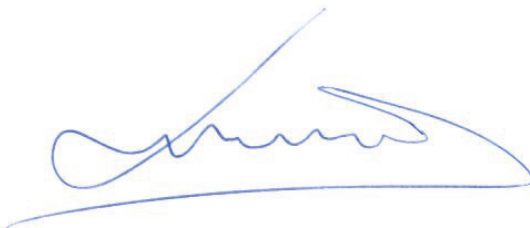


Jordi Salas Salvadó, Catedrático de Nutrición y Ciencias de la Salud en el Departamento de Bioquímica y Biotecnología de la Universidad Rovira i Virgili,

HAGO CONSTAR que el presente trabajo, titulado "Calidad de la alimentación y salud ósea", que presenta Jesús Francisco García Gavilán para la obtención del título de Doctor, ha sido realizado bajo mi dirección en el Departamento Bioquímica y Biotecnología de esta universidad.

Reus, 23 de abril del 2021

El director de la tesis doctoral



Prof. Jordi Salas-Salvadó
Unidad de Nutrición Humana
Departamento de Bioquímica y Biotecnología
Universitat Rovira i Virgili

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

“Una batalla sin peligro es un triunfo sin gloria”

Pierre Corneille

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

Agradecimientos

A estas alturas, posiblemente lo más literario y en lo que más tiempo llevo pensando respecto a la Tesis son, precisamente, los agradecimientos porque el hecho de que puede llegar a escribir estas líneas es resultado de muchos pequeños y grandes esfuerzos, todos ellos iniciados hace ya más de una década. Sería injusto por mi parte solo hacer referencia a los últimos años en los que realmente hice la Tesis. Apenas son una consecución más de un plan general mucho más grande. Por ello, empezaré mis agradecimientos como el paso de la vida misma, desde un lugar y un tiempo ya muy lejano.

Me gustaría agradecer a mi familia el esfuerzo económico, emocional y social que supuso mi partida para iniciar una nueva vida en la otra punta del país. Fueron tiempos complicados dónde la inocencia y estupidez de la juventud va cediendo su terreno, transformando lo que parecían autopistas a ninguna parte en caminos estrechos que permitieron centrar y desarrollar muchas de mis capacidades de las que ahora puedo disfrutar. Sin duda, mi madre, mi padre y mi hermana tuvieron mucho peso en ese proceso y me ayudaron en esos primeros meses en los que el mundo se mostraba más grande y fiero de lo que yo podía asumir.

Siguiendo con esa época, debo estar muy agradecido a Laura, el primer faro que consiguió aquietar mi mente y empezar a afrontar realmente el caminito que quería seguir en mi vida. Fueron muchos años en los que crecimos juntos y aprendimos el valor del equipo. Tampoco puedo olvidar a mis compañeros Robert, Adriá y Xavier. Consiguieron evitar

que me olvidara de mi parte social, aunque por suerte, no me dejé llevar definitivamente por su camino.

El fin de esta primera etapa, en la que aprendí una profesión, supuso el comienzo de otra y un primer cambio en mi vida, así como la llegada a la Unidad de Nutrición. En este periodo distribuido en seis años y que parcelaré en tres etapas, ha simbolizado un aumento de calidad general en todos los aspectos de mi vida ya que el enriquecimiento que empezó en ese momento aún sigue y seguirá dando sus frutos. No puedo más que empezar a agradecer a mi principal valedora, la Dra. Bulló, su confianza y visión. Sin nada de esto, hoy no estaría escribiendo estas líneas. También me gustaría agradecer su desempeño y ayuda cuando la necesité, dentro y fuera de la Unidad. El primer tercio de este periodo fue muy llano y bonito, en la que, sin duda, no tengo más que buenas palabras para el grupo SATIN. Quiso el destino que al final sea el último superviviente en la Unidad, pero nada me hará olvidar las largas charlas, horas y guerras que pasé con Lucía tanto en la Universidad como en el Hospital o las amenas conversaciones siempre llenas de temas candentes con Pablo y los debates filosóficos sobre la vida que he tenido con Simona. Los tres fueron mis principales ejemplos de futuro. También me gustaría agradecer la compañía dentro y fuera de la Universidad de Jose, Erika, Pol, Fiona, Gemma, Cintia, Iván y Laura, el grupo Random por excelencia.

En el segundo tercio llegaron nuevos cambios que implicaron un nuevo crecimiento en mí. Empezaré agradeciendo a Indira, mi segundo faro, por su aparición y llegada a mi vida. Tuvimos una vida de emociones llenas de curvas como la Mussara y de picos con antenas en las que

plantar nuestra bandera. Este pico me toca abanderarlo casi solo, próximamente te tocará a ti y ahí estaré para lo que necesites como tú lo has estado para mí. Seguiré con Merce, que a pesar de haber compartido muchos años juntos en los que nos hemos ignorado educadamente hasta que nuestras necesidades académicas y posteriormente nutricionales de baja calidad cubiertas con cerveza y patatas hizo necesario que juntáramos nuestros caminos, sin duda ha sido uno de los mejores descubrimientos personales que hice durante el Máster. No me puedo olvidar de Rocío y Santi y del lago de origen glaciar más profundo de Europa (aún seguimos pendiente de confirmación y de visitarlo), de Albert y su alegría infinita, de Nerea, Andrés, Guille, Nuria... muchos nombres, muchas despedidas, muchos ejemplos de cómo hacer bien las cosas.

En el último tercio del periodo de la Tesis y que me lleva a la consecución de la escritura del famoso libro, me gustaría empezar agradeciendo al Prof. Salas por continuar con la confianza que empezó Mònica y permitirme seguir trabajando en aquello que me gusta. También quiero agradecer a la Dra. Babio por su desempeño en facilitarme las cosas en estas últimas fechas previo a la presentación, ya que de otra manera habría sido imposible conseguirlo. A parte, también quiero mostrar mi agradecimiento al equipo Metadiet, es decir, a Bea y a Serena y al team R, *with Jananee*. Nos las vimos tiesas con el trabajo de campo and *the stadistical inventions (in the end, we have won the statistical war)*, pero, al final todo salió y nos lo pasamos bien. Y para acabar en esta etapa, como personas de incorporación más reciente a la Unidad y a mi vida pero que le dan un valor añadido y me han ayudado a salir

del gris diario que gobernó una de mis etapas más complejas de la tesis, me gustaría agradecer el día a día de Carlos, Cristina, las Marías, Tany, Julia, Claudia y Sonia, me ayudáis a hacer que todo sea más ameno.

Tampoco me quiero olvidar de “mis” secretarios Susana y Carles, que me han sabido guiar en algunos momentos en los que iba un poco perdido en la vida, ya fuera a base de cafés o por recordarme de dónde vengo en el reflejo de la vida de sus hijos.

Finalmente, me gustaría agradecer a la gente que, desde fuera y en lugares tan únicos que no pasan ni las cabras, me han dado fuerza para mantenerme de forma insistente dentro de mi caminito. Este penúltimo párrafo es para Antón, Javi, Toni, Pedro, Jordi, Lluís, Abraham, Antonio y todo el grupo de Allibera.

A todos estos agradecimientos específicos, también quiero añadir unos agradecimientos más generales a los participantes de todos los estudios en los que he trabajado: el SATIN, el METADIET y el PREDIMED-Plus, además de a los participantes del PREDIMED, con los que no tuve relación alguna, pero sí con sus datos.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

Resumen

Castellano

La osteoporosis es una enfermedad ósea asociada a la edad en la que se producen desequilibrios en el recambio celular óseo, debilitando su estructura y disminuyendo su resistencia, lo que aumenta el riesgo de fractura por fragilidad.

Como han sugerido publicaciones anteriores, la dieta es uno de los principales factores de riesgo modificables asociados al desarrollo de enfermedades crónicas como la osteoporosis y su calidad ha disminuido como consecuencia del proceso de globalización.

El principal objetivo de esta Tesis fue evaluar la asociación entre la calidad de la dieta y la alimentación con la densidad mineral ósea y el riesgo de fracturas osteoporóticas en dos poblaciones mediterráneas de edad avanzada con alto riesgo cardiovascular y/o síndrome metabólico procedentes de los estudios PREDIMED y PREDIMED-Plus.

Los resultados derivados del presente trabajo muestran que un mayor consumo de aceite de oliva virgen extra se asocia prospectivamente con un menor riesgo de fracturas por fragilidad, mientras que dietas con un mayor índice glucémico, carga glucémica, potencial carga ácida renal y producción neta de ácido endógeno se asocian con una mayor incidencia de fracturas en una población mediterránea anciana con elevado riesgo cardiovascular. Asimismo, la potencial carga ácida renal, la producción neta de ácido endógeno y el índice de inflamación de la dieta se asociaron inversamente con la densidad mineral ósea en una

población mediterránea anciana con sobrepeso/obesidad y síndrome metabólico.

Así, la principal conclusión de esta Tesis Doctoral es que una mejor calidad de la alimentación valorada con diferentes marcadores o índices, se asocia con una mejor salud ósea determinada a través de la densidad mineral ósea en una población anciana mediterránea con sobrepeso/obesidad y síndrome metabólico, y a una disminución del riesgo de fracturas por fragilidad en una población anciana mediterránea con elevado riesgo cardiovascular.

Son necesarios más estudios epidemiológicos prospectivos y clínicos que aumenten el grado de evidencia de la relación causal entre la calidad de la dieta y la salud ósea, así como más estudios que nos ayuden a comprender mejor los mecanismos que explican estas asociaciones.

Resum

Catalá

L'osteoporosi és una malaltia òssia associada a l'edat en la que es produeixen desequilibris en el recanvi cel·lular ossi, debilitant la seva estructura i resistència, augmentant d'aquesta manera el risc de fractura per fragilitat.

La qualitat dels aliments ha disminuït com a conseqüència del procés de globalització, i tal i com s'ha suggerit en publicacions prèvies, és un dels principals factors de risc modificables del desenvolupament de malalties cròniques com l'osteoporosi.

El principal objectiu d'aquesta Tesi és el d'avaluar l'associació que hi ha entre la qualitat de la dieta i l'alimentació i la densitat mineral òssia o el risc de fractures osteoporòtiques en dues poblacions mediterrànies d'edat avançada amb alt risc de malaltia cardiovascular i/o síndrome metabòlic procedents dels estudis PREDIMED i PREDIMED-Plus.

Els resultats derivats del present treball mostren que un major consum d'oli d'oliva verge extra s'associa prospectivament amb un menor risc de patir fractures per fragilitat, mentre que les dietes amb un major índex glucèmic, càrrega glucèmica, potencial càrrega àcida renal i producció neta d'àcid endogen s'associen a una incidència superior de fractures osteoporòtiques en una població mediterrània sènior amb elevat risc cardiovascular. Així mateix, la potencial càrrega àcida renal, la producció neta d'àcid endogen i l'índex d'inflamació de la dieta, també es va associar inversament amb la densitat mineral òssia en una

població mediterrània sènior amb sobrepès/obesitat i síndrome metabòlic.

Així, la principal conclusió d'aquesta Tesi Doctoral és que, una millor qualitat de l'alimentació valorada amb diferents marcadors o índex s'associa amb una millor salut òssia determinada mitjançant la densitat mineral òssia en una població mediterrània d'edat avançada amb sobrepès/obesitat i síndrome metabòlica, així com a una disminució del risc de fractures per fragilitat en una població sènior, mediterrània i amb elevat risc cardiovascular.

És necessari que es duguin a terme més estudis epidemiològics prospectius i clínics en el futur que augmentin el grau d'evidència de la relació causal entre la qualitat de la dieta i la salut òssia, així com estudis que ens ajudin a entendre els mecanismes que expliquen aquestes associacions.

Abstract

Inglés

Osteoporosis is an age-related chronic disease characterized by the imbalance in bone turnover that damages bone structure and declines bone resistance, increasing the risk of fragility fractures.

As previous publications have suggested, diet is one of the main modifiable risk factors associated with the development of chronic diseases like osteoporosis. Moreover, as a globalization result, diet quality has shown a decrease in the last years, which increases the potential harmful effect of this factor on health.

The main objective of this Doctoral Thesis was to evaluate the association between food and diet quality with bone mineral density and the risk of osteoporotic fractures in two older Mediterranean populations at high cardiovascular risk and/or with metabolic syndrome from the PREDIMED and PREDIMED-Plus studies.

The results of the present Thesis show that a higher consumption of extra virgin olive oil is prospectively associated with a decreased risk of fragility fracture, whereas diets with a higher glycemic index, glycemic charge, potential renal acid load, and net endogenous acid production were associated with an increased incidence of osteoporotic fractures in an older Mediterranean population at high cardiovascular risk. Additionally, the potential renal acid load, the net endogenous acid production, and the inflammatory index of diet were inversely

associated with the bone mineral density in an older Mediterranean population with overweight/obesity and metabolic syndrome.

The main conclusion of this Doctoral Thesis is that better diet quality, assessed through several indexes, is associated with better a bone health estimated according to bone mineral density in an older Mediterranean population with overweight/obesity and metabolic syndrome, and a decreased risk of fragility fractures in an older Mediterranean population at high cardiovascular risk.

However, further epidemiologic studies and clinical trials are needed to increase the evidence of the causal relationship between diet quality and bone health. Similarly, more studies should be conducted for a better understanding of the plausible mechanisms that explain these associations.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

Abreviaturas

AGEs	Productos finales de glicación avanzada
AGM	Ácidos grasos monoinsaturados
AGS	Ácidos grasos saturados
ANCOVA	Análisis de covarianza
ANOVA	Análisis de varianza
AOVE	Aceite de oliva virgen extra
AVAC	Año de vida ajustado por calidad de vida
CAP	Centro de atención primaria
CFC	Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos
CG	Carga glucémica
CGD	Carga glucémica de la dieta
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration
COPD	Enfermedad pulmonar obstructiva crónica
COX2	Ciclooxigenasa 2
CV	Cardiovascular
CYP27B1	25-hidroxivitamina D-1 alfa-hidroxilasa
DE	Desviación estándar
DietMed	Dieta Mediterránea

DietMed + AOVE	Dieta Mediterránea + aceite de oliva virgen extra
DietMed + FS	Dieta Mediterránea + frutos secos
DMO	Densidad mineral ósea
DT1	Diabetes tipo 1
DT2	Diabetes tipo 2
DXA	Absorciometría con rayos X de doble energía
ECV	Enfermedad cardiovascular
eGFR	Tasa de filtración glomerular
FD	Diáfisis femoral
FGF23	Factor de crecimiento fibroblástico 23
FN	Cuello del fémur
FOM	Fracturas osteoporóticas mayores
GH	Hormona del crecimiento
HC	Hidratos de carbono
HDL	Lipoproteína de alta densidad
ICD-CM	The International Classification of Diseases, Clinical Modification
IG	Índice glucémico
IGD	Índice glucémico de la dieta
IGF-I	Factor de crecimiento similar a la insulina I

IL-1β	Interleucina 1 β
IL-10	Interleucina 10
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6
IMC	Índice de masa corporal
ISRCTN	International Standard Randomised Controlled Trial Number
LDL	Lipoproteína de baja densidad
LS	Vértabras lumbares (desde L1 hasta L4)
M-DIS	Índice de inflamación de la dieta
MET	Equivalente metabólico
MMO	Masa mineral ósea
NEAP	Producción ácida endógena neta
OMS	Organización mundial de la salud
OPG	Osteoprotegerina
PCR	Proteína C reactiva
PRAL	Potencial de carga ácida renal
PREDIMED	Prevención con dieta Mediterránea
PREDIMED-Plus	Prevención con dieta Mediterránea Plus
RANKL	Receptor sérico del ligando del factor nuclear kappa B

ROS	Especies de oxígeno reactivas
RR	Riesgo relativo
SM	Síndrome metabólico
TF	Fémur total
TNFα	Factor de necrosis tumoral alfa
TR	Trocánter del fémur
UE	Unión Europea
UVB	Radiación ultravioleta B
α7nAChR	Receptor nicotínico alfa 7 de acetilcolina

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

TABLA DE CONTENIDOS

1. <u>INTRODUCCIÓN</u>	1
1.1. Osteopenia, osteoporosis y fracturas	3
1.1.1. Definición	3
1.1.2. Prevalencia de la osteoporosis, incidencia de las fracturas y morbimortalidad	4
1.1.3. Costes asociados a la osteoporosis.....	8
1.1.4. Fisiopatología de la osteoporosis	10
1.2. Factores de riesgo de la osteoporosis y las fracturas	13
1.2.1. Sexo.....	13
1.2.2. Envejecimiento.....	14
1.2.3. Factores genéticos y antecedentes familiares	15
1.2.4. Fracturas previas y caídas	16
1.2.5. Farmacología.....	17
1.2.6. Diabetes.....	18
1.2.7. Sedentarismo.....	20
1.2.8. Hábitos tóxicos: Tabaco y alcohol.....	21
1.2.9. Alimentación.....	22
1.3. Diagnóstico de la osteoporosis y de las fracturas por fragilidad	24
1.4. Tratamiento	27
1.4.1. Calcio.....	27
1.4.2. Vitamina D	29
1.4.3. Actividad física	30

1.5. Aceite de oliva virgen extra e indicadores de calidad de la dieta como determinantes de la osteoporosis y la incidencia de fracturas en individuos mayores con un elevado riesgo cardiovascular o síndrome metabólico.....	33
1.5.1. Aceite de oliva virgen extra	33
1.5.2. Indicadores de calidad de la dieta	34
<u>2. JUSTIFICACIÓN.....</u>	41
<u>3. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....</u>	47
3.1. Hipótesis	49
3.1.1. Hipótesis general	49
3.1.2. Hipótesis específicas	49
3.2. Objetivos.....	50
3.2.1. Objetivo general.....	50
3.2.2. Objetivos específicos	50
<u>4. MATERIAL Y MÉTODOS</u>	53
4.1. Estudio PREDIMED (PREvención con DIeta MEDiterránea)	
.....	55
4.1.1. Diseño y objetivo principal del estudio.....	55
4.1.2. Población de estudio	56
4.1.3. Aleatorización e intervención del estudio	58
4.1.4. Evaluación antropométrica y cuestionarios generales...	59
4.1.5. Muestras biológicas y determinaciones bioquímicas	60
4.1.6. Evaluación nutricional y dietética.....	61
4.1.7. Evaluación de las fracturas osteoporóticas.....	64

4.2. Estudio PREDIMED-Plus	66
4.2.1. Diseño y objetivo principal del estudio.....	66
4.2.2. Población de estudio	67
4.2.3. Aleatorización e intervención del estudio	68
4.2.4. Evaluación antropométrica y cuestionarios generales...	70
4.2.5. Muestras biológicas y determinaciones bioquímicas	71
4.2.6. Evaluación nutricional y dietética.....	71
4.2.7. Evaluación de la densidad ósea	73
4.3. Población de estudio y selección específica de cada análisis	75
4.4. Análisis estadísticos.....	77
<u>5. RESULTADOS.....</u>	<u>79</u>
5.1. Publicación 1	81
5.1. Publicación 2	92
5.2. Publicación 3	104
5.3. Publicación 4	118
<u>6. DISCUSIÓN.....</u>	<u>135</u>
6.1. Discusión General.....	137
6.2. Limitaciones y fortalezas	144
<u>7. CONCLUSIONES</u>	<u>147</u>
<u>8. PERSPECTIVAS GLOBALES Y DE FUTURO</u>	<u>151</u>

9. REFERENCIAS 157

10. APÉNDICES..... 181

10.1. Contribuciones científicas 183

10.1.1. Publicaciones propias resultado de la presente Tesis
Doctoral 183

10.1.2. Otras publicaciones realizadas durante la Tesis Doctoral.
..... 185

10.2. Participación en proyectos de investigación 191

**10.3. Participación en congresos nacionales e internacionales ...
..... 192**

10.3.1. Congresos internacionales 192

10.3.2. Congresos nacionales..... 193

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

Lista de figuras

Figura 1. Prevalencia de osteoporosis en adultos mayores de 50 años en ambos sexos en Francia, Reino Unido, Alemania, Italia, España y Suiza en 2015.

Figura 2. Incidencia de fracturas por fragilidad (en miles) por sexos y principales áreas anatómicas afectadas en el conjunto de seis países europeos (Francia, Reino Unido, Alemania, Italia, España y Suiza) en 2017.

Figura 3. Conexión entre los procesos metabólicos, la alimentación, los indicadores de calidad dietéticos y la salud ósea.

Lista de tablas

Tabla 1. Umbrales de T-score para osteopenia y osteoporosis según la OMS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

1.INTRODUCCIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

INTRODUCCIÓN

1.1. Osteopenia, osteoporosis y fracturas

1.1.1. Definición

La osteopenia y la osteoporosis son enfermedades óseas relacionadas con la edad que se caracterizan por un desequilibrio en el recambio de las células óseas en el que se produce un aumento de la degradación de la matriz ósea y deformaciones trabeculares que debilitan su estructura y disminuyen su resistencia. Ello aumenta el riesgo de fractura por fragilidad o fractura osteoporótica a consecuencia del estrés o por impactos de baja intensidad que en condiciones normales serían perfectamente absorbidos por su estructura.

La osteopenia es un estado inicial o previo a la osteoporosis, es reversible y se denomina clínicamente como estado de baja mineralización ósea. La osteoporosis, sin embargo, es un estado crónico en el que la micro-arquitectura del tejido óseo está irremediablemente deteriorada, volviéndose más porosa y disminuyendo drásticamente su masa mineral ósea (MMO) y su densidad mineral ósea (DMO)^{1,2}. Ni la osteopenia ni la osteoporosis son sintomáticas para el individuo, por lo que se consideran como enfermedades silenciosas³.

Las fracturas óseas son la complicación más importante de la osteoporosis. Principalmente se producen en las áreas vertebrales y pélvica, y provocan un aumento de la mortalidad, la discapacidad y de los costos sanitarios⁴.

1.1.2. Prevalencia de la osteoporosis, incidencia de las fracturas y morbimortalidad

Prevalencia

La población mundial está envejeciendo. En el año 2019, 295 millones de ciudadanos europeos superaban los 50 años de edad⁵ y en las próximas décadas estos números se incrementarán, lo que supondrá un riesgo para el aumento de la prevalencia de osteoporosis y de la incidencia de fracturas osteoporóticas o por fragilidad.

En general, la osteoporosis se desarrolla con mayor frecuencia en mujeres que en hombres. En todo el mundo, más de 200 millones de mujeres sufren osteoporosis y, en Europa, se calcula que 22 millones de mujeres y 5.5 millones de hombres tienen esta enfermedad, afectando al 22.1% y 6.6% de mujeres y hombres de 50 años o más, respectivamente⁶. En un estudio con datos de prevalencia de seis países europeos, se observó que 20 millones de personas sufrían osteoporosis, 15.8 millones mujeres y 4.2 millones hombres, lo que supone cuatro veces más mujeres con osteoporosis que hombres, y una prevalencia media del 22.5% en las mujeres y del 6.8% en los hombres¹ (Figura 1).

En España, la prevalencia de osteoporosis se encuentra en torno a esas cifras, siendo del 22.5% en mujeres y el 6.8% en hombres. Esto supone que hay casi 2.2 millones de mujeres y 600 mil hombres con osteoporosis en nuestro país¹.

INTRODUCCIÓN

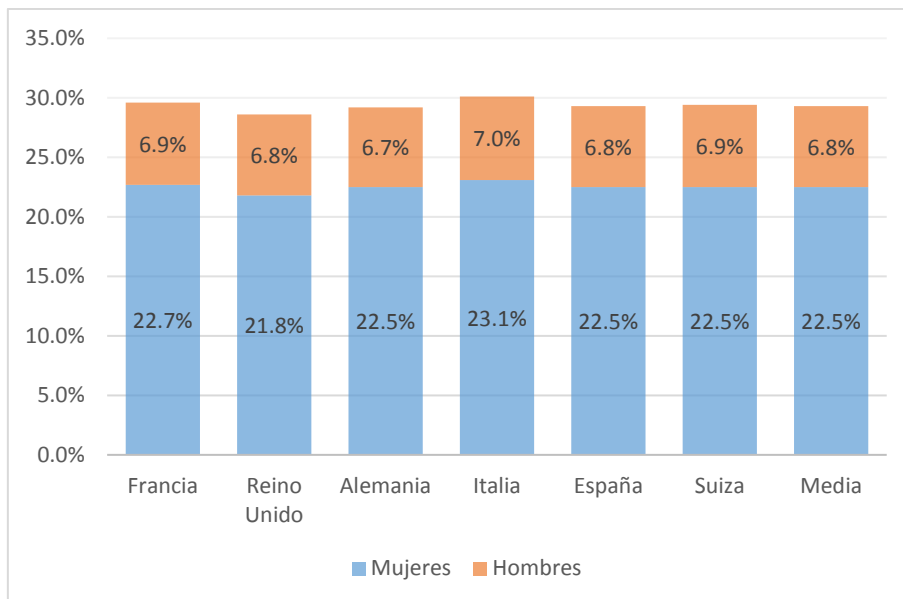


Figura 1. Prevalencia de osteoporosis en adultos mayores de 50 años en ambos sexos en Francia, Reino Unido, Alemania, Italia, España y Suiza en 2015. Datos modificados de Borgström, F. et al.¹

Incidencia

Las fracturas óseas tienen una incidencia con distribución bimodal y se ven afectadas de forma considerable con el incremento de la edad. En la adolescencia, se producen con mayor frecuencia como consecuencia de traumatismos, mientras que en la vejez se producen principalmente a una pérdida de DMO en los huesos, siendo su origen osteoporótico. Las fracturas por fragilidad representan un riesgo para la salud de las personas de 50 años o más y, de la misma manera que ocurre con la prevalencia, las mujeres sufren casi el doble de fracturas que los hombres.

Calidad de la alimentación y salud ósea

Cada año, se producen más de 9 millones de fracturas en el mundo resultado de la osteoporosis⁷. En 2017, se produjeron un total de 2.7 millones de fracturas por fragilidad en el conjunto de tan solo seis países europeos (España, Francia, Alemania, Reino Unido, Suiza e Italia)¹. Su incidencia varía según el área anatómica, produciéndose el mayor impacto en las zonas anatómicas de la cadera (19.6%), la espina dorsal o vertebral (15.5%) y el húmero proximal (17.9%) (Figura 2). La suma de fracturas de estas tres áreas se describe con el término “fracturas osteoporóticas mayores” (FOM), que suponen más del 50% de las fracturas por fragilidad⁸.

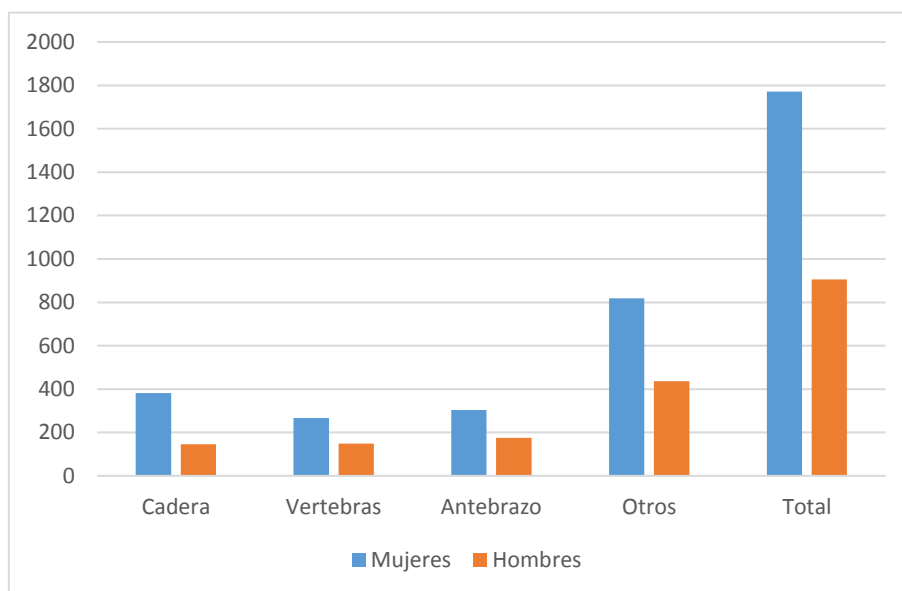


Figura 2. Incidencia de fracturas por fragilidad (en miles) por sexos y principales áreas anatómicas afectadas en el conjunto de seis países europeos (Francia, Reino Unido, Alemania, Italia, España y Suiza) en 2017. Datos modificados de Borgström, F. et al.¹

INTRODUCCIÓN

En nuestro país, cada año se producen unas 330.000 nuevas fracturas por fragilidad, 40.000 – 45.000 de ellas son fracturas de cadera⁹. Para los próximos diez años, se calcula que se producirá en nuestro país un aumento aproximado del 30% en las fracturas como consecuencia directa del envejecimiento de nuestra población^{1,10}. El “*lifetime risk*” (término referido al riesgo de sufrir una fractura a lo largo de la vida) varía en función del sexo y el área anatómica afectada. En adultos mayores de 50 años, el 9.8% de las mujeres y el 8.5% de los hombres están en riesgo de sufrir una fractura de cadera y, de la misma manera, el 7.0% y el 6.1% lo están de sufrir una fractura vertebral. Si se considera el conjunto de las FOMs a los 50 años, el riesgo de sufrir una fractura es del orden del 20% para las mujeres y del 18% para los hombres en nuestro país^{1,11,12}.

Morbimortalidad

La pérdida de DMO y las fracturas por fragilidad aumentan marcadamente con la edad y se asocian con una mayor mortalidad prematura. Las fracturas por fragilidad son un proceso clínico grave consecuencia directa de la osteoporosis que producen un impacto emocional, social y médico importante. Varios estudios han descrito una mortalidad prematura tras una fractura por fragilidad^{13,14}, pero no todas las áreas anatómicas se asocian de la misma manera. Las fracturas de antebrazo o las vertebrales incrementan el riesgo de sufrir una segunda fractura por fragilidad. Sin embargo, hay cierta controversia sobre su potencial efecto sobre el riesgo de mortalidad prematura^{2,14}.

Calidad de la alimentación y salud ósea

Las fracturas de cadera son el evento más estudiado, con consecuencias más graves sobre el estilo de vida del paciente y aumentando el riesgo de mortalidad prematura^{15,16}. Un 20% de los pacientes que sufren una fractura de cadera fallecen en el año siguiente y menos de la mitad de los supervivientes recuperan la funcionalidad previa al evento^{2,17,18}. No está claro cuál es la causa por la que se produce este aumento de mortalidad a largo plazo y posiblemente está relacionado con la edad, el tratamiento, la inmovilidad y las morbilidades asociadas previas. Así mismo, los hombres muestran una mayor tasa de mortalidad y de comorbilidades^{19,20}, siendo las más frecuentes la demencia, las enfermedades cardiovasculares, el cáncer, la insuficiencia renal o la malnutrición²⁰.

La morbilidad producida por las fracturas varía según el tipo y la localización de la misma. En las fracturas vertebrales, la morbilidad aumenta con el número de fracturas provocando dolor, pérdida de altura y cifosis, dificultad en la realización de actividades cotidianas e incluso pudiendo producir trastornos respiratorios y gastrointestinales. En el caso de las fracturas de cadera, existe con frecuencia un periodo de inmovilidad que implica una morbimortalidad añadida¹⁸.

1.1.3. Costes asociados a la osteoporosis

Los costes de la osteoporosis en la Unión Europea (UE) en 2010 se estimaron en 37 billones de euros siendo los tratamientos de las fracturas incidentes el 66% de ese gasto¹⁸. Las fracturas por fragilidad suponen un coste a la sanidad pública y a la sociedad que difiere según

INTRODUCCIÓN

el área dónde se ha producido la fractura, la gravedad de la misma y la necesidad de hospitalización. Las estancias hospitalarias de larga duración afectan negativamente al coste sanitario y a la salud del paciente.

En Europa, los costes sanitarios asociados a las fracturas difirieren sustancialmente entre países y áreas anatómicas afectadas. Las fracturas de cadera son las que mayores costes producen en todos los países debido a su mayor gravedad y tiempo de hospitalización requerido, mientras que las fracturas distales del antebrazo son las que menor coste suponen. En cifras, una fractura de cadera implica en el primer año una media de 13.816 euros, mientras que las fracturas vertebrales y de antebrazo tienen un coste medio sustancialmente menor (3.380 y 989 euros, respectivamente)¹⁸.

En España, el coste asociado a una fractura (ya sea de cadera, vertebral o de antebrazo) es menor al de la media europea (9.421 euros, 2.349 euros y 1.076 euros, respectivamente) sin embargo, en el gasto total es superior a los otros países indicados (1.372 millones de euros), así como en el gasto debido a la incapacidad a largo plazo asociada (1.055 millones de euros)¹⁸.

Respecto a la carga sanitaria asociada, medida en forma de años de vida ajustados por calidad de vida (AVAC), se calculó que en Europa se perdieron 1.2 millones de AVACs, siendo esta pérdida del doble en mujeres que en hombres y suponiendo un gasto para los países de la UE de 60.4 billones de euros. En nuestro país, se perdieron un total de 70.806 AVACs en el año 2010 como consecuencia de las fracturas por

Calidad de la alimentación y salud ósea

fragilidad, lo que comportó un gasto sanitario estimado de 6.1 billones de euros¹⁸.

1.1.4. Fisiopatología de la osteoporosis

El hueso está compuesto por materia inorgánica mineral (50 – 70%), matriz orgánica, agua y lípidos. El contenido mineral es mayoritariamente hidroxapatita $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ con trazas de otros compuestos como magnesio y fosfato. El mineral óseo da rigidez mecánica y resistencia al hueso, mientras que la matriz orgánica proporciona elasticidad y flexibilidad²¹.

A nivel estructural, hay dos secciones óseas diferenciadas: el hueso cortical y el hueso trabecular. El hueso cortical representa aproximadamente el 80% de todo el esqueleto. Es una estructura densa y sólida que rodea a la médula. El hueso trabecular es una red de placas y varillas intercaladas que rellenan la médula ósea²¹. Ambas partes del hueso están formadas por unidades funcionales llamadas osteonas (las osteonas corticales también son llamadas sistemas de Havers) que, a su vez, están compuestas por una matriz ósea (principalmente de colágeno tipo I) y tres tipos de células con diferentes funciones ²¹:

- Osteoclastos. Células multinucleares cuya función es reabsorber hueso.
- Osteoblastos. Células con la capacidad de sintetizar matriz ósea.
- Osteocitos. Osteoblastos diferenciados de apoyo a la estructura y el metabolismo óseo que favorecen y regulan el intercambio de minerales.

INTRODUCCIÓN

El modelado óseo es el proceso de crecimiento óseo con el que los huesos modifican su forma a consecuencia de influencias fisiológicas y/o fuerzas mecánicas²². La remodelación ósea es un ciclo complejo en el que el hueso se renueva para mantener su resistencia y homeostasis. Durante el remodelado óseo, se producen cuatro fases secuenciales (activación, reabsorción, reversión y formación) en las que se produce una eliminación continua de hueso viejo que se reemplaza por matriz recién sintetizada y mineralizada de hueso nuevo²¹. En la activación, se reclutan precursores de osteoclastos mononucleares que se fusionan formando preosteoclastos multinucleados que, a su vez, se unen a la matriz ósea y generan zonas de sellado alrededor de los compartimentos de reabsorción ósea debajo de los osteoclastos multinucleados²¹. La fase de reabsorción requiere de 2 a 4 semanas y se completa cuando los osteoclastos multinucleados se someten al proceso de apoptosis y se rellenan las cavidades de varios tipos de células mononucleares que comienzan la formación del hueso nuevo²³. La fase de formación necesita de 4 a 6 meses. Los osteoblastos sintetizan nueva matriz orgánica de colágeno y regulan la mineralización de la matriz. Según avanza el proceso, aproximadamente el 50-70% de los osteoblastos experimentan apoptosis y el resto se convierten en osteocitos o células del revestimiento óseo²³.

El pico de MMO se alcanza en la tercera década de vida para, posteriormente, disminuir de forma constante^{24,25}. A medida que uno envejece, los huesos tienden a aumentar su diámetro (incremento del proceso de formación ósea en la superficie perióstica) y su espacio medular (incremento del proceso de resorción en la superficie

Calidad de la alimentación y salud ósea

endóstica). La tasa de pérdida de MMO es similar en ambos sexos, pero tras la menopausia se produce un fuerte incremento en las mujeres²⁶.

INTRODUCCIÓN

1.2. Factores de riesgo de la osteoporosis y las fracturas

La etiología de la osteoporosis es multifactorial. Son varios los factores de riesgo relacionados con la disminución de la DMO y el riesgo de fractura por fragilidad como las fracturas previas, los antecedentes familiares de fractura de cadera, la edad, el índice de masa corporal (IMC) inferior a 20 kg/m², el tratamiento con ciertos medicamentos como los glucocorticoides y ciertos trastornos relacionados con la conducta alimentaria, la malnutrición y la malabsorción crónicos. No obstante, el estilo de vida y los factores ambientales también juegan un papel importante en el desarrollo de la osteoporosis²⁷. En los siguientes apartados se exponen los principales factores de riesgo relacionados con el desarrollo de la osteoporosis y las fracturas por fragilidad.

1.2.1. Sexo

La osteoporosis es tres veces más común entre las mujeres que entre los hombres. Esto es debido a dos causas:

- Un pico de MMO menor y más prematuro al inicio de la edad adulta.
- Cambios hormonales durante la menopausia.

La regulación de estrógenos y andrógenos es la base del desarrollo y maduración del esqueleto adulto hasta la fusión epifisaria, generalmente al final de la segunda década de la vida²⁸. Los estrógenos tienen un rol clave en la obtención máxima de MMO y en su

Calidad de la alimentación y salud ósea

mantenimiento durante la edad adulta. Atenúan la osteoclastogénesis y estimulan la apoptosis de los osteoclastos. Su disminución abrupta en la menopausia es uno de los factores más determinantes a la hora de desarrollar osteoporosis y está estrechamente asociado con el aumento de la resorción ósea osteoclástica²⁸. Los niveles bajos de estrógenos en la postmenopausia estimulan la producción de citocinas osteoclásticas que activan la vía metabólica RANK y promueven la activación de los osteoclastos. De forma paralela, prolonga su vida útil, acelerando, como consecuencia, la pérdida de hueso trabecular²⁹.

Además, con el envejecimiento, se produce un mayor aumento de la porosidad cortical y un adelgazamiento de esta región, lo que disminuye la resistencia ósea²⁸.

1.2.2. Envejecimiento

La prevalencia de la osteoporosis va en aumento paralelo al progresivo envejecimiento de la población. Por cada década, se incrementa un 6-7%, indiferentemente del área anatómica afectada y del sexo⁴. La maduración ósea se produce durante la tercera década de vida. Fisiológicamente, la MMO incrementa su contenido hasta el pico máximo (pico de MMO) a esta edad, razón por la cual en los estudios de densitometría se utiliza a los adultos jóvenes como referencia para calcular el T-score. Tras el periodo de maduración ósea, la MMO comienza a perder progresivamente consistencia y aumenta su porosidad, de forma lenta al inicio y de forma más acusada en la postmenopausia de las mujeres y a partir de los 60 años de vida en los

INTRODUCCIÓN

varones^{24,25}. De la misma manera, la DMO se mantiene constante durante la edad adulta hasta los 50 años en las mujeres y los 65 años en los hombres, momento que empieza su declive pronunciado². También aumenta la probabilidad de desarrollar múltiples condiciones crónicas que favorecen el desarrollo de osteoporosis, afectando de forma significativa a la funcionalidad y la calidad de vida del individuo. De forma general, no solo disminuye la MMO y la DMO, sino que se produce un deterioro del sistema musculoesquelético que afecta a la cantidad y calidad de masa muscular y a la generación de fuerza, lo que también favorece el desarrollo de osteoporosis aumentando la discapacidad y la mortalidad asociada^{30,31}.

1.2.3. Factores genéticos y antecedentes familiares

La osteoporosis es una enfermedad común con un fuerte componente genético. Se estima que entre el 50 y el 85% de la variabilidad en el pico de MMO está determinado genéticamente e, igualmente, existe un componente hereditario de la pérdida de DMO debida a la edad. Estudios en familias y gemelos han demostrado una gran relación entre la herencia genética y varios determinantes del riesgo de fracturas como la DMO total del hueso, su geometría y el recambio óseo³². En las mujeres, otros factores de riesgo como la menopausia vinculados con la osteoporosis también parecen estar determinados genéticamente³³.

En el caso de las fracturas, la influencia de la genética es más difícil de establecer ya que a medida que aumenta la edad, su importancia se reduce al entrar en juego factores medioambientales como las caídas, la

Calidad de la alimentación y salud ósea

alimentación o la farmacología³⁴. Varios estudios han relacionado una historia de fracturas por fragilidad en familiares de primer grado (principalmente en la madre) con un mayor riesgo de fractura de cadera independiente de la DMO³⁵⁻³⁷ aunque no afecta por igual a ambos sexos³⁸. Esta predisposición seguramente sea consecuencia de factores genéticos que condicionan el recambio óseo, la geometría del hueso u otros determinantes no esqueléticos relacionados con la cognición y el control neuromuscular que intervienen en el riesgo de caída³².

Hay otros determinantes genéticos que también pueden actuar secundariamente sobre otros factores de riesgo de la osteoporosis como la fuerza muscular o los niveles de hormonas calciotrópicas que indiscutiblemente son de vital importancia en el mantenimiento de la DMO y en los procesos asociados a la pérdida de MMO³².

1.2.4. Fracturas previas y caídas

Las fracturas por fragilidad son consecuencia de traumatismos menores como caídas leves o por estrés y aplastamiento, sin que haya indicios previos de otra enfermedad que no sea la osteoporosis. El riesgo de sufrir otra fractura por fragilidad tras la primera es mayor durante el primer año. Así, independientemente del sexo, son varios los estudios prospectivos que han informado de un mayor riesgo (en ocasiones de más del doble) de una segunda fractura independientemente de dónde se haya producido la primera³⁸⁻⁴².

Las caídas son la causa más común de las fracturas por fragilidad. El riesgo anual de caída es de un 33% en los hombres mayores y aumenta

INTRODUCCIÓN

del 20 al 50% en mujeres de los 35 a los 85 años⁴³. Aunque no se pueden descartar terceras causas asociadas a accidentes o eventos ambientales, hasta la mitad de las caídas en personas mayores se producen por anomalías de la marcha, disminuciones en la sensibilidad y percepción de las extremidades inferiores, pérdida de visión o pérdida de reflejos. El riesgo de caídas aumenta con la edad y se correlaciona con numerosas otras comorbilidades^{44,45}. La toma de ciertos medicamentos para trastornos neurológicos, cardiopatías, depresión o deterioro de la función cognitiva también favorecen su consecución^{46,47}. Por otro lado, apenas el 5% de las caídas finalizan con una fractura. Factores como la orientación (hacia detrás, hacia delante o hacia un lado), la energía potencial de la persona cayendo, la cantidad de tejido blando que recubre el hueso y el estado de la DMO del hueso pueden ser claves en la consecución o no de la fractura⁴⁸.

1.2.5. Farmacología

Determinados fármacos se asocian con un incremento del riesgo de fracturas y desarrollo de la osteoporosis. Los medicamentos hipnóticos, antidepresivos y sedantes se han asociado con un mayor riesgo de caída^{2,46}. Los glucocorticoides, fármacos moduladores de la respuesta inflamatoria y utilizados para el tratamiento de múltiples patologías, han demostrado tener un efecto negativo sobre los osteoblastos (inhibiendo su reclutamiento, disminuyendo su actividad e induciendo su apoptosis) favoreciendo la osteoclastogénesis⁴⁹. Su uso aumenta el riesgo de fractura un 30 – 50% en comparación con personas que no los

Calidad de la alimentación y salud ósea

utilizan⁵⁰. Otros fármacos como las heparinas, los tiazídicos, los inhibidores de la bomba de protones, los antiretrovirales, la insulina o los anticonceptivos pueden contribuir a aumentar el riesgo de desarrollar osteoporosis en escenarios concretos^{51,52}.

1.2.6. Diabetes

La diabetes es un factor de riesgo no modificable. Independientemente del tipo, es un trastorno metabólico crónico en el que o el páncreas no es capaz de secretar insulina adecuadamente o el organismo es incapaz de hacer un uso adecuado de la misma, produciéndose una resistencia a la insulina que conduce a unos niveles constantes elevados de glucosa en sangre, también llamado hiperglucemia. Este hecho se ha asociado con otros trastornos metabólicos como el estrés oxidativo, la inflamación o las alteraciones en el metabolismo lipídico⁵³. A nivel global, en el año 2019 se estimaba que 463 millones de personas de entre 20 y 79 años sufrían de diabetes. Para el año 2045, se espera que la cifra aumente hasta los 700 millones de personas, el 90% con diabetes tipo 2 (DT2)⁵³.

Muchos estudios han demostrado que la diabetes, controlada o no, tiene un impacto negativo en el riesgo de fracturas, aunque hay resultados contradictorios sobre su impacto en la DMO⁵⁴. El aumento del riesgo de fractura no es el mismo entre pacientes con diferente tipo de diabetes. La evidencia científica hasta ahora parece mostrar que hay un aumento de la DMO en pacientes con DT2, mientras que en los pacientes con diabetes tipo 1 (DT1) se produce una disminución. En ninguno de los

INTRODUCCIÓN

casos se produce de forma tan significativa como para que se explique el aumento del riesgo de fractura^{54,55}.

Las concentraciones elevadas de glucosa en sangre pueden afectar a la salud ósea por diferentes medios^{56,57}. La hiperglucemia reduce la actividad de los osteoblastos, inhibe los genes implicados en su diferenciación y maduración⁵⁶ e induce acidosis, favoreciendo la resorción ósea⁵⁸. Además, también puede inducir hipocalcemia y poliuria⁵⁰, aumentando la excreción de calcio a través de la orina e interfiriendo con los receptores de la hormona paratiroidea y la vitamina D⁵⁹.

Más allá de la asociación entre el metabolismo de la glucosa y el metabolismo óseo, los pacientes diabéticos presentan una serie de características que los puede hacer más propensos a desarrollar osteoporosis o alterar su micro-arquitectura ósea y aumentar el riesgo de fractura⁵⁴. Los pacientes con complicaciones asociadas a la diabetes tienen más probabilidades de recibir cierta medicación, como antiepilépticos o insulina, asociada a un mayor riesgo de fractura⁶⁰⁻⁶². Los antiepilépticos son inductores de las enzimas del citocromo P450 que interactúan con el metabolismo de la vitamina D. Sus efectos negativos sobre el metabolismo óseo y la disminución de la DMO⁶³ pueden favorecer y potenciar los bajos niveles de vitamina D ya típicamente presentes en estos pacientes⁶⁴. Por otro lado, algunas enfermedades concomitantes relacionadas con la diabetes, como la pancreatitis, están fuertemente asociadas con un mayor riesgo de fracturas⁶⁵. La obesidad, otra comorbilidad asociada con la DT2, muestra una relación más ambigua⁶⁶. Varios estudios concluyen que los

Calidad de la alimentación y salud ósea

depósitos de grasa entorno a la cadera podrían ejercer un efecto protector frente a las caídas, disminuyendo el riesgo de fractura⁶⁷, sin embargo, la obesidad abdominal está asociada con la resistencia a la insulina e inflamación, procesos que favorecen la resorción ósea por medio de la activación de la vía de señalización NF- κ B⁶⁸⁻⁷⁰. Otras complicaciones como la neuropatía, la retinopatía y los episodios de hipoglucemia o hipotensión derivados de la medicación hacen más propensas a estas personas de sufrir caídas y aumentan su riesgo de fractura⁵⁵.

1.2.7. Sedentarismo

El sedentarismo o el comportamiento sedentario se define como una actividad de vigilia que requiere un gasto de energía menor o equivalente a 1.5 METs mientras se está sentado o acostado⁷¹. Es uno de los comportamientos más relacionados con las personas de edad avanzada. La ausencia de estímulos mecánicos promueven la resorción ósea y favorecen la pérdida de MMO, lo que convierten a este comportamiento como uno de los principales factores de riesgo de osteoporosis y fracturas en personas de edad avanzada³¹. Además, la inactividad también produce una pérdida de masa y fuerza muscular, lo que a su vez puede implicar problemas en la movilidad que favorezcan las caídas³¹.

INTRODUCCIÓN

1.2.8. Hábitos tóxicos: Tabaco y alcohol

El tabaco y el alcohol son unos de los factores de riesgo relacionados con el estilo de vida que más se asocian con múltiples patologías, incluyendo una menor DMO^{72,73} y un mayor riesgo de fractura, independiente del sexo⁷⁴⁻⁷⁶. Fumar puede alterar el proceso de regeneración y de consolidación ósea⁷⁷. La nicotina, que se asocia inversamente con la DMO⁷⁸, es capaz de estimular la diferenciación de osteoclastos a través de los receptores $\alpha 7nAChR$, reguladores la vía metabólica RANKL/OPG y del proceso de osteoclastogénesis^{79,80}. A nivel hormonal, fumar produce efectos negativos sobre las glándulas suprarrenales disminuyendo la producción de estrógenos y favoreciendo una menopausia prematura⁸¹. Por otro lado, el tabaco contiene una gran cantidad de compuestos oxidativos que aumentan la liberación de radicales libres y favorecen la resorción ósea, siendo esta otra posible vía que favorece la disminución de la DMO y el desarrollo de osteoporosis en los fumadores⁸².

El consumo de alcohol muestra una asociación no lineal con el riesgo de fractura⁷⁶. Consumos elevados perjudican el metabolismo de las proteínas y del calcio, producen problemas de movilidad y de visión, afectan negativamente a la función gonadal y producen un efecto tóxico sobre los osteoblastos⁷⁶. También puede producir cambios en la morfología de los osteocitos y favorecer el número de células apoptóticas, así como disminuir las concentraciones de leptina y de la hormona paratiroidea, reducir la osteogénesis y aumentar la adipogénesis en la médula ósea^{73,83}, todo ello factores que alteran el normal funcionamiento del metabolismo óseo y favorecen los procesos

Calidad de la alimentación y salud ósea

fisiopatológicos de la osteoporosis. Sin embargo, el consumo moderado de alcohol no parece tener efectos negativos significativos sobre el metabolismo óseo y no hay una asociación consistente entre el consumo de alcohol con un aumento del riesgo de fractura o de reducción de la DMO^{76,84}.

1.2.9. Alimentación

De forma general, la dieta es uno de los factores de riesgo modificables más importantes en el desarrollo y mantenimiento de la MMO y DMO. La adherencia a ciertos patrones dietéticos se ha asociado con variaciones de DMO^{85,86}. Por ejemplo, la dieta mediterránea (DietMed), que se caracteriza por una alta ingesta de frutas, verduras, frutos secos y aceite de oliva, se ha relacionado con un menor riesgo de fracturas de cadera⁸⁷⁻⁸⁹, mientras que alimentaciones basadas en un estilo de vida occidental (en inglés "*Western Diet*"), ricas en carnes rojas, grasas saturadas, alimentos procesados, bebidas azucaradas y pocas frutas, verduras y alimentos integrales parece asociarse de forma negativa al correcto metabolismo óseo⁹⁰.

