



TESIS DOCTORAL

**VALORACIÓN DE LA INGESTA DE METALES PESADOS EN LA DIETA
DE MUJERES EXTREMEÑAS: EFECTOS SOBRE LA MASA ÓSEA**

LUIS MANUEL PUERTO PAREJO

PROGRAMA DE DOCTORADO:

INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA APLICADA (R009)

2018



TESIS DOCTORAL

**VALORACIÓN DE LA INGESTA DE METALES PESADOS EN LA DIETA
DE MUJERES EXTREMEÑAS: EFECTOS SOBRE LA MASA ÓSEA**

LUIS MANUEL PUERTO PAREJO

PROGRAMA DE DOCTORADO:

INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA APLICADA (R009)

2018

Conformidad del director:

Conformidad del co-director

Dr. D. José María Morán García

Dr. D. Raúl Roncero Martín



DEPARTAMENTO DE ENFERMERÍA

Facultad de Enfermería y Terapia Ocupacional
Avd. Universidad s/n
10003-CACERES
ESPAÑA-SPAIN

José María Morán García, Profesor Contratado Doctor adscrito al Departamento de Enfermería de la Facultad de Enfermería y Terapia Ocupacional de la Universidad de Extremadura,

CERTIFICA:

Que la presente tesis doctoral, titulada “VALORACIÓN DE LA INGESTA DE METALES PESADOS EN LA DIETA DE MUJERES EXTREMEÑAS: EFECTOS SOBRE LA MASA ÓSEA” de la que es autor Luis Manuel Puerto Parejo, ha sido realizada bajo su dirección en el Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura.

Que revisada la memoria presentada, el Director del trabajo considera que posee las condiciones requeridas para ser defendida como un trabajo de Tesis Doctoral mediante Compendio de Publicaciones. Por todo ello,

AUTORIZA:

Su presentación y defensa pública al tribunal designado al efecto de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 99/2011 de 28 de enero.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, expide el presente certificado en Cáceres a 18 de diciembre de 2017.

Fdo. José María Morán García.



DEPARTAMENTO DE ENFERMERÍA

Facultad de Enfermería y Terapia Ocupacional
Avd. Universidad s/n
10003-CACERES
ESPAÑA-SPAIN

Raúl Pedro Roncero Martín, Profesor Contratado Doctor adscrito al Departamento de Enfermería de la Facultad de Enfermería y Terapia Ocupacional de la Universidad de Extremadura,

CERTIFICA:

Que la presente tesis doctoral, titulada “VALORACIÓN DE LA INGESTA DE METALES PESADOS EN LA DIETA DE MUJERES EXTREMEÑAS: EFECTOS SOBRE LA MASA ÓSEA” de la que es autor Luis Manuel Puerto Parejo, ha sido realizada bajo su dirección en el Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura.

Que revisada la memoria presentada, el Co-director del trabajo considera que posee las condiciones requeridas para ser defendida como un trabajo de Tesis Doctoral mediante Compendio de Publicaciones. Por todo ello,

AUTORIZA:

Su presentación y defensa pública al tribunal designado al efecto de acuerdo con lo previsto en el Real Decreto 99/2011 de 28 de enero.

Y para que así conste y surta los efectos oportunos, expide el presente certificado en Cáceres a 18 de diciembre de 2017.

Fdo. Raúl Pedro Roncero Martín.

FINANCIACIÓN

Este trabajo ha sido financiado con el proyecto del Plan de Ayuda a Grupos de Investigación del Gobierno de Extremadura (GR15144). Toda la financiación recibida está cofinanciada por el programa FEDER de la Unión Europea.

JUNTA DE EXTREMADURA

Consejería de Educación y Empleo



Unión Europea

Fondo Social Europeo
“El FSE invierte en tu futuro”

TESIS DOCTORAL COMO COMPENDIO DE PUBLICACIONES.

El presente trabajo de tesis doctoral se presenta como compendio de publicaciones, de acuerdo con el artículo 46 de la Resolución de 18 de febrero de 2014, del Gerente, por la que se ejecuta el acuerdo adoptado por el Consejo de Gobierno por el que se aprueba la modificación de la normativa de los estudios de Doctorado, en el que se aprueba la normativa de Desarrollo del Régimen relativo a la elaboración, tribunal, defensa y evaluación de la Tesis Doctoral del Real Decreto 99/2011, de 28 de enero (BOE de 10 de febrero). Dichas publicaciones recogen todos los resultados que han sido obtenidos en los diferentes trabajos de investigación desarrollados con el fin de alcanzar el objetivo fijado para la realización de la tesis.

A continuación se detallan los artículos que integran la tesis (Capítulo IV):

- **Puerto-Parejo, L.M.**; Aliaga, I.; Canal-Macias, M.L.; Leal-Hernandez, O.; Roncero-Martín, R.; Rico-Martín, S.; Moran, J.M. Evaluation of the Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Relationship with Bone Health among Postmenopausal Women in Spain. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2017, 14, 564.
- Lavado-García, J.M^a.; **Puerto-Parejo, L.M^a.**; Roncero-Martín, R.; Moran, J.M.; Pedrera-Zamorano, J.D.; Aliaga, I.J.; Leal-Hernández, O.; Canal-Macias, M.L. Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Association with Bone Health in Healthy Premenopausal Women. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 2017, 14, 1437.

^a Ambos autores contribuyeron de igual forma a este trabajo.

Adicionalmente también se han presentado las siguientes comunicaciones a congresos internacionales (Capítulo V).

- Roncero Martín R, Rico S, **Puerto Parejo LM**, Vera V, Lavado García JM, Rodríguez Domínguez T, Calderón García J. Exposición dietética a metales pesados y salud ósea en mujeres pre-menopáusicas de Extremadura. XXI CONGRESO SEIOMM - Gran Canaria 19-21 de octubre 2016. *Rev. Osteoporos. Metab. Miner.* 2016 8;3:14-51

- Morán JM, Leal Muro A, Costa Fernández C, **Puerto Parejo LM**, Pedrera Canal M, Rey Sánchez P, Pedrera Zamorano JD. Densidad mineral ósea y exposición dietética a metales pesados (cadmio, mercurio y plomo) en mujeres postmenopáusicas sanas de Extremadura XXI CONGRESO SEIOMM - Gran Canaria 19-21 de octubre 2016. *Rev. Osteoporos. Metab. Miner.* 2016 8;3:14-51

Los trabajos publicados y que forman parte de esta tesis doctoral tiene como objetivo principal estudiar la ingesta dietética de metales pesados presentes en la dieta habitual de mujeres extremeñas adultas así como evaluar la posible relación entre la ingesta de estos metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) y la masa ósea en esta población. El primero de los trabajos presentados focaliza en el colectivo de mujeres extremeñas postmenopausicas mientras que el segundo lo hace sobre mujeres premenopausicas.

DEDICATORIA

A mi familia, a mis amigos.

AGRADECIMIENTOS

Muchos son los esfuerzos que empeñamos en los proyectos que nos proponemos. En algunos caminamos acompañados y en otros la soledad es nuestra única aliada. De todos los proyectos, académicos, profesionales y personales que he emprendido, he tenido la suerte de contar, en la mayoría de ellos, con las mejores personas.

De mis Directores de Tesis Doctoral, Dr. Morán García y Dr. Roncero Martín he recibido la instrucción, la preparación y el ánimo necesario para poder llevar este proyecto a buen puerto. No puedo más que cederles el protagonismo que tanto se merecen y agradecer enormemente la dedicación prestada. Gracias por dotarme de las herramientas para poder poner fin a esta tesis doctoral.

De mi familia sólo he podido esperar todo: seguro respaldo, inmenso cariño, paciencia infinita.

De mis compañeros y colegas, agradezco sus palabras de ánimo y su ayuda, sin dudar, en los casos en los que les he necesitado para esta tarea. Agradezco su apoyo.

De mis amigos recibí su comprensión, respeto, ayuda y un cómplice estar a mi lado en muchos de esos momentos. Sin alguno de ellos, no sería la persona que actualmente soy, no habría llegado a donde estoy y no vislumbraría el futuro con la esperanza y la ilusión con la que lo hago.

La suerte me ha llevado a estar rodeado de las mejores personas. Mis logros no han sido, ni serán, sino suyos, enteramente.

Por último, querría agradecer al Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura, al Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas (GIEMO) y a la propia Facultad de Enfermería y Terapia Ocupacional de la Universidad de Extremadura, el haber puesto a mi disposición las instalaciones, los equipos y el material necesario para poder realizar este trabajo.

ABREVIATURAS

- CONTAM.- Contaminants in the Food Chain (Contaminantes en la cadena alimentaria).
- DMO.- Densidad Mineral Ósea.
- DEXA.- Dual X-Ray Absorptiometry (Absorciometría Dual de Rayos X).
- EFSA.- European Food Safety Authority (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria).
- FAO.- Food and Agriculture Organization of the United Nations (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura).
- GIEMO.- Grupo de Investigación de Enfermedades Metabólicas Óseas (Departamento de Enfermería, Universidad de Extremadura).
- JEFCA.- Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios).
- IMC.- Índice de Masa Corporal.
- OMS.- Organización Mundial de la Salud.
- pQCT.- Peripheral Quantitative Computed Tomography (Tomografía cuantitativa periférica)
- QUS.- Quantitative Bone Ultrasound (Ultrasonido Cuantitativo Óseo).
- UNESCO.- Organización de las Naciones Unidas para la Educación, la Ciencia y la Cultura.

LISTA DE TABLAS Y FIGURAS

<u>Tablas:</u>	<u>Página</u>
- Tabla 1. Características de la muestra respecto de la ingesta de cadmio. _____	20
- Tabla 2. Características de la muestra respecto de la ingesta de plomo. _____	21
- Tabla 3. Características de la muestra respecto de la ingesta de mercurio. ____	21
- Tabla 4. Determinaciones de masa ósea (ultrasonido, DEXA y pQCT) respecto de la ingesta de cadmio en mujeres postmenopáusicas. _____	22
- Tabla 5. Determinaciones de masa ósea (ultrasonido, DEXA y pQCT) respecto de la ingesta de plomo en mujeres postmenopáusicas. _____	22
- Tabla 6. Determinaciones de masa ósea (ultrasonido, DEXA y pQCT) respecto de la ingesta de mercurio en mujeres postmenopáusicas. _____	23
- Tabla 7. Ingesta total de metales pesados y salud ósea en mujeres postmenopáusicas. _____	24
- Tabla 8. Características de la muestra con respecto a la ingesta dietética de cadmio en mujeres premenopáusicas. _____	25
- Tabla 9. Características de la muestra con respecto a la ingesta dietética de plomo en mujeres premenopáusicas. _____	26
- Tabla 10. Características de la muestra con respecto a la ingesta dietética de mercurio en mujeres premenopáusicas. _____	26
- Tabla 11. Densidad ósea e ingesta de cadmio en mujeres premenopáusicas. __	27
- Tabla 12. Densidad ósea e ingesta de plomo en mujeres premenopáusicas. __	28
- Tabla 13. Densidad ósea e ingesta de mercurio en mujeres premenopáusicas.	29
- Tabla 14. Correlaciones parciales (ingesta de nutrientes y metales pesados).	30
- Tabla 15. Estudio de correlación parcial (ingesta dietética de metales pesados y salud ósea en mujeres premenopáusicas). _____	31

Figuras

- Figura 1. Densitómetro Norland XR-800®, en las instalaciones del Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas. _____	9
- Figura 2. Equipo DBM Sonic Bone Profiler® de IGEA en las instalaciones del Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas. _____	10
- Figura 3. Stratec XCT 2000 (Stratec Medizintechnik GMBH, Pforzheim, Germany) en las instalaciones del Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas. _____	12
- Figura 4: Contribución en porcentaje de cada grupo de alimentos a la ingesta de metales pesados en mujeres postmenopáusicas. _____	19

INDICE.

	Páginas
CAPÍTULO I. DESCRIPCIÓN GENERAL, OBJETIVOS, MATERIAL Y MÉTODO.....	1
I. 1. Introducción general	1
I. 1. 1. La exposición a metales pesados en humanos.....	1
I. 1. 1. Exposición a metales pesados y tejido óseo.....	2
I. 1. 2. Cuestionarios de ingesta dietética	4
I. 1. 3. Determinación de la salud ósea	4
I. 2. Objetivo.....	5
I. 3. Material y métodos.....	5
I. 3. 1. Muestra de estudio.....	5
I. 3. 1. 1. Análisis de subgrupos	6
I. 3. 2. Diseño del estudio	6
I. 3. 3. Procedimientos de medida	7
I. 3. 3. 1. Índice de masa corporal.....	7
I. 3. 3. 2. Encuesta dietética.....	7
I. 3. 3. 3. Determinación de la DMO mediante DEXA.....	8
I. 3. 3. 4. Determinación de ultrasonido óseo cuantitativo.....	10
I. 3. 3. 5. Determinacion de la densidad mineral ósea cortical y trabecular mediante pQCT.....	11
I. 3. 4. Análisis estadístico.....	12

CAPÍTULO II. EVALUACIÓN DE LA INGESTA DIETÉTICA DE METALES PESADOS (CADMIO, PLOMO Y MERCURIO) Y SU RELACIÓN CON LA SALUD ÓSEA EN MUJERES ESPAÑOLAS POSTMENOPAUSICAS Y PREMENOPÁUSICAS..... 15

II. 1. Introducción..... 15

II. 2. Objetivo..... 16

II. 3. Método 17

II. 3. 1. Determinación de la masa ósea..... 18

II. 3. 2. Determinación de la ingesta dietética de metales pesados y covariables.
..... 18

II. 4. Resultados..... 19

II. 4. 1. Ingesta dietética de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) en mujeres postmenopáusicas. 19

II. 4. 2. Caracterización de la muestra de mujeres postmenopáusicas respecto de la ingesta de metales pesados..... 20

II. 4. 3. Salud ósea e ingesta dietética de metales pesados en la muestra de estudio.
..... 21

II. 4. 4. Riesgo de baja masa ósea y asociación con la ingesta de metales pesados en mujeres postmenopáusicas. 23

II. 4. 5. Ingesta total de metales pesados y salud ósea en mujeres postmenopausicas..... 24

II. 4. 6. Ingesta dietética de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) en mujeres premenopáusicas. 25

II. 4. 7. Ingesta de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) y densidad mineral ósea en mujeres premenopáusicas. 27

II. 4. 8. Estudio de correlación entre la ingesta de metales pesados y nutrientes en mujeres premenopáusicas.....	29
II. 4. 9. Estudio de correlación entre la ingesta de metales pesados y la salud ósea en mujeres premenopáusicas.....	30
II. 4. 10. Grupos de alimentos e ingesta de metales pesados en mujeres premenopáusicas.	31
CAPÍTULO III. DISCUSIÓN INTEGRADORA.....	33
III. 1. La ingesta de metales pesados y salud ósea en mujeres premenopáusicas y postmenopausicas.....	33
III. 2. Ingesta dietética de metales pesados, cadmio, plomo y mercurio en las mujeres premenopáusicas y postmenopausicas estudiadas.....	35
III. 3. Principales grupos de alimentos contribuyentes a la ingesta de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) a través de la dieta de las mujeres estudiadas.	37
III. 4. Fortalezas.....	37
III. 5. Limitaciones.....	38
CAPÍTULO IV. PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL.....	39
IV. 1. Publicación N° 1.	39
IV. 1. 1. Presentación de la publicación.....	39
IV. 1. 2. Informe	40
IV. 1. 3. Resumen en castellano	42
IV. 1. 4. Copia de la publicación.....	43
IV. 2. Publicación N° 2.	55
IV. 2. 1. Presentación de la publicación.....	55

IV. 2. 2. Informe.....	56
IV. 2. 3. Resumen en castellano.....	58
IV. 2. 4. Copia de la publicación.....	59
CAPÍTULO V. OTRAS CONTRIBUCIONES DERIVADAS DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS DOCTORAL	73
V. 1. Poster: XXI Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (Gran Canaria 19-21 octubre de 2016).	73
V. 1. 1. Portada de la Revista donde fue publicado.....	73
V. 1. 2. Página donde fue publicado (nº 16)	74
V. 1. 3. Póster.....	75
V. 2. Poster: XXI Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (Gran Canaria 19-21 octubre de 2016).	76
V. 2. 1. Portada de la Revista donde fue publicado.....	76
V. 2. 2. Página donde fue publicado (nº 3).....	77
V. 2. 3. Póster.....	78
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES	79
ANEXO 1: MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	81
ANEXO 2: PRIMERA PÁGINA DEL CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS ADMINISTRADO.	83
ANEXO 3: DATOS DE SALIDA DENSITÓMETRO NORLAND XR-800®.....	85
BIBLIOGRAFÍA.....	89

CAPÍTULO I.

DESCRIPCIÓN GENERAL Y OBJETIVOS

CAPÍTULO I. DESCRIPCIÓN GENERAL, OBJETIVOS, MATERIAL Y MÉTODO.

I. 1. Introducción general

I. 1. 1. La exposición a metales pesados en humanos.

La exposición a metales pesados en humanos ocurre fundamentalmente a través de diferentes vías, siendo el proceso de cuantificación de dicha absorción complicado debido a los diferentes niveles de absorción y al metabolismo (Lim, Lee, Kim, & Lee, 2016). Esta exposición a metales pesados como el plomo, mercurio y cadmio ocurre fundamentalmente a través de alimentos y agua contaminada así como por la contaminación aérea y el consumo de tabaco (Madeddu et al., 2011). Adicionalmente la exposición y la duración de esta pueden variar de forma significativa entre individuos. Otras vías de contaminación pueden incluir el contacto a través de la piel pero vías aéreas, fumar y la vía dietéticas siguen siendo las principales rutas por las que los metales pesados alcanzan el organismo (Albering, van Leusen, Moonen, Hoogewerff, & Kleinjans, 1999; Bosch, O'Neill, Sigge, Kerwath, & Hoffman, 2016; Chowdhury, Mazumder, Al-Attas, & Husain, 2016; Landsberger & Wu, 1995; Lim et al., 2016; Schneider & Krivna, 1993). Particularmente en el caso del cadmio, y para los no fumadores, o personas expuestas por motivos laborales, la vía dietética se ha identificado como una de las principales, contabilizando hasta el 90% de la exposición a cadmio en comparación con otras vías habituales (Loutfy et al., 2006; Yu et al., 2017). Una vez inhalados o ingeridos, cadmio, mercurio o plomo se distribuyen en diferentes tejidos y órganos (Boening, 2000; Swiergosz-Kowalewska, 2001).

En el caso del cadmio, este se excreta de forma poco eficiente pasando a acumularse a nivel hepático y renal (Jarup & Akesson, 2009). Los acúmulos en los tejidos de cadmio y mercurio son excretados de forma muy lenta a través de la vía urinaria y las heces, aproximadamente al mismo ritmo para ambos metales pesados. Sin embargo, el plomo se excreta de forma bastante rápida a través de la orina (Aaseth, Boivin, & Andersen, 2012; Boening, 2000).

El cadmio afecta a la absorción de cationes divalentes esenciales como el calcio (Madeddu et al., 2011). También se han establecido relaciones entre diferentes elementos esenciales como el calcio, el hierro y el zinc afectando, en este caso la presencia de cadmio a la absorción, excreción y retención tisular de esos elementos (Madeddu et al., 2011).

I. 1. 1. Exposición a metales pesados y tejido óseo

El tejido óseo es un tejido diana con el que interaccionan los metales pesados. La toxicidad de estos está asociada a diferentes procesos de tipo degenerativo, como la osteoporosis, así como alteraciones del proceso de remodelación ósea que podrían llevar a aumentar el riesgo de fractura (Kido, 2013; Lim et al., 2016). Recientemente se han revisado los efectos tóxicos de diferentes elementos, incluyendo los metales pesados cadmio, mercurio y plomo sobre la salud ósea (Dermience, Lognay, Mathieu, & Goyens, 2015). Los niveles sanguíneos de plomo, mercurio y cadmio se asocian de forma negativa con la DMO, siendo esta asociación dependiente del género (Lee et al., 2015).

La toxicidad de los metales pesados supone un riesgo para la salud dependiendo este de la concentración del mismo. En el caso de los metales pesados, incluso pequeñas exposiciones a cadmio, mercurio y plomo tiene efectos negativos sobre la salud (Leblanc et al., 2000; Marti-Cid, Llobet, Castell, & Domingo, 2008). El cadmio está posicionado en el puesto número séptimo de la lista de elementos tóxicos con mayor riesgo para la salud humana de la *Agency for Toxic Substances and Disease Registry* (ATSDR) (ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry), 2017). Tanto estudios en humanos como estudios *in vivo* han demostrado que el cadmio tiene efectos tóxicos en el tejido óseo, provocando una disminución de la densidad mineral ósea (DMO), mayor riesgo de desarrollo de osteoporosis así como fracturas óseas (Brzóška, Majewska, & Moniuszko-Jakoniuk, 2005; Chen et al., 2011; Engstrom, Michaelsson, Vahter, Julin, Wolk, & Akesson, 2012a; Jin et al., 2004; Staessen et al., 1999; Wang et al., 2003).

Diferentes estudios poblacionales a nivel mundial en Bélgica, Suiza, Japón y China han demostrado la existencia de una asociación entre una densidad mineral ósea reducida y exposiciones leves a cadmio (Akesson et al., 2006a; Honda et al., 2003; Lv et

al., 2017; Schutte et al., 2008; Zhu et al., 2004). El cadmio también interfiere con la estimulación de la activación de la vitamina D por la hormona paratiroidea, aumenta la excreción de calcio a nivel del riñón y reduce la absorción del mineral a nivel intestinal, interfiriendo por tanto con la incorporación del calcio a las células óseas (Kazantzis, 2004). El cadmio se ha asociado con una disminución de la DMO, interacciones con el metabolismo del calcio causando hipercalciuria, aumento del riesgo de fractura, ostomalacia y osteoporosis y la exposición crónica a cadmio causa la enfermedad de Itai-itai (Cai, Aoshima, Katoh, Teranishi, & Kasuya, 2001; Dermience et al., 2015), que se asocia con huesos débiles y fragilidad ósea. También existen evidencias de que el cadmio altera el metabolismo del calcio y las hormonas calciotropas. La exposición a cadmio también disminuye la concentración hepática de otros elementos como hierro, magnesio y selenio y aumenta los de cobre, zinc y manganeso (Dermience et al., 2015).

Diferentes estudios epidemiológicos han demostrado que los T-scores a nivel de cadera se asocian con una acumulación de cadmio y que esta asociación además está influenciada por el género (Aaseth et al., 2012; Akesson et al., 2002; Meltzer et al., 2010; Qin et al., 2010). Los niveles de cadmio en orina fruto de la excreción del mismo también se asocian con el desarrollo de osteoporosis (Jarup, Alfven, Persson, Toss, & Elinder, 1998; Jarup & Alfven, 2004) y la ingesta dietética (Gallagher, Kovach, & Meliker, 2008; Songprasert et al., 2015). Incluso exposiciones a bajos niveles de cadmio por vía dietética se han asociado con baja densidad mineral ósea y un aumento del riesgo de osteoporosis y fracturas (Engstrom, Michaelsson, Vahter, Julin, Wolk, & Akesson, 2012b).

La exposición a plomo se ha relacionado con un aumento en el remodelamiento óseo, una disminución de la mineralización y una disminución de la densidad mineral ósea, siendo adicionalmente considerada como una causante de osteoporosis en aquellos casos más graves (Dermience et al., 2015). Debido a sus características químicas el plomo puede sustituir al calcio en los cristales de hidroxapatita teniendo incluso mayor afinidad por la osteocalcina que el propio calcio (Dermience et al., 2015; Dowd, Rosen, Mints, & Gundberg, 2001).

En cuanto al mercurio, poco se sabe de sus efectos sobre el metabolismo óseo, y en general se considera que es necesario aumentar la investigación acerca de los efectos de este metal pesado sobre la salud ósea en humanos (Dermience et al., 2015).

I. 1. 2. Cuestionarios de ingesta dietética

La utilización de cuestionarios de ingesta dietética es una herramienta habitual para estimar la frecuencia de ingesta en población humana, ya sea mediante la valoración de alimentos individuales o grupos de alimentos. Dicha valoración se realiza durante diferentes periodos de tiempo (días, semanas, meses, años) y se usa cada vez más para la valoración de la exposición dietética a metales pesados en estudios epidemiológicos (Tucker, 2007; Zukowska & Biziuk, 2008). En cualquier caso, y hasta la fecha, pocos estudios han investigado hasta que punto la ingesta dietética de metales pesados se asocia con la DMO en mujeres (Engstrom et al., 2012b).

I. 1. 3. Determinación de la salud ósea

El procedimiento estándar para la evaluación de la densidad mineral ósea es la absorciometría dual de rayos X (DEXA) que ayuda a identificar pacientes en riesgo de desarrollo de osteoporosis o fracturas (Lorentzon & Cummings, 2015).

La utilización de ultrasonido cuantitativo óseo (QUS) es una alternativa al DEXA, libre de radiaciones ionizantes, portátil y que se basa en la utilización de ondas sonoras para evaluar propiedades del tejido óseo que no son valorables mediante DEXA (Calderon-Garcia et al., 2012a; Pedrera-Zamorano et al., 2009; Rey - Sánchez et al., 2009; Wuster et al., 2005; Zamorano et al., 2003).

La tomografía cuantitativa periférica (pQCT) facilita información sobre la densidad mineral ósea trabecular y cortical, suministrando información sobre la densidad volumétrica del tejido óseo, que es independiente del tamaño corporal, así como información sobre densidad mineral ósea a nivel de área (Engelke et al., 2008).

I. 2. Objetivo

El objetivo del presente trabajo de tesis doctoral es describir los parámetros dietéticos referidos a los metales pesados plomo, cadmio y mercurio en mujeres españolas y extremeñas sanas, no fumadoras y premenopáusicas. Igualmente se pretende caracterizar la ingesta dietética de metales pesados, plomo, cadmio y mercurio entre mujeres postmenopáusicas (el estrato poblacional con mayor retención de cadmio (Rignell-Hydbom et al., 2009) españolas sanas no fumadoras.

Adicionalmente se pretende establecer una relación entre la salud ósea determinada mediante DEXA, QUS y pQCT y la ingesta de dichos metales en ambos grupos de mujeres.

I. 3. Material y métodos

I. 3. 1. Muestra de estudio

En los laboratorios del Grupo de Investigación de Enfermedades Metabólicas Óseas (GIEMO) del Departamento de Enfermería de la Universidad de Extremadura, han sido estudiadas un total de 281 mujeres postmenopáusicas y 158 premenopáusicas de la Comunidad Autónoma de Extremadura. Previamente a la realización del estudio, se requirió de dichas mujeres el consentimiento informado (ANEXO 1, página 81) de acuerdo a la Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial previo informe favorable del Comité de Bioética de la Universidad de Extremadura (World, 2013).

Para la evaluación de dichas mujeres se cumplimentó una historia clínica completa, en la que se recopilaron además de los datos clínicos de interés, otros de índole biológica o antropométrica (edad, edad de la menarquia, años desde la menopausia, embarazos, hijos y lactancia acumulada, peso, altura etc...). A todas las participantes se les determinó la velocidad de transmisión de los ultrasonidos en tejido óseo, a nivel de la metáfisis distal de la primera falange de los dedos II a V de la mano no dominante y se les realizó un estudio densitométrico completo mediante DEXA a nivel de columna lumbar (L2, L3, L4 y L2-L4), cuello femoral, trocánter y triángulo de

Ward's. Adicionalmente también se les realizó un estudio de tomografía cuantitativa periférica computerizada (pQCT) a nivel del antebrazo no dominante.

Los criterios de inclusión y exclusión aplicados en la composición de la muestra de estudio incluyeron:

Criterios de inclusión:

- Mayoría de edad
- Encontrarse en situación de postmenopausia confirmada después de los 45 años de edad para la inclusión en el subgrupo de mujeres postmenopausicas.
- Estar capacitada para cumplimentar la encuesta dietética y registrar la ingesta de alimentos durante, al menos, una semana.
- Manifiestar por escrito su conformidad de intervenir en el estudio mediante la firma del consentimiento informado.

Los criterios de exclusión aplicados fueron:

- Presentar situaciones que contraindiquen la realización de estudio densitométrico completo.
- Ser portadora de marcapasos o prótesis metálica.
- Tener realizada una densitometría en el último año.
- Padecer enfermedad concomitante con pronóstico vital corto.

I. 3. 1. 1. Análisis de subgrupos

Para algunos de los estudios realizados en el presente trabajo se estratificó a las participantes conforme a los criterios de la Organización Mundial de la Salud para el diagnóstico de osteopenia/osteoporosis. En tal caso se estratificó a las mujeres en función de los valores obtenidos en la medición de DMO con DEXA. En este sentido las participantes en el estudio fueron clasificados en 3 grupos: normales (T-score >-1), osteopénicas (T-score <-1 y >-2.5) y osteoporóticas (T-score <-2.5).

I. 3. 2. Diseño del estudio

El planteamiento del estudio está basado en un observacional y transversal.

La metodología aplicada incluyó:

1. Obtención de datos demográficos, antropométricos, dietéticos, densitométricos (DEXA, ultrasonidos y pQCT), junto con los de estilo de vida y encuesta dietética.
2. Establecimiento de los niveles de ingesta dietética de metales pesados (cadmio, mercurio y plomo) a partir de la información facilitada.
3. Procesamiento estadístico de dichos datos y establecimiento de asociaciones entre los parámetros dietéticos y los de salud ósea.

I. 3. 3. Procedimientos de medida

I. 3. 3. 1. Índice de masa corporal

La altura se valoró mediante un estadiómetro tipo Harpenden y el peso mediante balanza biomédica de precisión. El índice de masa corporal (IMC) fue calculado a partir de la división del peso por el cuadrado de la talla (Kg/m^2). Las participantes fueron clasificadas en función de la clasificación propuesta por la OMS del estado nutricional de acuerdo al IMC (James, Leach, Kalamara, & Shayeghi, 2001).

I. 3. 3. 2. Encuesta dietética

Para evaluar los hábitos alimentarios de la muestra estudiada, se utilizó un cuestionario de consumo de alimentos que incorpora 131 ítems, los cuales recogen la ingesta de alimentos durante 7 días (Calderon-Garcia et al., 2012b; Canal-Macias et al., 2012; Moran et al., 2013; Moran et al., 2016; Pedrera-Zamorano, Lavado-Garcia, Roncero-Martin, Calderon-Garcia, Rodriguez-Dominguez, & Canal-Macias, 2009a; Pedrera-Zamorano et al., 2012; Roncero-Martin et al., 2014; Vera et al., 2015). La ingesta semanal de los nutrientes fue transformada mediante “Tablas de composición de alimentos” (Moreiras, 2013). Con el objetivo de facilitar el interrogatorio, todos los alimentos fueron codificados en forma de raciones de uso normalizado.

Se elaboró una base datos con la presencia por alimentos de cadmio, mercurio y plomo, basada en la presencia de estos metales en los elementos fundamentales de la composición de la cesta de la compra en España (Cuadrado, Kumpulainen, & Moreiras, 1995a). No se han observado diferencias significativas en las pautas alimenticias entre

las diferentes áreas de España, sin embargo, la cantidad consumida de alimentos si que parece diferir de forma relevante entre regiones (Moreiras & Cuadrado, 1992). La ingesta diaria de los diferentes metales pesados estudiados incluidos en los distintos grupos de alimentos se calculó en base al contenido por alimento y a la cantidad consumida. Las concentraciones tóxicas de cada elemento se tomaron a partir de la literatura científica especializada (Moreiras & Cuadrado, 1992).

En el ANEXO 2 (página 83) se muestra un ejemplo de la primera página del cuestionario administrado.

I. 3. 3. 3. Determinación de la DMO mediante DEXA

A todas las mujeres participantes en el estudio se les hicieron valoraciones de los niveles de densidad mineral ósea a partir de densitometría mediante absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA) a nivel de columna lumbar (L2, L3, L4 y L2-L4), cuello femoral, trocánter y triángulo de Ward.

El densitómetro determina el contenido mineral óseo (gramos) y el área (cm²) en las localizaciones arriba descritas. De esta manera permite calcular automáticamente la DMO en gramos/cm². Para cada mujer, se calcularon las puntuaciones de T-score correspondientes. El T-score consiste en una comparación del valor promedio de la DMO del paciente con una muestra de mujeres sanas de referencia del mismo sexo y etnia. Este índice es utilizado habitualmente para calcular el riesgo de desarrollar una fractura en un sujeto determinado.

Tal y como se ha indicado anteriormente para algunos análisis por subgrupos se aplicaron los criterios diagnósticos de osteoporosis basados en la densidad mineral ósea, que clasifican a las pacientes de acuerdo al T-score (Siris et al., 2014):

1. Normal: T-score mayor de -1.
2. Osteopenia: T-score igual o menor a -1 y mayor de -2,5.
3. Osteoporosis: T-score igual o menor a -2,5.

4. Osteoporosis grave o establecida: cuando la osteoporosis densitométrica se acompaña de al menos una fractura por fragilidad.

El equipo utilizado fue un absorciómetro óseo marca Norland Excell© (Norland Corp©, Fort Atkinson, Wisconsin, USA), calibrado de acuerdo a las instrucciones del fabricante. Las imágenes obtenidas fueron procesadas mediante el software propio del densitómetro y almacenadas en una computadora. El control de calidad que se utilizó para determinar el coeficiente de variación intrínseco del aparato fue un calibrador diseñado específicamente para el absorciómetro, escaneándose previamente a la realización de densitometrías. Todas las mediciones de la DMO fueron realizadas mediante el mismo absorciómetro. Los datos de salida del absorciómetro aparecen detallados en el ANEXO 3 (páginas 85-86 para cadera y 87-88 para columna).



Figura 1: Densitómetro Norland XR-800®, en las instalaciones del Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas.

I. 3. 3. 4. Determinación de ultrasonido óseo cuantitativo.

Se empleó un equipo de ultrasonidos modelo DBM Sonic Bone Profiler® de IGEA (Capri, Italia), que determina la velocidad de atenuación del ultrasonido (en metros/segundo) cuando atraviesa las falanges (II-V) de la mano no dominante, valorando la condición relativa del hueso con respecto a una población de referencia.



Figura 2. Equipo DBM Sonic Bone Profiler® de IGEA en las instalaciones del Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas.

Este equipo consta de una unidad central de medición integrada, informatizada mediante sistema operativo Windows®, transductor, cables de conexión y fantomas (para calibración del aparato). Esta técnica se basa en la emisión de un haz de ultrasonidos en dirección medio-lateral a través de la metáfisis distal de la primera falange de los últimos cuatro dedos de la mano. Debido a ello, esta técnica también es conocida como "ultrasonografía de falange".

Las medidas fueron realizadas en la metáfisis distal de la primera falange de los cuatro últimos dedos de la mano no dominante, situando las sondas en la zona

inmediatamente proximal a la epífisis distal de la falange y, por tanto, a la articulación. Para el control de la calidad, previamente a la realización de las mismas, se empleó un calibrador diseñado específicamente para la calibración del equipo y se procedió a medir la velocidad de transmisión del sonido en el tejido blando (comprimiendo levemente el tejido localizado entre los dos primeros metacarpianos) de los sujetos de estudio, ya que dependiendo de esta medida, el equipo introduce el factor de corrección adecuado de manera automática.

