

Universidad CEU San Pablo
CEINDO- CEU Escuela internacional de Doctorado

PROGRAMA EN CIENCIA Y TECNOLOGÍA DE LA SALUD



CEU
*Escuela Internacional
de Doctorado*

**ESTADO DE HIDRATACIÓN COMO
POTENCIAL FACTOR DE RIESGO DE
SOBREPESO/OBESIDAD EN POBLACIÓN
ADULTA E INFANTO - JUVENIL.**

TESIS DOCTORAL

presentada por:

Ana Isabel Laja García

Dirigida por:

Prof. Gregorio Varela Moreiras

Dra. Teresa Partearroyo Cediel.

MADRID

2020

La presente Tesis Doctoral, de acuerdo con el informe correspondiente, autorizado por los Directores de Tesis y el Órgano Responsable del Programa de Doctorado, se presenta como un compendio de cuatro trabajos previamente publicados que cumplen con las condiciones exigidas por la CEINDO. Las referencias completas de los artículos que constituyen el cuerpo de la presente Tesis Doctoral son los siguientes:

1. Laja-García AI, Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Validated questionnaire to assess the hydration status in a healthy adult Spanish population: a cross sectional study. *Nutrición Hospitalaria*. 2019; 36 (4): 875 – 883. Doi: 10.20960/nh.02533.

2. Laja-García AI, Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Adaptation and Validation of the Hydration Status Questionnaire in a Spanish Adolescent-Young Population: A Cross Sectional Study. *Nutrients* 2019; 11 (3): 565. Doi: 10.3390/nu11030565.

3. Laja-García AI, Moráis-moreno C, Samaniego-Vaesken ML, Puga AM, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Influence of Water Intake and Balance on Body Composition in Healthy Young Adults from Spain. *Nutrients* 2019; 11(8): 1923. Doi: 10.3390/nu11081923.

4. Laja-García AI, Moráis-moreno C, Samaniego-Vaesken ML, Puga AM, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Association between Hydration Status and Body Composition in Healthy Adolescents from Spain. *Nutrients* 2019; 11(11): 2692. Doi:10.3390/nu11112692

Así mismo, se considera oportuno incluir en los apéndices 1 y 2 de la Tesis los siguientes artículos que han constituido parte de la base formativa del doctorando y en los cuales participa como coautor:

Partearroyo T, **Laja García AI**, Varela-Moreiras G. Strengths and weaknesses of food and diet in the Spanish population of the 21st century. *Nutr Hosp* 2019; 2(36): 3-6. Doi 10.20960/nh.02685.

Arpón A, Milagro FI, **Laja A**, Segura V, de Piapaón MS, Riezu-Boj JI, Alfredo Martinez J. Methylation changes and pathways affected in preterm birth: a role of SLC6A3 in neurodevelopment. *Epigenomics* 2018; 10 (1): 91-103. Doi: 10.2217/epi-2017-0082

Escribir estas líneas me llenan de orgullo y felicidad. Suponen el logro de un objetivo profesional y personal, que no hubiera sido posible sin la ayuda y el apoyo incondicional de varias personas, motivo por el cual me gustaría dedicarles unas líneas de agradecimientos:

A mi Director de Tesis, el Dr. Gregorio Varela Moreiras por haber depositado su confianza en mi, y darme la oportunidad de conocer de cerca el maravilloso mundo de la investigación.

A mi Directora de Tesis, la Dra. Teresa Partearroyo Cediel. Teresa, no hay líneas suficientes para agradecer todo lo que has hecho por mi durante estos años. Tu apoyo, tu generosidad, tu implicación y tu cercanía han sido indispensables para poder realizar este trabajo. Eres inspiración profesional y personal, ¡muchas gracias!.

A todo el departamento de nutrición y en especial a mis “chicas del labo”, gracias a vosotras he conocido que significa trabajar en equipo. Me habéis apoyado y ayudado en todo momento sin esperar nada a cambio, lo que no solo os hace grandes compañeras, sino también grandes amigas.

A la Universidad San Pablo CEU, no imagino mejor lugar para culminar mis estudios que donde los inicié. Entre sus paredes he vivido algunos de los momentos más importantes de mi vida y sólo puedo darle las gracias por haberme brindado esta oportunidad.

A mi familia, porque desde pequeña me inculcaron los valores del esfuerzo, el trabajo y la perseverancia, siempre me han hecho ver que no existen barreras que no se pueden superar ni objetivos que no se pueden lograr si te los propones de verdad. Gracias por darme alas.