También hay nutrientes específicos que pueden ser determinantes para los procesos óseos. Los principales para mantener una buena salud ósea son el calcio, el fósforo, la vitamina D y las proteínas, que se incorporan al colágeno de la matriz orgánica del hueso y participan en los procesos de mineralización claves en la formación de MMO. La ingesta deficiente de alguno de ellos se ha definido como un factor de riesgo nutricional frecuente en pacientes con osteoporosis²⁷. Otros elementos como trazas

INTRODUCCIÓN

de otros minerales, oligoelementos u otras vitaminas también pueden tener una función esencial pero menos conocida en los procesos óseos⁸⁶.

1.3. Diagnóstico de la osteoporosis y de las fracturas por fragilidad

El diagnóstico y la evaluación clínica de la osteoporosis se realiza principalmente a partir de la medición de la DMO según la definición actual de osteoporosis acordada por consenso internacional^{91,92}. Existen diferentes métodos objetivos para valorar el estado del contenido óseo: ultrasonidos cuantitativos, tomografía computarizada, radiografías, imagen de resonancia magnética... sin embargo, los métodos más utilizados en el día a día en la práctica clínica son la revisión del historial de fracturas por fragilidad en las principales áreas anatómicas y el resultado de la evaluación de la DMO por absorciometría con rayos X de doble energía (DXA), siendo esta última técnica la considerada “*gold standard*” para el diagnóstico de la osteoporosis⁹³. El DXA permite discriminar diferentes estructuras y compartimentos en el organismo⁹⁴. La modalidad más habitual es la densitometría ósea axial en la columna lumbar y la cadera, aunque también se puede realizar en cuerpo completo a fin de conseguir una DMO general. La medición de la DMO es importante porque facilita la prognosis (riesgo de fractura), el diagnóstico de osteoporosis, la toma de decisiones terapéuticas, así como la monitorización de la respuesta al tratamiento^{95,96}.

Para evaluar si una persona tiene osteoporosis, se compara su DMO con la de un adulto joven sano y se calcula una puntuación T (T-score). El T-score mide en desviaciones estándar (DE) el grado de desmineralización que sufre un paciente considerando que una puntuación de 0 equivale a tener la misma salud ósea que un adulto joven y cuantas más DE

INTRODUCCIÓN

negativas se alejen del 0, menor DMO tiene el individuo. La OMS ha establecido unos estándares para definir la aparición de osteopenia u osteoporosis a partir de las T-score obtenidas por DXA en la espina lumbar o en la cadera, siendo la más utilizada esta última área⁹⁷⁻¹⁰⁰ (Tabla 1). A pesar de haber cierta discusión, se utilizan los mismos puntos de corte tanto en mujeres como en hombres debido a que el riesgo de fracturas en la cadera o en las vértebras son similares en ambos sexos para la misma DMO^{2,101}.

Tabla 1. Umbrales de T-score para osteopenia y osteoporosis según la OMS⁹⁸

Nivel	Umbral
Normal	> -1 DE
DMO Baja (Osteopenia)	-1 a -2.5 DE
Osteoporosis	< -2.5 DE

Abreviaturas: DMO, densidad mineral ósea; DE, desviación estándar.

La determinación de los sitios anatómicos y las circunstancias en las que se produce una fractura como consecuencia de la osteoporosis es un tema de controvertido desde hace tiempo. No existe una evidencia robusta que permita definir con claridad los lugares anatómicos en los que una fractura sea resultado directo de la osteoporosis, lo que dificulta su determinación con precisión. No obstante, parece haber un cierto consenso al considerar como fracturas presumiblemente relacionadas con las osteoporosis las que se han producido en el cuello del hueso femoral, en las vértebras y en el radio distal, siendo poco probable

Calidad de la alimentación y salud ósea

aquellas que son consideradas fracturas abiertas del húmero proximal, fracturas cerradas del cráneo y fracturas de los huesos faciales¹⁰²⁻¹⁰⁵.

En el ámbito de la investigación, se utilizan otros métodos en el diagnóstico y establecimiento de la osteoporosis. Además de los métodos convencionales utilizados en la práctica clínica ya explicados, también se utilizan biomarcadores específicos del *turnover* óseo como el calcio, la fosfatasa alcalina ósea, el 1,25-dihydroxycholecalciferol, la osteocalcina en suero, o el calcio, el cortisol y la concentración de proteínas en orina².

INTRODUCCIÓN

1.4. Tratamiento

La osteoporosis es una enfermedad crónica silenciosa. En muchos casos, los pacientes no son conscientes de estar desarrollando la patología hasta el momento en que se produce la fractura. Por ello, los tratamientos suelen estar dirigidos a evitar que el daño aumente, es decir, a que se produzcan más fracturas tras la primera porque el desarrollo de la enfermedad no estuvo monitorizado hasta este momento. Por ello, se puede hablar de una división en los tipos de tratamiento: preventivo que se engloba dentro de la prevención primaria (incluiría la alimentación, cambios en el estilo de vida, suplementación preventiva...), tratamiento precoz que está dentro de la prevención secundaria (tratamiento farmacológico) y tratamiento de rehabilitación ubicado en la prevención terciaria (tratamiento quirúrgico). Dado el enfoque de esta Tesis, nos centraremos principalmente en la prevención primaria.

1.4.1. Calcio

El calcio es un mineral clave para el esqueleto y los dientes dónde se encuentra almacenado en casi su totalidad en forma de hidroxapatita de calcio. El calcio es fundamental en muchas funciones fisiológicas. Su papel es estructural y proporciona rigidez al esqueleto, forma parte de la contracción muscular y elasticidad de los tejidos, y actúa en los potenciales de acción nerviosos¹⁰⁶. El hueso funciona como un reservorio de calcio y otros nutrientes inorgánicos¹⁰⁷. Se absorbe tanto en el duodeno con un transportador activo, como en el intestino distal

Calidad de la alimentación y salud ósea

por transporte pasivo. Los niveles de calcio se regulan por medio de la hormona paratiroidea, la vitamina D y la calcitonina. Como una consecuencia más del envejecimiento, su absorción se ve disminuida, por lo que gana importancia su ingesta con la edad. Las recomendaciones dietéticas de las principales guías alimentarias recomiendan que los adultos menores de 51 años realicen una ingesta diaria de 1000 mg de calcio independientemente del sexo, aumentando hasta 1200 mg para las mujeres entre 51 y 71 años e incrementándose nuevamente hasta 1300 mg en adultos mayores de 71 años, independientemente del sexo^{107,108}. Cuando la ingesta y/o la absorción de calcio es insuficiente para satisfacer los requisitos fisiológicos, se produce una reabsorción de calcio desde el esqueleto para mantener su homeostasis sanguínea, lo que produce una reducción de la MMO comportando primero una osteopenia y, posteriormente si no se rectifica, el desarrollo de osteoporosis y el aumento del riesgo de fractura, lo que supone un factor de riesgo identificable de osteoporosis.

La suplementación con calcio se recomienda cuando la ingesta dietética puede ser insuficiente y tras tratar de llegar a las recomendaciones diarias a través de una dieta bien equilibrada. Hay cierta controversia sobre la utilidad de la suplementación frente la osteoporosis y sus consecuencias. Varios ensayos clínicos prospectivos aleatorizados han demostrado la valía de la suplementación diaria de calcio y vitamina D para mejorar la DMO en mujeres postmenopáusicas¹⁰⁹ y personas ancianas^{110,111} mientras que otros ensayos han arrojado resultados contradictorios con respecto a si reducen o no el riesgo de fracturas por fragilidad¹¹²⁻¹¹⁴.

INTRODUCCIÓN

Las principales fuentes dietéticas de calcio son los productos lácteos, algunas verduras como el brócoli y la col rizada, y algunos alimentos típicamente enriquecidos como los zumos, los cereales y algunos granos. Respecto a la suplementación, las presentaciones más comunes son en forma de carbonato de calcio y citrato de calcio¹¹⁵ siendo la última forma la que mayor biodisponibilidad proporciona¹⁰⁶.

1.4.2. Vitamina D

La vitamina D se puede obtener a partir de la alimentación y que también se produce en la piel al exponerse al sol. A pesar de ello, su deficiencia es común entre la población¹¹⁶. La radiación ultravioleta B (UVB) convierte el 7-deshidrocolesterol de la piel en previtamina D que se isomeriza por acción del calor y se convierte en vitamina D. Se metaboliza en el hígado y en los riñones se convierte en su forma biológicamente activa (1,25-dihidroxitamina D) por acción de la enzima 25-hidroxitamina D-1 alfa-hidroxilasa (CYP27B1) que a su vez está regulada por los niveles de la hormona paratiroides, calcio y fósforo¹¹⁷. Su presencia es necesaria para mantener la homeostasis del calcio y fósforo sérico (aumenta su absorción intestinal y favorece la reabsorción de calcio en los riñones) y la salud musculoesquelética. Varias asociaciones y guías alimentarias recomiendan una ingesta de 600 UI diarios durante la edad adulta y 800 UI diarios durante la vejez^{108,118}. Su déficit en adultos produce alteraciones en la mineralización de la matriz del colágeno, disminuyendo el soporte

Calidad de la alimentación y salud ósea

estructural y aumentando el riesgo de fractura además de producir debilidad y dolor muscular¹¹⁹.

La producción cutánea de vitamina D puede verse afectada por varios factores. La melanina absorbe la radiación UVB e impide la conversión del 7-deshidrocolesterol en vitamina D, por lo que personas con pieles más oscuras requieren una mayor exposición al sol para producir los mismos niveles de vitamina D que personas con pieles más claras. Lo mismo ocurre con la crema de protección solar. Otro factor es la estación del año. En invierno, la luz solar es más oblicua y la capa de ozono reduce la radiación UVB. De la misma manera, al amanecer, al anochecer y ubicaciones en latitudes superiores a los 37° se requiere mayor tiempo de exposición¹¹⁹.

Las principales fuentes dietéticas de vitamina D son los pescados grasos como el salmón, la caballa, las sardinas y los alimentos enriquecidos con vitamina D como algunas leches, zumos, panes y cereales. Los suplementos también son una fuente importante que se pueden encontrar con y sin receta médica en concentraciones muy variables (desde 1.000 UI hasta 50.000 UI, estos últimos solo con recete médica).

1.4.3. Actividad física

La actividad física es un término general que incluye toda actividad física realizada en el tiempo libre, ya sea en forma de ejercicio o deporte, las actividades de la vida diaria, las tareas domésticas y el trabajo¹²⁰. El ejercicio físico es fundamental en la prevención de diversas patologías relacionadas con la edad como las enfermedades metabólicas y las ECV

INTRODUCCIÓN

y el cáncer¹²¹ y proporciona beneficios preventivos para la salud, especialmente en la prevención y el tratamiento de la osteoporosis^{122,123}. Con el envejecimiento, se produce una disminución del rendimiento físico que produce pérdidas de fuerza muscular, coordinación y equilibrio, aumentando el riesgo de caídas¹²⁴ y las consecuencias asociadas a las mismas, es decir, mayor riesgo de fracturas, discapacidad residual, dolor crónico y pérdida de la independencia con consecuencias transcendentales a nivel social, económico y de salud pública¹²⁵.

Varios meta-análisis han concluido que la actividad física puede beneficiar la geometría, la estructura, la microarquitectura y la resistencia del hueso en ambos sexos¹²⁶⁻¹²⁸. Largos periodos de inmovilización pueden producir pérdidas importantes de DMO favoreciendo el proceso de reabsorción ósea mientras que la actividad física ayuda a estimular el crecimiento óseo y a mantener la MMO¹²⁹. Esto es debido a que el sistema musculoesquelético necesita de la actividad física como estímulo para mantener y desarrollar los huesos y prevenir la atrofia muscular. Estudios clínicos con mujeres osteopénicas han demostrado un incremento significativo en la DMO de la médula espinal (DXA L1-L4, grupo intervención +0.7% versus -2.3% grupo control) y una menor disminución significativa en la DMO de cadera tras 26 meses de realizando un total de 4 sesiones de ejercicio por semana (incluía sesiones de fuerza, pliometría, resistencia y flexibilidad) (DXA, grupo intervención -0.3% versus -1.7% grupo control)¹³⁰. Los resultados se mantuvieron a los 36 meses de intervención¹³¹ y, tras 16

Calidad de la alimentación y salud ósea

años de seguimiento, observaron un menor riesgo de fractura (Tasa de riesgo: 0.51, IC 95%: 0.23, 0.97).

En cuanto a las recomendaciones, no parece existir una pauta única ni una actividad significativa que mejore la prevención de fracturas, caídas y de la pérdida de DMO. Ejercicios aeróbicos con peso de intensidad media – alta (por ejemplo, caminar rápido, subir escaleras o trotar), entrenamiento de resistencia progresiva e intensidad alta (por ejemplo, levantamiento de pesas) y ejercicio de impacto (por ejemplo, saltar o correr) parecen mejorar la DMO, el equilibrio y la fuerza así como ayudar a mantener la musculatura¹²⁶⁻¹²⁸.

INTRODUCCIÓN

1.5. Aceite de oliva virgen extra e indicadores de calidad de la dieta como determinantes de la osteoporosis y la incidencia de fracturas en individuos mayores con un elevado riesgo cardiovascular o síndrome metabólico.

Esta Tesis se focaliza en la asociación entre la calidad de la dieta, de forma general con tres índices de calidad de ésta, y/o el consumo de aceite de oliva virgen extra (AOVE) como un alimento clave de la DietMed rico en ácidos grasos saludables, con la pérdida de DMO y el riesgo de fractura como consecuencia de la osteoporosis. Por ello, en los siguientes apartados se profundizará en estos tópicos.

1.5.1. Aceite de oliva virgen extra

El AOVE es un componente clave de la DietMed, de los más estudiados y el que más se ha relacionado con efectos beneficiosos sobre la salud¹³². Es la principal fuente de grasa vegetal utilizada en las regiones en torno a la cuenca del Mediterráneo para cocinar y aliñar los platos, por lo que se puede considerar un marcador de la calidad de los ácidos grasos de la dieta dado su elevado consumo en detrimento de otras grasas. Varios estudios experimentales han correlacionado positivamente su consumo con mayores niveles de osteocalcina circulante y una mejor DMO en diferentes poblaciones¹³³⁻¹³⁵. Este alimento se produce mediante presión mecánica de aceitunas maduras para obtener su jugo y está compuesto esencialmente de ácidos grasos monoinsaturados (AGM). Dos estudios, uno en población griega y otro en población española, asociaron un

Calidad de la alimentación y salud ósea

consumo mayor de AGM con mayor DMO y menor riesgo de fracturas por fragilidad^{136,137}. Otro realizado en mujeres encontró que un patrón alimentario con un mayor consumo de pescado y aceite de oliva y menor de carnes rojas (y derivados) se asociaba positivamente con mayor DMO y MMO⁸⁶. También es un alimento rico en vitamina E, polifenoles (especialmente flavonoides) y otros compuestos bioactivos (como escualeno, tocoferoles...) ¹³⁸. *In vitro* y con modelos animales se han obtenido resultados positivos respecto a la función beneficiosa de los polifenoles más abundantes del AOVE (oleuropeína, tirosol e hidroxitirosol) con la formación y el mantenimiento del hueso a través de la modulación de la diferenciación y función de las células óseas¹³⁹⁻¹⁴¹. Sin embargo, en humanos, se ha observado que el consumo de un extracto de oleuropeína durante un año mejora los niveles de osteocalcina y ayuda a estabilizar la DMO de la columna lumbar¹³⁵.

1.5.2. Indicadores de calidad de la dieta

La calidad de la dieta se ha mostrado como uno de los principales factores riesgo modificables en el desarrollo de enfermedades crónicas. Ya se han relacionado varios grupos de alimentos y patrones dietéticos con el metabolismo óseo y el riesgo de fractura⁸⁵⁻⁸⁷, lo que aporta evidencia a la importancia que tiene la dieta. La calidad de los alimentos implica directamente a su composición nutricional dónde, a pesar de que la denominación de los micro y macronutrientes es general para todos, sus propiedades pueden variar según los subtipos de cada uno

INTRODUCCIÓN

de estos nutrientes, así como sus efectos en el organismo y el metabolismo óseo.

1.5.2.1. Índice glucémico (IG) y carga glucémica (CG)

El concepto de índice glucémico (IG) fue desarrollado por Jenkins y colaboradores¹⁴² como una forma de medir la calidad de los hidratos de carbono (HC) en relación a la disponibilidad de glucosa tras la ingesta de un alimento. Posteriormente, se definió la carga glucémica (CG) como un indicador general de respuesta de la glucosa y la demanda de insulina inducida por la ración de un alimento multiplicando su IG por su contenido de HC en esa ración¹⁴³. A este respecto, hay estudios que demuestran que las dietas con un IG y CG elevados producen un aumento significativo de las concentraciones de glucosa e insulina^{144,145}, mientras que, opuestamente, las dietas de IG bajo atenúan el aumento de glucosa en sangre¹⁴⁶. Estas últimas, además, también se han asociado con un perfil inflamatorio y oxidativo más saludable y una hemoglobina glucosilada más baja¹⁴⁶⁻¹⁴⁸.

Otros estudios han asociado estos índices de calidad de los HC con el desarrollo de enfermedades crónicas¹⁴⁹. Un meta-análisis que evaluó 37 estudios observacionales longitudinales encontró que dietas con valores de IG y CG elevados aumentaban el riesgo de desarrollar DT2 [IG Riesgo relativo (RR): 1.40, 95% CI: 1.23, 1.59; CG RR: 1.27, 95% IC: 1.12, 1.45], algunos tipos de cáncer (cáncer de pulmón, IG RR: 1.08, 95% IC: 1.02, 1.16) y las enfermedades cardiovasculares (IG RR: 1.25, 95% IC: 1.00, 1.56)¹⁴⁹. Los autores concluyeron que, dado que las asociaciones de

Calidad de la alimentación y salud ósea

mayor magnitud se produjeron con el IG, una elección adecuada de alimentos de bajo IG puede ser igual de efectiva a la de los alimentos integrales o elevados en fibra en la prevención de enfermedades crónicas. Otro estudio realizado dentro del propio ensayo PREDIMED reportó que los participantes cuyas dietas tenían un mayor IG y CG presentaban mayor riesgo de desarrollar síndrome metabólico (SM) y obesidad abdominal¹⁵⁰.

1.5.2.2. Potencial carga ácida renal (PRAL) y Producción neta de ácido endógeno (NEAP)

La potencial carga ácida renal (PRAL) y la producción neta de ácido endógeno (NEAP) son modelos teóricos diseñados para medir la carga ácido-base de una dieta y estimar la excreción neta de ácido renal a partir de la ingesta dietética de ciertos nutrientes^{151,152}. Un estado de acidosis metabólica leve sostenido en el tiempo podría funcionar como mediador en la liberación de calcio de la matriz ósea y estimular la reabsorción, debilitando la estructura ósea e incrementando el riesgo de fractura^{151,153}. Algunos estudios han relacionado este desequilibrio del sistema ácido-base con cambios en la DMO¹⁵⁴⁻¹⁵⁶. El hueso podría funcionar como un sistema tampón más del organismo neutralizando la carga ácida resultante de la alimentación, produciendo un efecto perjudicial en su composición y porosidad^{157,158}. Bajo esta consigna, dietas con un importante contenido de alimentos de origen animal como el queso, la carne y el pescado, producirían una gran cantidad de precursores ácidos que contribuirían al desarrollo de la osteoporosis e incrementarían el riesgo de fractura por fragilidad. Sin embargo,

INTRODUCCIÓN

alimentaciones basadas en frutas y verduras favorecerían la producción de precursores alcalinos/básicos que podrían prevenir potencialmente la pérdida de mineral óseo como consecuencia al desequilibrio del pH¹⁵⁸. Estos procesos, además, podrían verse potenciados por otras comorbilidades asociadas a la osteoporosis, como la diabetes, que favorecen este estado de acidosis metabólica crónico o a cambios fisiológicos asociados a la edad como la alteración de la función renal, resultando en una aceleración aún mayor del proceso de desmineralización¹⁵⁹.

Varios estudios han observado este efecto. En un análisis transversal realizado en el estudio NHANES con 1.218 hombres mayores de 60 años, la dieta con PRAL elevado se asoció con una DMO en la cadera más baja ($p = 0.02$)¹⁵⁶. En otro estudio con 4.672 ancianos holandeses, la NEAP se asoció inversamente con la integridad del hueso trabecular (β : -0.04, 95% IC: -0.07, -0.01) pero no con la DMO (β : -0.02, 95% IC: -0.05, 0.01)¹⁶⁰ y en el estudio EPIC, en un análisis con 8.188 mujeres y 6.375 hombres de 40 a 79 años, encontraron que los valores de PRAL más altos se asociaban con una menor atenuación ultrasónica de banda ancha (BUA) del calcáneo (β por desviación estándar: -0.49, 95% IC: -0.80, -0.18) en las mujeres, considerando los autores que la magnitud de la asociación no era lo suficientemente grande como para compararla con otros factores de riesgo típicos como el tabaco o la edad¹⁵⁸

Aun así, no deja de existir cierta controversia en la literatura, ya que varios estudios observacionales y meta-análisis cuestionan que la carga ácida de la alimentación realmente tenga un efecto suficiente sobre el

Calidad de la alimentación y salud ósea

metabolismo óseo, abriendo el debate sobre los beneficios o perjuicios que se puedan obtener modificando la alimentación¹⁶⁰⁻¹⁶².

1.5.2.3. Índice de inflamación de la dieta modificado (M-DIS)

El M-DIS es una herramienta validada para estimar el potencial inflamatorio de la dieta entre diferentes poblaciones diseñada a partir de 45 parámetros alimentarios (nutrientes y alimentos) que se han relacionado previamente con 6 biomarcadores inflamatorios específicos: la proteína C reactiva (PCR), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) y las interleucinas 1 β (IL-1 β), 4 (IL-4), 6 (IL-6) y 10 (IL-10)¹⁶³. Como puntuación global, valores elevados de M-DIS se han asociado significativamente con varios biomarcadores inflamatorios (principalmente con la PCR y TNF α) y con un mayor riesgo de alteraciones metabólicas y enfermedades crónicas como la obesidad, la DT2 y las ECV¹⁶³⁻¹⁶⁷.

De forma individual, algunos de los nutrientes y alimentos que forman parte del M-DIS, como los HC y los ácidos grasos saturados (AGS), también se han asociado con un mayor riesgo de desarrollar osteoporosis y sufrir fracturas por fragilidad. Se sabe que pueden mantener activas de forma crónica algunas vías pro-inflamatorias que benefician los procesos de osteoclastogénesis y resorción ósea^{57,168-170}.

Respecto a la salud ósea, son varios los estudios que han informado de asociaciones positivas entre una puntuación elevada en el M-DIS relacionando una dieta con tendencia pro-inflamatoria con un mayor riesgo de fracturas por fragilidad o menor DMO en varias áreas óseas¹⁷¹⁻

INTRODUCCIÓN

¹⁷⁴. En dos estudios con población coreana se asoció un mayor M-DIS con baja DMO en el fémur¹⁷¹ y con mayor riesgo de sufrir osteoporosis¹⁷⁴. En otro estudio con población americana, también se observó una relación inversa entre el M-DIS y varias áreas de DMO y un aumento significativo de fracturas¹⁷³ mientras que en un meta-análisis reciente encontraron una asociación inversa entre M-DIS y la DMO de la espina lumbar (OR: 0.990, IC 95%: 0.984, 0.995) y de cadera total (OR: 0.995, IC 95%: 0.990, 0.999), pero no así en el cuello del fémur (OR: 0.998; IC 95%: 0.994, 1.002). De la misma manera, también observaron un mayor riesgo de osteoporosis y fracturas por fragilidad¹⁷⁵.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

2.JUSTIFICACIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

JUSTIFICACIÓN

La osteoporosis es un problema de salud pública y una de las enfermedades asociadas al envejecimiento que mayor impacto tiene sobre la salud con un importante coste sanitario para los sistemas de salud nacionales. Es una enfermedad silenciosa que, como consecuencia del envejecimiento y los cambios en el estilo de vida, así como por los cambios en la calidad de la alimentación de que se están produciendo en la población occidental, aumentará su incidencia y costes asociados de forma paralela. Se asocia a una mayor morbi-mortalidad y se sabe que su consecuencia más directa, las fracturas por fragilidad, reducen la calidad y esperanza de vida de aquellas personas que las han sufrido, además de aumentar el riesgo de que se produzcan fracturas en aquellas personas que aún no las han sufrido y desconocen que padecen de osteoporosis.

Por ello, se hace importante abordar no solo socialmente sino también científicamente este tema como punto de partida en prevención para generar nuevas estrategias efectivas que incrementen la implicación de la población en su salud y descargue de esta manera al sistema sanitario asistencial.

Existe una base importante de evidencia científica que destaca la importancia que tienen ciertos nutrientes, alimentos y patrones dietéticos en el riesgo de desarrollar osteoporosis y sufrir fracturas. El consumo de ácidos grasos saturados, carnes rojas o el seguimiento de patrones dietéticos alejados de un estilo tradicional ricos en alimentos grasos, bajos en fibras y llenos de azúcares de fácil asimilación siendo estos alimentos de baja calidad, no solo favorecen la aparición de la

Calidad de la alimentación y salud ósea

osteoporosis inhibiendo los procesos de formación ósea, sino que también se relacionan con otras enfermedades crónicas comunes en las últimas décadas como la DT2 o las ECV. También hay evidencia de que el seguimiento de otros patrones dietéticos saludables, como la DietMed, se asocian con una mejor salud ósea. Sin embargo, aún es incierto qué alimentos son claves en la prevención de la pérdida de DMO e incidencia de fracturas osteoporóticas como el aceite de oliva o los alimentos con menor IG de los que prácticamente son inexistentes los estudios en humanos que los asocien con el metabolismo óseo. Hay que destacar que, en el casi imparable proceso de occidentalización de la dieta (es decir, el abandono del consumo de alimentos de cercanía tradicionales de una región que, no solo suponen un beneficio para la salud, sino que permiten mantener un sistema social más saneado ecológica y económicamente hablando), la calidad de los alimentos ha ido disminuyendo en un proceso global de ahorro de costes e incremento de beneficios que no van en consonancia con el mantenimiento de la salud de la población. Por lo tanto, este campo debe ser investigado con mayor profundidad para desarrollar recomendaciones dietéticas basadas en evidencias científicas que permitan educar a la población y les facilite una mejor elección de los alimentos que consumen.

No obstante, más allá de alimentos propios que puedan ser clave para una población determinada con un beneficio marginal para el resto, el mundo científico se centra cada vez más en buscar formas de evaluar la calidad de las dietas como un conjunto desde un punto de vista holístico. Aunque hay bastantes estudios que evidencian la asociación

JUSTIFICACIÓN

entre determinados patrones dietéticos y la osteoporosis, los estudios que evalúan la calidad de la dieta como un cómputo indiferentemente de los alimentos que la forman es escasa. Por ello, aunque estudios previos asocian el PRAL/NEAP/M-DIS con las osteoporosis y las fracturas en otras poblaciones, faltan investigaciones que evalúen la calidad de la dieta y de los HC como nutriente principal y más abundante de nuestra alimentación dentro de un contexto mediterráneo con un patrón dietético bastante conservado.

Por lo tanto, considerando la presencia de lagunas en el conocimiento actual, los hallazgos logrados con la presente Tesis Doctoral pueden servir para abrir nuevas vías de investigación que nos ayuden a vislumbrar el papel potencial que tienen determinados factores dietéticos modificables sobre la pérdida de DMO e incidencia de fracturas por fragilidad.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

3.HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

3.1. Hipótesis

3.1.1. Hipótesis general

En dos poblaciones mediterráneas incluyendo ambos sexos y edad avanzada, con elevado riesgo de ECV y/o síndrome metabólico, la calidad de la dieta, valorándola con diferentes scores, se asocia con cambios en el metabolismo óseo que modifican el contenido mineral óseo y facilitan o retrasan la producción de fracturas consecuentes a la osteoporosis.

3.1.2. Hipótesis específicas

- Un mayor consumo de AOVE, alimento rico polifenoles y eje de la DietMed, se relaciona con un menor riesgo de padecer fracturas relacionadas con la osteoporosis.
- Una peor calidad de los hidratos de carbono de la dieta y su disponibilidad más rápida en forma de glucosa tras su ingesta se asocia con el aumento del riesgo de fracturas relacionadas con la osteoporosis.
- La dieta como elemento que altera el equilibrio ácido-base sanguíneo se relaciona con alteraciones en la DMO y facilita la producción de fracturas óseas relacionadas con la osteoporosis.
- Una dieta con mayor contenido de elementos proinflamatorios se asocia con una menor DMO.

3.2. Objetivos

3.2.1. Objetivo general

El principal objetivo de esta Tesis fue evaluar la asociación que tiene la calidad de la dieta y la alimentación sobre la DMO y el riesgo de fracturas como consecuencia de la osteoporosis en dos poblaciones mediterráneas de edad avanzada con alto riesgo cardiovascular y/o síndrome metabólico procedentes de los estudios PREDIMED y PREDIMED-Plus.

3.2.2. Objetivos específicos

- Examinar la asociación entre la cantidad de aceite de oliva total y sus variedades (AOVE y aceite de oliva común) con el riesgo de fracturas relacionadas con la osteoporosis en una población Mediterránea de edad avanzada con elevado riesgo cardiovascular.
- Explorar la asociación entre el IGD y la CGD con el riesgo de fracturas de origen osteoporótico en una población Mediterránea de edad avanzada con elevado riesgo cardiovascular.
- Determinar si hay alguna asociación entre el PRAL y el NEAP con las fracturas osteoporóticas en una población Mediterránea de edad avanzada con elevado riesgo cardiovascular.
- Evaluar si el PRAL y el NEAP se relacionan con la DMO en otro análisis independiente realizado en una población mediterránea senior con sobrepeso/obesidad y síndrome metabólico.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

- Analizar la asociación entre el score M-DIS y la DMO en una población mediterránea senior con sobrepeso/obesidad y síndrome metabólico.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

4.MATERIAL Y MÉTODOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

MATERIAL Y MÉTODOS

Esta Tesis Doctoral se ha realizado dentro del contexto de dos grandes cohortes en población española: el estudio PREDIMED y el estudio PREDIMED-Plus. A lo largo de esta sección se describirán el diseño de los estudios, así como las características de los participantes, las intervenciones realizadas, los cuestionarios utilizados en la obtención de los datos y las principales variables utilizadas para esta Tesis.

4.1. Estudio PREDIMED (PREvención con DIeta MEDiterránea)

4.1.1. Diseño y objetivo principal del estudio

El estudio PREDIMED es un ensayo clínico multicéntrico aleatorizado en paralelo con dos grupos experimentales y un grupo control realizado en once centros de reclutamiento en España.

El principal objetivo del estudio fue evaluar el efecto de la dieta Mediterránea (DietMed) en la prevención primaria de enfermedades cardiovasculares (ECV) considerando como variable principal la combinación de infarto de miocardio, accidente vascular cerebral y muerte cardiovascular por cualquiera de estas causas.

Los objetivos secundarios del estudio asumían valorar los efectos de los cambios nutricionales y dietéticos dentro de un contexto de dieta Mediterránea en la incidencia de otros eventos clínicos de interés como la muerte por cualquier tipo de causa, el infarto de miocardio, el desarrollo de la diabetes, la demencia y otros tipos de enfermedades neurodegenerativas o de diferentes tipos de cáncer y otros eventos o

Calidad de la alimentación y salud ósea

factores de riesgo relacionados con estas patologías como las alteraciones en la presión arterial, el perfil lipídico, la glucosa en ayunas, los biomarcadores de inflamación y otros factores emergentes de riesgo cardiovascular.

Tanto el protocolo como el diseño, los objetivos y la metodología del estudio PREDIMED¹⁷⁶ ya se han descrito previamente y más información sobre el mismo se puede encontrar en su página web: <http://www.predimed.es>. El protocolo se redactó teniendo en consideración la Declaración de Helsinki y fue aprobado por los comités éticos al que están adheridos cada uno de los centros reclutadores. Así mismo, el estudio se registró en el Registro “*International Standard Randomised Controlled Trial Number*” (ISRCTN) con el número ISRCTN3573963, siendo accesible desde la página web <http://www.isrctn.com>.

4.1.2. Población de estudio

Los participantes del estudio eran mujeres de 60 – 80 años y hombres de 55 – 80 años sin ECV previa reclutados entre octubre del 2003 y julio del 2009 en Centros de Atención Primaria (CAP) asociados a los diferentes centros reclutadores de España. Para poder participar en el estudio, cada participante debía presentar al menos una de las dos siguientes condiciones:

- Diabetes tipo 2 diagnosticada.
- Presentar tres o más de los siguientes factores de riesgo metabólico:

MATERIAL Y MÉTODOS

- Ser fumador activo (> 1 cigarrillo o equivalente al día durante el último mes).
- Presentar hipertensión (presión arterial sistólica ≥ 140 mm Hg y/o presión arterial diastólica ≥ 90 mm Hg y/o estar medicado con antihipertensivos).
- Presentar niveles de colesterol LDL ≥ 160 mg/dl y/o estar medicado para ello.
- Presentar niveles de colesterol HDL ≤ 50 mg/dl en el caso de las mujeres o ≤ 40 mg/dl en el caso de los hombres.
- Tener un IMC ≥ 25 kg/m².
- Tener antecedentes familiares de enfermedad coronaria precoz (definida como infarto de miocardio, angina de pecho o muerte súbita antes de los 65 años en mujeres y de los 55 años en hombres familiares de primer grado).

Los principales criterios de exclusión del estudio fueron:

- Tener un IMC ≥ 40 kg/m².
- Tener antecedentes previos documentados de ECV (incluyendo enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular o enfermedad arterial periférica).
- Condiciones médicas crónicas severas que interfieran con la participación en un estudio de intervención nutricional como la presencia de una enfermedad digestiva grave, alergia a los frutos secos o el aceite de oliva, una enfermedad endocrina distinta de la diabetes, una alteración psiquiátrica grave, una enfermedad maligna avanzada o similares.

Calidad de la alimentación y salud ósea

- Cualquier otra condición médica que limite la supervivencia del participante a menos de cinco años.
- Tener una adicción al alcohol o algún tipo de droga.
- Imposibilidad de seguir la intervención por motivos religiosos o problemas en la deglución y el masticado de alimentos.

4.1.3. Aleatorización e intervención del estudio

Del total de 8713 candidatos, se aleatorizaron un total de 7447 participantes en una tasa de 1:1:1 a uno de los tres grupos de intervención: 1) DietMed suplementada con aceite de oliva virgen extra (AOVE) (DietMed + AOVE); 2) DietMed suplementada con frutos secos (DietMed + FS); 3) dieta baja en grasas según las recomendaciones de la *American Heart Association* (Grupo control).

Los participantes que fueron incluidos en alguno de los grupos de DietMed, recibieron una educación nutricional intensiva basada en recomendaciones sobre DietMed y con la utilización de un cuestionario de 14 puntos de adherencia a la DietMed. Ambos grupos se les permitió la ingesta de grasas dietéticas ad libitum siempre y cuando fueran procedentes del aceite de oliva, los frutos secos y del pescado. Además, el grupo DietMed + AOVE recibió un litro de AOVE por semana mientras que al grupo DietMed + FS se le proporcionó una mezcla de frutos secos (nueces, almendras y avellanas) para consumir 30 g al día. Los participantes del Grupo control únicamente recibió recomendaciones para seguir una dieta baja en grasa según las recomendaciones del *“Third Report of the National Cholesterol Education*

MATERIAL Y MÉTODOS

Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III)”, centradas principalmente en la disminución de la ingesta de grasa total, independientemente de su origen.

La educación nutricional de los tres grupos fue realizada por los dietistas/nutricionistas del PREDIMED en sesiones grupales de refuerzo dentro de cada grupo de intervención en las que se incidía en las recomendaciones específicas para cada grupo de intervención y proporcionaban material escrito, como planes dietéticos semanales y ejemplos de recetas.

4.1.4. Evaluación antropométrica y cuestionarios generales

En la visita basal y, posteriormente, en visitas de seguimiento anuales mientras duró el estudio, los participantes eran citados a sus respectivos CAP para la recogida de datos sobre el estilo de vida, las condiciones médicas actuales del momento y la medicación en uso por el equipo de dietistas/nutricionistas y enfermería. De la misma manera, también se recogieron muestras biológicas.

Para la medición de datos antropométricos y la determinación de la presión arterial se procedió de la siguiente manera:

- El peso (en kg) y la altura (en m) se midió con los participantes en ropa interior y descalzos utilizando básculas calibradas (con una precisión de 100 g) y tallímetros calibrados. El IMC (en kg/m^2) se calculó utilizando estas dos medidas.

Calidad de la alimentación y salud ósea

- El perímetro de la cintura se midió en el punto intermedio ente la última costilla y la cresta ilíaca utilizando cintas métricas rígidas.
- La presión arterial se determinó utilizando tensiómetros validados (Omron HEM705CP; Hoofddorp, Holanda) por triplicado en intervalos de cinco minutos entre medida y se registró el valor medio de las tres medidas.

Los datos relacionados con la condición médica del participante y su medicación se recogieron en un Cuaderno de Recogida de Datos en el que también se recogieron sus datos socio-demográficos y el hábito de fumar. La actividad física se evaluó con la versión validada para población española del cuestionario "*The Minnesota Leisure-Time Physical Activity*"¹⁷⁷.

4.1.5. Muestras biológicas y determinaciones bioquímicas

Al inicio del estudio y en los años de seguimiento 1, 3, 5 y 7 o en la visita final del seguimiento, el equipo de enfermería recogió y procesó muestras sanguíneas en ayunas y muestras de orina. También se realizó un hemograma completo, las mediciones bioquímicas de rutina y un análisis de orina en el CAP de forma anual.

Con las muestras de plasma y suero, se realizaron determinaciones bioquímicas básicas como la glucosa en ayunas, las concentraciones séricas de triglicéridos, colesterol total, colesterol HDL, colesterol LDL, ácido úrico, creatinina y urea en sangre. Con las muestras de orina se obtuvieron las concentraciones de albúmina y creatinina urinaria.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se calculó la tasa de filtración glomerular (eGFR) en mL/(min x 1.73 m²) utilizando las medidas de creatinina en suero utilizando la ecuación CKD-EPI (*Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*)¹⁷⁸.

4.1.6. Evaluación nutricional y dietética

La ingesta dietética y nutricional se estimó a partir de cuestionarios validados de frecuencia de consumo de alimentos (CFC) con 137 alimentos¹⁷⁹. Estos datos eran recogidos por el equipo de nutricionistas entrenados para tal fin en una entrevista cara a cara con cada uno de los participantes desde la visita basal hasta el final de la intervención, de forma anual. La ingesta diaria de cada alimento se calculó transformando su frecuencia de consumo reportada a ingesta por día de cada uno de ellos y multiplicándolo posteriormente por el peso de la porción de cada alimento. El cálculo de consumo energético y de macronutrientes y micronutrientes se estimó multiplicando cada ítem alimentario por su composición nutricional de acuerdo con las Tablas de Composición Nutricional de Alimentos españolas^{180,181}. Finalmente, para el cálculo y valoración del grado de adherencia a la DietMed se utilizó un cuestionario validado de 14 ítems¹⁸².

Para la realización de la siguiente Tesis, se calcularon diferentes índices nutricionales. A continuación, se especifica cómo se calculó cada una de ellos:

Calidad de la alimentación y salud ósea

4.1.6.1. Índice Glucémico (IG) y Carga Glucémica (CG)

El IG de cada alimento se obtuvo de unas tablas de valores de IG y CG internacionales que utilizan la glucosa como escala de referencia¹⁸³. Para aquellos alimentos que no estaban disponibles en estas tablas, se utilizó la media de otros alimentos del CFC de carácter similar que si estaban presentes en estas tablas.

La CG total (CGD) de cada comida se determinó multiplicando el total de hidratos de carbono específicos de una ración del alimento, el número total de porciones consumidas al día y su IG específico. Así mismo, el IG total (IGD) se calculó dividiendo la CGD por la ingesta total de carbohidratos disponibles y multiplicando el resultado por 100^{143,150}. La reproducibilidad y la validez relativa de estos valores se evaluó utilizando correlaciones intraclase siendo 0.321 y 0.244 con un $P < 0.001$ para el IGD, respectivamente, y 0.846 y 0.525 con un $P < 0.001$ para la CGD, respectivamente. Aunque el coeficiente de la validez relativa obtenida para el IGD fue bajo, los resultados son similares a los que se observaron en otros estudios¹⁵⁰.

4.1.6.2. Potencial carga ácida renal (PRAL) y Producción neta de ácido endógeno (NEAP)

Tanto el PRAL como el NEAP son modelos teóricos basados en la ingesta de determinados nutrientes. El PRAL es un algoritmo definido por Remer y Manz¹⁵¹ para predecir la excreción ácida neta renal considerando el contenido de proteínas y determinados minerales de los alimentos, sus tasas de absorción intestinal, el metabolismo del

MATERIAL Y MÉTODOS

azufre y la excreción urinaria de ácidos orgánicos. Los valores negativos del PRAL son un indicativo de un desequilibrio dietético que tiende a producir sales alcalinas, mientras que valores positivos indicarían un desequilibrio en la dieta con tendencia a producir una mayor carga ácida.

$$\begin{aligned} PRAL \left(\frac{mEq}{día} \right) = & (0.49 \times g \text{ proteína al día}) \\ & + (0.037 \times mg \text{ fósforo al día}) \\ & - (0.021 \times mg \text{ potasio al día}) \\ & - (0.013 \times mg \text{ calcio al día}) \\ & - (0.026 \times mg \text{ magnesio al día}) \end{aligned}$$

Por otro lado, el NEAP dietético es un algoritmo desarrollado por Frassetto y colaboradores¹⁵² que supone un reflejo de la cantidad total de ácido excretada a nivel renal y que tiende a ser mayor cuando la concentración de aniones excede a la de cationes durante la filtración renal¹⁸⁴. A diferencia de PRAL, los valores del NEAP son siempre positivos. Valores más pequeños se relacionarían con dietas con tendencia alcalina mientras que valores más elevados se asocian con dietas con tendencia más ácida.

$$NEAP \left(\frac{mEq}{día} \right) = 54.5 \times \left(\frac{g \text{ proteína al día}}{mEq \text{ potasio al día}} \right) - 10.2$$

Para su cálculo, se utilizaron los valores nutricionales individuales de cada individuo obtenidos a partir de CFC.

4.1.7. Evaluación de las fracturas osteoporóticas

La categorización de los eventos de fractura óseas en fracturas osteoporóticas se realizó siguiendo los criterios definidos por Warriner y colaboradores¹⁰². Estos criterios describen y asignan una puntuación a diferentes grupos de fracturas según la edad, el sexo y la raza, siendo las puntuaciones más altas (en una escala de 0 al 9) las que representan mayor probabilidad de ser debidas a la osteoporosis. Para la realización de los análisis de esta Tesis, se consideró como fractura osteoporótica aquellas que tenían una puntuación superior a 5 según esta escala. Esta selección se realizó considerando publicaciones previas en las que la selección y clasificación de las fracturas como consecuencia de la osteoporosis iban más allá de la clasificación clásica (que únicamente considera las fracturas producidas en las vértebras, la cadera y la muñeca o el antebrazo)^{102,103,105}.

Por todo ello, en los análisis de esta Tesis no se han considerado como fracturas osteoporóticas (y como consecuencia, no se han utilizado como evento en los análisis) aquellas fracturas con los siguientes códigos según *“The International Classification of Diseases, Clinical Modification”* (ICD-CM) y localizaciones: clavícula (ICD-CM: 810.1 – 810.3), falanges (ICD-CM: 816.1 – 816.13 y 826.0 – 826.1), tarso y metatarso (ICD-CM: 825.0 – 825.39), escápula (ICD-CM: 811.0 – 811.19) y cráneo o huesos de la cara (ICD-CM: 800.00 – 804.99).

Los casos incidentes de fracturas derivadas de la osteoporosis se realizaron de forma anual por personal cualificado que revisó de forma sistemática y estandarizada los historiales médicos de los participantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Posteriormente, estos casos fueron confirmados por otro investigador independiente.

4.2. Estudio PREDIMED-Plus

4.2.1. Diseño y objetivo principal del estudio

El estudio PREDIMED Plus es un ensayo clínico multicéntrico aleatorizado en paralelo con dos grupos experimentales y, que a diferencia del estudio PREDIMED, aún se está realizando en veintitrés centros de reclutamiento en España.

Su principal objetivo es evaluar el efecto de una intervención intensiva sobre el estilo de vida basada en una DietMed hipocalórica, actividad física y terapia conductual sobre ECV y el mantenimiento de la pérdida de peso a largo plazo en comparación con un grupo control asignado a un consejo no intensivo sobre dieta sana (también DietMed), pero sin restricción calórica y cuidados usuales por su médico.

De forma similar al estudio PREDIMED, entre los objetivos secundarios del estudio PREDIMED-Plus se plantea valorar si el seguimiento de la intervención produce un efecto positivo sobre el perímetro de la cintura y otros eventos clínicos de interés asociados al sobrepeso y la obesidad como los síndromes coronarios agudos, la insuficiencia cardiaca, la fibrilación auricular, la diabetes mellitus tipo 2 (DT2) y sus complicaciones, diferentes tipos de cáncer, enfermedades neurodegenerativas o el desarrollo de la osteoporosis, entre otros eventos.

El protocolo del estudio, su diseño, los objetivos y la metodología del estudio PREDIMED-Plus¹⁸⁵ ya se han publicado previamente y se puede encontrar más información sobre el mismo en su página web: <http://predimedplus.com>. El protocolo se redactó considerando la

MATERIAL Y MÉTODOS

Declaración de Helsinki y fue aprobado por el comité ético al que están adheridos cada uno de los centros reclutadores. Del mismo modo, el estudio está registrado en el Registro “*International Standard Randomised Controlled Trial Number*” (ISRCTN) con el número ISRCTN89898870, siendo accesible desde la página web <http://www.isrctn.com>.

4.2.2. Población de estudio

Los participantes del estudio son mujeres de 60 – 75 años y hombres de 55 – 75 años, con sobrepeso u obesidad (IMC 27 – 40 kg/m²) que presentaban al menos tres componentes de síndrome metabólico según los criterios de la declaración conjunto de la “*International Diabetes Federation, National Heart, Lung and Blood Institute*” y el “*American Heart Association*”¹⁸⁶:

- Niveles bajos de colesterol HDL o tratamiento para niveles bajos de colesterol HDL (< 50 mg/dL o < 1.3 mmol/L en el caso de mujeres; < 40 mg/dL o < 1.03 mmol/L en el caso de los hombres).
- Hipertrigliciremia (≥ 150 mg/dL o ≥ 1.7 mmol/L) o medicación para el tratamiento de triglicéridos elevados.
- Presión arterial elevada o tratamiento para la hipertensión (presión arterial sistólica ≥ 130 mmHg y/o presión arterial diastólica ≥ 85 mmHg).
- Niveles elevados de glucosa plasmática (≥ 100 mg/dL o ≥ 5.5 mmol/L) o tratamiento para la hiperglucemia.
- Perímetro de la cintura superior a ≥ 88 cm en las mujeres y ≥ 102 cm en los hombres.

Calidad de la alimentación y salud ósea

Los principales criterios de exclusión del estudio fueron:

- Tener antecedentes previos documentados de ECV (incluyendo enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular o enfermedad arterial periférica).
- Incapacidad para proporcionar un consentimiento informado por escrito o para comunicarse con el staff del estudio.
- Incapacidad para seguir las recomendaciones dietéticas o realizar la actividad física de la intervención.
- Tener una adicción al alcohol o algún tipo de droga en los últimos 6 meses.
- Presentar alguna alergia a cualquiera de los alimentos de la DietMed.
- Presentar alguna patología severa como cirrosis, fallo hepático, inmunodeficiencia, VIH positivo o trastornos psiquiátricos severos.

4.2.3. Aleatorización e intervención del estudio

El estudio PREDIMED-Plus consta de 6874 participantes que fueron aleatorizados a uno de los dos grupos (grupo de intervención intensiva o grupo control) por cada uno de los centros de reclutamiento utilizando un sistema de números aleatorios generado por computadora controlado de forma centralizada y estratificado por centro, sexo y grupo de edad (< 65 años, 65 – 70 años, > 70 años). Las parejas convivientes en el mismo hogar fueron aleatorizadas juntas.

MATERIAL Y MÉTODOS

En el grupo de intervención intensiva, los participantes recibieron recomendaciones de DietMed restringida en energía complementada con recomendaciones para la realización de actividad física y terapia conductual. El objetivo propuesto para este grupo era conseguir en los primeros 6 meses de estudio una reducción de peso de al menos una media del 8% del peso inicial y una disminución del perímetro de la cintura de una media de al menos el 5% del perímetro inicial y, posteriormente, mantenerlas durante la duración del estudio.

El consejo nutricional, realizado por los dietistas/nutricionistas del estudio en sesiones individuales y grupales, se basaron en mejorar la calidad de la dieta con los alimentos típicos de la DietMed, es decir, el AOVE, los frutos secos, las frutas y verduras de temporada, los cereales integrales, las legumbres, el pescado y la carne magra, mientras se reducía el consumo de alimentos poco saludables como las grasas animales, las bebidas azucaradas, los alimentos procesados y los cereales refinados.

Respecto a la actividad física, se animó a los participantes la realización de actividades aeróbicas adaptadas a sus preferencias con la finalidad de crear un hábito de al menos dos veces por semana que supusiera una mejora sustancial en su capacidad de resistencia, equilibrio y flexibilidad.

Todo esto fue apoyado por una terapia conductual con herramientas prácticas y estrategias cuya finalidad era facilitar la adherencia a largo plazo del seguimiento de las recomendaciones dietéticas y de actividad física.

Calidad de la alimentación y salud ósea

El grupo control, sin embargo, recibió las mismas recomendaciones de forma no intensiva y sin restricciones energéticas para la realización de la DietMed (según se hizo en el estudio PREDIMED), poniendo un mayor énfasis en la mejora de la calidad de la dieta. Tampoco recibieron asesoramiento específico para la realización de actividad física o para la pérdida de peso.

4.2.4. Evaluación antropométrica y cuestionarios generales

En la visita de selección, en la basal, a los seis meses y, posteriormente, en visitas de seguimiento anual, los participantes fueron citados para la recogida de datos sobre el estilo de vida, las condiciones médicas actuales y la medicación en uso, así como la recogida de muestras biológicas, por parte del equipo de dietistas/nutricionistas y enfermería de cada centro.

