

Original

Validación de cuestionarios para el estudio de hábitos alimentarios y masa ósea

A. Rivas¹, A. Romero², M. Mariscal¹, C. Monteagudo¹, J. Hernández¹ y F. Olea-Serrano¹

¹Departamento de Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. España. ²Unidad de Aparato Locomotor. Hospital General Básico de Baza. Granada. España.

Resumen

Antecedentes: La pérdida de masa y densidad de los huesos esta influenciada por factores nutricionales, actuando sobre el pico de masa ósea, la pérdida ósea relacionada con la edad y la fortaleza muscular. El objetivo del presente estudio es validar un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos aplicado a la estimación de la relación entre los hábitos alimentarios y la densidad mineral ósea de una población adulta sana.

Métodos: Los resultados obtenidos mediante el cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos se compararon con los de recordatorios de 24 horas. Las medidas de la densidad mineral ósea se realizaron mediante densitometría de calcáneo.

Resultados: Se demuestra la validez del cuestionario al obtener coeficientes de correlación de Spearman entre 0,014 y 0,467. Asimismo el test de Bland-Altman muestra que no existe variación entre los dos métodos para las variables analizadas. El análisis de correlación muestra que la densidad mineral ósea está asociada significativamente al consumo de vitamina D, vitamina A, vitamina B₁₂, folato, tiamina y hierro. El consumo de lípidos totales no fue asociado con la densidad mineral ósea, sin embargo la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados, EPA y DHA y colesterol muestra una correlación estadísticamente significativa.

Conclusión: El cuestionario estima el consumo de energía y nutrientes con adecuada validez. Su aplicación nos ha permitido deducir la importancia de una dieta rica en vitaminas del grupo B, vitamina D, calcio, hierro y ácidos grasos monoinsaturados y n-3 en la salud ósea.

(Nutr Hosp. 2009;24:521-528)

DOI:10.3305/nh.2009.24.5.4462

Palabras clave: Densidad mineral ósea. Cuestionario. Hábitos alimentarios.

VALIDATION OF QUESTIONNAIRES FOR THE STUDY OF FOOD HABITS AND BONE MASS

Abstract

Background: The loss of bone mass and density is influenced by nutritional factors that act on the bone mass peak, age-related bone loss and muscle strength. The objective of the present study was to validate a food frequency questionnaire applied to estimate the relationship between food habits and bone mineral density (BMD) in a healthy adult population.

Methods: The results of the food frequency questionnaire were compared with 24-hr recall findings. Calcaneus BMD was measured by densitometry.

Results: The validity of the questionnaire was demonstrated, with Spearman correlation coefficients of 0.014 to 0.467. The Bland-Altman test also found no differences in study variables between the two methods. Correlation analysis showed that the BMD was significantly associated with the intake of vitamin D, vitamin A, vitamin B₁₂, folate, thiamine and iron. Total fat consumption was not associated with BMD but the intake of monounsaturated fatty acids, EPA, DHA and cholesterol showed a significant correlation.

Conclusion: The questionnaire evaluates the consumption of energy and nutrients with adequate validity. Its application revealed the importance for bone health of a diet rich in B-group vitamins, vitamin D, calcium, iron, monounsaturated fatty acids and n-3.

(Nutr Hosp. 2009;24:521-528)

DOI:10.3305/nh.2009.24.5.4462

Key words: Bone mineral density. Questionnaire. Foods habits.

Correspondencia: Fátima Olea-Serrano.
Departamento de Nutrición y Bromatología.
Facultad de Farmacia.
Campus de Cartuja. Universidad de Granada.
18071 Granada
E-mail: folea@ugr.es

Recibido: 23-X-2008.
Aceptado: 31-I-2009.

Introducción

La osteoporosis ha sido considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) como el segundo problema sanitario asistencial en el mundo después de las enfermedades cardiovasculares. El estudio de esta enfermedad, caracterizada por la pérdida de masa y densidad de los huesos, ha despertando un particular interés por la elevada magnitud del problema a nivel poblacional¹⁻². Su importancia para la persona que la padece recae en el gran riesgo de fracturas y las graves consecuencias que acarrearán³.

Existen múltiples factores relacionados con el desarrollo de osteoporosis. El modelado y remodelado óseo presentan unas características individuales en función de la raza y la herencia. Están condicionados por una serie de factores nutricionales, mecánicos y hormonales⁴⁻⁷. La incidencia sobre estos factores condicionantes puede predisponer a la pérdida o a la mejora y/o al mantenimiento, en función de la etapa de la vida, de la calidad y cantidad de hueso.

Los factores nutricionales tienen múltiples efectos, actuando sobre el pico de masa ósea, la pérdida ósea relacionada con la edad y la fortaleza muscular⁸. Por lo tanto, no podemos olvidar la importancia de mantener hábitos de alimentación saludables para la consecución del objetivo de salud ósea⁹. Aunque los principales nutrientes de interés son el calcio y la vitamina D, dada su importancia en la optimización del pico de masa ósea¹⁰; sin embargo, en un informe realizado por la Unión Europea se reconocía la importancia de otros nutrientes y se instaba a incrementar la investigación al respecto, desarrollándose diversos proyectos de investigación europeos a este respecto¹⁰⁻¹¹.