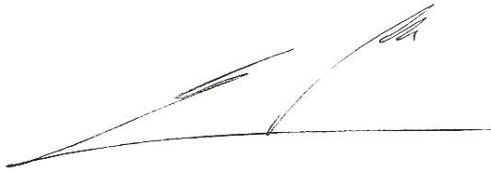
A los que siempre están ahí, mis amigos, gracias chicos por apoyarme en todo momento, y como no, a Catalina, uno de los regalos más bonitos que me ha ofrecido esta etapa de la vida.

Finalmente, a Pedro, mi compañero de vida, mi pilar, mi cómplice. Sin ti no hubiera sido posible, esta Tesis también es un poco tuya.

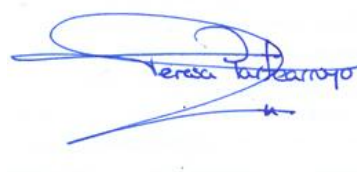
Gracias.

Este trabajo ha sido realizado en el Área de Nutrición y Bromatología del Departamento de Ciencias Farmacéuticas y de la Salud de la Facultad de Farmacia de la Universidad CEU San Pablo, bajo la dirección del Prof. Gregorio Varela Moreiras y la Dra. Teresa Partearroyo Cediel.

El Prof. Gregorio Varela Moreiras y la Dra. Teresa Partearroyo Cediel, directores de este trabajo, expresan su conformidad para la presentación del mismo por considerar que reúne los requisitos necesarios y constituye una aportación original al tema tratado.



Fdo. Prof. Gregorio Varela Moreiras



Fdo. Dra. Teresa Partearroyo Cediel

ÍNDICE

ABREVIATURAS	1
ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS	3
1. Resumen	9
2. Introducción y fundamentación teórica.....	13
3. Hipótesis y objetivos	21
4. Material y métodos.....	25
4.1. Muestra y muestreo	25
4.2. Diseño y validación de una herramienta para estimar el estado de hidratación en población adulta sana, española.....	26
4.2.1. Análisis y codificación del cuestionario en población adulta.	27
4.2.2. Validación del cuestionario en población adulta.	28
4.2.3. Análisis estadístico.....	31
4.3. Estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en la población adulta sana.....	32
4.3.1. Análisis estadístico.....	33
4.4. Adaptación y validación del cuestionario en población adolescente.....	34
4.4.1. Análisis del cuestionario de población adolescente.....	34
4.4.2. Validación del cuestionario en población adolescente.....	34
4.4.3. Análisis estadístico.....	35
4.5. Estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente.....	36
4.5.1. Análisis estadístico.....	37
5. Resultados.....	41
5.1. Resultados del diseño y validación de una herramienta para evaluar el estado de hidratación en población adulta sana española.....	41
5.2. Resultados del estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adulta sana española.....	52
5.2.1. Estado de hidratación y correlación con las variables antropométricas	56
5.3. Resultados de la adaptación y validación del cuestionario en población adolescente.	65
5.4. Resultados del estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente española.....	77

5.4.1. Estado de hidratación y su correlación con las variables antropométricas.	81
6. Discusión	97
7. Conclusiones	115
7.1. Conclusiones del estudio realizado en población adulta.	115
7.2. Conclusiones del estudio realizado en población adolescente.	115
7.3. Conclusión general.	116
9. Bibliografía	119
10. Anexo	141
10.1. Resumen y copia de los artículos publicados.	141
10.1.1. Laja-García AI, Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Validated questionnaire to assess the hydration status in a healthy adult Spanish population: a cross sectional study. <i>Nutrición Hospitalaria</i> . 2019; 36 (4): 875 – 883. Doi: 10.20960/nh.02533. <i>Cuestionario válido para determinar el estado de hidratación en población adulta sana española: un estudio transversal.</i>	141
10.1.2. Laja-García AI, Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Varela-Moreiras G Adaptation and Validation of the Hydration Status Questionnaire in a Spanish Adolescent-Young Population: A Cross Sectional Study. <i>Nutrients</i> 2019; 11 (3) : 565. Doi: 10.3390/nu11030565. <i>Adaptación y validación del cuestionario para estimar el estado de hidratación en una población de jóvenes adolescentes españoles: Un estudio transversal.</i>	152
10.1.3. Laja García AI, Moráis-moreno C, Samaniego-Vaesken ML, Puga AM, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Influence of Water Intake and Balance on Body Composition in Healthy Young Adults from Spain. <i>Nutrients</i> 2019; 11(8): 1923. Doi: 10.3390/nu11081923. <i>Influencia de la ingesta de agua y el balance hídrico en la composición corporal de adultos sanos españoles.</i>	167
10.1.4. Laja García AI, Moráis-moreno C, Samaniego-Vaesken ML, Puga AM, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Association between Hydration Status and Body Composition in Healthy Adolescents from Spain. <i>Nutrients</i> 2019; 11(11): 2692. Doi:10.3390/nu11112692. <i>Asociación entre el estado de hidratación y la composición corporal en adolescentes sanos españoles.</i>	181
10.2. Documentos	199
10.2.1. Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación.	199
10.2.2. Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación para adolescentes.	210