La medición de datos antropométricos y la presión arterial se procedió de la misma manera descrita previamente para el estudio PREDIMED. Los datos relacionados con la condición médica del participante y su medicación se recogieron en un Cuaderno de Recogida de Datos en el que también se recogieron sus datos socio-demográficos y el hábito de fumar. La actividad física se evaluó con la versión corta del cuestionario validado para población española “*The Minnesota Leisure-Time Physical Activity*”¹⁷⁷ y comportamiento sedentario se evaluó con el cuestionario “*The Nurses’ Health Study sedentary lifestyle questionnaire*” validado para población española¹⁸⁷.

MATERIAL Y MÉTODOS

4.2.5. Muestras biológicas y determinaciones bioquímicas

Se recogieron muestras sanguíneas en ayunas para la realización de análisis bioquímicos rutinarios que incluían la determinación de la glucosa en ayunas y perfil lipídico (colesterol total, triglicéridos, colesterol HDL y colesterol LDL), entre otras.

4.2.6. Evaluación nutricional y dietética

En la evaluación nutricional del estudio PREDIMED-Plus se utiliza un CFC validado de 143 alimentos¹⁷⁹. El cálculo de consumo energético y de macronutrientes y micronutrientes se estimó multiplicando cada ítem alimentario por su composición nutricional de acuerdo con las Tablas de Composición Nutricional de Alimentos españolas^{180,181}. Para el cálculo y valoración del grado de adherencia a la DietMed en el grupo control se utilizó un cuestionario validado de 14 ítems¹⁸² ya utilizado previamente en el estudio PREDIMED y un cuestionario de 17 ítems de adherencia a la DietMed con restricción energética para el grupo de intervención.

En la realización de esta Tesis, se calcularon diferentes puntuaciones nutricionales dentro del contexto de este estudio y cuyo cálculo se especifica a continuación:

Calidad de la alimentación y salud ósea

4.2.6.1. Potencial carga ácida renal (PRAL) y Producción neta de ácido endógeno (NEAP)

Tanto el PRAL como el NEAP son los mismos modelos teóricos utilizados en los análisis del estudio PREDIMED previamente descritos. El PRAL es un algoritmo definido por Remer y Manz¹⁵¹ para predecir la excreción ácida neta renal considerando el contenido de proteínas y determinados minerales de los alimentos, sus tasas de absorción intestinal, el metabolismo del azufre y la excreción urinaria de ácidos orgánicos mientras que el NEAP dietético es un algoritmo desarrollado por Frassetto y colaboradores¹⁵² que supone un reflejo de la cantidad total de ácido excretada a nivel renal y que tiende a ser mayor cuando la concentración de aniones excede a la de cationes durante la filtración renal¹⁸⁴. Para su cálculo, se utilizaron los valores nutricionales individuales de cada individuo obtenidos a partir de CFC.

4.2.6.2. Índice de inflamación de la dieta modificado (M-DIS)

Ya se ha descrito y publicado previamente el método utilizado para calcular el M-DIS¹⁶³. De forma resumida, el M-DIS es una puntuación calculada a partir de artículos publicados anteriormente que evaluaron el efecto de un conjunto de 45 alimentos, nutrientes (incluyendo macro y micronutrientes) y flavonoides sobre varios biomarcadores inflamatorios. Cada parámetro recibió una puntuación según su influencia sobre estos biomarcadores siendo +1 si el parámetro aumentaba el biomarcador, 0 si no tenía ningún efecto y -1 si lo disminuía. La puntuación M-DIS de cada participante es la suma de

MATERIAL Y MÉTODOS

todos sus componentes en relación con una base de datos global que permite clasificar la dieta del participante como antiinflamatoria (cuando los valores son negativos) o proinflamatoria (cuando los valores son positivos). De forma similar a estudios previos¹⁶⁶, se utilizaron los siguientes 32 nutrientes/alimentos en el cálculo de la puntuación: cafeína, alcohol, vitamina B1, vitamina B2, vitamina B3, vitamina B6, vitamina B12, vitamina A, vitamina C, vitamina E, vitamina D, hidratos de carbono, proteína, colesterol, ácidos grasos totales, ácidos grasos monoinsaturados, ácidos grasos poliinsaturados, ácidos grasos saturados, ácidos grasos trans, ingesta energética, fibra, ácido fólico, ajo, hierro, magnesio, selenio, zinc, ácidos grasos omega-3, ácidos grasos omega-6, beta-carotenos, cebolla y té. Todos estos parámetros fueron calculados a partir del CFC de cada participante.

4.2.7. Evaluación de la densidad ósea

La densidad mineral ósea (DMO) (g/cm^2) en las áreas del fémur (TF), el cuello del fémur, el trocánter (TR), la diáfisis femoral (FD) y las vértebras lumbares (LS, desde L1 hasta L4) fue medida por técnicos de radiología cualificados que utilizaron escáneres DXA (Lunar iDXA y DXA Lunar Prodigy Primo; GE Healthcare). Las mediciones se realizaron acostando el participante sobre el escáner en el lado no dominante.

En el cálculo de las puntuaciones T del TF, FN, TR y LS se utilizaron los valores de referencia para la población adulta española incluidos en el software de los escáneres DXA. Para su estimación, además de la

Calidad de la alimentación y salud ósea

población de referencia, también se consideró el sexo, la edad, el peso y la altura de cada participante.

Partiendo de las puntuaciones T y considerando los criterios establecidos por la OMS², se creó una variable dicotómica de estado de DMO “pobre”. Cuando las puntuaciones Tera igual o inferior a -1, se consideró que el participante tenía un valor bajo de DMO (valor 1 en la variable) y cuando la puntuación era superior a -1, se consideró que como un estado de DMO normal (valor 0 en la variable).

MATERIAL Y MÉTODOS

4.3. Población de estudio y selección específica de cada análisis

La presente Tesis doctoral incluye participantes del estudio PREDIMED y del estudio PREDIMED-Plus. A continuación, se detalla la selección de la muestra de en cada uno de los estudios.

Publicaciones dentro del contexto del estudio PREDIMED

Publicación 1: *Extra virgin olive oil consumption reduces the risk of osteoporotic fractures in the PREDIMED trial.*

Publicación 2: *Higher dietary glycemic index and glycemic load values increase the risk of osteoporotic fracture in the PREvención con DIeta MEDiterránea (PREDIMED)-Reus trial.*

Publicación 3: *U-Shaped Association between Dietary Acid Load and Risk of Osteoporotic Fractures in 2 Populations at High Cardiovascular Risk.*

Del total de 7447 participantes incluidos en el estudio PREDIMED, únicamente se han considerado los participantes del centro de reclutamiento de Reus (n = 870) al ser los únicos de los que se disponía los eventos de fractura recogidos (ya fueran de origen osteoporótico o no). El periodo medio de intervención de estos participantes fue de 5.2 años y el periodo medio de seguimiento de 8.9 años.

Publicaciones dentro del contexto del estudio PREDIMED-Plus

Publicación 3: *U-Shaped Association between Dietary Acid Load and Risk of Osteoporotic Fractures in 2 Populations at High Cardiovascular Risk.*

Calidad de la alimentación y salud ósea

Publicación 4: *Association between dietary inflammatory index and bone mineral density in a senior Mediterranean population: a cross-sectional analysis in the PREDIMED-Plus.*

Para el propósito de estos análisis transversales, se incluyeron 1134 participantes pertenecientes a la cohorte del PREDIMED-Plus y que fueron reclutados en 4 centros de los 23 que componen el estudio que evaluaron la DMO: Reus (UNH-URV), Mallorca (Hospital Son Espases/IDISBA), Pamplona (IDISNA) y León (IBIOMED). La selección de sujetos en este sub-proyecto se realizó al azar tras la inclusión de los participantes en el estudio principal en una proporción 1:1 entre el grupo control y el grupo de intervención en cada uno de los centros.

MATERIAL Y MÉTODOS

4.4. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos utilizados se pueden encontrar detalladamente descritos en cada una de las publicaciones. A continuación, se presenta un breve resumen de los mismos.

Las características descriptivas de los participantes en la visita basal entre terciles se muestran como medias \pm desviaciones estándar (SDs) para las variables que eran continuas o como números y porcentajes (%) para las variables que eran categóricas. Las diferencias entre grupos se evaluaron con el test de Análisis de varianza (ANOVA) para las primeras y el test χ^2 para las segundas.

En las publicaciones de esta Tesis se realizaron análisis transversales y longitudinales. Los análisis transversales se hicieron en la Publicación 3 y en la Publicación 4. En ambas publicaciones se categorizaron a los participantes en terciles de la variable predictora (PRAL y NEAP en la publicación 3, M-DIS en la publicación 4) y se realizaron modelos de ANOVA (modelos crudos) y modelos ANCOVA (modelos ajustados) para evaluar las asociaciones de estas variables con la variable respuesta (DMO en diferentes ubicaciones). También se utilizó el test de Tukey para hacer comparaciones entre los terciles. El cumplimiento de las asunciones de estos modelos se chequeó con métodos gráficos y cuantitativos.

Adicionalmente, en la Publicación 4 se utilizaron modelos crudos y ajustados de regresiones lineales y logísticas para valorar la asociación entre los terciles de M-DIS y la DMO (en el caso de las regresiones lineales) o un estado de DMO “pobre” (variable categórica) (regresión

Calidad de la alimentación y salud ósea

logística). Los resultados se presentaron como beta coeficientes e intervalos de confianza al 95% [β (95% CI)] y odds ratio e intervalos de confianza al 95% [OR (95% CI)].

Los análisis longitudinales se realizaron en la Publicación 1, en la Publicación 2 y en la Publicación 3. En ambos casos se evaluó la asociación entre el riesgo de producirse una fractura de origen osteoporótico y las puntuaciones de IG, CG, PRAL y NEAP. Para ello, se utilizaron modelos de Cox de riesgo proporcional con varianza robusta y considerando correlaciones intra-grupo. Los resultados se presentaron como tasas de riesgo e intervalos de confianza al 95% [HR (95% CI)]. El tiempo de seguimiento se calculó como el tiempo transcurrido entre la visita basal y la fecha en la que se produjo el evento o falleció la persona o se perdió el seguimiento o finalizó el estudio, lo que ocurriera primero.

Todos los test estadísticos fueron bilaterales y se fijó el nivel de significancia en $P < 0.05$. Los análisis se realizaron con los softwares estadísticos SPSS 21.0 para Windows (IMD, Chicago, IL, EEUU), STATA 14 (StataCorp, College Station, TX, EEUU) y R (v 3.3.2 y v 3.6.1 para Windows) (R Development Core Team. www.r-project.org).

5.RESULTADOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

RESULTADOS

5.1. **Publicación 1**

Extra virgin olive oil consumption reduces the risk of osteoporotic fractures in the PREDIMED trial.

- ❖ Estado de publicación: Publicado.
- ❖ Revista: Clinical Nutrition.
- ❖ Categoría: Nutrición y Dietética.
- ❖ Posición por rango: 6/87 – D1
- ❖ Factor de impacto: 6.402

Resumen

Introducción

La incidencia de las fracturas osteoporóticas es menor en los países de la cuenca mediterránea. El aceite de oliva virgen, un alimento clave de la dieta Mediterránea con efectos beneficiosos reconocidos en la salud cardiovascular y el metabolismo, puede disminuir el riesgo de fracturas osteoporóticas.

Objetivos

El objetivo de este estudio fue explorar el efecto de un consumo crónico de aceite de oliva total y sus variedades en el riesgo de fracturas por fragilidad en una población de mediana edad y anciana.

Métodos

Incluimos todos los participantes (n = 870) reclutados en el centro de Reus (España) del estudio PREDIMED. Los individuos, de edad entre 55 – 80 años y elevado riesgo cardiovascular, fueron aleatorizados a uno de los tres siguientes grupos: dieta mediterránea suplementada con aceite de oliva virgen extra, dieta mediterránea suplementada con frutos secos o dieta baja en grasas. El presente análisis fue un estudio de cohorte observacional anidado en el estudio. Se utilizó un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos validado para evaluar los hábitos dietéticos y el consumo de aceite de oliva. La información de las fracturas osteoporóticas se obtuvo a partir de una revisión sistemática de las historias clínicas. La asociación entre las medidas repetidas anualmente del consumo de aceite de oliva y el riesgo de fractura se realizó con modelos de regresión de Cox de riesgos proporcionales.

Resultados

Documentamos 114 casos incidentes de fracturas relacionadas con la osteoporosis durante una media de seguimiento de 8.9 años. La asignación a un grupo u otro no tuvo ningún efecto sobre el riesgo de fractura. Los participantes en el tercil más alto de consumo de aceite de oliva extra virgen tenían un 51% menos de riesgo de fracturas (HR: 0.49; 95% IC: 0.29 - 0.81. *P* para la tendencia = 0.004) en comparación con

RESULTADOS

aquellos en el tercil más bajo después del ajustar por posibles factores de confusión. El consumo total y común de aceite de oliva no se asoció con un mayor riesgo de fractura.

Conclusiones

Un mayor consumo de aceite de oliva virgen extra se asocia con un menor riesgo de fractura por fragilidad en una población de mediana edad y anciana con elevado riesgo cardiovascular.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán



Contents lists available at ScienceDirect

Clinical Nutrition

journal homepage: <http://www.elsevier.com/locate/clnu>



Original article

Extra virgin olive oil consumption reduces the risk of osteoporotic fractures in the PREDIMED trial

J.F. García-Gavilán^a, M. Bulló^{a, b, *}, S. Canudas^a, M.A. Martínez-González^{b, c},
R. Estruch^{b, d}, S. Giardina^a, M. Fitó^{b, e}, D. Corella^{a, f}, E. Ros^{b, g}, J. Salas-Salvadó^{a, b, **}

^a Human Nutrition Unit, Biochemistry and Biotechnology Department, Faculty of Medicine and Health Sciences, University Hospital of Sant Joan de Reus, IISPV, Universitat Rovira i Virgili, C/Sant Llorenç 21, 43201, Reus, Spain

^b CIBERObn Physiopathology of Obesity and Nutrition, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain

^c University of Navarra, Pamplona, Spain

^d Department of Internal Medicine, August Pi i Sunyer Institute of Biomedical Research (IDIBAPS), Hospital Clinic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

^e Cardiovascular Risk and Nutrition (Regicor Study Group), Hospital del Mar Medical Research Institute, Barcelona Biomedical Research Park, Barcelona, Spain

^f Department of Preventive Medicine, University of Valencia, Valencia, Spain

^g Lipid Clinic, Endocrinology and Nutrition Service, IDIBAPS, Hospital Clinic, University of Barcelona, Barcelona, Spain

ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 September 2016

Accepted 31 December 2016

Keywords:

Olive oil
Osteoporotic fractures
Prevention
Aging

SUMMARY

Background & aims: The incidence of osteoporotic fractures is lower in countries in the Mediterranean basin. Virgin olive oil, a key component of the Mediterranean Diet (MDiet), with recognised beneficial effects on metabolism and cardiovascular health, may decrease the risk of osteoporotic fractures. The aim to this study was to explore the effect of chronic consumption of total olive oil and its varieties on the risk of osteoporosis-related fractures in a middle-aged and elderly Mediterranean population.

Methods: We included all participants (n = 870) recruited in the Reus (Spain) centre of the PREVENCIÓN CON DIETA MEDITERRÁNEA (PREDIMED) trial. Individuals, aged 55–80 years at high cardiovascular risk, were randomized to a MedDiet supplemented with extra-virgin olive oil, a MedDiet supplemented with nuts, or a low-fat diet. The present analysis was an observational cohort study nested in the trial. A validated food frequency questionnaire was used to assess dietary habits and olive oil consumption. Information on total osteoporotic fractures was obtained from a systematic review of medical records. The association between yearly repeated measurements of olive oil consumption and fracture risk was assessed by multivariate Cox proportional hazards.

Results: We documented 114 incident cases of osteoporosis-related fractures during a median follow-up of 8.9 years. Treatment allocation had no effect on fracture risk. Participants in the highest tertile of extra-virgin olive oil consumption had a 51% lower risk of fractures (HR:0.49; 95% CI:0.29–0.81. *P* for trend = 0.004) compared to those in the lowest tertile after adjusting for potential confounders. Total and common olive oil consumption was not associated with fracture risk.

Conclusions: Higher consumption of extra-virgin olive oil is associated with a lower risk of osteoporosis-related fractures in middle-aged and elderly Mediterranean population at high cardiovascular risk.

© 2017 Elsevier Ltd and European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. All rights reserved.

Abbreviations: MedDiet, Mediterranean diet; BMD, bone mineral density; MUFA, monounsaturated fatty acids; PUFA, polyunsaturated fatty acids; EVOO, extra virgin olive oil; FFQ, food frequency questionnaire; BMI, body mass index.

* Corresponding author. Human Nutrition Unit, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitat Rovira i Virgili, C/Sant Llorenç 21, 43201, Reus, Spain.

** Corresponding author. Human Nutrition Unit, Faculty of Medicine and Health Sciences, Universitat Rovira i Virgili, C/Sant Llorenç 21, 43201, Reus, Spain.

E-mail addresses: monica.bullo@urv.cat (M. Bulló), jordi.salas@urv.cat (J. Salas-Salvadó).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2016.12.030>

0261-5614/© 2017 Elsevier Ltd and European Society for Clinical Nutrition and Metabolism. All rights reserved.

1. Introduction

Osteoporosis is an age-related progressive bone condition characterised by bone mass loss and microarchitecture degradation that increase the risk of potentially serious fractures. It is a major burden for health care systems as osteoporotic fractures and falls by osteoporotic fractures are associated with a high dependence, morbidity and mortality [1–3]. Osteoporosis is estimated to affect 27.5 million people (22 million women and 5.5 million men) aged

between 50 and 84 years worldwide and its prevalence is expected to rise to 33.9 million by 2025 [4].

Bone remodeling balance is affected by several factors, such as age, heredity or endocrine diseases [3]. Lifestyle factors, such as smoking, physical activity and diet also affect bone health [5]. Low calcium intake and low exposure to sunlight leading to reduced synthesis of vitamin D have also been identified as common risk factors because of their role in bone mass health [1,6]. In addition, other specific nutrients, foods, or dietary patterns can influence bone health [6–9]. Adhering to a traditional Mediterranean diet (MedDiet), characterized by high intake of fruits, vegetables, nuts and olive oil, has been linked to a lower risk of hip fractures [10–12], which might partly explain the epidemiological evidence of a geographical variation in the incidence of hip fractures across Europe, the highest rates being in North Europe and the lowest in the Mediterranean basin countries or in United States' population where it was associated a lower risk of hip fracture with MedDiet pattern [11,13]. These observations might be attributed to the high content of monounsaturated fats (MUFA) and polyphenols in olive oil, the main fat consumed in the Mediterranean diet. The intake of MUFA has been positively correlated with bone mineral density (BMD) in the Greek and Spanish populations [14–16] and higher circulating levels of bone remodelling osteocalcin have been reported after following a MedDiet enriched with extra-virgin olive oil (EVOO) [17]. Similarly, a high intake of olive extract has also been linked to higher levels of osteocalcin and stabilization of bone mass loss in osteopenic postmenopausal women [18].

The effect of consumption of olive oil and its varieties on the risk of osteoporotic fractures has not been studied. Our aim was to examine the association between the amount of total olive oil and its varieties (extra virgin and common olive oil) consumed and the risk of osteoporotic fractures in a sub-sample of middle-aged and elderly Mediterranean participants of the PREDIMED trial. We hypothesized that higher consumption of EVOO containing high amounts of polyphenols would reduce the risk of osteoporosis-related fractures.

2. Materials and methods

2.1. Study design and population

The present study was carried out in the framework of the PREDIMED study, a large, multi-centre, randomized and controlled parallel group trial aimed at assessing the effect of the MedDiet on the primary prevention of cardiovascular diseases in Spain. This trial is registered at <http://www.controlled-trials.com> as ISRCTN35739639. Osteoporotic fractures were assessed only as part of an ancillary study including all participants ($n = 870$) recruited in the PREDIMED-Reus centre. Full details of the PREDIMED protocol are published elsewhere [19]. Participants (men aged 55–80 years and women aged 60–80 years) were randomly assigned to 1 of 3 intervention groups: (1) a MedDiet supplemented with EVOO (MedDiet-EVOO group; 50 g or more per day), (2) a MedDiet supplemented with mixed nuts (MedDiet-Nuts; 30 g of nuts daily), or advice on a low-fat diet (Control). Supplemental foods were given for free to participants in the MedDiet groups, while those in the control diet group received non-food gifts. Participants had no history of CVD at baseline but they were at high cardiovascular risk because of the presence of type 2 diabetes or at least three of the following risk factors: current smoker; hypertension; high levels of low-density lipoprotein cholesterol; low levels of high-density lipoprotein cholesterol; overweight or obesity and/or a family history of premature cardiovascular disease. Participants excluded were those with a BMI greater than 40 kg/m², severe chronic illness, drug or alcohol addiction, history of allergy or intolerance to

olive oil or nuts, and/or a low predicted likelihood of changing dietary habits according to Prochaska and DiClemente's stages-of-change model [20]. The local institutional review board approved the study protocol, and all participants provided written informed consent. Recruitment took place between 1st October, 2003, and 30th June, 2009 and the intervention was terminated in 2010 with an extended follow-up to August 2015. The study was performed according to Declaration of Helsinki about Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects.

2.2. Measurements

At baseline and at each annual visit until the end of intervention in 2010, data on lifestyle variables, medical conditions and medication use were recorded. Weight and height were measured with light clothing and no shoes, using calibrated scales and a wall-mounted stadiometer, respectively. Waist circumference was measured midway between the lowest rib and the iliac crest using an anthropometric tape. Blood pressure was measured using a validated oscillometer (Omron HEM705CP; Hoofdorp, The Netherlands) in triplicate with a five-minute interval between each measurement, and the mean of these values was recorded. Trained personnel took fasting blood samples for subsequent biochemical analysis. The validated Spanish version of the Minnesota Leisure-Time Physical Activity questionnaire was given at baseline and yearly [21].

2.3. Dietary assessment

A 137-item semi-quantitative validated food frequency questionnaire (FFQ) was given to all participants at baseline and was repeated every year throughout the follow-up period [22]. Energy and nutrient intake were estimated from Spanish food composition tables [23,24]. Data regarding the consumption of different types of olive oil was obtained from the FFQ, which included three different questions on the type of olive oil consumed: (1) EVOO (obtained only by mechanically pressing the olives, acidity <1%), (2) refined oil (refined olive oil, acidity <0.3%) and (3) pomace olive oil (obtained using solvents from the leftovers of pressing the olives and mixed with other refined olive oils, acidity <0.3%). The number of 12 g tablespoons was recorded for each variety in 9 frequency categories as follows: no consumption, one to three times per month, n times per week ($n =$ one, two to four or five to six) or n times per day ($n =$ one, two to three, four to six or more than six). The number of tablespoons stated was converted into grams per day. One FFQ item asked about EVOO intake and two other items asked about refined olive oil and pomace olive oil, and these two values were added together for common olive oil intake. Total olive oil intake was then the sum of all three items. Using the Pearson correlation coefficient (r), reproducibility and validity of the FFQ were 0.55 and 0.60, respectively, for total olive oil consumption, and the intraclass correlation coefficients for reproducibility and validity were 0.71 (P -value: <0.001) in a population similar to the PREDIMED participants [22].

A validated 14-item MedDiet screener was also administered to assess the degree of adherence to the MedDiet [25]. Two of the 14 items were related to olive oil intake. To control for the overall dietary pattern, the 2 items related to olive oil were removed from the total score; thus, a 12-point score was used as covariate in the models.

2.4. Outcome

All osteoporotic fractures were adjudicated according to the criteria defined by Warriner and co-workers including fractures scoring over 5, representing those more likely due to osteoporosis

This score consider fracture risk groups according to sex, age and race, and scored from 1 to 9 with higher scores representing those fractures most likely due to osteoporosis [26]. This was also selected in accordance with previous studies regarding new classification of osteoporotic fractures beyond the classical ones (vertebral, hip and wrist-forearm) [27–29]. According to the International Classification of Diseases Clinical Modification (ICD-CM), open clavicle (ICD-CM 810.1–810.3), phalanges (ICD-CM 816.1–816.13 and 826.0–826.1), tarsal/metatarsal (ICD-CM 825.0–825.39), scapula (ICD-CM 811.0–811.19), and skull/facial (ICD-CM 800.00–804.99) fractures were excluded [26]. Incident cases of osteoporotic fractures through 1st December, 2010 were identified initially from a systematic, comprehensive and standardised annual review of all outpatient and inpatient medical records of each participant. Information on osteoporotic fractures was updated yearly using medical records. An independent researcher confirmed all fracture events.

2.5. Statistical analyses

Participants' baseline characteristics were described with means (SD) and percentages (number). To take advantage of the yearly dietary assessments, we averaged the food consumption from the baseline to the end of the follow-up or to the last follow-up FFO before the occurrence of fractures. Then, participants were categorized into tertiles of total olive oil, EVOO or common olive oil consumption using the mean value of all FFOs from the beginning to the last before the incidence of fracture or the end of follow-up in those not suffering a fracture. Dietary variables were adjusted for total energy intake using the residuals method [30] and they are presented in accordance with energy-adjusted tertiles of EVOO intake. Follow-up time was estimated as the interval from the beginning of the study up to the date of fracture events, death (for any reason) or end of follow-up, whichever came first.

The associations between energy-adjusted tertiles of total olive oil consumption or its different subtypes and the risk of osteoporotic fractures were assessed using time-dependent multivariate Cox proportional hazards models. We tested the proportionality of hazards with the use log-rank test. Results are expressed as hazard ratios (HRs) and 95% confidence intervals (CI). Model 1 was

adjusted for age, sex, BMI, education level (primary education, secondary education, academic/graduate), leisure time physical activity (metabolic equivalent of task (MET)-minutes/day), smoking status (never, former, current smoker) and the intervention group. As other covariates can interfere with the risk of fractures, Model 2 was additionally adjusted for prevalence of diabetes (yes/no), prevalence of previous documented osteoporotic fractures (yes/no), use of insulin (yes/no), use of oral antidiabetic medications (yes/no), use of diuretic drugs (yes/no), use of oral glucocorticoids (yes/no), use of anti-osteoporotic drugs (yes/no), use of anticoagulants (yes/no), use of oestrogen (yes/no) and baseline MedDiet adherence (12-point score). Covariates were selected based on their biological plausibility of having an association with the risk of fractures. The same models (excluding the baseline 12-point score) were used to assess the risk of osteoporotic fractures according to the dietary intervention group. The associations between MUFA intake, polyunsaturated fatty acids (PUFA) intake and MUFA:PUFA ratio with the risk of fractures were assessed using the covariates included into the Model 3. Nelson-Alen estimator was used to analyse the increasing failure rates. Sensitivity analysis was conducted excluding early cases observed during the first year of intervention. The level of significance was $P < 0.05$ for all statistical tests for bilateral contrast. Statistical analyses were carried using SPSS 21.0 for windows (IBM, Chicago, IL, USA) and STATA 14 (StataCorp, College Station, TX).

3. Results

During a median of 5.2 years of intervention and 8.9 years of follow-up, we documented 114 incident cases of osteoporosis-related fractures (40 in MedDiet-EVOO group, 37 in MedDiet-Nuts group and 37 in control group). Tables 1 and 2 show the baseline anthropometric and dietary characteristics of the study participants according to energy-adjusted tertiles of EVOO consumption. There were not significant differences in age, sex, BMI, previous fractures, prevalence of diabetes, medications, energy intake, protein intake, alcohol intake, vitamin D or fermented dairy products intake between tertiles of EVOO consumption. The mean consumption of total olive oil was 56.5 g/day in participants at the highest tertile and 37.6 g/day in those in the lowest tertile.

Table 1
Baseline characteristics of study participants according to energy-adjusted tertiles of extra virgin olive oil consumption.

Variable	T1 (n = 290)	T2 (n = 290)	T3 (n = 290)
Age (years) ^a	67 ± 6	68 ± 6	67 ± 6
Men, % (n)	46.6 (135)	42.1 (122)	45.9 (133)
BMI (kg/m ²) ^a	29.7 ± 3.2	29.5 ± 3.2	29.6 ± 3.4
Waist circumference (cm) ^a	101.9 ± 9.00	100.6 ± 8.3	101.1 ± 9.1
Leisure-time energy expenditure in physical activity (MET minutes/day) ^a	255.1 ± 265.8	286.3 ± 281.3	244.2 ± 239.8
Smoking status, % (never, current, former)	59.3, 12.8, 27.9	61.7, 14.1, 24.2	64.8, 9.3, 25.9
Educational level, % (n)			
Primary education	5.9 (17)	6.6 (19)	6.6 (19)
Secondary education	14.5 (42)	18.3 (53)	20.0 (58)
Academic/graduate	79.6 (231)	75.2 (218)	73.4 (213)
History of osteoporotic fractures, % (n)	18.3 (53)	14.5 (42)	19.3 (56)
Diabetes, % (n)	51.0 (148)	49.3 (143)	55.5 (161)
Hypertension, % (n)	85.2 (247)	86.2 (250)	85.5 (248)
Medication use, % (n)			
Diuretics	26.9 (78)	23.8 (69)	23.8 (69)
Insulin	5.2 (15)	5.9 (17)	6.6 (19)
Oral glucocorticoids	1.4 (4)	1.0 (3)	1.7 (5)
Osteoporosis drugs	9.7 (28)	11.0 (32)	13.1 (38)
Oral anticoagulants	1.4 (4)	1.4 (4)	0.3 (1)
Oral antidiabetic drugs	36.2 (105)	30.3 (88)	37.2 (108)
Oestrogens	1.7 (5)	2.8 (8)	2.4 (7)

^a Data are expressed as means ± SD. BMI, body mass index; MET, metabolic equivalent of task.

Table 2
Baseline dietary characteristics of study participants according to energy-adjusted tertiles of extra virgin olive oil consumption.

Variable	T1 (n = 290)	T2 (n = 290)	T3 (n = 290)
<i>Nutrients</i>			
Total energy intake (kcal/day) ^a	2314.3 ± 625.2	2327.2 ± 580.7	2291.5 ± 571.6
Proteins (g/day) ^a	95.1 ± 21.8	96.3 ± 22.5	93.2 ± 22.4
Carbohydrates (g/day) ^a	240.9 ± 79.5	234.3 ± 73.4	219.7 ± 67.0
Total fat (g/day) ^a	100.4 ± 30.2	105.0 ± 30.1	108.9 ± 30.5
Saturated fatty acids (g/day) ^a	26.9 ± 9.3	27.8 ± 9.3	27.5 ± 9.4
Monounsaturated fatty acids (g/day) ^a	48.5 ± 15.8	52.4 ± 16.2	56.4 ± 15.9
Polyunsaturated fatty acids (g/day) ^a	16.7 ± 6.8	16.5 ± 5.9	16.4 ± 6.1
Fibre (g/day) ^a	22.6 ± 6.9	24.1 ± 8.5	23.6 ± 7.6
Alcohol (g/day) ^a	9.5 ± 14.9	8.5 ± 13.6	8.4 ± 12.6
Vitamin D (µg/day) ^a	5.8 ± 3.4	6.0 ± 3.6	5.7 ± 3.1
Calcium (mg/day) ^a	1044.6 ± 362.7	1051.3 ± 364.4	992.3 ± 341.7
<i>Food</i>			
Total olive oil (g/day) ^a	34.9 ± 16.9	40.8 ± 17.6	48.0 ± 15.9
Extra virgin olive oil (g/day) ^a	20.0 ± 19.0	35.2 ± 19.2	46.3 ± 17.3
Common olive oil (g/day) ^a	14.8 ± 19.4	5.3 ± 12.7	1.5 ± 6.1
Legumes (g/day) ^a	17.7 ± 8.0	18.1 ± 9.2	17.4 ± 8.5
Vegetables (g/day) ^a	284.7 ± 116.3	313.2 ± 137.0	322.1 ± 134.9
Cereals (g/day) ^a	256.6 ± 101.7	254.0 ± 98.0	238.1 ± 90.4
Fruit (g/day) ^a	299.5 ± 178.0	315.6 ± 177.2	319.3 ± 160.7
No fermented dairy (g/day) ^a	274.83 ± 186.98	258.26 ± 186.93	234.96 ± 173.84
Fermented dairy (g/day) ^a	114.66 ± 96.61	113.54 ± 95.39	105.29 ± 89.80
Meat (g/day) ^a	142.7 ± 54.9	146.6 ± 55.7	146.3 ± 65.5
Fish (g/day) ^a	101.0 ± 42.0	103.3 ± 45.6	102.1 ± 42.8
Nuts (g/day) ^a	10.7 ± 12.6	14.3 ± 14.9	13.6 ± 15.5
Modified MedDiet score (12-point score)	6.4 ± 1.6	6.6 ± 1.8	6.6 ± 1.7

^a Data are expressed as means ± SD.

According to the intervention group, no significant differences in the risk of osteoporotic fractures were observed (HR (95%CI)) 1.13 (0.71–1.79) and 1.05 (0.66–1.67) in the MedDiet-EVOO and MedDiet-Nuts groups compared to control group ([Supplemental file](#)).

[Figure 1](#) shows the survival curve of osteoporotic fractures and the number of participants at risk by energy-adjusted EVOO tertiles at different time points. [Table 3](#) shows the HR and 95% CIs for the association between total olive oil consumption and the specific subtypes and osteoporosis-related fractures. Total olive oil and

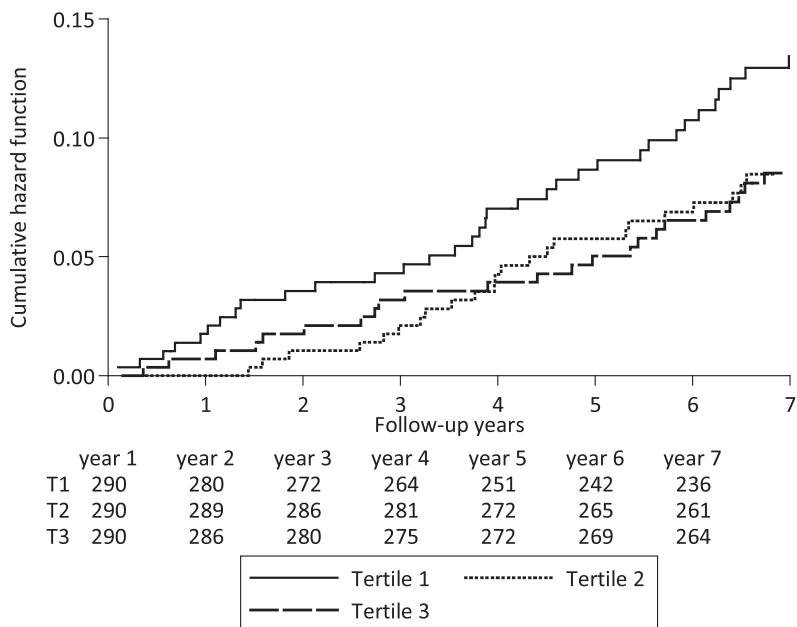
**Fig. 1.** Nelson-Aalen curves of cumulative hazard for osteoporotic fracture by tertiles of energy adjusted extra-virgin olive oil intake.

Table 3
 Risk of osteoporotic fracture according to energy-adjusted tertiles of cumulative olive oil intake.

	T1 (n = 290)	T2 (n = 290)	T3 (n = 290)	P for trend
Mean total olive oil intake (g/day)	37.60 ± 6.76	48.23 ± 1.99	56.52 ± 4.32	
Fracture event, % (n)	13.80 (40)	13.80 (40)	11.70 (34)	
Mean total energy intake (kcal/day)	2240.19 ± 450.80	2254.16 ± 354.91	2236.28 ± 361.21	
Crude model	1 (Ref.)	0.93 (0.60, 1.44)	0.81 (0.51, 1.27)	0.367
Multivariate model 1 ^a	1 (Ref.)	0.78 (0.49, 1.23)	0.73 (0.45, 1.19)	0.202
Multivariate model 2 ^b	1 (Ref.)	0.74 (0.47, 1.18)	0.69 (0.42, 1.14)	0.141
Mean common olive oil intake (g/day)	-0.13 ± 0.12	0.63 ± 0.85	12.49 ± 8.90	
Mean total energy intake (kcal/day)	2000.56 ± 209.33	2516.34 ± 352.67	2213.73 ± 396.01	
Fracture event, % (n)	15.90 (46)	10.30 (30)	13.10 (38)	
Crude model	1 (Ref.)	0.63 (0.40, 1.00)	0.81 (0.53, 1.25)	0.950
Multivariate model 1 ^a	1 (Ref.)	0.88 (0.54, 1.42)	0.94 (0.61, 1.46)	0.955
Multivariate model 2 ^b	1 (Ref.)	0.96 (0.59, 1.56)	1.00 (0.64, 1.55)	0.952
Mean extra-virgin olive oil intake (g/day)	28.77 ± 10.27	45.11 ± 2.99	55.35 ± 4.62	
Mean total energy intake (kcal/day)	2229.47 ± 446.80	2254.69 ± 352.28	2246.47 ± 368.47	
Fracture event, % (n)	15.90 (46)	12.80 (37)	10.70 (31)	
Crude model	1 (Ref.)	0.73 (0.48, 1.13)	0.63 (0.40, 0.99)	0.037
Multivariate model 1 ^a	1 (Ref.)	0.62 (0.39, 0.97)	0.52 (0.31, 0.85)	0.007
Multivariate model 2 ^b	1 (Ref.)	0.59 (0.37, 0.95)	0.49 (0.29, 0.81)	0.004

Cox regression models were used to evaluate the risk of osteoporotic fracture event by energy-adjusted tertiles of total olive oil (g/day), energy-adjusted tertiles of common olive oil (g/day) and energy-adjusted tertiles extra-virgin olive oil (g/day). Results were expressed as Hazard Ratios (95% CI) and means ± SD or percentage (n).

^a Model: adjusted for age (years), sex, body mass index (BMI) (kg/m²), educational level (illiterate/primary education, secondary education, academic/graduate), leisure time physical activity (Metabolic Equivalent of Task (MET)-minutes/day), the intervention group and smoking status (never, former, current smoker).

^b Model: additionally adjusted for prevalence of diabetes (yes/no), prevalence of previous fractures (yes/no), use of insulin (yes/no), use of oral antidiabetic drugs (yes/no), use of diuretic drugs (yes/no), use of glucocorticoids drugs (yes/no), use of osteoporotic drugs (yes/no), use of anticoagulant drugs (yes/no), use of estrogen drugs (yes/no) and baseline Mediterranean diet adherence (12-point score).

common olive oil consumption were not associated with a lower risk of fractures despite a non-significant trend to a lower reduction of bone fracture risk was observed in subjects allocated in the highest tertiles of total olive oil consumption. In contrast, a 51% reduction in the risk of osteoporosis-related fractures was observed in the fully-adjusted model for individuals in the highest tertile of EVOO consumption compared to the reference tertile (HR: 0.49; 95% CI: 0.29 to 0.81). The highest tertile compared to the reference tertile of MUFA intake (HR: 1.04; 95% CI: 0.66 to 1.65), PUFA intake (HR: 1.20; 95% CI: 0.76 to 1.90) or the MUFA:PUFA ratio (HR: 0.87; 95% CI: 0.55 to 1.38) showed no association with fracture risk.

The results of the sensitivity analysis were consistent with the general analysis. When early cases occurred during the first year (7 events were excluded), the risk in the higher tertile of EVOO consumption was relatively 46% lower (HR: 0.54; 95% CI: 0.32 to 0.92, P for trend = 0.050) than the reference tertile.

4. Discussion

The novel finding of this longitudinal study in an older Mediterranean population at high risk for cardiovascular disease is that high EVOO consumption is associated with a reduced risk of osteoporotic fractures, whereas a non-significant trend to a lower risk was also observed for total olive oil consumption.

The prevalence of osteoporosis and osteoporosis-related fractures is highly variable within European regions, with the lowest prevalence in the Mediterranean area [31]. These differences might be attributed to environmental factors and dietary regimens [10–12,32]. The MedDiet is based on a combination of foods comprising a complex array of nutrients and bioactive phytochemicals with anti-inflammatory, antioxidant and alkalising properties that could all contribute to bone health. Olive oil is one of the key foods in the MedDiet and its consumption accounts for one to two thirds of total vegetable fat intake, where MUFA, in the form of oleic acid, is the most abundant fatty acid consumed. In a cross-sectional study conducted in Greece, MUFA intake was associated with a higher BMD [33]. Another study conducted in adult Greek women found higher total and spine BMD in those

whose diet contained a combination of olive oil and fish with little meat, but not in association with the full MedDiet pattern [34]. A higher dietary MUFA:PUFA ratio has also been related to a lower risk of osteoporotic-related fractures produced by a same-level fall in elderly subjects [16].

However, in the present study, we found no associations of MUFA intake or the MUFA:PUFA ratio with fracture risk. These differences might be due to our study population displaying narrow ranges of MUFA intake and the MUFA:PUFA ratio compared to previous studies. In fact, results from prior studies showed no significant protection against fractures from MUFA intake or MUFA:PUFA ratios in the ranges of our study population. Moreover, the differences in the risk of osteoporosis-related fractures between different types of olive oil observed in our study cannot be explained by differences in its fatty acid profile, as the fatty acid composition is not affected by the extraction method used, since all olive oils are produced from the same variety of olives [35]. This suggests that other compounds present in olive oil, beyond the fatty acid composition, might play an important role in bone health.

Common olive oil is a mixture of virgin and (usually) more than 80% of refined oil, with fewer antioxidant and anti-inflammatory compounds. In contrast, EVOO is the best quality oil, produced by mechanically pressing ripe olives, and contains the highest amounts of bioactive and antioxidant components, such as polyphenols, that by different mechanisms might exert favourable effects on bone metabolism [35]. Several studies conducted *in vitro* and in animal models have assessed the beneficial role of olive oil phenols on the formation and maintenance of bone through its modulation of both bone cell differentiation and function [36–38]. Oleuropein, tyrosol and hydroxytyrosol, the most abundant polyphenols in olive oil, have been related to several beneficial effects on bone metabolism *in vitro* and in animal models [39]. In humans, osteopenic subjects who consumed 250 mg/day of a polyphenol extract from *Olea europaea* for 12 months significantly increased their osteocalcin levels and stabilized lumbar spine BMD compared to a control group [18]. Similarly, in a prior PREDIMED sub-study, we found higher serum levels of osteocalcin and the bone remodelling marker pro-collagen amino-terminal pro-peptide after 2 years of intervention

with the MedDiet-EVOO compared to the MedDiet-Nuts or the control diet [17]. In contrast, we found no significant protective effect on bone fractures in subjects allocated to the MedDiet-EVOO group compared to the control diet, as would be initially expected. This apparent discrepancy could be explained because the difference in the total consumption of either total olive oil or extra-virgin olive oil between participants in the MedDiet-EVOO group or control group was substantially lower than differences between tertiles of olive oil consumption, as participants had a high MedDiet score at baseline with olive oil as the main culinary fat. It is also plausible that exposure time to the intervention diets was not long enough to improve or delay the age-related changes in bone structure. Thus far, no other studies have been conducted to assess the relationship between olive oil consumption and bone-related markers. Our findings extend the potential beneficial role of EVOO consumption demonstrated on bone biochemical markers to a lower risk of osteoporotic-related fractures as clinical outcome. Moreover, our results also suggest a beneficial role of the phenolic compounds present in EVOO, as no association was found for the common refined olive oil, which is depleted of these bioactive compounds.

The strengths of our study are a well-characterized cohort with long-term follow-up, controlled by several potential confounders, the analysis of different varieties of olive oil and the use of cumulative mean across all the available FFQs to improve the precision of the exposure. For the fracture identification we used an objective score, however, this classification has some potential limitations as was based on fracture categories identified by standard diagnostic codes which identifies accurately a total of 94% of cases compared with the gold standard of medical record review [26]. There are also limitations to our study. First, the generalizability of our results may be limited, as the study population was made of older Mediterranean individuals at high cardiovascular risk which increased their risk for osteoporotic fractures [40]. Second, because of the observational nature of the study, residual confounding remains a possibility even though our analyses were extensively adjusted for a wide range of potential confounders. Third, no bone biochemical markers or data on BMD were available. Fourth, due to the low number of fractures and the relative small study size, we cannot exclude a potential beneficial effect of total olive oil consumption on the risk of bone fractures as the hazard ratio clearly indicates a lower risk, although not strong as for EVOO. Finally, although the FFQ used was validated, measurement errors cannot be discarded, especially regarding the self-reporting of different varieties of olive oil. Still, our findings are consistent with the potential beneficial effects of olive oil on bone health previously described.

In summary, we found that greater consumption of EVOO is associated with a lower risk of osteoporosis-related fractures in an older Mediterranean population at high cardiovascular risk. Our findings highlight the consumption of EVOO, one of the key foods of the MedDiet, in the prevention of osteoporosis-related fractures.

Authors' contributions

The authors' responsibilities were as follows—MB, MAM, RE, MF, DC, ER and JS-S: contributed to the conception, design, and implementation of the project; JGG, SC, SG and MB contributed to data collection and analytical procedures; JGG, SC, SG and MB: conducted the statistical analysis, interpreted data, and wrote the manuscript; and all authors: read and approved the final version of the manuscript.

Conflict of interests

JS reports grants from RTIC G03/140 ISCIII, Spain, grants from CIBER obn ISCIII, Spain, other from California Walnut Commission,

Sacramento CA, USA, other from Patrimonio Comunal Olivarero, Spain, other from La Morella Nuts, Spain, other from Borges S.A., Spain, other from Nut and Dried Fruit Foundation, personal fees from Nuts for Life, other from Nut and Dried Fruit Foundation, other from Nut and Dried Fruit Foundation, during the conduct of the study; personal fees from Danone S.A., personal fees from Font Vella Lanjaron, personal fees from Eroski Distributors and personal fees from Instituto Danone, outside the submitted work.

ER reports grants, non-financial support and other from California Walnut Commission, grants, personal fees, non-financial support and other from Merck, Sharp & Dohme, grants, personal fees, non-financial support and other from Alexion, personal fees, non-financial support and other from Aegerion, grants and personal fees from Sanofi Aventis, grants, personal fees, non-financial support and other from Ferrer International, grants from Amgen, grants from Pfizer and personal fees from Akcea, outside the submitted work.

None of the other authors had a personal or financial conflict of interest.

Funding

The Spanish Ministry of Health (ISCIII), PI1001407, Thematic Network G03/140, RD06/0045, FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional), and the Centre Català de la Nutrició de l'Institut d'Estudis Catalans funded part of this study. The Fundación Patrimonio Comunal Olivarero and Hojiblanca SA (Málaga, Spain), California Walnut Commission (Sacramento, CA), Borges SA (Reus, Spain), and Morella Nuts SA (Reus, Spain) donated the olive oil, walnuts, almonds and hazelnuts, respectively, used in the study. We want to acknowledge their collaboration. No funding sources played any role in the design, collection, analysis or interpretation of the data or in the decision to submit the manuscript for publication. CIBERobn is an initiative of ISCIII, Spain.

Acknowledgements

We thank all the participants and the PREDIMED personnel, including all the staff of the primary centre, for their enthusiastic collaboration in the PREDIMED study.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data related to this article can be found at <http://dx.doi.org/10.1016/j.clnu.2016.12.030>.