La medida de la velocidad de transmisión de los ultrasonidos en tejido óseo, se realiza en la metáfisis distal de la primera falange de los dedos II a V de la mano no dominante, calculando el aparato automáticamente la media de las cuatro medidas. Posteriormente, se sitúa en la metáfisis distal de la falange del dedo índice, en sentido medio-lateral, comprimiendo las partes blandas ligeramente. En el registro en pantalla aparecen unas curvas y una barra vertical (trigger) que se sitúa automáticamente en el primer pico que representa al tejido óseo. Cuando la barra del trigger se estabiliza respecto al eje del tiempo (eje de ordenadas), el equipo comienza a realizar las medidas de velocidad (un total de 24, seleccionando como válida la de mayor valor). Tras repetir el procedimiento en los dedos III, IV y V, el equipo almacena los valores medidos y calcula automáticamente la velocidad media. Todas las mediciones de la DMO fueron realizadas por el mismo investigador.

I. 3. 3. 5. Determinación de la densidad mineral ósea cortical y trabecular mediante pQCT.

La tomografía periférica cuantitativa mediante pQCT se realizará con un equipo Stratec XCT 2000 (Stratec Medizintechnik GMBH, Pforzheim, Germany). Este equipo reconstruye volumétricamente la distribución de densidades en el hueso, presentado la densidad mineral en mg/cc. Será utilizada para cuantificar densidad mineral ósea cortical, trabecular y conjunta en radio distal de la mano no dominante. Además, permite calcular la resistencia ósea a la rotura y torsión expresándolo como el índice de resistencia a la tensión axial y polar.

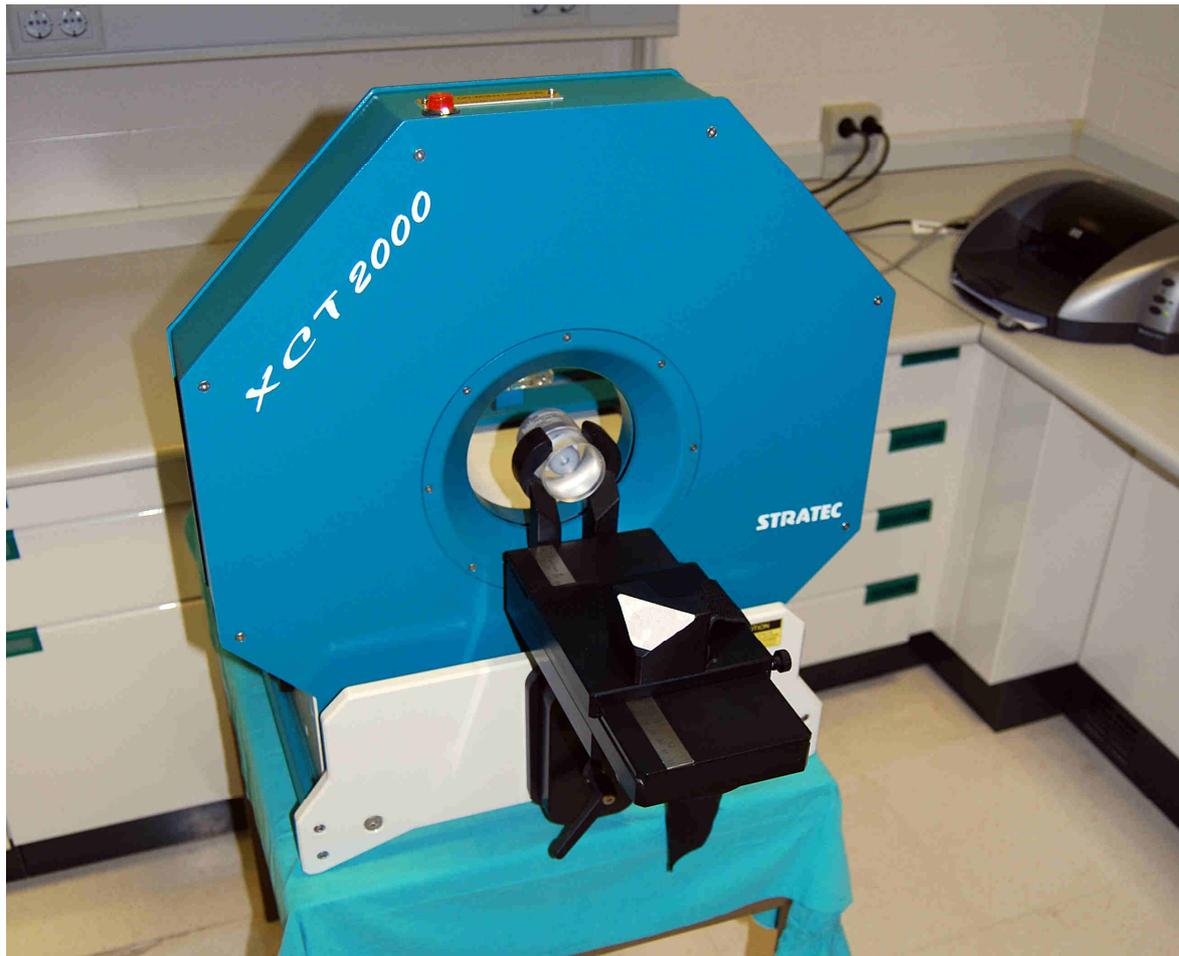


Figura 3. Stratec XCT 2000 (Stratec Medizintechnik GmbH, Pforzheim, Germany) en las instalaciones del Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas.

I. 3. 4. Análisis estadístico

Todos los valores fueron expresados como media y desviación estándar o mediante la mediana y el rango intercuartílico según las variables. Se confirmó la distribución normal de los datos mediante el cálculo de la asimetría y curtosis, así como con la prueba K-S de bondad de ajuste y test de Shapiro-Wilk antes de aplicar las pruebas estándar. Para aquellas variables que no estuvieron normalmente distribuidas se utilizaron procedimientos de análisis no paramétricos como el test de Wilcoxon. Para ajustar por los posibles factores de confusión se utilizó un análisis no paramétrico

de la covarianza. La ingesta de metales pesados se consideró como el factor principal y dichas ingestas se ajustaron mediante la ingesta de energía.

Para la realización de todas las pruebas estadísticas se utilizó el software IBM® SPSS® Statistics 22 (IBM Corp. Released 2013. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 22.0. Armonk, NY: IBM Corp.), ya que ofrece una amplia gama de algoritmos y técnicas predictivas, incluyendo procedimientos para los modelos lineales generales (MLG), así como técnicas de segmentación por análisis factorial. Consideraciones éticas

El presente estudio se ajustó en todo momento a los principios éticos y normas legales establecidos, y en especial a lo referido a la siguiente normativa:

- La Declaración de Helsinki (Asamblea Médica Mundial).
- El Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina.
- La Declaración Universal de la UNESCO sobre los derechos humanos.
- Se han tenido en consideración los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica y la bioética. Se ha respetado la normativa Europea y legislación española respecto a la ley orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de protección de datos de carácter personal.

CAPÍTULO II.

EVALUACIÓN DE LA INGESTA DIETÉTICA DE METALES PESADOS (CADMIO, PLOMO Y MERCURIO) Y SU RELACIÓN CON LA SALUD ÓSEA EN MUJERES ESPAÑOLAS POSTMENOPAUSICAS Y PREMENOPÁUSICAS.

CAPÍTULO II. EVALUACIÓN DE LA INGESTA DIETÉTICA DE METALES PESADOS (CADMIO, PLOMO Y MERCURIO) Y SU RELACIÓN CON LA SALUD ÓSEA EN MUJERES ESPAÑOLAS POSTMENOPAUSICAS Y PREMENOPÁUSICAS.

II. 1. Introducción

La exposición a metales pesados puede ocurrir mediante diferentes cauces incluyendo alimentos contaminados, agua, inhalación de humo (caso del tabaco) así como otras fuentes de diferente origen (Madeddu et al., 2011). En el caso del cadmio por ejemplo, es bien conocido que una de las fuentes principales es vía inhalación del humo del tabaco, siendo para este metal en concreto la vía alimenticia una de las vías secundarias principales (Jarup & Akesson, 2009). El cadmio una vez alcanzado los diferentes órganos y tejidos puede ejercer daño mediante diferentes mecanismos (Boening, 2000; Swiergosz-Kowalewska, 2001). Principalmente los daños asociados a cadmio están relacionados con su capacidad para acumularse en hígado y riñón (Jarup & Akesson, 2009), de forma que es excretado lentamente a través de la orina y las heces. La vía urinaria sin embargo excreta de forma más rápida el plomo (Aaseth et al., 2012; Boening, 2000).

Una vez en el cuerpo, el cadmio puede afectar la absorción de cationes relacionados con la salud ósea como pudiera ser el calcio (Madeddu et al., 2011). También afecta a la absorción de otros oligoelementos como el hierro y el zinc, afectando a su absorción, excreción y retención tisular (Madeddu et al., 2011). El cadmio interfiere con el proceso de activación de la vitamina D a nivel renal, e interfiere con el calcio a distintos niveles que van desde la absorción hasta la incorporación a células óseas (Kazantzis, 2004).

El plomo por otra parte se asocia con un aumento de la remodelación ósea provocando una disminución de la mineralización e incluso disminución de la densidad mineral ósea (Dermience et al., 2015). Ciertos casos de intoxicación por plomo se han asociado con osteoporosis (Dermience et al., 2015). Parte de esta capacidad para

interferir con el metabolismo del calcio se debe a que el plomo debido a sus características químicas puede sustituir al calcio en la hidroxiapatita un mineral que supone hasta el 99% del calcio corporal (Dermience et al., 2015).

Menos evidencias existen acerca de los efectos que sobre la salud ósea pueda tener el mercurio. Hasta la fecha es un metal sospechoso de tener un efecto perjudicial sobre la salud ósea pero no existen evidencias definitivas sobre ello (Dermience et al., 2015).

Resumiendo y en lo referente a la salud ósea estudios previos han mostrado que los T-scores de densidad mineral ósea a nivel del fémur están relacionados con la acumulación de cadmio y que además esta asociación es específica de género (Aaseth et al., 2012; Akesson et al., 2002; Meltzer et al., 2010; Qin et al., 2010). Los niveles de cadmio en orina se han asociado con el riesgo de desarrollar osteoporosis (Jarup et al., 1998; Jarup & Alfven, 2004; Jarup & Akesson, 2009) y con la ingesta dietética (Gallagher et al., 2008; Songprasert et al., 2015). Incluso la exposición de bajo nivel, como podría ser la dietética se ha asociado con una densidad mineral ósea menor y un mayor riesgo de osteoporosis y fracturas (Engstrom et al., 2012). Para finalizar, los niveles sanguíneos de cadmio, mercurio y cadmio se han asociado de forma negativa con la densidad mineral ósea siendo esta asociación también específica de género.

II. 2. Objetivo

El objetivo de esta parte del trabajo fue investigar hasta que nivel la ingesta dietética de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) está asociada con la densidad mineral ósea en mujeres postmenopáusicas y premenopáusicas de Extremadura.

Para ello se caracterizó la ingesta dietética de esos metales en la población de estudio en mujeres postmenopáusicas no fumadoras (el grupo poblacional que mayores niveles de cadmio acumula (Rignell-Hydbom et al., 2009)) y premenopáusicas de Extremadura y, se analizaron las asociaciones existentes entre la salud ósea y la ingesta de dichos metales pesados en las mujeres indicadas.

II. 3. Método

Se incluyeron un total de 281 mujeres postmenopáusicas y un total de 158 mujeres premenopáusicas sanas con residencia en el área de Cáceres, Extremadura, España. Todas las participantes prestaron su consentimiento por escrito a participar en la investigación después de haber recibido toda la información necesaria. Todos los procedimientos fueron conforme a la declaración de Helsinki de 1975.

En el caso de las mujeres postmenopáusicas y para componer la muestra de estudio se priorizó conseguir un tamaño suficiente para poder detectar hasta un 5,4% de cambio en la densidad mineral ósea a nivel de la columna lumbar, un cambio que se considera clínicamente relevante conforme a la literatura especializada (Lodder, M et al., 2004). Un total de 228 mujeres (dos grupos de 114) serían necesarias para poder alcanzar dicha potencia estadística (80%) y $p < 0.05$. Un total de 281 mujeres postmenopáusicas sanas fueron incluidas en este estudio.

Para componer la muestra de mujeres premenopáusicas y en términos de potencia estadística se optó por conseguir una muestra que permitiera detectar un tamaño del efecto (d de Cohen=0.5) medio, con una potencia del 80% y un nivel de significancia del 0.05. Con dichos requerimientos anticipados se estableció que sería necesaria una muestra del menos 128 participantes. Finalmente un total de 158 mujeres fueron incluidas en el estudio.

Ninguna de las mujeres participantes en el estudio estaba bajo tratamiento que se suponga pueda alterar el metabolismo del calcio como corticoides, anticoagulantes orales, antipsicóticos etc...). Todas las mujeres participantes desarrollaban una vida normal, activa, pero ninguna realizaba ejercicio de forma regular. Se tomaron determinaciones antropométricas (peso/altura) de todas las participantes. No existían restricciones dietéticas ni historial de fracturas previas en las mujeres participantes en este estudio.

II. 3. 1. Determinación de la masa ósea

Se realizaron determinaciones de ultrasonido cuantitativo de falanges en la mano no dominante mediante un equipo DBM Sonic Bone Profiler (IGEA, Capri, Italy).

La densidad mineral ósea a nivel de la cadera (cuello femoral) y de la columna (L2-L4) se realizó mediante un densitómetro de rayos X (Norland XR-800, Norland Inc., Fort Atkinson, WI, USA).

Finalmente, a todas las participantes se les realizó una tomografía computerizada ósea periférica en el antebrazo no dominante un equipo Stratec XCT-2000 (Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Germany).

II. 3. 2. Determinación de la ingesta dietética de metales pesados y covariables.

La ingesta dietética de las participantes se evaluó mediante un cuestionario dietético de 7 días (Calderon-Garcia et al., 2012c; Moran et al., 2016; Pedrera-Zamorano, Lavado-Garcia, Roncero-Martin, Calderon-Garcia, Rodriguez-Dominguez, & Canal-Macias, 2009b; Vera et al., 2015). La transformación a nutrientes habituales se realizó mediante las “Tablas de composición de alimentos” (Moreiras, 2013). Para valorar la ingesta de metales pesados cadmio, mercurio y plomo se generó una base datos con la presencia por alimentos esos metales en los elementos fundamentales de la composición de la cesta de la compra en España (Cuadrado et al., 1995a). La ingesta diaria de los diferentes metales pesados estudiados incluidos en los distintos grupos de alimentos se calculó en base al contenido por alimento y a la cantidad consumida. Las concentraciones tóxicas de cada elemento se tomaron a partir de la literatura científica especializada (Moreiras & Cuadrado, 1992).

II. 4. Resultados

II. 4. 1. Ingesta dietética de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) en mujeres postmenopáusicas.

La ingesta media de cadmio entre las mujeres estudiadas fue de 29.87 $\mu\text{g}/\text{día}$ (20.55–40.90) suponiendo un total de 3.04 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal (2.19–4.41). La ingesta dietética de plomo en la muestra analizada fue estimada en 6.25 $\mu\text{g}/\text{día}$ (38.13–56.71) suponiendo un total de 4.88 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal (4.01–6.09). Finalmente respecto de la ingesta de mercurio esta se estimó en 11.64 $\mu\text{g}/\text{día}$ (7.68–16.10) y 1.19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal (0.82–1.77).

La fuente dietética principal respecto de los diferentes grupos de alimentos para el cadmio fueron pescado y cereales suponiendo hasta un 89% de la ingesta total (Figura 4). En caso del plomo la mayor fuente dietética fueron los cereales, carne y frutas, suponiendo hasta un 80% de la ingesta (Figura 4). Pescado y carnes fueron las fuentes principales de mercurio en la dieta de las participantes (94% del total) (Figura 4).

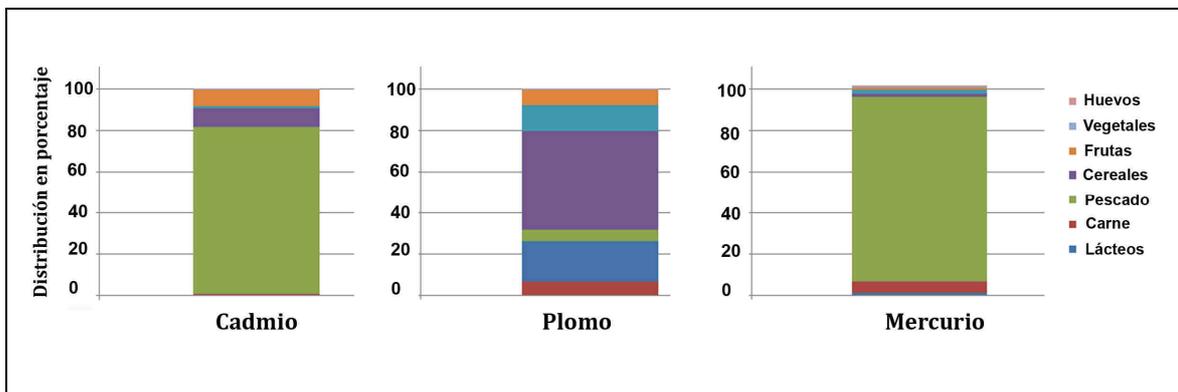


Figura 4: Contribución en porcentaje de cada grupo de alimentos a la ingesta de metales pesados en mujeres postmenopáusicas.

II. 4. 2. Caracterización de la muestra de mujeres postmenopáusicas respecto de la ingesta de metales pesados.

En la muestra de estudio se observó una mayor ingesta de vitamina D, calcio, hierro y magnesio en aquellas mujeres con una ingesta elevada de metales pesados (Tablas 1, 2, 3). Tras ajustar por la ingesta energética no se observaron diferencias entre grupos en la ingesta de vitamina D respecto de la ingesta de plomo y de la de calcio respecto de la de mercurio. El resto de diferencias observadas permanecieron estadísticamente significativas (Tablas 1, 2, 3).

La ingesta dietética de metales pesados se asoció con la de calcio ($r = 0.147$; $p = 0.014$), hierro ($r = 0.380$; $p < 0.001$), y magnesio ($r = 0.220$; $p < 0.001$) pero no con la de vitamina D después de ajustar por la ingesta energética ($p = 0.414$). De la misma manera la ingesta de plomo se asoció con la ingesta de calcio ($r = 0.232$; $p < 0.001$), hierro ($r = 0.421$; $p < 0.001$), y magnesio ($r = 0.220$; $p < 0.001$) pero no con la vitamina D ($p = 0.878$). La ingesta de mercurio no se asoció con la de vitamina D ($p = 0.422$), pero si con la de calcio ($r = 0.133$; $p = 0.027$), hierro ($r = 0.372$; $p < 0.001$) y magnesio ($r = 0.201$; $p < 0.001$).

Tabla 1. Características de la muestra respecto de la ingesta de cadmio.

Variables	Baja ingesta (<29.87 µg/día)	Alta ingesta (>29.86 µg/día)	p-Valor	p-Valor *
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Edad	57(54-61)	59(55-63)	0.18	
Índice de masa corporal (kg/m ²)	27.71(24.63-30.41)	27.24(24.33-28.99)	0.11	
Ingesta de vitamina D (µg/día)	4.08(2.47-7.15)	8.67(4.89-13.33)	<0.001	<0.001
Ingesta de calcio (mg/día)	915(613-1221.5)	1214(883-1528)	<0.001	0.04
Ingesta de hierro (mg/día)	12.01(9.5-15.41)	15.91(13.28-21.88)	<0.001	<0.001
Ingesta energética (Kcal/día)	1996.7(1645.7- 2317.1)	2360.05(1946.97- 2712.27)	<0.001	N/A
Ingesta de magnesio (mg/día)	221(173.4-292.3)	322.2(234.95-407.57)	<0.001	<0.001
Ingesta de cadmio/peso corporal (µg/kg p.c.)	2.18(1.61-2.66)	4.40(3.65-5.85)	<0.001	<0.001
Ingesta de cadmio (µg/day)	20.55(15.60-25.10)	41.04(34.90-54.55)	<0.001	<0.001

* Despues de ajustar por la ingesta dietética.

Tabla 2. Características de la muestra respecto de la ingesta de plomo

Variables	Baja ingesta (<46.25 µg/día)	Alta ingesta (>46.25 µg/día)	p-Valor	p-Valor *
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Edad	58 (54.5-63)	58 (55-62)	0.74	
Índice de masa corporal (kg/m ²)	27.77 (24.61-30.32)	27.32 (24.25-29.09)	0.08	
Ingesta de vitamina D (µg/día)	4.04 (2.46-8.5)	7.65 (4.53-12.01)	<0.001	0.07
Ingesta de calcio (mg/día)	798 (586-1105)	1293 (1005-1589.25)	<0.001	<0.001
Ingesta de hierro (mg/día)	11.35 (8.96-14.17)	16.99 (13.99-22.47)	<0.001	<0.001
Ingesta energética (Kcal/día)	1882.3 (1546.65-2209.9)	2437.2 (2164.97-2778.05)	<0.001	N/A
Ingesta de magnesio (mg/día)	201.5 (168.85-270.55)	339.95 (258.92-427.72)	<0.001	<0.001
Ingesta de plomo/peso corporal (µg/kg p.c.)	4.01 (3.34-4.61)	56.77 (50.65-67.95)	<0.001	<0.001
Ingesta de plomo (µg/day)	38.13 (32.96-42.27)	6.14 (5.25-7.84)	<0.001	<0.001

* Despues de ajustar por la ingesta dietética.

Tabla 3. Características de la muestra respecto de la ingesta de mercurio

Variables	Baja ingesta (<11.65 µg/día)	Alta ingesta (>11.65 µg/día)	p-Valor	p-Valor *
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Age at measurement	57 (54-62)	58.5 (55-63)	0.28	
Body mass index (kg/m ²)	27.58 (24.61-30.41)	27.33 (24.45-29.09)	0.25	
Dietary vitamin D (µg/day)	3.78 (2.26-7.13)	8.67 (5.08-13.33)	<0.001	<0.001
Dietary calcium (mg/day)	902 (618.5-1232.5)	1208 (896.5-1528)	<0.001	0.12
Dietary Iron (mg/day)	11.74 (9.47-15.12)	16.26 (13.35-22.05)	<0.001	<0.001
Dietary energy (Kcal/day)	1981.2 (1610.65-2305.1)	2362.15 (1989.42-2712.27)	<0.001	N/A
Dietary magnesium (mg/day)	215.3 (173.75-290.4)	322.2 (239.3-407.57)	<0.001	<0.001
Dietary mercury/body weigth (µg/kg b.w)	4.19 (3.51-5.01)	53.21 (45.10-66.40)	<0.001	<0.001
Dietary mercury (µg/day)	40.05 (34.24-46.63)	5.80 (4.73-7.36)	<0.001	<0.001

II. 4. 3. Salud ósea e ingesta dietética de metales pesados en la muestra de estudio.

Las tablas 4, 5 y 6 muestran las determinaciones de masa ósea en la muestra de estudio. En el presente estudio solamente se han observado diferencias significativas en mujeres postmenopáusicas a nivel de la densidad mineral ósea trabecular. Esta diferencia en el parámetro indicado de masa ósea permaneció estadísticamente significativa incluso después de ajustar por la ingesta energética (p=0.049). Respecto de este resultado las mujeres con mayor ingesta dietética de plomo aparentemente presentaban una mayor densidad mineral ósea trabecular. Respecto de los resultados

de densidad mineral ósea determinada mediante DEXA se observó una diferencia significativa en la densidad mineral ósea de la columna a nivel de L2 pero dicha diferencia desapareció después de ajustar el análisis por variables de confusión ($p=0.056$).

Tabla 4. Determinaciones de masa ósea (ultrasonido, DEXA y pQCT) respecto de la ingesta de cadmio en mujeres postmenopáusicas.

Variables	Baja ingesta (<29.87 µg/día)	Alta ingesta (>29.87 µg/día)	p-Valor
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)	
Ultrasonido óseo cuantitativo			
Ad-SoS (m/s)	2042 (1995.5–2088)	2040 (2000–2093.25)	0.986
Densidad mineral ósea (gr/cm²)			
DMO Cuello femoral	0.829 (0.769–0.914)	0.839 (0.772–0.901)	0.968
DMO Trocánter femoral	0.684 (0.609–0.733)	0.667 (0.619–0.726)	0.629
DMO Triángulo de Ward	0.599 (0.542–0.684)	0.621 (0.545–0.673)	0.657
DMO L2	1.005 (0.937–1.097)	1.000 (0.945–1.065)	0.322
DMO L3	1.044 (0.966–1.125)	1.033 (0.975–1.091)	0.282
DMO L4	1.019 (0.951–1.104)	0.991 (0.928–1.094)	0.098
DMO Columna lumbar	1.026 (0.960–1.098)	1.004 (0.950–1.077)	0.172
DMO volumétrica (mg/cm³)			
Densidad total	337.5 (306.95–369.9)	337.2 (300.775–367.55)	0.702
Densidad trabecular	181.4 (162.45–207.2)	173.55 (149.65–203.325)	0.339
Densidad cortical	458.1 (413.4–508.5)	468.95 (418–513.725)	0.085
Morfometría ósea (mm²)			
Área total	298 (273.75–323.35)	292.45 (265.55–317.1)	0.337
Área trabecular	134 (123.05–145.35)	131.6 (119.7–142.4)	0.608
Área cortical	163.8 (150.45–177.42)	161 (146.3–174.625)	0.351

Tabla 5. Determinaciones de masa ósea (ultrasonido, DEXA y pQCT) respecto de la ingesta de plomo en mujeres postmenopáusicas.

Variables	Baja ingesta (<46.25 µg/day)	Alta ingesta (>46.25 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Ultrasonido óseo cuantitativo				
Ad-SoS (m/s)	2037 (1994–2085.5)	2042 (2007.25–2096)	0.13	
Densidad mineral ósea (gr/cm²)				
DMO Cuello femoral	0.829 (0.766–0.913)	0.835 (0.7745–0.898)	0.943	
DMO Trocánter femoral	0.684 (0.608–0.737)	0.669 (0.611–0.717)	0.575	
DMO Triángulo de Ward	0.609 (0.542–0.684)	0.616 (0.544–0.679)	0.934	
DMO L2	1.032 (0.952–1.097)	0.990 (0.936–1.053)	0.008	0.056
DMO L3	1.05 (0.975–1.125)	1.03 (0.962–1.089)	0.087	
DMO L4	1.015 (0.943–1.104)	0.995 (0.935–1.086)	0.217	
DMO Columna lumbar	1.027 (0.964–1.099)	0.999 (0.949–1.07)	0.052	
DMO volumétrica (mg/cm³)				
Densidad total	340.2 (307.2–376.9)	334.8 (302.775–362.175)	0.109	
Densidad trabecular	291.4 (266.8–318.7)	299.7 (273.475–324.325)	0.001	0.049
Densidad cortical	186.8 (163.7–210.85)	171.15 (149.65–195.3)	0.746	
Morfometría ósea (mm²)				
Área total	130.9 (120.25–142.95)	135.25 (123.6–145.9)	0.333	
Área trabecular	460.1 (414.35–516.1)	465.6 (417.6–503.875)	0.269	
Área cortical	160.5 (146.975–173.625)	165 (150.975–178.6)	0.242	

* Después de ajustar por la ingesta energética.

Tabla 6. Determinaciones de masa ósea (ultrasonido, DEXA y pQCT) respecto de la ingesta de mercurio en mujeres postmenopáusicas.

Variables	Baja ingesta (<11.65 µg/day)	Alta ingesta (>11.65 µg/day)	p-Value
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)	
Ultrasonido óseo cuantitativo			
Ad-SoS (m/s)	2042 (1997-2088.5)	2040 (1999.25-2089.75)	0.956
Densidad mineral ósea (gr/cm²)			
DMO Cuello femoral	0.829 (0.769-0.913)	0.839 (0.772-0.901)	0.984
DMO Trocánter femoral	0.684 (0.61-0.735)	0.667 (0.612-0.723)	0.554
DMO Triángulo de Ward	0.600 (0.543-0.690)	0.62 (0.543-0.670)	0.868
DMO L2	1.003 (0.951-1.097)	1.005 (0.937-1.067)	0.267
DMO L3	1.043 (0.972-1.118)	1.033 (0.974-1.093)	0.341
DMO L4	1.015 (0.951-1.104)	0.996 (0.928-1.094)	0.125
DMO Columna lumbar	1.026 (0.961-1.096)	1.006 (0.948-1.084)	0.183
DMO volumétrica (mg/cm³)			
Densidad total	338.3 (306.95-369.9)	336.8 (300.775-367.55)	0.655
Densidad trabecular	294.1 (269.1-323.35)	294.5 (267.475-317.4)	0.084
Densidad cortical	182.2 (161.5-207.45)	173.55 (152.475-200.725)	0.69
Morfometría ósea (mm²)			
Área total	132.3 (121.85-144.8)	132.8 (120.4-143.225)	0.859
Área trabecular	458.2 (414.1-508.5)	467.9 (417.6-513.725)	0.99
Área cortical	161.7 (149.175-177.1)	162.25 (147.3-174.7)	0.96

II. 4. 4. Riesgo de baja masa ósea y asociación con la ingesta de metales pesados en mujeres postmenopáusicas.

Se estableció un nivel de baja masa ósea como aquel por debajo del T-score de -1 ya fuera a nivel de la cadera (cuello femoral) o de la columna lumbar. Se observaron odds ratio (OR) no significativos de 0.840 (IC 95% = 0.363-1.944; p = 0.68) para la cadera y de 1.386 (IC 95%= 0.766-2.510; p = 0.28) para la columna, respecto de la ingesta de cadmio. Resultados similares se observaron en el caso de la ingesta de plomo para la cadera y columna, respectivamente 1.008 (IC 95%= 0.437-2.327; p = 0.98) y 1.520 (IC 95%= 0.838-2.759; p = 0.15). En el caso del mercurio los OR observados también fueron no significativos para la asociación de la ingesta de este metal pesado con la baja densidad mineral ósea (0.84 (IC 95% = 0.363-1.944; p = 0.68 (cadera) y 1.668 (IC 95% = 0.916-3.038; p = 0.09 (columna)). Tras ajustar por diferentes factores de confusión como la ingesta de calcio, magnesio, hierro, vitamina D y energía los resultados fueron similares. No se observaron asociaciones que supusieran un mayor riesgo en el caso del cadmio; (OR = 1.461; IC 95% = 0.571-3.741; p = 0.429) y (OR = 0.767; IC 95% = 0.396-1.489; p = 0.432) para la cadera y columna respectivamente. En

el caso del plomo los resultados obtenidos fueron (OR = 0.830; IC 95% = 0.399–1.729; p = 0.031) y (OR = 1.221; IC 95% = 0.429–3.469; p = 0.709) para cadera y columna respectivamente. De la misma forma no se observaron resultados significativos en el caso del mercurio en la cadera (OR = 1.458; IC 95% = 0.557–3.818; p = 0.443) ni en la columna lumbar (OR = 0.652; IC 95% = 0.344–1.237; p = 0.191).

II. 4. 5. Ingesta total de metales pesados y salud ósea en mujeres postmenopausicas.

El análisis conjunto de la ingesta de todos los metales pesados estudiados se muestra en la Tabla 7. No se observaron diferencias significativas en función de la edad (p= 0.593) o el IMC (0.052). Se observaron diferencias estadísticamente significativas a nivel de la DMO en L2 (p=0.013) y la columna lumbar (p=0.023). En ambos casos la DMO fue mayor en aquellas mujeres con una mayor ingesta de metales pesados. El resultado estadísticamente significativo observado en la columna lumbar permaneció incluso después de ajustar por la ingesta energética (p=0.037). Las diferencias que también se habían observado a nivel de la DMO trabecular (p= 0.004) no permanecieron después de ajustar por la ingesta energética (p=0.107).

Tabla 7. Ingesta total de metales pesados y salud ósea en mujeres postmenopáusicas.			
Variables	Ingesta total de metales pesados		p-Valor
	elevada	baja	
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)	
Ultrasonido óseo cuantitativo			
Ad-SoS (m/s)	2038.5 (1995.25–2086)	2041 (2006.5–2095)	0.424
Densidad mineral ósea (gr/cm²)			
DMO Cuello femoral	0.829 (0.770–0.914)	0.842 (0.782–0.906)	0.766
DMO Trocánter femoral	0.692 (0.609–0.746)	0.676 (0.622–0.730)	0.515
DMO Triángulo de Ward	0.602 (0.543–0.687)	0.620 (0.547–0.680)	0.836
DMO L2	1.032 (0.954–1.103)	0.995 (0.941–1.053)	0.013
DMO L3	1.059 (0.977–1.14)	1.034 (0.975–1.091)	0.051
DMO L4	1.026 (0.954–1.124)	0.994 (0.934–1.097)	0.071
DMO Columna lumbar	1.042 (0.965–1.106)	1.004 (0.947–1.069)	0.023 *
DMO volumétrica (mg/cm³)			
Densidad total	339.25 (310.525–375.7)	335.2 (301.9–366.1)	0.2
Densidad trabecular	295.7 (271.9–321.95)	301 (273.65–324.25)	0.004
Densidad cortical	185.05 (162.275–207.2)	168.3 (148.55–193.25)	0.922
Morfometría ósea (mm²)			
Área total	133 (122.2–144.625)	135.4 (123.6–145.9)	0.722
Área trabecular	458.15 (417.575–525.6)	469.6 (418.55–515.2)	0.662
Área cortical	161.9 (149.7–176.8)	165.7 (151.25–178.6)	0.619

* p=0.037 después de ajustar por la ingesta energética.

II. 4. 6. Ingesta dietética de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) en mujeres premenopáusicas.

Las mujeres con las ingestas dietéticas de cadmio más altas consumieron más cobre, vitamina D, hierro, magnesio y selenio que aquellas con menos exposición dietética al cadmio. Después de un ajuste por el consumo de energía, no se detectaron diferencias estadísticamente significativas con respecto a la ingesta de hierro, magnesio y cobre en los subgrupos de cadmio (Tabla 8); las ingestas dietéticas de vitamina D y selenio continuaron siendo significativas.

Tabla 8. Características de la muestra con respecto a la ingesta dietética de cadmio en mujeres premenopáusicas.				
Variable (unidades)	Baja ingesta (<25.29 µg/día)	Alta ingesta (>25.29 µg/día)	p-Valor	p-Valor*
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Edad (años)	40 (37-43)	41 (37-44)	0.682	0.852
IMC (kg/m ²)	24.80 (22.80-27.50)	23.62 (22.33-26.38)	0.068	0.215
Ingesta de vitamin D (µg/día)	3.92 (2.17-6.14)	7.25 (4.84-11.65)	<0.001	<0.001
Ingesta de calcio (mg/día)	982 (675-1239)	1025 (790-1278)	0.339	0.738
Ingesta de hierro (mg/día)	11.73 (10.25-15.75)	14.24 (11.62-17.01)	0.007	0.237
Ingesta de zinc (mg/día)	9.24 (7.24-10.71)	10.05 (7.94-12.49)	0.051	0.959
Ingesta de energía (Kcal/día)	1969.2 (1629.2-2415.0)	2260 (1858.1-2626.5)	0.003	N/A
Ingesta de yodo (µg/día)	330.5 (98-431)	335 (36-436)	0.865	0.156
Ingesta de magnesio (mg/día)	227.8 (178.5-276.6)	259 (203.3-341.1)	0.010	0.196
Ingesta de cobre (mg/día)	0.806 (0.564-1.031)	0.936 (0.769-1.397)	0.002	0.558
Ingesta de selenio (µg/día)	72.4 (53.2-90.7)	95.35 (68-119.9)	<0.001	0.005
Ingesta cadmio/peso corporal (µg/kg p.c semana)	1.92 (1.56-2.31)	3.83 (3.26-4.89)	<0.001	<0.001
Ingesta de cadmio (µg/día)	18.62 (14.37-20.75)	34.99 (30.40-41.96)	<0.001	<0.001

* Después de ajustar por la ingesta dietética (kcal/día)

Las mujeres con mayores ingestas dietéticas de plomo tenían un IMC más bajo y una mayor ingesta de vitamina D, calcio, hierro, zinc, yodo, magnesio y cobre (Tabla 9). Después de un ajuste con el consumo de calorías, las ingestas dietéticas de hierro, zinc, magnesio y selenio se mantuvieron estadísticamente significativas.