10.2.3. Modelo de registro dietético empleado en el estudio de población adulta.	219
10.2.4. Modelo de registro dietético empleado en el estudio en población adolescente.....	227
10.2.5. Modelo de registro del acelerómetro.	233
10.2.6. Cuestionario Internacional de actividad física, versión corta (IPAQ-SF)	234
10.2.7. Modelo de consentimiento informado para la participación en el proceso de validación del cuestionario de adultos.	236
10.2.8. Modelo de consentimiento informado para la participación en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adulta.	240
10.2.9. Modelo de consentimiento informado para la participación en el proceso de validación del cuestionario de hidratación en población adolescente.	242
10.2.10. Modelo de consentimiento informado para la participación en el estudio de la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal en población adolescente	247
10.2.11. Modelo de informe entregado a los participantes en el proyecto en población adulta.	253
10.2.12. Modelo de informe entregado a los niños que participaron en el proyecto en población adolescente.....	259
10.2.13. Modelo de informe entregado a las niñas que participaron en el proyecto en población adolescente.....	266
Apéndice.....	275
1. Apéndice. Partearroyo T, Laja A, Varela-Moreiras G. Fortalezas y debilidades de la alimentación en la población española del siglo XXI. Nutr Hosp 2019;36 (Nº Extra 1): 3-6.	275
2. Apéndice. Arpón A, Milagro FI, Laja A, Segura V, Sáenz de Pipaón M, Riezu-Boj JI, Martínez A. Methylation changes and pathways affected in preterm birth: a role for SLC6A3 in neurodevelopment. Epigenomics 2018; 10(1): 91-103.	279

ABREVIATURAS

(En orden alfabético)

ACT: Agua corporal total

ANIBES: *Anthropometric data, macronutrients and micronutrients intake, practice of physical activity, socioeconomic data and lifestyles in Spain* (Datos antropométricos, ingesta de macronutrientes y micronutrientes, práctica de actividad física, datos socioeconómicos y estilos de vida en España).

BEVQ: *Beverage Intake Questionnaire* (Cuestionario de la Ingesta de Bebidas)

ENPE: Estudio Nutricional de la Población Española

CC: Circunferencia de la cintura

CCI: Coeficiente de correlación intraclase

CFCA: cuestionario de frecuencia de consumo de agua, bebidas y alimentos

EFSA: *European Food Safety Authority* (Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria)

HSQ: *The Hydration Status Questionnaire* (Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación)

HSQ-AY: *The Hydration Status Questionnaire for Adolescent-Young* (Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de jóvenes adolescentes).

IMC: Índice de Masa Corporal

IPAQ-SF: Versión corta del Cuestionario Internacional de Actividad Física.

ISAK: Sociedad Internacional para el Avance de la Cineantropometría (*International Society for the Advancement of Kinanthropometry*)

MG: masa grasa

MM: masa magra

MMS: masa magra seca

OECD: Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico

OMS: Organización Mundial de la Salud

PAD: Presión arterial diastólica

PAS: Presión arterial sistólica

PASOS: *Physical Activity, Sedentarism and Obesity in Spanish Youth Study*. (Estudio de Actividad Física, Sedentarismo y Obesidad en jóvenes españoles)

PIB: Producto Interior Bruto

RD3: Registro dietético de tres días

WBQ: *Water Balance Questionnaire* (Cuestionario del Balance Hídrico)

ÍNDICE DE TABLAS Y FIGURAS

Tablas

Tabla 1. Temperaturas medias registradas en Madrid durante el proceso de validación del cuestionario	29
Tabla 2. Temperaturas medias registradas en Madrid durante los meses en los que se llevó a cabo el estudio en población adulta	33
Tabla 3. Temperaturas medias registradas en Madrid durante el proceso de validación del cuestionario en población adolescente	35
Tabla 4. Temperaturas medias registradas durante los meses en que se llevó a cabo el estudio en población adolescente	37
Tabla 5. Características antropométricas, contenido en agua corporal, marcadores urinarios, hematológicos y datos hemodinámicos de los participantes según el sexo (n = 39)	42
Tabla 6. Ingesta, eliminación y balance hídrico procedentes del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación HSQ y del diario dietético de tres días según el sexo	43
Tabla 7. Actividad física realizada por los participantes incluidos en la validación del cuestionario	44
Tabla 8. Correlación entre la ingesta y el balance de agua con los marcadores hídricos analizados en la muestra completa	45
Tabla 9. Correlación entre la ingesta y el balance de agua con los marcadores hídricos analizados en la población masculina	47
Tabla 10. Correlación entre la ingesta y el balance de agua con los marcadores hídricos analizados en la población femenina	48
Tabla 11. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico en la población masculina	49
Tabla 12. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico en la población femenina	49
Tabla 13. Resultados del estudio de reproducibilidad del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación	50