References

- [1] Azagra R, López-Expósito F, Martín-Sánchez JC, Aguyé A, Moreno N, Cooper C, et al. Changing trends in the epidemiology of hip fracture in Spain. *Osteoporos Int* 2014;25:1267–74. <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-013-2586-0>.
- [2] Cummings SR, Melton LJ. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* 2002;359:1761–7. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08657-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08657-9).
- [3] Schürer C, Wallaschofski H, Nauck M, Völzke H, Cummings SR, Melton LJ, et al. Fracture risk and risk factors for osteoporosis. *Dtsch Arztebl Int* 2015;112:365–72. <http://dx.doi.org/10.3238/arztebl.2015.0365>.
- [4] 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. <http://dx.doi.org/10.1007/s11657-013-0136-1>.
- [5] Zhu K, Prince RL. Lifestyle and osteoporosis. *Curr Osteoporos Rep* 2015;13:52–9. <http://dx.doi.org/10.1007/s11914-014-0248-6>.
- [6] Trzeciakiewicz A, Habauzit V, Horcajada M-N. When nutrition interacts with osteoblast function: molecular mechanisms of polyphenols. *Nutr Res Rev* 2009;22:68–81. <http://dx.doi.org/10.1017/S095442240926402X>.
- [7] Shen C-L, Chyu M-C, Yeh JK, Zhang Y, Pence BC, Felton CK, et al. Effect of green tea and Tai Chi on bone health in postmenopausal osteopenic women: a 6-

- month randomized placebo-controlled trial. *Osteoporos Int* 2012;23:1541–52. <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-011-1731-x>.
- [8] Dong H, Hutchins-Wiese H, Kleppinger A, Annis K, Liva E, Lammi-Keefe C, et al. Effects of omega-3 polyunsaturated fatty acid supplementation on bone turnover in older women. *Int J Vitam Nutr Res Int Z Für Vitam - Und Hrungsforsch J Int Vitaminol Nutr* 2014;84:124–32. <http://dx.doi.org/10.1024/0300-9831/a000199>.
- [9] Willett WC. Mediterranean diet and fracture risk. *JAMA Intern Med* 2016;176:652. <http://dx.doi.org/10.1001/jamainternmed.2016.0494>.
- [10] 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* 2013;24:1587–98. <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-012-2187-3>.
- [11] 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* 2016;176:645–52. <http://dx.doi.org/10.1001/jamainternmed.2016.0482>.
- [12] 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* 2016. <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.2896>.
- [13] Dhanwal DK, Dennison EM, Harvey NC, Cooper C. Epidemiology of hip fracture: worldwide geographic variation. *Indian J Orthop* 2011;45:15–22. <http://dx.doi.org/10.4103/0019-5413.73656>.
- [14] Trichopoulou A, Lagiou P. Healthy traditional Mediterranean diet: an expression of culture, history, and lifestyle. *Nutr Rev* 1997;55:383–9.
- [15] 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;64:155–61. <http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2012.718743>.
- [16] 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;61:1114–20. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ejcn.1602624>.
- [17] 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;97:3792–8. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2012-2221>.
- [18] Filip R, Possemiers S, Heyerick A, Pinheiro I, Raszewski G, Davicco M-J, et al. Twelve-month consumption of a polyphenol extract from olive (*Olea europaea*) in a double blind, randomized trial increases serum total osteocalcin levels and improves serum lipid profiles in postmenopausal women with osteopenia. *J Nutr Health Aging* 2015;19:77–86. <http://dx.doi.org/10.1007/s12603-014-0480-x>.
- [19] MÀ Martínez-González, Corella D, Salas-Salvadó J, Ros E, Covas MI, Fiol M, et al. Cohort profile: design and methods of the PREDIMED study. *Int J Epidemiol* 2012;41:377–85. <http://dx.doi.org/10.1093/ije/dyq250>.
- [20] Nigg CR, Burbank PM, Padula C, Dufresne R, Rossi JS, Velicer WF, et al. Stages of change across ten health risk behaviors for older adults. *Gerontologist* 1999;39:473–82.
- [21] Elosua R, Marrugat J, Molina L, Pons S, Pujol E. Validation of the Minnesota leisure time physical activity questionnaire in Spanish men. The MARATHOM investigators. *Am J Epidemiol* 1994;139:1197–209.
- [22] Fernández-Ballart JD, Piñol JL, Zazpe I, Corella D, Carrasco P, Toledo E, et al. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br J Nutr* 2010;103:1808–16. <http://dx.doi.org/10.1017/S0007114509993837>.
- [23] Mataix J. *Tablas de Composición de Alimentos*. 4th ed. Granada, Spain: Universidad de Granada; 2003.
- [24] Moreiras O, Carvajal A, Cabrera L, editors. *Tablas de Composición de Alimentos [Food Composition Tables]*. 9th ed. Madrid, Spain: Ediciones Pirámide; 2005.
- [25] 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;141:1140–5. <http://dx.doi.org/10.3945/jn.110.135566>.
- [26] Warriner AH, Patkar NM, Curtis JR, Delzell E, Gary L, Kilgore M, et al. Which fractures are most attributable to osteoporosis? *J Clin Epidemiol* 2011;64:46–53. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclinepi.2010.07.007>.
- [27] D'Elia G, Roselli G, Cavalli L, Innocenti P, Brandi ML. Severe osteoporosis: diagnosis of non-hip non-vertebral (NHNV) fractures. *Clin Cases Min Bone Metab* 2010;7:85–90.
- [28] Stone KL, Seeley DG, Lui L-Y, Cauley JA, Ensrud K, Browner WS, et al. BMD at multiple sites and risk of fracture of multiple types: long-term results from the Study of Osteoporotic Fractures. *J Bone Miner Res* 2003;18:1947–54. <http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.2003.18.11.1947>.
- [29] Seeley DG, Browner WS, Nevitt MC, Genant HK, Scott JC, Cummings SR. Which fractures are associated with low appendicular bone mass in elderly women? The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann Intern Med* 1991;115:837–42.
- [30] Willett W, Howe G, Kushi L. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am J Clin Nutr* 1997;65:1220S–8S.
- [31] 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;65:834–40. <http://dx.doi.org/10.3109/09637486.2014.931361>.
- [32] Fearat 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* 2013;24:3031–41. <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-013-2421-7>.
- [33] Trichopoulou A, Georgiou E, Bassiakos Y, Lipworth L, Lagiou P, Proukakis C, et al. Energy intake and monounsaturated fat in relation to bone mineral density among women and men in Greece 1. *Prev Med (Baltim)* 1997;26:395–400.
- [34] 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. *Nutrition* 2009;25:165–71. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jnut.2008.07.019>.
- [35] Gimeno E, Castellote AL, Lamuela-Raventós RM, De la Torre MC, López-Sabater MC. The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chem* 2002;78:207–11. [http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(01\)00399-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(01)00399-5).
- [36] García-Martínez O, De Luna-Bertos E, Ramos-Torrecillas J, Ruiz C, Millia E, Lorenzo ML, et al. Phenolic compounds in extra virgin olive oil stimulate human osteoblastic cell proliferation. *PLoS One* 2016;11:e0150045. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0150045>.
- [37] Honda Y, Tanaka T, Tokuda T, Kashiwagi T, Kaida K, Hieda A, et al. Local controlled release of polyphenol conjugated with gelatin facilitates bone formation. *Int J Mol Sci* 2015;16:14143–57. <http://dx.doi.org/10.3390/ijms160614143>.
- [38] Shen C-L, Chyu M-C, Cao JJ, Yeh JK. Green tea polyphenols improve bone microarchitecture in high-fat-diet-induced obese female rats through suppressing bone formation and erosion. *J Med Food* 2013;16:421–7. <http://dx.doi.org/10.1089/jmf.2012.0199>.
- [39] Chin K-Y, Ima-Nirwana S. Olives and bone: a green osteoporosis prevention option. *Int J Environ Res Public Health* 2016;13:755. <http://dx.doi.org/10.3390/ijerph13080755>.
- [40] Sennerby U, Melhus H, Gedeberg R, Byberg L, Garmo H, Ahlborn A, et al. Cardiovascular diseases and risk of hip fracture. *JAMA* 2009;302:1666–73. <http://dx.doi.org/10.1001/jama.2009.1463>.

5.1. Publicación 2

Higher dietary glycemic index and glycemic load values increase the risk of osteoporotic fracture in the PREvención con Dieta MEDiterránea (PREDIMED)-Reus trial

- ❖ Estado de publicación: Publicado.
- ❖ Revista: American Journal of Clinical Nutrition.
- ❖ Categoría: Nutrición y Dietética.
- ❖ Posición por rango: 5/87 – D1
- ❖ Factor de impacto: 6.568

RESULTADOS

Resumen

Introducción

Las concentraciones elevadas de glucosa e insulina parecen tener un impacto negativo sobre la salud ósea. Sin embargo, la relación entre el índice glucémico dietético (IGD) y la carga glucémica dietética (CGD), que han probado su efectividad modulando las concentraciones de glucosa en sangre después del consumo de hidratos de carbono, con la salud ósea no se ha explorado aún.

Objetivo

El objetivo de este estudio fue examinar las asociaciones entre el IGD y la CGD con el riesgo de fractura por fragilidad en una población mediterránea anciana.

Material y métodos

El estudio fue realizado en 870 individuos de 55 a 80 años con elevado riesgo cardiovascular que participaban en el estudio PREDIMED en el centro de Reus. El IGD y la CGD se estimaron a partir de cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos validados con el uso del índice glucémico y valores de carga glucémica internacional, con la glucosa como referencia. Los datos sobre fracturas osteoporóticas se obtuvieron a partir de una revisión sistemática de registros médicos. Usamos modelos de riesgo proporcional de Cox para evaluar el riesgo de fractura osteoporótica según terciles de índice glucémico y carga glucémica promedio.

Resultados

Se documentaron un total de 114 nuevos casos de fracturas relacionadas con la osteoporosis después de un seguimiento medio de 8.9 años. Los participantes en el tercil más alto de IGD y CGD tenían un riesgo significativamente mayor de fracturas osteoporóticas que aquellos en el tercil más bajo después de ajustar por posibles factores de confusión (HR: 1.80; IC del 95%: 1.03, 3.15 y HR: 3.20; IC del 95%: 1.25, 8.18, respectivamente).

Conclusiones

Calidad de la alimentación y salud ósea

Un IGD y una CGD elevados se asocian con un mayor riesgo de fracturas relacionadas con la osteoporosis en una población mediterránea de edad avanzada con alto riesgo cardiovascular.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

Higher dietary glycemic index and glycemic load values increase the risk of osteoporotic fracture in the PREvención con Dieta MEDiterránea (PREDIMED)-Reus trial

Jesús Francisco García-Gavilán,^{1,2} Mònica Bulló,^{1,2} Lucía Camacho-Barcia,^{1,2} Nuria Rosique-Esteban,^{1,2} Pablo Hernández-Alonso,^{1,2} Josep Basora,¹ Miguel Angel Martínez-González,^{2,3} Ramón Estruch,^{2,4} Montserrat Fitó,^{2,5} and Jordi Salas-Salvadó^{1,2}

¹Human Nutrition Unit, Biochemistry and Biotechnology Department, Faculty of Medicine and Health Sciences, University Hospital of Sant Joan de Reus, IISPV, Universitat Rovira i Virgili, Reus, Spain; ²CIBER Physiopathology of Obesity and Nutrition, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain; ³Medical School, Department of Preventive Medicine and Public Health, University of Navarra, Pamplona, Spain; ⁴Department of Internal Medicine, August Pi i Sunyer Institute of Biomedical Research (IDIBAPS), Hospital Clinic, University of Barcelona, Barcelona, Spain; and ⁵Cardiovascular Risk and Nutrition (Regicor Study Group), Hospital del Mar Medical Research Institute, Barcelona, Spain

ABSTRACT

Background: High glucose and insulin concentrations seem to have a negative impact on bone health. However, the relation between the dietary glycemic index (DGI) and the dietary glycemic load (DGL), which has proved to be effective at modulating blood glucose concentrations after carbohydrate consumption, has yet to be explored in relation to bone health.

Objective: The aim of the study was to examine the associations between the DGI or DGL and the risk of osteoporotic-related fractures in an elderly Mediterranean population.

Design: The study was conducted in 870 subjects aged 55–80 y at high cardiovascular risk participating in the PREvención con Dieta MEDiterránea (PREDIMED)-Reus study. The DGI and DGL were estimated from validated food frequency questionnaires with the use of the international glycemic index and glycemic load values, with glucose as reference. Data on osteoporotic fractures were acquired from a systematic review of medical records. We used Cox proportional hazard models to assess the risk of osteoporotic fracture according to tertiles of average DGI and DGL.

Results: A total of 114 new cases of osteoporotic-related fractures were documented after a mean follow-up of 8.9 y. Participants in the highest tertile of DGI and DGL had a significantly higher risk of osteoporotic fractures than those in the lowest tertile after adjusting for potential confounders (HR: 1.80; 95% CI: 1.03, 3.15 and HR: 3.20; 95% CI: 1.25, 8.18, respectively).

Conclusions: A high DGI and DGL are associated with a higher risk of osteoporosis-related fractures in an elderly Mediterranean population at high cardiovascular risk. This trial was registered at [isrctn.com](https://www.clinicaltrials.gov/ct2/show/study?term=ISRCTN35739639) as ISRCTN35739639. *Am J Clin Nutr* 2018;107:1–8.

Keywords: glycemic index, glycemic load, fractures, bone, Mediterranean population

INTRODUCTION

Osteoporosis is a disease characterized by compromised bone strength and increased risk of fracture. During aging, bone mineral density decreases and the risk of osteoporotic fractures increases. Other factors such as genetics, specific diseases, medication, and lifestyle habits also help increase the risk of fracture. Many studies have shown that diabetes, controlled and uncontrolled, has a negative impact on risk of fractures although contradictory results on its impact on bone mineral density are found in subjects with type 2 diabetes (T2D) compared with control subjects (1–3). This suggests a complex pathophysiology in diabetes-related bone disease that includes bone microarchitecture and compromised repair mechanisms (3) that could be partially mediated by the associated hyperglycemia (1, 2, 4). Indeed, high blood glucose concentrations impact bone health in different ways, including the induction of inflammation and oxidative stress (5, 6). Hyperglycemia

Supported in part by the Spanish Ministry of Health (ISCIII), PI1001407, Thematic Network G03/140, RD06/0045, FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional), and the Centre Català de la Nutrició de l'Institut d'Estudis Catalans.

No funding sources played any role in the design, collection, analysis, or interpretation of the data or in the decision to submit the manuscript for publication. Consorcio Ciber M.P. (CIBERobn) is an initiative of ISCIII, Spain.

Supplemental Table 1 and Supplemental Figure 1 are available from the “Supplementary data” link in the online posting of the article and from the same link in the online table of contents at <https://academic.oup.com/ajcn>.

Address correspondence to MB (e-mail: monica.bullo@urv.cat).

Abbreviations used: DGI, dietary glycemic index; DGL, dietary glycemic load; FFQ, food frequency questionnaire; GI, glycemic index; ICD-CM, International Classification of Diseases, Clinical Modification; MedDiet, Mediterranean diet; PREDIMED, PREvención con Dieta MEDiterránea; T2D, type 2 diabetes mellitus.

Received October 19, 2017. Accepted for publication February 16, 2018.

First published online 0, 2018; doi: <https://doi.org/10.1093/ajcn/nqy043>.

reduces osteoblast activity (6), inhibits genes involved in osteoblast differentiation and maturation (6), and induces acidosis, which enhances bone resorption (7). Moreover, hyperglycemia can induce hypocalcemia by increasing the excretion of urinary calcium, and it also interferes with the parathyroid hormone and vitamin D receptors (8). In this regard, diets that lower postprandial hyperglycemia may have an important impact on bone health and decrease the risk of osteoporotic fractures.

Some clinical trials have reported a significant increase of blood glucose and insulin concentrations after the intake of diets high in dietary glycemic index (DGI) and dietary glyceamic load (DGL) (9, 10). Low-glycemic index (GI) diets have also proved to be postprandially effective at attenuating any increase in blood glucose after carbohydrate intake (11). Similarly, low-DGI diets are associated with a healthier inflammatory and oxidative profile, and lowered glycated hemoglobin (11–13). Nevertheless, the effect of DGI and DGL on the risk of osteoporosis-related fractures has not been studied.

Our aim was to explore the association of the DGI and DGL with the risk of osteoporotic fractures in a subsample of middle-aged and elderly Mediterranean participants of the PREVENCIÓN con Dieta MEDiterránea (PREMIDED) trial. We hypothesized that higher DGI and DGL increase the risk of osteoporotic fractures.

METHODS

Study design and subjects

This analysis was nested in the PREMIDED study, a multicenter and controlled parallel group trial conducted from 2003 to 2010. It includes all participants recruited at the PREMIDED-Reus center ($n = 870$) with a follow-up to assess outcome that lasted until August 2015. The study participants were women aged 60–80 y and men aged 55–80 y at high cardiovascular risk, with either T2D or ≥ 3 of the following criteria: hypertension (systolic blood pressure ≥ 140 mm Hg or diastolic blood pressure ≥ 90 mm Hg, or antihypertensive drugs), hypercholesterolemia (high LDL cholesterol ≥ 160 mg/dL or medication), low HDL cholesterol (≤ 50 mg/dL in women or ≤ 40 mg/dL in men), overweight or obesity [BMI (in kg/m^2) ≥ 25], current smoking, or family history of premature coronary heart disease. They were allocated to 1 of the 3 intervention groups: a Mediterranean diet (MedDiet) supplemented with extra-virgin olive oil (50 mL/d), a MedDiet supplemented with mixed nuts (30 g/d), or advice on a low-fat diet (LFD group). Participants with a BMI > 40 , severe chronic illness, drug or alcohol addiction, or a low predicted likelihood of changing dietary habits according to Prochaska and DiClemente's stages-of-change model (14) were excluded from the study.

The protocol was approved by the institutional review boards of the respective centers, and all participants provided written informed consent to participate. The PREMIDED trial was registered at <http://www.isrctn.com/> as ISRCTN35739639. A detailed protocol has been published elsewhere (15) and it is available at <http://www.premided.es>.

Bone fracture assessment

Osteoporotic fractures were adjudicated according to the criteria defined by Warriner and coworkers. Sex, age, and race were all

taken into account and scores ranged from 1 to 9, with the higher scores representing those fractures most likely due to osteoporosis (16). In accordance with the International Classification of Diseases, Clinical Modification (ICD-CM), we excluded open clavicle (ICD-CM 810.1–810.3), phalange (ICD-CM 816.1–816.13 and 826.0–826.1), tarsal/metatarsal (ICD-CM 825.0–825.39), scapula (ICD-CM 811.0–811.19), and skull/facial (ICD-CM 800.00–804.99) fractures (16). Incident cases of osteoporotic fractures were initially identified from a systematic, comprehensive, and standardized annual review of all the outpatient and inpatient medical records for each participant. Information on osteoporotic fractures was updated yearly through the use of medical records. An independent researcher, also blinded to the intervention group, confirmed all fracture events.

Measurements

Data regarding lifestyle habits, medical conditions, and medication use were recorded yearly from baseline to the end of the intervention. Weight and height were measured with the use of calibrated scales and a wall-mounted stadiometer and waist circumference was measured midway between the lowest rib and the iliac crest. Blood pressure was measured with the use of a validated oscillometer (Omron HEM705CP; Hoofddorp, The Netherlands). Fasting blood samples for subsequent biochemical analysis were taken and frozen until use at -80°C . The validated Spanish version of the Minnesota Leisure-Time Physical Activity questionnaire was administered at baseline and yearly (17).

Dietary assessment

A semi-quantitative validated food frequency questionnaire (FFQ) with 137 items was given to all participants at baseline and yearly till the end of the intervention (18). The reported frequencies of food consumption were converted into number of intakes per day and multiplied by the weight of the portion size. Energy and all nutrient intake were estimated via multiplying each FFQ item by its nutritional composition according to the Spanish food composition tables (19, 20). GI values for each food were extracted from international GI and glyceamic load values (21) with glucose as a reference scale. For foods that were not in the tables, the mean was calculated for similar foods that were present in the FFQ.

The total DGL of each meal was determined by multiplying the total carbohydrates of a specified serving size of the food, the total number of food portions consumed per day, and its specific GI. DGI was calculated by dividing glyceamic load by total available carbohydrate intake and multiplying the result by 100 (22, 23). Reproducibility and relative validity, explored via the intraclass correlation coefficient, were 0.321 and 0.244, respectively, for DGI ($P < 0.001$), and 0.846 and 0.525, respectively, for DGL ($P < 0.001$) and similar to those of other studies (22) although the relative validity for DGI was somewhat low. A validated 14-item MedDiet screening tool was administered to assess the degree of adherence to the MedDiet (24).

Statistical analysis

The baseline characteristics of participants are shown as means \pm SD and percentages (n). All food consumption data over the

study period (DGI, DGL, alcohol, total energy, SFAs, MUFAs, PUFAs, fiber, protein, calcium, and vitamin D) were estimated as the cumulative average from the baseline to the end of the intervention period or to the last follow-up FFQ before the occurrence of fractures. No significant interaction was found between the exposure variables and T2D.

Participants were divided into tertiles of cumulative DGI and DGL via the mean value of all the FFQs available from the baseline visit to the last FFQ before the fracture event, participant death (for any reason) or the end of follow-up when participants had not suffered a fracture. Follow-up time was estimated as the interval from the baseline visit to the date of the fracture event, death, or end of follow-up. Multivariate Cox regression analysis was used to assess the relations between cumulative DGI or DGL in tertiles and the risk of osteoporotic fractures. To assess the quadratic trend (*P*-*q* trend), we assigned the median intake within each tertile and included the variables into the model as continuous using a polynomial analysis of the multivariate Cox regression models. In addition, we estimated the risk of osteoporotic fracture using the cumulative DGI and DGL as continuous variables. Results are expressed as HRs and 95% CIs. Covariates were selected based on medical and biological plausibility. Model 1 was adjusted for age (years), sex, BMI, educational level (illiterate or primary education, secondary education, or academic or graduate), leisure time physical activity (Metabolic

Equivalent of Task-minutes per day), the intervention group, and smoking status (never, former, or current smoker). Model 2 was also adjusted for the prevalence of T2D (yes or no), prevalence of previous fractures (yes or no), use of insulin (yes or no), use of oral antidiabetic drugs (yes or no), diuretic drugs (yes or no), glucocorticoids (yes or no), osteoporotic drugs (yes or no), use of vitamin D supplements (yes or no), and use of estrogens (yes or no). Model 3 was also adjusted for the yearly updated measurements of intake of alcohol (grams per day) (continuous, adding a quadratic term), total energy (kilocalories per day), SFAs (grams per day), MUFAs (grams per day), PUFAs (grams per day), fiber (grams per day), protein (grams per day), calcium (milligrams per day), and vitamin D (micrograms per day). In addition, we conducted 2 different sensitivity analyses, first excluding the early cases of incident osteoporosis (accounted during the first year of the study) and second by quartiles. All statistical significance levels were set at *P* < 0.05 for all tests for bilateral contrast. Statistical analyses were carried out with SPSS 21.0 for Windows (IBM, Chicago, IL).

RESULTS

We documented 114 incident cases of osteoporosis-related fractures during a median follow-up of 8.9 y (**Supplemental Figure 1**). **Tables 1** and **2** show the anthropometric and dietary

TABLE 1

Baseline anthropometric characteristics of study participants according to tertiles of cumulative average glycemic index and glycemic load¹

Variable	Glycemic index			<i>P</i> value	Glycemic load			<i>P</i> value
	T1 (<i>n</i> = 290)	T2 (<i>n</i> = 290)	T3 (<i>n</i> = 290)		T1 (<i>n</i> = 290)	T2 (<i>n</i> = 290)	T3 (<i>n</i> = 290)	
Age, y	68 ± 6	68 ± 6	67 ± 6	0.273	68 ± 6	68 ± 6	67 ± 6	0.115
Women, % (<i>n</i>)	66.6 (193)	56.9 (165)	42.1 (122)	<0.001	69.7 (202)	59.3 (172)	36.6 (106)	<0.001
Body weight, kg	74.9 ± 10.9	75.0 ± 10.5	77.6 ± 10.6	0.003	75.1 ± 10.8	75.5 ± 10.8	77.0 ± 10.6	0.072
BMI, kg/m ²	29.8 ± 3.5	29.4 ± 3.3	29.7 ± 3.1	0.214	30.0 ± 3.4	29.7 ± 3.4	29.3 ± 3.0	0.035
Waist circumference, cm	100.4 ± 8.7	100.6 ± 8.8	102.6 ± 8.8	0.003	100.8 ± 8.7	101.2 ± 9.1	101.6 ± 8.8	0.617
Leisure-time energy expenditure in physical activity, MET min/d	258.9 ± 229.5	273.4 ± 294.6	253.2 ± 261.9	0.634	229.1 ± 213.0	257.8 ± 251.0	298.7 ± 312.2	0.006
Smoking status, % (never, current, former)	69.0, 7.6, 23.4	63.4, 12.8, 23.8	53.4, 15.9, 30.7	0.002	70.3, 8.3, 21.4	67.9, 9.0, 23.1	47.6, 19.0, 33.5	<0.001
Educational level, % (<i>n</i>)				0.781				0.412
Primary education	76.2 (221)	75.9 (220)	76.2 (221)		77.6 (225)	77.6 (225)	73.1 (212)	
Secondary education	16.6 (48)	17.6 (51)	18.6 (54)		15.5 (45)	16.2 (47)	21.0 (61)	
Academic/graduate	7.2 (21)	6.5 (19)	5.2 (15)		6.9 (20)	6.2 (18)	5.9 (17)	
History of osteoporotic fractures, % (<i>n</i>)	16.6 (48)	14.1 (41)	21.4 (62)	0.064	16.9 (49)	17.2 (50)	17.9 (52)	0.945
Diabetes, % (<i>n</i>)	68.3 (198)	57.2 (166)	30.3 (88)	<0.001	63.8 (185)	56.9 (165)	35.2 (102)	<0.001
Medication use, % (<i>n</i>)								
Diuretics	27.6 (80)	21.4 (62)	25.5 (74)	0.212	28.3 (82)	24.5 (71)	21.7 (63)	0.186
Insulin	9.0 (26)	6.9 (20)	1.7 (5)	0.001	9.0 (26)	6.2 (18)	2.4 (7)	0.003
Oral glucocorticoids	1.4 (4)	1.0 (3)	1.7 (5)	0.776	1.7 (5)	0.3 (1)	2.1 (6)	0.170
Osteoporosis drugs	14.8 (43)	10.3 (30)	8.6 (25)	0.051	13.1 (38)	14.1 (41)	6.6 (19)	0.007
Oral antidiabetic drugs	49.3 (143)	36.9 (107)	17.6 (51)	<0.001	43.8 (127)	38.3 (111)	21.7 (63)	<0.001
Estrogens	3.4 (10)	2.8 (8)	0.7 (2)	0.256	3.4 (10)	2.1 (6)	1.4 (4)	0.580
Vitamin D supplement	18.4 (45)	10.7 (31)	10.7 (31)	0.124	13.8 (40)	14.8 (43)	8.3 (24)	0.036
Intervention group, % (<i>n</i>)				0.678				0.486
MedDiet + EVOO	33.8 (98)	34.1 (99)	32.4 (94)		32.8 (95)	36.9 (107)	30.7 (89)	
MedDiet + nuts	35.9 (104)	31.8 (92)	32.1 (93)		32.1 (93)	31.4 (91)	36.2 (105)	
Control diet	30.3 (88)	34.1 (99)	35.5 (103)		35.1 (102)	31.7 (92)	33.1 (96)	

¹Data are expressed as means ± SD or % (*n*) unless otherwise indicated. *P* value was calculated with ANOVA test (quantitative variables) and chi-square test (qualitative variables). EVOO, extra virgin olive oil; MedDiet, Mediterranean Diet; MET, Metabolic Equivalent of Task; T, tertile.

TABLE 2
 Baseline dietary characteristics of study participants according to tertiles of glycemic index and glycemic load¹

Variable	Glycemic index			Glycemic load			P value
	T1 (n = 290)	T2 (n = 290)	T3 (n = 290)	T1 (n = 290)	T2 (n = 290)	T3 (n = 290)	
Nutrients							
Total energy intake, kcal/d	2167 ± 515	2355 ± 591	2410 ± 637	1947 ± 427	2294 ± 443	2692 ± 631	<0.001
Proteins, g/d	94.7 ± 20.9	97.7 ± 22.7	92.2 ± 22.9	85.7 ± 19.4	95.3 ± 20.2	103.6 ± 23.4	<0.001
Carbohydrates, g/d	210.3 ± 63.0	235.8 ± 72.6	248.2 ± 80.2	182.1 ± 49.0	227.6 ± 51.2	285.4 ± 77.7	<0.001
Total fat, g/d	100.5 ± 28.5	107.6 ± 30.6	106.4 ± 31.7	92.5 ± 24.6	105.9 ± 27.9	116.1 ± 33.4	<0.001
SFAs, g/d	26.2 ± 8.8	28.4 ± 9.7	27.6 ± 9.5	23.5 ± 6.9	27.7 ± 8.6	31.0 ± 10.6	<0.001
MUFAs, g/d	50.3 ± 15.6	53.6 ± 16.0	53.5 ± 17.1	47.4 ± 14.3	52.8 ± 15.3	57.2 ± 17.6	<0.001
PUFAs, g/d	15.7 ± 5.8	16.9 ± 6.4	17.0 ± 6.5	14.0 ± 4.8	16.8 ± 6.0	18.7 ± 6.9	<0.001
Fiber, g/d	23.2 ± 7.4	23.8 ± 7.9	23.4 ± 7.9	20.9 ± 6.8	23.6 ± 7.1	25.8 ± 8.5	<0.001
Alcohol, g/d	6.2 ± 11.8	7.5 ± 12.2	12.7 ± 16.0	6.4 ± 12.3	7.0 ± 11.4	13.0 ± 16.0	<0.001
Vitamin D, µg/d	5.9 ± 3.4	6.0 ± 3.6	5.8 ± 3.2	5.3 ± 3.1	5.9 ± 3.5	6.4 ± 3.5	<0.001
Calcium, mg/d	1100.7 ± 362.0	1055.1 ± 339.2	932.4 ± 349.2	955.1 ± 333.3	1020.6 ± 360.1	1112.5 ± 360.5	<0.001
Dietary glycemic index	44.6 ± 3.2	47.7 ± 2.9	51.1 ± 3.6	45.7 ± 4.0	47.6 ± 3.4	50.1 ± 3.9	<0.001
Dietary glycemic load	94.5 ± 31.6	113.0 ± 37.7	127.5 ± 43.1	83.4 ± 24.6	108.4 ± 26.2	143.2 ± 41.5	<0.001
Food							
Olive oil, g/d	40.5 ± 17.2	41.4 ± 17.3	41.8 ± 18.4	40.3 ± 17.2	41.1 ± 17.5	42.3 ± 18.3	0.399
Legumes, g/d	18.2 ± 8.4	18.4 ± 9.5	16.7 ± 7.6	15.6 ± 7.6	18.4 ± 8.4	19.2 ± 9.3	<0.001
Vegetables, g/d	325.2 ± 144.0	313.3 ± 128.4	281.4 ± 114.1	307.5 ± 144.0	305.8 ± 126.5	306.8 ± 120.6	0.987
Cereals, g/d	213.6 ± 83.1	257.2 ± 92.9	277.9 ± 103.1	195.2 ± 68.1	248.5 ± 76.1	305.1 ± 108.8	<0.001
Fruit, g/d	340.1 ± 187.2	299.8 ± 148.9	294.6 ± 175.2	292.7 ± 163.0	319.0 ± 166.3	322.8 ± 185.4	0.072
Dairy, g/d	432.1 ± 219.0	379.9 ± 196.0	292.2 ± 191.1	359.3 ± 205.7	360.1 ± 206.2	384.9 ± 218.3	0.249
Meat, g/d	142.4 ± 56.1	151.6 ± 59.9	141.7 ± 60.2	133.5 ± 55.9	147.6 ± 53.4	154.7 ± 64.9	<0.001
Fish, g/d	106.0 ± 43.9	103.3 ± 44.2	97.2 ± 41.9	101.1 ± 42.8	102.0 ± 43.0	103.3 ± 44.7	0.824
Nuts, g/d	12.7 ± 13.8	13.2 ± 15.3	12.7 ± 14.3	10.6 ± 12.8	13.9 ± 15.2	14.2 ± 15.2	0.004
MedDiet score, 14-point score	8.4 ± 1.9	8.2 ± 2.0	8.1 ± 1.8	8.2 ± 1.7	8.3 ± 1.9	8.2 ± 2.1	0.795

¹Data are expressed as means ± SDs. P value was calculated with ANOVA test. MedDiet score, Mediterranean Diet score; T, tertile.

TABLE 3

Risk of osteoporotic fracture according to quality and quantity of carbohydrate consumption¹

	T1 (n = 290)	T2 (n = 290)	T3 (n = 290)	P q-trend	1-point increase
Mean dietary glycemic index	44.85 ± 1.33	47.91 ± 0.81	51.54 ± 2.03		
Fracture event, % (n)	16.20 (47)	9.70 (28)	13.40 (39)		
Crude model	1 (Ref.)	0.57 (0.36, 0.92)	0.83 (0.54, 1.27)	0.066	0.97 (0.91, 1.03)
Multivariable model ²	1 (Ref.)	0.65 (0.40, 1.04)	1.06 (0.69, 1.64)	0.101	1.00 (0.94, 1.07)
Multivariable model ³	1 (Ref.)	0.69 (0.43, 1.10)	1.14 (0.70, 1.83)	0.132	1.01 (0.94, 1.09)
Multivariable model ⁴	1 (Ref.)	0.84 (0.51, 1.40)	1.80 (1.03, 3.15)	0.016	1.10 (1.01, 1.20)
Mean glycemic load	81.18 ± 9.55	104.60 ± 5.91	140.07 ± 20.52		
Fracture event, % (n)	16.60 (48)	11.70 (34)	11.00 (32)		
Crude model	1 (Ref.)	0.69 (0.44, 1.07)	0.67 (0.43, 1.04)	0.122	0.99 (0.98, 1.00)
Multivariable model ²	1 (Ref.)	0.75 (0.48, 1.16)	0.94 (0.59, 1.50)	0.411	1.00 (0.99, 1.00)
Multivariable model ³	1 (Ref.)	0.77 (0.50, 1.21)	1.04 (0.63, 1.70)	0.418	1.00 (0.99, 1.00)
Multivariable model ⁴	1 (Ref.)	1.26 (0.70, 2.29)	3.20 (1.25, 8.18)	0.022	1.03 (0.99, 1.07)

¹Cox regression models were used to evaluate the risk of osteoporotic fracture event by tertiles of the dietary glycemic index and tertiles of glycemic load. Results are expressed as HRs (95% CIs), means ± SDs, or % (n). Ref., reference; T, tertile.

²Model: Adjusted for age (years), sex, BMI (kg/m²), educational level (illiterate/primary education, secondary education, academic/graduate), leisure time physical activity [Metabolic Equivalent of Task-minutes per day], the intervention group, and smoking status (never, former, or current smoker).

³Model: In addition, adjusted for prevalence of diabetes (yes or no), prevalence of previous fractures (yes or no), use of insulin (yes or no), use of oral antidiabetic drugs (yes or no), use of diuretic drugs (yes or no), use of glucocorticoid drugs (yes or no), use of osteoporotic drugs (yes or no), use of vitamin D supplements (yes or no), and use of estrogens (yes or no).

⁴Model: In addition, adjusted for alcohol intake (grams per day) (continuous, adding a quadratic term), total energy intake (kilocalories per day), SFA intake (grams per day), MUFA intake (grams per day), PUFA intake (grams per day), fiber intake (grams per day), protein intake (grams per day), calcium intake (milligrams per day), and vitamin D intake (micrograms per day).

characteristics of the study participants at baseline, according to tertiles of DGI and DGL. Participants in the lowest tertile of DGI were likely to be women and nonsmokers, and had a lower waist circumference, body weight, and higher prevalence of T2D compared with the participants in the highest tertile. There were no significant differences in age, BMI, physical activity, intervention group, education level, medication (except for insulin, which was significantly lower in the third tertile than in the other tertiles), previous fractures, fiber, or vitamin D intake between tertiles of DGI. Likewise, there were no significant differences in age, waist circumference, intervention group, education level, previous fractures, or dairy product intake between tertiles of DGL.

In **Table 3** we show the HRs and 95% CIs for the association between DGI or DGL and osteoporotic fractures. We observed that the risk of osteoporosis-related fractures was higher in the highest tertile of DGI and DGL than in the reference tertile (DGI HR: 1.80; 95% CI: 1.03, 3.15; DGL HR: 3.20; 95% CI: 1.25, 8.18) after adjusting for anthropometric, demographic, and medical variables such as sex, age, BMI, physical activity, prevalence of T2D, previous fractures, use of insulin, glucocorticoids, or osteoporotic drugs, and nutritional variables such as total energy intake, consumption of alcohol, protein, fiber, calcium, or vitamin D. The marked amplification of the effect of DGL in the risk of bone fractures observed in the fully adjusted model was mainly driven by total energy intake. When analyzed as a continuous variable, a significant increased risk of osteoporotic fractures was observed per 1-point increase in DGI (HR: 1.10; 95% CI: 1.01, 1.20, *P* value = 0.033), showing a trend to statistical significance for DGL (HR: 1.03; 95% CI: 0.99, 1.07, *P* value = 0.076). Similarly, when we included fasting glucose concentrations into the full adjusted model instead of the presence of T2D, the association between DGI and the risk of osteoporotic fracture remained significant (HR: 1.10; 95% CI: 1.01, 1.20, *P* value = 0.032).

The results of several sensitivity analyses were consistent with the findings of the primary analysis. When the events observed in the first year were excluded, a trend to a higher risk of osteoporotic fractures was observed for both higher DGI and DGL (DGI HR: 1.62; 95% CI: 0.90, 2.93; DGL HR: 2.56; 95% CI: 0.98, 6.71). When participants were analyzed by quartiles of exposure variables, results did not reach statistical significance (**Supplemental Table 1**).

DISCUSSION

In this prospective study conducted in elderly participants at high cardiovascular risk, we demonstrated for the first time, to our knowledge, that higher DGI and DGL are associated with an increased risk of osteoporotic fractures, even after adjusting for potential confounders.

The concept of DGI was introduced by Jenkins et al. (25) in 1981 to measure the quality of carbohydrates in relation to the availability of glucose after food ingestion. DGL was later defined as the mathematical product of the DGI and the carbohydrate content of the specific food and is considered the overall indicator of the glucose response and insulin demand induced by a serving of food (23). Since then, several epidemiologic and clinical trials have analyzed the relation between DGI or DGL and several chronic diseases. A meta-analysis of 37 observational studies concluded that diets with high DGI or DGL increased the risk of T2D, heart disease, and several types of cancer (26). Because bone remodeling processes have mechanisms in common with other chronic diseases such as T2D or cardiovascular diseases (3), the inverse association between low DGI or DGL and the risk of osteoporotic fractures observed in our study is not surprising.

T2D is commonly associated with an increased risk of osteoporosis-related fractures (3, 27) and many studies have

demonstrated a detrimental role of hyperglycemia uncontrolled in bone metabolism (4, 28). In this regard, animal and in vitro studies have demonstrated that high glucose concentrations modify the osteoblast and osteoclast function by overstimulating the insulin signaling pathways and have an inhibitory effect on osteoblast cells that leads to abnormal bone growth and higher bone fragility (5, 29–32). Hyperglycemia also stimulates the production of advanced glycation end products which increase the production of cross-links between collagens and the fragility of the human bone (33), and induce cellular apoptosis and inflammation (34–37). Inflammation and oxidation, both of which are involved in the physiopathology of cardiometabolic disorders, have a deleterious effect on bone metabolism. High serum IL-6 concentrations have been associated with osteoporosis (38, 39) and an increased incidence of nontraumatic fractures in older white women (38, 40, 41). Similarly, in vitro studies have demonstrated that IL-6 has a stimulatory effect on osteoclasts, thereby increasing the rates of bone remodeling and bone loss (42, 43). TNF α was also related to an increased risk of fracture (44), stimulating bone resorption and inhibiting bone formation in vitro (45). Other cytokines, commonly recognized as a key regulator of bone metabolism, such as the osteoprotegerin/receptor activator of NF- κ B/receptor activator of NF- κ B ligand (OPG/RANK/RANKL) triad and osteocalcin, have recently been related to insulin resistance and glucose metabolism (46–49). The modulatory effect on hyperglycemia, insulin resistance, inflammation, and oxidative stress attributed to low-DGI and -DGL diets could explain our findings (11, 22). We found that participants in the highest tertile of DGI and DGL had an increased risk of osteoporotic fracture, independent of other potential confounders including sex or T2D. Similarly, the continuous model showed a 10% increased risk of fractures per 1-point increase in DGI. Since the association remained significant even after adjusting for fasting plasma glucose, our results support the contention that other factors beyond glucose per se may play a significant role in bone health.

Some limitations of our study need to be mentioned. First, the lack of information regarding inflammation and oxidative stress in our study population does not enable us to propose any potential mechanisms to explain our findings. Second, since the study was conducted in elderly subjects at high risk of cardiovascular disease from a Mediterranean region following a diet rich in vegetables and fruit in only one recruiting center from the PREDIMED study, our results could not be generalized to other populations. In a similar manner, DGI and DGL are lower than those in other populations and differences across tertiles are modest. These differences could be probably explained by the fact that MedDiet is a plant-based dietary pattern rich in low-glycemic index food such as whole grains, vegetables, nuts, legumes, and olive oil. Other populations following high-DGI and -DGL diets would gain much more benefit in reducing their DGI and DGL to decrease their risk of osteoporotic fractures. Third, since the study was observational, we cannot discard some residual confounding, although the analysis was adjusted for potential confounders. Fourth, some dietary measurement errors derived from collecting the dietary data via validated FFQs that were not designed to estimate DGI and DGL. Finally, estimations of DGI values obtained from international DGI tables could be misrepresented because food properties may fluctuate across countries. The major strengths of the study are the long follow-up period and the use of repeated dietary measurements, which allow us to

reduce the random measurement error produced by within-person variation and dietary changes during follow-up; the control for many potential confounding variables; the use of an objective score to identify fractures although the weakness of this system is that it is based on fracture groups which were identified by diagnostic codes; and the inclusion of sensitivity analyses with similar trends.

In conclusion, our results suggest that high DGI and high DGL are associated with a major risk of osteoporosis-related fractures in an elderly Mediterranean population at high cardiovascular risk. Further studies are needed to confirm this potential deleterious effect of high DGI and DGL diets on bone metabolism and osteoporotic fractures and to determine the potential mechanisms underlying these findings.

We thank the PREDIMED staff, including all the primary center personnel, for their fantastic and animated collaboration in the PREDIMED study. Also, we thank all support contributed by Sant Joan Hospital, Rovira i Virgili University (URV), and Pere Virgili Institute (IISPV). The Fundación Patrimonio Comunal Olivarero and Hojiblanca SA (Málaga, Spain), California Walnut Commission (Sacramento, CA), Borges SA (Reus, Spain), and Morella Nuts SA (Reus, Spain) donated the olive oil, walnuts, almonds, and hazelnuts, respectively, used in the study. We thank them for their contribution and collaboration.

The authors' contributions were as follows—MB, MAM-G, RE, MF, JB, and JS-S: contributed to the conception, design, and implementation of the project; JFG-G, LC-B, NR-E, PH-A, and MB: contributed to data collection and analytic procedures, conducted the statistical analysis, interpreted data, and wrote the manuscript; and authors: read, reviewed, and approved the final version of the manuscript. JSS reports grants from RTIC G03/140 ISCIII, Spain, grants from CIBER obn ISCIII, Spain, other from California Walnut Commission, Sacramento, CA, other from Patrimonio Comunal Olivarero, Spain, other from La Morella Nuts, Spain, other from Borges SA, Spain, other from Nut and Dried Fruit Foundation, and personal fees from Nuts for Life, during the conduct of the study; personal fees from Danone SA, personal fees from Font Vella Lanjaron, personal fees from Eroski Distributors, and personal fees from Instituto Danone, outside the submitted work. RE reports grants from Spanish Institute of Health "Carlos III", other from Patrimonio Comunal Olivarero, Spain, other from California Walnut Commission, Spain, other from Borges SA, Spain, and nonfinancial support from Fundación Bosch i Gimpera, Spain, during the conduct of the study; grants from Bicentury, SA, Spain, grants from Grand Fontaine, Spain, grants from Novartis Farmaceutica, SA, personal fees from Brewers of Europe, Belgium, personal fees from Instituto Cervantes, Albuquerque, NM, personal fees from Instituto Cervantes, Milan, Italy, personal fees from Lilly Laboratories, personal fees from PRODECA—Generalitat de Catalunya, and personal fees from Wine and Culinary International International Forum, outside the submitted work. None of the other authors had a personal or financial conflict of interest.

REFERENCES

1. Starup-Linde J, Frost M, Vestergaard P, Abrahamsen B. Epidemiology of fractures in diabetes. *Calcif Tissue Int* 2017;100:109–21.
2. Vestergaard P. Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes—a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2007;18:427–44.
3. Oei L, Rivadeneira F, Zillikens MC, Oei EHG. Diabetes, diabetic complications, and fracture risk. *Curr Osteoporos Rep* 2015;13:106–15.
4. Muka T, Trajanoska K, Kieft-de Jong JC, Oei L, Uitterlinden AG, Hofman A, Dehghan A, Zillikens MC, Franco OH, Rivadeneira F. The association between metabolic syndrome, bone mineral density, hip bone geometry and fracture risk: the Rotterdam Study. *PLoS One* 2015;10:e0129116.
5. Ghodsi M, Larjani B, Keshtkar AA, Nasli-Esfahani E, Alatab S, Mohajeri-Tehrani MR. Mechanisms involved in altered bone metabolism in diabetes: a narrative review. *J Diabetes Metab Disord* 2016;15:52.

6. Pramojane S, Pimphilai M, Chattapakorn N, Chattapakorn SC. Possible roles of insulin signaling in osteoblasts. *Endocr Res* 2014;39:144–51.
7. Napoli N, Strollo R, Paladini A, Briganti SI, Pozzilli P, Epstein S. The alliance of mesenchymal stem cells, bone, and diabetes. *Int J Endocrinol* 2014;2014:690783.
8. Jiao H, Xiao E, Graves DT. Diabetes and its effect on bone and fracture healing. *Curr Osteoporos Rep* 2015;13:327–35.
9. Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Okubo H, Hosoi Y, Horiguchi H, Oguma E, Kayama F. Dietary glycemic index and load in relation to metabolic risk factors in Japanese female farmers with traditional dietary habits. *Am J Clin Nutr* 2006;83:1161–9.
10. van Aerde MA, Witte DR, Jeppesen C, Soedamah-Muthu SS, Bjerregaard P, Jørgensen ME. Glycemic index and glycemic load in relation to glucose intolerance among Greenland's Inuit population. *Diabetes Res Clin Pract* 2012;97:298–305.
11. Juanola-Falgarona M, Salas-Salvadó J, Ibarrola-Jurado N, Rabassa-Soler A, Díaz-López A, Guasch-Ferré M, Hernández-Alonso P, Balanza R, Bulló M. Effect of the glycemic index of the diet on weight loss, modulation of satiety, inflammation, and other metabolic risk factors: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr* 2014;100:27–35.
12. Wang Q, Xia W, Zhao Z, Zhang H. Effects comparison between low glycemic index diets and high glycemic index diets on HbA1c and fructosamine for patients with diabetes: a systematic review and meta-analysis. *Prim Care Diabetes* 2015;9:362–9.
13. Thomas D, Elliott EJ. Low glycaemic index, or low glycaemic load, diets for diabetes mellitus. In: D Thomas, editor. *Cochrane database of systematic reviews*. Chichester, UK: John Wiley & Sons; 2009. p. CD006296.
14. Nigg CR, Burbank PM, Padula C, Dufresne R, Rossi JS, Velicer WF, Laforge RG, Prochaska JO. Stages of change across ten health risk behaviors for older adults. *Gerontologist* 1999;39:473–82.
15. Martínez-González MÁ, Corella D, Salas-Salvadó J, Ros E, Covas MI, Fiol M, Wärnberg J, Arós F, Ruiz-Gutiérrez V, Lamuela-Raventós RM et al. Cohort profile: design and methods of the PREDIMED study. *Int J Epidemiol* 2012;41:377–85.
16. Warriner AH, Patkar NM, Curtis JR, Delzell E, Gary L, Kilgore M, Saag K, Thomas-John M, Codd MB, Manne S et al. Which fractures are most attributable to osteoporosis? *J Clin Epidemiol* 2011;64:46–53.
17. Elosua R, Marrugat J, Molina L, Pons S, Pujol E. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity questionnaire in Spanish men. The MARATHOM Investigators. *Am J Epidemiol* 1994;139:1197–209.
18. Fernández-Ballart JD, Piñol JL, Zazpe I, Corella D, Carrasco P, Toledo E, Perez-Bauer M, Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Martín-Moreno JM. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br J Nutr* 2010;103:1808–16.
19. Mataix J. *Tablas de composición de alimentos*. 4th ed. Granada, Spain: Universidad de Granada; 2003.
20. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, editors. *Tablas de composición de alimentos [Food composition tables]*. 9th ed. Madrid, Spain: Ediciones Pirámide; 2005.
21. Atkinson FS, Foster-Powell K, Brand-Miller JC. *International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008*. *Diabetes Care* 2008;31:2281–3.
22. Juanola-Falgarona M, Salas-Salvadó J, Buil-Cosiales P, Corella D, Estruch R, Ros E, Fitó M, Recondo J, Gómez-Gracia E, Fiol M et al. Dietary glycemic index and glycemic load are positively associated with risk of developing metabolic syndrome in middle-aged and elderly adults. *J Am Geriatr Soc* 2015;63:1991–2000.
23. Salmerón J, Manson JE, Stampfer MJ, Colditz GA, Wing AL, Willett WC. Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *JAMA* 1997;277:472–7.
24. Schröder H, Fitó M, Estruch R, Martínez-González MA, Corella D, Salas-Salvadó J, Lamuela-Raventós R, Ros E, Salaverria I, Fiol M et al. A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *J Nutr* 2011;141:1140–5.
25. Jenkins DJ, Wolever TM, Taylor RH, Barker H, Fielden H, Baldwin JM, Bowling AC, Newman HC, Jenkins AL, Goff DV. Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am J Clin Nutr* 1981;34:362–6.
26. Barclay AW, Petocz P, McMillan-Price J, Flood VM, Prvan T, Mitchell P, Brand-Miller JC. Glycemic index, glycemic load, and chronic disease risk—a meta-analysis of observational studies. *Am J Clin Nutr* 2008;87:627–37.
27. Johnston SS, Conner C, Aagren M, Ruiz K, Bouchard J. Association between hypoglycaemic events and fall-related fractures in Medicare-covered patients with type 2 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2012;14:634–43.
28. Oei L, Zillikens MC, Dehghan A, Buitendijk GHS, Castano-Bentancourt MC, Estrada K, Stolk L, Oei EHG, van Meurs JBJ, Janssen JAMJL et al. High bone mineral density and fracture risk in type 2 diabetes as skeletal complications of inadequate glucose control: the Rotterdam Study. *Diabetes Care* 2013;36:1619–28.
29. Cunha JS, Ferreira VM, Maquigussa E, Naves MA, Boim MA. Effects of high glucose and high insulin concentrations on osteoblast function in vitro. *Cell Tissue Res* 2014;358:249–56.
30. Pramojane S, Pimphilai M, Kumphune S, Chattapakorn N, Chattapakorn SC. Decreased jaw bone density and osteoblastic insulin signaling in a model of obesity. *J Dent Res* 2013;92:560–5.
31. Ogata N, Chikazu D, Kubota N, Terauchi Y, Tobe K, Azuma Y, Ohta T, Kadowaki T, Nakamura K, Kawaguchi H. Insulin receptor substrate-1 in osteoblast is indispensable for maintaining bone turnover. *J Clin Invest* 2000;105:935–43.
32. Ferron M, Wei J, Yoshizawa T, Del Fattore A, DePinho RA, Teti A, Ducy P, Karsenty G. Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell* 2010;142:296–308.
33. Saito M, Marumo K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporos Int* 2010;21:195–214.
34. Sanguineti R, Puddu A, Mach F, Montecucco F, Viviani GL. Advanced glycation end products play adverse proinflammatory activities in osteoporosis. *Mediators Inflamm* 2014;2014:975872.
35. Franke S, Rüster C, Pester J, Hofmann G, Oelzner P, Wolf G. Advanced glycation end products affect growth and function of osteoblasts. *Clin Exp Rheumatol* 2011;29:650–60.
36. Weinreb E, Maymon T, Weinreb M. AGEs induce caspase-mediated apoptosis of rat BMSCs via TNF production and oxidative stress. *J Mol Endocrinol* 2013;52:67–76.
37. Miranda C, Giner M, Montoya MJ, Vázquez MA, Miranda MJ, Pérez-Cano R. Influence of high glucose and advanced glycation end-products (ages) levels in human osteoblast-like cells gene expression. *BMC Musculoskelet Disord* 2016;17:377.
38. Pino AM, Ríos S, Astudillo P, Fernández M, Figueroa P, Seitz G, Rodríguez JP. Concentration of adipogenic and proinflammatory cytokines in the bone marrow supernatant fluid of osteoporotic women. *J Bone Miner Res* 2010;25:492–8.
39. Weitzmann MN, Pacifici R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J Clin Invest* 2006;116:1186–94.
40. Barbour KE, Lui L-Y, Ensrud KE, Hillier TA, LeBlanc ES, Ing SW, Hochberg MC, Cauley JA, Study of Osteoporotic Fractures (SOF) Research Group. Inflammatory markers and risk of hip fracture in older white women: the study of osteoporotic fractures. *J Bone Miner Res* 2014;29:2057–64.
41. Abrahamsen B, Bonnevie-Nielsen V, Ebbesen EN, Gram J, Beck-Nielsen H. Cytokines and bone loss in a 5-year longitudinal study—hormone replacement therapy suppresses serum soluble interleukin-6 receptor and increases interleukin-1-receptor antagonist: the Danish Osteoporosis Prevention Study. *J Bone Miner Res* 2000;15:1545–54.
42. Feng W, Liu H, Luo T, Liu D, Du J, Sun J, Wang W, Han X, Yang K, Guo J et al. Combination of IL-6 and sIL-6R differentially regulate varying levels of RANKL-induced osteoclastogenesis through NF- κ B, ERK and JNK signaling pathways. *Sci Rep* 2017;7:41411.
43. Jilka RL, Hangoc G, Girasole G, Passeri G, Williams DC, Abrams JS, Boyce B, Broxmeyer H, Manolagas SC. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science* 1992;257:88–91.
44. Cauley JA, Danielson ME, Browder RM, Forrest KYZ, Zmuda JM, Pahor M, Tylavsky FA, Cummings SR, Harris TB, Newman AB. Inflammatory markers and incident fracture risk in older men and women: the Health Aging and Body Composition Study. *J Bone Miner Res* 2007;22:1088–95.
45. Bertolini DR, Nedwin GE, Bringman TS, Smith DD, Mundy GR. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Nature* 1986;319:516–18.