Uno de los métodos más comúnmente utilizados para investigar la asociación entre dieta y salud ósea es el Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (FCA) debido a que permite obtener información del modelo de consumo habitual a largo plazo en poblaciones grandes. Además de tratarse de un método relativamente barato, rápido y fácil de aplicar¹²⁻¹³. En España se han realizado pocos estudios de este tipo¹⁴ y sería de gran utilidad disponer de cuestionarios validados adaptados a regiones geográficas específicas¹³.

Por todas las razones anteriormente expuestas y por el enorme interés que este tema presenta en la actualidad, nos planteamos el presente estudio con el objetivo de validar un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos que estime la relación entre los hábitos alimentarios y la densidad mineral ósea de una población adulta sana. Para ello se han comparado sus resultados con los obtenidos por recordatorios de 24 horas considerado como uno de los métodos de referencia. Asimismo aplicando este cuestionario se ha estudiado la relación entre hábitos alimentarios y densidad mineral ósea en una muestra de 91 mujeres sanas de la provincia de Granada.

Material y métodos

Sujetos

La muestra está constituida por un grupo de 91 mujeres de edades comprendidas entre 18 y 65 años. Todos los sujetos seleccionados son participantes en las actividades de las Escuelas de Natación de la Facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte de la Universidad de Granada. Las mujeres participantes no presentaron ninguna patología cardíaca, metabólica o desorden endocrino. A su vez se excluyeron del estudio aquellos sujetos que estuvieran recibiendo medicación que pudiera afectar al metabolismo del calcio y a la homeostasis del hueso.

Cuestionario de Frecuencia de Consumo de Alimentos (FCA)

El cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos utilizado fue semicuantitativo e incluyó, una lista cerrada de 24 items, en los que se preguntó, por entrevistadores entrenados con qué frecuencia (diaria, semanal, mensual o anual) y en que cantidad se consumían los alimentos incluidos. El listado de alimentos fue creado partiendo de datos de CFA realizados a población femenina del mismo área geográfica en varios proyectos realizados por integrantes del grupo de investigación¹⁵⁻¹⁶.

Recordatorio de 24 horas (R24H)

Se llevaron a término 3 recordatorios de 24 horas. Para evitar influencias estacionales, se realizó uno de los recordatorios en el período de octubre a diciembre, un segundo durante los meses de febrero y marzo, y el último en el período de mayo a julio. El R24H fue completado por los sujetos con la ayuda de un entrevistador, previamente entrenado.

Para la estimación de la ingesta de energía y nutrientes, de ambos cuestionarios, se utilizó el programa informático DIETSOURCE versión 1.2¹⁵⁻¹⁶.

Medidas de la Densidad Mineral Ósea (DMO)

Las medidas de la densidad mineral ósea se realizaron por un especialista en Reumatología mediante densitometría de calcáneo, realizada con un densitómetro portátil Hologic de absorciometría dual de rayos x (DEXA) que mide la densidad mineral ósea del área microrradiografiada del talón expresada en g/cm². La comparativa fue expresada en desviaciones estándar con respecto a la media poblacional en relación a la edad y al pico de masa ósea (Z-score y T-score) respectivamente.

Tabla I
Características descriptivas y medida de masa ósea de la población de estudio

	%	Mínimo	Máximo	Media (\pm DE)
Edad (años)		18	65	41,95 (\pm 11,39)
Peso (kg)		51,0	107,0	67,15 (\pm 10,95)
Altura (cm)		143,0	175,5	158,68 (\pm 6,45)
IMC (kg/m ²)		19,32	42,86	26,73 (\pm 4,53)
Cintura/cadera		0,64	1,13	0,80 (\pm 0,089)
DMO		0,26	0,78	0,51 (\pm 0,09)
T Score		-2,70	3,80	0,51 (\pm 1,15)
Z Score		-2,70	3,80	0,59 (\pm 1,11)
<i>Nivel Educativo</i>				
Primaria	25			
Secundaria	40			
Universidad	35			

DE: desviación estándar.

Análisis estadístico

Los datos fueron analizados mediante el programa SPSS, versión 15.0. Para evaluar el nivel de correlación entre ambas encuestas dietéticas se calcularon los coeficientes de correlación de Spearman. Asimismo se realizó el análisis de Bland-Altman¹⁷ para valorar el nivel de acuerdo entre ambos cuestionarios, al ser el más utilizado en los estudios recientes para validar los cuestionarios de FCA^{18,19}. Los límites de concordancia de Bland-Altman se calculan sumándole y restándole 2 veces la desviación estándar a la media de las diferencias entre ambos métodos. El nivel de significación estadística que se empleó en todos los casos fue de $p < 0.05$.