Tabla 14. Características antropométricas de los participantes en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adulta sana española	53
Tabla 15. Ingesta de agua, eliminación, balance hídrico e ingesta de agua normalizada por el peso corporal, en función del sexo	54
Tabla 16. Actividad física realizada por los participantes incluidos en el estudio de la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal en población adulta	55
Tabla 17. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico en la población masculina	55
Tabla 18. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico en la población femenina	56
Tabla 19. Correlación entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal con las variables antropométricas analizadas en la población masculina	57
Tabla 20. Correlación entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal con las variables antropométricas analizadas en la población femenina	58
Tabla 21. Diferencias en las variables de ingesta de agua en función del Índice de Masa Corporal en la población masculina	59
Tabla 22. Diferencias en las variables de ingesta de agua en función del Índice de Masa Corporal en la población femenina	60
Tabla 23. Diferencias en las variables antropométricas en función del balance hídrico en la población masculina	61
Tabla 24. Diferencias en las variables antropométricas en función del balance hídrico en la población femenina	62
Tabla 25. Diferencias en las variables antropométricas en función de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal en la población masculina	63
Tabla 26. Diferencias en las variables antropométricas en función de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal en la población femenina	64
Tabla 27. Ingesta de agua normalizada por el peso corporal en un análisis de regresión lineal	65
Tabla 28. Características antropométricas, contenido en agua, marcadores urinarios, hematológicos y datos hemodinámicos de los participantes en el proceso de validación	66

Tabla 29. Ingesta, eliminación y balance hídrico procedentes del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de adolescentes jóvenes y del diario dietético de tres días, según el sexo	67
Tabla 30. Actividad física realizada por los participantes incluidos en la validación del cuestionario para población adolescente	68
Tabla 31. Correlación entre la ingesta y el balance hídrico con los marcadores hídricos analizados en la muestra completa	70
Tabla 32. Correlación entre la ingesta y el balance hídrico con los marcadores hídricos analizados, en niños	71
Tabla 33. Correlación entre la ingesta y el balance hídrico con los marcadores hídricos analizados, en niñas	72
Tabla 34. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico, en niños	73
Tabla 35. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico, en niñas	74
Tabla 36. Resultados del estudio de reproducibilidad del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de adolescentes jóvenes	75
Tabla 37. Características antropométricas de los participantes en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente española	78
Tabla 38. Ingesta de agua, eliminación y balance hídrico de los participantes en función del sexo	79
Tabla 39. Actividad física realizada por los participantes incluidos en el estudio de la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal en población adolescente	80
Tabla 40. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico, en niños	81
Tabla 41. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico, en niñas	81
Tabla 42. Correlaciones entre la ingesta de agua y el balance hídrico con las variables antropométricas, en niños	82
Tabla 43. Correlaciones entre la ingesta de agua y el balance hídrico con las variables antropométricas, en niñas	83
Tabla 44. Correlaciones entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal y las variables antropométricas, en niños	85
Tabla 45. Correlaciones entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal y las variables antropométricas, en niñas	86

Tabla 46. Diferencias en las variables de ingesta de agua y balance hídrico en función del índice de masa corporal, en niños	87
Tabla 47. Diferencias en las variables de ingesta de agua y balance hídrico en función del índice de masa corporal, en niñas	88
Tabla 48. Diferencias en las variables antropométricas en función del balance hídrico, en niños	89
Tabla 49. Diferencias en las variables antropométricas en función del balance hídrico, en niñas	90
Tabla 50. Diferencias en las variables antropométricas en función de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal, en niños	91
Tabla 51. Diferencias en las variables antropométricas en función de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal, en niñas	92
Tabla 52. Ingesta de agua normalizada por el peso corporal en un análisis de regresión lineal	93

Figuras.