46. Díaz-López A, Bulló M, Juanola-Falgarona M, Martínez-González MA, Estruch R, Covas M-I, Arós F, Salas-Salvado J. Reduced serum concentrations of carboxylated and undercarboxylated osteocalcin are associated with risk of developing type 2 diabetes mellitus in a high cardiovascular risk population: a nested case-control study. *J Clin Endocrinol Metab* 2013;98:4524–31.
47. Bulló M, Moreno-Navarrete JM, Fernández-Real JM, Salas-Salvado J. Total and undercarboxylated osteocalcin predict changes in insulin sensitivity and β cell function in elderly men at high cardiovascular risk. *Am J Clin Nutr* 2012;95:249–55.
48. Duan P, Yang M, Wei M, Liu J, Tu P. Serum osteoprotegerin is a potential biomarker of insulin resistance in Chinese postmenopausal women with prediabetes and type 2 diabetes. *Int J Endocrinol* 2017;2017:8724869.
49. Pérez de Ciriza C, Lawrie A, Varo N. Osteoprotegerin in cardiometabolic disorders. *Int J Endocrinol* 2015;2015:564934.

5.2. Publicación 3

U-Shaped Association between Dietary Acid Load and Risk of Osteoporotic Fractures in 2 Populations at High Cardiovascular Risk

- ❖ Estado de publicación: Publicado.
- ❖ Revista: The Journal of Nutrition.
- ❖ Categoría: Nutrición y Dietética.
- ❖ Posición por rango: 20/89 – Q1
- ❖ Factor de impacto: 4.281

RESULTADOS

Resumen

Introducción

El hueso contribuye a mantener el equilibrio ácido-base como sistema amortiguador del pH sanguíneo. La composición de la dieta también afecta el equilibrio ácido-base. Varios estudios han relacionado un desequilibrio en el sistema ácido-base con cambios en la densidad y estructura de la masa ósea, aunque algunos estudios prospectivos y meta-análisis sugieren que la carga ácida no tiene un efecto deletéreo sobre el hueso.

Objetivo

El objetivo de este estudio fue examinar las asociaciones entre la carga de ácido renal potencial (PRAL) y la producción neta de ácido endógeno (NEAP) con el riesgo de fracturas osteoporóticas y la densidad mineral ósea (DMO) en 2 poblaciones mediterráneas de mediana edad y ancianos.

Métodos

Realizamos un análisis longitudinal que incluyó a 870 participantes del estudio PREDIMED y un análisis transversal que incluyó a 1134 participantes del estudio PREDIMED-Plus. Los participantes eran adultos de 55 a 80 años de edad con alto riesgo cardiovascular (PREDIMED) o con sobrepeso/obesidad y síndrome metabólico según la definición de la Federación Internacional de Diabetes, la Asociación Estadounidense del Corazón y la Asociación Nacional del Corazón (PREDIMED-Plus). El PRAL y NEAP se calcularon a partir de cuestionarios validados de frecuencia alimentaria. La DMO se midió mediante exploraciones DXA. La información sobre fracturas se obtuvo de los registros médicos. La asociación entre PRAL y NEAP con el riesgo de fractura se evaluó con modelos multivariados de regresión de Cox. Las diferencias de DMO entre terciles de PRAL y NEAP basales se evaluaron con ANCOVA.

Resultados

Se documentaron un total de 114 fracturas incidentes en el estudio PREDIMED después de una media de 5.2 años de intervención y 8.9 años de seguimiento total. Los participantes en el primer (T1) y tercer tercil (T3) de PRAL y NEAP tenían un mayor riesgo de fractura osteoporótica en comparación con el segundo tercil (T2), mostrando una asociación en forma de U [HR (IC del 95%): 1.73 (1.03, 2.91) en el T1 y 1.91 (1.14, 3.19) en el T3 para PRAL y 1.83 (1.08, 3.09) en el T1 y 1.87 (1.10, 3.17) en el T3 para NEAP]. En comparación con los participantes del T1, los participantes en T2 y T3 de PRAL y NEAP tenían una DMO más baja [PRAL: DMO media del fémur total: 1.029 ± 0.007 y 1.007 ± 0.007 g / cm²; P = 0.006 (T1 y T3); NEAP: DMO media del fémur total: 1.032 ± 0.007 y 1.009 ± 0.007 g / cm²; P = 0.017 (T1 y T3)].

Conclusiones

Los resultados de nuestro estudio sugieren que dietas que inducen tanto mayor como menor acidez dietética están asociados con un mayor riesgo de fracturas osteoporóticas, aunque solo se encontró que las dietas que inducen mayor acidez tienen una relación negativa con la DMO en adultos mayores con condiciones de salud crónicas.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

U-Shaped Association between Dietary Acid Load and Risk of Osteoporotic Fractures in 2 Populations at High Cardiovascular Risk

Jesús Francisco García-Gavilán,^{1,2,3} Alfredo Martínez,^{3,4,5} Jadwiga Konieczna,^{3,6} Rafael Mico-Perez,^{7,8} Ana García-Arellano,^{3,9,10} Josep Basora,^{1,2,11} Laura Barrubés,^{1,2} Alberto Goday,^{3,12} Silvia Canudas,^{1,2,3} Jordi Salas-Salvadó,^{1,2,3} and Monica Bulló^{1,2,3}

¹Universitat Rovira i Virgili, Department of Biochemistry and Biotechnology, Reus, Spain; ²Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (ISPV), Reus, Spain; ³CIBER Physiology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Carlos III Health Institute, Madrid, Spain; ⁴University of Navarra, Department of Nutrition, Food Science and Physiology, IDISNA, Pamplona, Spain; ⁵Nutritional Genomics and Epigenomics Group, IMDEA Food, CEI UAM + CSIC, Madrid, Spain; ⁶Research Group on Nutritional Epidemiology & Cardiovascular Physiopathology (NUTRECOR). Health Research Institute of the Balearic Islands (IdISBa), University Hospital Son Espases (HUSE), Palma de Mallorca, Spain; ⁷Health Office Fontanars dels Alforins, Primary Care Ontinyent, Valencia, Spain; ⁸Centro de Investigación Biomédica en Red de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), Madrid, Spain; ⁹Emergency Department, Complejo Hospitalario de Navarra, Servicio Navarro de Salud, Spain; ¹⁰Department of Preventive Medicine and Public Health, Medical School, University of Navarra, Pamplona, Spain; ¹¹Unitat de Suport a la Recerca Tarragona-Reus, Fundació Institut Universitari per a la recerca a l'Atenció Primària de Salut Jordi Gol i Gurina (IDIAPJGol), Reus, Spain; and ¹²Unidad de Riesgo Cardiovascular y Nutrición, Institut Hospital del Mar d'Investigacions Mèdiques Municipal (IMIM), Departament de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, Spain

ABSTRACT

Background: Bone contributes to maintaining the acid-base balance as a buffering system for blood pH. Diet composition also affects acid-base balance. Several studies have linked an imbalance in the acid-base system to changes in the density and structure of bone mass, although some prospective studies and meta-analyses suggest that acid load has no deleterious effect on bone.

Objective: The aim of this study was to examine the associations between potential renal acid load (PRAL) and net endogenous acid production (NEAP) and the risk of osteoporotic fractures and bone mineral density (BMD) in 2 middle-aged and elderly Mediterranean populations.

Methods: We conducted a longitudinal analysis including 870 participants from the PREvención con Dieta MEDiterranea (PREDIMED) Study and a cross-sectional analysis including 1134 participants from the PREDIMED-Plus study. Participants were adults, aged 55–80 y, either at high cardiovascular risk (PREDIMED) or overweight/obese with metabolic syndrome (PREDIMED-Plus), as defined by the International Diabetes Federation, the American Heart Association, and the National Heart Association. PRAL and NEAP were calculated from validated food-frequency questionnaires. BMD was measured using DXA scans. Fracture information was obtained from medical records. The association between mean PRAL and NEAP and fracture risk was assessed using multivariable-adjusted Cox models. BMD differences between tertiles of baseline PRAL and NEAP were evaluated by means of ANCOVA.

Results: A total 114 new fracture events were documented in the PREDIMED study after a mean of 5.2 y of intervention and 8.9 y of total follow-up. Participants in the first and third PRAL and NEAP tertiles had a higher risk of osteoporotic fracture compared with the second tertile, showing a characteristically U-shaped association [HR (95% CI): 1.73 (1.03, 2.91) in tertile 1 and 1.91 (1.14, 3.19) in tertile 3 for PRAL, and 1.83 (1.08, 3.09) in tertile 1 and 1.87 (1.10, 3.17) in tertile 3 for NEAP]. Compared with the participants in tertile 1, the participants in the top PRAL and NEAP tertiles had lower BMD [PRAL: mean total femur BMD: 1.029 ± 0.007 and 1.007 ± 0.007 g/cm²; *P* = 0.006 (tertiles 1 and 3); NEAP: mean total femur BMD: 1.032 ± 0.007 and 1.009 ± 0.007 g/cm²; *P* = 0.017 (tertiles 1 and 3)].

Conclusions: The results of our study suggest that both high and low dietary acid are associated with a higher risk of osteoporotic fractures, although only high dietary acid was found to have a negative relation to BMD in senior adults with existing chronic health conditions. This trial was registered at <http://www.isrctn.com/> as ISRCTN3573963 (PREDIMED) and ISRCTN89898870 (PREDIMED-Plus). *J Nutr* 2020;00:1–10.

Keywords: bone, fracture, dietary potential acid load, aging, bone mineral density

Introduction

Loss of bone mineral density (BMD) and its associated complications affects several million people worldwide and has become a major economic burden on public health systems (1). There is, therefore, an urgent need to identify risk factors associated with the microstructure and health properties of bone. Aside from age-related progressive demineralization, loss of bone mass and osteoporosis can be exacerbated by other factors, including metabolic diseases, the use of certain medications, genetic factors, and modifiable lifestyle factors such as smoking and dietary habits, which jeopardize bone strength and increase the risk of fracture (1–4).

Several studies have linked an imbalance in the acid-base system to changes in the density and structure of bone mass (5–7). Mild systematic metabolic acidosis could release calcium from the bone matrix mediated for increasing osteoplastic resorption in an attempt to maintain homeostasis, weakening the bone and thus making it susceptible to fracturing (8, 9).

Diet composition affects the acid-base balance in the body. Foods from animal sources, such as cheese, fish, and meat,

have more acid precursors, while fruit and vegetables are net alkalinizing in nature (8). Diet-induced low-grade acidosis could also affect bone health, reducing BMD and increasing its fragility (9). Cross-sectional studies suggest that bone could contribute to the neutralization of the dietary acid load with a detrimental effect on BMD (10, 11). Both potential renal acid load (PRAL) and net endogenous acid production (NEAP) are commonly used as theoretical models to estimate the dietary intake of certain nutrients in order to measure the acid-base load of a diet and estimate renal net acid excretion (8, 12). A prospective analysis conducted in youth found a positive association between urinary citrate, a biomarker that depends on both the diet and metabolism acid-base balance, and several parameters of bone quality and geometry. In addition, 15 y later, the authors reported that fracture risk was inversely associated with urinary citrate and positively associated with urinary PRAL in women but not in men (13). Under this hypothesis, a high-acid diet would contribute to an increased risk of osteoporosis and fractures due to the loss of bone mass, while the intake of base-producing foods could potentially prevent the acid-related loss of bone (11). In fact, it is possible that the diet of older people with altered renal function and renal acid-excretory ability as well as other diseases that can affect the acid-base balance may result in an imbalance capable of increasing bone demineralization (14). However, some observational studies and meta-analyses dispute the claim that acid load has a deleterious effect on bone in the general population, which opens the debate about the bone health benefits of base-forming diets (15–17). In 4672 elderly Dutch people, energy-adjusted NEAP was inversely associated with trabecular bone integrity but not with BMD (15). In a cross-sectional analysis conducted in the NHANES involving 1218 men >60 y old, lower femoral BMD was associated with a higher PRAL (7). In 8188 women and 6375 men aged 40–79 y from the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) study, both higher PRAL and higher NEAP were associated with lower calcaneal broadband ultrasound attenuation (BUA) in women, but not with incident fractures (11). Therefore, the present study primarily aimed to determine whether there are any associations between PRAL and NEAP, 2 indicators of the dietary acid-base load, and osteoporotic fractures in a study conducted in a senior Mediterranean population at high cardiovascular risk. A secondary aim was to ascertain whether PRAL and NEAP are related to BMD in another independent study conducted in a senior Mediterranean population with overweight/obesity and metabolic syndrome.

Methods

Subjects and study design

Participants from 2 independent studies [PREvención con Dieta Mediterránea (PREDIMED) and PREDIMED-Plus] were included in the present analysis.

Subjects and study design of the PREDIMED study

A longitudinal analysis of osteoporotic fractures was conducted for 870 participants in the PREDIMED study who were recruited in our center (Supplemental Figure 1). PREDIMED is a multicenter, randomized, and parallel-group trial conducted between 2003 and 2010 to assess the effectiveness of a Mediterranean diet in the prevention of cardiovascular diseases. An extended follow-up for clinical events ended in August 2015. A total of 56 participants were not randomly assigned and were assigned to the same intervention group because

The PREDIMED (PREvención con Dieta MEDiterranea) study was supported, in part, by the Spanish Ministry of Health (ISCIII) (PI1001407), Thematic Network (G03/140, RD06/0045, FEDER (Fondo Europeo de Desarrollo Regional), and the Centre Català de la Nutrició de l'Institut d'Estudis Catalans. Similarly, the PPLus study was supported by the Fondo de Investigación para la Salud (FIS), which is co-funded by the European Regional Development Fund of the Spanish Ministry of Health (ISCIII) (PI13/00673, PI13/00492, PI13/00272, PI13/01123, PI13/00462, PI13/00233, PI13/02184, PI13/00728, PI13/01090, PI13/01056, PI14/01722, PI14/00636, PI14/00618, PI14/00696, PI14/01206, PI14/01919, PI14/00853, PI14/01374, PI14/00972, PI14/00728, PI14/01471, PI16/00473, PI16/00662, PI16/01873, PI16/01094, PI16/00501, PI16/00533, PI16/00381, PI16/00366, PI16/01522, PI16/01120, PI17/00764, PI17/01183, PI17/00855, PI17/01347, PI17/00525, PI17/01827, PI17/00532, PI17/00215, PI17/01441, PI17/00508, PI17/01732, PI17/00926, PI19/00957, PI19/00386, PI19/00309, PI19/01032, PI19/00576, PI19/00017, PI19/01226, PI19/00781, PI19/01560 and PI19/01332); the European Research Council (Advanced Research Grant 2013e2018, 340918); the Recercaixa grant 2013 (2013ACUP00194); the Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (PI0458/2013); and the Smergen grant. Consorcio Ciber de Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Consorcio Ciber de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), and Consorcio de Diabetes y Enfermedades Metabólicas asociadas (CIBERDEM) are initiatives of ISCIII, Spain. This work is partially supported by ICREA under the ICREA Academia programme. JFG-G has received the Contratos Predoctorales de Formación en Investigación en Salud (PFIS F117/00255) of the Acción Estratégica en Salud program (AES) from the Carlos III Health Institute (ISCIII), Spanish Ministry of Health. JK has received the Juan de la Cierva-Formación research grant (FJCI-2015-24058) from the Spanish Ministry of Economy, Industry, and Competitiveness, and European Social Funds.

Author disclosures: JS-S reports grants from RTC G03/140 ISCIII, Spain, and grants from CIBEROBN ISCIII, Spain, while the study was being conducted; nonfinancial support from the Nut and Dried Fruit Foundation, personal fees from Instituto Danone, Font Vella Lanjarón, personal fees from Nuts for Life, personal fees from Eroski Distributors, grants and personal fees from the Nut and Dried Fruit Foundation, and grants from Eroski Distributors, outside the submitted work. The other authors report no conflicts of interest.

None of the above funding sources took part in any decisions made about the design, collection, analysis, interpretation of the data, or submission of the manuscript for publication.

Supplemental Tables 1–10 and Supplemental Figures 1 and 2 are available from the "Supplementary data" link in the online posting of the article and from the same link in the online table of contents at <https://academic.oup.com/jn/>.

Address correspondence to MBB (e-mail: monica.bullo@urv.cat), or JSS (jordi.salas@urv.cat).

Abbreviations used: BMD, bone mineral density; eGFR, estimated glomerular filtration rate; FD, femoral diaphysis; FFQ, food-frequency questionnaires; FN, femur neck; ICD-CM, International Classification of Diseases, Clinical Modification; LS, lumbar spine; MET, metabolic equivalent of task; NEAP, net endogenous acid production; PRAL, potential renal acid load; PREDIMED, PREvención con Dieta MEDiterranea study; TF, total femur; TR, trochanter; T2D, type 2 diabetes.

they shared a household. The detailed protocol study is available at <http://www.predimed.es> and has been published previously (18). Briefly, participants were randomly assigned either to a Mediterranean diet group supplemented with extra-virgin olive oil, a Mediterranean diet group supplemented with nuts, or a low-fat diet group. Participants were women aged 60 to 80 y and men aged 55 to 80 y with a high risk of cardiovascular disease—that is, with either type 2 diabetes (T2D) or ≥ 3 of the following criteria: hypertension (systolic blood pressure ≥ 140 mm Hg or diastolic blood pressure ≥ 90 mm Hg, or antihypertensive drug use), hypercholesterolemia (high LDL cholesterol ≥ 160 mg/dL or medication), low HDL cholesterol (≤ 50 mg/dL in women or ≤ 40 mg/dL in men), overweight or obesity [BMI (in kg/m^2) ≥ 25], current smoker, or family history of premature coronary heart disease.

Subjects and study design of the PREDIMED-PLUS study

A cross-sectional analysis of bone density parameters was performed in the PREDIMED-Plus study, a multicenter, randomized, and parallel-group trial conducted in 6874 overweight or obese women and men aged 60 to 75 and aged 55 to 75 y, respectively (Supplemental Figure 2). From the total number of participants, only 1134 underwent a DXA scan and were included in the present analysis. The participants had a BMI ≥ 27 and < 40 and metabolic syndrome defined in keeping with the updated harmonized criteria of the International Diabetes Federation, the American Heart Association, and the National Heart Association (19). The protocol and study information can be found at <http://predimcdplus.com>.

Both studies are registered at <http://www.isrctn.com/> (PREDIMED: ISRCTN3573963; PREDIMED-Plus: ISRCTN89898870). The protocols and procedures were conducted according to the ethical standards of the Declaration of Helsinki and approved by the relevant institutional ethics review boards at each study center. All participants in both trials provided written informed consent.

Bone assessment

For the purposes of this study, we considered osteoporotic fractures to be those that occurred at anatomic sites and under circumstances that most likely indicate osteoporosis according to the standards determined by Warriner et al. (19). These standards describe and assign scores for several fracture-risk groups according to age, sex, and race, with higher scores representing the most probable fractures due to osteoporosis. For this study, we included fractures with scores of > 5 . We did not include fractures located in the open clavicle [International Classification of Diseases, Clinical Modification (ICD-CM), 810.1–810.3], phalange (ICD-CM 816.1–816.13 and 826.0–826.1), tarsal/metatarsal (ICD-CM 825.0–825.39), scapula (ICD-CM 811.0–811.19), or skull/face (ICD-CM 800.00–804.99) in accordance with the ICD-CM. New cases of osteoporosis-related fractures were classified following a standardized systematic annual review of all medical records of each PREDIMED participant by qualified professionals and were confirmed by an independent researcher.

BMD (g/cm^2) at total femur (TF), lumbar spine (LS; from L1 to L4), femur neck (FN), trochanter (TR) and femoral diaphysis (FD) area sites was measured in PREDIMED-Plus participants using DXA scans (Lunar iDXA and DXA Lunar Prodigy Primo; GE Healthcare) administered by qualified radiology technicians. The T-scores for TF, LS, FN, and TR were estimated using the manufacturer's reference values for the Spanish adult population included in the DXA machine and BMD report. T-scores were estimated considering reference population, sex, age, weight, and height. The BMD of the femoral area sites was measured on the nondominant side.

Dietary assessment

Dietary intake was estimated using semi-quantitative food-frequency questionnaires (FFQs) (20). In the PREDIMED study, we gave a validated 137-item FFQ to all participants yearly from baseline to the end of the intervention period. In the PREDIMED-Plus we gave participants a 143-item FFQ. All dietary characteristics (i.e., mean

PRAL/day, mean NEAP/day, mean energy intake/day, and the nutrients present in the analysis) were assessed from FFQs (administered in yearly intervals) and averaged for each subject over his or her own multi-annual intervention period according to the Spanish nutritional food-composition tables (21, 22). We have defined these variables as the yearly mean intake of each dietary characteristic. Both PRAL and NEAP are theoretical models based on dietary intakes of certain nutrients. PRAL predicts the renal net acid excretion considering the mineral and protein composition of foods, their intestinal absorption rates, sulfur metabolism, and the urinary excretion of organic acids (8). Estimated dietary NEAP is a reflection of the total amount of acid excreted, which is higher when the amount of anions exceeds that of cations during kidney filtration (23). PRAL was estimated with the algorithm defined by Remer and Manz (8): $\text{PRAL (mEq/d)} = (0.49 \cdot \text{g protein intake/d}) + (0.037 \cdot \text{mg phosphorus/d}) - (0.021 \cdot \text{mg potassium/d}) - (0.013 \cdot \text{mg calcium/d}) - (0.026 \cdot \text{mg magnesium/d})$. NEAP was estimated using the equation developed by Frassetto et al. (12): $\text{NEAP (mEq/d)} = 54.5 \cdot (\text{g protein/mEq potassium}) - 10.2$. Both estimations were calculated using individual nutritional values (i.e., protein, phosphorus, potassium, calcium, and magnesium) obtained from the FFQ. Negative PRAL values indicate that the diet tends to produce alkalinizing salts, while positive values indicate an acid-load diet. In the same way, lower NEAP values are associated with alkaline-load diets while higher values indicate acid-load diets.

Measurements

Weight and height were taken with calibrated scales and a wall-fixed stadiometer. BMI was calculated as weight (kilograms) divided by the square of height (meters squared). Trained staff collected yearly questionnaires from the participants to obtain information on lifestyle habits, medical conditions, and medication at baseline and at the end of the study for both interventions. The validated Spanish version of the Minnesota Leisure-Time Physical Activity Questionnaire was applied in the same time frame (24). Based on serum creatinine measurements, the glomerular filtration rate was estimated (eGFR) in $\text{mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$ using the CKD-EPI (CKD Epidemiology Collaboration) equation for whites as a measure of kidney function (25).

Statistical analysis

General and dietary characteristics at baseline are presented as means \pm SDs when variables were quantitative and had normal distribution or as medians (IQR) for non-normal distribution, and as percentages (*n*) for categorical variables. Differences between the 2 study populations were tested with 1-factor ANOVA and a chi-square test.

To evaluate the longitudinal association between PRAL or NEAP and the occurrence of osteoporotic fracture in the PREDIMED study, we divided the participants into tertiles for the yearly mean of PRAL or NEAP from the first FFQ at the baseline visit to the last FFQ before the fracture occurred, or until the end of follow-up or death in those who did not have osteoporotic fractures. Similarly, nutritional secondary adjusting variables (carbohydrate, fatty acids, fiber, and vitamin D consumption) were estimated as the yearly mean from the baseline visit to the final visit intervention, the last FFQ before the fracture occurred, or death. We analyzed the relation between the yearly mean PRAL and NEAP for tertiles and continuous variables and the risk of osteoporotic fracture with 3e multivariable Cox proportional regression models with robust variance estimators and considering intracluster correlations. For this purpose, the participants who shared a household were defined as clusters and were considered in the Cox models as a cluster variable. The first model was adjusted for age (years), sex, BMI (kg/m^2), leisure-time physical activity [metabolic equivalent of task (MET)-minutes/day], educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), the intervention group, and smoking status (never, former, current smoker). The second model was also adjusted for the eGFR [$\text{mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$], the prevalence of diabetes (yes/no), the prevalence of previous fractures (yes/no), the prevalence of hypertension (yes/no), use of insulin (yes/no), use of estrogen drugs (yes/no), use of vitamin D and calcium supplements (yes/no), use of osteoporotic drugs

(yes/no), the total yearly mean intake of carbohydrates (grams/day), fatty acids (grams/day), fiber (grams/day), vitamin D (micrograms/day), and energy intake (kilocalories/day). Furthermore, we used a Cox regression analysis to assess the quadratic trend, assigning the median value of each tertile. Because the means of PRAL and NEAP showed a significant U-shape and the quadratic trend P values (P q-trend) were significant, the second tertile was established as the tertile of reference and the shape of the association was visually inspected using a restricted cubic spline with 3 knots placed at the 10th, 50th, and 90th percentiles of the PRAL score. The reference value was assigned to zero as a neutral value of PRAL for calculating HRs and 95% CIs. The results are presented as HRs and 95% CIs. The assumption of the Cox proportional hazard was checked with the Schoenfeld residuals using the “cox.zph” function in the “Survival” package ($P = 0.89$ for the most-adjusted PRAL model and $P = 0.91$ for the most-adjusted NEAP model).

To assess the cross-sectional associations between PRAL or NEAP and BMD in the PREDIMED-Plus study, we categorized participants into tertiles of baseline PRAL and NEAP values. We used ANOVA and ANCOVA for the crude and adjusted model, respectively. The latter was adjusted for sex, age (years), smoking status (never, current, former), leisure-time physical activity (MET/day), educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), glycated hemoglobin, the prevalence of obesity (yes/no), the prevalence of osteoporosis (yes/no), eGFR [$\text{mL}/(\text{min} \cdot 1.73 \text{ m}^2)$], total energy intake (kilocalories/day), use of calcium and/or vitamin D supplements (yes/no), use of hormonal treatment (yes/no), use of osteoporotic drugs (yes/no), and use of insulin (yes/no). The assumptions of the ANCOVA models were checked using visual or quantitative methods. All graphs and tests (Shapiro-Wilk test and Levene's tests) yielded models that met the independence of observations, homogeneity of variance (all Levene's test P values >0.05), and normality of residuals (all Shapiro-Wilk test P values >0.05) criteria. Additionally, as described above, we assessed the quadratic trend, assigning the median score within each tertile, and using these scores as continuous variables in a multivariable linear regression model. We used the Tukey test to make multiple comparisons between tertiles. For this analysis, we used the official PREDIMED-Plus database updated on 13 June 2017. Possible interactions within sex \times PRAL or sex \times NEAP were evaluated using the likelihood ratio test. The fully adjusted models were compared with the same models plus interaction product terms. Because there were no effect modifications ($P > 0.05$), all of the analyses were performed with the complete study population in both trials. In addition, we conducted different sensitivity analyses. First, we repeated the PREDIMED-Plus database analyses using BMD T-scores (FD was not repeated for lack of T-score estimations). Second, we excluded participants with a history of fractures in both databases. Third, we excluded participants with fractures that occurred during the first year of intervention in the PREDIMED database. And finally, we excluded participants who take calcium and/or vitamin D supplements in both populations. The confounder variables included in the models were considered when significant differences were found across tertiles, based on known biological plausibility or considering their statistical influence on the present data. We considered statistically significant P values <0.05 for all tests with bilateral contrast. All statistical analyses were performed using the R software v 3.3.2 (www.r-project.org) (R Development Core Team, 2012), including the “Survival” v2.41-3 package for the Cox regression analysis and the “effects” v3.1-2 package for multivariable ANCOVA. The restricted cubic spline was constructed using Stata Statistical Software, release 14 (StataCorp LP, College Station, TX).

Results

A summary of the main sociodemographic, anthropometric, and clinical characteristics of the participants from the 2 studies is presented in **Table 1**. There were no significant differences in the percentage of sexes, BMI, physical activity expenditure,

smoking habit, educational level, previous fractures, or use of drugs (except for calcium and vitamin D supplements) between the PRAL tertiles in the PREDIMED trial. Similarly, there were no significant differences in the percentage of sexes, prevalence of previous fractures, T2D, hypertension, or the use of drugs between the PRAL tertiles in the PREDIMED-Plus trial. However, BMI, physical activity, smoking status, and educational level were significantly different between the PRAL tertiles in the PREDIMED-Plus study participants, unlike in the PREDIMED study.

Table 2 shows the baseline dietary characteristics in both studies. The intake of proteins, total fatty acids, both SFAs and MUFAs, calcium, and phosphorus was significantly greater, whereas fiber and potassium intake was lower, in the participants in the highest tertile than those in the lower 2 tertiles in both study populations ($P < 0.05$). Furthermore, the intake of carbohydrates, vitamin D, and magnesium was higher in the third PRAL tertile in the PREDIMED-Plus participants ($P < 0.05$) but not in the PREDIMED group. Differences in the yearly mean nutrient intake according to PRAL tertiles are shown in **Supplemental Table 1**. As in the main tables, **Supplemental Table 1** shows that total energy intake and the yearly mean intake of protein, total fatty acids, vitamin D, and phosphorus were significantly higher, and fiber and potassium intakes were lower, in the third PRAL tertile in the PREDIMED study population ($P < 0.05$).

Table 3 shows the association between PRAL and NEAP and the risk of osteoporotic fracture. A total of 114 new fracture events were documented in the PREDIMED study after a mean of 5.2 y of intervention and 8.9 y of total follow-up. The participants in the highest PRAL or NEAP tertiles had a 91% (HR: 1.91; 95% CI: 1.14, 3.19) or 87% (HR: 1.87; 95% CI: 1.10, 3.17) greater risk of osteoporotic fractures than those in the middle tertile, respectively. Likewise, the lowest tertile of the 2 scores showed a 73% (HR: 1.73; 95% CI: 1.03, 2.91) and 83% (HR: 1.83; 95% CI: 1.08, 3.09) higher risk of fracture compared with the second tertile, respectively, after adjusting for sociodemographic, anthropometric, and clinical variables. The restricted cubic spline analysis (**Figure 1**) suggests a nonlinear association between PRAL and fracture risk (P -nonlinearity = 0.007).

The comparative relations between BMD and PRAL are shown in **Table 4** and between BMD and NEAP in **Table 5**. The highest PRAL tertile was significantly associated with lower BMD at the TF, FN, TR, and FD but not at the LS. Similarly, the highest NEAP tertile was associated with lower BMD at the TF, FN, and TR but not at the LS and FD. **Supplemental Tables 2** and **3** show the analyses between T-scores and PRAL or NEAP. In the same trend, the highest PRAL and NEAP tertiles were significantly associated with a lower T-score at the TF, FN, and TR in the adjusted models.

None of the results of any of the sensitivity analyses differed from our principal findings (**Supplemental Tables 4–10**). When we excluded subjects with a previous history of fractures (151 participants in the PREDIMED, 10 participants in the PREDIMED-Plus), the fracture risk was significantly higher in the first tertile [HR (95% CI): 1.94 (1.09, 3.02) and 1.99 (1.12, 3.54) for PRAL and NEAP, respectively]. BMD was significantly lower in the third tertile for all locations except for the LS and FD. Similar findings were obtained when we excluded incident cases of osteoporosis-related fractures that occurred during the first year of follow-up in the PREDIMED study ($n = 7$) [HR (95% CI): 1.68 (1.00, 2.84) and 1.77 (1.03, 3.02) for PRAL and NEAP, respectively].

TABLE 1 Baseline characteristics of study participants according to tertiles of PRAL¹

Variable	PREDIMED trial			P ²	PREDIMED-Plus trial			P ²
	T1 (n = 290)	T2 (n = 290)	T3 (n = 290)		T1 (n = 368)	T2 (n = 367)	T3 (n = 367)	
Age, y	67 ± 6	68 ± 6	67 ± 6	0.018	66 ± 5	65 ± 5	64 ± 5	<0.001
Women, % (n)	56 (163)	58 (169)	51 (148)	0.196	52 (190)	47 (174)	44 (163)	0.143
BMI, kg/m ²	29.6 ± 3.1	29.9 ± 3.3	29.4 ± 3.5	0.196	32.2 ± 3.2	32.7 ± 3.3	33.0 ± 3.5	0.006
Leisure-time energy expenditure in physical activity, MET-min/d	276 ± 274	250 ± 257	260 ± 259	0.486	431 ± 381	392 ± 352	343 ± 307	0.003
Smoking status, % (n)								
Never	60 (175)	68 (196)	58 (168)	0.200	46 (168)	44 (161)	36 (131)	0.015
Current	15 (42)	8 (24)	13 (39)		10 (38)	11 (39)	16 (60)	
Former	25 (73)	24 (70)	29 (83)		44 (162)	45 (168)	48 (176)	
Educational level, % (n)								
Illiterate/primary	78 (226)	76 (222)	74 (214)	0.776	56 (208)	54 (200)	45 (164)	0.019
Secondary	15 (42)	18 (52)	20 (59)		27 (99)	27 (101)	34 (126)	
Academic/graduate	7 (22)	6 (16)	6 (17)		17 (61)	18 (67)	21 (77)	
Previous fractures, % (n)	15 (42)	22 (63)	16 (46)	0.050	1 (5)	0 (1)	1 (4)	0.269
Diabetes, % (n)	46 (134)	52 (152)	57 (166)	0.029	25 (92)	19 (70)	22 (79)	0.143
Arterial hypertension, % (n)	90 (261)	85 (246)	82 (238)	0.022	83 (306)	83 (305)	81 (296)	0.624
eGFR, mL/(min · 1.73 m ²)	77.2 ± 17.4	75.5 ± 16.4	79.5 ± 17.1	0.021	84.6 ± 13.2	85.7 ± 12.7	85.0 ± 13.0	0.453
Medication use, % (n)								
Insulin	7 (19)	4 (12)	7 (20)	0.305	4 (14)	2 (7)	4 (14)	0.234
Calcium and vitamin D supplements	12 (35)	14 (41)	8 (22)	0.039	4 (16)	4 (15)	5 (17)	0.934
Oral anticoagulants	1 (2)	2 (5)	1 (2)	0.364	16 (59)	11 (42)	13 (48)	0.104
Oral antidiabetic drugs	32 (93)	33 (95)	39 (113)	0.157	19 (69)	14 (53)	15 (56)	0.236
Estrogens	2 (7)	2 (5)	3 (8)	0.604	2 (7)	2 (6)	3 (9)	0.655

¹Values are means ± SDs or % (n). eGFR, estimated glomerular filtration rate; MET-min, metabolic equivalent of task minutes; PRAL, potential renal acid load; PREDIMED, PREvenición con Dieta MEDiterranea; T, tertile.

²P values for comparisons of baseline parameters between 3 groups tested by 1-factor ANOVA for the continuous variable or Pearson's chi-square test for categorical variables.

Discussion

In the present study, we found a significant U-shaped association between PRAL and risk of osteoporotic fractures in a middle-aged and elderly population at high cardiovascular risk. Both high and low PRAL and NEAP values are associated with higher fracture risk. Nonetheless, the acid-forming potential of the diet was only associated with a lower BMD at different sites in a middle-aged and elderly population with metabolic syndrome.

To our knowledge, the U-shaped association between dietary acid load and osteoporotic fractures has never been reported before. Previous epidemiological studies have reported a U-shaped relation between dietary acid load and all-cause and cardiovascular mortality as well as T2D risk (26–28). Data from 2 prospective cohorts, the Swedish Mammography Cohort and the Cohort of Swedish Men, which included 81,697 men and women aged 45–84 y, showed that both excess diet alkalinity and acidity were associated with higher mortality risk after a

TABLE 2 Baseline dietary characteristics of study participants according to tertiles of PRAL¹

Variable	PREDIMED trial			P ²	PREDIMED-Plus trial			P ²
	T1 (n = 290)	T2 (n = 290)	T3 (n = 290)		T1 (n = 368)	T2 (n = 368)	T3 (n = 367)	
Total energy intake, kcal/d	2260 ± 594	2260 ± 574	2405 ± 600	0.004	2400 ± 595	2370 ± 521	2610 ± 627	<0.001
Protein, g/d	90 ± 22	94 ± 21	101 ± 23	<0.001	92 ± 22	96 ± 20	108 ± 24	<0.001
Carbohydrates, g/d	234 ± 76	224 ± 69	236 ± 76	0.114	256 ± 74	236 ± 66	260 ± 85	<0.001
Total fatty acids, g/d	100 ± 29	104 ± 31	111 ± 31	<0.001	103 ± 30	106 ± 26	118 ± 30	<0.001
SFAs, g/d	25 ± 8	27 ± 9	30 ± 10	<0.001	24 ± 8	26 ± 8	32 ± 10	<0.001
MUFAs, g/d	51 ± 16	52 ± 16	55 ± 17	0.006	54 ± 16	54 ± 15	60 ± 16	<0.001
PUFAs, g/d	16 ± 6	16 ± 6	17 ± 6	0.251	17 ± 8	17 ± 7	18 ± 7	0.147
Alcohol, g/d	3 (0, 11)	2 (0, 11)	4 (0, 11)	0.914	5 (1, 14)	6 (1, 17)	4 (1, 15)	0.189
Fiber, g/d	25 ± 8	23 ± 7	22 ± 7	<0.001	30 ± 8	25 ± 8	24 ± 9	<0.001
Vitamin D, µg/d	6 ± 4	6 ± 3	6 ± 3	0.169	6 ± 3	6 ± 3	7 ± 3	0.005
Calcium, mg/d	987 ± 347	1030 ± 350	1070 ± 370	0.021	1020 ± 377	993 ± 306	1090 ± 376	<0.001
Potassium, mg/d	4460 ± 1160	4190 ± 1018	4080 ± 1017	<0.001	4940 ± 1083	4290 ± 902	4170 ± 983	<0.001
Phosphorus, mg/d	1620 ± 398	1690 ± 399	1820 ± 451	<0.001	1710 ± 444	1710 ± 392	1900 ± 466	<0.001
Magnesium, mg/d	372 ± 98	364 ± 95	370 ± 101	0.610	425 ± 105	391 ± 98	403 ± 108	<0.001
PRAL, mEq/d	−10 ± 14	−1 ± 2	9 ± 12	<0.001	−18 ± 9	−1 ± 3	13 ± 8	<0.001

¹Values are means ± SDs or medians (IQRs). PRAL, potential renal acid load; PREDIMED, PREvenición con Dieta MEDiterranea; T, tertile.

²P values for comparisons of baseline parameters between 3 groups tested by 1-factor ANOVA for variables with normal distribution or Kruskal-Wallis test for variables with non-normal distribution.

TABLE 3 Risk of osteoporotic fracture by tertiles of PRAL and NEAP in the PREDIMED trial¹

	T1 (n = 290)	T2 (n = 290)	T3 (n = 290)	P q-trend
Follow-up: mean PRAL, mEq/d	-8.2 ± 5.2	1.1 ± 2.0	10.0 ± 4.7	
Fracture event, % (n)	14.5 (42)	10.3 (30)	14.5 (42)	
Crude model	1.46 (0.91, 2.32)	1 (Ref)	1.48 (0.93, 2.37)	0.068
Multivariable model ²	1.65 (1.03, 2.63)	1 (Ref)	1.79 (1.11, 2.87)	0.013
Multivariable model ³	1.73 (1.03, 2.91)	1 (Ref)	1.91 (1.14, 3.19)	0.007
Follow-up: mean NEAP, mEq/d	33.5 ± 2.8	38.7 ± 1.1	44.5 ± 2.9	
Fracture event, % (n)	14.5 (42)	10.3 (30)	14.5 (42)	
Crude model	1.83 (1.15, 2.94)	1 (Ref)	1.59 (0.98, 2.60)	0.014
Multivariable model ²	1.82 (1.14, 2.91)	1 (Ref)	1.76 (1.07, 2.89)	0.008
Multivariable model ³	1.83 (1.08, 3.09)	1 (Ref)	1.87 (1.10, 3.17)	0.007

¹Values are means ± SDs, % (n), or HRs (95% CI). eGFR, estimated glomerular filtration rate; MET, metabolic equivalent of task; NEAP, net endogenous acid production; P q-trend, quadratic trend P value; PRAL, potential renal acid load; PREDIMED, PREvención con Dieta MEDiterranea; Ref, reference; T, tertile.

²Model adjusted for age (years), sex, BMI (kg/m²), leisure-time physical activity (MET-minutes/day), educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), intervention group, and smoking status (never, former, current smoker).

³Model additionally, adjusted for the eGFR [mL/(min · 1.73 m²)], prevalence of diabetes (yes/no), prevalence of hypertension (yes/no), prevalence of previous fractures (yes/no), use of insulin (yes/no), use of estrogen drugs (yes/no), use of calcium and/or vitamin D supplementation (yes/no), total yearly mean carbohydrate intake (grams/day), total yearly mean fatty acid intake (grams/day), total yearly mean fiber intake (grams/day), total yearly mean vitamin D intake (micrograms/day), and total yearly mean energy intake (kilocalories/day).

15-y follow-up period (26). Similarly, a systematic review of 7 prospective cohort studies with 319,542 participants found a U-shaped association between PRAL and risk of T2D (27).

Acid-base balance is regulated within a tight interval in which any imbalance in blood pH or the bicarbonate buffer can affect health. The potential relation between the impact of diet-induced acid-base imbalance and several chronic diseases has attracted the attention of researchers for some time (26–30). Metabolic acidosis can also influence bone health in other ways, such as disrupting insulin sensitivity and glucose homeostasis,

which can induce inflammation and oxidative stress (31, 32). Based on several measures of femoral BMD, our results showed that participants in the highest PRAL and NEAP tertiles had lower femoral BMD, with both scores within the range of values found in previous studies (11, 15, 16). Consistently high PRAL and NEAP values were associated with an increased risk of osteoporotic fracture, even after adjusting for major potential confounders such as sex, BMI, age, eGFR, and vitamin D and calcium supplementation. In vitro studies have shown that metabolic acidosis stimulates fibroblast growth factor 23

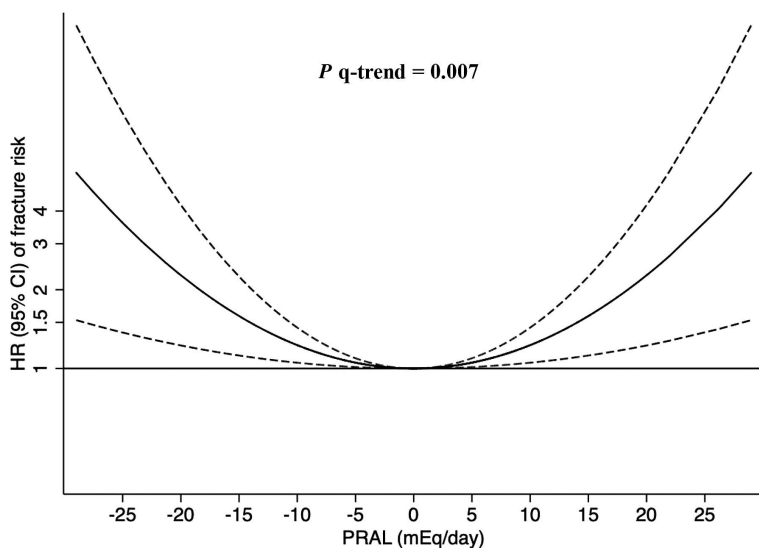


FIGURE 1 HRs (solid line) and 95% CIs for fracture risk associated with PRAL in the PREDIMED population (n = 870). The model was made with restricted cubic spline with 3 knots placed at the 10th, 50th, and 90th percentiles. A measure of 0 mEq/d was selected as the reference value. The model was adjusted for age (years), sex, BMI (kg/m²), leisure-time physical activity (metabolic equivalent of task-minutes/day), educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), intervention group, smoking status (never, former, current smoker), the eGFR [mL/(min · 1.73 m²)], prevalence of diabetes (yes/no), prevalence of hypertension (yes/no), prevalence of previous fractures (yes/no), use of insulin (yes/no), use of estrogen drugs (yes/no), use of calcium and/or vitamin D supplementation (yes/no), total yearly mean carbohydrate intake (grams/day), total yearly mean fatty acid intake (grams/day), total yearly mean fiber intake (grams/day), total yearly mean vitamin D intake (micrograms/day), and total yearly mean energy intake (kilocalories/day). The curved solid line represents the HR, the horizontal solid line is the reference line, and dashed lines represent the 95% CIs. eGFR, estimated glomerular filtration rate; P q-trend, quadratic trend P value; PRAL, potential renal acid load; PREDIMED, PREvención con Dieta MEDiterranea.

TABLE 4 Comparisons of covariate-adjusted mean of BMD by tertiles of PRAL in the PREDIMED-Plus trial¹

	T1 (n = 368)	T2 (n = 367)	T3 (n = 367)	P-Diff ²	P _{q-trend} ³
Total femur, n	368	367	367		
PRAL, mEq/d	-17.61 ± 9.16	-1.38 ± 3.20	12.90 ± 7.76		
Adjusted BMD, ^{4,5} g/cm ²	1.030 ± 0.007	1.040 ± 0.007	1.010 ± 0.007	0.004	0.019
Lumbar spine: L1-L4, n	328	327	327		
PRAL, mEq/d	-17.23 ± 9.06	-1.45 ± 3.15	12.95 ± 7.73		
Adjusted BMD, ⁴ g/cm ²	1.170 ± 0.010	1.180 ± 0.010	1.160 ± 0.010	0.387	0.269
Femur neck, n	376	375	375		
PRAL, mEq/d	-17.68 ± 9.04	-1.49 ± 3.21	12.85 ± 7.72		
Adjusted BMD, ^{4,5} g/cm ²	0.930 ± 0.007	0.940 ± 0.007	0.910 ± 0.007	0.012	0.017
Trochanter, n	376	376	375		
PRAL, mEq/d	-17.76 ± 9.09	-1.48 ± 3.23	12.87 ± 7.72		
Adjusted BMD, ^{4,5,6} g/cm ²	0.870 ± 0.006	0.870 ± 0.006	0.840 ± 0.006	0.002	0.116
Femoral diaphysis, n	368	367	367		
PRAL, mEq/d	-17.61 ± 9.16	-1.38 ± 3.20	12.90 ± 7.76		
Adjusted BMD, ^{4,5} g/cm ²	1.240 ± 0.008	1.250 ± 0.008	1.210 ± 0.009	0.016	0.035

¹Values are means ± SDs. BMD, bone mineral density; eGFR, estimated glomerular filtration rate; MET, metabolic equivalent of task; P-Diff, P value between tertiles; P_{q-trend}, quadratic trend P value; PRAL, potential renal acid load; PREDIMED, PREvención con Dieta MEDiterranea; T, tertile.

²P value for comparisons between tertiles was tested by ANCOVA.

³P_{q-trend} was tested by multivariable linear regression using the median of each PRAL tertile.

⁴Model adjusted for sex, age (years), smoking status (never, current, former), leisure-time physical activity (MET-minutes/day), educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), glycated hemoglobin, prevalence of obesity (yes/no), prevalence of previous fractures (yes/no), eGFR [mL (min · 1.73 m²)], total energy intake (kilocalories/day), use of calcium and/or vitamin D supplementation (yes/no), use of hormonal treatment (yes/no), and use of insulin (yes/no).

⁵P < 0.05 for comparisons between T2 and T3 with Tukey test.

⁶P < 0.05 for comparisons between T1 and T3 with Tukey test.

(FGF23) and osteoblastic cyclooxygenase 2 (COX2) activity, which are both important mediators of bone resorption and suppressors of serum concentrations of 1,25-dihydroxyvitamin D, which leads to weaker bone structure (33, 34).

Beyond the buffering capacity of bone, other mechanisms, including insulin resistance and inflammation, could contribute to explaining the association found between acidity and bone health. Low-grade metabolic acidosis has been related to reduced insulin secretion, higher insulin resistance (31), higher

blood pressure, and increased hypertension risk (9), all risk factors for osteoporotic fractures. Moreover, in a recent study conducted with 172 elderly subjects, higher tertiles of NEAP were associated with lower concentrations of type I collagen cross-linked C-telopeptide (CTX-1) (35), but further research is necessary to determine whether dietary acid load could modulate bone cross-linkers.

A recent meta-analysis showed that alkaline supplementation had a protective effect on bone metabolism, reflected as a

TABLE 5 BMD according to tertiles of NEAP in the PREDIMED-Plus trial¹

	T1	T2	T3	P-Diff ²	P _{trend} ³
Total femur, n	368	367	367		
NEAP, mEq/d	29.27 ± 3.73	37.02 ± 1.83	45.90 ± 5.07		
Adjusted BMD, ^{4,5,6} g/cm ²	1.030 ± 0.007	1.030 ± 0.007	1.010 ± 0.007	0.012	0.010
Lumbar spine: L1-L4, n	328	327	327		
NEAP, mEq/d	29.36 ± 3.76	36.98 ± 1.80	45.95 ± 5.14		
Adjusted BMD, ⁴ g/cm ²	1.170 ± 0.010	1.180 ± 0.010	1.160 ± 0.010	0.612	0.437
Femur neck, n	376	375	375		
NEAP, mEq/d	29.28 ± 3.69	36.98 ± 1.83	45.90 ± 5.07		
Adjusted BMD, ^{4,5} g/cm ²	0.930 ± 0.007	0.940 ± 0.007	0.910 ± 0.007	0.024	0.037
Trochanter, n	376	376	375		
NEAP, mEq/d	29.25 ± 3.70	36.97 ± 1.83	45.90 ± 5.07		
Adjusted BMD, ^{4,5,6} g/cm ²	0.870 ± 0.006	0.870 ± 0.006	0.840 ± 0.006	<0.001	<0.001
Femoral diaphysis, n	368	367	367		
NEAP, mEq/d	29.27 ± 3.73	37.02 ± 1.83	45.90 ± 5.07		
Adjusted BMD, ⁴ g/cm ²	1.240 ± 0.008	1.240 ± 0.008	1.220 ± 0.008	0.068	0.042

¹Values are means ± SDs. BMD, bone mineral density; eGFR, estimated glomerular filtration rate; MET, metabolic equivalent of task; NEAP, net endogenous acid production; P-Diff, P value between tertiles; PREDIMED, PREvención con Dieta MEDiterranea; T, tertile.