Tabla 9. Características de la muestra con respecto a la ingesta dietética de plomo en mujeres premenopáusicas.

Variable (unidades)	Baja ingesta (<43.85 µg/día)	Alta ingesta (>43,85 µg/día)	p-Valor	p-Valor*
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Edad (años)	41 (37-44)	41 (37-43)	0.635	0.553
IMC (kg/m ²)	25.06 (22.97-27.57)	23.98 (22.30-26.38)	0.033	0.234
Ingesta de vitamin D (µg/día)	438 (257-811)	621 (411-99)	0.012	0.435
Ingesta de calcio (mg/día)	961 (634-1209)	1025 (873-1327)	0.018	0.546
Ingesta de hierro (mg/día)	11.02 (8.62-14.49)	15.16 (12.42-17.57)	<0.001	0.015
Ingesta de zinc (mg/día)	8.7 (6.67-10.37)	10.63 (8.92-13.07)	<0.001	0.007
Ingesta de energía (Kcal/día)	1858.1 (1500.4-2323.6)	2358.3 (1995.1-2621.4)	<0.001	N/A
Ingesta de yodo (µg/día)	322 (18-441)	339 (205-434)	0.065	0.844
Ingesta de magnesio (mg/día)	214.5 (159.5-286.2)	269.4 (222.8-338.3)	<0.001	0.023
Ingesta de cobre (mg/día)	0.724 (0.501-0.993)	0.945 (0.82-1409)	<0.001	0.281
Ingesta de selenio (µg/día)	63.1 (49.8-79.6)	96 (75.7-125)	<0.001	<0.001
Ingesta plomo/peso corporal (µg/kg p.c semana)	3.67 (3.2-4.36)	6.05 (5.19-6.97)	<0.001	0.004
Ingesta de plomo (µg/día)	35.09 (29.8-40.03)	51.45 (47.59-58.37)	<0.001	0.006

* Después de ajustar por la ingesta dietética (kcal/día)

Se observaron ingestas dietéticas más altas de vitamina D, hierro, magnesio, cobre y selenio en mujeres con ingestas dietéticas por encima de la media de mercurio de nuestra muestra (Tabla 10). Después de un ajuste con el consumo de calorías, las ingestas dietéticas de vitamina D y selenio se mantuvieron estadísticamente significativas.

Tabla 10. Características de la muestra con respecto a la ingesta dietética de mercurio en mujeres premenopáusicas

Variable (unidades)	Baja ingesta(<9.55 µg/día)	Alta ingesta (>9.55 µg/día)	p-Valor	p-Valor *
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Edad (años)	40.5 (37-43)	41 (37-44)	0.739	0.848
IMC (kg/m ²)	24.51 (22.88-27.41)	23.7 (22.33-26.84)	0.138	0.370
Ingesta de vitamin D (µg/día)	3.93 (2.28-6.16)	7.35 (4.89-11.65)	<0.001	<0.001
Ingesta de calcio (mg/día)	996 (677-1224)	995.5 (728-1285)	0.517	0.661
Ingesta de hierro (mg/día)	11.93 (10.37-15.82)	14.17 (11.52-17.01)	0.015	0.188
Ingesta de zinc (mg/día)	9.08 (7.29-10.74)	10.04 (7.94-12.45)	0.063	0.583
Ingesta de energía (Kcal/día)	2008.25 (1643.25-2390.65)	2256.65 (1855.8-2621.4)	0.008	N/A
Ingesta de yodo (µg/día)	331 (98-431)	334 (32-436)	0.832	0.205
Ingesta de magnesio (mg/día)	225.3 (179.15-279.5)	260.45 (203.3-341.1)	0.012	0.169
Ingesta de cobre (mg/día)	0.81 (0.57-0.98)	0.94 (0.77-1.4)	0.001	0.384
Ingesta de selenio (µg/día)	72.1 (52.25-90.45)	95.8 (68.2-118.9)	<0.001	0.001
Ingesta mercurio/peso corporal (µg/kg p.c semana)	0.71 (0.53-0.87)	5.18 (4.24-6.62)	<0.001	<0.001
Ingesta de mercurio (µg/día)	7.19 (4.96-7.72)	47.78 (39.99-57.82)	<0.001	<0.001

* Después de ajustar por la ingesta dietética (kcal/día)

II. 4. 7. Ingesta de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) y densidad mineral ósea en mujeres premenopáusicas.

En la muestra de estudio se observaron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo de transmisión ósea del ultrasonido (μs) cuando se comparó en base al nivel de ingesta dietética de cadmio ($p=0.028$) (Tabla 11). La diferencia encontrada se mantuvo estadísticamente significativa después de ajustar por la ingesta energética ($p=0.037$). No se observaron mas diferencias estadísticamente significativas en base a la ingesta de cadmio (Tabla 11).

Tabla 11. Densidad ósea e ingesta de cadmio en mujeres premenopáusicas				
Variable (unidades)	Baja ingesta (<25.29 $\mu\text{g}/\text{día}$)	Alta ingesta (>25.29 $\mu\text{g}/\text{día}$)	p-Valor	p-Valor*
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Ultrasonido óseo cuantitativo				
Velocidad del sonido amplitud-dependiente (Ad-SoS) (m/s)	2120 (2092–2145)	2133(2092–2166)	0.224	0.329
Ultrasound bone profiler index (UBPI)	0.78 (0.69–0.85)	0.78(0.71–0.85)	0.933	0.861
Tiempo de transmisión ósea del ultrasonido (BTT) (μs)	1.60 (1.52–1.65)	1.60(1.58–1.72)	0.028	0.037
Densidad mineral ósea (DMO) (gr/cm^2)				
DMO Cuello femoral	0.891 (0.839–0.992)	0.885 (0.815–0.966)	0.372	0.325
DMO Trocánter femoral	0.685 (0.636–0.755)	0.677 (0.617–0.771)	0.777	0.714
DMO Triángulo de Ward	0.709 (0.624–0.807)	0.687 (0.614–0.782)	0.568	0.746
DMO L2	1.109 (1.016–1.184)	1.097 (1.012–1.180)	0.631	0.851
DMO L3	1.101 (1.015–1.189)	1.101 (1.016–1.182)	0.790	0.853
DMO L4	1.060 (0.976–1.151)	1.037 (0.972–1.128)	0.453	0.624
DMO Columna lumbar	1.105 (1.009–1.173)	1.079 (0.997–1.157)	0.601	0.673
DMO volumétrica (mg/cm^3)				
Densidad total	363.6 (323.4–394.5)	348.9 (327.9–385.8)	0.479	0.623
Densidad trabecular	180.1 (160.3–210.1)	174.4 (152.8–197.8)	0.305	0.551
Densidad cortical	503 (449.4–558.3)	494.8 (454.4–545.4)	0.832	0.887
Morfometría ósea (mm^2)				
Área total	283.4 (265.6–311.9)	294.1 (270.1–324.1)	0.120	0.252
Área trabecular	127.4 (119.4–142.4)	132.3 (121.5–145.5)	0.185	0.485
Área cortical	155.9 (146.2–171.6)	161.9 (148.6–178.6)	0.157	0.350

* Después de ajustar por la ingesta dietética (kcal/día)

No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de estudio en base a la ingesta dietética de plomo; sin embargo, después de ajuste con la ingesta de calorías, se observó una diferencia estadísticamente significativa entre los grupos estudiados con respecto al en el área cortical (mm^2) ($p=0.030$) (Tabla 12).

Tabla 12. Densidad ósea e ingesta de plomo en mujeres premenopáusicas				
Variable (unidades)	Baja ingesta (<43.85 µg/day)	Alta ingesta (>43,85 µg/day)	p-Valor	p-Valor *
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Ultrasonido óseo cuantitativo				
Velocidad del sonido amplitud-dependiente (Ad-SoS) (m/s)	2126 (2093–2157)	2130 (2090–2162)	0.801	0.886
Ultrasound bone profiler index (UBPI)	0.77(0.71–0.85)	0.78 (0.71–0.84)	0.985	0.998
Tiempo de transmisión ósea del ultrasonido (BTT) (µs)	1.60 (1.55–1.7)	1.60 (1.52–1.68)	0.568	0.433
Densidad mineral ósea (DMO) (gr/cm²)				
DMO Cuello femoral	0.886 (0.814–0.991)	0.892 (0.826–0.971)	0.865	0.993
DMO Trocánter femoral	0.689 (0.630–0.754)	0.679 (0.611–0.775)	0.981	0.988
DMO Triángulo de Ward	0.692 (0.602–0.810)	0.697 (0.626–0.785)	0.716	0.780
DMO L2	1.100 (1.016–1.157)	1.107 (1.006–1.194)	0.436	0.328
DMO L3	1.095 (1.008–1.161)	1.107 (1.031–1.199)	0.157	0.120
DMO L4	1.054 (0.983–1.135)	1.046 (0.966–1.138)	0.793	0.999
DMO Columna lumbar	1.088 (1.009–1.142)	1.089 (0.997–1.191)	0.565	0.476
DMO volumétrica (mg/cm³)				
Densidad total	349.7 (321.7–389.1)	358.3 (327.9–389.4)	0.381	0.497
Densidad trabecular	176.8 (155.4–203.4)	178.2 (156.4–210.1)	0.551	0.575
Densidad cortical	494.3 (450–556.1)	501.1 (460–547.8)	0.505	0.671
Morfometría ósea (mm²)				
Área total	293.8 (275.3–327.6)	287.5 (261.4–319.2)	0.092	0.050
Área trabecular	131.9 (123.6–147.2)	129.1 (117.3–143.4)	0.091	0.057
Área cortical	161.9 (151.8–180.3)	158.4 (144.1–174.4)	0.078	0.030

* Después de ajustar por la ingesta dietética (kcal/día)

No se observaron diferencias significativas entre los grupos de estudio en base a la ingesta dietética de mercurio respecto de los parámetros de salud ósea evaluados (Tabla 13).

Tabla 13. Densidad ósea e ingesta de mercurio en mujeres premenopáusicas

Variable (units)	Baja ingesta (<9.55 µg/día)	Alta ingesta (>9.55 µg/día)	p-Valor	p-Valor *
	Mediana (RIQ)	Mediana (RIQ)		
Ultrasonido óseo cuantitativo				
Velocidad del sonido amplitud-dependiente (Ad-SoS) (m/s)	2126 (2092.5-2145)	2131 (2092-2166)	0.360	0.361
Ultrasound bone profiler index (UBPI)	0.78 (0.69-0.84)	0.78 (0.71-0.85)	0.882	0.794
Tiempo de transmisión ósea del ultrasonido (BT) (µs)	1.60 (1.52-1.65)	1.60 (1.55-1.72)	0.057	0.059
Densidad mineral ósea (DMO) (gr/cm²)				
DMO Cuello femoral	0.893 (0.834-1.005)	0.889 (0.824-0.969)	0.390	0.323
DMO Trocánter femoral	0.680 (0.633-0.753)	0.684 (0.611-0.775)	0.951	0.863
DMO Triángulo de Ward	0.706 (0.624-0.806)	0.687 (0.616-0.785)	0.595	0.665
DMO L2	1.109 (1.017-1.187)	1.096 (1.006-1.169)	0.536	0.683
DMO L3	1.101 (1.020-1.188)	1.101 (1.014-1.183)	0.736	0.785
DMO L4	1.059 (0.980-1.148)	1.038 (0.972-1.128)	0.397	0.568
DMO Columna lumbar	1.097 (1.012-1.175)	1.076 (0.997-1.153)	0.522	0.586
DMO volumétrica (mg/cm³)				
Densidad total	359.3 (318.85-388.95)	350.25 (328.-389.4)	0.832	0.551
Densidad trabecular	178.3 (159.35-208.7)	174.55 (153.4-197.8)	0.461	0.795
Densidad cortical	499.65 (449.15-555.8)	496.2 (460-553.2)	0.675	0.506
Morfometría ósea (mm²)				
Área total	283.4 (265.95-311.05)	294.3 (267.3-324.1)	0.189	0.345
Área trabecular	127.4 (119.55-141.35)	132.3 (120.1-145.5)	0.278	0.618
Área cortical	155.9 (146.4-171.25)	162.05 (147.2-178.6)	0.237	0.467

* Después de ajustar por la ingesta dietética (kcal/día)

II. 4. 8. Estudio de correlación entre la ingesta de metales pesados y nutrientes en mujeres premenopáusicas

La ingesta dietética de cadmio se asoció positivamente con las ingestas dietéticas de vitamina D, magnesio y selenio, después de un ajuste para la ingesta de energía (Tabla 14). La ingesta de plomo en la dieta se asoció con la ingesta dietética de hierro, calcio, zinc, magnesio y selenio en la dieta, pero no se asoció con ingesta de vitamina D (p=0.162) después de ajustar por la ingesta energética. Al igual que el cadmio, la ingesta de mercurio se asoció con la ingesta de vitamina D y el consumo de selenio, pero no con la ingesta de magnesio en la dieta (p = 0,063), después de ajustar por la ingesta de calorías (Tabla 14).

Tabla 14. Correlaciones parciales (ingesta de nutrientes y metales pesados)

Variable (unidades)	Ingesta dietética (µg/día)		
	Cadmio	Plomo	Mercurio
Ingesta de vitamin D (µg/día)	$r = 0.38; p = <0.001$	$r = 0.11; p = 0.162$	$r = 0.39; p = <0.001$
Ingesta de calcio (mg/día)	$r = -0.01; p = 0.819$	$r = 0.16; p = 0.045$	$r = -0.04; p = 0.545$
Ingesta de hierro (mg/día)	$r = 0.12; p = 0.131$	$r = 0.33; p = <0.001$	$r = 0.09; p = 0.236$
Ingesta de zinc (mg/día)	$r = 0.09; p = 0.232$	$r = 0.41; p = <0.001$	$r = 0.07; p = 0.378$
Ingesta de yodo (µg/día)	$r = -0.06; p = 0.408$	$r = -0.00; p = 0.952$	$r = -0.07; p = 0.336$
Ingesta de magnesio (mg/día)	$r = 0.18; p = 0.022$	$r = 0.34; p = <0.001$	$r = 0.14; p = 0.063$
Ingesta de cobre (mg/día)	$r = 0.14; p = 0.081$	$r = 0.218; p = 0.006$	$r = 0.11; p = 0.137$
Ingesta de selenio (µg/día)	$r = 0.28; p = <0.001$	$r = 0.28; p = <0.001$	$r = 0.28; p = <0.001$

II. 4. 9. Estudio de correlación entre la ingesta de metales pesados y la salud ósea en mujeres premenopáusicas

No se observaron correlaciones estadísticamente significativas entre los valores de salud ósea conforme a los parámetros medidos y las ingestas dietéticas de cadmio, plomo y mercurio en la muestra estudiada de mujeres premenopáusicas, después del ajuste por la ingesta de energía (Tabla 15). Con respecto al diagnóstico de osteopenia/osteoporosis, basado en el T-score en la columna lumbar o la cadera, tampoco se observaron correlaciones estadísticamente significativas (Tabla 15).

Tabla 15. Estudio de correlación parcial (ingesta dietética de metales pesados y salud ósea en mujeres premenopáusicas)

Variable (unidades)	Ingesta dietética (µg/día)		
	Cadmio	Plomo	Mercurio
Ultrasonido óseo cuantitativo			
Ad-SoS (m/s)	$r = 0.02$ ($p = 0.72$)	$r = 0.06$ ($p = 0.45$)	$r = 0.02$ ($p = 0.74$)
(UBPI)	$r = -0.00$ ($p = 0.95$)	$r = -0.05$ ($p = 0.49$)	$r = -0.00$ ($p = 0.92$)
(BTT) (µs)	$r = 0.10$ ($p = 0.18$)	$r = 0.07$ ($p = 0.38$)	$r = 0.10$ ($p = 0.19$)
Densidad mineral ósea (gr/cm²)			
DMO Cuello femoral	$r = -0.02$ ($p = 0.78$)	$r = -0.02$ ($p = 0.73$)	$r = -0.04$ ($p = 0.65$)
DMO Trocánter femoral	$r = 0.03$ ($p = 0.66$)	$r = -0.01$ ($p = 0.86$)	$r = 0.03$ ($p = 0.65$)
DMO Triángulo de Ward	$r = 0.01$ ($p = 0.85$)	$r = 0.01$ ($p = 0.86$)	$r = -0.00$ ($p = 0.98$)
DMO L2	$r = -0.00$ ($p = 0.95$)	$r = 0.05$ ($p = 0.51$)	$r = -0.01$ ($p = 0.83$)
DMO L3	$r = -0.01$ ($p = 0.81$)	$r = 0.08$ ($p = 0.30$)	$r = -0.03$ ($p = 0.63$)
DMO L4	$r = -0.01$ ($p = 0.89$)	$r = 0.02$ ($p = 0.78$)	$r = -0.02$ ($p = 0.72$)
DMO Columna lumbar	$r = -0.01$ ($p = 0.89$)	$r = 0.06$ ($p = 0.46$)	$r = -0.03$ ($p = 0.75$)
DMO volumétrica (mg/cm³)			
Densidad total	$r = 0.06$ ($p = 0.39$)	$r = 0.09$ ($p = 0.26$)	$r = 0.06$ ($p = 0.48$)
Densidad trabecular	$r = -0.02$ ($p = 0.73$)	$r = -0.00$ ($p = 0.99$)	$r = -0.04$ ($p = 0.58$)
Densidad cortical	$r = 0.08$ ($p = 0.33$)	$r = 0.10$ ($p = 0.21$)	$r = 0.07$ ($p = 0.38$)
Morfometría ósea (mm²)			
Área total	$r = 0.02$ ($p = 0.84$)	$r = -0.11$ ($p = 0.18$)	$r = 0.028$ ($p = 0.72$)
Área trabecular	$r = -0.02$ ($p = 0.76$)	$r = -0.12$ ($p = 0.14$)	$r = -0.01$ ($p = 0.85$)
Área cortical	$r = -0.02$ ($p = 0.82$)	$r = -0.12$ ($p = 0.12$)	$r = -0.00$ ($p = 0.94$)
Salud ósea (T-score)			
T-score columna	$r = -0.04$ ($p = 0.96$)	$r = 0.051$ ($p = 0.526$)	$r = -0.19$ ($p = 0.81$)
T-score cadera	$r = -0.03$ ($p = 0.71$)	$r = -0.03$ ($p = 0.69$)	$r = -0.04$ ($p = 0.58$)

II. 4. 10. Grupos de alimentos e ingesta de metales pesados en mujeres premenopáusicas.

Finalmente, evaluamos la exposición dietética a los metales pesados estudiados y las principales fuentes de alimentos de la muestra de mujeres premenopausicas. Estimamos que la media de la exposición dietética a cadmio entre las 158 mujeres investigadas fue de 25.29 µg/día (18.62-35.00) y 2.74 µg/kg de peso corporal/semanal (1.92-3.83). La ingesta de plomo en la dieta fue de 43.85 µg/día (35.09-51.45) y 4.82 µg/kg/semana (3.67-6.13). La ingesta de mercurio en la dieta fue de 9.55 µg/día (7.18-13.57) y 1.02 µg/kg/semana (0.71-1.48). La principal fuente de ingesta de cadmio en la dieta fue el pescado, que constituyó hasta el 79% de la exposición total. La principal fuente de exposición al plomo en la dieta también fue el pescado, que representa el 88% de la ingesta total. Finalmente, la principal fuente de exposición al mercurio en la dieta fueron los cereales, que constituyen el 53% de la ingesta total.

CAPÍTULO III.

DISCUSIÓN INTEGRADORA

CAPÍTULO III. DISCUSIÓN INTEGRADORA

El esqueleto es un órgano metabólicamente activo que se somete a un proceso de remodelación ósea continua durante toda la vida. Para investigar la influencia dietética del cadmio, el plomo y el mercurio en mujeres postmenopáusicas y premenopáusicas en el presente trabajo de tesis doctoral se han analizado datos procedentes de un total de 282 mujeres postmenopáusicas y 158 premenopáusicas analizando; la ingesta dietética y evaluando la salud ósea mediante las tres técnicas más utilizadas hasta la fecha, QUS, DEXA y pQCT.

III. 1. La ingesta de metales pesados y salud ósea en mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas.

La alta exposición al cadmio se asocia a daños en el tejido óseo (Engstrom et al., 2012; Thomas, Michaelsson, Julin, Wolk, & Akesson, 2011; Wallin et al., 2016). Los efectos del cadmio en los huesos se aparecen como manifestaciones tardías de toxicidad de cadmio y se supone que son la consecuencia de la nefrotoxicidad, lo que altera el metabolismo de la vitamina D y produce una pérdida de la capacidad de reabsorción de nutrientes (Lv et al., 2017). Sin embargo, el Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios ha determinado que existe una controversia con respecto a los efectos del cadmio en el hueso a largo plazo (Lv et al., 2017) y que la asociación entre la exposición al cadmio y la salud ósea deben analizarse más a fondo, especialmente en mujeres (Akesson et al., 2006b). Los efectos adversos de la exposición a niveles bajos de cadmio en los huesos, probablemente por la elevada reabsorción ósea, parecen intensificarse después de la menopausia (Akesson et al., 2006b), y esto se ha confirmado por nuestras observaciones, ya que no hemos detectamos ninguna asociación entre los parámetros evaluados y los dietéticos de exposición al cadmio en nuestra muestra de mujeres premenopáusicas.

Respecto de la salud ósea, como se ha indicado, existe una asociación descrita previamente entre la ingesta dietética de cadmio y el riesgo de fractura ósea (incluyendo las fracturas de cadera) independientemente del hábito tabáquico, en hombres (Thomas et al., 2011). De forma semejante, incluso la exposición a cantidades

pequeñas de cadmio se ha asociado con fragilidad ósea en mujeres postmenopáusicas (Engstrom et al., 2012). Más recientemente, se han asociado fracturas de origen osteoporótico en una cohorte masculina sueca con una exposición principal a cadmio a través de la dieta (Wallin et al., 2016). Estos resultados indican que en hombres mayores incluso una ingesta mínima de cadmio aumenta el riesgo de baja densidad mineral ósea y de fracturas.

En cualquier caso, los resultados indicados anteriormente indican que aunque parece que existe una asociación entre la ingesta de cadmio y el daño óseo esta relación debe estudiarse cuidadosamente y particularmente en mujeres donde los datos no son tan consistentes (Akesson et al., 2006b).

Por ejemplo, en población de origen coreano se observó una asociación mínima entre la densidad mineral ósea y la ingesta de cadmio, plomo o mercurio (Kang, Park, Oh, Kim, & Choi, 2013). Por otra parte, hay estudios que indican que los efectos deletéreos que la ingesta de cadmio pueda tener sobre la salud ósea se intensifican después de la menopausia (Akesson et al., 2006b), probablemente vía un aumento de la resorción ósea. En nuestra cohorte de mujeres postmenopáusicas nosotros no hemos observado ninguna asociación entre la ingesta dietética de cadmio y la densidad mineral ósea. Resultados recientes centrados en el rol que el cadmio puede tener sobre la densidad mineral ósea volumétrica y la morfometría ósea a través de estudios en modelos murinos ha indicado que la exposición a cadmio induce una baja densidad mineral ósea volumétrica (Chen et al., 2011), disminuyendo las trabéculas y por tanto mediante un proceso que reduce la mineralización del tejido óseo. En definitiva consideramos que se debe prestar más atención a la influencia del cadmio en la microarquitectura ósea.

Más conflictivos son los resultados respecto de los efectos que sobre la salud ósea pueda tener la ingesta de plomo o mercurio. Por una parte parece que los niveles sanguíneos de plomo, o su presencia en tejido óseo, correlaciona con una mejor densidad mineral ósea. El plomo se acumularía a través del tiempo, debido a la exposición prolongada, en el tejido óseo, y reduciría de esta forma la densidad cortical y la masa ósea volumétrica en mujeres postmenopáusicas (Wong et al., 2015). Nuestros resultados en mujeres postmenopáusicas y premenopáusicas indican que no hay una

asociación estadísticamente significativa entre la densidad mineral ósea trabecular y la ingesta de plomo, sin embargo, unos niveles mayores de ingesta de cadmio si se asociaron a cambios en la densidad mineral ósea trabecular en mujeres postmenopáusicas. Son necesarios por tanto mas estudios en mujeres postmenopáusicas ya es necesario profundizar en el rol que la ingesta de plomo pueda tener sobre la densidad mineral ósea trabecular.

III. 2. Ingesta dietética de metales pesados, cadmio, plomo y mercurio en las mujeres premenopáusicas y postmenopausicas estudiadas

El ajuste de energía es esencial en las estimaciones derivadas de los cuestionarios de ingesta dietética debido porque las estimaciones de nutrientes y contaminantes como los metales pesados a menudo están altamente correlacionadas con la ingesta de energía (Vacchi-Suzzi et al., 2015; Willett, Howe, & Kushi, 1997). En el presente trabajo de tesis doctoral todas las comparaciones basadas en la ingesta se han ajustado, al menos, por la ingesta dietética de energía.

En la muestra de mujeres postmenopáusicas estudiadas la ingesta dietética de cadmio se encontró bastante por debajo de la ingesta minima semanal recomendada (provisional) establecida por la *Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives* (JECFA; 7 µg/kg p.c /semana) (JEFCA, 2003). En 2009 sin embargo, la Autoridad Europea de Salud Alimentaria (EFSA) (European Food Safety Authority, 2012; Panel, 2009), reevaluó la información existente respecto de los límites tolerables de ingesta de cadmio y estableció un nuevo nivel de ingesta semanal de 2.5 µg/kg p.c. equivalente a 0.357 µg/kg p.c./día. Aproximadamente el 66% de la muestra de mujeres postmenopáusicas estudiadas excedió dicho nivel para este metal pesado. En cuanto a la muestra de mujeres premenopáusicas aproximadamente el 49% de la muestra excedió el umbral de ingesta de cadmio.

La JEFCA también estableció un límite provisional semanal para la ingesta de plomo de 25 µg/kg p.c; sin embargo, la EFSA (EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM), 2010) concluyo que ese límite establecido por la JEFCA no era

apropiado al no existir evidencias de un nivel de ingesta de plomo que tuviera efectos sobre la salud. Aunque existe por tanto controversia respecto del nivel máximo de plomo recomendable semanalmente, ninguna de las mujeres postmenopáusicas estudiadas excedió el nivel establecido por la JEFCA en la muestra de estudio. Los niveles de ingesta de plomo también fueron muy bajos en la muestra de mujeres premenopáusicas. Los niveles detectados de 4.82 µg/kg p.c. son consistentes con los estudios previos en España (Cuadrado et al., 1995a; Marin, Pardo, Baguena, Font, & Yusa, 2017; Puerto-Parejo et al., 2017) que evaluaron la exposición dietética a este metal pesado. Los resultados respecto de la exposición dietética a este metal pesado en España varían entre 4 µg/kg p.c a 56 µg/kg p.c entre las diferentes áreas estudiadas.

En el caso del mercurio la EFSA recomienda una ingesta máxima de 4 µg/kg p.c./semana (Perello et al., 2014). Solamente el 0.7% de la muestra de mujeres postmenopáusicas excedió este límite. Ninguna de las mujeres premenopáusicas incluidas en este trabajo de tesis doctoral superó el umbral recomendado de ingesta dietética de mercurio conforme a sus registros dietéticos. Estudios previos en diferentes áreas de España (Cuadrado et al., 1995a; Cuadrado, Kumpulainen, & Moreiras, 1995b) han estudiado la ingesta de metales pesados y otros agentes tóxicos. Los resultados obtenidos en esta muestra respecto de la ingesta dietética de mercurio oscilaron entre 4 µg/kg p.c/semana a 56 µg/kg p.c/semana entre las diferentes áreas estudiadas. Estos resultados son similares a los observados en mujeres postmenopáusicas de Extremadura (4.8 µg/kg p.c./semana).

En España, y concretamente dentro de la Comunidad Autónoma de Cataluña la tendencia en la ingesta de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) ha sido descrita para los años 2000, 2005, 2008 y 2012) (Perello et al., 2014). Los valores reportados para dicha comunidad para cadmio, plomo y mercurio fueron de 2.6 µg/día, 10 µg/día y 8.4 µg/día, respectivamente; estos valores se encuentran por debajo de los observados en nuestra muestra de mujeres postmenopáusicas y premenopáusicas. Por otra parte los resultados observados en mujeres postmenopáusicas son similares a los observados en otras áreas de España, confirmando que en líneas generales la ingesta de metales pesados en España se encuentra dentro de los límites recomendados por las autoridades sanitarias (36-43). Uno de los estudios que analizó datos procedentes

de la Comunidad Autónoma de Extremadura es el de Moreiras y Cuadrado (Moreiras & Cuadrado, 1992) publicado en 1992 y que mostró que la ingesta de cadmio era de las menores de España mientras que la de mercurio era de las más altas. Dado que dicho estudio se publicó hace ya más de 20 años es posible que los hábitos dietéticos de las extremeñas hayan cambiado desde entonces, introduciéndose por tanto un cambio en la tendencia de ingesta de los metales estudiados.

III. 3. Principales grupos de alimentos contribuyentes a la ingesta de metales pesados (cadmio, plomo y mercurio) a través de la dieta de las mujeres estudiadas

El estudio de Perelló et al. (Perello et al., 2014), en población española, indicó que las fuentes dietéticas principales de cadmio eran cereales y pescado. Estos resultados confirman los obtenidos por nuestro estudio. Igualmente para la ingesta de mercurio los resultados previamente publicados (Perello et al., 2014) indicaron que el pescado era la fuente principal de este metal pesado, confirmando nuestros resultados en mujeres postmenopáusicas y premenopáusicas. Finalmente los cereales también se han descrito como una fuente principal de plomo en la dieta (Perello et al., 2014; Schuhmacher, Bosque, Domingo, & Corbella, 1991) resultados que confirman los obtenidos en nuestra muestra de mujeres postmenopáusicas y premenopáusicas. En las mujeres premenopáusicas se observa también una aportación importante de la ingesta de pescado y carne.

III. 4. Fortalezas

El estudio realizado presenta las siguientes fortalezas:

- Utilización de una base de datos fundamentada en la cesta de la compra habitual en los mercados españolas.
- Determinación de la densidad mineral ósea mediante DEXA (el gold-estándar de determinación de densidad mineral ósea), densidad mineral ósea volumétrica y morfometría ósea mediante pQCT y calidad del tejido óseo mediante ultrasonido cuantitativo.

- La utilización de cuestionarios de ingesta dietética es un método contrastado para estimar la ingesta de energía así como macro y micronutrientes (Itoh et al., 2014; Patterson et al., 1999; Vacchi-Suzzi et al., 2015; Willett et al., 1985)

III. 5. Limitaciones

Por el contrario, los resultados presentados presentan las siguientes limitaciones:

- La naturaleza transversal del estudio no permite establecer relaciones causa efecto entre la ingesta de los metales pesados y la densidad mineral ósea, u otras variables, determinadas en las participantes.
- Aunque al ajustar por la ingesta energética nos observaron diferencias en los determinantes principales de masa ósea entre los diferentes subgrupos analizados en el trabajo (edad, BMI, ingesta dietética de calcio, ingesta dietética de vitamina D y hábito tabáquico) no se puede excluir la existencia de factores de confusión no controlados en el presente estudio y que pudieran sesgar los resultados observados.
- En el estudio en mujeres postmenopáusicas se estableció como límite de significación clínica una diferencia del al menos un 5.4% en la densidad mineral ósea a nivel de la columna para el estudio de subgrupos. Dado que dicha diferencia no se alcanzó entre los grupos estudiados, hay un riesgo de cometer un error de tipo II, y que aunque presentes, el efecto de la ingesta de metales pesados sobre la salud ósea no pudiera detectarse debido al diseño del estudio.
- La exposición dietética a metales pesados, y concretamente a cadmio, debe tomarse con cautela ya que diferentes estudios han mostrado una falta de correlación entre la estimación dietética de la ingesta de cadmio y la presencia de cadmio en la orina, indicando un posible sesgo a la hora de valorar esta ingesta.

CAPÍTULO IV.

PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL

CAPÍTULO IV. PUBLICACIONES DERIVADAS DE LA TESIS DOCTORAL

IV. 1. Publicación Nº 1.

“Evaluation of the Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Relationship with Bone Health among Postmenopausal Women in Spain”

IV. 1. 1. Presentación de la publicación.

- **Título:** “Evaluation of the Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Relationship with Bone Health among Postmenopausal Women in Spain.”
- **Autores:** Puerto-Parejo LM^a, Aliaga I^a, Canal-Macias ML^a, Leal-Hernandez O^a, Roncero-Martín R^a, Rico-Martín S^a, Moran JM^a.
- **Filiación:** ^a Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas, Departamento de Enfermería, Universidad de Extremadura, Cáceres, España.
- **Revista:** International Journal of Environmental Research and Public Health (Int J Environ Res Public Health).
- **Volumen:** 2017 **Numero:** Mayo 26: 14(6). **Doi:** 10.3390/ijerph14060564
- **Año de publicación:** 2017

IV. 1. 2. Informe

El trabajo titulado “Evaluation of the Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Relationship with Bone Health among Postmenopausal Women in Spain” se publicó en la revista International Journal of Environmental Research and Public Health. Actualmente dicha publicación se encuentra indexada en numerosas bases de datos de referencia de entre las que destacamos:

- EMBASE (Elsevier)
- Journal Citation Reports / Science Edition (Clarivate Analytics, formerly Thomson)
- MEDLINE (NLM)
- PubMed (NLM)
- Science Citation Index Expanded - Web of Science (Clarivate Analytics)
- Scopus (Elsevier)
- Social Sciences Citation Index - Web of Science (Clarivate Analytics)
- Web of Science (Clarivate Analytics)

Respecto del **Journal Citation Reports** los últimos datos publicados indican que la revista ocupa la posición 101 de 229 revistas en el área de Ciencias Ambientales equivalente a un 2º Cuartil (Q2). El índice de impacto de la revista en el área es de 2.101. Durante los últimos 5 años la revista ha mantenido una posición Q2 dentro del área. El índice de impacto a 5 años de la revista es de 2.540.

Contribución del doctorando:

El doctorando ha participado activamente en el diseño del estudio, la adquisición y procesamiento de los datos y en el análisis de los mismos. El doctorando ocupa la primera posición en el orden de los autores compartida con el Dr. I. Aliaga.