Resultados

En la tabla I se presentan características y datos correspondientes a las medidas de densidad mineral ósea de la población de estudio. La edad media de las mujeres participantes es de 41,95 años, presentando un índice de masa corporal de 26,73 (\pm 4,53). La media de DMO de la población de estudio fue de 0,51 \pm 0,09. La tabla II muestra el porcentaje de ingesta de nutrientes respecto a las recomendaciones. La ingesta calórica de la población es inferior a la recomendada, presentando un valor medio del 85%. Los sujetos estudiados tienen un consumo de proteínas y lípidos que superan como media el 35,63% y el 34,63% de los objetivos dietéticos. Por el contrario solo se alcanza el 70% del porcentaje de carbohidratos recomendado (50-60%). La media del porcentaje de consumo de Ca y vitamina D por la población se aproxima a las recomendaciones en ambos casos (99,17% y 97,54%, respectivamente). Por

el contrario la ingesta recomendada de fósforo (700 mg) es superada en un 91%.

En la tabla III se presentan los resultados del cálculo de la mediana y la amplitud intercuartil de la ingesta de nutrientes relacionados con la DMO utilizando los cuestionarios de FCA y R24H. En general, la ingesta es superior cuando se calcula utilizando el R24H, aunque los coeficientes de correlación obtenidos demuestran que ambos métodos son comparables ($p \leq 0,05$, tabla III). Se han observado mejor ajuste en los valores de correlación para la energía, y los macronutrientes, siendo los coeficientes más bajos los correspondientes al selenio, la riboflavina y la cianocobalamina, cuyas correlaciones no fueron significativas. Asimismo, el test de Bland-Altman muestra que no existen variaciones significativas entre ambos cuestionarios (tabla III y fig. 1).

Se han seleccionado para los gráficos del test de Bland-Altman aquellos nutrientes que han demostrado en numerosos estudios un efecto en la masa ósea. Como se observa no existe variación entre los dos métodos para dichos nutrientes, es decir el FCA no estima valores de nutrientes superiores o inferiores que el R24H.

En la tabla IV se muestra el resultado del estudio de la relación existente entre la ingesta de nutrientes y la densidad mineral ósea. El análisis de correlación muestra que la DMO está asociada significativamente al consumo de vitamina D, vitamina A, vitamina B₁₂, folato y tiamina. Asimismo las ingestas de calcio y hierro han sido significativamente correlacionadas con la DMO. El consumo de lípidos totales no fue asociado con la DMO, sin embargo la ingesta de ácidos grasos monoinsaturados, eicosanoico (EPA) y docosaenoico (DHA) y colesterol muestran una correlación significativa.

Tabla II
Porcentaje de nutrientes consumidos por la población respecto a las recomendaciones españolas/DRIs

	<i>Mínimo</i>	<i>Máximo</i>	<i>Media</i>	<i>Mediana</i>	<i>Desv. típ.</i>
Energía (kcal)	27,81	171,74	85,065	79,84	25,69
Proteínas (g)	56,09	341,30	170,73	162,44	57,43
Proteínas (% E)	55,09	294,59	135,63	132,05	38,04
Carbohidratos (g)	41,73	412,69	144,99	133,75	53,53
Carbohidratos (% E)	26,67	107,33	70,36	71,56	15,49
Fibra (g)	15,64	167,64	52,19	48,09	22,40
Lípidos (% E)	39,85	191,80	134,63	132,98	24,98
Ca (mg)	39,45	318,29	99,17	85,39	50,06
P (mg)	70,41	354,51	191,10	180,72	62,88
Fe (mg)	28,89	293,75	96,01	75,00	55,58
Zn (mg)	31,82	263,13	121,76	106,25	50,71
Se (ug)	18,73	566,00	126,25	110,06	78,76
Tiamina (mg)	25,00	263,64	121,34	118,18	50,79
Riboflavina (mg)	36,36	363,64	133,77	127,27	46,92
Ácido Fólico (ug)	10,65	178,80	42,18	36,21	25,33
B ₁₂ (ug)	25,00	1.191,67	159,50	115,97	171,37
Vitamina C (mg)	16,00	414,87	126,74	109,78	78,79
Vitamina A (ug)	6,86	508,47	213,79	203,28	109,10
Vitamina E (mg)	0,00	180,67	48,64	45,33	25,03
Vitamina D (ug)	0,00	614,00	97,54	54,00	112,92

Tabla III
Ingesta de energía y nutrientes deducido de los cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos y de R24h, coeficientes de correlación de Spearman (r), y la estadística Bland-Altman