²P values for comparisons between tertiles were tested by ANCOVA for the adjusted model.

³P_{trend} was tested by multivariable linear regression using the median of each NEAP tertile.

⁴Model adjusted for sex, age (years), smoking status (never, current, former), leisure-time physical activity (MET-minutes/day), educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), glycated hemoglobin, prevalence of obesity (yes/no), prevalence of previous fractures (yes/no), eGFR [mL (min · 1.73 m²)], total energy intake (kilocalories/day), use of calcium and/or vitamin D supplementation (yes/no), use of hormonal treatment (yes/no), and use of insulin (yes/no).

⁵P < 0.05 for comparisons between T2 and T3 with Tukey test.

⁶P < 0.05 for comparisons between T1 and T3 with Tukey test.

decrease in renal calcium excretion without an impact on either bone formation markers or BMD (36).

However, lower PRAL and NEAP dietary acid loads were associated with an increased risk of osteoporosis fractures in the PREDIMED study. These results were supported by 2 different sensitive analyses excluding subjects with a previous history of fractures and those who developed osteoporotic fractures during the first year of the study. Although it is not clear why the excess base-forming potential of the diet was associated with a higher risk of osteoporotic fractures, the difference in the quantity and quality of dietary protein intake could partly explain this association, although our data do not support this possible explanation (37). Protein intake has a positive effect on the release of several hormones, such as insulin-like growth factor I (IGF-I) and growth hormone, which stimulate bone formation and could reduce the impact of protein-related acidity (38). Discrepancies observed in the association between dietary acid load and osteoporotic fractures or densitometry parameters might be explained by differences in total leisure-time physical activity, which is substantially higher in the PREDIMED-Plus study subjects (39,40). Although low BMD is an important conditioning factor for osteoporotic fractures, at equal BMD values, fractures occur more easily in some bones than others, implying that bone strength is also conditioned by bone geometry and microarchitecture (41). Further working hypotheses and research are necessary to determine whether the acid- or base-forming potential of diet could affect bone strength beyond differences in BMD.

This study benefits from 2 population-based prospective trials with detailed data on dietary intake and potential confounders, a large number of participants, long-term follow-up in the PREDIMED trial, and the use of yearly mean values for PRAL and NEAP in the prospective analysis, which allowed for a more accurate estimation of dietary changes during the follow-up and reduced the within-person variation. Other strengths are the use of a DXA scan for measuring BMD and an impartial score for recognizing fractures despite being based on fracture sets identified by diagnostic codes. The sensitive analysis findings also contribute to strengthening our results. Nevertheless, our results should be interpreted in the context of some limitations. We used 2 well-established, accepted, and validated algorithms to estimate PRAL and NEAP that have proven to be well correlated with renal net acid excretion and body acidity, but we do not have specific biomarkers in urine or plasma. Similarly, we did not have circulating biomarkers for vitamin D, glycated hemoglobin (only available for PREDIMED-Plus participants), or calcium, which would allow us to rule out their possible influence. As this is an observational analysis, and although we adjusted for major potential confounders, we cannot dismiss the role of residual confounding by unknown factors, such as mechanical loading, muscle area, sarcopenic obesity, or others, which makes it more difficult to draw causal conclusions. Since fractures were assessed in the context of a dietary intervention trial, we cannot completely rule out a potential residual effect of nutritional interventions on PRAL estimation. To decrease this potential bias as well as others related to the use of FFQs to estimate PRAL, we used the yearly mean for PRAL estimation along with the trial, and all of the analyses were adjusted for the intervention group. However, we cannot dismiss the possibility that the low PRAL values reflected a less bone-protective nutritional pattern unrelated to acid-base status. Additionally, to take a critical view of our work, our analyses are secondary

objectives in the context of 2 cohort studies with well-defined objectives not related to bone metabolism. For this reason, we cannot rule out the possibility of an increased likelihood of false positives and type I errors after randomization. A final consideration is that the analyses were conducted with middle-aged and elderly subjects at high cardiovascular risk living in a Mediterranean country and might not be generalizable beyond this population.

In summary, the results of our study suggest that both high and low dietary acid loads are associated with a higher risk of osteoporotic fractures, although only high dietary acid showed an inverse relation with BMD in a senior population at high cardiovascular risk and metabolic syndrome. The potential mechanism that would explain the association between low dietary acid and fracture risk could also be mediated by mechanisms other than lower BMD and needs to be researched further.

Acknowledgments

We acknowledge and appreciate all the work of the PREDIMED and PREDIMED-Plus personnel, and are grateful for all support received from Rovira i Virgili University (URV), Pere Virgili Institute (IISPV), and Sant Joan Hospital. We also thank the Fundación Patrimonio Comunal Olivarero and Hojiblanca SA (Málaga, Spain), the California Walnut Commission (Sacramento, CA), Borges SA (Reus, Spain), and Morella Nuts SA (Reus, Spain) for donating the olive oil, walnuts, almonds, and hazelnuts used in the PREDIMED study. The authors' responsibilities were as follows—MB: had full access to all the data in the study and takes full responsibility for the integrity and accuracy of the data analysis; JFG-G, AM, JK, RM-P, AG-A, AG, JS-S, and MB: study concept and design; JFG-G, AM, JK, RM-P, AG-A, AG, JS-S, and MB: acquisition of data; JFG-G, JS-S, and MB: analysis and interpretation of data; JFG-G and MB: drafting of the manuscript; JFG-G, AM, JK, RM-P, AG-A, JB, LB, AG, SC, JS-S, and MB: critical revision of the manuscript for important intellectual content; JAM, AG-A, AG, JS-S, and MB: obtained funding; and all authors: read and approved the final manuscript.

References

1. World Health Organization. Prevention and management of osteoporosis. World Health Organ Tech Rep Ser [Internet] 2003 [cited 2018 Sep 2];921:1–164. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15293701>.
2. Schürer C, Wallaschofski H, Nauck M, Völzke H, Cummings SR, Melton LJ, Azagra R, López-Expósito F, Martín-Sánchez JC, Aguyé A, et al. Fracture Risk and Risk Factors for Osteoporosis. *Dtsch Arztebl Int*. [Internet] 2015;112:365–72, [cited 2015 Jan 17]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24322478>.
3. Ezzati M, Riboli E. Behavioral and dietary risk factors for noncommunicable diseases. *N Engl J Med* [Internet] 2013 [cited 2018 Sep 3];369:954–64. Available from: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMra1203528>.
4. Cauley JA, Cawthon PM, Peters KE, Cummings SR, Ensrud KE, Bauer DC, Taylor BC, Shikany JM, Hoffman AR, Lane NE, et al. Risk factors for hip fracture in older men: the Osteoporotic Fractures in Men Study (MrOS). *J Bone Miner Res* [Internet] 2016 [cited 2018 Sep 3];31:1810–9. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.2836>.
5. Lee DSH, Markwardt S, Goeres L, Lee CG, Eckstrom E, Williams C, Fu R, Orwoll E, Cawthon PM, Stefanick ML, et al. Statins and physical activity in older men: the Osteoporotic Fractures in Men Study. *JAMA Intern Med* 2014;174:1263–70.
6. Garcia AH, Franco OH, Voortman T, de Jonge EAL, Gordillo NG, Jaddoe VW V, Rivadeneira F, van den Hooven EH. Dietary acid load in early life and bone health in childhood: the Generation R Study. *Am J*

- Clin Nutr. [Internet] 2015 [cited 2018 Sep 3];102:1595–603. Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article/102/6/1595/455178>.
7. Mangano KM, Walsh SJ, Kenny AM, Insogna KL, Kerstetter JE. Dietary acid load is associated with lower bone mineral density in men with low intake of dietary calcium. *J Bone Miner Res.* [Internet] 2014 [cited 2018 Sep 3];29:500–6. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/jbmr.2053>.
 8. Remer T, Manz F. Potential renal acid load of foods and its influence on urine pH. *J Am Diet Assoc* [Internet] 1995 [cited 2018 Sep 3];95:791–7. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7797810>.
 9. Carnauba R, Baptistella A, Paschoal V, Hübscher G. Diet-induced low-grade metabolic acidosis and clinical outcomes: a review. *Nutrients* [Internet] 2017 [cited 2018 Sep 3];9:538. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28587067>.
 10. Wynn E, Lanham-New SA, Krieg M-A, Whittamore DR, Burckhardt P. Low estimates of dietary acid load are positively associated with bone ultrasound in women older than 75 years of age with a lifetime fracture. *J Nutr* [Internet] 2008 [cited 2018 Sep 3];138:1349–54. Available from: <https://academic.oup.com/jn/article/138/7/1349/4670210>.
 11. Welch AA, Bingham SA, Reeve J, Khaw KT. More acidic dietary acid-base load is associated with reduced calcaneal broadband ultrasound attenuation in women but not in men: results from the EPIC-Norfolk cohort study. *Am J Clin Nutr* [Internet] 2007 [cited 2018 Sep 3];85:1134–41. Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article/85/4/1134/4648888>.
 12. Frassetto LA, Todd KM, Morris RC, Sebastian A. Estimation of net endogenous noncarbone acid production in humans from diet potassium and protein contents. *Am J Clin Nutr.* [Internet] 1998 [cited 2018 Sep 3];68:576–83. Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article/68/3/576/4648631>.
 13. Esche J, Johner S, Shi L, Schönau E, Remer T. Urinary citrate, an index of acid-base status, predicts bone strength in youths and fracture risk in adult females. *J Clin Endocrinol Metab* 2016;101:4914–21.
 14. Frassetto L, Banerjee T, Powe N, Sebastian A. Acid balance, dietary acid load, and bone effects—a controversial subject. *Nutrients* [Internet] 2018 [cited 2018 Sep 10]. 10:517. Available from: <http://www.mdpi.com/2072-6643/10/4/517>.
 15. de Jonge E, Koromani F, Hofman A, Uitterlinden AG, Franco OH, Rivadeneira F, Kieft-de Jong JC. Dietary acid load, trabecular bone integrity, and mineral density in an ageing population: the Rotterdam study. *Osteoporos Int* 2017; [cited 2018 Sep 3]. 28:2357–65. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00198-017-4037-9>.
 16. McLean RR, Qiao N, Broe KE, Tucker KL, Casey V, Cupples LA, Kiel DP, Hannan MT. Dietary acid load is not associated with lower bone mineral density except in older men. *J Nutr* [Internet] 2011; [cited 2018 Sep 3]. 141:588–94. Available from: <https://academic.oup.com/jn/article/141/4/588/4630600>.
 17. 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* [Internet]. 2011; [cited 2018 Sep 3]. 10:41. Available from: <http://nutrition.biomedcentral.com/articles/10.1186/1475-2891-10-41>.
 18. Warriner AH, Patkar NM, Curtis JR, Delzell E, Gary L, Kilgore M, Saag K, Thomas-John M, Codd MB, Manne S, et al., Which fractures are most attributable to osteoporosis?, *J Clin Epidemiol* [Internet]. 2011; [cited 2016 Jul 16]. 64:46–53. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0895435610002635>.
 19. Alberti K, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart J-C, James WPT, Loria CM, Smith SC, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: A Joint Interim Statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* [Internet] 2009 [cited 2014 Jul 9]. 120:1640–5. Available from: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>.
 20. Fernández-Ballart JD, Piñol JL, Zazpe I, Corella D, Carrasco P, Toledo E, Perez-Bauer M, Martínez-González MA, Salas-Salvadó J, Martínez-Moreno JM. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br J Nutr* [Internet] 2010 [cited 2015 Dec 6];103:1808–16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21026675>.
 21. Mataix J. *Tablas de Composición de Alimentos*. 4th ed. Granada (Spain): Universidad de Granada; 2003.
 22. Moreira O, Carvajal A, Cabrera L, editors. *Tablas de Composición de Alimentos [food-composition tables]*. 9th ed. Madrid (Spain): Ediciones Pirámide; 2005.
 23. Osuna-Padilla IA, Leal-Escobar G, Garza-García CA, Rodríguez-Castellanos FE. Carga ácida de la dieta; mecanismos y evidencia de sus repercusiones en la salud. *Nefrología.* [Internet] 2019 [cited 2020 Jul 16];39:343–54. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30737117/>.
 24. Elosua R, Marrugat J, Molina L, Pons S, Pujol E. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire in Spanish men. The MARATHOM Investigators. *Am J Epidemiol* 1994 [cited 2016 Feb 13];139:1197–209. [Internet]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8209878>.
 25. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang Y, Castro AF, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Lente F V, Greene T, et al. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med* 2009;150:604–12.
 26. Xu H, Åkesson A, Orsini N, Håkansson N, Wolk A, Carrero JJ. Modest U-shaped association between dietary acid load and risk of all-cause and cardiovascular mortality in adults. *J Nutr* 2016 [Internet] [cited 2018 Sep 3];146:1580–5. Available from: <https://academic.oup.com/jn/article/146/8/1580/4630466>.
 27. Jayedi A, Shab-Bidar S. Dietary acid load and risk of type 2 diabetes: a systematic review and dose-response meta-analysis of prospective observational studies. *Clin Nutr ESPEN* 2018 [cited 2018 Sep 3];23:10–8. [Internet]. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2405457717304709>.
 28. Akter S, Nanri A, Mizoue T, Noda M, Sawada N, Sasazuki S, Tsugane S; Japan Public Health Center-based Prospective Study Group. Dietary acid load and mortality among Japanese men and women: the Japan Public Health Center-based Prospective Study. *Am J Clin Nutr* [Internet] 2017 [cited 2018 Sep 3];106:146–54. Available from: <https://academic.oup.com/ajcn/article/106/1/146-154/4569818>.
 29. Della Guardia L, Roggi C, Cena H. Diet-induced acidosis and alkali supplementation. *Int J Food Sci Nutr* [Internet] 2016 [cited 2018 Sep 3];67:754–61. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/09637486.2016.1198889>.
 30. Fagherazzi G, Vilier A, Bonnet F, Lajous M, Balkau B, Boutron-Ruault M-C, Clavel-Chapelon F. Dietary acid load and risk of type 2 diabetes: the E3N-EPIC cohort study. *Diabetologia* [Internet] 2014 [cited 2018 Sep 3];57:313–20. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24232975>.
 31. Della Guardia L, Thomas MA, Cena H. Insulin sensitivity and glucose homeostasis can be influenced by metabolic acid load. *Nutrients* 2018 [cited 2018 Sep 3]. [Internet];10:618. Available from: <http://www.mdpi.com/2072-6643/10/5/618>.
 32. Frassetto LA, Sebastian A. How metabolic acidosis and oxidative stress alone and interacting may increase the risk of fracture in diabetic subjects. *Med Hypotheses* [Internet] 2012 [cited 2018 Sep 3];79:189–92. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22583559>.
 33. Krieger NS, Bushinsky DA. Stimulation of fibroblast growth factor 23 by metabolic acidosis requires osteoblastic intracellular calcium signaling and prostaglandin synthesis. *Am J Physiol Ren Physiol* 2017;313:F882–6.
 34. Krieger NS, Culbertson CD, Kyker-Snowman K, Bushinsky DA. Metabolic acidosis increases fibroblast growth factor 23 in neonatal mouse bone. *Am J Physiol Ren Physiol* 2012;303:F431.
 35. Fatahi S, Rahmani J, Kord Varkaneh H. The relationship between dietary acid load and bone metabolism markers in Tehranian elderly. *Razi J Med Sci* [Internet] 2018 [cited 2018 Oct 11];25:58–68. Available from: http://rjms.iums.ac.ir/browse.php?a_code = A-10-3775-1&cs_l_ang = en&sid = 1.
 36. Lambert H, Frassetto L, Moore JB, Torgerson D, Gannon R, Burckhardt P, Lanham-New S. The effect of supplementation with alkaline potassium salts on bone metabolism: a meta-analysis. *Osteoporos Int* 2015;26:1311–8.
 37. Cao JJ. High dietary protein intake and protein-related acid load on bone health. *Curr Osteoporos Rep* [Internet] 2017 [cited 2018 Sep 3];15:571–6. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s11914-017-0408-6>.

38. Giustina A, Mazziotti G, Canalis E. Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton. *Endocr Rev* [Internet] 2008 [cited 2018 Sep 3];29:535–59. Available from: <https://academic.oup.com/edrv/article-lookup/doi/10.1210/er.2007-0036>.
39. Ross M, Lithgow H, Hayes L, Florida-James G. Potential cellular and biochemical mechanisms of exercise and physical activity on the ageing process. *Subcellular Biochemistry* 2019;91:311–38.
40. Hart PD, Buck DJ. The effect of resistance training on health-related quality of life in older adults: systematic review and meta-analysis. *Health Promot Perspect* 2019;9:1–12.
41. Njeh CF, Fuerst T, Diessel E, Genant HK. Is quantitative ultrasound dependent on bone structure? A reflection. *Osteoporos Int* [Internet] 2001 [cited 2018 Oct 11];12:1–15. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11305077>.

5.3. Publicación 4

Inflammatory potential of diet and bone mineral density in a senior Mediterranean population: a cross-sectional analysis of PREDIMED-Plus study

❖ Estado de publicación: Enviado a revista

RESULTADOS

Resumen

Introducción

La inflamación podría desempeñar un papel clave en el daño tisular y el metabolismo óseo. La puntuación inflamatoria dietética modificada (M-DIS) es una herramienta validada para estimar el potencial inflamatorio de la dieta.

Objetivo

En el presente estudio, evaluamos las asociaciones entre el M-DIS y la densidad mineral ósea (DMO) en una población mediterránea senior con sobrepeso/obesidad y síndrome metabólico.

Métodos

Se evaluó la asociación transversal basal entre el M-DIS y la DMO en 1134 participantes de 55 a 75 años de edad con sobrepeso u obesidad y síndrome metabólico del ensayo multicéntrico PREDIMED-Plus. La DMO se midió mediante escáneres de absorciometría de rayos X de energía dual (DXA) y los participantes respondieron un cuestionario de frecuencia alimentaria (FFQ) para determinar el M-DIS. La DMO se clasificó como “DMO baja” cuando la puntuación T era igual o inferior a -1 y “DMO normal” en otro caso. Las asociaciones entre DMO y M-DIS se evaluaron mediante regresiones lineales y logísticas ajustadas por otras covariables como sexo, edad, IMC y actividad física.

Resultados

Después de ajustar por posibles factores de confusión, los participantes en el tercil superior del M-DIS tenían una DMO más baja en el fémur

Calidad de la alimentación y salud ósea

total [β (IC del 95%): -0.02 (-0.03, -0.01)], el trocánter [β (IC del 95%): -0.03 (-0.05, -0.01)] y la columna lumbar [β (IC del 95%): -0.03 (-0.07, 0.00)] (en el último caso, las medidas fueron menos precisas y, por lo tanto, no estadísticamente significativas) en comparación con los del tercil M-DIS inferior. Los análisis de regresión logística múltiple mostraron que las probabilidades de osteopenia/osteoporosis del fémur total y del trocánter femoral fueron mayores en los participantes del tercil superior en comparación con los del tercil más bajo de M-DIS [OR (IC del 95%): 1.74 (1.14, 2.68), *P* para la tendencia 0.012; OR (IC del 95%): 2.07 (1.32; 3.28), *P* para la tendencia 0.002, respectivamente].

Conclusiones

Una dieta proinflamatoria, medida por el M-DIS, se asocia con una DMO más baja en una población mediterránea de edad avanzada con síndrome metabólico.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

Article

Inflammatory potential of diet and bone mineral density in a senior Mediterranean population: a cross-sectional analysis of PREDIMED-Plus study

Jesús F. García-Gavián^{1,2,3}, Indira Paz-Graniell^{1,2,3}, Nancy Babio^{1,2,3}, Dora Romaguera^{3,4}, José Alfredo Martínez^{3,5,6}, Vicente Martín^{7,8}, María Ángeles Martínez^{1,2}, Jadwiga Konieczna^{3,4}, Miguel Ruiz-Canela^{3,5,6}, José Antonio de Paz Fernández⁷, Albert Goday^{3,9}, Miguel Ángel Martínez-González^{3,10,11}, Mònica Bulló^{1,2,3*}, Jordi Salas-Salvadó^{1,2,3*}

- ¹ Universitat Rovira i Virgili, Departament de Bioquímica i Biotecnologia, Unitat de Nutrició Humana. Hospital Universitari San Joan de Reus, Reus, Spain; jesusfrancisco.garcia@iispv.cat (JFG-G); indiradelsocorro.paz@urv.cat (IP-G); nancy.babio@urv.cat (NB); mangeles.martinez@urv.cat (MAM)
- ² Institut d'Investigació Sanitària Pere Virgili (IISPV), Reus, Spain
- ³ CIBER Physiology of Obesity and Nutrition (CIBEROBN), Carlos III Health Institute, Madrid, Spain
- ⁴ Research Group on Nutritional Epidemiology & Cardiovascular Physiopathology (NUTRECOR). Health Research Institute of the Balearic Islands (IdISBa), University Hospital Son Espases (HUSE), Palma de Mallorca, Spain; mariaadoracion.romaguera@ssib.es (DR); jadzia.konieczna@gmail.com (JK)
- ⁵ University of Navarra, Department of Nutrition, Food Science and Physiology, IDISNA, Pamplona, Spain; jalfmtz@unav.es (JAM); mcanela@unav.es (MR-C)
- ⁶ Nutritional Genomics and Epigenomics Group, IMDEA Food, CEI UAM + CSIC, Madrid, Spain
- ⁷ Institute of Biomedicine (IBIOMED), University of León, León, Spain; vicente.martin@unileon.es (VM); japaz@unileon.es (JAdPF)
- ⁸ CIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Spain
- ⁹ Unit of Cardiovascular Risk and Nutrition, Hospital del Mar Medical Research Institute (IMIM), Barcelona, Spain; AGoday@parcdesalutmar.cat (AG)
- ¹⁰ Department of Preventive Medicine and Public Health, Navarra Health Research Institute (IDISNA), University of Navarra, Pamplona, Spain; mamartinez@unav.es (MAM-G)
- ¹¹ Department of Nutrition, Harvard TH Chan School of Public Health, Boston, MA, USA
- * Correspondence: jordi.salas@urv.cat (JS-S), monica.bullo@urv.cat (MB); Tel.: +34-977-759311 (JS-S), +34-977-759388 (MB)

Citation: Lastname, F.; Lastname, F.; Lastname, F. Title. *Nutrients* **2021**, *13*, x. <https://doi.org/10.3390/xxxxx>

Academic Editor: Firstname Lastname

Received: date
Accepted: date
Published: date

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Submitted for possible open access publication under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: Inflammation could play a key role in tissue damage and bone metabolism. The modified dietary inflammatory score (M-DIS) is a validated tool to estimate the inflammatory potential of the diet. In the present study, we evaluate the associations between the M-DIS and bone mineral density (BMD) in a senior Mediterranean population with overweight/obesity and metabolic syndrome. Baseline cross-sectional association between the M-DIS and bone mineral density was assessed in 1134 participants of the multicenter PREDIMED-Plus trial (aged 55-75 with overweight/obesity and metabolic syndrome). BMD was measured using Dual-energy X-ray Absorptiometry scans and participants answered a food frequency questionnaire to determine the M-DIS. BMD was categorized as low BMD when T-score was equal or lower than -1 and normal BMD in another case. Associations between BMD and M-DIS were evaluated by using linear and logistic regressions adjusted by other co-variables. Participants in the top tertile of the M-DIS had a lower BMD at total femur [β (95% CI): -0.02 (-0.03, -0.01)], trochanter areas [β (95% CI): -0.026 (-0.05, -0.01)] and lumbar spine area [β (95% CI): -0.03 (-0.07, 0.00)] (but in the last case, measures were less precise and hence not statistically significant) compared to those in the lower M-DIS tertile. Multiple logistic regression analyses showed that the odds of the total femur and femoral trochanter osteopenia/osteoporosis were higher in participants in the top tertile compared to those in the lowest tertile of M-DIS [OR (95% CI): 1.74 (1.14, 2.68), P for trend 0.012; 2.07 (1.32, 3.28), P for trend 0.002, respectively]. A high pro-inflammatory diet, measured by the M-DIS, is associated with lower BMD in a senior Mediterranean population with metabolic syndrome.

Keywords: diet, bone mineral density, inflammation, osteoporosis

1. Introduction

Osteoporosis is an age-related chronic disease characterized by the loss of bone mass and trabecular alterations that decline bone strength and increases the risk of fractures. These changes are influenced by genetic factors and age-related hormone changes, but also by other modifiable factors related to lifestyle such as diet quality, physical activity, sedentary lifestyle and smoking habits [1, 2].

Several epidemiological studies have associated systemic inflammation with increased risk of developing non-communicable chronic diseases, especially obesity, Type 2 Diabetes (T2D), and cardiovascular diseases, but also to osteoporosis, frailty and sarcopenia [3–6]. In this regard, inflammation could play a key role in tissue damage and bone metabolism [7]. Some pro-inflammatory cytokines, such as Tumor Necrosis Factor alpha (TNF- α) or interleukin 6 (IL-6), may exert an inhibitory effect on osteoprotegerin (OPG) increasing Receptor Activator for Nuclear Factor κ B Ligand (RANKL) concentrations, and consequently, increasing the osteoclastic activity, bone resorption and the risk of osteoporosis incidence [8, 9].

Diet plays an important role in the modulation of inflammation and, consequently, may have a relevant role in the prevention of osteoporosis. Healthy dietary patterns rich in fruits, vegetables, whole grains, and fish have demonstrated anti-inflammatory effects and reduced bone re-absorption [10], while the consumption of specific nutrients, like fiber, omega-3 and monounsaturated fatty acids, and vitamin D among others, has been associated with lower concentrations of circulating inflammatory markers [10, 11]. Contrary, other studies have linked a higher adherence to pro-inflammatory dietary patterns rich in processed food, fat, and red meat with lower bone mineral density (BMD) and increased peripheral inflammation [10–13].

In this context, the modified dietary inflammatory score (M-DIS) is a validated tool to estimate the inflammatory potential of the diet [14]. Previous studies have shown that higher M-DIS scores are significantly associated with higher circulating inflammatory markers and increased risk of metabolic alterations and chronic diseases such as obesity, metabolic syndrome, T2D, cardiovascular disease and osteoporosis [14–18]. A recent meta-analysis of epidemiological studies have reported an inverse association between M-DIS and BMD at lumbar spine and total hip both in men and women, but not at femoral neck, together with an increased risk of osteoporosis and fractures [19]. However, the certainty of the evidence derived from this meta-analysis is low because of the high heterogeneity between studies, their low number of studies included and done mainly between post-menopausal females, and the lack of studies in a Mediterranean population. Therefore, it is necessary more prospective studies involving other populations of diverse places and genders are warranted to assess the generalization of the results and increase the level of evidence of these associations.

In the present study, we evaluated the associations between the M-DIS score and bone mineral density in a senior Mediterranean population with overweight/obesity and metabolic syndrome.

2. Materials and Methods

This is a cross-sectional analysis conducted in a subset of 1134 participants from the PREDIMED-Plus study, a multicenter, randomized, and parallel-group clinical trial including 6874 women and men, aged 55–75 years old with overweight or obesity and metabolic syndrome. Participants were recruited between October 2013 and October 2016 in four of the twenty-three PREDIMED-Plus recruiting centers.

Detailed protocol and study information was previously published [20] and is available at <http://predimedplus.com>. Both the protocol and procedures were implemented

following to the ethical standards of the Declaration of Helsinki and approved by the institutional ethics review boards of each study center. In addition, all participants provided a written informed consent. The PREDIMED-Plus study was registered at <http://www.isrctn.com/> (ISRCTN89898870).

2.1. Bone assessment:

A Lunar Prodigy X-ray Bone Densitometer (DXA) (DXA Lunar Prodigy Primo and Lunar iDXA; GE Healthcare, Madison, WI) was used to assess bone mineral density (BMD) (g/cm²). For this analysis, it was used the bone measurements obtained in the following areas: total femur (TF), lumbar spine (from L1 to L4) (LS), and trochanter (TR). The BMD at the femoral area was measured on the non-dominant side. The T-score of these three measurements (TF, LS and TR) were calculated using the reference values for the Spanish adult population included in the DXA software considering sex, age, weight, and height of reference population.

2.2. Dietary assessment:

Dietary intake was estimated using a validated semi-quantitative food frequency questionnaire (FFQ) composed of 143 items [21]. Energy and nutrient intakes were calculated using Spanish nutritional food composition tables [22, 23]. The method used to estimate the M-DIS scores has been previously described and published [14]. In short, the M-DIS is a score calculated using previous articles published that assessed the effect of 45 foods, nutrients (macro and micro) and flavonoids on several inflammatory biomarkers. Each food parameter was scored according to its influence on these inflammatory biomarkers (+1 if the parameter increased the inflammatory biomarkers, 0 if it did not have any effect or -1 if it decreased them). To estimate the individual M-DIS score, the intake of every food item was standardized using the world means and SD provided in the procedure [14]. The final score is the sum of all its components for each participant. This allows us to classify the participant's diet as an anti-inflammatory (negative values) or pro-inflammatory (positive values) diet. Like previous studies [17], the following 32 nutrient/food parameters were used to compute the M-DIS score: caffeine, alcohol, vitamin B1, vitamin B2, vitamin B3, vitamin B6, vitamin B12, vitamin A, vitamin C, vitamin E, vitamin D, carbohydrates, protein, cholesterol, total fatty acids, monounsaturated fatty acids, polyunsaturated fatty acids, saturated fatty acids, trans fatty acids, energy intake, fiber, folic acid, garlic, iron, magnesium, selenium, zinc, n-3 fatty acids, n-6 fatty acids, beta-carotenes, onions and tea.

2.3. Other variables measurements:

Registered dietitians collected information about lifestyle habits, health status conditions, and medication used. Leisure-time physical activity was evaluated with the validated Spanish version of the Minnesota Leisure-Time Physical Activity Questionnaire [24]. Body mass index (BMI) was calculated as weight (kg) divided by the square of height (m²). Both weight and height were measured with calibrated scales and light clothes.

2.4. Statistical analysis:

Participants were categorized by tertiles of the M-DIS score. Baseline characteristics were described according to these tertiles as mean \pm standard deviations (SD) when variables were quantitative or percentages (n) when variables were categorical and differences between tertiles were tested using analysis of variance (ANOVA) or chi-square test, respectively. A dichotomic "low BMD status" variable was categorized from the BMD considering the established World Health Organization (WHO) cut-offs for each area points [2]: low BMD status (1) when T-score of TF, TR or LS was equal or lower than -1; normal BMD status (0) when T-score values were higher than -1.

Several models were used to evaluate the association between M-DIS and BMD. Analysis of covariance (ANCOVA) was used to compare differences between tertiles of M-DIS of BMD in TF, TR and LS. All models were adjusted for sex (woman/man), preva-

lence of T2D (yes/no), age (years), BMI (kg/m²), educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), smoking status (never/current/former), physical activity (METs/day), recruitment center and total energy intake (kcal/day). The assumptions of the ANCOVA models were checked using visual or quantitative methods. All graphs and tests yielded models that met the independence of observations, homogeneity of variance, and normality of residuals criteria. Additionally the Tukey test was used to make multiple comparisons between M-DIS tertiles.

Linear and logistic regression models were fitted to assess the associations between M-DIS and BMD in TF, TR and LS (linear regression models) or low BMD status (logistic regression). For these analyses, we used tertiles of M-DIS in both linear and logistic models, considering first tertile (low M-DIS) as the reference. Multivariable models were adjusted for sex (woman/man), prevalence of T2D (yes/no), age (years), BMI (kg/m²), educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), smoking status (never/current/former), physical activity (METs/day), recruitment center and total energy intake (kcal/day).

Several stratified logistic regression analyses were conducted in TF and LS measures as sensitivity analyses, according to participants by age (< 70y/≥ 70y), sex, BMI (< 30 kg/m²/ ≥ 30 kg/m²) and type II diabetes groups. Models were adjusted by the same variables used in the main analyses.

To assess the P for trend in both linear and logistic models, the M-DIS score was modeled as a continuous variable. Interactions with sex, T2D and BMI were evaluated using the likelihood ratio test including the interaction product term as covariables. Because there were no effect modifications (P > 0.05), all the analyses were performed with the complete study population.

For these analyses, we used the official PREDIMED-Plus database updated on 13 June 2017. It was considered statistically significant all P-values <0.05. The present statistical analyses were performed with the R software v3.6.1 (www.r-project.org) (R Development Core Team, 2012).

3. Results

Table 1 shows the baseline characteristics of the studied population by tertiles of the M-DIS score. Participants in the lowest M-DIS tertile (highest anti-inflammatory capacity) had higher physical activity than those in the top tertile. Education was also significantly different across M-DIS tertiles. No differences across M-DIS tertiles were observed in relation to age, sex, BMI, smoking status and prevalence of T2D or osteoporosis.

Table 1. Baseline characteristics of PREDIMED Plus participants by tertiles of M-DIS.

	Tertile 1 (n = 368)	Tertile 2 (n = 368)	Tertile 3 (n = 368)	P-value
M-DIS	-9.61 ± 3.39	-3.36 ± 1.18	1.44 ± 2.21	
Age, years	65.43 ± 4.83	64.86 ± 4.94	64.90 ± 5.19	0.229
Sex, women % (n)	45.40 (167)	46.20 (170)	51.60 (190)	0.182
BMI (kg/m ²)	32.57 ± 3.46	32.53 ± 3.27	32.82 ± 3.38	0.448
Physical activity, METs/d	438.19 ± 376.57	377.60 ± 339.40	326.83 ± 289.02	<0.001
Smoker, % (n)				0.089
Never	41.60 (153)	39.70 (146)	43.20 (159)	
Current	10.10 (37)	12.50 (46)	14.70 (54)	
Former	48.30 (178)	47.80 (176)	42.10 (155)	
Education, %, (n)				0.043
Illiterate/primary	52.40 (193)	48.70 (189)	54.40 (200)	
Secondary	25.00 (92)	34.20 (126)	29.60 (109)	
Academic/graduate	22.60 (83)	17.10 (63)	16.00 (59)	

Type 2 Diabetes, % (n)	22.80 (84)	20.40 (75)	22.30 (82)	0.701
Osteoporosis, % (n)	1.10 (4)	0.30 (1)	1.40 (5)	0.269
Total energy intake, kcal/d	2839.50 ± 555.80	2450.50 ± 514.40	2108.60 ± 473.20	<0.001

Values are presented as mean ± SD or percentage (n). P-values were calculated with ANOVA test (quantitative variables) and chi-square test (qualitative variables). M-DIS, modified dietary inflammatory score; BMD, bone mineral density; BMI, body mass index

Table 2 shows the beta-coefficients (β) and trends of associations between tertiles of M-DIS score and BMD. Compared to those in the lowest M-DIS tertile, participants in the highest tertile had a lower BMD at total femur [β (95% CI): -0.02 (-0.043, -0.01)], trochanter [β (95% CI): -0.026 (-0.05, -0.01)] and lumbar spine area [β (95% CI): -0.03 (-0.07, 0.00)] after adjusting for potential confounders. However, the last area were less precise and hence not statistically significant. Moreover, the M-DIS showed a significant inverse association with BMD in total femur (P-value: 0.049), trochanter (P-value: 0.012) and lumbar spine (P-value: 0.044) areas. Higher M-DIS scores were also associated with lower BMD status in all three BMD measured sites after adjustment for potential confounders [(mean ± SD, T1 vs T3) TF: 1.04 ± 0.15 vs 1.02 ± 0.14, P-value: 0.021; TR: 0.88 ± 0.15 vs 0.85 ± 0.15, P-value: <0.001; LS: 1.19 ± 0.19 vs 1.16 ± 0.21; P-value: 0.032].

Table 2. Associations of BMD by tertiles of M-DIS in the PREDIMED-Plus trial.

	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	P for trend
n	368	368	368	
Total Femur, g/cm ²	1.04 ± 0.15	1.02 ± 0.14†	1.02 ± 0.14†	0.021
Crude model	0 (reference)	-0.02 (-0.04, -0.01)	-0.02 (-0.04, -0.01)	0.047
Adjusted model*	0 (reference)	-0.02 (-0.04, -0.01)	-0.02 (-0.04, -0.01)	0.049
n	377	376	376	
Trochanter, g/cm ²	0.88 ± 0.15	0.85 ± 0.14†	0.85 ± 0.15†	<0.001
Crude model	0 (reference)	-0.03 (-0.05, -0.01)	-0.03 (-0.05, -0.01)	0.002
Adjusted model*	0 (reference)	-0.03 (-0.04, -0.01)	-0.03 (-0.05, -0.01)	0.012
n	328	328	328	
Lumbar Spine L1 – L4, g/cm ²	1.19 ± 0.19	1.16 ± 0.18	1.16 ± 0.21	0.032
Crude model	0 (reference)	-0.03 (-0.06, 0.01)	-0.03 (-0.06, -0.01)	0.042
Adjusted model*	0 (reference)	-0.04 (-0.06, -0.01)	-0.03 (-0.07, 0.01)	0.044

ANCOVAs were used to compare covariate-adjusted mean of bone mineral density with tertiles of M-DIS. Linear regression models were used to evaluate the association between bone mineral density and tertiles of M-DIS. Results are expressed as β coefficients (95% CIs), and means ± SDs. M-DIS, modified dietary inflammatory score.

† P < 0.05 for comparisons between Tertile 2/Tertile 3 and Tertile 1 with Tukey Test.

* Models adjusted for sex (woman/man), prevalence of T2D (yes/no), age (years), BMI (kg/m²), smoking status (never/current/former), physical activity (met/day), educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), recruiting center, and total energy intake (kcal/day).

The distribution of total low BMD events was unlike between BMD measures. The first tertile of TF, TR, and LS had 71, 54, and 99 events, while the third tertile of TF, TR, and LS had 97, 86, and 119 events, respectively. The odds ratios (OR) and 95% CI for low BMD status across tertiles of the M-DIS score are shown in Table 3. The M-DIS score was associated with low BMD status in both the TF (OR: 1.74, 95% CI: 1.14 - 2.68; P-trend:

0.012) and the TR sites (OR: 2.07, 95% CI: 1.32 - 3.28; P-trend: 0.002) when comparing those participants in the third tertile versus those in the first tertile. Those participants in the top M-DIS tertiles had a non-significant increased odds of low BMD status compared to those in the reference tertile (OR: 1.44, 95% CI: 0.96 - 2.18, P-trend: 0.090).

Table 3. Odds ratio and 95% Confidence Intervals between low BMD and tertiles of M-DIS.

	Tertile 1	Tertile 2	Tertile 3	P for trend
Total Femur, n	362	361	361	
Low BMD, % (n)	19.60 (71)	24.90 (90)	26.90 (97)	
Crude model	1 (reference)	1.36 (0.96, 1.94)	1.51 (1.06, 2.14)	0.022
Adjusted model*	1 (reference)	1.46 (0.99, 2.16)	1.74 (1.14, 2.68)	0.012
Trochanter, n	377	376	376	
Low BMD, % (n)	13.50 (54)	19.70 (74)	22.90 (86)	
Crude model	1 (reference)	1.47 (1.00, 2.15)	1.78 (1.22, 2.60)	0.003
Adjusted model*	1 (reference)	1.60 (1.06, 2.44)	2.07 (1.32, 3.28)	0.002
Lumbar Spine L1 – L4, n	324	323	323	
Low BMD, % (n)	30.60 (99)	36.50 (118)	36.80 (119)	
Crude model	1 (reference)	1.31 (0.94, 1.82)	1.33 (0.96, 1.84)	0.093
Adjusted model*	1 (reference)	1.43 (0.99, 2.07)	1.44 (0.96, 2.18)	0.090

Logistical regression models were used to evaluate the association between low BMD and tertiles of the dietary inflammatory score. Results are expressed as odds ratio (95% CIs), and % (n). BMD was considered low for all participants with a T-score less than -1 in every BMD measure. M-DIS, modified dietary inflammatory score; BMD, bone mineral density.

* Models adjusted for sex (woman/man), prevalence of T2D (yes/no), age (years), BMI (kg/m²), smoking status (never/current/former), physical activity (met/day), educational level (illiterate/primary education, secondary education, and academic/graduate), recruiting center and total energy intake (kcal/day).

Results from the sensitivity analyses did not differ from the general ones (Figure 1 and Figure 2). BMD at the TF showed significant association between M-DIS's tertiles and low BMD status, when participants were younger than 70 years (OR: 1.66, 95% CI: 1.02 - 2.71), presented overweight (OR: 2.99, 95% CI: 1.26 - 7.32) and were not diabetics (OR: 1.91, 95% CI: 1.20 - 3.08), when comparing those participants in the third versus those in the first tertile. No significant differences in the associations between M-DIS tertiles and low BMD status were found in LS.

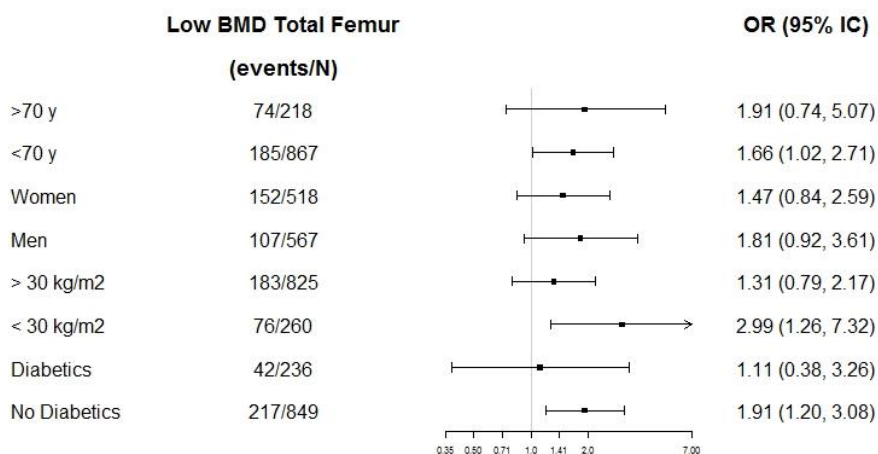


Figure 1. Odds ratios (ORs) and 95% Confidence Intervals (95% CI) for low BMD in total femur comparing tertile 3 versus tertile 1 of the M-DIS score stratified by age, sex, BMI, and T2D status. ORs were adjusted by sex, the prevalence of T2D, age, BMI, smoking, education, recruiting center, physical activity, and energy intake.

236
237
238
239
240
241

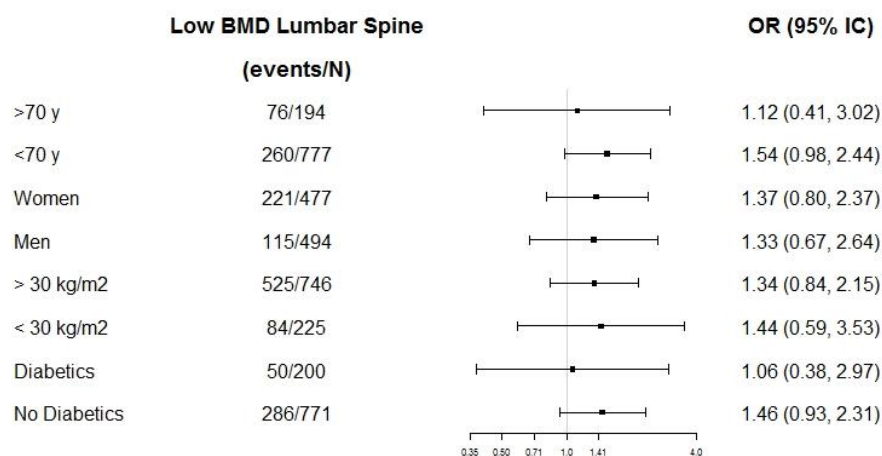


Figure 2. Odds ratios (ORs) and 95% Confidence Intervals (95% CI) for low BMD in lumbar spine comparing tertile 3 versus tertile 1 of the M-DIS score stratified by age, sex, BMI, and diabetes status. ORs were adjusted by sex, the prevalence of T2D, age, BMI, smoking, education, recruiting center, physical activity, and energy intake.

242
243
244
245
246

4. Discussion

247

In the current cross-sectional analysis, we report a significant association between a high M-DIS score and low bone mineral density at different sites (total femur, trochanter and lumbar spine), along with an increased risk of osteopenia or osteoporosis, in a senior Mediterranean population with metabolic syndrome. These results suggest that a pro-inflammatory diet favors an adverse bone context that promotes bone loss mechanisms.

248
249
250
251
252

The concept of M-DIS was introduced to provide a tool that could link individuals' intakes and the overall inflammatory potential of their diets [14]. From now on, several epidemiological trials have investigated the relationship between the M-DIS score and bone health. In a recent Korean study including 2778 elderly postmenopausal women

253
254
255
256

aged > 50 years [25], a higher M-DIS score was associated with low femoral BMD. Meanwhile, in the Women's Health Initiative study, postmenopausal women with a lower M-DIS score showed to have low baseline hip BMD and less BMD losses after 6 years of follow-up, compared to those who had a high M-DIS score [26]. In the context of the NHANES (United States National Health and Nutrition Examination Survey Study), an increased M-DIS score was also found to be associated with a decreased BMD across most of the measured bone sites (total femur, femoral neck, trochanter, intertrochanter, Wards triangle, total spine, lumbar vertebrae L3, and lumbar vertebrae L4) in both, men and women [27]. Our findings are consistent with these previous studies. The M-DIS score was inversely associated with BMD measurements in both the femur (total femur and trochanter) and lumbar spine (lumbar spine L1 – L4) considering in the analysis both sexes merged.

Osteoporosis is a chronic condition that can be influenced by various food and nutrients intake. In our study, participants in the highest tertile of the M-DIS score presented an increased risk of osteopenia or osteoporosis in the femur but no in the lumbar spine. Previous studies have obtained similar results. In a cross-sectional study conducted on Korean women, it was observed that a high M-DIS score was significantly related to higher ORs for low BMD status (osteopenia cases + osteoporosis cases) in the total femur and femoral neck but not in the lumbar spine [25]. Similarly, in another Korean longitudinal study including representative data of 59291 men and 114502 women, participants with higher inflammatory potential diets had an increased risk of osteoporosis compared to those with a low M-DIS score, although the authors do not specify the measured locations [28]. It should be highlighted that the relative risk of osteoporosis changes depending on bone site and age. For example, the incidence of osteoporosis cases in the femur increases with age [29]. In our study with a mean participant's age of 65 years, it can speculate that inflammatory diets have a higher effect on bone sites as femur with a relatively higher risk of developing osteoporosis in comparison to other sites such as the lumbar spine.

Higher M-DIS scores have also been associated with an increased risk of fractures, the most devastating consequence of osteoporosis [26, 30]. Unfortunately, our study did not have data to explore it.

The mechanisms underlying the association between BMD and inflammatory effect of diet are not completely understood. Several studies have shown that the M-DIS score was positively associated with numerous inflammatory biomarkers [18, 31]. The quality of diet is a modifiable lifestyle factor that can affect bone metabolism and health [19, 32, 33]. The consumption of specific nutrients and some healthy dietary patterns have been associated with better concentrations of cytokines and specific anti-inflammatory bone biomarkers [10, 34, 35]. Carbohydrate and saturated fatty acids are nutrients associated with a positive M-DIS score that can promote osteoporosis development and associated fractures [36]. In addition to disrupt the normal function of osteoblasts by modifications in the glucose and insulin secretion homeostasis [37, 38], high saturated fatty acid and added sugars diets promote a chronic low-grade activation of pro-inflammatory pathways that benefit the osteoclastogenesis and bone resorption processes [39]. Inflammatory cytokines can mediate bone loss via stimulation of osteoclast formation and promotion of the OPG/RANK/RANKL pathway [8, 9, 40]. High serum concentrations of the inflammatory cytokines IL-6 and TNF- α have been associated with osteoporosis [5, 7, 9]. Additionally, *in vitro* studies have evidenced that both molecules have a stimulatory effect on osteoclasts by stimulating bone resorption [41–44]. Oxidative stress as exacerbating circumstance of inflammatory process also has a key role in bone degeneration [45]. High concentrations of reactive oxygen species (ROS) and reactive nitrogen species (RNS), resulting from the cellular redox process reduce bone mass, inhibit the osteoblastogenesis [46, 47] and increase osteoblast apoptosis by stimulation of RANKL and TNF- α expression [47]. The ability of the organism to produce antioxidants declines with age. Anti-inflammatory diets (i.e., negative M-DIS diets rich in vegetables and fruits) have an important

quantity of anti-oxidative compounds that can protect against these processes. Our findings are in line with existing similar studies, in which some food components or the whole diet have shown to have the ability to regulate and modify the inflammatory processes modulating the risk of bone disease.

Certain limitations of our study required to be mentioned. First, we cannot establish a cause-effect relation because of the cross-sectional nature of the analyses. Additionally, we cannot discard a possible role of secondary factors in spite to adjust the models by potential confounders. Second, this study was carried out in a Mediterranean elderly population with metabolic syndrome, and our results cannot be generalized to other populations. In similar manner, this analysis was cross-sectional, so causal inference between BMD and the M-DIS score is limited. Finally, the lack of inflammatory markers in our study does not enable us to confirm any potential mechanism that can explain our results. However, the mayor strengths of the study are the use of a DXA scan for measuring BMD, the control for many potential confounding variables, and the inclusion of sensitivity analyses with similar results trends.

5. Conclusions

In conclusion, the results of our study suggest that a high pro-inflammatory diet, measured with an M-DIS score, is associated with lower BMD in a Mediterranean population with metabolic syndrome. The potential mechanism that would explain this association needs further research.

Supplementary Materials: The following are available online at www.mdpi.com/xxx/s1, Figure S1: Scoring of each food items used to calculate M-DIS, Table S1: Nutrient and food daily consumption according to tertiles (T) of the modified dietary inflammatory score in the subsample of PREDIMED Plus study.