Contribución de los co-autores

Jose M. Moran, Ignacio Aliaga contribuyeron al diseño del estudio. Ignacio Aliaga, María L. Canal-Macias, Raul Roncero-Martín, Olga Leal-Hernández y Sergio Rico-Martín contribuyeron a la adquisición y procesamiento de los datos. Ignacio

Aliaga y Jose M. Moran participaron en el analisis de los datos. Jose M. Moran escribió el manuscrito. Todos los co-autores han leído y comentado activamente el manuscrito y aprobaron la verisión final del mismo.

El trabajo presentado no será utilizado como contribución a ningún otro proyecto de tesis doctoral en este u otro programa de doctorado.

Fdo. El Director de la Tesis

Dr. José M. Morán García.

IV. 1. 3. Resumen en castellano

Los metales pesados como el cadmio, el plomo y el mercurio, pueden ser absorbidos por el cuerpo humano a través de alimentos y agua contaminados. Hasta la fecha pocos estudios han valorado de qué forma la ingesta dietética de estos contaminantes está relacionada con la densidad mineral ósea. El **objetivo** del presente trabajo fue caracterizar la ingesta dietética de metales pesados cadmio, plomo y mercurio en mujeres españolas sanas, no fumadoras y postmenopáusicas. Además se pretendió establecer relaciones entre la ingesta de los metales pesados indicados y la salud ósea en esta población de estudio. **Diseño del estudio:** La ingesta dietética de metales pesados se valoró mediante un cuestionario dietético en un total de 281 mujeres postmenopáusicas. La salud ósea de las participantes se valoró mediante Ultrasonido Cuantitativo Óseo (QUS), absorciometría dual de rayos X (DEXA) y mediante tomografía cuantitativa computerizada periférica (pQCT). **Resultados:** El consumo medio estimado de cadmio a través de la dieta en las 281 mujeres fue de 29.87 $\mu\text{g}/\text{día}$ (20.41–41.04) y 3.03 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal (p.c.) (2.17–4.40). La exposición dietética a plomo fue de 46.24 $\mu\text{g}/\text{día}$ (38.11–54.77) y 4.87 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. (4.00–6.14). Respecto del mercurio se estimó un consumo vía dieta de 11.64 $\mu\text{g}/\text{día}$ y 1.19 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p.c. (0.82–1.76). Las participantes en el estudio fueron clasificadas de acuerdo con su consumo de metales pesados en grupos (por encima o por debajo de la mediana respectiva). Después de ajustar por factores potenciales de confusión, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en los parámetros óseos medidos ($p > 0.05$). **Conclusiones:** No se han observado asociaciones entre la salud ósea y la ingesta dietética de metales pesados en mujeres postmenopáusicas sanas de Extremadura. Los niveles de ingesta de metales pesados estimados se encuentran dentro de los umbrales recomendados para la población adulta.

IV. 1. 4. Copia de la publicación.



International Journal of
*Environmental Research
and Public Health*



Article

Evaluation of the Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Relationship with Bone Health among Postmenopausal Women in Spain

Luis M. Puerto-Parejo [†], Ignacio Aliaga [†], María L. Canal-Macias, Olga Leal-Hernandez, Raul Roncero-Martín, Sergio Rico-Martín and Jose M. Moran ^{*}

Metabolic Bone Diseases Research Group, Nursing Department, University of Extremadura, 10003 Cáceres, Spain; lmpuerto@unex.es (L.M.P.-P.); i.aliaga@pdi.ucm.es (I.A.); luzcanal@unex.es (M.L.C.-M.); olgaleal@unex.es (O.L.-H.); rronmar@unex.es (R.R.-M.); sergiorico@unex.es (S.R.-M.)

^{*} Correspondence: jmmorang@unex.es; Tel.: +34-927-257-450

[†] These two authors contributed equally to this article.

Academic Editor: Paul B. Tchounwou

Received: 10 March 2017; Accepted: 20 May 2017; Published: 26 May 2017

Abstract: Background: Heavy metals, such as lead, cadmium, and mercury, are absorbed through contaminated food sources and water. Few studies have investigated the extent to which dietary heavy metals are associated with low bone mineral density. Aims: We aimed to characterize the dietary intake of the heavy metals lead, cadmium and mercury among healthy, non-smoking postmenopausal women in Spain. Furthermore, we sought to establish a putative relationship between bone health and the intake of these heavy metals in this population. Study Design: The daily intake of the heavy metals considered for the different food groups was calculated by accounting for food content and consumption in 281 postmenopausal women. Bone measurements were performed using a Quantitative Bone Ultrasound (QUS), a Dual-Energy X-ray Absorptiometry (DXA) and a Peripheral Quantitative Computed Tomography (pQCT). Results: The average estimated dietary cadmium exposure among the 281 women studied was 29.87 µg/day (20.41–41.04) and 3.03 µg/kg body weight (b.w.; 2.17–4.40). Dietary lead exposure was 46.24 µg/day (38.11–54.77) and 4.87 µg/kg b.w. (4.00–6.14). The estimated dietary mercury exposure was 11.64 µg/day and 1.19 µg/kg b.w. (0.82–1.76). Participants were classified according to their heavy metal intake (above or below the respective medians). After further adjustment for potential confounding factors, no significant differences were found in all the measured parameters ($p > 0.05$). Conclusions: We did not find associations between bone health and the dietary intake of three heavy metals in postmenopausal women. Dietary intake of the measured heavy metals were within the recommended values.

Keywords: diet records; heavy metals; quantitative bone ultrasound; dual X-ray absorptiometry; tomography

1. Introduction

Exposure to heavy metals, such as lead, cadmium, and mercury, occurs through contaminated food sources and water; furthermore, they can be inhaled from cigarette smoke and other sources of air pollution [1]. Cadmium exposure among non-occupationally exposed people occurs primarily via smoking tobacco and secondarily by eating foods containing cadmium [2]. Once inhaled or ingested, cadmium, lead, and mercury are distributed in different tissues and organs [3,4]. Cadmium is inefficiently excreted and accumulates primarily in the liver and kidneys [2]. Tissue stores of cadmium and mercury are slowly excreted from the body via urine and feces at an approximately equal rate, whereas lead is rapidly excreted via urine [3,5].

Cadmium affects the absorption of key divalent cations for bone metabolism such as calcium [1]. There have also been relationships described between several essential elements such as Ca, Fe and

Zn that affect their absorption, excretion and tissue retention [1]. Cadmium is also able to interfere with the parathyroid hormone stimulation of vitamin D activation in kidney cells, to increase urinary excretion of Ca, reduce its absorption from the intestines, and to interfere with Ca incorporation into bone cells [6]. Dermience et al. [7] recently reviewed and summarized the toxic effects of lead and cadmium on bone metabolism; their study also highlighted the currently unknown effect of mercury on human bone metabolism and the need for further investigation about the possible effects of mercury on bone metabolism. Lead has been related to increased bone turnover and reduced mineralization, a decrease in bone mineral density (BMD) and mass as well as a cause of osteoporosis in the most severe cases [7]. Lead (Pb^{2+}) can substitute to Ca (Ca^{2+}) in hydroxyapatite crystal and additionally lead has a higher affinity for osteocalcin than calcium [7,8]. Cadmium has been associated with a decrease in BMD, cadmium interacts with calcium metabolism and causes hypercalciuria, increased risk of fracture, osteomalacia and osteoporosis and chronic cadmium exposure causes Itai-itai disease [7,9], which is associated with weak and brittle bones. There is also evidence that cadmium disturbs calcium metabolism and calcitropic hormones; cadmium decreases liver concentration of other elements such as iron, magnesium, and selenium, and increases levels of copper, zinc and manganese [7].

Previous studies have shown that femur T-scores are associated with the accumulation of cadmium, and this association is gender-specific [5,10–12]. Urine cadmium levels have also been associated with osteoporosis [13,14] and dietary intake [15,16]. Even low-level cadmium exposure from food has been associated with low BMD and an increased risk of osteoporosis and fractures [17]. Blood levels of lead, mercury and cadmium are negatively associated with BMD, and this association is gender-specific [18].

Few studies have investigated the extent to which dietary heavy metals are associated with low BMD [17].

We aimed to characterize the dietary intake of the heavy metals lead, cadmium and mercury among healthy, non-smoking postmenopausal women (the population stratum with high cadmium retention) [19] in Spain. Furthermore, we sought to establish a putative relationship between bone health and the intake of these heavy metals in similar groups of women.

2. Materials and Methods

2.1. Participants

Healthy postmenopausal women were recruited from the local area via internet advertising and primary care consults. To be eligible for this study, all women had to be healthy, reside in the community, be of white European origin and have no mental or physical functional impairments.

The University of Extremadura Ethical Advisory Committee approved this study. All participants provided written informed consent in accordance with the 1975 Declaration of Helsinki.

We aimed to have enough power to detect a clinically significant 5.4% change in lumbar spine BMD [20]. A sample size of at least $n = 228$ (two groups of 114) was required [21] to achieve a statistical power of 80% and $p < 0.05$. A total of 281 postmenopausal women were included in this study.

All of the women resided in the urban area of the health district of Caceres, Spain. These women underwent primary or secondary examinations. Most of them were married and had children, and their social status was average. None of the participants had dietary restrictions, neurological impairments, or physical disabilities, and their medical histories showed no presence of low-trauma fractures.

We recorded participants' complete medical histories and physically examined each woman before enrollment in the study. None of the women were taking medications that could interfere with calcium metabolism (e.g., corticoids, oral anticoagulants, antipsychotics, etc.). All of the women led active lives but did not regularly exercise. Alcohol intake was sporadic and did not exceed 100 mL/day in any case. None of the women smoked. Height was measured using a Harpenden stadiometer with a mandible plane parallel to the floor, and weight was measured using a biomedical precision balance scale. Both measurements were determined when the participants were wearing only light clothing

and no shoes. Body mass index (BMI) was calculated as the weight in kilograms divided by the square of the height in meters (kg/m^2).

2.2. Bone Measurements

An ultrasound was performed on the 2nd to the 5th proximal phalanx of the non-dominant hand using a DBM Sonic Bone Profiler (IGEA, Capri, Italy).

The femoral neck and L2–L4 spine BMDs were measured via dual-energy X-ray absorptiometry DXA (Norland XR-800, Norland Inc., Fort Atkinson, WI, USA) and expressed as the quantity of mineral (g) divided by the area scanned (cm^2).

pQCT measurements were performed on the non-dominant distal forearm using a Stratec XCT-2000 device (Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Germany).

2.3. Assessment of Diet and Covariates

According to Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) recommendations (WHO, 1985), three basic approaches are employed to assess the intake of food contaminants or other dietary elements: (a) total diet studies (TDSs), (b) duplicate diet studies, and (c) diary studies that combine the data for specific contaminants with individual (or household) consumption records (Perello et al., 2014). Women enrolled in this study completed a 131-item food frequency questionnaire (FFQ). This FFQ was previously validated and involves 24-h recall performed over seven days [22–26]. A food cadmium, lead and mercury database was constructed based on the cadmium, lead and mercury contents previously reported with regard to the Spanish market [27]. Significant differences were not observed in the dietary patterns across geographical areas of Spain; however, the quantities consumed differed greatly [28]. The daily intake of the elements considered for the different food groups was calculated by accounting for food content and consumption. The toxic element concentrations of the different food groups were taken from the literature [28]. Using the FFQ, we also assessed the dietary intake of calcium and vitamin D. Information regarding calcium and vitamin D originated from the Spanish Food Composition database [29].

2.4. Statistical Analyses

Medians and the interquartile ranges were used to describe the sample.

Because of the asymmetric distribution of many of the studied variables (i.e., age, Ad-SoS, FN BMD, WT BMD, L2 BMD, L3 BMD, L2–L4 BMD, total area mm^2 , cortical area mm^2 , daily Cd intake, vitamin D intake, Ca intake, Fe intake, Mg, intake and Kcal intake) and the presence of atypical values (i.e., outliers), the non-parametric Wilcoxon test was used to evaluate the differences between groups with regard to the studied variables. To adjust for potential confounds, we used a non-parametric rank analysis of covariance model, where heavy metal intake was considered a factor, and kcal intake was considered a covariate. All statistical tests were conducted in SPSS version 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

3. Results

3.1. Dietary Heavy Metals Exposure and Major Food Sources in the Whole Sample

The average estimated dietary cadmium exposure among the 281 women studied was $29.87 \mu\text{g}/\text{day}$ (20.55–40.90) and $3.04 \mu\text{g}/\text{kg}$ body weight (b.w.; 2.19–4.41). Dietary lead exposure was $46.25 \mu\text{g}/\text{day}$ (38.13–56.71) and $4.88 \mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. (4.01–6.09). The estimated dietary mercury exposure was $11.64 \mu\text{g}/\text{day}$ (7.68–16.10) and $1.19 \mu\text{g}/\text{kg}$ b.w. (0.82–1.77).

The major sources of dietary cadmium exposure were fish and cereals, which constituted 89% of the total intake (Figure 1). The major sources of dietary lead were cereals, meat and fruits, together accounting for 80% of the total intake (Figure 1). Finally, the major sources of dietary mercury were fish and meat, constituting 94% of the total intake.

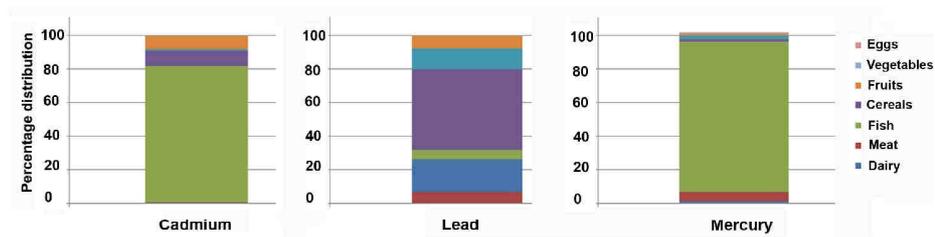


Figure 1. Percentage contribution of various food groups towards the total daily diet.

3.2. Sample Characteristics with Regard to Low and High Heavy Metal Dietary Exposure (Above or Below the Respective Medians)

Table 1 (cadmium), Table 2 (lead) and Table 3 (mercury) show the sample characteristics with regard to low and high heavy metal dietary exposure (above or below the respective medians). Women with high dietary heavy metal exposure reported consuming more vitamin D, calcium, iron and magnesium than those with less dietary heavy metal exposure. After adjusting for calorie consumption, no differences were found with regard to dietary vitamin D consumption in the lead subgroups or dietary calcium consumption in the mercury subgroups (Tables 2 and 3, respectively). The remaining studied were also significant. Dietary exposure to heavy metals was positively associated with dietary calcium ($r = 0.147$; $p = 0.014$), dietary iron ($r = 0.380$; $p < 0.001$), and dietary magnesium ($r = 0.220$; $p < 0.001$) but was not associated with the intake of vitamin D ($p = 0.414$) after adjusting for calorie intake. Similarly, dietary lead was positively associated with dietary calcium ($r = 0.232$; $p < 0.001$), dietary iron ($r = 0.421$; $p < 0.001$), and dietary magnesium ($r = 0.220$; $p < 0.001$) but not associated with vitamin D intake ($p = 0.878$). Dietary vitamin D was also not associated with the dietary mercury ($p = 0.422$), whereas dietary calcium was associated with dietary mercury ($r = 0.133$; $p = 0.027$). Dietary iron ($r = 0.372$; $p < 0.001$) and dietary magnesium ($r = 0.201$; $p < 0.001$) were also associated.

Table 1. Sample characteristics of low and high cadmium dietary exposure (above or below the respective medians).

	Low (<29.87 µg/day)	High (>29.87 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Median (IQR)	Median (IQR)		
Age at measurement	57 (54–61)	59 (55–63)	0.18	
Body mass index (kg/m ²)	27.71 (24.63–30.41)	27.24 (24.33–28.99)	0.11	
Dietary vitamin D (µg/day)	4.08 (2.47–7.15)	8.67 (4.89–13.33)	<0.001	<0.001
Dietary calcium (mg/day)	915 (613–1221.5)	1214 (883–1528)	<0.001	0.04
Dietary Iron (mg/day)	12.01 (9.5–15.41)	15.91 (13.28–21.88)	<0.001	<0.001
Dietary energy (Kcal/day)	1996.7 (1645.7–2317.1)	2360.05 (1946.97–2712.27)	<0.001	N/A
Dietary magnesium (mg/day)	221 (173.4–292.3)	322.2 (234.95–407.57)	<0.001	<0.001
Dietary cadmium/body weight (µg/kg b.w)	2.18 (1.61–2.66)	4.40 (3.65–5.85)	<0.001	<0.001
Dietary cadmium (µg/day)	20.55 (15.60–25.10)	41.04 (34.90–54.55)	<0.001	<0.001

* After further adjustment by energy intake.

Table 2. Sample characteristics of low and high lead dietary exposure (above or below the respective medians).

Characteristics	Low (<46.25 µg/day)	High (>46.5 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Median (IQR)	Median (IQR)		
Age at measurement	58 (54.5–63)	58 (55–62)	0.74	
Body mass index (kg/m ²)	27.77 (24.61–30.32)	27.32 (24.25–29.09)	0.08	
Dietary vitamin D (µg/day)	4.04 (2.46–8.5)	7.65 (4.53–12.01)	<0.001	0.07
Dietary calcium (mg/day)	798 (586–1105)	1293 (1005–1589.25)	<0.001	<0.001
Dietary Iron (mg/day)	11.35 (8.96–14.17)	16.99 (13.99–22.47)	<0.001	<0.001
Dietary energy (Kcal/day)	1882.3 (1546.65–2209.9)	2437.2 (2164.97–2778.05)	<0.001	N/A
Dietary magnesium (mg/day)	201.5 (168.85–270.55)	339.95 (258.92–427.72)	<0.001	<0.001
Dietary lead/body weight (µg/kg b.w)	4.01 (3.34–4.61)	56.77 (50.65–67.95)	<0.001	<0.001
Dietary lead (µg/day)	38.13 (32.96–42.27)	6.14 (5.25–7.84)	<0.001	<0.001

* After further adjustment by energy intake.

Table 3. Sample characteristics of low and high mercury dietary exposure (above or below the respective medians).

Characteristics	Low (<11.65 µg/day)	High (>11.65 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Median (IQR)	Median (IQR)		
Age at measurement	57 (54–62)	58.5 (55–63)	0.28	
Body mass index (kg/m ²)	27.58 (24.61–30.41)	27.33 (24.45–29.09)	0.25	
Dietary vitamin D (µg/day)	3.78 (2.26–7.13)	8.67 (5.08–13.33)	<0.001	<0.001
Dietary calcium (mg/day)	902 (618.5–1232.5)	1208 (896.5–1528)	<0.001	0.12
Dietary Iron (mg/day)	11.74 (9.47–15.12)	16.26 (13.35–22.05)	<0.001	<0.001
Dietary energy (Kcal/day)	1981.2 (1610.65–2305.1)	2362.15 (1989.42–2712.27)	<0.001	N/A
Dietary magnesium (mg/day)	215.3 (173.75–290.4)	322.2 (239.3–407.57)	<0.001	<0.001
Dietary mercury/body weight (µg/kg b.w)	4.19 (3.51–5.01)	53.21 (45.10–66.40)	<0.001	<0.001
Dietary mercury (µg/day)	40.05 (34.24–46.63)	5.80 (4.73–7.36)	<0.001	<0.001

* After further adjustment by energy intake.

3.3. Bone Health and Dietary Intake of Heavy Metals

Table 4 (cadmium), Table 5 (lead) and Table 6 (mercury) show the bone density parameter data. A significant difference was only observed in trabecular density, and this difference remained significant after adjusting for calorie intake in the lead subgroup analysis ($p = 0.049$). Women who consumed more lead presented higher trabecular densities than those with less lead intake. A significant difference was also found in L2 BMD, but this difference remained non-significant after adjustment ($p = 0.056$). No other differences were found in the subgroup analysis.

Table 4. Quantitative bone ultrasound, bone mineral density and volumetric bone mineral density for low and high cadmium dietary exposure (above or below the respective medians).

Measurement	Low (<29.87 µg/day)	High (>29.87 µg/day)	p-Value
	Median (IQR)	Median (IQR)	
Quantitative bone ultrasound			
Ad-SoS (m/s)	2042 (1995.5–2088)	2040 (2000–2093.25)	0.986
Bone mineral density (gr/cm²)			
BMD Femoral neck	0.829 (0.769–0.914)	0.839 (0.772–0.901)	0.968
BMD Femoral trochanter	0.684 (0.609–0.733)	0.667 (0.619–0.726)	0.629
BMD Ward’s triangle	0.599 (0.542–0.684)	0.621 (0.545–0.673)	0.657
BMD L2	1.005 (0.937–1.097)	1.000 (0.945–1.065)	0.322
BMD L3	1.044 (0.966–1.125)	1.033 (0.975–1.091)	0.282
BMD L4	1.019 (0.951–1.104)	0.991 (0.928–1.094)	0.098
BMD lumbar spine	1.026 (0.960–1.098)	1.004 (0.950–1.077)	0.172
Volumetric BMD (mg/cm³)			
Total density	337.5 (306.95–369.9)	337.2 (300.775–367.55)	0.702
Trabecular density	181.4 (162.45–207.2)	173.55 (149.65–203.325)	0.339
Cortical density	458.1 (413.4–508.5)	468.95 (418–513.725)	0.085
Bone morphometry (mm²)			
Total area	298 (273.75–323.35)	292.45 (265.55–317.1)	0.337
Trabecular area	134 (123.05–145.35)	131.6 (119.7–142.4)	0.608
Cortical area	163.8 (150.45–177.42)	161 (146.3–174.625)	0.351

Table 5. Quantitative bone ultrasound, bone mineral density and volumetric bone mineral density for low and high lead dietary exposure (above or below the respective medians).

Measurement	Low (<46.25 µg/day)	High (>46.25 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Mean (IQR)	Mean (IQR)		
Quantitative bone ultrasound				
Ad-SoS (m/s)	2037 (1994–2085.5)	2042 (2007.25–2096)	0.13	
Bone mineral density (gr/cm²)				
BMD Femoral neck	0.829 (0.766–0.913)	0.835 (0.7745–0.898)	0.943	
BMD Femoral trochanter	0.684 (0.608–0.737)	0.669 (0.611–0.717)	0.575	
BMD Ward’s triangle	0.609 (0.542–0.684)	0.616 (0.544–0.679)	0.934	
BMD L2	1.032 (0.952–1.097)	0.990 (0.936–1.053)	0.008	0.056
BMD L3	1.05 (0.975–1.125)	1.03 (0.962–1.089)	0.087	
BMD L4	1.015 (0.943–1.104)	0.995 (0.935–1.086)	0.217	
BMD lumbar spine	1.027 (0.964–1.099)	0.999 (0.949–1.07)	0.052	
Volumetric BMD (mg/cm³)				
Total density	340.2 (307.2–376.9)	334.8 (302.775–362.175)	0.109	
Trabecular density	291.4 (266.8–318.7)	299.7 (273.475–324.325)	0.001	0.049
Cortical density	186.8 (163.7–210.85)	171.15 (149.65–195.3)	0.746	
Bone morphometry (mm²)				
Total area	130.9 (120.25–142.95)	135.25 (123.6–145.9)	0.333	
Trabecular area	460.1 (414.35–516.1)	465.6 (417.6–503.875)	0.269	
Cortical area	160.5 (146.975–173.625)	165 (150.975–178.6)	0.242	

* After further adjustment by energy intake.

Table 6. Quantitative bone ultrasound, bone mineral density and volumetric bone mineral density for low and high mercury dietary exposure (above or below the respective medians).

Measurement	Low (<11.65 µg/day)	High (>11.65 µg/day)	p-Value
	Mean (IQR)	Mean (IQR)	
Quantitative bone ultrasound			
Ad-SoS (m/s)	2042 (1997–2088.5)	2040 (1999.25–2089.75)	0.956
Bone mineral density (gr/cm²)			
BMD Femoral neck	0.829 (0.769–0.913)	0.839 (0.772–0.901)	0.984
BMD Femoral trochanter	0.684 (0.61–0.735)	0.667 (0.612–0.723)	0.554
BMD Ward’s triangle	0.600 (0.543–0.690)	0.62 (0.543–0.670)	0.868
BMD L2	1.003 (0.951–1.097)	1.005 (0.937–1.067)	0.267
BMD L3	1.043 (0.972–1.118)	1.033 (0.974–1.093)	0.341
BMD L4	1.015 (0.951–1.104)	0.996 (0.928–1.094)	0.125
BMD lumbar spine	1.026 (0.961–1.096)	1.006 (0.948–1.084)	0.183
Volumetric BMD (mg/cm³)			
Total density	338.3 (306.95–369.9)	336.8 (300.775–367.55)	0.655
Trabecular density	294.1 (269.1–323.35)	294.5 (267.475–317.4)	0.084
Cortical density	182.2 (161.5–207.45)	173.55 (152.475–200.725)	0.69
Bone morphometry (mm²)			
Total area	132.3 (121.85–144.8)	132.8 (120.4–143.225)	0.859
Trabecular area	458.2 (414.1–508.5)	467.9 (417.6–513.725)	0.99
Cortical area	161.7 (149.175–177.1)	162.25 (147.3–174.7)	0.96

3.4. Risk of Low Bone Mineral Density and Dietary Intake of Heavy Metals

We explored the risk of low BMD (i.e., a T-score < −1) at either the hip (femoral neck) or the lumbar spine for dietary cadmium, lead and mercury. We observed a non-significant OR of 0.840 (95% CIs = 0.363–1.944; *p* = 0.68) for the hip and a non-significant OR of 1.386 (95% CIs = 0.766–2.510; *p* = 0.28) for the lumbar spine among the cadmium groups. Similarly, a non-significant OR of 1.008 (95% CIs = 0.437–2.327; *p* = 0.98) was observed for the hip, and a non-significant OR of

1.520 (95% CIs = 0.838–2.759; $p = 0.15$) was observed for the lumbar spine among the lead subgroup. A non-significant OR of 0.84 (95% CIs = 0.363–1.944; $p = 0.68$) was observed for the hip, and a non-significant OR of 1.668 (95% CIs = 0.916–3.038; $p = 0.09$) was observed for the lumbar spine among the dietary mercury subgroup. We also explored the risk of low BMD after adjusting for the dietary intake of calcium, magnesium, iron, vitamin D and calories via a logistic regression. A non-significant OR was observed for the hip (OR = 1.461; 95% CIs = 0.571–3.741; $p = 0.429$) and lumbar spine (OR = 0.767; 95% CIs = 0.396–1.489; $p = 0.432$) among the cadmium subgroup. Furthermore, a non-significant OR was observed for the lumbar spine (OR = 0.830; 95% CIs = 0.399–1.729; $p = 0.031$) and the hip (OR = 1.221; 95% CIs = 0.429–3.469; $p = 0.709$) among the lead subgroup. Finally, no significant differences were observed in the mercury subgroup for the hip (OR = 1.458; 95% CIs = 0.557–3.818; $p = 0.443$) or lumbar spine (OR = 0.652; 95% CIs = 0.344–1.237; $p = 0.191$).

3.5. Combined Intake of Heavy Metals and Bone Health

In the final analysis, we assessed the combined effect of a high dietary intake of the studied heavy metals. These data are shown in Table 7. No significant differences were found between the groups for age ($p = 0.593$) or BMI (0.052). Significant differences were found regarding L2 BMD ($p = 0.013$) and the lumbar spine ($p = 0.023$). In both cases, BMD was slightly higher in women with a higher intake of heavy metals. The differences regarding the lumbar spine remained after adjusting for calorie intake ($p = 0.037$). The differences observed in the trabecular area ($p = 0.004$) remained non-significant after adjusting for calorie intake ($p = 0.107$).

Table 7. Combined association of a high dietary intake of the studied heavy metals over the quantitative bone ultrasound, bone mineral density and volumetric bone mineral density.

	Combined High Dietary Intake of Heavy Metals Median (IQR)	Combined Low Intake of Heavy Metals Median (IQR)	<i>p</i> -Value
Quantitative bone ultrasound			
Ad-SoS (m/s)	2038.5 (1995.25–2086)	2041 (2006.5–2095)	0.424
Bone mineral density (gr/cm²)			
BMD Femoral neck	0.829 (0.770–0.914)	0.842 (0.782–0.906)	0.766
BMD Femoral trochanter	0.692 (0.609–0.746)	0.676 (0.622–0.730)	0.515
BMD Ward’s triangle	0.602 (0.543–0.687)	0.620 (0.547–0.680)	0.836
BMD L2	1.032 (0.954–1.103)	0.995 (0.941–1.053)	0.013
BMD L3	1.059 (0.977–1.14)	1.034 (0.975–1.091)	0.051
BMD L4	1.026 (0.954–1.124)	0.994 (0.934–1.097)	0.071
BMD lumbar spine	1.042 (0.965–1.106)	1.004 (0.947–1.069)	0.023 *
Volumetric BMD (mg/cm³)			
Total density	339.25 (310.525–375.7)	335.2 (301.9–366.1)	0.2
Trabecular density	295.7 (271.9–321.95)	301 (273.65–324.25)	0.004
Cortical density	185.05 (162.275–207.2)	168.3 (148.55–193.25)	0.922
Bone morphometry (mm²)			
Total area	133 (122.2–144.625)	135.4 (123.6–145.9)	0.722
Trabecular area	458.15 (417.575–525.6)	469.6 (418.55–515.2)	0.662
Cortical area	161.9 (149.7–176.8)	165.7 (151.25–178.6)	0.619

* $p = 0.037$ after further adjustment by energy intake.

4. Discussion

Our sample of postmenopausal women had a dietary cadmium intake that was notably lower than the provisional tolerable weekly intake (PTWI) established by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA; 7 µg/kg b.w./week) [30]. In 2009, however, the European Food Safety Authority (EFSA) [31,32] reevaluated data on dietary cadmium intake and set a new PTWI of

2.5 µg/kg b.w. (0.357 µg/kg b.w./day) [33]. Approximately 66% of the sample exceeded the threshold for this element.

JECFA has established a PTWI for lead of 25 µg/kg b.w.; however, the EFSA [34] concluded that the former PTWI (given as µg/kg b.w.) was not appropriate because no evidence of a critical threshold for lead-induced effects exists. In 2011, the JECFA concluded that because of prior analyses, a critical threshold would be considered health protective [33]. Nevertheless, all of the women had values well below the PTWI.

With respect to mercury, the EFSA recommends a maximum intake of 4 µg/kg b.w./week [33], and only 0.7% of the sample exceeded this threshold. Previous studies [27,35] in different areas of Spain studied the intake of heavy metals and other potentially toxic materials. The results obtained regarding the average dietary intake of lead ranged from 4 µg/kg b.w./week to 56 µg/kg b.w./week among the four areas studied. These results are similar to the dietary intakes assessed in our area (4.8 µg/kg b.w./week).

In 2014, the temporal trends of the dietary intakes of cadmium, lead and mercury (2000, 2005, 2008 and 2012) were estimated for Catalonia, Spain [33]. The dietary intakes for cadmium, mercury, and lead in this region were 0.87 µg/kg b.w./week, 1.1 µg/kg b.w./week and 0.84 µg/kg b.w./week, respectively; these figures are below the values observed in our sample. The data from our study confirm previous studies in different areas of Spain showing that the dietary intakes of heavy metals in the Spanish diet are generally within the recommended limits [36–43]. Moreiras and Cuadrado [28] examined the estimated intake of heavy metals in the diets of people from our specific area of Spain in 1992 and indicated that Extremadura showed the theoretically lowest intake of cadmium but the highest intake of mercury in all of Spain. It is possible that the dietary habits of our area have changed since then, thereby changing the trend in the dietary intake of the studied heavy metals.

According to Perelló and colleagues [33], the major dietary sources of cadmium are cereals and fish; these conclusions corroborate our results. Similar results were found for the intake of mercury: fish was the major dietary contributor. Cereals made the greatest contribution to total dietary lead intake in three of the four areas studied; this result supports our observation about the contribution of cereals to the dietary intake of lead in the current sample. A previous study also showed that cereals are a major source of dietary lead and cadmium in Spain [44].

An association exists between dietary cadmium exposure and higher rates of bone fracture (including hip fracture) independent of tobacco smoking in men [45]. Similarly, even low-level exposure to dietary cadmium has been associated with bone fragility among postmenopausal women [17]. Recently, positive associations with osteoporosis-related incident fractures were described in a cohort of elderly Swedish men, and these associations were also described in men who had never smoked but who were exposed primarily through their diets [46]. These results show that older men with relatively low dietary cadmium exposure are also at an increased risk of low BMD and fracture associated with cadmium.

Although high cadmium exposure causes bone damage, the association between low-level cadmium exposure (i.e., dietary exposure) and bone health must be clarified, especially in women [47]. Little evidence exists on the associations between BMD status and cadmium, lead or mercury intake among osteopenic or osteoporotic Korean adults [48]. However, the negative effects of low-level cadmium exposure on bone, possibly exerted via increased bone resorption, seem to intensify after menopause [47]. We did not observe any association between BMD and dietary cadmium intake in our cohort of Spanish women. Recent research has focused on the putative roles that cadmium plays in volumetric BMD and bone morphometry. In vivo studies of Sprague-Dawley male rats have shown that cadmium exposure can induce low vBMD [49] by decreasing the trabecular number, thereby reducing the quantity of mineralized bone tissue.

Similarly, conflicting evidence suggests that bone lead or blood lead reduces areal BMD. Recent data have shown that bone lead accumulated from exposure over time can detrimentally affect bone by reducing cortical thickness and integral volumetric bone density [50] in postmenopausal women.

We observed a non-significant difference in the trabecular density between the groups of women with either high or low dietary intakes of lead; the trabecular density of the higher dietary cadmium intake group was greater. We believe that this result deserves additional study because it might support the hypothesis that lead affects volumetric BMD.

The strengths of our study include its use of a heavy metals database based on concentrations in foods sold on the Spanish market as well as the assessment of BMD via DXA (the reference standard for BMD measurements), volumetric BMD and bone morphometry via pQCT and bone quality via QUS.

We recognize that our study has several limitations. First, its cross-sectional design does not allow us to establish causal relationships. Second, although we adjusted for calorie intake and no differences were observed in the major determinants of bone density between the studied groups (age, BMI, calcium intake, vitamin D intake, or smoking status), we cannot completely exclude the possibility that our findings are biased by unmeasured or residual confounds. Additionally, we aimed to have enough power to detect a least significant change in spine BMD of 5.4% that was established for intragroup comparisons and this could be conservative. Therefore, our study might have a moderate risk of finding no difference when in fact a difference might exist below the indicated threshold. Finally, dietary estimation of cadmium exposure should be used with caution in our study because of the lack of association between estimated dietary cadmium and measured urinary cadmium exposure.

5. Conclusions

The current study provides the first observational data regarding volumetric BMD, bone morphometry, QUS and the dietary intakes of cadmium, lead and mercury among Spanish women. With the use of newer imaging techniques, such as pQCT, which provide more information about bone quality than standard methods such as DXA, we did not find associations between bone health and the dietary intakes of three heavy metals.

Acknowledgments: This work was supported in part by the Government of Extremadura through project GR15144. The founding sponsors had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, and in the decision to publish the results.