<i>Energía/Nutriente</i>	<i>FCA</i>		<i>R24h</i>		<i>r</i>	<i>Bland-Altman</i>	
	<i>Mediana</i>	<i>Amplitud intercuartil</i>	<i>Mediana</i>	<i>Amplitud intercuartil</i>		<i>Media diferencias</i>	<i>Límites de concordancia</i>
Energía (Kcal)	1.414,76	235,61	1.877,75	678,50	0,467**	542,81	1.780,77 a -695,15
Proteínas (g)	55,20	12,25	75,32	33,43	0,434**	28,34	89,56 a -32,88
Carbohidratos (g)	143,11	33,32	172,25	70,00	0,448**	-61,56	-330,56 a 207,44
Fibra (g)	13,46	4,28	8,02	2,47	0,230*	1,282	-11,786 a 14,35
Lípidos (g)	94,85	14,02	91,50	43,50	0,259*	2,890	78,49 a -72,71
Saturados (g)	27,949	6,70	30,100	21,73	0,297*	5,449	37,04 a -26,151
Monoinsaturados)	51,665	4,98	37,233	21,30	0,271*	-12,79	23,49 a -49,078
Poliinsaturados (g)	7,583	5,34	11,100	7,30	0,234*	2,36	14,494 a -9,774
EPA (g)	0,228	0,23	0,033	0,10	0,295*	-0,40	0,4 a -1,2
DHA (g)	0,285	0,29	0,100	0,30	0,271*	0,50	1,502 a -0,502
Colesterol (mg)	311,80	110,74	310,23	261,80	0,251*	47,25	513,53 a -419,03
Ca (mg)	539,01	71,84	1.262,80	551,15	0,287*	-557,02	-1.585,12 a 471,08
P (mg)	1.011,92	206,15	874,90	525,99	0,273*	-375,23	-1.356,73 a 606,27
Fe (mg)	8,024	2,47	11,100	4,85	0,302*	5,5149	45,34 a -34,32
Zn (mg)	9,166	3,77	9,000	5,80	0,286*	1,7290	12,639 a -9,181
Se (ug)	62,943	18,84	61,133	38,20	0,085	45,5150	826,71 a -735,69
Tiamina (mg)	0,680	0,20	1,300	0,90	0,314*	0,6625	1,848 a -0,528
Riboflavina (mg)	1,211	0,26	1,450	0,60	0,014	0,3618	1,418 a -0,698
Ácido Fólico (ug)	126,89	46,42	145,10	68	0,288*	36,9080	233,02 a -159,22
B12 (ug)	11,597	6,69	3,30	3,50	0,050	-3,5963	22,53 a -30,71
Vitamina C (mg)	27,770	8,01	84,650	74,70	0,285*	74,3970	201,03 a -52,25
Vitamina A (ug)	294,58	109,17	315,00	106,45	0,259*	1.881,0984	5.364,69 a -1.602,51
Vitamina E (mg)	4,496	1,24	6,800	4	0,271*	2,6796	10,296 a -4,956
Vitamina D (ug)	0,8814	0,60	2,700	5,82	0,234*	-5,20	-20,86 a 10,45