Author Contributions: JS-S, DR, JAM, VM, MAM-G designed research; JFGG, IP-G, JK, JAdPF conducted research; JS-S, DR, JAM, VM, MAM-G were the coordinators of subject recruitment at the outpatient clinics; JFGG, IP-G analyzed the data; JFGG, IP-G, NB, JS-S, MB interpreted statistical analysis and data; JFGG, IP-G, MB, MR-C, AG, MAM drafted the paper; JS-S, DR, JAM, VM, MAM-G supervised the study and JS-S, DR, JAM, VM, MAM-G had full access to all of the data in the study and took responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis. All authors revised the manuscript for important intellectual content. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The PREDIMED-Plus study was supported by the Fondo de Investigación para la Salud (FIS), which is co-funded by the European Regional Development Fund of the Spanish Ministry of Health (ISCIII) (PI13/00673, PI13/00492, PI13/00272, PI13/01123, PI13/00462, PI13/00233, PI13/02184, PI13/00728, PI13/01090, PI13/01056, PI14/01722, PI14/00636, PI14/00618, PI14/00696, PI14/01206, PI14/01919, PI14/00853, PI14/01374, PI14/00972, PI14/00728, PI14/01471, PI16/00473, PI16/00662, PI16/01873, PI16/01094, PI16/00501, PI16/00533, PI16/00381, PI16/00366, PI16/01522, PI16/01120, PI17/00764, PI17/01183, PI17/00855, PI17/01347, PI17/00525, PI17/01827, PI17/00532, PI17/00215, PI17/01441, PI17/00508, PI17/01732, PI17/00926, PI19/00957, PI19/00386, PI19/00309, PI19/01032, PI19/00576, PI19/00017, PI19/01226, PI19/00781, PI19/01560, PI19/01332, PI20/01802, PI20/00138, PI20/01532, PI20/00456, PI20/00339, PI20/00557, PI20/00886, PI20/01158); the European Research Council (Advanced Research Grant 2013–2018, 340918); the Recercaixa grant 2013 (2013ACUP00194); the Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (PI0458/2013); and the Semergen grant; the 'FOLIUM' programme within the FUTURMed project from the Fundación Instituto de Investigación Sanitaria Illes Balears (financed by 2017 annual plan of the sustainable tourism tax and at 50% with charge to the ESF Operational Program 2014–2020 of the Balearic Islands) to J. Konieczna. Consorcio Ciber de Obesidad y Nutrición (CIBEROBN), Consorcio Ciber de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), and Consorcio de Diabetes y Enfermedades Metabólicas asociadas (CIBERDEM) are initiatives of ISCIII, Spain. This work is partially supported by ICREA under the ICREA Academia programme. JFG-G has received the Contratos Predoctorales de Formación en Investigación en Salud (PFIS FII17/00255) of the Acción Estratégica en Salud program (AES) from the Carlos III Health Institute (ISCIII), Spanish Ministry of Health. IP-G receives a grant from the Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades (MICINN) (FPU 17/01925).

Acknowledgments: We acknowledge and appreciate all the work of the PREDIMED-Plus personnel, and are grateful for all support received from Rovira i Virgili University (URV), Pere Virgili Institute (IISPV), and Sant Joan Hospital.

Conflicts of Interest: J.S.-S. reports serving on the board of and receiving grant support through his institution from the International Nut and Dried Fruit Council and Eroski Foundation. Reports serving in the Executive Committee of the Instituto Danone Spain and on the Scientific Committee of the Danone International Institute. He has received research support from Patrimonio Comunal Olivarero, Spain, and Borges S.A., Spain. Reports receiving consulting fees or travel expenses from Danone, Eroski Foundation, Instituto Danone—Spain, and Abbot Laboratories.

References

- Hernlund, E.; Svedbom, A.; Ivergård, M.; Compston, J.; Cooper, C.; Stenmark, J.; McCloskey, E. V.; Jönsson, B.; Kanis, J.A. 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, doi:10.1007/s11657-013-0136-1.
- World Health Organization Prevention and management of osteoporosis. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* 2003, 921, 1–164, back cover.
- Tamura, Y.; Omura, T.; Toyoshima, K.; Araki, A. Nutrition management in older adults with diabetes: A review on the importance of shifting prevention strategies from metabolic syndrome to frailty. *Nutrients* 2020, 12, 1–29.
- Tuttle, C.S.L.; Thang, L.A.N.; Maier, A.B. Markers of inflammation and their association with muscle strength and mass: A systematic review and meta-analysis. *Ageing Res. Rev.* 2020, 64.
- Weitzmann, M.N.; Pacifici, R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J. Clin. Invest.* 2006, 116, 1186–94, doi:10.1172/JCI28550.
- Barbour, K.E.; Lui, L.-Y.; Ensrud, K.E.; Hillier, T.A.; LeBlanc, E.S.; Ing, S.W.; Hochberg, M.C.; Cauley, J.A.; Study of Osteoporotic Fractures (SOF) Research Group, for the S. of O.F. (SOF) R. Inflammatory markers and risk of hip fracture in older white women: the study of osteoporotic fractures. *J. Bone Miner. Res.* 2014, 29, 2057–64, doi:10.1002/jbmr.2245.
- Pino, A.M.; Ríos, S.; Astudillo, P.; Fernández, M.; Figueroa, P.; Seitz, G.; Rodríguez, J.P. Concentration of adipogenic and pro-inflammatory cytokines in the bone marrow supernatant fluid of osteoporotic women. *J. Bone Miner. Res.* 2010, 25, 492–8, doi:10.1359/jbmr.090802.
- Gkataris, K.; Goulis, D.G.; Potoupnis, M.; Anastasilakis, A.D.; Kapetanios, G. Obesity, osteoporosis and bone metabolism. *J. Musculoskelet. Neuronal Interact.* 2020, 20, 372–381.
- Cauley, J.A.; Danielson, M.E.; Boudreau, R.M.; Forrest, K.Y.Z.; Zmuda, J.M.; Pahor, M.; Tylavsky, F.A.; Cummings, S.R.; Harris, T.B.; Newman, A.B.; et al. Inflammatory Markers and Incident Fracture Risk in Older Men and Women: The Health Aging and Body Composition Study. *J. Bone Miner. Res.* 2007, 22, 1088–1095, doi:10.1359/jbmr.070409.
- Movassagh, E.Z.; Vatanparast, H. Current Evidence on the Association of Dietary Patterns and Bone Health: A Scoping Review. *Adv. Nutr.* 2017, 8, 1–16, doi:10.3945/an.116.013326.
- Casas, R.; Castro-Barquero, S.; Estruch, R.; Sacanella, E. Nutrition and cardiovascular health. *Int. J. Mol. Sci.* 2018, 19.
- Stock, J.K. Cholesterol and inflammatory risk: Insights from secondary and primary prevention. *Atherosclerosis* 2019, 280, 192–193.
- Samraj, A.N.; Pearce, O.M.T.; Läubli, H.; Crittenden, A.N.; Bergfeld, A.K.; Band, K.; Gregg, C.J.; Bingman, A.E.; Secrest, P.; Diaz, S.L.; et al. A red meat-derived glycan promotes inflammation and cancer progression. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 2015, 112, 542–547, doi:10.1073/pnas.1417508112.
- Shivappa, N.; Steck, S.E.; Hurley, T.G.; Hussey, J.R.; Hébert, J.R. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutr.* 2014, 17, 1689–1696, doi:10.1017/S1368980013002115.
- Canto-Osorio, F.; Denova-Gutierrez, E.; Sánchez-Romero, L.M.; Salmerón, J.; Barrientos-Gutierrez, T. Dietary Inflammatory Index and metabolic syndrome in Mexican adult population. *Am. J. Clin. Nutr.* 2020, 112, 373–380, doi:10.1093/ajcn/nqaa135.
- Kim, H.Y.; Lee, J.; Kim, J. Association between dietary inflammatory index and metabolic syndrome in the general Korean population. *Nutrients* 2018, 10, doi:10.3390/nu10050648.
- García-Arellano, A.; Martínez-González, M.A.; Ramallal, R.; Salas-Salvadó, J.; Hébert, J.R.; Corella, D.; Shivappa, N.; Forga, L.; Schröder, H.; Muñoz-Bravo, C.; et al. Dietary inflammatory index and all-cause mortality in large cohorts: The SUN and PREDIMED studies. *Clin. Nutr.* 2019, 38, 1221–1231, doi:10.1016/j.clnu.2018.05.003.
- Shivappa, N.; Hebert, J.R.; Marcos, A.; Diaz, L.E.; Gomez, S.; Nova, E.; Michels, N.; Arouca, A.; González-Gil, E.; Frederic, G.; et al. Association between dietary inflammatory index and inflammatory markers in the HELENA study. *Mol. Nutr. Food Res.* 2017, 61.
- Fang, Y.; Zhu, J.; Fan, J.; Sun, L.; Cai, S.; Fan, C.; Zhong, Y.; Li, Y. Dietary Inflammatory Index in relation to bone mineral density, osteoporosis risk and fracture risk: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos. Int.* 2020, doi:10.1007/s00198-020-05578-8.

20. Martínez-González, M.A.; Buil-Cosiales, P.; Corella, D.; Bulló, M.; Fitó, M.; Vioque, J.; Romaguera, D.; Alfredo Martínez, J.; Wärnberg, J.; López-Miranda, J.; et al. Cohort profile: Design and methods of the PREDIMED-Plus randomized trial. *Int. J. Epidemiol.* 2019, 48, doi:10.1093/ije/dyy225. 421–423
21. Fernández-Ballart, J.D.; Piñol, J.L.; Zazpe, I.; Corella, D.; Carrasco, P.; Toledo, E.; Perez-Bauer, M.; Martínez-González, M.A.; Salas-Salvadó, J.; Martín-Moreno, J.M. Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br. J. Nutr.* 2010, 103, 1808–16, doi:10.1017/S0007114509993837. 424–426
22. Mataix, J. *Tablas de Composición de Alimentos*; 4th ed.; Universidad de Granada: Granada, Spain, 2003; 427
23. Moreiras, O.; Carvajal, A.; Cabrera L. *Tablas de Composición de Alimentos [Food Composition Tables]*; Moreiras, O., Carvajal, A., Cabrera, L., Eds.; 9th ed.; Ediciones Pirámide: Madrid, Spain, 2005; 428–429
24. Elosua, R.; Marrugat, J.; Molina, L.; Pons, S.; Pujol, E. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire in Spanish men. *The MARATHOM Investigators. Am. J. Epidemiol.* 1994, 139, 1197–209. 430–431
25. Na, W.; Park, S.; Shivappa, N.; Hébert, J.R.; Kim, M.K.; Sohn, C. Association between inflammatory potential of diet and bone-mineral density in Korean postmenopausal women: Data from fourth and fifth Korea national health and nutrition examination surveys. *Nutrients* 2019, 11, doi:10.3390/nu11040885. 432–434
26. Orchard, T.; Yildiz, V.; Steck, S.E.; Hébert, J.R.; Ma, Y.; Cauley, J.A.; Li, W.; Mossavar-Rahmani, Y.; Johnson, K.C.; Sattari, M.; et al. Dietary Inflammatory Index, Bone Mineral Density, and Risk of Fracture in Postmenopausal Women: Results From the Women's Health Initiative. *J. Bone Miner. Res.* 2017, 32, 1136–1146, doi:10.1002/jbmr.3070. 435–437
27. Mazidi, M.; Shivappa, N.; Wirth, M.D.; Hebert, J.R.; Vatanparast, H.; Kengne, A.P. The association between dietary inflammatory properties and bone mineral density and risk of fracture in US adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2017, 71, 1273–1277, doi:10.1038/ejcn.2017.133. 438–440
28. Kim, H.S.; Sohn, C.; Kwon, M.; Na, W.; Shivappa, N.; Hébert, J.R.; Kim, M.K. Positive association between dietary inflammatory index and the risk of osteoporosis: Results from the KoGES_health examinee (HEXA) cohort study. *Nutrients* 2018, 10, doi:10.3390/nu10121999. 441–443
29. Lee, S.; Choi, M.G.; Yu, J.; Ryu, O.H.; Yoo, H.J.; Ihm, S.H.; Kim, D.M.; Hong, E.G.; Park, K.; Choi, M.; et al. The effects of the Korean reference value on the prevalence of osteoporosis and the prediction of fracture risk. *BMC Musculoskelet. Disord.* 2015, 16, doi:10.1186/s12891-015-0523-4. 444–446
30. Zhang, Z. qing; Cao, W. ting; Shivappa, N.; Hebert, J.R.; Li, B. lin; He, J.; Tang, X. yi; Liang, Y. yong; Chen, Y. ming Association Between Diet Inflammatory Index and Osteoporotic Hip Fracture in Elderly Chinese Population. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* 2017, 18, 671–677, doi:10.1016/j.jamda.2017.02.011. 447–449
31. Cavicchia, P.P.; Steck, S.E.; Hurley, T.G.; Hussey, J.R.; Ma, Y.; Ockene, I.S.; Hébert, J.R. A new dietary inflammatory index predicts interval changes in serum high-sensitivity C-reactive protein. *J. Nutr.* 2009, 139, 2365–2372, doi:10.3945/jn.109.114025. 450–451
32. 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, 2131–41, doi:10.1007/s00198-014-2741-2. 452–454
33. Fung, T.T.; McCullough, M.L.; Newby, P.K.; Manson, J.A.E.; Meigs, J.B.; Rifai, N.; Willett, W.C.; Hu, F.B. Diet-quality scores and plasma concentrations of markers of inflammation and endothelial dysfunction. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005, 82, 163–173, doi:10.1093/ajcn.82.1.163. 455–457
34. Martínez-González, M.A.; Salas-Salvadó, J.; Estruch, R.; Corella, D.; Fitó, M.; Ros, E. Benefits of the Mediterranean Diet: Insights From the PREDIMED Study. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2015, 58, 50–60, doi:10.1016/j.pcad.2015.04.003. 458–459
35. Hosseini, B.; Berthon, B.S.; Saedisomeolia, A.; Starkey, M.R.; Collison, A.; Wark, P.A.B.; Wood, L.G. Effects of fruit and vegetable consumption on inflammatory biomarkers and immune cell populations: A systematic literature review and meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* 2018, 108, 136–155, doi:10.1093/ajcn/nqy082. 460–462
36. Ilich, J.Z.; Kelly, O.J.; Kim, Y.; Spicer, M.T. Low-grade chronic inflammation perpetuated by modern diet as a promoter of obesity and osteoporosis. *Arh. Hig. Rada Toksikol.* 2014, 65, 139–148. 463–464
37. Cunha, J.S.; Ferreira, V.M.; Maquigussa, E.; Naves, M.A.; Boim, M.A. Effects of high glucose and high insulin concentrations on osteoblast function in vitro. *Cell Tissue Res.* 2014, 358, 249–56, doi:10.1007/s00441-014-1913-x. 465–466
38. Ghodsi, M.; Larijani, B.; Keshtkar, A.A.; Nasli-Esfahani, E.; Alatab, S.; Mohajeri-Tehrani, M.R. Mechanisms involved in altered bone metabolism in diabetes: a narrative review. *J. Diabetes Metab. Disord.* 2016, 15, 52, doi:10.1186/s40200-016-0275-1. 467–468
39. Martyniak, K.; Wei, F.; Ballesteros, A.; Meckmongkol, T.; Calder, A.; Gilbertson, T.; Orlovskaya, N.; Coathup, M.J. Do polyunsaturated fatty acids protect against bone loss in our aging and osteoporotic population? *Bone* 2020, 143. 469–470
40. Wagner, D.; Fahrleitner-Pammer, A. Levels of osteoprotegerin (OPG) and receptor activator for nuclear factor kappa B ligand (RANKL) in serum: Are they of any help? *Wiener Medizinische Wochenschrift* 2010, 160, 452–457. 471–472
41. Feng, W.; Liu, H.; Luo, T.; Liu, D.; Du, J.; Sun, J.; Wang, W.; Han, X.; Yang, K.; Guo, J.; et al. Combination of IL-6 and sIL-6R differentially regulate varying levels of RANKL-induced osteoclastogenesis through NF- κ B, ERK and JNK signaling pathways. *Sci. Rep.* 2017, 7, 41411, doi:10.1038/srep41411. 473–475
42. Jilka, R.L.; Hangoc, G.; Girasole, G.; Passeri, G.; Williams, D.C.; Abrams, J.S.; Boyce, B.; Broxmeyer, H.; Manolagas, S.C. Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science* 1992, 257, 88–91. 476–477
43. Bertolini, D.R.; Nedwin, G.E.; Bringman, T.S.; Smith, D.D.; Mundy, G.R. Stimulation of bone resorption and inhibition of bone formation in vitro by human tumour necrosis factors. *Nature* 1986, 319, 516–518, doi:10.1038/319516a0. 478–479

-
44. Weitzmann, M.N.; Cenci, S.; Rifas, L.; Haug, J.; Dipersio, J.; Pacifici, R. T cell activation induces human osteoclast formation via receptor activator of nuclear factor κ B ligand-dependent and -independent mechanisms. *J. Bone Miner. Res.* **2001**, *16*, 328–337, doi:10.1359/jbmr.2001.16.2.328. 480
481
482
45. Muller, F.L.; Lustgarten, M.S.; Jang, Y.; Richardson, A.; Van Remmen, H. Trends in oxidative aging theories. *Free Radic. Biol. Med.* **2007**, *43*, 477–503. 483
484
46. Liu, H.; Bian, W.; Liu, S.; Huang, K. Selenium protects bone marrow stromal cells against hydrogen peroxide-induced inhibition of osteoblastic differentiation by suppressing oxidative stress and ERK signaling pathway. *Biol. Trace Elem. Res.* **2012**, *150*, 441–450, doi:10.1007/s12011-012-9488-4. 485
486
487
47. Chen, J.R.; Lazarenko, O.P.; Shankar, K.; Blackburn, M.L.; Badger, T.M.; Ronis, M.J. A role for ethanol-induced oxidative stress in controlling lineage commitment of mesenchymal stromal cells through inhibition of Wnt/ β -catenin signaling. *J. Bone Miner. Res.* **2010**, *25*, 1117–1127, doi:10.1002/jbmr.7 488
489
490

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

6. DISCUSIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

DISCUSIÓN

6.1. Discusión General

Desde hace décadas se viene valorando el papel que ejerce la alimentación en el desarrollo de patologías crónicas asociadas a procesos del envejecimiento como la osteoporosis. La presente Tesis Doctoral proporciona nuevas evidencias en el campo de la epidemiología nutricional que demuestran la existencia de asociaciones entre algunos aspectos relacionados con la alimentación y la salud ósea. A lo largo de esta Tesis Doctoral se exponen asociaciones entre el consumo de AOVE (como un alimento propio de la DietMed con reconocidos beneficios sobre la salud cardiometabólica), el IG/CG (como indicadores de la calidad de los HC), el PRAL/NEAP (como reflejo de la acidez de la dieta) y el M-DIS (como marcador general de la calidad de la dieta) con el riesgo de fracturas osteoporóticas y la DMO dentro del contexto de los estudios PREDIMED y PREDIMED-Plus.

Parte del presente trabajo se ha realizado en uno de los centros reclutadores del estudio PREDIMED como un análisis post-hoc y considerando toda la muestra del centro como una cohorte. Tras el seguimiento medio de 9 años, se observa que el consumo de AOVE y el IG/CG de la dieta se asocian inversamente con la incidencia de fracturas por fragilidad, mientras que los indicadores PRAL/NEAP muestran una asociación en forma de U con la incidencia de fracturas en una población anciana, mediterránea y con un elevado riesgo de ECV. En el mismo contexto, el consumo total de aceite de oliva también muestra una asociación inversa no significativa con el riesgo de desarrollar una fractura osteoporótica. Hasta la fecha y para nuestro conocimiento, no se han publicado otros trabajos en que se valoren las propiedades del

Calidad de la alimentación y salud ósea

AOVE o el IG/CG sobre el riesgo de fracturas, ni se han observado asociaciones en U entre el PRAL/NEAP y el riesgo de fracturas. Así pues, la conexión entre estos indicadores y el metabolismo óseo aún requiere de mayor investigación para poder generalizar los resultados.

La otra parte del trabajo se ha realizado dentro del contexto del estudio PREDIMED-Plus mediante el uso de análisis transversales en la visita inicial con los participantes de los cuatro únicos centros que han recogido medidas de DMO. En esta población anciana, mediterránea, con sobrepeso/obesidad y SM, se observó que el PRAL/NEAP y el M-DIS se asociaban inversamente con la DMO.

La alimentación, por medio de diferentes procesos, puede producir alteraciones en las vías metabólicas que perjudiquen el metabolismo óseo y aceleren los procesos de degradación ósea, ya de por sí favorecidos por el envejecimiento (Figura 3). El incremento de los procesos pro-inflamatorios y oxidativos, así como las alteraciones en el sistema ácido-base del organismo y del metabolismo de la glucosa e insulina, también involucrados en otras fisiopatologías como las ECV, la DT2 y el SM, han demostrado inhibir la formación de hueso y estimular la resorción ósea, acelerando la aparición de la osteoporosis y sus consecuencias más directas. Todos estos procesos pueden verse potenciados por la alimentación.

DISCUSIÓN

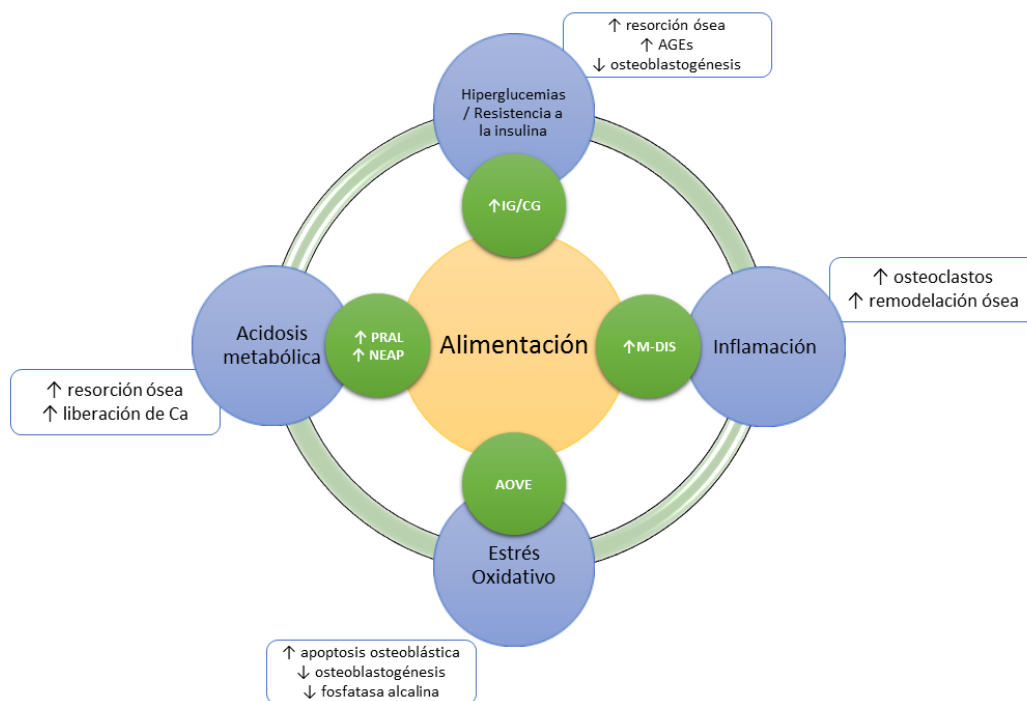


Figura 3. Conexión entre los procesos metabólicos, la alimentación, los indicadores de calidad dietéticos y la salud ósea.

El AOVE es un alimento rico en AGM y compuestos bioactivos con compuestos antioxidantes como los polifenoles. La protección frente a las fracturas por parte del AOVE observada en nuestros resultados y no así con el aceite de oliva común podría deberse al mayor contenido de estos compuestos bioactivos.

La capacidad del organismo para producir antioxidantes disminuye con la edad. El estrés oxidativo produce un aumento de los niveles de especies reactivas del oxígeno (ROS) y especies reactivas del nitrógeno (RNS) que actúan inhibiendo la actividad de la fosfatasa alcalina y las células osteoblásticas, además de inhibir la expresión del gen de colágeno tipo I¹⁸⁸. Así mismo, el incremento del proceso REDOX inhibe

Calidad de la alimentación y salud ósea

la osteoblastogénesis y aumenta la apoptosis de los osteoblastos a través de la vía RANKL y, como proceso agravante de los procesos inflamatorios, incrementa la modulación de las moléculas pro-inflamatorias TNF- α ¹⁸⁹⁻¹⁹¹. El hidroxitirosol, presente en el AOVE, ha demostrado reducir los niveles de H₂O₂ mientras que los compuestos fenólicos favorecen la proliferación y maduración de los osteoblastos incrementando la actividad de la fosfatasa alcalina, el depósito de iones de calcio en la matriz extracelular, la transcripción de factores de transcripción relacionados con el metabolismo óseo como Cbfa1/Runx2 o la síntesis de proteínas implicadas en el proceso de remodelación ósea como la osteocalcina¹³⁹.

Los resultados obtenidos en este trabajo en relación al IG/CG, demuestran que las dietas con elevado IG/CG se asocian con un mayor riesgo de fracturas por fragilidad. El contenido y la calidad de HC de la dieta modulan las concentraciones de glucosa sanguíneas e indirectamente, las demandas de insulina. Los niveles elevados de glucosa pueden modificar el metabolismo óseo por diferentes vías, incluyendo la modulación de los procesos de inflamación, el estrés oxidativo y la acidosis metabólica^{56,57}. Las hiperglucemias reducen la actividad osteoblástica inhibiendo su diferenciación y maduración además de favorecer un estado crónico de acidosis que facilita la resorción ósea^{56,58}, lo que conduce a un crecimiento óseo anormal que disminuye la resistencia del hueso a los impactos. También estimula la producción de productos finales de glicación avanzada (AGEs) aumentando la producción de enlaces cruzados entre los colágenos e induciendo apoptosis celular e inflamación¹⁹²⁻¹⁹⁶. Además, algunas

DISCUSIÓN

citoquinas reguladoras del metabolismo óseo como la OPG y la osteocalcina parecen estar vinculadas con el metabolismo de la glucosa y la resistencia a la insulina^{134,197-199}. Todas estas conexiones metabólicas moduladas por el IG/CG de la alimentación, en su conjunto, podrían explicar nuestros hallazgos.

El desequilibrio del sistema ácido-base es otro de los procesos asociado al envejecimiento que se relaciona con cambios en la DMO y la MMO. En nuestro trabajo, hemos observado que aquellos individuos que siguieron una alimentación que favorecía un estado de acidosis metabólica, medido con los indicadores PRAL/NEAP, presentaron mayor riesgo de sufrir una fractura por fragilidad y menor DMO en el fémur. La acidosis metabólica, aunque sea leve, facilita la liberación de calcio de la matriz ósea en un intento por mantener la homeostasis, debilitando la estructura del hueso y disminuyendo su resistencia^{151,153}. También actúa alterando otras vías y procesos metabólicos, como la sensibilidad a la insulina y el metabolismo de la glucosa²⁰⁰, que, a su vez, favorecen la inflamación y el estrés oxidativo, produciendo un efecto sinérgico perjudicial para el hueso^{200,201}. Algunos estudios han demostrado que la acidosis metabólica estimula la actividad de determinados mediadores de la resorción ósea como el factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23) o la ciclooxigenasa 2 (COX2)^{202,203}, lo que podría explicar la disminución de DMO y el incremento de la incidencia de fracturas en estos participantes. En nuestro estudio, también observamos que los participantes con una puntuación de los indicadores PRAL/NEAP baja presentaban un mayor riesgo de fracturas, aunque no pudimos observar esta asociación con la DMO.

Calidad de la alimentación y salud ósea

Estas discrepancias en los resultados podrían deberse, en parte, a la calidad de la ingesta proteica [menor ingesta, menor liberación hormonal del factor de crecimiento similar a la insulina I (IGF-I) y de la hormona del crecimiento (GH), estimuladores de la formación de hueso²⁰⁴] y/o por las diferencias en la actividad física total en el tiempo libre, sustancialmente mayor en los participantes del estudio PREDIMED-Plus²⁰⁵. No obstante, la ausencia de biomarcadores específicos y de medidas cualitativas más exactas y precisas de actividad física nos impiden dar una explicación más plausible de esta parte de nuestros resultados, haciendo necesario una mayor exploración de estos y otros potenciales mecanismos en futuros estudios.

La edad también induce una respuesta inflamatoria que favorece el desarrollo de la pérdida ósea, la osteoporosis y las fracturas y puede verse agravada por la alimentación. Aunque estos mecanismos no son del todo comprendidos, el consumo de determinados alimentos y nutrientes se ha asociado con mayores concentraciones de citoquinas y biomarcadores óseos antiinflamatorios²⁰⁶⁻²⁰⁸. La citoquinas inflamatorias estimulan la formación de osteoclastos y varios estudios han asociado niveles séricos elevados de algunas de ellas con osteoporosis²⁰⁹⁻²¹¹. Las concentraciones elevadas de IL-6 se han asociado con la osteoporosis y con una mayor incidencia de fracturas^{209,210,212,213}, y se ha demostrado que aumentan la tasa de remodelación y pérdida ósea^{214,215}. De manera similar, el TNF- α también se ha relacionado con un mayor riesgo de fractura²¹¹. Nuestros resultados con el M-DIS van acorde con lo observado previamente en otros estudios realizados sobre poblaciones

DISCUSIÓN

con otras características^{171-173,216-218} pero hasta ahora no se habían realizado estudios en una población mediterránea con su particular patrón alimentario rico en alimentos vegetales, granos integrales, AOVE, lácteos fermentados y con un bajo consumo de alimentos procesados, carnes rojas y alimentos refinados.

En resumen, los resultados presentados en los diferentes estudios que forman esta Tesis Doctoral apoyan los beneficios de evaluar y seguir una dieta con alimentos y nutrientes de calidad en aras de ralentizar los inevitables procesos de degradación ósea asociados a la edad y con el fin de mejorar la calidad de vida del individuo durante la vejez. Una dieta equilibrada basada en alimentos de proximidad, poco procesados y en los que se potencie el consumo de grasas saludables de origen vegetal, frutas y verduras, así como otros alimentos con elevada densidad nutricional podría producir efectos beneficiosos no solo en el metabolismo óseo, sino también en la prevención y ralentización de otros procesos fisiopatológicos asociados a la edad.

6.2. Limitaciones y fortalezas

Los resultados presentados en esta Tesis Doctoral deben interpretarse con cierta cautela, considerándose sus limitaciones y fortalezas.

En primer lugar, la generalización de nuestros resultados es limitada, ya que la población de estudio estaba compuesta por una población senior envejecida con alto riesgo de ECV reclutados en un único centro (PREDIMED) o individuos ancianos con sobrepeso/obesidad y SM reclutados en cuatro centros (PREDIMED-Plus) todos pertenecientes a una región mediterránea y con una elevada adherencia a la DietMed por lo que los resultados podrían variar si se replican con otras poblaciones sin estas patologías y con una menor adherencia a la DietMed.

En segundo lugar, la naturaleza observacional de los estudios no permite establecer una relación causal. Asimismo, pese haber ajustado los análisis por diversos factores de confusión, existe la posibilidad de que haya factores confusores residuales no determinados o desconocidos que no se han incluido (como la carga mecánica, el área muscular...) en los modelos. También hay que considerar que algunos de los valores de los índices de calidad (IG/CG y PRAL/NEAP), de forma general, son más bajos a los de otras poblaciones y las diferencias entre los terciles, en general, son modestas.

En tercer lugar, no se disponía de marcadores bioquímicos óseos en orina o plasma para ninguno de los estudios que nos permitan explicar a través de qué mecanismos nuestros resultados pueden explicarse. Tampoco disponíamos de datos sobre la DMO en la población del estudio PREDIMED, ni datos de incidencia de fracturas en la población

DISCUSIÓN

del estudio PREDIMED-Plus. Asimismo, no se disponía de información con respecto a los niveles de vitamina D o calcio sérico, no permitiendo estimar o descartar su influencia en los resultados del estudio. De forma específica, en el caso del análisis del IG/CG, PRAL/NEAP y M-DIS, no se disponía de información sobre parámetros de inflamación y/o el estrés oxidativo por lo que no fue posible implicar alguno de los mecanismos sugeridos en la literatura.

En cuarto lugar, aunque el CFC utilizado está validado, no se pueden descartar errores en la medición por sobre o infra-estimación en el consumo de alimentos. De la misma manera, estos cuestionarios no fueron diseñados para estimar las puntuaciones de IG/CG, PRAL/NEAP y M-DIS, por lo que también pueden existir errores de precisión en la estimación de estos índices de calidad de la dieta. En este mismo punto y en lo que respecta a los análisis longitudinales, los análisis fueron realizados dentro del contexto de un estudio de intervención nutricional con objetivos bien definidos y no relacionados con el metabolismo óseo. Por esta razón, tampoco se puede descartar la posibilidad de que haya una mayor probabilidad de falsos positivos y errores de tipo I tras la aleatorización ni tampoco se puede descartar un potencial efecto residual de las intervenciones nutricionales, aunque se ajustaran los modelos considerando los grupos de intervención.

En quinto lugar, de forma específica para los análisis de IG/CG, las estimaciones de los valores de IG se obtuvieron a partir de tablas internacionales publicadas, por lo que no se puede descartar que la composición nutricional y las propiedades de los alimentos puedan fluctuar entre países e incluso regiones dentro del mismo país.

Calidad de la alimentación y salud ósea

Por otro lado, también deben considerarse una serie de puntos fuertes de nuestros estudios. El estudio PREDIMED es una cohorte bien caracterizada con un seguimiento a largo plazo. La identificación de las fracturas se realizó utilizando códigos de diagnóstico estándar objetivos. En todos los estudios se controlaron varios potenciales factores de confusión y se utilizaron medias de consumo acumulado como medida de exposición considerando todos los CFC disponibles con la finalidad de mejorar la precisión. Asimismo, todos los estudios incluyeron análisis de sensibilidad que reforzaron los hallazgos obtenidos ya que los resultados fueron similares y, en el caso del análisis del AOVE, se consideraron diferentes variedades de aceite de oliva.

7. CONCLUSIONES

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

CONCLUSIONES

La principal conclusión de esta Tesis Doctoral es que una mejor calidad de la alimentación valorada con diferentes marcadores o índices se asocia con una mejor salud ósea determinada a través de la DMO en una población anciana mediterránea con sobrepeso/obesidad y SM, y a una disminución del riesgo de fracturas por fragilidad en una población anciana mediterránea con elevado riesgo cardiovascular.

Además, respondiendo a cada una de las hipótesis, se ha llegado a las siguientes conclusiones:

Hipótesis 1: *Un mayor consumo de AOVE, alimento rico polifenoles y eje de la DietMed, se relaciona con un menor riesgo de padecer fracturas relacionadas con la osteoporosis.*

Un mayor consumo de AOVE se asoció a un menor riesgo de fracturas por fragilidad en una población anciana mediterránea con alto riesgo cardiovascular.

Hipótesis 2: *Una peor calidad de los hidratos de carbono de la dieta y su disponibilidad más rápida en forma de glucosa tras su ingesta se asocia con el aumento del riesgo de fracturas relacionadas con la osteoporosis.*

Un alto IG y una alta CG de la dieta se asociaron prospectivamente con un mayor riesgo de fracturas relacionadas con la osteoporosis en una población mediterránea de edad avanzada con alto riesgo cardiovascular.

Se necesitan más estudios para confirmar este posible efecto deletéreo sobre el metabolismo óseo y las fracturas osteoporóticas de las dietas de

Calidad de la alimentación y salud ósea

IG y CG elevados y especialmente para determinar los posibles mecanismos subyacentes a estos hallazgos.

Hipótesis 3: *La dieta como elemento que altera el equilibrio ácido-base sanguíneo se relaciona con alteraciones en la DMO y facilita la producción de fracturas óseas relacionadas con la osteoporosis.*

Las dietas asociadas a la producción de cargas altas y bajas de ácido medidas a través del PRAL/NEAP se asocian con un mayor riesgo de fracturas osteoporóticas, aunque solo las dietas asociadas a una producción al alto de ácido mostraron una relación inversa con la DMO en una población de adultos mayores con obesidad y SM.

El posible mecanismo que explique la asociación entre las dietas relacionadas a una producción de cargas de ácido bajas y el riesgo de fractura por fragilidad podría estar mediado por otros mecanismos no contemplados en estos análisis y requiere de futuras investigaciones.

Hipótesis 4: *Una dieta con mayor contenido de elementos proinflamatorios se asocia con una menor DMO.*

Una dieta proinflamatoria, estimada mediante el índice M-DIS, se asoció con una DMO más baja en una población mediterránea con síndrome metabólico.

El mecanismo potencial que explicaría esta asociación necesita futuras investigaciones.

8. PERSPECTIVAS GLOBALES Y DE FUTURO

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

PERSPECTIVAS GLOBALES Y DE FUTURO

Se está produciendo un cambio sociodemográfico que, no solo está modificando la forma en que viven las personas, sino también la forma en la que padecen las patologías. Las consecuencias de la osteoporosis, a pesar de ser una enfermedad silenciosa, son bien reconocibles y tiene efectos muy significativos en la salud. Su incidencia aumentará en las próximas décadas y no solo como consecuencia del aumento de la población a riesgo, sino también por los cambios existentes en el estilo de vida y la alimentación consecuencia al desarrollo y occidentalización de la sociedad. Las evidencias científicas sugieren que actuando sobre los determinantes dietéticos asociados a la osteoporosis se podría conseguir disminuir sustancialmente su prevalencia y la incidencia de sus complicaciones, contribuyendo en la mejora de la calidad de vida de las personas que la padecen y permitiendo un proceso de envejecimiento más saludable.

En esta Tesis Doctoral se proporcionan nuevas evidencias a las existentes dentro de la epidemiología nutricional que permiten aumentar la comprensión de las asociaciones existentes entre la calidad de la alimentación y la salud ósea, así como con la prevención de pérdida de DMO e incidencia de fracturas en dos poblaciones ancianas mediterráneas con varias patologías y factores de riesgo cardiovascular.

A partir de estos resultados y junto con otra literatura científica ya publicada previamente sobre el mismo tema, existen varias cuestiones aún por responder para futuras investigaciones, todas ellas necesarias para definir el papel que puede tener la alimentación y el estilo de vida

Calidad de la alimentación y salud ósea

sobre la alteración del curso normal del metabolismo óseo, el desarrollo de la osteoporosis y sus consecuencias:

- Son necesarios más estudios prospectivos y de intervención en otras poblaciones de otras regiones que puedan confirmar nuestros resultados respecto al beneficio de consumir AOVE y no otro tipo de aceite como medida de prevención contra la osteoporosis y el riesgo de fracturas, así como determinar los mecanismos por los cuales puede producirse su efecto protector, permitiendo así extrapolar los resultados obtenidos. Estos estudios no solo deberían incluir la incidencia de fracturas, sino que también sería interesante que valoraran los cambios en el tiempo de la DMO y de los biomarcadores específicos del metabolismo óseo.
- De la misma manera, son necesarios más estudios que puedan explicar los mecanismos implicados en el metabolismo de la glucosa y la insulina tras la ingesta de alimentos y su repercusión sobre el metabolismo óseo, siendo especialmente interesante que las futuras investigaciones se centren en cómo la calidad de los HC y por medio de que vías metabólicas interaccionan respecto con la oxidación, el sistema ácido-base y la inflamación.
- También se requieren más estudios prospectivos y ensayos clínicos con grandes muestras y seguimientos prolongados que consideren la complicidad de detectar la osteoporosis, así como las dificultades conocidas con el cumplimiento de la dieta para aclarar la existencia de asociaciones entre la calidad de la

PERSPECTIVAS GLOBALES Y DE FUTURO

alimentación usando biomarcadores específicos y el riesgo de desarrollar osteoporosis y/o sufrir una fractura.

- En ese sentido y siguiendo con el punto anterior, se deben mejorar las herramientas de valoración del consumo alimentario utilizadas en los estudios epidemiológicos actualizando las bases de datos de alimentos existentes con las nuevas formulaciones o la inclusión de nuevos alimentos de uso habitual como los alimentos endulzados artificialmente, los alimentos reducidos en grasas o alimentos enriquecidos con otros nutrientes y cuyos efectos sobre el organismo apenas ahora se empiezan a considerar. También sería interesante el desarrollo de nuevos marcadores específicos que permitan valorar adecuadamente y de forma objetiva la calidad de un alimento.
- Con el fin de disminuir los límites inherentes a la generalización de los resultados, se hace necesario que nuestros resultados con los diferentes marcadores de calidad de la dieta sean replicados de forma longitudinal (en el caso de M-DIS) y/o en otras poblaciones (en el caso del IG y CG) para confirmar sus beneficios. Esto requiere de grandes cohortes que recojan entre sus resultados medidas de DMO/MMO, incidencia de fracturas y otras mediciones computarizadas y/o bioquímicas relacionadas con el metabolismo óseo en un porcentaje considerable de población y durante un periodo de tiempo prolongado.

Calidad de la alimentación y salud ósea

- Finalmente, el desarrollo de las ciencias ómicas pueden aportar nuevos conocimientos sobre vías metabólicas y señalización bioquímica que tiene lugar no solo en el organismo sino también con el microbioma intestinal, ayudando a identificar y explicar asociaciones novedosas y potenciales líneas de investigación que permitan el desarrollo de nuevas estrategias terapéuticas.

9. REFERENCIAS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

REFERENCIAS

1. Borgström, F. *et al.* Fragility fractures in Europe: burden, management and opportunities. *Arch. Osteoporos.* **15**, (2020).
2. World Health Organization. Prevention and management of osteoporosis. *World Health Organ. Tech. Rep. Ser.* **921**, 1–164, back cover (2003).
3. About Osteoporosis | International Osteoporosis Foundation. Available at: <https://www.osteoporosis.foundation/patients/about-osteoporosis>. (Accessed: 1st March 2021)
4. Cummings, S. R. & Melton, L. J. Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet* **359**, 1761–7 (2002).
5. United Nations, Department of Economic and Social Affairs, P. D. World Population Prospects 2019. (2019). Available at: <https://population.un.org/wpp/>.
6. Hernlund, E. *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.* **8**, (2013).
7. Johnell, O. & Kanis, J. A. An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos. Int.* **17**, 1726–1733 (2006).
8. International Osteoporosis Foundation. *BROKEN BONES, BROKEN LIVES: A roadmap to solve the fragility fracture crisis in Spain.* (2018).
9. Castellón, P. *et al.* Hip fractures in Spain: are we on the right track? Statistically significant differences in hip fracture management between Autonomous Communities in Spain. *Arch. Osteoporos.* **16**, 40 (2021).
10. Azagra, R. *et al.* Changing trends in the epidemiology of hip fracture in Spain. *Osteoporos. Int.* **25**, 1267–74 (2014).
11. Pagès-Castell, A. *et al.* Burden of osteoporotic fractures in primary health care in Catalonia (Spain): A population-based

Calidad de la alimentación y salud ósea

- study. *BMC Musculoskelet. Disord.* **13**, (2012).
12. Kanis, J. A. *et al.* A systematic review of hip fracture incidence and probability of fracture worldwide. *Osteoporosis International* **23**, 2239–2256 (2012).
 13. Rizkallah, M. *et al.* Comparison of morbidity and mortality of hip and vertebral fragility fractures: Which one has the highest burden? *Osteoporos. Sarcopenia* **6**, 146–150 (2020).
 14. Liem, I. S., Kammerlander, C., Raas, C., Gosch, M. & Blauth, M. Is there a difference in timing and cause of death after fractures in the elderly? in *Clinical Orthopaedics and Related Research* **471**, 2846–2851 (Springer New York LLC, 2013).
 15. Yoo, J. *et al.* Length of hospital stay after hip fracture surgery and 1-year mortality. *Osteoporos. Int.* **30**, 145–153 (2019).
 16. Ho-Le, T. P. *et al.* Epidemiological transition to mortality and refracture following an initial fracture. *Elife* **10**, (2021).
 17. Abrahamsen, B., Van Staa, T., Ariely, R., Olson, M. & Cooper, C. Excess mortality following hip fracture: A systematic epidemiological review. *Osteoporosis International* **20**, 1633–1650 (2009).
 18. Hernlund, E. *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.* **8**, 136 (2013).
 19. Cenzer, I. S. *et al.* One-Year Mortality After Hip Fracture: Development and Validation of a Prognostic Index. *J. Am. Geriatr. Soc.* **64**, 1863–1868 (2016).
 20. Kannegaard, P. N., van der Mark, S., Eiken, P. & Abrahamsen, B. Excess mortality in men compared with women following a hip fracture. National analysis of comedications, comorbidity and survival. *Age Ageing* **39**, 203–209 (2010).
 21. Clarke, B. Normal bone anatomy and physiology. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* **3 Suppl 3**, (2008).

REFERENCIAS

22. Li, X., Zhang, J. & Wang, X. Bone Minimodeling, a Special Modeling Pattern and Potential as Therapeutic Target for Osteoporosis. *Curr. Mol. Med.* **18**, (2018).
23. Reddy, S. V. Regulatory mechanisms operative in osteoclasts. *Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression* **14**, 255–270 (2004).
24. Hui, S. L., Slemenda, C. W. & Johnston, C. C. Age and bone mass as predictors of fracture in a prospective study. *J. Clin. Invest.* **81**, 1804–1809 (1988).
25. Schürer, C. *et al.* Fracture Risk and Risk Factors for Osteoporosis. *Dtsch. Arztebl. Int.* **112**, 365–71 (2015).
26. Falaschi, P., Marques, A. & Giordano, S. Osteoporosis and Fragility in Elderly Patients. in 35–52 (Springer, Cham, 2021). doi:10.1007/978-3-030-48126-1_3
27. Zhu, K. & Prince, R. L. Lifestyle and osteoporosis. *Curr. Osteoporos. Rep.* **13**, 52–9 (2015).
28. Emmanuelle, N. E. *et al.* Critical role of estrogens on bone homeostasis in both male and female: From physiology to medical implications. *International Journal of Molecular Sciences* **22**, 1–18 (2021).
29. Martin-Millan, M. *et al.* The estrogen receptor- α in osteoclasts mediates the protective effects of estrogens on cancellous but not cortical bone. *Mol. Endocrinol.* **24**, 323–334 (2010).
30. Wilkinson, D. J., Piasecki, M. & Atherton, P. J. The age-related loss of skeletal muscle mass and function: Measurement and physiology of muscle fibre atrophy and muscle fibre loss in humans. *Ageing Research Reviews* **47**, 123–132 (2018).
31. Curtis, E., Litwic, A., Cooper, C. & Dennison, E. Determinants of Muscle and Bone Aging. *Journal of Cellular Physiology* **230**, 2618–2625 (2015).
32. Urano, T. & Inoue, S. Genetics of osteoporosis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **452**, 287–293 (2014).
33. Treloar, S. A., Do, K. A. & Martin, N. G. Genetic influences on the age at menopause. *Lancet* **352**, 1084–1085 (1998).

Calidad de la alimentación y salud ósea

34. Michaëlsson, K., Melhus, H., Ferm, H., Ahlbom, A. & Pedersen, N. L. Genetic liability to fractures in the elderly. *Arch. Intern. Med.* **165**, 1825–1830 (2005).
35. Soroko, S. B., Barrett-Connor, E., Edelstein, S. L. & Krititz-Silverstein, D. Family history of osteoporosis and bone mineral density at the axial skeleton: The rancho bernardo study. *J. Bone Miner. Res.* **9**, 761–769 (1994).
36. Kanis, J. A. *et al.* A family history of fracture and fracture risk: A meta-analysis. *Bone* **35**, 1029–1037 (2004).
37. Andrew, T., Antoniadou, L., Scurrah, K. J., MacGregor, A. J. & Spector, T. D. Risk of Wrist Fracture in Women Is Heritable and Is Influenced by Genes That Are Largely Independent of Those Influencing BMD. *J. Bone Miner. Res.* **20**, 67–74 (2004).
38. Cauley, J. A. *et al.* Risk Factors for Hip Fracture in Older Men: The Osteoporotic Fractures in Men Study (MrOS). *J. Bone Miner. Res.* **31**, 1810–1819 (2016).
39. Center, J. R., Bliuc, D., Nguyen, T. V. & Eisman, J. A. Risk of subsequent fracture after low-trauma fracture in men and women. *J. Am. Med. Assoc.* **297**, 387–394 (2007).
40. Iconaru, L. *et al.* Risk factors for imminent fractures: a substudy of the FRISBEE cohort. *Osteoporos. Int.* (2021). doi:10.1007/s00198-020-05772-8
41. Wong, R. M. Y. *et al.* Fragility fractures and imminent fracture risk in Hong Kong: one of the cities with longest life expectancies. *Arch. Osteoporos.* **14**, (2019).
42. Huntjens, K. M. B. *et al.* Risk of subsequent fracture and mortality within 5 years after a non-vertebral fracture. *Osteoporos. Int.* **21**, 2075–2082 (2010).
43. Winner, S. J., Morgan, C. A. & Grimley Evans, J. Perimenopausal risk of falling and incidence of distal forearm fracture. *Br. Med. J.* **298**, 1486–1488 (1989).
44. Zecevic, A. A., Salmoni, A. W., Speechley, M. & Vandervoort, A. A. Defining a fall and reasons for falling: Comparisons among the views of seniors, health care providers, and the research

REFERENCIAS

- literature. *Gerontologist* **46**, 367–376 (2006).
45. Prevention of falls and fall-related injuries in community-dwelling seniors: an evidence-based analysis - PubMed. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23074507/>. (Accessed: 8th March 2021)
 46. Ferreri, S., Roth, M. T., Casteel, C., Demby, K. B. & Blalock, S. J. Methodology of an ongoing, randomized controlled trial to prevent falls through enhanced pharmaceutical care. *Am. J. Geriatr. Pharmacother.* **6**, 61–81 (2008).
 47. Zaninotto, P. *et al.* Polypharmacy is a risk factor for hospital admission due to a fall: evidence from the English Longitudinal Study of Ageing. *BMC Public Health* **20**, (2020).
 48. Yang, Y. *et al.* The Effect of Fall Biomechanics on Risk for Hip Fracture in Older Adults: A Cohort Study of Video-Captured Falls in Long-Term Care. *J. Bone Miner. Res.* **35**, 1914–1922 (2020).
 49. Whittier, X. & Saag, K. G. Glucocorticoid-induced Osteoporosis. *Rheumatic Disease Clinics of North America* **42**, 177–189 (2016).
 50. González-Macías, J., Del Pino-Montes, J., Olmos, J. M. & Nogués, X. Clinical practice guidelines for postmenopausal, glucocorticoid-induced and male osteoporosis. Spanish Society for Research on Bone and Mineral Metabolism (3rd updated version 2014). *Revista Clinica Espanola* **215**, 515–526 (2015).
 51. Munson, J. C. *et al.* Patterns of prescription drug use before and after fragility fracture. *JAMA Intern. Med.* **176**, 1531–1538 (2016).
 52. Schwartz, A. V. & Lane, N. E. *Bone and Joint Complications in Diabetes. Diabetes in America* (National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases (US), 2018).
 53. What is diabetes. Available at: <https://www.idf.org/aboutdiabetes/what-is-diabetes.html>. (Accessed: 15th March 2021)
 54. Starup-Linde, J., Frost, M., Vestergaard, P. & Abrahamsen, B. Epidemiology of Fractures in Diabetes. *Calcif. Tissue Int.* **100**, 109–121 (2017).