Author Contributions: Jose M. Moran, Luis M. Puerto-Parejo, Ignacio Aliaga contributed to the design of the study. Luis M. Puerto-Parejo, Ignacio Aliaga, María L. Canal-Macias, Raul Roncero-Martín, Olga Leal-Hernández and Sergio Rico-Martín contributed to acquisition and processing of the data. Luis M. Puerto-Parejo, Ignacio Aliaga and Jose M. Moran analyzed the data. Jose M. Moran wrote the first draft of the manuscript. All authors have read and commented on the manuscript and approved the final version.

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

References

1. Madeddu, R.; Solinas, G.; Forte, G.; Bocca, B.; Asara, Y.; Tolu, P.; Delogu, L.G.; Muresu, E.; Montella, A.; Castiglia, P. Diet and Nutrients are Contributing Factors that Influence Blood Cadmium Levels. *Nutr. Res.* **2011**, *31*, 691–697. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Jarup, L.; Akesson, A. Current Status of Cadmium as an Environmental Health Problem. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **2009**, *238*, 201–208. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Boening, D.W. Ecological Effects, Transport, and Fate of Mercury: A General Review. *Chemosphere* **2000**, *40*, 1335–1351. [[CrossRef](#)]
4. Swiergosz-Kowalewska, R. Cadmium Distribution and Toxicity in Tissues of Small Rodents. *Microsc. Res. Tech.* **2001**, *55*, 208–222. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Aaseth, J.; Boivin, G.; Andersen, O. Osteoporosis and Trace Elements—An Overview. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2012**, *26*, 149–152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Kazantzis, G. Cadmium, Osteoporosis and Calcium Metabolism. *Biometals* **2004**, *17*, 493–498. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Dermience, M.; Lognay, G.; Mathieu, F.; Goyens, P. Effects of Thirty Elements on Bone Metabolism. *J. Trace Elem. Med. Biol.* **2015**, *32*, 86–106. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

8. Dowd, T.L.; Rosen, J.F.; Mints, L.; Gundberg, C.M. The Effect of Pb²⁺ on the Structure and Hydroxyapatite Binding Properties of Osteocalcin. *Biochim. Biophys. Acta-Mol. Basis Dis.* **2001**, *1535*, 153–163. [[CrossRef](#)]
9. Cai, Y.; Aoshima, K.; Katoh, T.; Teranishi, H.; Kasuya, M. Renal Tubular Dysfunction in Male Inhabitants of a Cadmium-Polluted Area in Toyama, Japan—An Eleven-Year Follow-up Study. *J. Epidemiol.* **2001**, *11*, 180–189. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Akesson, A.; Berglund, M.; Schutz, A.; Bjellerup, P.; Bremme, K.; Vahter, M. Cadmium Exposure in Pregnancy and Lactation in Relation to Iron Status. *Am. J. Public Health* **2002**, *92*, 284–287. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
11. Meltzer, H.M.; Brantsaeter, A.L.; Borch-Johnsen, B.; Ellingsen, D.G.; Alexander, J.; Thomassen, Y.; Stigum, H.; Ydersbond, T.A. Low Iron Stores are Related to Higher Blood Concentrations of Manganese, Cobalt and Cadmium in Non-Smoking, Norwegian Women in the HUNT 2 Study. *Environ. Res.* **2010**, *110*, 497–504. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Qin, Y.Y.; Leung, C.K.M.; Leung, A.O.W.; Wu, S.C.; Zheng, J.S.; Wong, M.H. Persistent Organic Pollutants and Heavy Metals in Adipose Tissues of Patients with Uterine Leiomyomas and the Association of these Pollutants with Seafood Diet, BMI, and Age. *Environ. Sci. Pollut. Res.* **2010**, *17*, 229–240. [[CrossRef](#)]
13. Jarup, L.; Alfven, T. Low Level Cadmium Exposure, Renal and Bone Effects—The OSCAR Study. *Biometals* **2004**, *17*, 505–509. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Jarup, L.; Alfven, T.; Persson, B.; Toss, G.; Elinder, C.G. Cadmium may be a Risk Factor for Osteoporosis. *Occup. Environ. Med.* **1998**, *55*, 435–439. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Gallagher, C.M.; Kovach, J.S.; Meliker, J.R. Urinary Cadmium and Osteoporosis in U.S. Women >Or= 50 Years of Age: NHANES 1988–1994 and 1999–2004. *Environ. Health Perspect.* **2008**, *116*, 1338–1343. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Songprasert, N.; Sukaew, T.; Kusreesakul, K.; Swaddiwudhipong, W.; Padungtod, C.; Bundhamcharoen, K. Additional Burden of Diseases Associated with Cadmium Exposure: A Case Study of Cadmium Contaminated Rice Fields in Mae Sot District, Tak Province, Thailand. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2015**, *12*, 9199–9217. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Engstrom, A.; Michaelsson, K.; Vahter, M.; Julin, B.; Wolk, A.; Akesson, A. Associations between Dietary Cadmium Exposure and Bone Mineral Density and Risk of Osteoporosis and Fractures among Women. *Bone* **2012**, *50*, 1372–1378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Lee, K.M.; Kwon, S.S.; Chung, C.Y.; Lee, S.Y.; Kim, T.G.; Choi, Y.; Park, M.S. Gender- and Body-Site-Specific Factors Associated with Bone Mineral Density in a Non-Institutionalized Korean Population Aged ≥50 Years. *J. Bone Miner. MeTable* **2015**, *33*, 401–409. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Rignell-Hydbom, A.; Skerfving, S.; Lundh, T.; Lindh, C.H.; Elmståhl, S.; Bjellerup, P.; Jönsson, B.A.G.; Strömberg, U.; Åkesson, A. Exposure to Cadmium and Persistent Organochlorine Pollutants and its Association with Bone Mineral Density and Markers of Bone Metabolism on Postmenopausal Women. *Environ. Res.* **2009**, *109*, 991–996. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Lodder, M.; Lems, W.; Ader, H.; Marthinsen, A.; van Coeverden, S.; Lips, P.; Netelenbos, J.; Dijkmans, B.; Roos, J. Reproducibility of Bone Mineral Density Measurement in Daily Practice. *Ann. Rheum. Dis.* **2004**, *63*, 285–289. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
21. Rosner, B. *Fundamentals of Biostatistics*, 7th ed.; Brooks/Cole, Cengage Learning: Pacific Grove, CA, USA, 2011.
22. Calderon-Garcia, J.F.; Moran, J.M.; Roncero-Martin, R.; Rey-Sanchez, P.; Rodriguez-Velasco, F.J.; Pedrera-Zamorano, J.D. Dietary Habits, Nutrients and Bone Mass in Spanish Premenopausal Women: The Contribution of Fish to Better Bone Health. *Nutrients* **2012**, *5*, 10–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Lavado-Garcia, J.M.; Calderon-Garcia, J.F.; Moran, J.M.; Canal-Macias, M.L.; Rodriguez-Dominguez, T.; Pedrera-Zamorano, J.D. Bone Mass of Spanish School Children: Impact of Anthropometric, Dietary and Body Composition Factors. *J. Bone Miner.* **2012**, *30*, 193–201. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Moran, J.M.; Lopez-Arza, L.G.; Lavado-Garcia, J.M.; Pedrera-Canal, M.; Rey-Sanchez, P.; Rodriguez-Velasco, F.J.; Fernandez, P.; Pedrera-Zamorano, J.D. Hormonal Relationships to Bone Mass in Elderly Spanish Men as Influenced by Dietary Calcium and Vitamin D. *Nutrients* **2013**, *5*, 4924–4937. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Pedrera-Zamorano, J.D.; Lavado-Garcia, J.M.; Roncero-Martin, R.; Calderon-Garcia, J.F.; Rodriguez-Dominguez, T.; Canal-Macias, M.L. Effect of Beer Drinking on Ultrasound Bone Mass in Women. *Nutrition* **2009**, *25*, 1057–1063. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

26. Pedrera-Zamorano, J.D.; Calderon-Garcia, J.F.; Roncero-Martin, R.; Manas-Nunez, P.; Moran, J.M.; Lavado-Garcia, J.M. The Protective Effect of Calcium on Bone Mass in Postmenopausal Women with High Selenium Intake. *J. Nutr. Health Aging* **2012**, *16*, 743–748. [CrossRef] [PubMed]
27. Cuadrado, C.; Kumpulainen, J.; Moreiras, O. Lead, Cadmium and Mercury Contents in Average Spanish Market Basket Diets from Galicia, Valencia, Andalucia and Madrid. *Food Addit. Contam.* **1995**, *12*, 107–118. [CrossRef] [PubMed]
28. Moreiras, O.; Cuadrado, C. Theoretical Study of the Intake of Trace Elements (Nutrients and Contaminants) Via Total Diet in some Geographical Areas of Spain. *Biol. Trace Elem. Res.* **1992**, *32*, 93–103. [CrossRef] [PubMed]
29. Moreiras, O. *Tablas de Composición de Alimentos: Guía de Prácticas*, 16ª, amp y rev ed.; Pirámide: Madrid, Spain, 2013; p. 455.
30. World Health Organization. *Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants*; Technical Report Series 960; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2003.
31. European Food Safety Authority. Cadmium Dietary Exposure in the European Population. *EFSA J.* **2012**. [CrossRef]
32. Panel, E.C. Scientific Opinion on Cadmium in Food. *EFSA J.* **2009**, *7*, 980.
33. Perello, G.; Llobet, J.M.; Gomez-Catalan, J.; Castell, V.; Centrich, F.; Nadal, M.; Domingo, J.L. Human Health Risks Derived from Dietary Exposure to Toxic Metals in Catalonia, Spain: Temporal Trend. *Biol. Trace Elem. Res.* **2014**, *162*, 26–37. [CrossRef] [PubMed]
34. Scientific Opinion on Lead in Food. Available online: <http://www.efsa.europa.eu/en/efsajournal/pub/1570> (accessed on 21 May 2017).
35. Cuadrado, C.; Kumpulainen, J.; Moreiras, O. Contaminants and Nutrients in Total Diets in Spain. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1995**, *49*, 767–778. [PubMed]
36. Bocio, A.; Nadal, M.; Domingo, J. Human Exposure to Metals through the Diet in Tarragona, Spain—Temporal Trend. *Biol. Trace Elem. Res.* **2005**, *104*, 193–201. [CrossRef]
37. Lopezartiguez, M.; Soria, M.; Camean, A.; Repetto, M. Cadmium in the Diet of the Local-Population of Seville (Spain). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1993**, *50*, 417–424.
38. Marti-Cid, R.; Llobet, J.M.; Castell, V.; Domingo, J.L. Dietary Intake of Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead by the Population of Catalonia, Spain. *Biol. Trace Elem. Res.* **2008**, *125*, 120–132. [CrossRef] [PubMed]
39. Martorell, I.; Perello, G.; Marti-Cid, R.; Llobet, J.M.; Castell, V.; Domingo, J.L. Human Exposure to Arsenic, Cadmium, Mercury, and Lead from Foods in Catalonia, Spain: Temporal Trend. *Biol. Trace Elem. Res.* **2011**, *142*, 309–322. [CrossRef] [PubMed]
40. Rubio, C.; Hardisson, A.; Reguera, J.; Revert, C.; Lafuente, M.; Gonzalez-Iglesias, T. Cadmium Dietary Intake in the Canary Islands, Spain. *Environ. Res.* **2006**, *100*, 123–129. [CrossRef] [PubMed]
41. Rubio, C.; Gutierrez, A.; Burgos, A.; Hardisson, A. Total Dietary Intake of Mercury in the Canary Islands, Spain. *Food Addit. Contam. Part A Chem.* **2008**, *25*, 946–952. [CrossRef] [PubMed]
42. Urieta, I.; Jalon, M.; Eguilero, I. Food Surveillance in the Basque Country (Spain). II. Estimation of the Dietary Intake of Organochlorine Pesticides, Heavy Metals, Arsenic, Aflatoxin M1, Iron and Zinc through the Total Diet Study, 1990/1991. *Food Addit. Contam.* **1996**, *13*, 29–52. [CrossRef] [PubMed]
43. Schuhmacher, M.; Bosque, M.A.; Domingo, J.L.; Corbella, J. Dietary-Intake of Lead and Cadmium from Foods in Tarragona Province, Spain. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1991**, *46*, 320–328. [CrossRef] [PubMed]
44. Cuadrado, C.; Kumpulainen, J.; Carbajal, A.; Moreiras, O. Cereals Contribution to the Total Dietary Intake of Heavy Metals in Madrid, Spain. *J. Food Compos. Anal.* **2000**, *13*, 495–503. [CrossRef]
45. Thomas, L.D.; Michaelsson, K.; Julin, B.; Wolk, A.; Akesson, A. Dietary Cadmium Exposure and Fracture Incidence among Men: A Population-Based Prospective Cohort Study. *J. Bone Miner. Res.* **2011**, *26*, 1601–1608. [CrossRef] [PubMed]
46. Wallin, M.; Barregard, L.; Sallsten, G.; Lundh, T.; Karlsson, M.K.; Lorentzon, M.; Ohlsson, C.; Mellstrom, D. Low-Level Cadmium Exposure is Associated with Decreased Bone Mineral Density and Increased Risk of Incident Fractures in Elderly Men: The MrOS Sweden Study. *J. Bone Miner. Res.* **2016**, *31*, 732–741. [CrossRef] [PubMed]
47. Akesson, A.; Bjellerup, P.; Lundh, T.; Lidfeldt, J.; Nerbrand, C.; Samsioe, G.; Skerfving, S.; Vahter, M. Cadmium-Induced Effects on Bone in a Population-Based Study of Women. *Environ. Health Perspect.* **2006**, *114*, 830–834. [CrossRef] [PubMed]

48. Kang, M.H.; Park, S.M.; Oh, D.N.; Kim, M.H.; Choi, M.K. Dietary Nutrient and Food Intake and their Relations with Serum Heavy Metals in Osteopenic and Osteoporotic Patients. *Clin. Nutr. Res.* **2013**, *2*, 26–33. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Chen, X.; Zhu, G.; Jin, T.; Qin, B.; Zhou, W.; Gu, S. Cadmium is More Toxic on Volume Bone Mineral Density than Tissue Bone Mineral Density. *Biol. Trace Elem. Res.* **2011**, *144*, 380–387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Wong, A.K.; Beattie, K.A.; Bhargava, A.; Cheung, M.; Webber, C.E.; Chettle, D.R.; Papaioannou, A.; Adachi, J.D.; Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CaMos) Research Group. Bone Lead (Pb) Content at the Tibia is Associated with Thinner Distal Tibia Cortices and Lower Volumetric Bone Density in Postmenopausal Women. *Bone* **2015**, *79*, 58–64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

IV. 2. Publicación Nº 2.

“Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Association with Bone Health in Healthy Premenopausal Women.”

IV. 2. 1. Presentación de la publicación.

- **Título:** “Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Association with Bone Health in Healthy Premenopausal Women.”
- **Autores:** Lavado-García JM^a, Puerto-Parejo LM^a, Roncero-Martín R^a, Moran JM^a, Pedrera-Zamorano JD^a, Aliaga IJ^a, Leal-Hernández O^a, Canal-Macias M^a.
- **Filiación:** ^a Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas, Departamento de Enfermería, Universidad de Extremadura, Cáceres, España.
- **Revista:** International Journal of Environmental Research and Public Health (Int J Environ Res Public Health).
- **Volumen:** 2017 **Numero:** Noviembre 23: 14(12). **Doi:** 10.3390/ijerph14121437
- **Año de publicación:** 2017

IV. 2. 2. Informe

El trabajo titulado “Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Association with Bone Health in Healthy Premenopausal Women” se publicó en la revista International Journal of Environmental Research and Public Health. Actualmente dicha publicación se encuentra indexada en numerosas bases de datos de referencia de entre las que destacamos:

- EMBASE (Elsevier)
- Journal Citation Reports / Science Edition (Clarivate Analytics, formerly Thomson)
- MEDLINE (NLM)
- PubMed (NLM)
- Science Citation Index Expanded - Web of Science (Clarivate Analytics)
- Scopus (Elsevier)
- Social Sciences Citation Index - Web of Science (Clarivate Analytics)
- Web of Science (Clarivate Analytics)

Respecto del **Journal Citation Reports** los últimos datos publicados indican que la revista ocupa la posición 101 de 229 revistas en el área de Ciencias Ambientales equivalente a un 2º Cuartil (Q2). El índice de impacto de la revista en el área es de 2.101. Durante los últimos 5 años la revista ha mantenido una posición Q2 dentro del área. El índice de impacto a 5 años de la revista es de 2.540.

Contribución del doctorando:

El doctorando ha participado activamente la adquisición y procesamiento de los datos y en el análisis de los mismos. El doctorando ocupa la primera posición en el orden de los autores compartida con el Dr. Jesus M. Lavado García.

Contribución de los co-autores

Jesus M. Lavado-García y Maria L. Canal-Macias diseñaron el procedimiento; Jesus M. Lavado-García, Raul Roncero-Martín y Olga Leal-Hernández participaron en la realización de las determinaciones; Jose M. Moran, Ignacio J. Aliaga y Juan D. Pedrera-

Zamorano analizaron los datos; Jose M. Moran y Maria L. Canal-Macias escribieron el manuscrito. Todos los co-autores han leído y comentado activamente el manuscrito y aprobaron la verisión final del mismo.

El trabajo presentado no será utilizado como contribución a ningún otro proyecto de tesis doctoral en este u otro programa de doctorado.

Fdo. El Director de la Tesis

Dr. José M. Morán García.

IV. 2. 3. Resumen en castellano

El hueso es uno de los órganos diana relevantes de los metales pesados, y la toxicidad por metales pesados se asocia con varios procesos degenerativos, como la osteoporosis y la alteración de la densidad mineral ósea, que podrían provocar fracturas. El objetivo fue estudiar la posible relación entre la densidad mineral ósea, evaluada por ultrasonido óseo cuantitativo (QUS), absorciometría de rayos X de energía dual (DEXA) y tomografía computerizada cuantitativa periférica (pQCT) y la ingesta dietética de cadmio, plomo y mercurio en mujeres premenopáusicas sanas. Un total de 158 mujeres sanas, no fumadoras, premenopáusicas se incorporaron al estudio. Se facilitó un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario validado para evaluar el consumo los siete días anteriores. La media de la ingesta de cadmio en la dieta de las 158 mujeres estudiadas fue de 25.29 $\mu\text{g}/\text{día}$ (18.62-35.00) y 2.74 $\mu\text{g}/\text{kg}$ de peso/semanal (p/s) (1.92-3.83). La ingesta de plomo en la dieta fue 43.85 $\mu\text{g}/\text{día}$ (35.09-51.45) y 4.82 $\mu\text{g}/\text{kg}$ p/s (3.67-6.13). La ingesta de mercurio en la dieta fue de 9.55 $\mu\text{g}/\text{día}$ (7.18-13.57) y 1.02 $\mu\text{g} / \text{kg}$ p/s (0.71-1.48). Las comparaciones, en términos de ingesta de metales pesados, no mostraron resultados estadísticamente significativos ajustados por la ingesta de energía. No se observaron correlaciones estadísticamente significativas entre la ingesta de metales pesados y los parámetros QUS, DEXA y pQCT. Los niveles de exposición dietética de cadmio, plomo y mercurio estuvieron en su mayoría dentro de las recomendaciones. No encontramos asociaciones entre los parámetros QUS, DEXA y pQCT y la ingesta dietética de los metales pesados estudiados en mujeres premenopáusicas sanas.

IV. 2. 4. Copia de la publicación.



International Journal of
*Environmental Research
and Public Health*



Article

Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Association with Bone Health in Healthy Premenopausal Women

Jesus M. Lavado-García [†], Luis M. Puerto-Parejo [†], Raul Roncero-Martín, Jose M. Moran * , Juan D. Pedrera-Zamorano, Ignacio J. Aliaga, Olga Leal-Hernández and Maria L. Canal-Macias

Metabolic Bone Diseases Research Group, Nursing Department, University of Extremadura, 10003 Cáceres, Spain; jmlavado@unex.es (J.M.L.-G.); lmpuerto@unex.es (L.M.P.-P.); rronmar@unex.es (R.R.-M.); jpedrera@unex.es (J.D.P.-Z.); i.aliaga@pdi.ucm.es (I.J.A.); olgaleal@unex.es (O.L.-H.); luzcanal@unex.es (M.L.C.-M.)

* Correspondence: jmmorang@unex.es; Tel.: +34-927-257-450

[†] Both authors contributed equally to this work.

Received: 27 September 2017; Accepted: 28 October 2017; Published: 23 November 2017

Abstract: The bone is one of the relevant target organs of heavy metals, and heavy metal toxicity is associated with several degenerative processes, such as osteoporosis and bone mineral alterations, that could lead to fractures. We aimed to study a presumed relationship between bone density, evaluated by quantitative bone ultrasound (QUS), dual-energy X-ray absorptiometry (DXA) and peripheral quantitative computed tomography (pQCT) and the dietary intake of cadmium, lead and mercury in healthy premenopausal women. A total of 158 healthy, non-smoking, premenopausal women were incorporated into the study. A validated food frequency questionnaire (FFQ) was administered to assess intake during the preceding seven days. The median predicted dietary cadmium intake among the 158 women studied was 25.29 µg/day (18.62–35.00) and 2.74 µg/kg body weight/week (b.w./w) (1.92–3.83). Dietary lead intake was 43.85 µg/day (35.09–51.45) and 4.82 µg/kg b.w./w (3.67–6.13). The observed dietary mercury intake was 9.55 µg/day (7.18–13.57) and 1.02 µg/kg b.w./w (0.71–1.48). Comparisons, in terms of heavy metal intake, showed no significant results after further adjusting for energy intake. No statistically significant correlations between heavy metal intake and the QUS, DXA and pQCT parameters were observed. Levels of dietary exposure of cadmium, lead and mercury were mostly within the recommendations. We did not find associations between the QUS, DXA and pQCT parameters and the dietary intake of the studied heavy metals in healthy premenopausal women.

Keywords: heavy metals; food; dietary intake; bone health; women's health; premenopause; bone mineral density

1. Introduction

Bone is one of the important target organs of heavy metals, and heavy metal toxicity is associated with several degenerative processes, such as osteoporosis and bone mineral alterations, that could lead to fractures [1,2]. Exposure to heavy metals occurs through various routes, and quantifying absorbed doses is complex because of the levels of absorption and metabolism [2]. In addition, exposure duration varies widely among individuals, with polluted or fresh water, soil, dermal contact of soil, air, smoking, and food being the primary routes of exposure [2–7]. In the case of cadmium, for non-smokers, food consumption has been identified as the major pathway of cadmium exposure, accounting for 90% of the cadmium exposure compared to other routes of exposure [8,9].

Toxicity and the resulting threat to human health of any contaminant depends on the concentration; it is well known that sustained exposure to cadmium, lead and mercury at relatively

low levels has negative effects [10,11]. Cadmium ranks seventh in the Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR) list of elements posing the most significant potential threat to human health in the environment [12], and both human and in vivo studies have demonstrated cadmium to have toxic effects on bones, resulting in low bone mass, higher risk of osteoporosis and bone fractures [13–18]. Several population-based studies from Belgium, Sweden, Japan, and China have demonstrated an association between decreased bone mineral density and low-level cadmium exposure [15,19–22]. Cadmium also interferes with parathyroid hormone stimulation of vitamin D activation in kidney cells to increase urinary excretion of calcium, thereby reducing its absorption from the intestines and interfering with calcium incorporation into bone cells [23].

Lead exposure has been linked to enhanced bone turnover, reduced mineralization, and a decline in bone mineral density (BMD) and is considered to be a cause of osteoporosis in the most serious cases [24]. Lead can substitute calcium in hydroxyapatite crystals and has a higher affinity for osteocalcin than calcium [24,25].

There is a lack of knowledge about the effects of mercury on human bone metabolism, and further research, in regard to the potential effects of mercury on bone metabolism, is required [24].

The food frequency questionnaire (FFQ) method is applied as a tool in estimating the frequency of intake of individual foods or food groups over different periods of time (days, weeks, months, or years) and has been used, more and more, to measure dietary exposures in epidemiologic studies [26,27] that evaluate dietary heavy metal intake.

The standard screening procedure for the assessment of bone mineral density (BMD) is dual X-ray absorptiometry (DXA), which helps in identifying patients at risk of osteoporosis or fractures [28]. Quantitative bone ultrasound (QUS) is an alternative and/or integrative technique to DXA scan; it is a radiation-free, transportable technique that uses sound waves to evaluate bone properties that are not measured by the DXA scan [29–33]. Peripheral quantitative computed tomography (pQCT) provides information regarding both trabecular and cortical bone properties and measures volumetric bone mineral density (vBMD), which is independent of body size and in contrast to the size-dependent planar measurement of areal bone mineral density (aBMD) [34].

We aimed to describe the dietary intakes of lead, cadmium and mercury among healthy, non-smoking premenopausal Spanish women. Additionally, we attempted to establish a putative relationship between bone health, measured by—QUS, DXA and pQCT—and the intake of these heavy metals in these women.

2. Materials and Methods

Healthy, non-smoking, premenopausal women were recruited from the area of Cáceres and nearby communities, via web advertising and primary care consults. Inclusion criteria included being healthy, residing in the studied area, being of white European origin and having no mental or physical functional impairments. The Clinical Research Ethics Committee at the Complejo Hospitalario San Pedro de Alcántara Hospital (Cáceres, Spain) (05032001/17) approved this study. All participants provided written informed consent, in accordance with the 1975 Declaration of Helsinki.

We aimed to have enough statistical power to detect medium effect sizes (anticipated Cohen's $d = 0.5$) with a $\beta = 0.80$ and $\alpha = 0.05$, which required a minimum sample size of 128 participants. A total of 158 premenopausal women were included in this study. Participants underwent primary or secondary examinations. Most of them were married and did not have children (71.5%), and their social status was average. None of the participants had dietary restrictions and their medical histories showed no presence of low-trauma fractures.

We registered subjects' complete medical histories and physically examined each participant before acceptance into the study. Women were excluded if they were taking medications that could interfere with bone turnover (antipsychotics, oral anticoagulants, corticoids, etc.). All women led active lives but did not regularly practice sports. Alcohol intake was occasional (not exceeding 100 mL/day in any case). Height was measured using a Harpenden stadiometer (Holtain, Crymych, UK). Weight was

obtained by standing on a zeroed biomedical precision balance scale. Both measurements were obtained with the women dressed in light clothing, with shoes and socks removed. Body mass index (BMI) was calculated as weight in kilograms divided by height in meters squared (kg/m^2).

Ultrasound studies were performed on the 2nd to the 5th proximal phalanx of the non-dominant hand, using a DBM Sonic Bone Profiler (IGEA, Capri, Italy). The femoral neck and L2–L4 spine BMDs were analyzed via DXA (Norland XR-800, Norland Inc., Fort Atkinson, WI, USA), and measurements were expressed as the quantity of mineral divided by the area scanned (g/cm^2). pQCT measurements were performed on the non-dominant distal forearm, using a Stratec XCT-2000 device (Stratec Medizintechnik, Pforzheim, Germany).

According to the Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) recommendations [35], diary-based studies that combine the data for specific contaminants with individual (or household) dietary records [36] can be employed to determine the intake of heavy metals. Women enrolled in this study completed a 131-item FFQ. This FFQ was previously validated and involves a 24-h recall performed over seven days [31,37–39]. A database involving food cadmium, lead and mercury was constructed, as previously reported [39]. Using the FFQ, we also estimated the dietary intakes of iron, zinc, iodine, magnesium, copper, selenium, calcium and vitamin D from the Spanish Food Composition database [40].

Medians and interquartile ranges (IQR) were used to describe the studied sample. Considering the non-normality of some of the studied data, the Mann-Whitney U test was used to evaluate the differences between groups. Partial correlations (adjusted by energy intake) were also calculated. To adjust for potential confounding factors, we used a non-parametric rank analysis of the covariance model, where cadmium, lead and mercury intake was considered factors and energy intake (kcal/day) was considered a covariate. All statistical tests were conducted using SPSS version 22.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

3. Results

3.1. Sample Characteristics Regarding Heavy Metal Dietary Intake

The women with the highest dietary cadmium intakes reported consuming more copper, vitamin D, iron, magnesium and selenium than those with less dietary cadmium exposure. After further adjustment for energy consumption, no significant differences were detected with regard to dietary iron, magnesium and copper in the cadmium subgroups (Table 1); the dietary intakes of vitamin D and selenium continued to be significant.

Table 1. Sample characteristics regarding cadmium dietary intake in premenopausal women.

Variable (Units)	Low (<25.29 $\mu\text{g}/\text{day}$)	High (>25.29 $\mu\text{g}/\text{day}$)	p-Value	p-Value *
	Median (IQR) (n = 79)	Median (IQR) (n = 79)		
Age (years)	40 (37–43)	41 (37–44)	0.682	0.852
Body mass index (kg/m^2)	24.80 (22.80–27.50)	23.62 (22.33–26.38)	0.068	0.215
Dietary vitamin D ($\mu\text{g}/\text{day}$)	3.92 (2.17–6.14)	7.25 (4.84–11.65)	<0.001	<0.001
Dietary calcium (mg/day)	982 (675–1239)	1025 (790–1278)	0.339	0.738
Dietary iron (mg/day)	11.73 (10.25–15.75)	14.24 (11.62–17.01)	0.007	0.237
Dietary zinc (mg/day)	9.24 (7.24–10.71)	10.05 (7.94–12.49)	0.051	0.959
Dietary energy (kcal/day)	1969.2 (1629.2–2415.0)	2260 (1858.1–2626.5)	0.003	N/A
Dietary iodine ($\mu\text{g}/\text{day}$)	330.5 (98–431)	335 (36–436)	0.865	0.156
Dietary magnesium (mg/day)	227.8 (178.5–276.6)	259 (203.3–341.1)	0.010	0.196
Dietary copper (mg/day)	0.806 (0.564–1.031)	0.936 (0.769–1.397)	0.002	0.558
Dietary selenium ($\mu\text{g}/\text{day}$)	72.4 (53.2–90.7)	95.35 (68–119.9)	<0.001	0.005
Dietary cadmium/body weight ($\mu\text{g}/\text{kg}$ b.w./w)	1.92 (1.56–2.31)	3.83 (3.26–4.89)	<0.001	<0.001
Dietary cadmium ($\mu\text{g}/\text{day}$)	18.62 (14.37–20.75)	34.99 (30.40–41.96)	<0.001	<0.001

* After further adjustment for energy intake (kcal/day). IQR: interquartile range; N/A: Not Applicable.

Women with higher dietary intakes of lead reported lower BMIs and higher intakes of vitamin D, calcium, iron, zinc, iodine, magnesium and copper (Table 2). After further adjustment for calorie consumption, the dietary intakes of iron, zinc magnesium and selenium remained significant.

Table 2. Sample characteristics regarding lead dietary intake in premenopausal women.

Variable (Units)	Low (<43.85 µg/day)	High (>43.85 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Median (IQR) (n = 79)	Median (IQR) (n = 79)		
Age (years)	41 (37–44)	41 (37–43)	0.635	0.553
Body mass index (kg/m ²)	25.06 (22.97–27.57)	23.98 (22.30–26.38)	0.033	0.234
Dietary vitamin D (µg/day)	438 (257–811)	621 (411–99)	0.012	0.435
Dietary calcium (mg/day)	961 (634–1209)	1025 (873–1327)	0.018	0.546
Dietary iron (mg/day)	11.02 (8.62–14.49)	15.16 (12.42–17.57)	<0.001	0.015
Dietary zinc (mg/day)	8.7 (6.67–10.37)	10.63 (8.92–13.07)	<0.001	0.007
Dietary energy (kcal/day)	1858.1 (1500.4–2323.6)	2358.3 (1995.1–2621.4)	<0.001	N/A
Dietary iodine (µg/day)	322 (18–441)	339 (205–434)	0.065	0.844
Dietary magnesium (mg/day)	214.5 (159.5–286.2)	269.4 (222.8–338.3)	<0.001	0.023
Dietary copper (mg/day)	0.724 (0.501–0.993)	0.945 (0.82–1409)	<0.001	0.281
Dietary selenium (µg/day)	63.1 (49.8–79.6)	96 (75.7–125)	<0.001	<0.001
Dietary lead/body weight (µg/kg b.w./w)	3.67 (3.2–4.36)	6.05 (5.19–6.97)	<0.001	0.004
Dietary lead (µg/day)	35.09 (29.8–40.03)	51.45 (47.59–58.37)	<0.001	0.006

* After further adjustment for energy intake (kcal/day).

Higher dietary intakes of vitamin D, iron, magnesium, copper and selenium were observed in women with dietary intakes of mercury above the median of our sample (Table 3). After further adjustment for calorie consumption, the dietary intakes of vitamin D and selenium remained significant.

Table 3. Sample characteristics regarding mercury dietary intake in premenopausal women.

Variable (Units)	Low (<9.55 µg/day)	High (>9.55 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Median (IQR) (n = 80)	Median (IQR) (n = 78)		
Age (years)	40.5 (37–43)	41 (37–44)	0.739	0.848
Body mass index (kg/m ²)	24.51 (22.88–27.41)	23.7 (22.33–26.84)	0.138	0.370
Dietary vitamin D (µg/day)	3.93 (2.28–6.16)	7.35 (4.89–11.65)	<0.001	<0.001
Dietary calcium (mg/day)	996 (677–1224)	995.5 (728–1285)	0.517	0.661
Dietary iron (mg/day)	11.93 (10.37–15.82)	14.17 (11.52–17.01)	0.015	0.188
Dietary zinc (mg/day)	9.08 (7.29–10.74)	10.04 (7.94–12.45)	0.063	0.583
Dietary energy (kcal/day)	2008.25 (1643.25–2390.65)	2256.65 (1855.8–2621.4)	0.008	N/A
Dietary iodine (µg/day)	331 (98–431)	334 (32–436)	0.832	0.205
Dietary magnesium (mg/day)	225.3 (179.15–279.5)	260.45 (203.3–341.1)	0.012	0.169
Dietary copper (mg/day)	0.81 (0.57–0.98)	0.94 (0.77–1.4)	0.001	0.384
Dietary selenium (µg/day)	72.1 (52.25–90.45)	95.8 (68.2–118.9)	<0.001	0.001
Dietary mercury/body weight (µg/kg b.w./w)	0.71 (0.53–0.87)	5.18 (4.24–6.62)	<0.001	<0.001
Dietary mercury (µg/day)	7.19 (4.96–7.72)	47.78 (39.99–57.82)	<0.001	<0.001

* After further adjustment for energy intake (kcal/day).

3.2. Bone Density and Heavy Metal Dietary Intake

Significant differences were observed in bone transmission time (µs) between the cadmium groups (Table 4) ($p = 0.028$). Such differences remained significant after further adjustment for energy intake ($p = 0.037$). No more significant differences were observed.

Table 4. Bone density and cadmium dietary intake in premenopausal women.