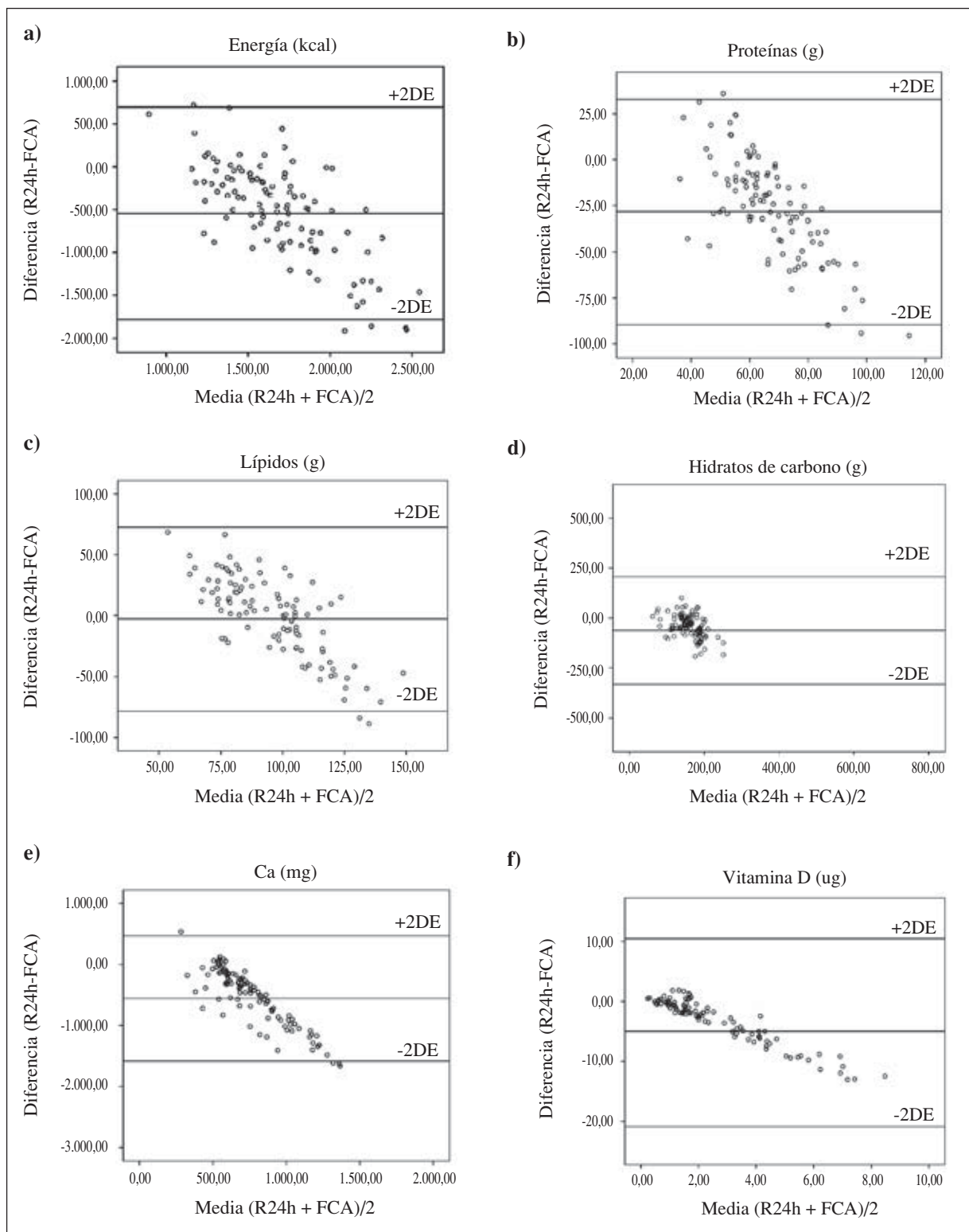


Fig. 1.—Valoración de la concordancia entre los cuestionarios de FCA y de R24h, según el método de Bland y Altman¹⁷. DE: desviación estándar.

Discusión

En el presente estudio se ha validado una encuesta de FCA para el análisis de la relación entre los hábitos nutri-

cionales de una población adulta y su salud ósea comparándolo con una encuesta de R24H. Este cuestionario se ha aplicado a 91 mujeres adultas de la provincia de Granada que comprendía un amplio rango de edad (18 a 65 años).

Tabla IV
Coeficientes de correlación de Spearman (ρ) entre la densidad mineral ósea y parámetros dietéticos

Nutriente	DMO	T Score	Z Score
Energía (g)	0,164	0,152	0,117
Proteínas (g)	0,177	0,202	0,178
Hidratos de Carbono (g)	0,164	0,152	0,117
Fibra (g)	0,053	0,030	0,023
Lípidos (g)	0,245	0,242*	0,186
Saturados (g)	0,118	0,003*	-0,002
Monoinsaturados (g)	0,233*	0,218	0,174
Poliinsaturados (g)	0,198	0,120	0,089
EPA (g)	0,244 *	0,291**	0,312*
DHA (g)	0,230 *	0,280*	0,297*
Colesterol (mg)	0,299**	0,281*	0,226*
Ca (mg)	0,237**	0,274*	0,256*
P (mg)	0,064	0,093	0,080
Fe (mg)	0,251*	0,257*	0,254*
Zn (mg)	0,190*	0,144*	0,106*
Se (ug)	0,251*	0,257*	0,254*
Tiamina (mg)	0,273*	0,274*	0,274*
Riboflavina (mg)	0,162	0,186	0,181
Ácido Fólico (ug)	0,209*	0,227*	0,371**
B ₁₂ (ug)	0,319**	0,289*	0,264*
Vitamina C (mg)	0,048	0,019	0,026
Vitamina A (ug)	0,242*	0,215*	0,223*
Vitamina E (mg)	0,048	0,095	0,096
Vitamina D (ug)	0,217*	0,243*	0,223*

$p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.

El número de muestra es suficiente para la validación de un cuestionario, teniendo en cuenta que numerosos estudios han utilizado un número similar de individuos para la validación de cuestionarios obteniéndose resultados aceptables^{12,13,20-22}. Asimismo la utilización del método de R24H para validar el FCA ha sido utilizado en numerosos trabajos^{23,24}. La administración del R24H en diferentes momentos del año eliminó los posibles errores correspondientes a las variabilidades estacionales.

La validez del FCA para determinar la exactitud de la ingesta alimentaria ha sido demostrada obteniéndose coeficientes de correlación de Spearman entre 0,014 y 0,467, siendo significativas para todos los nutrientes con la excepción del selenio, riboflavina y cianocobalamina. Al igual que en otros estudios¹³ los mayores coeficientes de correlación fueron para la energía y los macronutrientes. Asimismo el test de Bland-Altman muestra que no existe variación entre los dos métodos para los nutrientes investigados.