Calidad de la alimentación y salud ósea

55. Oei, L., Rivadeneira, F., Zillikens, M. C. & Oei, E. H. G. Diabetes, Diabetic Complications, and Fracture Risk. *Current Osteoporosis Reports* **13**, 106–115 (2015).
56. Pramojane, S. N., Phimphilai, M., Chattipakorn, N. & Chattipakorn, S. C. Possible roles of insulin signaling in osteoblasts. *Endocr. Res.* **39**, 144–151 (2014).
57. Ghodsi, M. *et al.* Mechanisms involved in altered bone metabolism in diabetes: a narrative review. *J. Diabetes Metab. Disord.* **15**, 52 (2016).
58. Napoli, N. *et al.* The alliance of mesenchymal stem cells, bone, and diabetes. *Int. J. Endocrinol.* **2014**, 690783 (2014).
59. Jiao, H., Xiao, E. & Graves, D. T. Diabetes and Its Effect on Bone and Fracture Healing. *Curr. Osteoporos. Rep.* **13**, 327–35 (2015).
60. Starup-Linde, J., Gregersen, S. & Vestergaard, P. Associations with fracture in patients with diabetes: A nested case-control study. *BMJ Open* **6**, (2016).
61. Collins, S. L., Moore, R. A., McQuay, H. J. & Wiffen, P. Antidepressants and anticonvulsants for diabetic neuropathy and postherpetic neuralgia: A quantitative systematic review. *J. Pain Symptom Manage.* **20**, 449–458 (2000).
62. Carbone, L. D. *et al.* Antiepileptic drug use, falls, fractures, and BMD in postmenopausal women: Findings from the Women's Health Initiative (WHI). *J. Bone Miner. Res.* **25**, 873–881 (2010).
63. Arora, E., Singh, H. & Gupta, Y. Impact of antiepileptic drugs on bone health: Need for monitoring, treatment, and prevention strategies. *J. Fam. Med. Prim. Care* **5**, 248 (2016).
64. Starup-Linde, J., Eriksen, S. A., Lykkeboe, S., Handberg, A. & Vestergaard, P. Biochemical markers of bone turnover in diabetes patients - A meta-analysis, and a methodological study on the effects of glucose on bone markers. *Osteoporos. Int.* **25**, 1697–1708 (2014).
65. Munigala, S., Agarwal, B., Gelrud, A. & Conwell, D. L. Chronic pancreatitis and fracture: A retrospective, population-based veterans administration study. *Pancreas* **45**, 355–361 (2016).

REFERENCIAS

66. Hou, J. *et al.* Obesity and Bone Health: A Complex Link. *Frontiers in Cell and Developmental Biology* **8**, (2020).
67. Tang, X. *et al.* Obesity and Risk of Hip Fracture in Adults: A Meta-Analysis of Prospective Cohort Studies. *PLoS One* **8**, (2013).
68. Li, X., Gong, X. & Jiang, W. Abdominal obesity and risk of hip fracture: a meta-analysis of prospective studies. *Osteoporos. Int.* **28**, 2747–2757 (2017).
69. Esser, N., Legrand-Poels, S., Piette, J., Scheen, A. J. & Paquot, N. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. *Diabetes Research and Clinical Practice* **105**, 141–150 (2014).
70. Lecka-Czernik, B., Rosen, C. J. & Kawai, M. Skeletal aging and the adipocyte program: New insights from an ‘old’ molecule. *Cell Cycle* **9**, 3672–3678 (2010).
71. Tremblay, M. Letter to the editor: Standardized use of the terms ‘sedentary’ and ‘sedentary behaviours’. *Applied Physiology, Nutrition and Metabolism* **37**, 540–542 (2012).
72. Kiyota, Y. *et al.* Smoking cessation increases levels of osteocalcin and uncarboxylated osteocalcin in human sera. *Sci. Rep.* **10**, (2020).
73. Maurel, D. B., Boisseau, N., Benhamou, C. L. & Jaffre, C. Alcohol and bone: Review of dose effects and mechanisms. *Osteoporosis International* **23**, 1–16 (2012).
74. Wu, Z. J., Zhao, P., Liu, B. & Yuan, Z. C. Effect of cigarette smoking on risk of hip fracture in men: A meta-analysis of 14 prospective cohort studies. *PLoS One* **11**, (2016).
75. Shen, G. S. *et al.* Cigarette smoking and risk of hip fracture in women: A meta-analysis of prospective cohort studies. *Injury* **46**, 1333–1340 (2015).
76. Zhang, X., Yu, Z., Yu, M. & Qu, X. Alcohol consumption and hip fracture risk. *Osteoporos. Int.* **26**, 531–542 (2015).
77. Truntzer, J., Vopat, B., Feldstein, M. & Matityahu, A. Smoking cessation and bone healing: optimal cessation timing. *European*

Calidad de la alimentación y salud ósea

- Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology* **25**, 211–215 (2015).
78. Myong, J. P., Kim, H. R., Choi, S. E. & Koo, J. W. Dose-related effect of urinary cotinine levels on bone mineral density among Korean females. *Osteoporos. Int.* **24**, 1339–1346 (2013).
 79. 3'-Daidzein sulfonate sodium provides neuroprotection by promoting the expression of the $\alpha 7$ nicotinic acetylcholine receptor and suppressing inflammatory responses in a rat model of focal cerebral ischemia - PubMed. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30662599/>. (Accessed: 16th March 2021)
 80. Colquhoun, L. M. & Patrick, J. W. Pharmacology of Neuronal Nicotinic Acetylcholine Receptor Subtypes. *Adv. Pharmacol.* **39**, 191–220 (1997).
 81. Cusano, N. E. Skeletal Effects of Smoking. *Current Osteoporosis Reports* **13**, 302–309 (2015).
 82. Zhang, J. *et al.* Antioxidant intake and risk of osteoporotic hip fracture in Utah: An effect modified by smoking status. *Am. J. Epidemiol.* **163**, 9–17 (2006).
 83. Luo, Z. *et al.* Cellular and molecular mechanisms of alcohol-induced osteopenia. *Cellular and Molecular Life Sciences* **74**, 4443–4453 (2017).
 84. Kanis, J. A. *et al.* Alcohol intake as a risk factor for fracture. *Osteoporos. Int.* **16**, 737–742 (2005).
 85. Movassagh, E. Z. & Vatanparast, H. Current Evidence on the Association of Dietary Patterns and Bone Health: A Scoping Review. *Adv. Nutr.* **8**, 1–16 (2017).
 86. Kontogianni, M. D. *et al.* Association between dietary patterns and indices of bone mass in a sample of Mediterranean women. *Nutrition* **25**, 165–171 (2009).
 87. Haring, B. *et al.* Dietary Patterns and Fractures in Postmenopausal Women: Results From the Women's Health Initiative. *JAMA Intern. Med.* **176**, 645–52 (2016).
 88. Benetou, V. *et al.* Mediterranean diet and incidence of hip

REFERENCIAS

- fractures in a European cohort. *Osteoporos. Int.* **24**, 1587–1598 (2013).
89. Byberg, L. *et al.* Mediterranean Diet and Hip Fracture in Swedish Men and Women. *J. Bone Miner. Res.* (2016). doi:10.1002/jbmr.2896
 90. Hardcastle, A. C., Aucott, L., Fraser, W. D., Reid, D. M. & MacDonald, H. M. Dietary patterns, bone resorption and bone mineral density in early post-menopausal Scottish women. *Eur. J. Clin. Nutr.* **65**, 378–385 (2011).
 91. WHO SCIENTIFIC GROUP ON THE ASSESSMENT OF OSTEOPOROSIS AT PRIMARY HEALTH CARE LEVEL. (2004).
 92. Nogués, X. *et al.* Spanish consensus on treat to target for osteoporosis. *Osteoporos. Int.* **29**, 489–499 (2018).
 93. Vilela, P. & Nunes, T. Osteoporosis. *Neuroradiology* **53 Suppl 1**, (2011).
 94. Plank, L. D. Dual-energy X-ray absorptiometry and body composition. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care* **8**, 305–309 (2005).
 95. Messina, C., Monaco, C. G., Ulivieri, F. M., Sardanelli, F. & Sconfienza, L. M. Dual-energy X-ray absorptiometry body composition in patients with secondary osteoporosis. *Eur. J. Radiol.* **85**, 1493–1498 (2016).
 96. Lorente Ramos, R. M. *et al.* Dual energy X-ray absorptimetry: Fundamentals, methodology, and clinical applications. *Radiologia* **54**, 410–423 (2012).
 97. Prueba de la densidad ósea: Lo que significan los números | NIH Osteoporosis and Related Bone Diseases National Resource Center. Available at: <https://www.bones.nih.gov/health-info/bone/espanol/salud-hueso/bone-mass-espanol>. (Accessed: 25th October 2019)
 98. Kanis, J. A. & Glüer, C. C. An update on the diagnosis and assessment of osteoporosis with densitometry. Committee of Scientific Advisors, International Osteoporosis Foundation. *Osteoporos. Int.* **11**, 192–202 (2000).

Calidad de la alimentación y salud ósea

99. Alexeeva, L. *et al.* Assessment of fracture risk and its application to screening for postmenopausal osteoporosis. in *World Health Organization - Technical Report Series* 1–129 (1994). doi:10.7326/0003-4819-122-7-199504010-00024
100. Lewiecki, E. M. *Osteoporosis: Clinical Evaluation*. Endotext (2000).
101. Kanis, J. A. *et al.* Standardising the descriptive epidemiology of osteoporosis: Recommendations from the Epidemiology and Quality of Life Working Group of IOF. *Osteoporos. Int.* **24**, 2763–2764 (2013).
102. Warriner, A. H. *et al.* Which fractures are most attributable to osteoporosis? *J. Clin. Epidemiol.* **64**, 46–53 (2011).
103. Seeley, D. G. *et al.* Which fractures are associated with low appendicular bone mass in elderly women? The Study of Osteoporotic Fractures Research Group. *Ann. Intern. Med.* **115**, 837–42 (1991).
104. Stone, K. L. *et al.* BMD at multiple sites and risk of fracture of multiple types: long-term results from the Study of Osteoporotic Fractures. *J. Bone Miner. Res.* **18**, 1947–54 (2003).
105. D’Elia, G., Roselli, G., Cavalli, L., Innocenti, P. & Brandi, M. L. Severe osteoporosis: diagnosis of non-hip non-vertebral (NHNV) fractures. *Clin. Cases Miner. Bone Metab.* **7**, 85–90 (2010).
106. Plantz, M. A. & Bittar, K. *Dietary Calcium*. StatPearls (StatPearls Publishing, 2021).
107. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for calcium. *EFSA J.* **13**, (2015).
108. Dietary Guidelines for Americans, 2020-2025 and Online Materials | Dietary Guidelines for Americans. Available at: <https://www.dietaryguidelines.gov/resources/2020-2025-dietary-guidelines-online-materials>. (Accessed: 2nd April 2021)
109. Zhu, K. *et al.* Randomized controlled trial of the effects of calcium with or without vitamin D on bone structure and bone-related chemistry in elderly women with vitamin D insufficiency. *J. Bone Miner. Res.* **23**, 1343–1348 (2008).

REFERENCIAS

110. Rahme, M. *et al.* Impact of Calcium and Two Doses of Vitamin D on Bone Metabolism in the Elderly: A Randomized Controlled Trial. *J. Bone Miner. Res.* **32**, 1486–1495 (2017).
111. Daly, R. M., Brown, M., Bass, S., Kukuljan, S. & Nowson, C. Calcium- and vitamin D₃-fortified milk reduces bone loss at clinically relevant skeletal sites in older men: A 2-year randomized controlled trial. *J. Bone Miner. Res.* **21**, 397–405 (2006).
112. Bergman, G. J. D., Fan, T., McFetridge, J. T. & Sen, S. S. Efficacy of vitamin D₃ supplementation in preventing fractures in elderly women: A meta-analysis. *Curr. Med. Res. Opin.* **26**, 1193–1201 (2010).
113. Bolland, M. J. *et al.* Calcium intake and risk of fracture: Systematic review. *BMJ* **351**, (2015).
114. Jackson, R. D. *et al.* Calcium plus Vitamin D Supplementation and the Risk of Fractures. *N. Engl. J. Med.* **354**, 669–683 (2006).
115. Straub, D. A. Calcium supplementation in clinical practice: A review of forms, doses, and indications. *Nutrition in Clinical Practice* **22**, 286–296 (2007).
116. Mithal, A. *et al.* Global vitamin D status and determinants of hypovitaminosis D. *Osteoporosis International* **20**, 1807–1820 (2009).
117. Nair, R. & Maseeh, A. Vitamin D: The sunshine vitamin. *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics* **3**, 118–126 (2012).
118. Vitamin D | International Osteoporosis Foundation. Available at: <https://www.osteoporosis.foundation/health-professionals/prevention/nutrition/vitamin-d>. (Accessed: 2nd April 2021)
119. Chauhan, K., Shahrokhi, M. & Huecker, M. R. *Vitamin D. StatPearls* (StatPearls Publishing, 2021).
120. Dasso, N. A. How is exercise different from physical activity? A concept analysis. *Nurs. Forum* **54**, 45–52 (2019).
121. Garber, C. E. *et al.* Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and

Calidad de la alimentación y salud ósea

- neuromotor fitness in apparently healthy adults: Guidance for prescribing exercise. *Med. Sci. Sports Exerc.* **43**, 1334–1359 (2011).
122. Das, P. & Horton, R. Physical activity—time to take it seriously and regularly. *The Lancet* **388**, 1254–1255 (2016).
123. WHO | The Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health (DPAS). WHO (2015).
124. Thomas, E. *et al.* Physical activity programs for balance and fall prevention in elderly. *Medicine (United States)* **98**, 1–9 (2019).
125. Papalia, G. F. *et al.* The Effects of Physical Exercise on Balance and Prevention of Falls in Older People: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Clin. Med.* **9**, 2595 (2020).
126. Ashe, M. C. *et al.* Physical Activity and Bone Health in Men: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J. Bone Metab.* **28**, 27–39 (2021).
127. Howe, T. E. *et al.* Exercise for preventing and treating osteoporosis in postmenopausal women. *Cochrane Database Syst. Rev.* (2011). doi:10.1002/14651858.cd000333.pub2
128. Pinheiro, M. B. *et al.* Evidence on physical activity and osteoporosis prevention for people aged 65+ years: a systematic review to inform the WHO guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity* **17**, (2020).
129. Zerwekh, J. E., Ruml, L. A., Gottschalk, F. & Pak, C. Y. C. The Effects of Twelve Weeks of Bed Rest on Bone Histology, Biochemical Markers of Bone Turnover, and Calcium Homeostasis in Eleven Normal Subjects. *J. Bone Miner. Res.* **13**, 1594–1601 (2009).
130. Kemmler, W. *et al.* Benefits of 2 years of intense exercise on bone density, physical fitness, and blood lipids in early postmenopausal osteopenic women: Results of the Erlangen Fitness Osteoporosis Prevention Study (EFOPS). *Arch. Intern. Med.* **164**, 1084–1091 (2004).
131. Engelke, K. *et al.* Exercise maintains bone density at spine and hip EFOPS: A 3-year longitudinal study in early postmenopausal

REFERENCIAS

- women. *Osteoporos. Int.* **17**, 133–142 (2006).
132. Gaforio, J. J. *et al.* Virgin olive oil and health: Summary of the iii international conference on virgin olive oil and health consensus report, JAEN (Spain) 2018. *Nutrients* **11**, (2019).
133. Rivas, A. *et al.* Mediterranean diet and bone mineral density in two age groups of women. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **64**, 155–161 (2013).
134. Bulló, M., Moreno-Navarrete, J. M., Fernández-Real, J. M. & Salas-Salvadó, J. Total and undercarboxylated osteocalcin predict changes in insulin sensitivity and β cell function in elderly men at high cardiovascular risk. *Am. J. Clin. Nutr.* **95**, 249–55 (2012).
135. Filip, R. *et al.* Twelve-month consumption of a polyphenol extract from olive (*Olea europaea*) in a double blind, randomized trial increases serum total osteocalcin levels and improves serum lipid profiles in postmenopausal women with osteopenia. *J. Nutr. Health Aging* **19**, 77–86 (2015).
136. Martínez-Ramírez, M. J. *et al.* Dietary fat intake and the risk of osteoporotic fractures in the elderly. *Eur. J. Clin. Nutr.* **61**, 1114–20 (2007).
137. Trichopoulou, A. *et al.* Energy Intake and Monounsaturated Fat in Relation to Bone Mineral Density among Women and Men in Greece 1. *Prev. Med. (Baltim)*. **26**, 395–400 (1997).
138. Gimeno, E., Castellote, A. I., Lamuela-Raventós, R. M., De la Torre, M. C. & López-Sabater, M. C. The effects of harvest and extraction methods on the antioxidant content (phenolics, α -tocopherol, and β -carotene) in virgin olive oil. *Food Chem.* **78**, 207–211 (2002).
139. García-Martínez, O. *et al.* Phenolic Compounds in Extra Virgin Olive Oil Stimulate Human Osteoblastic Cell Proliferation. *PLoS One* **11**, e0150045 (2016).
140. Honda, Y. *et al.* Local Controlled Release of Polyphenol Conjugated with Gelatin Facilitates Bone Formation. *Int. J. Mol. Sci.* **16**, 14143–57 (2015).
141. Shen, C.-L., Chyu, M.-C., Cao, J. J. & Yeh, J. K. Green tea

Calidad de la alimentación y salud ósea

- polyphenols improve bone microarchitecture in high-fat-diet-induced obese female rats through suppressing bone formation and erosion. *J. Med. Food* **16**, 421–7 (2013).
142. Jenkins, D. J. *et al.* Glycemic index of foods: a physiological basis for carbohydrate exchange. *Am. J. Clin. Nutr.* **34**, 362–6 (1981).
143. Salmerón, J. *et al.* Dietary fiber, glycemic load, and risk of non-insulin-dependent diabetes mellitus in women. *JAMA* **277**, 472–7 (1997).
144. Murakami, K. *et al.* Dietary glycemic index and load in relation to metabolic risk factors in Japanese female farmers with traditional dietary habits. *Am. J. Clin. Nutr.* **83**, 1161–9 (2006).
145. van Aerde, M. A. *et al.* Glycemic index and glycemic load in relation to glucose intolerance among Greenland's Inuit population. *Diabetes Res. Clin. Pract.* **97**, 298–305 (2012).
146. Juanola-Falgarona, M. *et al.* Effect of the glycemic index of the diet on weight loss, modulation of satiety, inflammation, and other metabolic risk factors: a randomized controlled trial. *Am. J. Clin. Nutr.* **100**, 27–35 (2014).
147. Wang, Q., Xia, W., Zhao, Z. & Zhang, H. Effects comparison between low glycemic index diets and high glycemic index diets on HbA1c and fructosamine for patients with diabetes: A systematic review and meta-analysis. *Prim. Care Diabetes* **9**, 362–369 (2015).
148. Thomas, D. & Elliott, E. J. Low glycaemic index, or low glycaemic load, diets for diabetes mellitus. in *Cochrane Database of Systematic Reviews* (ed. Thomas, D.) CD006296 (John Wiley & Sons, Ltd, 2009). doi:10.1002/14651858.CD006296.pub2
149. Barclay, A. W. *et al.* Glycemic index, glycemic load, and chronic disease risk--a meta-analysis of observational studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **87**, 627–37 (2008).
150. Juanola-Falgarona, M. *et al.* Dietary Glycemic Index and Glycemic Load Are Positively Associated with Risk of Developing Metabolic Syndrome in Middle-Aged and Elderly Adults. *J. Am. Geriatr. Soc.* **63**, 1991–2000 (2015).

REFERENCIAS

151. REMER, T. & MANZ, F. Potential Renal Acid Load of Foods and its Influence on Urine pH. *J. Am. Diet. Assoc.* **95**, 791–797 (1995).
152. Frassetto, L. A., Todd, K. M., Morris, R. C. & Sebastian, A. Estimation of net endogenous noncarbonic acid production in humans from diet potassium and protein contents. *Am. J. Clin. Nutr.* **68**, 576–83 (1998).
153. Carnauba, R., Baptistella, A., Paschoal, V. & Hübscher, G. Diet-Induced Low-Grade Metabolic Acidosis and Clinical Outcomes: A Review. *Nutrients* **9**, 538 (2017).
154. Lee, D. S. H. *et al.* Statins and physical activity in older men: The osteoporotic fractures in men study. *JAMA Intern. Med.* **174**, 1263–1270 (2014).
155. Garcia, A. H. *et al.* Dietary acid load in early life and bone health in childhood: the Generation R Study. *Am. J. Clin. Nutr.* **102**, 1595–603 (2015).
156. Mangano, K. M., Walsh, S. J., Kenny, A. M., Insogna, K. L. & Kerstetter, J. E. Dietary acid load is associated with lower bone mineral density in men with low intake of dietary calcium. *J. Bone Miner. Res.* **29**, 500–6 (2014).
157. Wynn, E., Lanham-New, S. A., Krieg, M.-A., Whittamore, D. R. & Burckhardt, P. Low estimates of dietary acid load are positively associated with bone ultrasound in women older than 75 years of age with a lifetime fracture. *J. Nutr.* **138**, 1349–54 (2008).
158. Welch, A. A., Bingham, S. A., Reeve, J. & Khaw, K. T. More acidic dietary acid-base load is associated with reduced calcaneal broadband ultrasound attenuation in women but not in men: results from the EPIC-Norfolk cohort study. *Am. J. Clin. Nutr.* **85**, 1134–41 (2007).
159. Frassetto, L., Banerjee, T., Powe, N. & Sebastian, A. Acid Balance, Dietary Acid Load, and Bone Effects-A Controversial Subject. *Nutrients* **10**, 517 (2018).
160. de Jonge, E. A. L. L. *et al.* Dietary acid load, trabecular bone integrity, and mineral density in an ageing population: the Rotterdam study. *Osteoporos. Int.* **28**, 2357–2365 (2017).

Calidad de la alimentación y salud ósea

161. McLean, R. R. *et al.* Dietary acid load is not associated with lower bone mineral density except in older men. *J. Nutr.* **141**, 588–94 (2011).
162. Fenton, T. R., Tough, S. C., Lyon, A. W., Eliasziw, M. & Hanley, D. A. Causal assessment of dietary acid load and bone disease: a systematic review & meta-analysis applying Hill's epidemiologic criteria for causality. *Nutr. J.* **10**, 41 (2011).
163. Shivappa, N., Steck, S. E., Hurley, T. G., Hussey, J. R. & Hébert, J. R. Designing and developing a literature-derived, population-based dietary inflammatory index. *Public Health Nutr.* **17**, 1689–1696 (2014).
164. Canto-Osorio, F., Denova-Gutierrez, E., Sánchez-Romero, L. M., Salmerón, J. & Barrientos-Gutierrez, T. Dietary Inflammatory Index and metabolic syndrome in Mexican adult population. *Am. J. Clin. Nutr.* **112**, 373–380 (2020).
165. Kim, H. Y., Lee, J. & Kim, J. Association between dietary inflammatory index and metabolic syndrome in the general Korean population. *Nutrients* **10**, (2018).
166. Garcia-Arellano, A. *et al.* Dietary inflammatory index and all-cause mortality in large cohorts: The SUN and PREDIMED studies. *Clin. Nutr.* **38**, 1221–1231 (2019).
167. Shivappa, N. *et al.* Association between dietary inflammatory index and inflammatory markers in the HELENA study. *Molecular Nutrition and Food Research* **61**, (2017).
168. Ilich, J. Z., Kelly, O. J., Kim, Y. & Spicer, M. T. Low-grade chronic inflammation perpetuated by modern diet as a promoter of obesity and osteoporosis. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju* **65**, 139–148 (2014).
169. Cunha, J. S., Ferreira, V. M., Maquigussa, E., Naves, M. A. & Boim, M. A. Effects of high glucose and high insulin concentrations on osteoblast function in vitro. *Cell Tissue Res.* **358**, 249–56 (2014).
170. Martyniak, K. *et al.* Do polyunsaturated fatty acids protect against bone loss in our aging and osteoporotic population? *Bone*

REFERENCIAS

- 143, (2020).
171. Na, W. *et al.* Association between inflammatory potential of diet and bone-mineral density in Korean postmenopausal women: Data from fourth and fifth Korea national health and nutrition examination surveys. *Nutrients* **11**, (2019).
172. Orchard, T. *et al.* Dietary Inflammatory Index, Bone Mineral Density, and Risk of Fracture in Postmenopausal Women: Results From the Women’s Health Initiative. *J. Bone Miner. Res.* **32**, 1136–1146 (2017).
173. Mazidi, M. *et al.* The association between dietary inflammatory properties and bone mineral density and risk of fracture in US adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* **71**, 1273–1277 (2017).
174. Kim, H. S. *et al.* Positive association between dietary inflammatory index and the risk of osteoporosis: Results from the KoGES_health examinee (HEXA) cohort study. *Nutrients* **10**, (2018).
175. Fang, Y. *et al.* Dietary Inflammatory Index in relation to bone mineral density, osteoporosis risk and fracture risk: a systematic review and meta-analysis. *Osteoporos. Int.* (2020). doi:10.1007/s00198-020-05578-8
176. Martínez-González, M. Á. *et al.* Cohort profile: design and methods of the PREDIMED study. *Int. J. Epidemiol.* **41**, 377–85 (2012).
177. Elosua, R., Marrugat, J., Molina, L., Pons, S. & Pujol, E. Validation of the Minnesota Leisure Time Physical Activity Questionnaire in Spanish men. The MARATHOM Investigators. *Am. J. Epidemiol.* **139**, 1197–209 (1994).
178. Levey, A. S. *et al.* A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann. Intern. Med.* **150**, 604–612 (2009).
179. Fernández-Ballart, J. D. *et al.* Relative validity of a semi-quantitative food-frequency questionnaire in an elderly Mediterranean population of Spain. *Br. J. Nutr.* **103**, 1808–16 (2010).
180. Mataix, J. *Tablas de Composición de Alimentos.* (Universidad de

Calidad de la alimentación y salud ósea

Granada, 2003).

181. Moreiras, O., Carvajal, A. & Cabrera L. *Tablas de Composición de Alimentos [Food Composition Tables]*. (Ediciones Pirámide, 2005).
182. Schroder, H. *et al.* A short screener is valid for assessing Mediterranean diet adherence among older Spanish men and women. *J. Nutr.* **141**, 1140–5 (2011).
183. Atkinson, F. S., Foster-Powell, K. & Brand-Miller, J. C. International tables of glycemic index and glycemic load values: 2008. *Diabetes Care* **31**, 2281–3 (2008).
184. Osuna-Padilla, I. A., Leal-Escobar, G., Garza-García, C. A. & Rodríguez-Castellanos, F. E. Carga ácida de la dieta; mecanismos y evidencia de sus repercusiones en la salud. *Nefrología* **39**, 343–354 (2019).
185. Martínez-González, M. A. *et al.* Cohort profile: Design and methods of the PREDIMED-Plus randomized trial. *Int. J. Epidemiol.* **48**, (2019).
186. Alberti, K. G. M. M. *et al.* Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International . *Circulation* **120**, 1640–5 (2009).
187. Martínez-González, M. A., López-Fontana, C., Varo, J. J., Sánchez-Villegas, A. & Martínez, J. A. Validation of the Spanish version of the physical activity questionnaire used in the Nurses' Health Study and the Health Professionals' Follow-up Study. *Public Health Nutr.* **8**, 920–927 (2005).
188. Hosoya, S., Suzuki, H., Yamamoto, M., Kobayashi, K. & Abiko, Y. Alkaline phosphatase and type I collagen gene expressions were reduced by hydroxyl radical-treated fibronectin substratum. *Mol. Genet. Metab.* **65**, 31–34 (1998).
189. Muller, F. L., Lustgarten, M. S., Jang, Y., Richardson, A. & Van Remmen, H. Trends in oxidative aging theories. *Free Radical Biology and Medicine* **43**, 477–503 (2007).
190. Liu, H., Bian, W., Liu, S. & Huang, K. Selenium protects bone

REFERENCIAS

- marrow stromal cells against hydrogen peroxide-induced inhibition of osteoblastic differentiation by suppressing oxidative stress and ERK signaling pathway. *Biol. Trace Elem. Res.* **150**, 441–450 (2012).
191. Chen, J. R. *et al.* A role for ethanol-induced oxidative stress in controlling lineage commitment of mesenchymal stromal cells through inhibition of Wnt/ β -catenin signaling. *J. Bone Miner. Res.* **25**, 1117–1127 (2010).
192. Saito, M. & Marumo, K. Collagen cross-links as a determinant of bone quality: a possible explanation for bone fragility in aging, osteoporosis, and diabetes mellitus. *Osteoporos. Int.* **21**, 195–214 (2010).
193. Sanguineti, R., Puddu, A., Mach, F., Montecucco, F. & Viviani, G. L. Advanced glycation end products play adverse proinflammatory activities in osteoporosis. *Mediators Inflamm.* **2014**, 975872 (2014).
194. Franke, S. *et al.* Advanced glycation end products affect growth and function of osteoblasts. *Clin. Exp. Rheumatol.* **29**, 650–60
195. Weinberg, E., Maymon, T. & Weinreb, M. AGEs induce caspase-mediated apoptosis of rat BMSCs via TNF production and oxidative stress. *J. Mol. Endocrinol.* **52**, 67–76 (2013).
196. Miranda, C. *et al.* Influence of high glucose and advanced glycation end-products (ages) levels in human osteoblast-like cells gene expression. *BMC Musculoskelet. Disord.* **17**, 377 (2016).
197. Díaz-López, A. *et al.* Reduced serum concentrations of carboxylated and undercarboxylated osteocalcin are associated with risk of developing type 2 diabetes mellitus in a high cardiovascular risk population: a nested case-control study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **98**, 4524–31 (2013).
198. Duan, P., Yang, M., Wei, M., Liu, J. & Tu, P. Serum Osteoprotegerin Is a Potential Biomarker of Insulin Resistance in Chinese Postmenopausal Women with Prediabetes and Type 2 Diabetes. *Int. J. Endocrinol.* **2017**, 8724869 (2017).
199. Pérez de Ciriza, C., Lawrie, A. & Varo, N. Osteoprotegerin in

Calidad de la alimentación y salud ósea

- Cardiometabolic Disorders. *Int. J. Endocrinol.* **2015**, 564934 (2015).
200. Della Guardia, L., Thomas, M. A. & Cena, H. Insulin Sensitivity and Glucose Homeostasis Can Be Influenced by Metabolic Acid Load. *Nutrients* **10**, 618 (2018).
 201. Frassetto, L. A. & Sebastian, A. How metabolic acidosis and oxidative stress alone and interacting may increase the risk of fracture in diabetic subjects. *Med. Hypotheses* **79**, 189–192 (2012).
 202. Krieger, N. S. & Bushinsky, D. A. Stimulation of fibroblast growth factor 23 by metabolic acidosis requires osteoblastic intracellular calcium signaling and prostaglandin synthesis. *Am. J. Physiol. - Ren. Physiol.* **313**, F882–F886 (2017).
 203. Krieger, N. S., Culbertson, C. D., Kyker-Snowman, K. & Bushinsky, D. A. Metabolic acidosis increases fibroblast growth factor 23 in neonatal mouse bone. *Am. J. Physiol. - Ren. Physiol.* **303**, (2012).
 204. Giustina, A., Mazziotti, G. & Canalis, E. Growth hormone, insulin-like growth factors, and the skeleton. *Endocr. Rev.* **29**, 535–59 (2008).
 205. Hart, P. D. & Buck, D. J. The effect of resistance training on health-related quality of life in older adults: Systematic review and meta-analysis. *Heal. Promot. Perspect.* **9**, 1–12 (2019).
 206. Movassagh, E. Z. & Vatanparast, H. Current evidence on the association of dietary patterns and bone health: A scoping review. *Adv. Nutr.* **8**, 1–16 (2017).
 207. Martínez-González, M. A. *et al.* Benefits of the Mediterranean Diet: Insights From the PREDIMED Study. *Prog. Cardiovasc. Dis.* **58**, 50–60 (2015).
 208. Hosseini, B. *et al.* Effects of fruit and vegetable consumption on inflammatory biomarkers and immune cell populations: A systematic literature review and meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* **108**, 136–155 (2018).
 209. Weitzmann, M. N. & Pacifici, R. Estrogen deficiency and bone loss: an inflammatory tale. *J. Clin. Invest.* **116**, 1186–94 (2006).

REFERENCIAS

210. Pino, A. M. *et al.* Concentration of adipogenic and proinflammatory cytokines in the bone marrow supernatant fluid of osteoporotic women. *J. Bone Miner. Res.* **25**, 492–8 (2010).
211. Cauley, J. A. *et al.* Inflammatory markers and incident fracture risk in older men and women: The health aging and body composition study. *J. Bone Miner. Res.* **22**, 1088–1095 (2007).
212. Barbour, K. E. *et al.* Inflammatory markers and risk of hip fracture in older white women: the study of osteoporotic fractures. *J. Bone Miner. Res.* **29**, 2057–64 (2014).
213. Abrahamsen, B., Bonnevie-Nielsen, V., Ebbesen, E. N., Gram, J. & Beck-Nielsen, H. Cytokines and Bone Loss in a 5-Year Longitudinal Study-Hormone Replacement Therapy Suppresses Serum Soluble Interleukin-6 Receptor and Increases Interleukin-1-Receptor Antagonist: The Danish Osteoporosis Prevention Study. *J. Bone Miner. Res.* **15**, 1545–1554 (2000).
214. Feng, W. *et al.* Combination of IL-6 and sIL-6R differentially regulate varying levels of RANKL-induced osteoclastogenesis through NF- κ B, ERK and JNK signaling pathways. *Sci. Rep.* **7**, 41411 (2017).
215. Jilka, R. L. *et al.* Increased osteoclast development after estrogen loss: mediation by interleukin-6. *Science* **257**, 88–91 (1992).
216. Kim, H. S. *et al.* Positive association between dietary inflammatory index and the risk of osteoporosis: Results from the KoGES_health examinee (HEXA) cohort study. *Nutrients* **10**, (2018).
217. Lee, S. *et al.* The effects of the Korean reference value on the prevalence of osteoporosis and the prediction of fracture risk. *BMC Musculoskelet. Disord.* **16**, (2015).
218. Zhang, Z. qing *et al.* Association Between Diet Inflammatory Index and Osteoporotic Hip Fracture in Elderly Chinese Population. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* **18**, 671–677 (2017).

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

10. APÉNDICES

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
CALIDAD DE LA ALIMENTACIÓN Y SALUD ÓSEA
Jesús Francisco García Gavilán

10.1. Contribuciones científicas

10.1.1. Publicaciones propias resultado de la presente Tesis Doctoral

García-Gavilán JE, Paz-Graniel I, Babio N, Romaguera D, Martínez JA, Martin V, Martínez MA, Konieczna J, Ruiz-Canela M, de Paz Fernández JA, Goday A, Martínez-González MA, Bulló M, Salas-Salvadó J. Inflammatory potential of diet and bone mineral density in a senior Mediterranean population: a cross-sectional analysis of PREDIMED-Plus study. Sometido en: Nutrients.

García-Gavilán JE, Martínez A, Konieczna J, Mico-Perez R, García-Arellano A, Basora J, Barrubés L, Goday A, Canudas S, Salas-Salvadó J, Bulló M. U-Shaped Association between Dietary Acid Load and Risk of Osteoporotic Fractures in 2 Populations at High Cardiovascular Risk. J Nutr. 2021 Jan 4;151(1):152-161. doi: 10.1093/jn/nxaa335. PMID: 33296471.

García-Gavilán JE, Bulló M, Camacho-Barcia L, Rosique-Esteban N, Hernández-Alonso P, Basora J, Martínez-González MA, Estruch R, Fitó M, Salas-Salvadó J. Higher dietary glycemic index and glycemic load values increase the risk of osteoporotic fracture in the PREvención con Dieta MEDiterránea (PREDIMED)-Reus trial. Am J Clin Nutr. 2018 Jun 1;107(6):1035-1042. doi: 10.1093/ajcn/nqy043. PMID: 29746627.

Calidad de la alimentación y salud ósea

García-Gavilán JF, Bulló M, Canudas S, Martínez-González MA, Estruch R, Giardina S, Fitó M, Corella D, Ros E, Salas-Salvadó J. Extra virgin olive oil consumption reduces the risk of osteoporotic fractures in the PREDIMED trial. Clin Nutr. 2018 Feb;37(1):329-335. doi: 10.1016/j.clnu.2016.12.030. Epub 2017 Jan 13. PMID: 28143667.

10.1.2. Otras publicaciones realizadas durante la Tesis Doctoral.

García-Gavilán J, Camacho-Barcia L, Papandreou C, Hansen TT, Harrold JA, Finlayson G, Blundell JE, Sjödin A, Halford JCG, Bulló M. Circulating Metabolites Associated with Postprandial Satiety in Overweight/Obese Participants: The SATIN Study. *Nutrients*. 2021; 13(2):549. <https://doi.org/10.3390/nu13020549>

Bouzas C, Bibiloni MDM, Julibert A, Ruiz-Canela M, Salas-Salvadó J, Corella D, Zomeño MD, Romaguera D, Vioque J, Alonso-Gómez ÁM, Wärnberg J, Martínez JA, Serra-Majem L, Estruch R, Tinahones FJ, Lapetra J, Pintó X, García Ríos A, Bueno-Cavanillas A, Gaforio JJ, Matía-Martín P, Daimiel L, Martín-Sánchez V, Vidal J, Vázquez C, Ros E, Fernandez-Lázaro CI, Becerra-Tomás N, Gimenez-Alba IM, Muñoz J, Morey M, Oncina-Canovas A, Tojal-Sierra L, Pérez-López J, Abete I, Casañas-Quintana T, Castro-Barquero S, Bernal-López MR, Santos-Lozano JM, Galera A, Angullo-Martinez E, Basterra-Gortari FJ, Basora J, Saiz C, Castañer O, Martín M, Notario-Barandiarán L, Belló-Mora MC, Sayón-Orea C, **García-Gavilán J**, Goday A, Tur JA. Adherence to the Mediterranean Lifestyle and Desired Body Weight Loss in a Mediterranean Adult Population with Overweight: A PREDIMED-Plus Study. *Nutrients*. 2020 Jul 16;12(7):2114. doi: 10.3390/nu12072114. PMID: 32708828; PMCID: PMC7400596.

Calidad de la alimentación y salud ósea

Gallardo-Alfaro L, Bibiloni MDM, Mascaró CM, Montemayor S, Ruiz-Canela M, Salas-Salvadó J, Corella D, Fitó M, Romaguera D, Vioque J, Alonso-Gómez ÁM, Wärnberg J, Martínez JA, Serra-Majem L, Estruch R, Fernández-García JC, Lapetra J, Pintó X, García Ríos A, Bueno-Cavanillas A, Gaforio JJ, Matía-Martín P, Daimiel L, Micó-Pérez RM, Vidal J, Vázquez C, Ros E, Fernandez-Lázaro CI, Becerra-Tomás N, Gimenez-Alba IM, Zomeño MD, Konieczna J, Compañ-Gabucio L, Tojal-Sierra L, Pérez-López J, Zulet MÁ, Casañas-Quintana T, Castro-Barquero S, Gómez-Pérez AM, Santos-Lozano JM, Galera A, Basterra-Gortari FJ, Basora J, Saiz C, Pérez-Vega KA, Galmés-Panadés AM, Tercero-Maciá C, Sorto-Sánchez C, Sayón-Orea C, **García-Gavilán J**, Muñoz-Martínez J, Tur JA. Leisure-Time Physical Activity, Sedentary Behaviour and Diet Quality are Associated with Metabolic Syndrome Severity: The PREDIMED-Plus Study. *Nutrients*. 2020 Apr 7;12(4):1013. doi: 10.3390/nu12041013. PMID: 32272653; PMCID: PMC7230557.

Hansen TT, Mead BR, **García-Gavilán JE**, Korndal SK, Harrold JA, Camacho-Barcía L, Ritz C, Christiansen P, Salas-Salvadó J, Hjorth MF, Blundell J, Bulló M, Halford JCG, Sjodin A. Is reduction in appetite beneficial for body weight management in the context of overweight and obesity? Yes, according to the SATIN (Satiety Innovation) study. *J Nutr Sci*. 2019 Nov 27;8:e39. doi: 10.1017/jns.2019.36. PMID: 32042406; PMCID: PMC6984007.

Galiè S, Canudas S, Muralidharan J, **García-Gavilán J**, Bulló M, Salas-Salvadó J. Impact of Nutrition on Telomere Health: Systematic Review

APÉNDICES

of Observational Cohort Studies and Randomized Clinical Trials. *Adv Nutr.* 2020 May 1;11(3):576-601. doi: 10.1093/advances/nmz107. PMID: 31688893; PMCID: PMC7231592.

Hernández-Alonso P, **García-Gavilán J**, Camacho-Barcia L, Sjödin A, Hansen TT, Harrold J, Salas-Salvadó J, Halford JCG, Canudas S, Bulló M. Plasma metabolites associated with homeostatic model assessment of insulin resistance: metabolite-model design and external validation. *Sci Rep.* 2019 Sep 25;9(1):13895. doi: 10.1038/s41598-019-50260-7. PMID: 31554919; PMCID: PMC6761105.

Becerra-Tomás N, Mena-Sánchez G, Díaz-López A, Martínez-González MÁ, Babio N, Corella D, Freixer G, Romaguera D, Vioque J, Alonso-Gómez ÁM, Wärnberg J, Martínez JA, Serra-Majem L, Estruch R, Fernández-García JC, Lapetra J, Pintó X, Tur JA, López-Miranda J, Bueno-Cavanillas A, Gaforio JJ, Matía-Martín P, Daimiel L, Martín-Sánchez V, Vidal J, Vázquez C, Ros E, Razquin C, Abellán Cano I, Sorli JV, Torres L, Morey M, Navarrete-Muñoz EM, Tojal Sierra L, Crespo-Oliva E, Zulet MÁ, Sanchez-Villegas A, Casas R, Bernal-Lopez MR, Santos-Lozano JM, Corbella E, Del Mar Bibiloni M, Ruiz-Canela M, Fernández-Carrión R, Quifer M, Prieto RM, Fernandez-Brufal N, Salaverria Lete I, Cenoz JC, Llimona R, Salas-Salvadó J; **PREDIMED-Plus Investigators**. Cross-sectional association between non-soy legume consumption, serum uric acid and hyperuricemia: the PREDIMED-Plus study. *Eur J Nutr.* 2020 Aug;59(5):2195-2206. doi: 10.1007/s00394-019-02070-w. Epub 2019 Aug 5. PMID: 31385063.

Calidad de la alimentación y salud ósea

Hansen TT, Hjorth MF, Sandby K, Andersen SV, Astrup A, Ritz C, Bulló M, Camacho-Barcía ML, García-Gavilán JF, Salas-Salvadó J, Harrold JA, Halford JCG, Sjödín A. Predictors of successful weight loss with relative maintenance of fat-free mass in individuals with overweight and obesity on an 8-week low-energy diet. *Br J Nutr.* 2019 Aug 28;122(4):468-479. doi: 10.1017/S0007114519001296. Epub 2019 Jun 27. PMID: 31242952.

Canudas S, Hernández-Alonso P, Galié S, Muralidharan J, Morell-Azanza L, Zalba G, García-Gavilán J, Martí A, Salas-Salvadó J, Bulló M. Pistachio consumption modulates DNA oxidation and genes related to telomere maintenance: a crossover randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr.* 2019 Jun 1;109(6):1738-1745. doi: 10.1093/ajcn/nqz048. PMID: 31051499; PMCID: PMC6895461.

Papandreou C, Camacho-Barcía L, García-Gavilán J, Hansen TT, Hjorth MF, Halford JCG, Salas-Salvadó J, Sjödín A, Bulló M. Circulating metabolites associated with objectively measured sleep duration and sleep variability in overweight/obese participants: a metabolomics approach within the SATIN study. *Sleep.* 2019 May 1;42(5):zsz030. doi: 10.1093/sleep/zsz030. PMID: 30722060.

Martínez-González MA, Buil-Cosiales P, Corella D, Bulló M, Fitó M, Vioque J, Romaguera D, Martínez JA, Wärnberg J, López-Miranda J, Estruch R, Bueno-Cavanillas A, Arós F, Tur JA, Tinahones F, Serra-

APÉNDICES

Majem L, Martín V, Lapetra J, Vázquez C, Pintó X, Vidal J, Daimiel L, Delgado-Rodríguez M, Matía P, Ros E, Fernández-Aranda F, Botella C, Portillo MP, Lamuela-Raventós RM, Marcos A, Sáez G, Gómez-Gracia E, Ruiz-Canela M, Toledo E, Alvarez-Alvarez I, Díez-Espino J, Sorlí JV, Basora J, Castañer O, Schröder H, Navarrete-Muñoz EM, Zulet MA, García-Rios A, Salas-Salvadó J; **PREDIMED-Plus Study Investigators**. Cohort Profile: Design and methods of the PREDIMED-Plus randomized trial. *Int J Epidemiol*. 2019 Apr 1;48(2):387-388o. doi: 10.1093/ije/dyy225. PMID: 30476123.

Salas-Salvadó J, Díaz-López A, Ruiz-Canela M, Basora J, Fitó M, Corella D, Serra-Majem L, Wärnberg J, Romaguera D, Estruch R, Vidal J, Martínez JA, Arós F, Vázquez C, Ros E, Vioque J, López-Miranda J, Bueno-Cavanillas A, Tur JA, Tinahones FJ, Martín V, Lapetra J, Pintó X, Daimiel L, Delgado-Rodríguez M, Matía P, Gómez-Gracia E, Díez-Espino J, Babio N, Castañer O, Sorlí JV, Fiol M, Zulet MÁ, Bulló M, Goday A, Martínez-González MÁ; **PREDIMED-Plus investigators**. Effect of a Lifestyle Intervention Program With Energy-Restricted Mediterranean Diet and Exercise on Weight Loss and Cardiovascular Risk Factors: One-Year Results of the PREDIMED-Plus Trial. *Diabetes Care*. 2019 May;42(5):777-788. doi: 10.2337/dc18-0836. Epub 2018 Nov 2. PMID: 30389673.

Salas-Salvadó J, Becerra-Tomás N, **García-Gavián JF**, Bulló M, Barrubés L. Mediterranean Diet and Cardiovascular Disease Prevention: What Do We Know? *Prog Cardiovasc Dis*. 2018 May-

Calidad de la alimentación y salud ósea

Jun;61(1):62-67. doi: 10.1016/j.pcad.2018.04.006. Epub 2018 Apr 18.
PMID: 29678447.

Camacho-Barcia L, Bulló M, **García-Gavilán JF**, Martínez-González MA, Corella D, Estruch R, Fitó M, Gómez-Gracia E, Arós F, Fiol M, Santos-Lozano JM, Serra-Majem L, Pintó X, Basora J, Toledo E, Muñoz MA, Zanon-Moreno V, García-Layana A, Salas-Salvadó J. Dairy products intake and the risk of incident cataracts surgery in an elderly Mediterranean population: results from the PREDIMED study. Eur J Nutr. 2019 Mar;58(2):619-627. doi: 10.1007/s00394-018-1647-8. Epub 2018 Mar 27. PMID: 29589119.

Camacho-Barcia ML, Bulló M, **García-Gavilán JF**, Ruiz-Canela M, Corella D, Estruch R, Fitó M, García-Layana A, Arós F, Fiol M, Lapetra J, Serra-Majem L, Pintó X, García-Arellano A, Vinyoles E, Sorli JV, Salas-Salvadó J. Association of Dietary Vitamin K1 Intake With the Incidence of Cataract Surgery in an Adult Mediterranean Population: A Secondary Analysis of a Randomized Clinical Trial. JAMA Ophthalmol. 2017 Jun 1;135(6):657-661. doi: 10.1001/jamaophthalmol.2017.1076. PMID: 28494067; PMCID: PMC5847084.

10.2. Participación en proyectos de investigación

Título de proyecto: Efecto de una dieta basada en alimentos saludables o dieta mediterránea sobre los cambios en la composición y la funcionalidad de la microbiota fecal y su relación con la mejoría metabólica.

Expediente: PI16/00516.

Empresa o administración financiadora: Fondo de Investigación Sanitaria (FIS) y cofinanciado por el Fondo Europeo de Desarrollo Regional. Instituto de Salud Carlos III (ISCIII).

Duración (meses): 2017-2019 (36).

Investigador Principal: Dra. Mònica Bulló.

Cargo en el proyecto: Investigador asociado.

10.3. Participación en congresos nacionales e internacionales

10.3.1. Congresos internacionales

“The relationship between dietary acid load with osteoporotic fracture risk and bone mineral density in two elderly Mediterranean populations”. 26th European Congress on Obesity. Glasgow (Reino Unido). 28 de abril al 01 de mayo del 2019. Póster. Obesity Facts. 12, pp. 135.

“The relationship between dietary glyceamic, dietary glyceamic load and the osteoporotic fracture risk in an elderly Mediterranean population”. 25th European Congress on Obesity. Viena (Austria). 23 – 26 de mayo del 2018. Póster. Obesity Facts. 11, pp. 309 – 310.

“Dietary glycaemic index and the risk of osteoporotic fracture in the PREDIMED Study”. 35th International Symposium on Diabetes & Nutrition. Skagen (Dinamarca). 19 – 22 de junio del 2017. Comunicación oral.

“Extra virgin olive oil intake reduces the risk of osteoporotic fractures in middle-aged and elderly Mediterranean population”. 24th European Congress on Obesity. Oporto (Portugal). 17 – 20 de mayo del 2017. Póster.

10.3.2. Congresos nacionales

“Relación entre la carga ácida de la dieta, la densidad mineral ósea y el riesgo de fractura en dos poblaciones mediterráneas”. XV Congreso Nacional de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO). Vigo. 13 - 15 de marzo del 2019. Comunicación oral.

Libro de Abstracts, C – 002.

“The relationship between acid load with osteoporotic fracture risk and bone mineral density in two elderly Mediterranean population”. IX Symposium Ciber Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición – Obesity and Nutrition in the 21st Century. Madrid. 21 – 22 de noviembre del 2018. Póster. Libro de Abstracts del IX Symposium Ciber Fisiopatología de la Obesidad y Nutrición – Obesity and Nutrition in the 21st Century 2018. Página 65.

“Relación entre el índice glucémico y la carga glucémica dietética con el riesgo de fractura en una población mediterránea de mediana edad y anciana”. XIV Congreso Nacional de la Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad. Lérida. 14 – 16 de marzo del 2018. Póster. Libro de Abstracts, P-028.

“El consumo de aceite de oliva virgen reduce el riesgo de fractura osteoporótica en sujetos con elevado riesgo cardiovascular”. II Congreso de Obesidad y complicaciones metabólicas. Sevilla. 15 – 17 de marzo del 2017. Comunicación oral.

Calidad de la alimentación y salud ósea