Variable (Units)	Low (<25.29 µg/day)	High (>25.29 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Median (IQR) (n = 79)	Median (IQR) (n = 79)		
Quantitative bone ultrasound				
Amplitude-dependent speed-of-sound (Ad-SoS) (m/s)	2120 (2092–2145)	2133 (2092–2166)	0.224	0.329
Ultrasound bone profiler index (UBPI)	0.78 (0.69–0.85)	0.78 (0.71–0.85)	0.933	0.861
Bone transmission time (BTT) (µs)	1.60 (1.52–1.65)	1.60 (1.58–1.72)	0.028	0.037
Bone mineral density (BMD) (g/cm²)				
BMD Femoral neck	0.891 (0.839–0.992)	0.885 (0.815–0.966)	0.372	0.325
BMD Femoral trochanter	0.685 (0.636–0.755)	0.677 (0.617–0.771)	0.777	0.714
BMD Ward’s triangle	0.709 (0.624–0.807)	0.687 (0.614–0.782)	0.568	0.746
BMD L2	1.109 (1.016–1.184)	1.097 (1.012–1.180)	0.631	0.851
BMD L3	1.101 (1.015–1.189)	1.101 (1.016–1.182)	0.790	0.853
BMD L4	1.060 (0.976–1.151)	1.037 (0.972–1.128)	0.453	0.624
BMD lumbar spine	1.105 (1.009–1.173)	1.079 (0.997–1.157)	0.601	0.673
Volumetric BMD (mg/cm³)				
Total density	363.6 (323.4–394.5)	348.9 (327.9–385.8)	0.479	0.623
Trabecular density	180.1 (160.3–210.1)	174.4 (152.8–197.8)	0.305	0.551
Cortical density	503 (449.4–558.3)	494.8 (454.4–545.4)	0.832	0.887
Bone morphometry (mm²)				
Total area	283.4 (265.6–311.9)	294.1 (270.1–324.1)	0.120	0.252
Trabecular area	127.4 (119.4–142.4)	132.3 (121.5–145.5)	0.185	0.485
Cortical area	155.9 (146.2–171.6)	161.9 (148.6–178.6)	0.157	0.350

* After further adjustment for energy intake (kcal/day).

No significant differences were observed between the lead groups; however, after adjusting for calorie intake, a significant difference was observed between the studied groups in the cortical area (mm²) ($p = 0.030$) (Table 5).

Table 5. Bone density and lead dietary intake in premenopausal women.

Variable (Units)	Low (<43.85 µg/day)	High (>43.85 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Median (IQR) (n = 79)	Median (IQR) (n = 79)		
Quantitative bone ultrasound				
Ad-SoS (m/s)	2126 (2093–2157)	2130 (2090–2162)	0.801	0.886
Ultrasound bone profiler index (UBPI)	0.77(0.71–0.85)	0.78 (0.71–0.84)	0.985	0.998
Bone transmission time (BTT) (µs)	1.60 (1.55–1.7)	1.60 (1.52–1.68)	0.568	0.433
Bone mineral density (g/cm²)				
BMD Femoral neck	0.886 (0.814–0.991)	0.892 (0.826–0.971)	0.865	0.993
BMD Femoral trochanter	0.689 (0.630–0.754)	0.679 (0.611–0.775)	0.981	0.988
BMD Ward’s triangle	0.692 (0.602–0.810)	0.697 (0.626–0.785)	0.716	0.780
BMD L2	1.100 (1.016–1.157)	1.107 (1.006–1.194)	0.436	0.328
BMD L3	1.095 (1.008–1.161)	1.107 (1.031–1.199)	0.157	0.120
BMD L4	1.054 (0.983–1.135)	1.046 (0.966–1.138)	0.793	0.999
BMD lumbar spine	1.088 (1.009–1.142)	1.089 (0.997–1.191)	0.565	0.476
Volumetric BMD (mg/cm³)				
Total density	349.7 (321.7–389.1)	358.3 (327.9–389.4)	0.381	0.497
Trabecular density	176.8 (155.4–203.4)	178.2 (156.4–210.1)	0.551	0.575
Cortical density	494.3 (450–556.1)	501.1 (460–547.8)	0.505	0.671
Bone morphometry (mm²)				
Total area	293.8 (275.3–327.6)	287.5 (261.4–319.2)	0.092	0.050
Trabecular area	131.9 (123.6–147.2)	129.1 (117.3–143.4)	0.091	0.057
Cortical area	161.9 (151.8–180.3)	158.4 (144.1–174.4)	0.078	0.030

* After further adjustment for energy intake (kcal/day). (kcal/day) was considered a covariate.

No significant differences were observed between the mercury groups in the measured bone health parameters (Table 6).

Table 6. Bone density and mercury dietary intake in premenopausal women.

Variable (Units)	Low (<9.55 µg/day)	High (>9.55 µg/day)	p-Value	p-Value *
	Median (IQR) (n = 80)	Median (IQR) (n = 78)		
Quantitative bone ultrasound				
Ad-SoS (m/s)	2126 (2092.5–2145)	2131 (2092–2166)	0.360	0.361
Ultrasound bone profiler index (UBPI)	0.78 (0.69–0.84)	0.78 (0.71–0.85)	0.882	0.794
Bone transmission time (BTT) (µs)	1.60 (1.52–1.65)	1.60 (1.55–1.72)	0.057	0.059
Bone mineral density (g/cm²)				
BMD Femoral neck	0.893 (0.834–1.005)	0.889 (0.824–0.969)	0.390	0.323
BMD Femoral trochanter	0.680 (0.633–0.753)	0.684 (0.611–0.775)	0.951	0.863
BMD Ward’s triangle	0.706 (0.624–0.806)	0.687 (0.616–0.785)	0.595	0.665
BMD L2	1.109 (1.017–1.187)	1.096 (1.006–1.169)	0.536	0.683
BMD L3	1.101 (1.020–1.188)	1.101 (1.014–1.183)	0.736	0.785
BMD L4	1.059 (0.980–1.148)	1.038 (0.972–1.128)	0.397	0.568
BMD lumbar spine	1.097 (1.012–1.175)	1.076 (0.997–1.153)	0.522	0.586
Volumetric BMD (mg/cm³)				
Total density	359.3 (318.85–388.95)	350.25 (328.–389.4)	0.832	0.551
Trabecular density	178.3 (159.35–208.7)	174.55 (153.4–197.8)	0.461	0.795
Cortical density	499.65 (449.15–555.8)	496.2 (460–553.2)	0.675	0.506
Bone morphometry (mm²)				
Total area	283.4 (265.95–311.05)	294.3 (267.3–324.1)	0.189	0.345
Trabecular area	127.4 (119.55–141.35)	132.3 (120.1–145.5)	0.278	0.618
Cortical area	155.9 (146.4–171.25)	162.05 (147.2–178.6)	0.237	0.467

* After further adjustment for energy intake (kcal/day). (kcal/day) was considered a covariate.

3.3. Correlation Study

Dietary intake of cadmium was positively associated with the dietary intakes of vitamin D, magnesium and selenium, after further adjustment for energy intake (Table 7). Dietary lead intake was associated with dietary iron, calcium, zinc, magnesium and dietary selenium intakes, but not associated with vitamin D intake ($p = 0.162$) after adjusting for dietary energy. Similar to cadmium, mercury intake was associated with vitamin D intake and selenium intake but not with dietary magnesium intake ($p = 0.063$), after adjusting for calorie intake (Table 7).

Table 7. Partial correlation results (dietary heavy metals and nutrients).

Variable (UNITS)	Dietary Intake (µg/day)		
	Cadmium	Lead	Mercury
Dietary vitamin D (µg/day)	$r = 0.38; p < 0.001$	$r = 0.11; p = 0.162$	$r = 0.39; p < 0.001$
Dietary calcium (mg/day)	$r = -0.01; p = 0.819$	$r = 0.16; p = 0.045$	$r = -0.04; p = 0.545$
Dietary iron (mg/day)	$r = 0.12; p = 0.131$	$r = 0.33; p < 0.001$	$r = 0.09; p = 0.236$
Dietary zinc (mg/day)	$r = 0.09; p = 0.232$	$r = 0.41; p < 0.001$	$r = 0.07; p = 0.378$
Dietary iodine (µg/day)	$r = -0.06; p = 0.408$	$r = -0.00; p = 0.952$	$r = -0.07; p = 0.336$
Dietary magnesium (mg/day)	$r = 0.18; p = 0.022$	$r = 0.34; p < 0.001$	$r = 0.14; p = 0.063$
Dietary copper (mg/day)	$r = 0.14; p = 0.081$	$r = 0.218; p = 0.006$	$r = 0.11; p = 0.137$
Dietary selenium (µg/day)	$r = 0.28; p < 0.001$	$r = 0.28; p < 0.001$	$r = 0.28; p < 0.001$

No significant correlations were observed between the bone health parameters measured and dietary intakes of cadmium, lead and mercury in the studied sample of premenopausal women, after adjustment for energy intake (Table 8). Moreover, regarding the osteopenia/osteoporosis diagnosis, based on the T-score at either the hip or the lumbar spine, no significant correlations were observed (Table 8).

Table 8. Partial correlation results (dietary heavy metals and bone parameters).

Variable (Units)	Dietary Intake ($\mu\text{g}/\text{day}$)		
	Cadmium	Lead	Mercury
Quantitative bone ultrasound			
Ad-SoS (m/s)	$r = 0.02$ ($p = 0.72$)	$r = 0.06$ ($p = 0.45$)	$r = 0.02$ ($p = 0.74$)
Ultrasound bone profiler index (UBPI)	$r = -0.00$ ($p = 0.95$)	$r = -0.05$ ($p = 0.49$)	$r = -0.00$ ($p = 0.92$)
Bone transmission time (BTT) (μs)	$r = 0.10$ ($p = 0.18$)	$r = 0.07$ ($p = 0.38$)	$r = 0.10$ ($p = 0.19$)
Bone mineral density (g/cm^2)			
BMD Femoral neck	$r = -0.02$ ($p = 0.78$)	$r = -0.02$ ($p = 0.73$)	$r = -0.04$ ($p = 0.65$)
BMD Femoral trochanter	$r = 0.03$ ($p = 0.66$)	$r = -0.01$ ($p = 0.86$)	$r = 0.03$ ($p = 0.65$)
BMD Ward's triangle	$r = 0.01$ ($p = 0.85$)	$r = 0.01$ ($p = 0.86$)	$r = -0.00$ ($p = 0.98$)
BMD L2	$r = -0.00$ ($p = 0.95$)	$r = 0.05$ ($p = 0.51$)	$r = -0.01$ ($p = 0.83$)
BMD L3	$r = -0.01$ ($p = 0.81$)	$r = 0.08$ ($p = 0.30$)	$r = -0.03$ ($p = 0.63$)
BMD L4	$r = -0.01$ ($p = 0.89$)	$r = 0.02$ ($p = 0.78$)	$r = -0.02$ ($p = 0.72$)
BMD lumbar spine	$r = -0.01$ ($p = 0.89$)	$r = 0.06$ ($p = 0.46$)	$r = -0.03$ ($p = 0.75$)
Volumetric BMD (mg/cm^3)			
Total density	$r = 0.06$ ($p = 0.39$)	$r = 0.09$ ($p = 0.26$)	$r = 0.06$ ($p = 0.48$)
Trabecular density	$r = -0.02$ ($p = 0.73$)	$r = -0.00$ ($p = 0.99$)	$r = -0.04$ ($p = 0.58$)
Cortical density	$r = 0.08$ ($p = 0.33$)	$r = 0.10$ ($p = 0.21$)	$r = 0.07$ ($p = 0.38$)
Bone morphometry (mm^2)			
Total area	$r = 0.02$ ($p = 0.84$)	$r = -0.11$ ($p = 0.18$)	$r = 0.028$ ($p = 0.72$)
Trabecular area	$r = -0.02$ ($p = 0.76$)	$r = -0.12$ ($p = 0.14$)	$r = -0.01$ ($p = 0.85$)
Cortical area	$r = -0.02$ ($p = 0.82$)	$r = -0.12$ ($p = 0.12$)	$r = -0.00$ ($p = 0.94$)
Bone health (T-score)			
Spine T-score	$r = -0.04$ ($p = 0.96$)	$r = 0.051$ ($p = 0.526$)	$r = -0.19$ ($p = 0.81$)
Hip T-score	$r = -0.03$ ($p = 0.71$)	$r = -0.03$ ($p = 0.69$)	$r = -0.04$ ($p = 0.58$)

3.4. Dietary Heavy Metal Exposure and Major Food Sources in the Entire Sample

Finally, we assessed dietary exposure to the studied heavy metals and the primary food sources in the entire sample. We estimated that the median dietary cadmium exposure among the 158 women investigated was $25.29 \mu\text{g}/\text{day}$ (18.62–35.00) and $2.74 \mu\text{g}/\text{kg}$ body weight/week (b.w./w) (1.92–3.83). The dietary lead intake was $43.85 \mu\text{g}/\text{day}$ (35.09–51.45) and $4.82 \mu\text{g}/\text{kg}$ b.w./w (3.67–6.13). Dietary mercury intake was $9.55 \mu\text{g}/\text{day}$ (7.18–13.57) and $1.02 \mu\text{g}/\text{kg}$ b.w./w (0.71–1.48). The primary source of dietary cadmium intake was fish, which constituted up to 79% of the total exposure. The major source of dietary lead exposure was also fish, accounting for 88% of the total intake. Finally, the major source of dietary mercury exposure was cereals, constituting 53% of the total intake.

4. Discussion

The skeleton is a metabolically active organ that undergoes continuous remodeling throughout life. To investigate the influences of dietary cadmium, lead and mercury in premenopausal women, we analyzed the dietary intake of 158 healthy participants and evaluated their bone health by the three most widely used techniques to date, QUS, DXA and pQCT.

High cadmium exposure causes bone damage [41–43]. The effects of cadmium on bones have been regarded as late manifestations of cadmium toxicity and are supposed to be the consequence of cadmium nephrotoxicity, resulting in an altered vitamin D metabolism and a loss of re-absorptive capacity for nutrients [19]. Nevertheless, the joint Food and Agriculture Organization/World Health Organization (FAO/WHO) Expert Committee on Food Additives has determined that substantial confusion exists regarding the long-term effects of cadmium on the bone [19], and that the association between dietary cadmium exposure and bone health must be further analyzed, especially in women [15]. The adverse effects of low-level cadmium exposure on bones, likely exerted via elevated bone resorption, has seemed to be enhanced after menopause [15], and this was confirmed by our observations, as we did not detect any association between the evaluated parameters and dietary

cadmium exposure in our sample of premenopausal women. The current *in vivo* experiment has established that cadmium exposure induced low vBMD and had no impact on tissue BMD [18]; therefore, further attention should be paid to the influence of cadmium on bone microarchitecture.

Similarly, it has been suggested that lead accumulated in bones, due to exposure over time, can have detrimental effects on vBMD, by reducing cortical thickness and integral vBMD [44] in postmenopausal women; nonetheless, there is an absence of evidence for this hypothesis in premenopausal women. We did not detect a statistically significant difference in bone density among the groups of women, based on dietary exposure to cadmium or lead.

While not perfect, FFQs have been validated for estimating energy, macronutrients and micronutrients [45–48]. Energy adjustment is essential in FFQ-derived estimates because estimates of nutrients and contaminants are often highly correlated with energy intake [48,49], as they were in this study. Dietary cadmium exposure was markedly lower than the provisional tolerable weekly intake (PTWI) level settled by the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives (JECFA; 7 µg/kg b.w./w) [50] and reexamined by the European Food Safety Authority (EFSA) [51,52] that determined a renewed PTWI of 2.5 µg/kg b.w. (0.357 µg/kg b.w./day) [36]. In our sample of premenopausal women, approximately 49% of the sample exceeded the threshold for cadmium. JECFA has also established a PTWI for lead; however, the EFSA [53] determined that the prior PTWI (given as 25 µg/kg b.w.) was not useful, due to a lack of evidence of a threshold for lead-induced effects. We observed that our participants had figures well below the PTWI for lead. Our findings (4.82 µg/kg b.w./w) are consistent with those from previous studies in Spain [39,54,55] that assessed the dietary exposure of heavy metals. The results achieved, in regard to the average dietary exposure of lead in those studies, ranged from 4 µg/kg b.w./w to 56 µg/kg b.w./w between the zones considered. Finally, the EFSA have proposed a maximum dietary exposure of 4 µg/kg b.w./w [36] of mercury, and none of the studied women transgressed this limit.

The temporary trends of the dietary exposure of the studied heavy metals were estimated for Catalonia, Spain [36]. The dietary exposures for cadmium (2.6 µg/day), mercury (10 µg/day), and lead (8.4 µg/day) in this region were below the values observed in our sample. Regardless, our results are consistent with those from preceding investigations in Spain, indicating that dietary exposures of cadmium, lead and mercury in the Spanish diet are often within the recommendations [10,39,54,56–63]. One study estimated the dietary intake of the considered heavy metals [63] in our region and determined that our area revealed one of the lowest dietary exposures to cadmium and the highest dietary exposure of mercury in Spain; we admit that it is possible that the dietary patterns of our region have changed since then, and changes in the dietary exposures of cadmium, lead and mercury in our region might arise.

Primary dietary sources of cadmium in Spain are said to be cereals and fish [36], which was confirmed by our observations. Analogous results were observed for the dietary exposure of mercury—fish was the primary dietary source [36,64–68]. We observed a large contribution of cereals to total dietary lead exposure in two of the three considered heavy metals, together with fish and meat; this result supports previous investigations on the contribution of cereals to the dietary exposure of lead in Spain [69].

Our study has several limitations. A first limitation is the observational cross-sectional design itself, which did not allow for the testing of hypotheses focused on the effect of dietary intake of heavy metals in premenopausal women on bone health. The study did, however, generate a significant data set that can be examined for potential relationships between dietary intake of heavy metals and different parameters of bone health, which can be used to inform hypotheses for future research. A second limitation was that although statistical analyses for this study were undertaken, minimizing bias in the reported findings, and adjustment for energy intake was performed and no differences were observed in the primary determinants of bone density among the analyzed groups, we cannot exclude the possibility of potential confounding. Furthermore, we planned to have enough statistical power to detect at least a medium effect size between groups in the measured bone-related parameters (Cohen's

$d = 0.5$). With the final sample size, we were able to detect effect sizes up to Cohen's $d = 0.45$, which is higher than the values reported here. Therefore, our study was underpowered for detecting changes in bone health outcomes below the indicated threshold and as a result some of our findings may be prone to type 2 error. Finally, extrapolation of our intake results could be limited, due to regional variability in heavy metal levels in foodstuffs [48].

5. Conclusions

We did not detect any relation between FFQ-derived dietary exposure estimates of the studied heavy metals (cadmium, lead and mercury) and bone density—measured by QUS, DXA and pQCT—in our sample of healthy premenopausal Spanish women. Due to the complexity of the roles of dietary heavy metals exposure in bone health, there is a need for further large-scale epidemiological studies, including longitudinal follow-up of QUS, DXA and pQCT, in relation to dietary heavy metal exposure, in women with different BMD statuses (normal, osteopenic and osteoporotic), before a more definite conclusion can be drawn.

Acknowledgments: This work was supported partially by the Junta de Extremadura and the “Fondo Europeo de Desarrollo Regional” (Research Group Grants GR15144).

Author Contributions: Jesus M. Lavado-García and Maria L. Canal-Macias conceived and designed the experiments; Jesus M. Lavado-García, Luis M. Puerto-Parejo, Raul Roncero-Martín and Olga Leal-Hernández performed the measurements; Jose M. Moran, Ignacio J. Aliaga and Juan D. Pedrera-Zamorano analyzed the data; Jose M. Moran and Maria L. Canal-Macias wrote the paper.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest. The founding sponsors had no role in the design of the study; in the collection, analyses, or interpretation of data; in the writing of the manuscript, and in the decision to publish the results.

References

1. Kido, S. Secondary osteoporosis or secondary contributors to bone loss in fracture. Bone metabolism and heavy metals (cadmium and iron). *Clin. Calcium* **2013**, *23*, 1299–1306. [[PubMed](#)]
2. Lim, H.S.; Lee, H.H.; Kim, T.H.; Lee, B.R. Relationship between heavy metal exposure and bone mineral density in Korean adult. *J. Bone Metab.* **2016**, *23*, 223–231. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Chowdhury, S.; Mazumder, M.A.; Al-Attas, O.; Husain, T. Heavy metals in drinking water: Occurrences, implications, and future needs in developing countries. *Sci. Total Environ.* **2016**, *569–570*, 476–488. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Landsberger, S.; Wu, D. The impact of heavy metals from environmental tobacco smoke on indoor air quality as determined by Compton suppression neutron activation analysis. *Sci. Total Environ.* **1995**, *173–174*, 323–337. [[CrossRef](#)]
5. Bosch, A.C.; O'Neill, B.; Sigge, G.O.; Kerwath, S.E.; Hoffman, L.C. Heavy metals in marine fish meat and consumer health: A review. *J. Sci. Food Agric.* **2016**, *96*, 32–48. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Albering, H.J.; Van Leusen, S.M.; Moonen, E.J.; Hoogewerff, J.A.; Kleinjans, J.C. Human health risk assessment: A case study involving heavy metal soil contamination after the flooding of the river Meuse during the winter of 1993–1994. *Environ. Health Perspect.* **1999**, *107*, 37–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Schneider, G.; Krivna, V. Multi-element analysis of tobacco and smoke condensate by instrumental neutron activation analysis and atomic absorption spectrometry. *Int. J. Environ. Anal. Chem.* **1993**, *53*, 87–100. [[CrossRef](#)]
8. Yu, G.; Zheng, W.; Wang, W.; Dai, F.; Zhang, Z.; Yuan, Y.; Wang, Q. Health risk assessment of Chinese consumers to Cadmium via dietary intake. *J. Trace Element Med. Biol.* **2017**, *44*, 137–145. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Loutfy, N.; Fuerhacker, M.; Tundo, P.; Raccanelli, S.; El Dien, A.G.; Ahmed, M.T. Dietary intake of dioxins and dioxin-like PCBs, due to the consumption of dairy products, fish/seafood and meat from Ismailia city, Egypt. *Sci. Total Environ.* **2006**, *370*, 1–8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Marti-Cid, R.; Llobet, J.M.; Castell, V.; Domingo, J.L. Dietary intake of arsenic, cadmium, mercury, and lead by the population of Catalonia, Spain. *Biol. Trace Element Res.* **2008**, *125*, 120–132. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

11. Leblanc, J.C.; Malmauret, L.; Guerin, T.; Bordet, F.; Boursier, B.; Verger, P. Estimation of the dietary intake of pesticide residues, lead, cadmium, arsenic and radionuclides in France. *Food Addit. Contam.* **2000**, *17*, 925–932. [CrossRef] [PubMed]
12. The ATSDR. Substance Priority List. 2017. Available online: <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html> (accessed on 9 January 2017).
13. Brzówska, M.; Majewska, K.; Moniuszko-Jakoniuk, J. Mechanical properties of femoral diaphysis and femoral neck of female rats chronically exposed to various levels of cadmium. *Calcif. Tissue Int.* **2005**, *76*, 287–298. [CrossRef] [PubMed]
14. Staessen, J.A.; Roels, H.A.; Emelianov, D.; Kuznetsova, T.; Thijs, L.; Vangronsveld, J.; Fagard, R. Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures: Prospective population study. Public Health and Environmental Exposure to Cadmium (PheeCad) Study Group. *Lancet* **1999**, *353*, 1140–1144. [CrossRef]
15. Akesson, A.; Bjellerup, P.; Lundh, T.; Lidfeldt, J.; Nerbrand, C.; Samsioe, G.; Skerfving, S.; Vahter, M. Cadmium-induced effects on bone in a population-based study of women. *Environ. Health Perspect.* **2006**, *114*, 830–834. [CrossRef] [PubMed]
16. Jin, T.; Nordberg, G.; Ye, T.; Bo, M.; Wang, H.; Zhu, G.; Kong, Q.; Bernard, A. Osteoporosis and renal dysfunction in a general population exposed to cadmium in China. *Environ. Res.* **2004**, *96*, 353–359. [CrossRef] [PubMed]
17. Wang, H.; Zhu, G.; Shi, Y.; Weng, S.; Jin, T.; Kong, Q.; Nordberg, G.F. Influence of environmental cadmium exposure on forearm bone density. *J. Bone Miner. Res.* **2003**, *18*, 553–560. [CrossRef] [PubMed]
18. Chen, X.; Zhu, G.; Jin, T.; Qin, B.; Zhou, W.; Gu, S. Cadmium is more toxic on volume bone mineral density than tissue bone mineral density. *Biol. Trace Element Res.* **2011**, *144*, 380–387. [CrossRef] [PubMed]
19. Lv, Y.; Wang, P.; Huang, R.; Liang, X.; Wang, P.; Tan, J.; Chen, Z.; Dun, Z.; Wang, J.; Jiang, Q.; et al. Cadmium Exposure and Osteoporosis: A Population-Based Study and Benchmark Dose Estimation in Southern China. *J. Bone Miner. Res.* **2017**, *32*, 1990–2000. [CrossRef] [PubMed]
20. Schutte, R.; Nawrot, T.S.; Richart, T.; Thijs, L.; Vanderschueren, D.; Kuznetsova, T.; Van Hecke, E.; Roels, H.A.; Staessen, J.A. Bone resorption and environmental exposure to cadmium in women: A population study. *Environ. Health Perspect.* **2008**, *116*, 777–783. [CrossRef] [PubMed]
21. Honda, R.; Tsuritani, I.; Noborisaka, Y.; Suzuki, H.; Ishizaki, M.; Yamada, Y. Urinary cadmium excretion is correlated with calcaneal bone mass in Japanese women living in an urban area. *Environ. Res.* **2003**, *91*, 63–70. [CrossRef]
22. Zhu, G.; Wang, H.; Shi, Y.; Weng, S.; Jin, T.; Kong, Q.; Nordberg, G.F. Environmental cadmium exposure and forearm bone density. *Biometals* **2004**, *17*, 499–503. [CrossRef] [PubMed]
23. Kazantzis, G. Cadmium, osteoporosis and calcium metabolism. *Biometals* **2004**, *17*, 493–498. [CrossRef] [PubMed]
24. Dermience, M.; Lognay, G.; Mathieu, F.; Goyens, P. Effects of thirty elements on bone metabolism. *J. Trace Element Med. Biol.* **2015**, *32*, 86–106. [CrossRef] [PubMed]
25. Dowd, T.L.; Rosen, J.F.; Mints, L.; Gundberg, C.M. The effect of Pb²⁺ on the structure and hydroxyapatite binding properties of osteocalcin. *Biochim. Biophys. Acta* **2001**, *1535*, 153–163. [CrossRef]
26. Tucker, K.L. Assessment of usual dietary intake in population studies of gene-diet interaction. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* **2007**, *17*, 74–81. [CrossRef] [PubMed]
27. Zukowska, J.; Biziuk, M. Methodological evaluation of method for dietary heavy metal intake. *J. Food Sci.* **2008**, *73*, R21–R29. [CrossRef] [PubMed]
28. Lorentzon, M.; Cummings, S.R. Osteoporosis: The evolution of a diagnosis. *J. Intern. Med.* **2015**, *277*, 650–661. [CrossRef] [PubMed]
29. Pedrera-Zamorano, J.D.; Lavado-Garcia, J.M.; Roncero-Martin, R.; Calderon-Garcia, J.F.; Rodriguez-Dominguez, T.; Canal-Macias, M.L. Effect of beer drinking on ultrasound bone mass in women. *Nutrition* **2009**, *25*, 1057–1063. [CrossRef] [PubMed]
30. Rey-Sánchez, P.; Lavado-García, J.M.; Canal-Macías, M.L.; Gómez-Zubeldia, M.A.; Roncero-Martín, R.; Pedrera-Zamorano, J.D. Ultrasound bone mass in schizophrenic patients on antipsychotic therapy. *Hum. Psychopharmacol. Clin. Exp.* **2009**, *24*, 49–54. [CrossRef] [PubMed]

31. Calderon-Garcia, J.F.; Moran, J.M.; Roncero-Martin, R.; Rey-Sanchez, P.; Rodriguez-Velasco, F.J.; Pedrera-Zamorano, J.D. Dietary habits, nutrients and bone mass in Spanish premenopausal women: The contribution of fish to better bone health. *Nutrients* **2012**, *5*, 10–22. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Zamorano, J.D.P.; Macías, M.L.C.; García, J.M.L.; Fernández, C.C.; Domínguez, S.B.; Lenza, H.R. Reference curve of bone ultrasound measurements in proximal phalanges in normal Spanish women. *J. Clin. Densitom.* **2003**, *6*, 373–380. [[CrossRef](#)]
33. Wuster, C.; de Terlizzi, F.; Becker, S.; Cadossi, M.; Cadossi, R.; Muller, R. Usefulness of quantitative ultrasound in evaluating structural and mechanical properties of bone: Comparison of ultrasound, dual-energy X-ray absorptiometry, micro-computed tomography, and mechanical testing of human phalanges in vitro. *Technol. Health Care* **2005**, *13*, 497–510. [[PubMed](#)]
34. Engelke, K.; Adams, J.E.; Armbrrecht, G.; Augat, P.; Bogado, C.E.; Bouxsein, M.L.; Felsenberg, D.; Ito, M.; Prevrhal, S.; Hans, D.B.; et al. Clinical use of quantitative computed tomography and peripheral quantitative computed tomography in the management of osteoporosis in adults: The 2007 ISCD Official Positions. *J. Clin. Densitom.* **2008**, *11*, 123–162. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. *Guidelines for the Study of Dietary Intakes of Chemical Contaminants*; WHO Offset Publish: Geneva, Switzerland, 1985; Volume 87, pp. 1–102.
36. Perello, G.; Llobet, J.M.; Gomez-Catalan, J.; Castell, V.; Centrich, F.; Nadal, M.; Domingo, J.L. Human health risks derived from dietary exposure to toxic metals in Catalonia, Spain: Temporal trend. *Biol. Trace Element Res.* **2014**, *162*, 26–37. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Moran, J.M.; Lopez-Arza, L.G.; Lavado-Garcia, J.M.; Pedrera-Canal, M.; Rey-Sanchez, P.; Rodriguez-Velasco, F.J.; Fernandez, P.; Pedrera-Zamorano, J.D. Hormonal relationships to bone mass in elderly Spanish men as influenced by dietary calcium and vitamin D. *Nutrients* **2013**, *5*, 4924–4937. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Lavado-Garcia, J.M.; Calderon-Garcia, J.F.; Moran, J.M.; Canal-Macias, M.L.; Rodriguez-Dominguez, T.; Pedrera-Zamorano, J.D. Bone mass of Spanish school children: Impact of anthropometric, dietary and body composition factors. *J. Bone Miner. Metab.* **2012**, *30*, 193–201. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Puerto-Parejo, L.M.; Aliaga, I.; Canal-Macias, M.L.; Leal-Hernandez, O.; Roncero-Martin, R.; Rico-Martin, S.; Moran, J.M. Evaluation of the Dietary Intake of Cadmium, Lead and Mercury and Its Relationship with Bone Health among Postmenopausal Women in Spain. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **2017**, *14*, 564. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Moreiras, O. *Tablas de Composición de Alimentos: Guía de Prácticas*; Pirámide: Madrid, Spain, 2013; p. 455.
41. Thomas, L.D.; Michaelsson, K.; Julin, B.; Wolk, A.; Akesson, A. Dietary cadmium exposure and fracture incidence among men: A population-based prospective cohort study. *J. Bone Miner. Res.* **2011**, *26*, 1601–1608. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Engstrom, A.; Michaelsson, K.; Vahter, M.; Julin, B.; Wolk, A.; Akesson, A. Associations between dietary cadmium exposure and bone mineral density and risk of osteoporosis and fractures among women. *Bone* **2012**, *50*, 1372–1378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Wallin, M.; Barregard, L.; Sallsten, G.; Lundh, T.; Karlsson, M.K.; Lorentzon, M.; Ohlsson, C.; Mellstrom, D. Low-level cadmium exposure is associated with decreased bone mineral density and increased risk of incident fractures in elderly men: The MrOS Sweden study. *J. Bone Miner. Res.* **2016**, *31*, 732–741. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Wong, A.K.; Beattie, K.A.; Bhargava, A.; Cheung, M.; Webber, C.E.; Chettle, D.R.; Papaioannou, A.; Adachi, J.D.; Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CaMos) Research Group. Bone lead (Pb) content at the tibia is associated with thinner distal tibia cortices and lower volumetric bone density in postmenopausal women. *Bone* **2015**, *79*, 58–64. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Patterson, R.E.; Kristal, A.R.; Tinker, L.F.; Carter, R.A.; Bolton, M.P.; Agurs-Collins, T. Measurement characteristics of the Women’s Health Initiative food frequency questionnaire. *Ann. Epidemiol.* **1999**, *9*, 178–187. [[CrossRef](#)]
46. Willett, W.C.; Sampson, L.; Stampfer, M.J.; Rosner, B.; Bain, C.; Witschi, J.; Hennekens, C.H.; Speizer, F.E. Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *Am. J. Epidemiol.* **1985**, *122*, 51–65. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

47. Itoh, H.; Iwasaki, M.; Sawada, N.; Takachi, R.; Kasuga, Y.; Yokoyama, S.; Onuma, H.; Nishimura, H.; Kusama, R.; Yokoyama, K.; et al. Dietary cadmium intake and breast cancer risk in Japanese women: A case-control study. *Int. J. Hyg. Environ. Health* **2014**, *217*, 70–77. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Vacchi-Suzzi, C.; Eriksen, K.T.; Levine, K.; McElroy, J.; Tjonneland, A.; Raaschou-Nielsen, O.; Harrington, J.M.; Meliker, J.R. Dietary intake estimates and urinary cadmium levels in danish postmenopausal Women. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0138784. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Willett, W.C.; Howe, G.R.; Kushi, L.H. Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *Am. J. Clin. Nutr.* **1997**, *65*, 1220S–1228S. [[PubMed](#)]
50. JEFCA. *Evaluation of Certain Food Additives and Contaminants, Technical Report Series 960*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2003.
51. European Food Safety Authority. Cadmium dietary exposure in the European population. *EFSA J.* **2012**, *10*, 2831.
52. Panel, E.C. Scientific Opinion on cadmium in food. *EFSA J.* **2009**, *7*, 980.
53. EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). Scientific Opinion on Lead in Food. *EFSA J.* **2010**, *8*, 1570.
54. Marin, S.; Pardo, O.; Baguena, R.; Font, G.; Yusa, V. Dietary exposure to trace elements and health risk assessment in the region of Valencia, Spain: A total diet study. *Food Addit. Contam. Part A* **2017**, *34*, 228–240. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Cuadrado, C.; Kumpulainen, J.; Moreiras, O. Contaminants and nutrients in total diets in Spain. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1995**, *49*, 767–778. [[PubMed](#)]
56. Bocio, A.; Nadal, M.; Domingo, J. Human exposure to metals through the diet in Tarragona, Spain: Temporal trend. *Biol. Trace Element Res.* **2005**, *104*, 193–201. [[CrossRef](#)]
57. Lopezartiguez, M.; Soria, M.; Camean, A.; Repetto, M. Cadmium in the Diet of the Local-Population of Seville (Spain). *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1993**, *50*, 417–424.
58. Martorell, I.; Perello, G.; Marti-Cid, R.; Llobet, J.M.; Castell, V.; Domingo, J.L. Human exposure to arsenic, cadmium, mercury, and lead from foods in Catalonia, Spain: Temporal trend. *Biol. Trace Element Res.* **2011**, *142*, 309–322. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Rubio, C.; Hardisson, A.; Reguera, J.; Revert, C.; Lafuente, M.; Gonzalez-Iglesias, T. Cadmium dietary intake in the Canary Islands, Spain. *Environ. Res.* **2006**, *100*, 123–129. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Rubio, C.; Gutierrez, A.; Burgos, A.; Hardisson, A. Total dietary intake of mercury in the Canary Islands, Spain. *Food Addit. Contam. Part A* **2008**, *25*, 946–952. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Urieta, I.; Jalon, M.; Eguilero, I. Food surveillance in the Basque Country (Spain). II. Estimation of the dietary intake of organochlorine pesticides, heavy metals, arsenic, aflatoxin M1, iron and zinc through the Total Diet Study, 1990/91. *Food Addit. Contam.* **1996**, *13*, 29–52. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. Schuhmacher, M.; Bosque, M.A.; Domingo, J.L.; Corbella, J. Dietary-intake of lead and cadmium from foods in Tarragona Province, Spain. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* **1991**, *46*, 320–328. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Moreiras, O.; Cuadrado, C. Theoretical study of the intake of trace elements (nutrients and contaminants) via total diet in some geographical areas of Spain. *Biol. Trace Element Res.* **1992**, *32*, 93–103. [[CrossRef](#)]
64. Llull, R.M.; Gari, M.; Canals, M.; Rey-Maqueira, T.; Grimalt, J.O. Mercury concentrations in lean fish from the Western Mediterranean Sea: Dietary exposure and risk assessment in the population of the Balearic Islands. *Environ. Res.* **2017**, *158*, 16–23. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Calatayud, M.; Devesa, V.; Virseda, J.R.; Barbera, R.; Montoro, R.; Velez, D. Mercury and selenium in fish and shellfish: Occurrence, bioaccessibility and uptake by Caco-2 cells. *Food Chem. Toxicol.* **2012**, *50*, 2696–2702. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Gari, M.; Grimalt, J.O.; Torrent, M.; Sunyer, J. Influence of socio-demographic and diet determinants on the levels of mercury in preschool children from a Mediterranean island. *Environ. Pollut.* **2013**, *182*, 291–298. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Cano-Sancho, G.; Perello, G.; Maulvault, A.L.; Marques, A.; Nadal, M.; Domingo, J.L. Oral bioaccessibility of arsenic, mercury and methylmercury in marine species commercialized in Catalonia (Spain) and health risks for the consumers. *Food Chem. Toxicol.* **2015**, *86*, 34–40. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

68. Obeid, P.J.; Fares, S.A.; Farhat, G.N.; El-Khoury, B.; Nassif, R.M.; El-Nakat, J.; Dhaini, H.R. Mercury health risk assessment among a young adult Lebanese population. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* **2017**, *24*, 9370–9378. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Cuadrado, C.; Kumpulainen, J.; Carbajal, A.; Moreiras, O. Cereals contribution to the total dietary intake of heavy metals in Madrid, Spain. *J. Food Compos. Anal.* **2000**, *13*, 495–503. [[CrossRef](#)]



© 2017 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

CAPÍTULO V.