Los resultados del análisis de la relación existente entre la ingesta de nutrientes y la densidad mineral ósea nos ha llevado a encontrar asociaciones estadísticamente significativas entre ambos en la población estu-

diada. Entre los nutrientes más conocidos por su relación con la masa ósea se encuentran el calcio y la vitamina D. La ingesta de calcio es considerada como un factor decisivo en la formación ósea²⁵ debido a que una ingesta deficiente puede afectar adversamente a la pérdida de hueso relacionada con la edad²⁶⁻²⁷. Asimismo la vitamina D es esencial para la mineralización ósea, ya que mantiene las adecuadas cantidades de Ca y P en el suero y en los espacios extracelulares¹⁴. En nuestro estudio la ingesta de ambos nutrientes se asocia de manera significativa a la densidad mineral ósea.

En varios estudios recientes se ha encontrado una asociación positiva entre la DMO y los niveles plasmáticos de vitamina B₁₂ y folatos²⁸⁻³². Asimismo, se ha demostrado que niveles bajos de ácido fólico en plasma incrementan el riesgo de fractura^{32,33}. Nuestro trabajo confirma estos resultados al encontrar una asociación estadísticamente significativa entre la DMO y la ingesta de folatos y vitamina B₁₂. El efecto de la vitamina B₁₂ y el ácido fólico en el hueso puede ser directo³⁴ o indirecto, habiéndose demostrado que la deficiencia de ácido fólico y vitamina B₁₂ incrementa los niveles plasmáticos de homocisteína, lo que origina una aparición temprana de la osteoporosis y un incremento en el riesgo de fracturas relacionadas con la edad^{32,34,35}.

El hierro es fundamental para todas las células incluidos los osteoblastos, relacionados con la formación ósea³⁶. La ingesta dietética de hierro se ha asociado a un incremento en la densidad mineral ósea en mujeres postmenopáusicas³⁶⁻³⁸. Asimismo en estudios realizados en ratas se ha observado una disminución en la DMO en animales con deficiencia en hierro³⁹⁻⁴¹. Nuestro estudio señala que la ingesta de hierro puede ser un factor importante en la mineralización ósea al encontrar significación estadística en la correlación entre dicha ingesta y la DMO en mujeres sanas.

Algunas publicaciones sugieren que la cantidad y el tipo de grasa de la dieta pueden tener importantes efectos en la salud ósea⁴². Estudios *in vivo* han demostrado que la ingesta de ácidos grasos polinsaturados n-3, pueden influenciar la formación y reabsorción del hueso⁴³⁻⁴⁵. Asimismo en estudios realizados en humanos se ha comprobado que la concentración de ácidos grasos n-3, especialmente DHA, está positivamente asociada con la DMO^{42,46}. Nuestros datos apoyan esta hipótesis al encontrar una asociación significativa entre la ingesta de EPA y DHA y la DMO.

Con respecto a los monoinsaturados, un estudio realizado en Grecia⁴⁷ ha mostrado la existencia de una asociación positiva, tanto en hombres como en mujeres adultas, entre la ingesta de grasa monoinsaturada y la densidad mineral del hueso. Los autores subrayan que las fracturas de cadera son substancialmente menores en Grecia que en USA o los países del norte de Europa. Asimismo, en nuestro trabajo el consumo de monoinsaturados se asocia significativamente con la masa ósea.

En conclusión, este trabajo valida un cuestionario de FCA que pretende valorar la relación entre hábitos alimentarios y masa ósea. La aplicación de dicho cuestio-

nario a una población de mujeres sanas nos ha permitido deducir la importancia de una dieta rica en vitaminas del grupo B, vitamina D, calcio, hierro y ácidos grasos monoinsaturados y n-3 en la salud ósea.

Agradecimientos

Este estudio forma parte de un proyecto de investigación que se está realizando en colaboración con el Excmo. Ayuntamiento de Granada (Estudio de la situación nutricional de la unidad familiar en la ciudad de Granada. Contrato Universidad de Granada y Ayuntamiento de Granada. Años: 2007-2009).