OTRAS CONTRIBUCIONES DERIVADAS DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS DOCTORAL

CAPÍTULO V. OTRAS CONTRIBUCIONES DERIVADAS DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS DOCTORAL

V. 1. Poster: XXI Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (Gran Canaria 19-21 octubre de 2016).

Título: “Exposición dietética a metales pesados y salud ósea en mujeres premenopausicas de Extremadura”

V. 1. 1. Portada de la Revista donde fue publicado.



V. 1. 2. Página donde fue publicado (nº 16)

16. Exposición dietética a metales pesados y salud ósea en mujeres premenopáusicas de Extremadura

Roncero Martín R, Rico S, Puerto Parejo LM, Vera V, Lavado García JM, Rodríguez Domínguez T, Calderón García J
1 Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas. Departamento de Enfermería. Universidad de Extremadura. Cáceres

Los metales pesados han sido propuestos como factores de riesgo para la salud ósea. La dieta y ciertos hábitos tóxicos como el tabaco se presentan como las fuentes principales de estos. Existen estudios que han establecido la relación entre la exposición a ciertos metales pesados y el riesgo de desarrollo de osteoporosis o fracturas en la población general desde el punto de vista epidemiológico. Sin embargo, la evidencia es menor cuando se trata de trabajos que hayan estudiado como la exposición dietética a los metales pesados afecta a la densidad mineral ósea. En el presente estudio se han analizado datos procedentes de una cohorte de 151 mujeres premenopáusicas sanas (35±10 años) a las que se les realizó un cuestionario dietético de 7 días estimando posteriormente la exposición vía dieta a cadmio, plomo y mercurio. A dichas mujeres se les realizó una determinación de la densidad mineral

ósea (DMO) mediante DXA y la determinación de la densidad mineral ósea volumétrica (total, cortical y trabecular) mediante pQCT. Los valores medios de ingesta de metales pesados se encontraron por debajo de la ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) para cada uno de ellos (3,15±1,48 µg/kg peso corporal vs. 7 µg/kg peso corporal para el cadmio; 1,21±0,60 µg/kg peso corporal vs. 4 µg/kg peso corporal para el mercurio y 4,97 µg/kg peso corporal vs. 25 µg/kg peso corporal para el plomo). Tras ajustar por la edad, el peso corporal y la ingesta dietética de calcio de las participantes en el estudio no se observaron correlaciones significativas entre la exposición diaria a los metales pesados estudiados y la DMO a nivel lumbar o cadera (P>0,05 en todos los casos). Tampoco se observaron correlaciones significativas con la DMO volumétrica (P>0,05 en todos los casos). Las participantes fueron clasificadas en función de la exposición dietética a los metales pesados estudiados en base al tercil, no evidenciándose igualmente diferencias estadísticamente significativas en los parámetros óseos estudiados (P>0,05 en todos los casos). La exposición dietética a los metales pesados estudiados (cadmio, plomo y mercurio) no se asocia con una peor salud ósea en mujeres premenopáusicas sanas de Extremadura.

17. Respuesta de células monocíticas de sangre periférica a los factores secretados por los osteocitos en condiciones estáticas o de carga mecánica

Aedo-Martín D², Maycas M³, Ardura JA², Órdas A², Buendía F, Forriol F, Gortazar A²
1 Hospital Universitario Central de la Defensa Gómez-Ulla. Madrid; 2 Instituto de Medicina Molecular Aplicada (IMMA). Facultad de Medicina. Universidad San Pablo CEU. Boadilla del Monte. Madrid; 3 Instituto de Investigación Sanitaria. Fundación Jiménez Díaz. Universidad Autónoma de Madrid (UAM)

La osteoporosis es una enfermedad sistémica del esqueleto caracterizada por una baja masa ósea y por un deterioro de su microarquitectura, aumentando la fragilidad ósea. El equilibrio en el remodelado óseo normal se ve alterado a favor de su resorción por medio de los osteoclastos. Los precursores osteoclasticos se originan a partir de la estirpe monocito/macrófago y se encuentran en la médula ósea y circulando por el torrente sanguíneo, viendo modificada su proporción en función de diversos estados fisiopatológicos. Los osteocitos producen factores con capacidad para modular la función de los osteoclastos. En este trabajo nos planteamos evaluar la respuesta de células monocíticas de sangre periférica de pacientes con fractura osteoporótica y no osteoporótica a los factores secretados por los osteocitos en condiciones estáticas o de estimulación mecánica. Se reclutaron pacientes no osteoporóticos mayores de 18 años con fractura traumática de

huesos largos y pacientes osteoporóticos con fractura de cadera de los que se obtuvieron 12 ml de sangre periférica. Quedaron excluidos del estudio los pacientes que presentaban un estado de osteoporosis secundaria o estuviesen en tratamiento para esta patología. A partir de las muestras de sangre periférica obtuvimos la población de células mononucleares y bajo la presencia de los diferentes medios condicionados de osteocitos se evaluó la capacidad migratoria de los monocitos. Como control se utilizaron células mononucleares de donantes sanos obtenidas a partir de enriquecidos de leucocitos del Centro de Transfusión de Sangre de Madrid. Los osteocitos no estimulados mecánicamente favorecieron la migración y la diferenciación osteoclastica de las células monocíticas de donantes sanos, mientras que los osteocitos estimulados mecánicamente inhibieron su migración, y favorecieron la formación de osteoclastos de menor tamaño y número de núcleos. Las células de pacientes con fractura fueron capaces de responder a los medios condicionados de los osteocitos modificando su capacidad migratoria. Nuestros resultados indican que las células monocíticas humanas responden a los medios condicionados de la línea celular de osteocitos MLO-Y4, modificando su migración y su diferenciación. Este modelo experimental pretende favorecer la identificación de poblaciones celulares con una capacidad de respuesta a factores óseos alterada.

18. Datos de referencia para medidas del hueso cortical y trabecular mediante la tecnología 3D-DXA

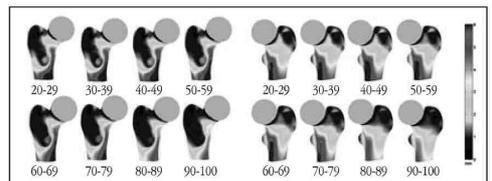
Fonollà R¹, Nogués X², Malouf J², Romera J¹, Humbert L¹
1 Galgo Medical. Barcelona; 2 Departamento de Medicina Interna. Parc de Salut Mar. Universitat Autònoma de Barcelona. IMIM (Hospital del Mar Research Institute). Red Temática de Investigación Cooperativa en Envejecimiento y Fragilidad (RETICEF). Instituto de Salud Carlos III FEDER. Barcelona; 3 Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona

Introducción: La tecnología 3D-DXA muestra un futuro hacia el diagnóstico de la osteoporosis y la prevención de fractura ósea. El diagnóstico a través de los parámetros volumétricos no se puede realizar sin una base de datos de referencia.

Objetivo: Crear una base de datos de referencia para la tecnología 3D-DXA a partir de una cohorte de mujeres sanas y analizar la evolución de contenido trabecular y cortical al largo de los años.

Material y métodos: Se recolectaron imágenes DXA (Hologic Discovery W y QDR SL 4500) para un total de 571 mujeres sanas entre 20 y 100 años, que fueron divididas en ocho décadas. Se obtuvieron reconstrucciones 3D de la geometría y densidad ósea del fémur proximal mediante la tecnología 3D-DXA (Galgo Medical). El contenido óseo (BMC) y la densidad ósea volumétrica (vBMD) fueron analizadas en el hueso cortical, trabecular e integral. Además, se calculó el grosor cortical medio (MCT). Se calcularon valores promedios y desviaciones estándares para cada década, con el objetivo de construir las curvas de referencia para cada uno de los parámetros 3D-DXA.

Resultados: Se observó un aumento de la vBMD hasta los 35 años para el hueso trabecular con un pico de densidad ósea de 0,158±0,04 g/cm³. Se obtuvo un pico a los 45 años para el hueso cortical con un valor de densidad ósea de 1,052±0,018 g/cm³. Una disminución para ambas regiones se obtuvo para las décadas posteriores con un mínimo de 0,045±0,019 g/cm³ en el trabecular y 0,983±0,03 g/cm³ en el cortical en la década de los 90-100 años. Para el MCT se observó un pico a los 45 años con un valor de 1,90±0,20 mm, posteriormente hubo un decaimiento gradual del grosor cortical hasta alcanzar un mínimo de 1,34±0,21 mm (Figura 1).



Conclusión: Se generaron datos de referencia para parámetros característicos del hueso cortical y trabecular usando la tecnología 3D-DXA. Estos datos de referencia se podrían usar en la rutina clínica con la tecnología 3D-DXA para proporcionar una evaluación del estado del hueso trabecular y cortical.

V. 1. 3. Póster.



Exposición dietética a metales pesados y salud ósea en mujeres premenopausicas de Extremadura

Raúl Roncero Martín¹; Sergio Rico¹; Luis M. Puerto Parejo¹; Vicente Vera¹; Jesús M. Lavado García¹; Trinidad Rodríguez Domínguez¹; Julian Calderón García¹.

¹ Universidad de Extremadura. Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas. Departamento de Enfermería. Cáceres.



Introducción

Los metales pesados han sido propuestos como factores de riesgo para la salud ósea. La dieta y ciertos hábitos tóxicos como el tabaco se presentan como las fuentes principales de estos.

Existen estudios que han establecido la relación entre la exposición a ciertos metales pesados y el riesgo de desarrollo de osteoporosis o fracturas en la población general desde el punto de vista epidemiológico. Sin embargo, la evidencia es menor cuando se trata de trabajos que hayan estudiado como la exposición dietética a los metales pesados afecta a la DMO.

Materiales y Métodos

En el presente estudio se han analizado datos procedentes de una muestra de 151 mujeres premenopausicas sanas (35±10 años) a las que se les realizó un cuestionario dietético de 7 días estimando posteriormente la exposición vía dieta a cadmio, plomo y mercurio.

A dichas mujeres se les realizó una determinación de la densidad mineral ósea (DMO) en columna lumbar y cadera mediante DXA y la determinación de la densidad mineral ósea volumétrica (total, cortical y trabecular) mediante pQCT.

Objetivo

Valorar la posible relación entre la exposición dietética a metales pesados (cadmio, mercurio y plomo) y la densidad mineral ósea (área y volumétrica) en mujeres premenopausicas sanas de Extremadura.

Resultados

Los valores medios de ingesta de metales pesados se encontraron por debajo de la ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) para cada uno de ellos (3.15±1.48 µg/kg peso corporal vs 7 µg/kg peso corporal para el cadmio; 1.21±0.60 µg/kg peso corporal vs 4 µg/kg peso corporal para el mercurio y 4.97 µg/kg peso corporal vs 25 µg/kg peso corporal para el plomo). La ingesta diaria de metales pesados en las participantes en el estudio se muestran en la figura 1.

Tras ajustar por la edad, el peso corporal y la ingesta dietética de calcio de las participantes en el estudio no se observaron correlaciones significativas entre la exposición diaria a los metales pesados estudiados y la DMO (P>0.05 en todos los casos).

Tampoco se observaron correlaciones significativas con la DMO volumétrica (P>0.05 en todos los casos). Los valores antropométricos, dietéticos (ingesta de calcio y vitamina D) y los de densidad mineral ósea volumétrica (total, trabecular y cortical) en función del tercil de ingesta de cadmio, plomo y mercurio se muestran en las tablas 1, 2 y 3 respectivamente.

Las participantes fueron clasificadas en función de la exposición dietética a los metales pesados estudiados en base al tercil, no evidenciándose igualmente diferencias estadísticamente significativas en los parámetros óseos estudiados (P>0.05 en todos los casos).

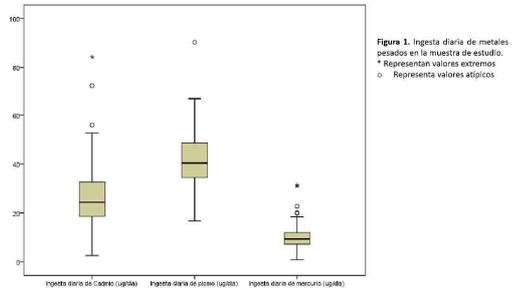


Figura 1. Ingesta diaria de metales pesados en la muestra de estudio. * Representan valores extremos. o Representa valores atípicos.

Tabla 2. Datos antropométricos, de ingesta y de densidad ósea volumétrica en función del tercil de ingesta de cadmio.

	Tercil de ingesta de cadmio (µg/kg peso corporal)					
	T1		T2		T3	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Edad (años)	34.86	9.84	33.94	10.67	36.02	9.17
Peso (kg)	57.30	5.01	59.09	5.48	57.60	4.70
Ca (mg/día)	842.06	353.00	872.06	315.00	926.00	329.00
Vitamina D (µg/día)	5.19	4.38	5.77	4.49	7.90	6.26
Densidad total (mg/cm ³)	327.255	38.936	335.829	40.460	355.390	32.631
Densidad trabecular (mg/cm ³)	171.891	35.107	178.086	26.493	172.920	24.722
Densidad cortical (mg/cm ³)	454.109	53.089	490.914	54.893	504.220	51.114

Tabla 1. Datos antropométricos, de ingesta y de densidad ósea volumétrica en función del tercil de ingesta de plomo.

	Tercil de ingesta de plomo (µg/kg peso corporal)					
	T1		T2		T3	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Edad (años)	34.32	9.47	33.06	10.09	37.77	9.84
Peso (kg)	57.82	5.68	57.75	5.02	58.50	4.59
Ca (mg/día)	771.00	335.00	890.00	326.00	985.00	306.00
Vitamina D (µg/día)	5.26	4.54	6.57	4.46	7.10	6.50
Densidad total (mg/cm ³)	337.467	53.315	339.475	33.560	340.600	36.817
Densidad trabecular (mg/cm ³)	164.100	29.911	184.217	22.761	167.140	32.883
Densidad cortical (mg/cm ³)	479.417	74.883	481.308	51.890	482.160	54.113

Tabla 3. Datos antropométricos, de ingesta y de densidad ósea volumétrica en función del tercil de ingesta de mercurio.

	Tercil de ingesta de mercurio (ug/kg peso corporal)					
	T1		T2		T3	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Edad (años)	34.68	10.25	34.72	10.19	35.41	9.38
Peso (kg)	57.66	4.31	59.09	5.71	57.28	5.10
Ca (mg/día)	836.00	343.00	862.00	350.00	942.00	299.06
Vitamina D (ug/día)	4.66	3.62	6.10	4.57	8.11	6.52
Densidad total (mg/cm ³)	334.210	45.337	326.063	30.487	355.390	32.631
Densidad trabecular (mg/cm ³)	172.640	36.589	176.375	25.606	172.920	24.722
Densidad cortical (mg/cm ³)	466.080	62.875	471.350	48.338	504.220	51.114

Conclusión

La exposición dietética a los metales pesados estudiados (cadmio, plomo y mercurio) no se asocia con una peor salud ósea en mujeres premenopausicas sanas de Extremadura.

Contacto

Juan Diego Pedrera-Zamorano
 Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas.
 Email: jpedrera@unex.es
 Website: www.giemo.es
 Telefono: +34 927 257450

Código del poster: 16
Financiación: GR15144



V. 2. Poster: XXI Congreso de la Sociedad Española de Investigación Ósea y del Metabolismo Mineral (Gran Canaria 19-21 octubre de 2016).

Título: “Densidad mineral ósea y exposición dietética a metales pesados (cadmio, mercurio y plomo) en mujeres postmenopáusicas sanas de Extremadura”

V. 2. 1. Portada de la Revista donde fue publicado.



V. 2. 2. Página donde fue publicado (nº 3)



COMUNICACIONES PÓSTER / Rev Osteoporos Metab Miner 2016 8;3:14-51
XXI CONGRESO SEIOMM - GRAN CANARIA 19-21 DE OCTUBRE 2016

PÓSTERS:

SESIÓN 4

1. Adecuación de la suplementación farmacológica de calcio en relación a la ingesta dietética y tratamiento antiosteoporótico

Aívar Blanch M¹, Carrera Doría MD², Escamilla Fresnadillo JA³, Mayorgas Mayorga MC¹, Fernández Garzón MM¹, Bayo Pérez MC¹, Angulo Ibáñez MA¹, García Córdoba C¹, Silva Martínez R¹, Martínez Laguna D³

1 Centro de Atención Primaria Sants. Barcelona; 2 Área Básica de Salud San Ildefonso. Cornellà de Llobregat. Barcelona; 3 Centro de Atención Primaria Sant Martí. Barcelona

Introducción: Las recomendaciones de calcio en osteoporosis son de 1.200 mg/día preferiblemente procedente de la dieta. La suplementación farmacológica debería indicarse según el riesgo de fractura y el tratamiento antiosteoporótico prescrito.

Objetivos: Comprobar la adecuación de la prescripción de suplementos de calcio según la ingesta dietética de estos. Describir la ingesta de calcio tanto farmacológica como dietética y el tratamiento para osteoporosis prescrito en las pacientes de un centro de salud.

Material y métodos: Estudio observacional, transversal y descriptivo realizado en un centro de Atención Primaria de Salud de ámbito urbano. Se seleccionaron mujeres ≥ 65 años con diagnóstico clínico y/o densitométrico de osteoporosis. Se excluyeron aquellas con antecedentes de demencia, trastorno de la paratormona, gran dependencia o atención domiciliaria. Mediante historia clínica y entrevista se recogió información sobre el uso de fármacos antiosteoporóticos y suplementos y se realizó encuesta dietética para valorar aportes de calcio. Se ha realizado análisis bivariante, modelo de regresión lineal múltiple y modelo de regresión logística multivariante, para todos se consideró como estadísticamente significativa una $p < 0,05$.

Resultados: La media de ingesta dietética de calcio fue de 1044,74 mg/día (DE: 323,91 mg/día). La ingesta farmacológica media prescrita de calcio fue de 443,10 mg/día (DE: 438,06 mg/día). Considerando el cumplimiento real del calcio prescrito, la media fue de 386,06 mg/día (DE: 412,03 mg/día). La media de ingesta de calcio total fue de 1430,801 mg/día (DE: 540,12 mg/día). La relación entre suplementación de calcio e ingesta dietética queda reflejada en la tabla 1. La mayoría de pacientes (66%) no tenían prescrito ningún fármaco antiosteoporótico. El 27,7% tenía prescrito bisfosfonatos y el 6,3% otros. De las pacientes que tenían prescrito tratamiento antiosteoporótico, el 87,5% tenían prescritos suplementos farmacológicos de calcio y/o vitamina D.

Consumo de calcio en dieta	N	Suplementos		Sig.
		Si	No	
<1.200 mg/día	204	114 (55,9%)	90 (44,1%)	0,0051
1.200-1.500 mg/día	53	33 (62,3%)	20 (44,1%)	
>1.500 mg/día	25	15 (60%)	10 (40%)	

Conclusiones: Más de la mitad de las pacientes reciben suplementos a pesar de tomar ≥ 1200 mg/día de calcio y casi la mitad de pacientes que no alcanzan la ingesta mínima no toman suplementos. La mayoría de las pacientes con tratamiento antiosteoporótico, llevan asociados suplementos de calcio y/o vitamina D. Sin embargo la adherencia al tratamiento es del 40%. Es necesario adecuar la prescripción de suplementos a la ingesta dietética de calcio.

2. Determinantes del tratamiento previo para la prevención de fracturas en pacientes con fractura de cadera

Juárez P, Zacarías A, Morales I, Montero A, Coscujuela A, Gómez Vaquero C
Servicio de Reumatología, Medicina Interna y Traumatología. Hospital Universitari de Bellvitge. L'Hospitalet. Barcelona

Objetivos: Analizar los factores que determinan que los pacientes hayan recibido tratamiento antirresortivo u osteoformador (TAO) previo para prevenir fracturas en una población de pacientes con fractura de cadera.

Material y métodos: En todos los pacientes ingresados por fractura de cadera en un hospital universitario, desde el 1 de marzo de 2009 al 28 de febrero de 2014, se realiza una visita protocolizada en la que se recaban de forma prospectiva datos demográficos, antecedentes patológicos, tratamientos previos, las características de la fractura de cadera, la situación funcional y cognitiva del paciente anterior a la fractura y la información necesaria para la valoración del riesgo de fractura. Durante el ingreso, se realiza una analítica general que incluye un estudio del metabolismo fosfocálcico.

Resultados: Se incluyeron 1000 pacientes (70% mujeres, edad media: 83 ± 9 años). Ciento cincuenta y dos pacientes (17%) refirieron haber sido diagnosticados de osteoporosis. Trescientos cinco pacientes (33%) habían presentado una fractura osteoporótica. A

126 (14%) se había practicado una densitometría. Doscientos veintitrés pacientes (24%) habían recibido tratamiento con suplementos de calcio y vitamina D. Ciento cincuenta y dos pacientes (17%) habían recibido TAO en algún momento; 112 (14%) tomaban TAO al ingreso (bisfosfonatos 2%, ranelato de estroncio 2%, calcitonina 0,6%, raloxifeno 0,2%, denosumab 0,1%). El 23% de los pacientes con fractura previa recibía TAO a diferencia del 10% de los no fracturados. La proporción de pacientes tratados era mayor en fracturas vertebrales (50%) que en fractura de cadera (15%), antebrazo (20%) y húmero (13%). Las mujeres recibían TAO con más frecuencia (18%) que los hombres (4%). La administración de TAO no se relacionó con la edad, estado civil u otros factores demográficos, antecedentes patológicos ni estatus cognitivo o funcional previo. Hubo menos fracturas de cadera desplazadas en pacientes que habían recibido TAO (14 vs. 27%).

Conclusiones: En una población de alto riesgo de fractura, la frecuencia de tratamiento para la prevención de fracturas es muy baja independientemente de la edad y del estatus cognitivo y funcional previo. La prevención secundaria de la fractura por fragilidad se realiza de forma muy deficiente, aunque algo mejor en fracturas vertebrales. Haber realizado un tratamiento antirresortivo u osteoformador se asocia a una menor incidencia de fracturas de cadera graves.

3. Densidad mineral ósea y exposición dietética a metales pesados (cadmio, mercurio y plomo) en mujeres postmenopáusicas sanas de Extremadura

Morán JM, Leal Muro A, Costa Fernández C, Puerto Parejo LM, Pedrera Canal M, Rey Sánchez P, Pedrera Zamorano JD
Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas. Departamento de Enfermería. Universidad de Extremadura. Cáceres

Los metales pesados han sido propuestos como factores de riesgo para la salud ósea. La dieta y ciertos hábitos tóxicos como el tabaco se presentan como las fuentes principales de estos. Existen estudios que han establecido la relación entre la exposición a ciertos metales pesados y el riesgo de desarrollo de osteoporosis o fracturas en la población general desde el punto de vista epidemiológico. Sin embargo, la evidencia es menor cuando se trata de trabajos que hayan estudiado como la exposición dietética a los metales pesados afecta a la DMO.

En el presente estudio se han analizado datos procedentes de una cohorte de 219 mujeres postmenopáusicas sanas (59 ± 6 años) a las que se les realizó un cuestionario dietético de 7 días estimando posteriormente la exposición vía dieta a cadmio, plomo y mercurio. A dichas mujeres se les realizó una determinación de la DMO mediante DXA a nivel lumbar y de la cadera. Los valores medios de ingesta de metales pesados se encontraron por debajo de la ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) para

cada uno de ellos ($3,44 \pm 1,92$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal vs. 7 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal para el cadmio; $1,32 \pm 0,77$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal vs. 4 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal para el mercurio y $5,13 \pm 1,85$ $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal vs. 25 $\mu\text{g}/\text{kg}$ peso corporal para el plomo).

No se observaron diferencias en la densidad mineral ósea a nivel de la cadera (cuello femoral, trocánter y triángulo de Ward's) en función del tercil de ingesta dietética de los metales pesados estudiados ($P > 0,05$ en todos los casos). A nivel de la columna lumbar en L2 se observó una diferencia estadísticamente significativa en la DMO entre el T1 y el T3 ($P = 0,036$) ($1,053$ gr/cm^2 vs. $1,034$ gr/cm^2) en función del tercil de exposición dietética diaria a plomo.

Después de ajustar el modelo por el peso, la edad, la ingesta de calcio y vitamina D la diferencia permaneció siendo estadísticamente significativa ($P = 0,014$). En modelos de regresión lineal múltiple (*stepwise*) la exposición a cadmio no aparece como un factor predictivo de la DMO a nivel de L2. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en función del tercil de ingesta de cadmio o mercurio a nivel de la columna lumbar. No se observa una asociación entre la exposición dietética a metales pesados y la DMO en cadera.

Los resultados obtenidos a nivel de columna lumbar sugieren la necesidad de desarrollar más estudios que permitan clarificar el posible papel de la exposición dietética a plomo y la DMO.

V. 2. 3. Póster.



Densidad mineral ósea y exposición dietética a metales pesados (cadmio, mercurio y plomo) en mujeres postmenopáusicas sanas de Extremadura

José M. Morán¹; Alejo Leal Muro¹; Carmen Costa Fernández²; Luis M. Puerto Parejo¹; María Pedrera Canal¹; Purificación Rey Sánchez¹; Juan D. Pedrera-Zamorano¹.

¹Universidad de Extremadura. Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas. Departamento de Enfermería. Cáceres.



Introducción

Los metales pesados han sido propuestos como factores de riesgo para la salud ósea. La dieta y ciertos hábitos tóxicos como el tabaco se presentan como las fuentes principales de estos.

Existen estudios que han establecido la relación entre la exposición a ciertos metales pesados y el riesgo de desarrollo de osteoporosis o fracturas en la población general desde el punto de vista epidemiológico. Sin embargo, la evidencia es menor cuando se trata de trabajos que hayan estudiado como la exposición dietética a los metales pesados afecta a la DMO.

Materiales y Métodos

En el presente estudio se han analizado datos procedentes de una muestra de 219 mujeres postmenopáusicas sanas (59±6 años) a las que se les realizó un cuestionario dietético de 7 días estimando posteriormente la exposición vía dieta a cadmio, plomo y mercurio.

A dichas mujeres se les realizó una determinación de la DMO mediante DXA a nivel lumbar y de la cadera.

Objetivo

Valorar la posible relación entre la exposición dietética a metales pesados (cadmio, mercurio y plomo) y la densidad mineral ósea en mujeres postmenopáusicas sanas de Extremadura.

Resultados

Los valores medios de ingesta de metales pesados se encontraron por debajo de la ingesta semanal tolerable provisional (ISTP) para cada uno de ellos (3.44±1.92 µg/kg peso corporal vs 7 µg/kg peso corporal para el cadmio; 1.32±0.77 µg/kg peso corporal vs 4 µg/kg peso corporal para el mercurio y 5.13±1.85 µg/kg peso corporal vs 25 µg/kg peso corporal para el plomo). No se observaron diferencias en la densidad mineral ósea a nivel de la cadera (cuello femoral, trocánter y triángulo de Ward's) en función del tercil de ingesta dietética de los metales pesados estudiados (P>0.05 en todos los casos).

Los datos correspondientes a edad, peso, ingesta diaria de calcio y vitamina D, así como los valores densitométricos de las mujeres estudiadas en función del tercil de ingesta de metales pesados se muestran en las tablas 1, 2, y 3 respectivamente para mercurio, plomo y cadmio.

A nivel de la columna lumbar en L2 se observó una diferencia estadísticamente significativa en la DMO entre el T1 y el T3 (P=0.036) (1.053 gr/cm² vs 1.034 gr/cm²) en función del tercil de exposición dietética diaria a plomo. Después de ajustar el modelo por el peso, la edad, la ingesta de calcio y vitamina D la diferencia permaneció siendo estadísticamente significativa (P=0.014).

En modelos de regresión lineal múltiple (stepwise) la exposición a cadmio no aparece como un factor predictivo de la DMO a nivel de L2. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en función del tercil de ingesta de cadmio o mercurio a nivel de la columna lumbar. No se observa una asociación entre la exposición dietética a metales pesados y la DMO en cadera.

Tabla 1. Variables antropométricas, dietéticas y densitométricas en función del tercil de ingesta de mercurio

	Tercil de ingesta de mercurio (µg/kg peso corporal)					
	T1		T2		T3	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Edad (años)	58.00	5.00	60.00	7.07	59.00	6.00
Peso (kg)	66.71	9.50	67.13	9.81	66.67	8.56
Ca (mg/día)	932.10	436.00	1053.00	424.00	1271.00	496.00
Vitamina D (µg/día)	8.21	36.08	6.71	4.42	10.59	6.13
DMO Cuello (g/cm ²)	0.847	0.110	0.843	0.105	0.850	0.089
DMO Trocánter (g/cm ²)	0.673	0.090	0.675	0.087	0.673	0.083
DMO Tri Wards (g/cm ²)	0.622	0.116	0.621	0.111	0.616	0.097
L2 DMO (g/cm ²)	1.024	0.110	1.007	0.113	0.991	0.109
L3 DMO (g/cm ²)	1.065	0.156	1.037	0.111	1.022	0.114
L4 DMO (g/cm ²)	1.036	0.131	1.005	0.110	1.002	0.136
L2-L4 DMO (g/cm ²)	1.039	0.115	1.016	0.104	1.005	0.110

Tabla 2. Variables antropométricas, dietéticas y densitométricas en función del tercil de ingesta de plomo

	Tercil de ingesta de Plomo (µg/kg peso corporal)					
	T1		T2		T3	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Edad (años)	60.00	6.00	58.00	5.00	58.00	5.00
Peso (kg)	67.46	10.00	67.40	8.92	65.68	8.85
Ca (mg/día)	826.00	388.00	1070.00	415.00	1358.00	458.00
Vitamina D (µg/día)	9.39	35.90	6.27	4.48	9.84	6.02
DMO Cuello (g/cm ²)	0.848	0.116	0.851	0.097	0.841	0.090
DMO Trocánter (g/cm ²)	0.680	0.092	0.677	0.083	0.664	0.084
DMO Tri Wards (g/cm ²)	0.622	0.125	0.628	0.094	0.609	0.102
L2 DMO (g/cm ²)	1.020	0.125	1.016	0.096	0.985	0.108
L3 DMO (g/cm ²)	1.057	0.160	1.045	0.108	1.023	0.113
L4 DMO (g/cm ²)	1.022	0.128	1.025	0.112	0.997	0.139
L2-L4 DMO (g/cm ²)	1.031	0.120	1.029	0.096	1.001	0.111

Tabla 3. Variables antropométricas, dietéticas y densitométricas en función del tercil de ingesta de cadmio

	Tercil de Cadmio (µg/kg peso corporal)					
	T1		T2		T3	
	Media	DS	Media	DS	Media	DS
Edad (años)	58.00	5.00	60.00	7.02	59.00	6.08
Peso (kg)	67.52	9.32	66.60	9.50	66.40	9.06
Ca (mg/día)	928.00	430.00	1015.00	408.00	1312.00	491.00
Vitamina D (µg/día)	8.11	36.09	6.78	4.22	10.61	6.22
DMO Cuello (g/cm ²)	0.849	0.118	0.837	0.096	0.853	0.088
DMO Trocánter (g/cm ²)	0.675	0.093	0.668	0.086	0.678	0.081
DMO Tri Wards (g/cm ²)	0.625	0.121	0.609	0.104	0.625	0.097
L2 DMO (g/cm ²)	1.023	0.113	1.002	0.113	0.996	0.108
L3 DMO (g/cm ²)	1.062	0.155	1.030	0.117	1.032	0.110
L4 DMO (g/cm ²)	1.036	0.127	1.005	0.119	1.002	0.133
L2-L4 DMO (g/cm ²)	1.038	0.114	1.012	0.110	1.011	0.106

Conclusión

Es necesario desarrollar más estudios que permitan clarificar el posible papel de la exposición dietética a plomo y la DMO a nivel de columna lumbar.

Contacto

Juan Diego Pedrera-Zamorano
Grupo de Investigación en Enfermedades Metabólicas Óseas.
Email: jpedrera@unex.es
Website: www.giemo.es
Telefono: +34 927 257450

Código del poster: 3

Financiación: GR15144

JUNTA DE EXTREMADURA



CAPÍTULO VI
CONCLUSIONES

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES

1.- La ingesta dietética de los metales pesados plomo y mercurio en mujeres postmenopáusicas de Extremadura está dentro de los límites recomendados por las autoridades sanitarias.

2.- La ingesta dietética de los metales pesados cadmio, plomo y mercurio en mujeres premenopáusicas de Extremadura se encuentra dentro de los límites recomendados por las autoridades sanitarias.

3.- La ingesta dietética de cadmio en mujeres postmenopáusicas de Extremadura excede los umbrales recomendados.

4.- No se observa una asociación entre la ingesta de cadmio, plomo y mercurio y la salud ósea determinada por DEXA, pQCT y QUS ni en mujeres postmenopáusicas, ni premenopáusicas, de Extremadura.

5.- Se debe desarrollar más investigación enfocada al planteamiento estudios epidemiológicos a gran escala, preferiblemente incluyendo seguimientos de tipo longitudinal, en mujeres premenopáusicas y postmenopáusicas para valorar la salud ósea mediante las técnicas de DEXA, pQCT y QUS y la ingesta de metales pesados.

ANEXOS

ANEXO 1: MODELO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO



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

CONSENTIMIENTO INFORMADO

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

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

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

En Cáceres a _____ de _____ de _____.

Fdo. _____

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

ANEXO 2: PRIMERA PÁGINA DEL CUESTIONARIO DE FRECUENCIA DE CONSUMO DE ALIMENTOS ADMINISTRADO.

ETIQUETA DE IDENTIFICACIÓN

INSTRUCCIONES

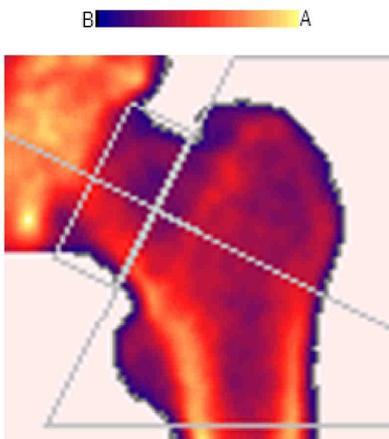
- 1.- No escribir en la columna con el símbolo Σ .
 - 2.- Dejar en blanco las casillas no utilizadas
 - 3.- Escribir con bolígrafo, preferentemente de color rojo o azul.
 - 4.- Señalar con **números** las raciones o cantidades de alimento comida, **no utilizar otros signos, por ejemplo X.**
- MUCHAS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

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

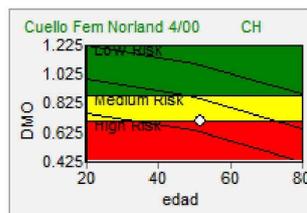
ANEXO 3: DATOS DE SALIDA DENSITÓMETRO NORLAND XR-800®

3.1: CADERA

ID:
Edad: 51 años
Sexo: Femenino
Raza: Caucásico-163
Altura: 163
Peso: 59



Cadera Izquierda en: 04/04/2011 10:23:35



Emparejado con Joven (%) 71.3
 T-Score -2.47
 Emparejado por Edad(%) 82.5
 Z-Score -1.30

Region	DMO (g/cm ²)	CMO (g)	Area (cm ²)	Longitud (cm)	Anchura (cm)	T-Score	Emparejado con Joven (%)	Z-Score	Emparejado por Edad(%)	Var. Estand (%)	Var. Estand (%/año)	Var. Largo Plazo (%)	Var. Largo Plazo (%/año)
Cuello Fem	0.7090	3.718	5.244	1.50		-2.47	71.3	-1.30	82.5	*****	*****	*****	*****
Tronco	0.6833	8.137	11.91			-0.89	87.7	-0.07	99.0	*****	*****	*****	*****
Total sDMO	860.4mg/cm ²	29938mg	34.80			****	****	****	****	****	****	****	****

Estándar CVs para Cuello DMO: 1.2 CMO: 1.7 Consulte el manual para otros valores estimados.
 1.0 mm X 1.0 mm, 90 mm/s, 9.00 cm, Rev. 4.3.0/2.3.1 Calib. 04/04/11 S/N 8570

Comentarios:

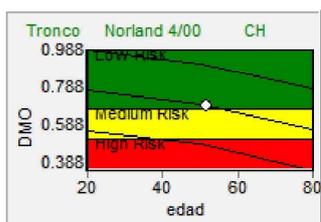
Nombre:	ID:
Dirección:	Raza: Caucásico-163
Teléfono:	Edad: 51 años
Historial:	Años Meno:
Tratamiento:	Sexo: Femenino
Medicación:	Altura: 163
	Peso: 59

Comentarios

Información Escanner

Tipo de Informe: Cadera Izquierda	Resolución: 1.0 x 1.0
Fecha Análisis: 04/04/2011 10:24:59	Velocidad: 90 mm/s
Fecha Calibración: 04/04/11	Amplitud: 9.0
Técnico:	Hueste/Scanner: 4.3.0/2.3.1
Médico:	Análisis/Version: 4.3.0

Resultados Detallados



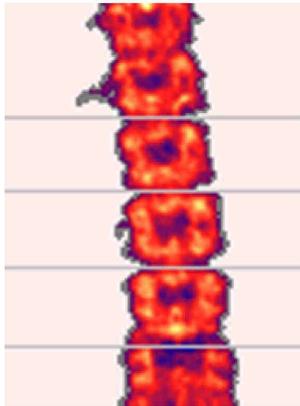
Emparejado con Joven (%)	87.7
T-Score	-0.89
Emparejado por Edad (%)	99.0
Z-Score	-0.07



3.2. COLUMNA

ID:
Edad: 51 años
Sexo: Femenino
Raza: Caucásico-163
Altura: 163
Peso: 59

B  A



Columna AP en: 04/04/2011 10:19:05

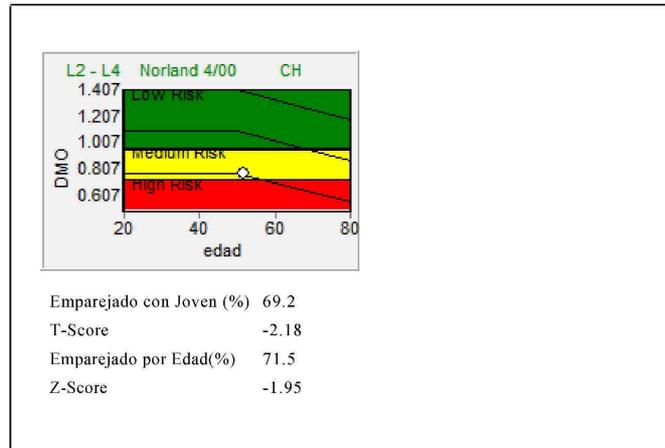


Imagen no válida para diagnóstico.

Colocacion del cursor manual

Region	DMO (g/cm ²)	CMO (g)	Area (cm ²)	Longitud (cm)	Anchura (cm)	T-Score	Emparejado con Joven (%)	Z-Score	Emparejado por Edad(%)	Var. Estand (%)	Var. Estand (%/año)	Var. Largo Plazo (%)	Var. Largo Plazo (%/año)
L2 - L4	0.7711	35.17	45.60	10.7	13.9	-2.18	69.2	-1.95	71.5	*****	*****	*****	*****
L2	0.7539	10.63	14.10	3.45	13.9	-2.33	67.1	-2.08	69.5	*****	*****	*****	*****
L3	0.7864	11.83	15.04	3.45	13.9	-2.08	69.4	-1.87	71.5	*****	*****	*****	*****
L4	0.7718	12.71	16.47	3.75	13.9	-1.89	71.2	-1.73	73.1	*****	*****	*****	*****
Total sDMO	829.8mg/cm ²	37842mg	45.60	10.7	13.9	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****	*****

Estándar CVs para L2-L4 DMO: 1.0 CMO: 1.5 Consulte el manual para otros valores estimados.
 1.5 mm X 1.5 mm, 130 mm/s, 13.95 cm, Rev. 4.3.0/2.3.1 Calib. 04/04/11 S/N 8570

Comentarios:

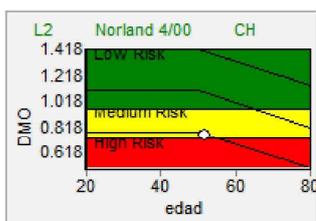
Nombre:	ID:
Dirección:	Raza: Caucásico-163
Teléfono:	Edad: 51 años
Historial:	Años Meno:
Tratamiento:	Sexo: Femenino
Medicación:	Altura: 163
	Peso: 59

Comentarios

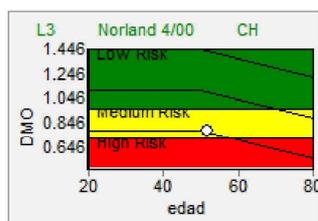
Información Escanner

Tipo de Informe: Columna AP	Resolución: 1.5 x 1.5
Fecha Análisis: 04/04/2011 10:19:40	Velocidad: 130 mm/s
Fecha Calibración: 04/04/11	Amplitud: 14.0
Técnico:	Huete/Escanner: 4.3.0/2.3.1
Médico:	Análisis/Version: 4.3.0

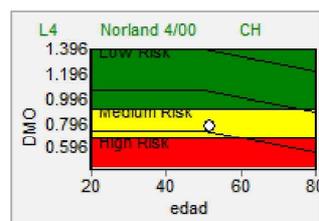
Resultados Detallados



Emparejado con Joven (%) 67.1
 T-Score -2.33
 Emparejado por Edad(%) 69.5
 Z-Score -2.08



Emparejado con Joven (%) 69.4
 T-Score -2.08
 Emparejado por Edad(%) 71.5
 Z-Score -1.87



Emparejado con Joven (%) 71.2
 T-Score -1.89
 Emparejado por Edad(%) 73.1
 Z-Score -1.73



BIBLIOGRAFÍA

BIBLIOGRAFÍA

- Aaseth, J., Boivin, G., & Andersen, O. (2012). Osteoporosis and trace elements--an overview. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology: Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 26(2-3), 149-152. doi:10.1016/j.jtemb.2012.03.017 [doi]
- Akesson, A., Berglund, M., Schutz, A., Bjellerup, P., Bremme, K., & Vahter, M. (2002). Cadmium exposure in pregnancy and lactation in relation to iron status. *American Journal of Public Health*, 92(2), 284-287.
- Akesson, A., Bjellerup, P., Lundh, T., Lidfeldt, J., Nerbrand, C., Samsioe, G., . . . Vahter, M. (2006a). Cadmium-induced effects on bone in a population-based study of women. *Environmental Health Perspectives*, 114(6), 830-834.
- Akesson, A., Bjellerup, P., Lundh, T., Lidfeldt, J., Nerbrand, C., Samsioe, G., . . . Vahter, M. (2006b). Cadmium-induced effects on bone in a population-based study of women. *Environmental Health Perspectives*, 114(6), 830-834.
- Albering, H. J., van Leusen, S. M., Moonen, E. J., Hoogewerff, J. A., & Kleinjans, J. C. (1999). Human health risk assessment: A case study involving heavy metal soil contamination after the flooding of the river meuse during the winter of 1993-1994. *Environmental Health Perspectives*, 107(1), 37-43.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2017). The ATSDR 2017 substance priority list. Retrieved from <https://www.atsdr.cdc.gov/spl/index.html>
- Boening, D. W. (2000). Ecological effects, transport, and fate of mercury: A general review. *Chemosphere*, 40(12), 1335-1351. doi:S0045653599002830 [pii]
- Bosch, A. C., O'Neill, B., Sigge, G. O., Kerwath, S. E., & Hoffman, L. C. (2016). Heavy metals in marine fish meat and consumer health: A review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(1), 32-48. doi:10.1002/jsfa.7360 [doi]
- Brzóška, M., Majewska, K., & Moniuszko-Jakoniuk, J. (2005). Mechanical properties of femoral diaphysis and femoral neck of female rats chronically exposed to various levels of cadmium. *Calcified Tissue International*, 76(4), 287-298.
- Cai, Y., Aoshima, K., Katoh, T., Teranishi, H., & Kasuya, M. (2001). Renal tubular dysfunction in male inhabitants of a cadmium-polluted area in toyama, japan--an eleven-year follow-up study. *Journal of Epidemiology*, 11(4), 180-9.

- Calderon-Garcia, J. F., Moran, J. M., Roncero-Martin, R., Rey-Sanchez, P., Rodriguez-Velasco, F. J., & Pedrera-Zamorano, J. D. (2012a). Dietary habits, nutrients and bone mass in spanish premenopausal women: The contribution of fish to better bone health. *Nutrients*, *5*(1), 10-22. doi:10.3390/nu5010010 [doi]
- Calderon-Garcia, J. F., Moran, J. M., Roncero-Martin, R., Rey-Sanchez, P., Rodriguez-Velasco, F. J., & Pedrera-Zamorano, J. D. (2012b). Dietary habits, nutrients and bone mass in spanish premenopausal women: The contribution of fish to better bone health. *Nutrients*, *5*(1), 10-22. doi:10.3390/nu5010010 [doi]
- Calderon-Garcia, J. F., Moran, J. M., Roncero-Martin, R., Rey-Sanchez, P., Rodriguez-Velasco, F. J., & Pedrera-Zamorano, J. D. (2012c). Dietary habits, nutrients and bone mass in spanish premenopausal women: The contribution of fish to better bone health. *Nutrients*, *5*(1), 10-22. doi:10.3390/nu5010010 [doi]
- Canal-Macias, M. L., Moran, J. M., Rodriguez-Dominguez, T., Roncero-Martin, R., Rey-Sanchez, P., & Pedrera-Zamorano, J. D. (2012). Exclusive lactation increases bone mineral density in healthy premenopausal spanish women. *Bone*, *50*, S138-S138. doi:10.1016/j.bone.2012.02.425
- Chen, X., Zhu, G., Jin, T., Qin, B., Zhou, W., & Gu, S. (2011). Cadmium is more toxic on volume bone mineral density than tissue bone mineral density. *Biological Trace Element Research*, *144*(1-3), 380-387. doi:10.1007/s12011-011-9106-x [doi]
- Chowdhury, S., Mazumder, M. A., Al-Attas, O., & Husain, T. (2016). Heavy metals in drinking water: Occurrences, implications, and future needs in developing countries. *The Science of the Total Environment*, *569-570*, 476-488. doi:10.1016/j.scitotenv.2016.06.166 [doi]
- Cuadrado, C., Kumpulainen, J., & Moreiras, O. (1995a). Contaminants and nutrients in total diets in Spain. *European Journal of Clinical Nutrition*, *49*(10), 767-778.
- Cuadrado, C., Kumpulainen, J., & Moreiras, O. (1995b). Lead, cadmium and mercury contents in average Spanish market basket diets from Galicia, Valencia, Andalucía and Madrid. *Food Additives and Contaminants*, *12*(1), 107-118. doi:10.1080/02652039509374285 [doi]
- Dermience, M., Lognay, G., Mathieu, F., & Goyens, P. (2015). Effects of thirty elements on bone metabolism. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology : Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, *32*, 86-106. doi:10.1016/j.jtemb.2015.06.005 [doi]

- Dowd, T. L., Rosen, J. F., Mints, L., & Gundberg, C. M. (2001). The effect of Pb²⁺ on the structure and hydroxyapatite binding properties of osteocalcin. *Biochimica Et Biophysica Acta-Molecular Basis of Disease*, 1535(2), 153-163. doi:10.1016/S0925-4439(00)00094-6
- EFSA Panel on Contaminants in the Food Chain (CONTAM). (2010). Scientific opinion on lead in food. *EFSA Journal*, 8(4), 1570-n/a. doi:10.2903/j.efsa.2010.1570
- Engelke, K., Adams, J. E., Armbrecht, G., Augat, P., Bogado, C. E., Bouxsein, M. L., . . . Lewiecki, E. M. (2008). Clinical use of quantitative computed tomography and peripheral quantitative computed tomography in the management of osteoporosis in adults: The 2007 ISCD official positions. *Journal of Clinical Densitometry : The Official Journal of the International Society for Clinical Densitometry*, 11(1), 123-162. doi:10.1016/j.jocd.2007.12.010 [doi]
- Engstrom, A., Michaelsson, K., Vahter, M., Julin, B., Wolk, A., & Akesson, A. (2012). Associations between dietary cadmium exposure and bone mineral density and risk of osteoporosis and fractures among women. *Bone*, 50(6), 1372-1378. doi:10.1016/j.bone.2012.03.018 [doi]
- Engstrom, A., Michaelsson, K., Vahter, M., Julin, B., Wolk, A., & Akesson, A. (2012a). Associations between dietary cadmium exposure and bone mineral density and risk of osteoporosis and fractures among women. *Bone*, 50(6), 1372-1378. doi:10.1016/j.bone.2012.03.018
- Engstrom, A., Michaelsson, K., Vahter, M., Julin, B., Wolk, A., & Akesson, A. (2012b). Associations between dietary cadmium exposure and bone mineral density and risk of osteoporosis and fractures among women. *Bone*, 50(6), 1372-1378. doi:10.1016/j.bone.2012.03.018
- European Food Safety Authority. (2012). Cadmium dietary exposure in the european population. *EFSA Journal*, 10(1), 2551-n/a. doi:10.2903/j.efsa.2012.2551
- Gallagher, C. M., Kovach, J. S., & Meliker, J. R. (2008). Urinary cadmium and osteoporosis in U.S. women \geq 50 years of age: NHANES 1988-1994 and 1999-2004. *Environmental Health Perspectives*, 116(10), 1338-1343. doi:10.1289/ehp.11452 [doi]
- Honda, R., Tsuritani, I., Noborisaka, Y., Suzuki, H., Ishizaki, M., & Yamada, Y. (2003). Urinary cadmium excretion is correlated with calcaneal bone mass in japanese women living in an urban area. *Environmental Research*, 91(2), 63-70. doi:S001393510200035X [pii]

- Itoh, H., Iwasaki, M., Sawada, N., Takachi, R., Kasuga, Y., Yokoyama, S., . . . Tsugane, S. (2014). Dietary cadmium intake and breast cancer risk in Japanese women: A case-control study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 217(1), 70-77. doi:10.1016/j.ijheh.2013.03.010 [doi]
- James, P. T., Leach, R., Kalamara, E., & Shayeghi, M. (2001). The worldwide obesity epidemic. *Obesity Research*, 9 Suppl 4, 228S-233S. doi:10.1038/oby.2001.123 [doi]
- Jarup, L., & Akesson, A. (2009). Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(3), 201-208. doi:10.1016/j.taap.2009.04.020 [doi]
- Jarup, L., & Alfvén, T. (2004). Low level cadmium exposure, renal and bone effects--the OSCAR study. *Biometals : An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 17(5), 505-509.
- Jarup, L., Alfvén, T., Persson, B., Toss, G., & Elinder, C. G. (1998). Cadmium may be a risk factor for osteoporosis. *Occupational and Environmental Medicine*, 55(7), 435-439.
- JEFCA. (2003). Evaluation of certain food additives and contaminants, technical report series 960. *World Health Organization, Geneva, Switzerland*,
- Jin, T., Nordberg, G., Ye, T., Bo, M., Wang, H., Zhu, G., . . . Bernard, A. (2004). Osteoporosis and renal dysfunction in a general population exposed to cadmium in China. *Environmental Research*, 96(3), 353-359. doi:10.1016/j.envres.2004.02.012 [doi]
- Kang, M. H., Park, S. M., Oh, D. N., Kim, M. H., & Choi, M. K. (2013). Dietary nutrient and food intake and their relations with serum heavy metals in osteopenic and osteoporotic patients. *Clinical Nutrition Research*, 2(1), 26-33. doi:10.7762/cnr.2013.2.1.26 [doi]
- Kazantzis, G. (2004). Cadmium, osteoporosis and calcium metabolism. *Biometals : An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, 17(5), 493-498.
- Kido, S. (2013). Secondary osteoporosis or secondary contributors to bone loss in fracture. bone metabolism and heavy metals (cadmium and iron). *Clinical Calcium*, 23(9), 1299-1306. doi:CliCa130912991306 [doi]
- Landsberger, S., & Wu, D. (1995). The impact of heavy metals from environmental tobacco smoke on indoor air quality as determined by Compton suppression neutron activation analysis. *The Science of the Total Environment*, 173-174, 323-337.

- Leblanc, J. C., Malmauret, L., Guerin, T., Bordet, F., Boursier, B., & Verger, P. (2000). Estimation of the dietary intake of pesticide residues, lead, cadmium, arsenic and radionuclides in france. *Food Additives and Contaminants*, 17(11), 925-932. doi:10.1080/026520300750038108 [doi]
- Lee, K. M., Kwon, S. S., Chung, C. Y., Lee, S. Y., Kim, T. G., Choi, Y., & Park, M. S. (2015). Gender- and body-site-specific factors associated with bone mineral density in a non-institutionalized korean population aged ≥ 50 years. *Journal of Bone and Mineral Metabolism*, 33(4), 401-409. doi:10.1007/s00774-014-0600-z [doi]
- Lim, H. S., Lee, H. H., Kim, T. H., & Lee, B. R. (2016). Relationship between heavy metal exposure and bone mineral density in korean adult. *Journal of Bone Metabolism*, 23(4), 223-231. doi:10.11005/jbm.2016.23.4.223 [doi]
- Lodder, M.; Lems, W.; Ader, H.; Marthinsen, A.; van Coeverden, S.; Lips, P.; Netelenbos, J.; Dijkmans, B.; Roos, J. Reproducibility of Bone Mineral Density Measurement in Daily Practice. *Ann. Rheum. Dis.* 2004, 63, 285–289.
- Lorentzon, M., & Cummings, S. R. (2015). Osteoporosis: The evolution of a diagnosis. *Journal of Internal Medicine*, 277(6), 650-661. doi:10.1111/joim.12369 [doi]
- Loutfy, N., Fuerhacker, M., Tundo, P., Raccanelli, S., El Dien, A. G., & Ahmed, M. T. (2006). Dietary intake of dioxins and dioxin-like PCBs, due to the consumption of dairy products, fish/seafood and meat from ismailia city, egypt. *The Science of the Total Environment*, 370(1), 1-8. doi:S0048-9697(06)00384-6 [pii]
- Lv, Y., Wang, P., Huang, R., Liang, X., Wang, P., Tan, J., . . . Yang, X. (2017). Cadmium exposure and osteoporosis: A population-based study and benchmark dose estimation in southern china. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, doi:10.1002/jbmr.3151 [doi]
- Madeddu, R., Solinas, G., Forte, G., Bocca, B., Asara, Y., Tolu, P., . . . Castiglia, P. (2011). Diet and nutrients are contributing factors that influence blood cadmium levels. *Nutrition Research (New York, N.Y.)*, 31(9), 691-697. doi:10.1016/j.nutres.2011.09.003 [doi]
- Marin, S., Pardo, O., Baguena, R., Font, G., & Yusa, V. (2017). Dietary exposure to trace elements and health risk assessment in the region of valencia, spain: A total diet study. *Food Additives & Contaminants. Part A, Chemistry, Analysis, Control, Exposure & Risk Assessment*, 34(2), 228-240. doi:10.1080/19440049.2016.1268273 [doi]

- Marti-Cid, R., Llobet, J. M., Castell, V., & Domingo, J. L. (2008). Dietary intake of arsenic, cadmium, mercury, and lead by the population of catalonia, spain. *Biological Trace Element Research*, 125(2), 120-132. doi:10.1007/s12011-008-8162-3 [doi]
- Meltzer, H. M., Brantsaeter, A. L., Borch-Johnsen, B., Ellingsen, D. G., Alexander, J., Thomassen, Y., . . . Ydersbond, T. A. (2010). Low iron stores are related to higher blood concentrations of manganese, cobalt and cadmium in non-smoking, norwegian women in the HUNT 2 study. *Environmental Research*, 110(5), 497-504. doi:10.1016/j.envres.2010.03.006 [doi]
- Moran, J. M., Leal-Hernandez, O., Canal-Macias, M. L., Lavado-Garcia, J., Roncero-Martin, R., Aliaga, I., & Pedrera-Zamorano, J. D. (2016). Calcium intake, abdominal fat, bone microarchitecture and bone mineral density in spanish men with hypertension. *Osteoporosis International*, 27, S461-S462.
- Moran, J. M., Lopez-Arza, L. G., Lavado-Garcia, J. M., Pedrera-Canal, M., Rey-Sanchez, P., Rodriguez-Velasco, F. J., . . . Pedrera-Zamorano, J. D. (2013). Hormonal relationships to bone mass in elderly spanish men as influenced by dietary calcium and vitamin D. *Nutrients*, 5(12), 4924-4937. doi:10.3390/nu5124924 [doi]
- Moreiras, O., & Cuadrado, C. (1992). Theoretical study of the intake of trace elements (nutrients and contaminants) via total diet in some geographical areas of spain. *Biological Trace Element Research*, 32, 93-103.
- Moreiras, O. (2013). *Tablas de composición de alimentos: Guía de prácticas* (16^a, [amp y rev ed.]). Madrid: Pirámide.
- Panel, E. C. (2009). Scientific opinion on cadmium in food. *EFSA Journal*, 7(10), 980.
- Patterson, R. E., Kristal, A. R., Tinker, L. F., Carter, R. A., Bolton, M. P., & Agurs-Collins, T. (1999). Measurement characteristics of the women's health initiative food frequency questionnaire. *Annals of Epidemiology*, 9(3), 178-187. doi:S1047279798000556 [pii]
- Pedrera-Zamorano, J. D., Lavado-Garcia, J. M., Roncero-Martin, R., Calderon-Garcia, J. F., Rodriguez-Dominguez, T., & Canal-Macias, M. L. (2009). Effect of beer drinking on ultrasound bone mass in women. *Nutrition*, 25(10), 1057-1063.
- Pedrera-Zamorano, J. D., Calderon-Garcia, J. F., Roncero-Martin, R., Manas-Nunez, P., Moran, J. M., & Lavado-Garcia, J. M. (2012). The protective effect of calcium on bone mass in postmenopausal women with high selenium intake. *The Journal of Nutrition, Health & Aging*, 16(9), 743-748. doi:10.1007/s12603-012-0071-7 [doi]

- Pedreira-Zamorano, J. D., Lavado-Garcia, J. M., Roncero-Martin, R., Calderon-Garcia, J. F., Rodriguez-Dominguez, T., & Canal-Macias, M. L. (2009a). Effect of beer drinking on ultrasound bone mass in women. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 25(10), 1057-1063. doi:10.1016/j.nut.2009.02.007 [doi]
- Pedreira-Zamorano, J. D., Lavado-Garcia, J. M., Roncero-Martin, R., Calderon-Garcia, J. F., Rodriguez-Dominguez, T., & Canal-Macias, M. L. (2009b). Effect of beer drinking on ultrasound bone mass in women. *Nutrition (Burbank, Los Angeles County, Calif.)*, 25(10), 1057-1063. doi:10.1016/j.nut.2009.02.007 [doi]
- Perello, G., Llobet, J. M., Gomez-Catalan, J., Castell, V., Centrich, F., Nadal, M., & Domingo, J. L. (2014). Human health risks derived from dietary exposure to toxic metals in catalonia, spain: Temporal trend. *Biological Trace Element Research*, 162(1-3), 26-37. doi:10.1007/s12011-014-0138-x [doi]
- Puerto-Parejo, L. M., Aliaga, I., Canal-Macias, M. L., Leal-Hernandez, O., Roncero-Martin, R., Rico-Martin, S., & Moran, J. M. (2017). Evaluation of the dietary intake of cadmium, lead and mercury and its relationship with bone health among postmenopausal women in spain. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 14(6), 10.3390/ijerph14060564. doi:E564 [pii]
- Qin, Y. Y., Leung, C. K. M., Leung, A. O. W., Wu, S. C., Zheng, J. S., & Wong, M. H. (2010). Persistent organic pollutants and heavy metals in adipose tissues of patients with uterine leiomyomas and the association of these pollutants with seafood diet, BMI, and age. *Environmental Science and Pollution Research*, 17(1), 229-240. doi:10.1007/s11356-009-0251-0
- Rey-Sánchez, P., Lavado-García, J. M., Canal-Macías, M. L., Gómez-Zubeldia, M. A., Roncero-Martín, R., & Pedreira-Zamorano, J. D. (2009). Ultrasound bone mass in schizophrenic patients on antipsychotic therapy. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 24(1), 49-54.
- Rignell-Hydbom, A., Skerfving, S., Lundh, T., Lindh, C. H., Elmståhl, S., Bjellerup, P., . . . Åkesson, A. (2009). Exposure to cadmium and persistent organochlorine pollutants and its association with bone mineral density and markers of bone metabolism on postmenopausal women. *Environmental Research*, 109(8), 991-996. doi:https://doi.org/10.1016/j.envres.2009.08.008
- Roncero-Martin, R., Moran, J. M., Ortes-Gomez, R., Rodriguez-Velasco, F. J., Gil-Fernandez, G., Calderon-Garcia, J. F., & Pedreira-Zamorano, I. D. (2014). Influence of vitamin D status on fractures in spanish elderly with high parathyroid hormone levels. *Osteoporosis International*, 25, S421-S422.

- Schneider, G., & Krivna, V. (1993). Multi-element analysis of tobacco and smoke condensate by instrumental neutron activation analysis and atomic absorption spectrometry. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry*, 53(2), 87-100. doi:10.1080/03067319308044438
- Schuhmacher, M., Bosque, M. A., Domingo, J. L., & Corbella, J. (1991). Dietary-intake of lead and cadmium from foods in tarragona province, spain. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 46(2), 320-328.
- Schutte, R., Nawrot, T. S., Richart, T., Thijs, L., Vanderschueren, D., Kuznetsova, T., . . . Staessen, J. A. (2008). Bone resorption and environmental exposure to cadmium in women: A population study. *Environmental Health Perspectives*, 116(6), 777-783. doi:10.1289/ehp.11167 [doi]
- Siris, E. S., Adler, R., Bilezikian, J., Bolognese, M., Dawson-Hughes, B., Favus, M. J., . . . Watts, N. B. (2014). The clinical diagnosis of osteoporosis: A position statement from the national bone health alliance working group. *Osteoporosis International : A Journal Established as Result of Cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*, 25(5), 1439-1443. doi:10.1007/s00198-014-2655-z [doi]
- Songprasert, N., Sukaew, T., Kusreesakul, K., Swaddiwudhipong, W., Padungtod, C., & Bundhamcharoen, K. (2015). Additional burden of diseases associated with cadmium exposure: A case study of cadmium contaminated rice fields in mae sot district, tak province, thailand. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 12(8), 9199-9217. doi:10.3390/ijerph120809199 [doi]
- Staessen, J. A., Roels, H. A., Emelianov, D., Kuznetsova, T., Thijs, L., Vangronsveld, J., & Fagard, R. (1999). Environmental exposure to cadmium, forearm bone density, and risk of fractures: Prospective population study. public health and environmental exposure to cadmium (PheeCad) study group. *Lancet (London, England)*, 353(9159), 1140-1144. doi:S0140673698093568 [pii]
- Swiergosz-Kowalewska, R. (2001). Cadmium distribution and toxicity in tissues of small rodents. *Microscopy Research and Technique*, 55(3), 208-222. doi:10.1002/jemt.1171 [pii]
- Thomas, L. D., Michaelsson, K., Julin, B., Wolk, A., & Akesson, A. (2011). Dietary cadmium exposure and fracture incidence among men: A population-based prospective cohort study. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, 26(7), 1601-1608. doi:10.1002/jbmr.386 [doi]

- Tucker, K. L. (2007). Assessment of usual dietary intake in population studies of gene-diet interaction. *Nutrition, Metabolism, and Cardiovascular Diseases : NMCD*, *17*(2), 74-81. doi:S0939-4753(06)00166-9 [pii]
- Vacchi-Suzzi, C., Eriksen, K. T., Levine, K., McElroy, J., Tjønneland, A., Raaschou-Nielsen, O., . . . Meliker, J. R. (2015). Dietary intake estimates and urinary cadmium levels in danish postmenopausal women. *PloS One*, *10*(9), e0138784. doi:10.1371/journal.pone.0138784 [doi]
- Vera, V., Moran, J. M., Barros, P., Canal-Macias, M. L., Guerrero-Bonmatty, R., Costa-Fernandez, C., . . . Pedrera-Zamorano, J. D. (2015). Greater calcium intake is associated with better bone health measured by quantitative ultrasound of the phalanges in pediatric patients treated with anticonvulsant drugs. *Nutrients*, *7*(12), 9908-9917. doi:10.3390/nu7125517 [doi]
- Wallin, M., Barregard, L., Sallsten, G., Lundh, T., Karlsson, M. K., Lorentzon, M., . . . Mellstrom, D. (2016). Low-level cadmium exposure is associated with decreased bone mineral density and increased risk of incident fractures in elderly men: The MrOS sweden study. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, *31*(4), 732-741. doi:10.1002/jbmr.2743 [doi]
- Wang, H., Zhu, G., Shi, Y., Weng, S., Jin, T., Kong, Q., & Nordberg, G. F. (2003). Influence of environmental cadmium exposure on forearm bone density. *Journal of Bone and Mineral Research : The Official Journal of the American Society for Bone and Mineral Research*, *18*(3), 553-560. doi:10.1359/jbmr.2003.18.3.553 [doi]
- Willett, W. C., Howe, G. R., & Kushi, L. H. (1997). Adjustment for total energy intake in epidemiologic studies. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *65*(4 Suppl), 1220S-1228S; discussion 1229S-1231S.
- Willett, W. C., Sampson, L., Stampfer, M. J., Rosner, B., Bain, C., Witschi, J., . . . Speizer, F. E. (1985). Reproducibility and validity of a semiquantitative food frequency questionnaire. *American Journal of Epidemiology*, *122*(1), 51-65.
- Wong, A. K., Beattie, K. A., Bhargava, A., Cheung, M., Webber, C. E., Chettle, D. R., . . . Canadian Multicentre Osteoporosis Study (CaMos) Research Group. (2015). Bone lead (pb) content at the tibia is associated with thinner distal tibia cortices and lower volumetric bone density in postmenopausal women. *Bone*, *79*, 58-64. doi:10.1016/j.bone.2015.05.010 [doi]

- World, M. A. (2013). World medical association declaration of helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *Jama*, *310*(20), 2191-2194.
- Wuster, C., de Terlizzi, F., Becker, S., Cadossi, M., Cadossi, R., & Muller, R. (2005). Usefulness of quantitative ultrasound in evaluating structural and mechanical properties of bone: Comparison of ultrasound, dual-energy X-ray absorptiometry, micro-computed tomography, and mechanical testing of human phalanges in vitro. *Technology and Health Care : Official Journal of the European Society for Engineering and Medicine*, *13*(6), 497-510.
- Yu, G., Zheng, W., Wang, W., Dai, F., Zhang, Z., Yuan, Y., & Wang, Q. (2017). *Health risk assessment of chinese consumers to cadmium via dietary intake* doi:<http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2017.07.003>
- Zamorano, J. D. P., Macías, M. L. C., García, J. M. L., Fernández, C. C., Domínguez, S. B., & Lenza, H. R. (2003). Reference curve of bone ultrasound measurements in proximal phalanges in normal spanish women. *Journal of Clinical Densitometry*, *6*(4), 373-380.
- Zhu, G., Wang, H., Shi, Y., Weng, S., Jin, T., Kong, Q., & Nordberg, G. F. (2004). Environmental cadmium exposure and forearm bone density. *Biometals : An International Journal on the Role of Metal Ions in Biology, Biochemistry, and Medicine*, *17*(5), 499-503.
- Zukowska, J., & Biziuk, M. (2008). Methodological evaluation of method for dietary heavy metal intake. *Journal of Food Science*, *73*(2), R21-9. doi:10.1111/j.1750-3841.2007.00648.x [doi]