Referencias

- Pouillès JM, Trémollières FA, Ribot C. Osteoporosis in otherwise healthy perimenopausal and early postmenopausal women: Physical and biochemical characteristics. *Osteoporos Int* 2006; 17: 193-200.
- Ashwell M, Stone E, Mathers J y cols. Nutrition and bone health projects funded by the UK Food Standards Agency: have they helped to inform public health policy. *British J Nutrition* 2008; 99: 198-205.
- Ofluoglu D, Gunduz OH, Bekiroglu N, Kul-Panza E, Akyuz G.A method for determining the grade of osteoporosis based on risk factors in postmenopausal women. *Clin Rheumatol* 2005; 24: 606-11.
- Devine A, Dhaliwal SS, Dick IM y cols. Physical activity and calcium consumption are important determinants of lower limb bone mass in older women. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 1634-1639.
- Devine A, Dick IM, Islam AF y cols. Protein consumption is an important predictor of lower limb bone mass in elderly women. *Am J Clin Nutr* 2005; 81: 1423-1428.
- Dick IM, Devine A, Li S y cols. The T869C TGF beta polymorphism is associated with fracture, bone mineral density, and calcaneal quantitative ultrasound in elderly women. *Bone* 2003; 33: 335-341.
- Dick IM, Devine A, Prince RL. Association of an aromatase TTTA repeat polymorphism with circulating estrogen, bone structure, and biochemistry in older women. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2005; 288: E989-E995.
- Arana-Arri E, Gutiérrez-Ibarluzea I, Eceñarro Mugaguren A, Asua Batarrita J. Prevalence of certain osteoporosis-determining habits among post menopausal women in the Basque Country, Spain. *Rev Esp Salud Publica* 2007; 81: 647-56.
- Kannus P, Uusi-Rasi K, Palvanen M, Parkkari J. Non-pharmacological means to prevent fractures among older adults. *Ann Med* 2005; 37: 303-10.
- Zhu K, Devine A, Prince RL. The effects of high potassium consumption on bone mineral density in a prospective cohort study of elderly postmenopausal women. *Osteoporos Int* 2008 (In press).
- Serra L. Prólogo. In: Nutrición y Salud Ósea, ed. M Díaz, A Gil, J Mataix pp. 6-8. España: Puleva food.
- Paul DR, Rhodes D, Kramer M, Baer DJ, Rimpler WV. Validation of a food frequency questionnaire by direct measurement of habitual ad libitum food intake. *Am J Epidemiol* 2005; 162: 806-14.
- Trinidad I, Fernández J, Cuco G, Biarnés E, Arijia V. Validación de un cuestionario de frecuencia de consumo alimentario corto: reproducibilidad y validez. *Nutr Hosp* 2008; 23: 242-252.
- Quintas ME, Ortega RM, López-Sobaler AM, Garrido G and Requejo AM. Influence of dietetic and anthropometric factors and the type of sport practised on bone mineral density in different groups of women. *Eur J Clin Nutr* 2003; 57: 58-62.
- Campoy C, Olea-Serrano F, Jiménez M, Bayés R, Cañabate F, Rosales MJ, Blanca E, Olea N. Diet and organochlorine contaminants in women of reproductive age under 40 years old. *Early Hum Dev* 2001; 65: 173-182.
- Rivas A, Cerrillo I, Granada A, Mariscal-Arcas M, Olea-Serrano F. Pesticide exposure of two age groups of women and its relationship with their diet. *Sci Total Environ* 2007; 382: 14-21.
- Bland JM y Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet* 1986; i: 307-309.
- Marriott L, Inskip H, Borland S y cols. What do babies eat? Evaluation of a food frequency questionnaire to assess the diets of infants aged 12 months. *Public Health Nutr* 2008.
- Sullivan B, Brown J, Williams P, Meyer B. Dietary validation of a new Australian food-frequency questionnaire that estimates long-chain n-3 polyunsaturated fatty acids. *Brit J Nutr* 2008; 99: 660-666.
- Gulliford M, Mahabir D, Nunes C, Roche B. Self-administration of a food security scale by adolescents: item functioning, socio-economic position and food intakes. *Public Health Nutr* 2005; 8: 853-60.
- Sullivan BL, Williams PG, Meyer BJ. Biomarker validation of a long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acid food frequency questionnaire. *Lipids* 2006; 41: 845-50.
- Verkleij-Hagoort AC, De Vries JH, Stegers MP, Lindemans J, Ursem NT, Steegers-Theunissen RP. Validation of the assessment of folate and vitamin B₁₂ intake in women of reproductive age: the method of triads. *Eur J Clin Nutr* 2007; 61: 610-5.
- Rockett HR, Breitenbach M, Frazier AL y cols. Validation of a youth/adolescent food frequency questionnaire. *Prev Med* 1997; 26: 808-16.
- Daures JP, Gerber M, Scali J, Astre C, Bonifaj C, Kaaks R. Validation of a food-frequency questionnaire using multiple-day records and biochemical markers: application of the triads method. *J Epidemiol Biostat* 2000; 5: 109-15.
- More J. Children's bone health and meeting calcium needs. *J Fam Health Care* 2008; 18: 22-24.
- Bonjour JP, Brandolini-Bunlon M, Boirie Y, Morel-Laporte F, Braesco V, Bertièrre MC, Souberbielle JC. Inhibition of bone turnover by milk intake in postmenopausal women. *Br J Nutr* 2008; 26: 1-9.
- Uenishi K, Ishida H, Nakamura K. Development of a simple food frequency questionnaire to estimate intakes of calcium and other nutrients for the prevention and management of osteoporosis. *J Nutr Sci Vitaminol* 2008; 54: 25-29.
- Baines M, Kredan MB, Usher J, Davison A, Higgins G, Taylor W, West C, Fraser WD, Ranganath LR (2007) The association of homocysteine and its determinants MTHFR genotype, folate, vitamin B₁₂ and vitamin B₆ with bone mineral density in postmenopausal British women. *Bone* 2007; 40: 730-736.
- Cagnacci A, Baldassari F, Rivolta G, Arangino S, Volpe A. Relation of homocysteine, folate, and vitamin B₁₂ to bone mineral density of postmenopausal women. *Bone* 2003; 33: 956-959.
- Gjesdal CG, Vollset SE, Ueland PM, Refsum H, Drevon CA, Gjessing HK, Tell GS. Plasma total homocysteine level. Vitamin B Intakes and Bone and bone mineral density: the Hordaland Homocysteine Study. *Arch Intern Med* 2006; 166: 88-194.
- Golbahar J, Hamidi A, Aminzadeh MA, Omrani GR. Association of plasma folate, plasma total homocysteine, but not methylenetetrahydrofolate reductase C667T polymorphism, with bone mineral density in postmenopausal Iranian women: a cross-sectional study. *Bone* 2004; 35: 760-765.
- Rejnmark L, Vestergaard P, Hermann AP, Brot C, Eiken P, Mosekilde L. Dietary intake of folate, but not vitamin B₂ or B₁₂, is associated with increased bone mineral density 5 years after the menopause: results from a 10-year follow-up study in early postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 2008; 82: 1-11.
- Ravaglia G, Forti P, Maioli F, Servadei L, Martelli M, Brunetti N, Bastagli L, Cucinotta D, Mariani E (2005) Folate, but not homocysteine, predicts the risk of fracture in elderly persons. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci* 2005; 60: 1458-1462.

34. Van Meurs JBJ, Dhonukshe-Rutten RAM, Pluijm SMF, Van der Klift M, De Jonge R, Lindemans J, De Groot LCPG, Hofman A, Witteman JCM, van Leeuwen JPTM, Breteler MMB, Lips P, Pols HAP, Uitterlinden AG. Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture. *N Engl J Med* 2004; 350: 2033-2041.
35. McLean RR, Jacques PF, Selhub J, Tucker KL, Samelson EJ, Broe KE, Hannan MT, Cupples LA, Kiel DP. Homocysteine as a predictive factor for hip fracture in older persons. *N Engl J Med* 2004; 350: 2042-2049.
36. Harris MM, Houtkooper LB, Stanford VA, Parkhill C, Weber JL, Flint-Wagner H, Weiss L, Going SB and Lohman TG. Dietary iron is associated with bone mineral density in healthy postmenopausal women. *J Nutr* 2003; 133: 3598-3602.
37. Katsumata S, Tsuboi R, Uehara M, Suzuki K. Dietary iron deficiency decreases serum osteocalcin concentration and bone density in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006; 70: 2547-2550.
38. Maurer J, Harris MM, Stanford VA, Lohman TG, Cussler E, Going SB, Houtkooper LB. Dietary iron positively influences bone mineral density in postmenopausal women on hormone replacement therapy *J Nutr* 2005; 135: 863-869.
39. Medeiros DM, Plattner A, Jennings D, Stoecker B. Bone morphology, strength and density are compromised in iron-deficient rats and exacerbated by calcium restriction. *J Nutr* 2002; 132: 3135-3141.
40. Medeiros DM, Stoecker B, Plattner A, Jennings D and Haub M. Iron deficiency negatively affects vertebrae and femurs of rats independently of energy intake and body weight. *J Nutr* 2004; 134: 3061-3067.
41. Katsumata S, Tsuboi R, Uehara M, Suzuki K. Dietary iron deficiency decreases serum osteocalcin concentration and bone mineral density in rats. *Biosci Biotechnol Biochem* 2006; 70: 2547-2550.
42. Corwin RL, Hartman TJ, Maczuga SA, Graubard BI. Dietary saturated fat intake is inversely associated with bone density in humans: analysis of NHANES III. *J Nutr* 2006; 136: 159-165.
43. Höglström M, Nordström P, Nordström A. n-3 Fatty acids are positively associated with peak bone mineral density and bone accrual in healthy men: the NO2 Study. *Am J Clin Nutr* 2007; 85: 803-807.
44. Iwami-Morimoto Y, Yamaguchi K, Tanne K. Influence of dietary n-3 polyunsaturated fatty acid on experimental tooth movement in rats. *Angle Orthod* 1999; 69: 365-371.
45. Shen CL, Yeh JK, Rasty J, Chyu MC, Dunn DM, Li Y, Watkins BA. Improvement of bone quality in gonad-intact middle-aged male rats by long-chain n-3 polyunsaturated fatty acid. *Calcif Tissue Int* 2007; 80: 286-93.
46. Kruger MC, Horrobin DF. Calcium metabolism, osteoporosis and essential fatty acids: a review. *Prog Lipid Res* 1997; 36: 131-51.
47. Trichopoulou A, Georgiou E, Bassiakos Y y cols. Energy intake and monounsaturated fat in relation to bone mineral density among women and men in Greece. *Prev Med* 1997; 26: 395-400.