Figura 1. Protocolo de validación del Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación	30
Figura 2. Protocolo de validación del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de adolescentes jóvenes	35
Figura 3. tamaño muestral empleado en el proceso de validación del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación	41
Figura 4. Gráficos Bland-Altman de la diferencia vs la media de las variables: a. Ingesta de agua; b. Ingesta de agua procedente de bebidas; c. Ingesta de agua procedente de alimentos; d. Ingesta de agua total, e. Eliminación de agua; f. Balance hídrico	51
Figura 5. Tamaño muestral empleado en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adulta	52
Figura 6. Tamaño muestral empleado en el proceso de validación del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de adolescentes jóvenes	65
Figura 7. Gráficos Bland-Altman de la diferencia vs la media de las variables: a. Ingesta de agua; b. Ingesta de agua procedente de bebidas; c. Ingesta de agua procedente de alimentos; d. Ingesta de agua total, e. Eliminación de agua; f. Balance hídrico	76
Figura 8. Tamaño muestral empleado en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente española	77

1. Resumen

1. Resumen.

La obesidad es la enfermedad o condición metabólica más frecuente del siglo XXI y el punto de partida de patologías de diversa índole y gravedad, cuya consecuencia final es una disminución de la calidad y esperanza de vida. Su prevalencia se ha ido incrementando progresivamente a nivel mundial, considerándose hoy en día una verdadera pandemia, ante la cual resulta prioritario establecer medidas que permitan su prevención, así como nuevas formas de tratamiento. Tradicionalmente, se ha considerado que el desarrollo de la obesidad se originaba por un desequilibrio energético mantenido en el tiempo, como consecuencia de una ingesta energética excesiva y/o un gasto calórico deficiente y que, por tanto, los hábitos dietéticos, así como la práctica de actividad física eran sus únicos determinantes. Sin embargo, hoy día se sabe que aunque ambos factores son cruciales, no justifican por sí solos su alta prevalencia, y que existen otros muchos implicados, entre los que podría encontrarse la ingesta hídrica y el balance hídrico. Este hecho resulta especialmente interesante, ya que ello permitiría establecer recomendaciones accesibles, sencillas y económicas y que, por tanto, podrían ser aplicadas a nivel poblacional. Sin embargo, hasta hace relativamente poco tiempo el agua era el *nutriente olvidado*, y no ha sido hasta los últimos años cuando su estudio ha adquirido relevancia en el ámbito de la investigación, dándose a conocer la gran repercusión que el estado de hidratación ejerce sobre la salud y el bienestar humano. Sin embargo, su estimación entraña una gran dificultad, ya que se trata de un proceso dinámico, sujeto a numerosas variables, cuya evaluación clásica requiere de técnicas complicadas y de elevado coste. Además, a pesar de que se han propuesto diversos biomarcadores, ninguno de forma individual parece ser apropiado para todas las situaciones. Igualmente, se observan grandes diferencias en los resultados de ingesta hídrica obtenidos en los estudios realizados hasta la fecha, hecho que se debe principalmente a la metodología empleada en la recogida de dicha información (encuestas dietéticas clásicas como recuerdos de 24 horas o registros dietéticos), las cuales tienden a infraestimar las bebidas y alimentos consumidos fuera de las comidas principales, en contraposición a los cuestionarios específicos, poniendo así de manifiesto la importancia de emplear herramientas adecuadas en la realización de encuestas y trabajos de investigación. Profundizar en el conocimiento sobre la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal, así como ahondar en la posibilidad de establecer recomendaciones hídricas como forma de prevención del sobrepeso y la obesidad resulta de gran interés en la actualidad.

2. Introducción y fundamentación teórica

2. Introducción y fundamentación teórica.

La obesidad es uno de los problemas de Salud Pública más graves del siglo XXI. Ha alcanzado proporciones epidémicas a nivel mundial, causando la muerte de más de 2,8 millones de personas al año según los últimos datos publicados por la Organización Mundial de la Salud (OMS) [1], cifra que podría ascender a los 4 millones según el informe *Obesity: Health and Economic Consequences of an Impending Global Challenge* (Obesidad: Consecuencias sanitarias y económicas un desafío muy latente) publicado recientemente por el Banco Mundial [2]. En cualquier caso, las enfermedades asociadas a la obesidad se encuentran actualmente entre las tres primeras causas de muerte en todo el mundo, excepto en el África Subsahariana [2].

Su prevalencia se ha triplicado desde 1975 a nivel mundial y a día de hoy se estima que más del 40% de la población padece sobrepeso u obesidad [2, 3]. Concretamente, en España, los últimos datos disponibles proceden de la Encuesta Nacional de Salud [4] e indican que un 54,5% de la población adulta padece exceso de peso (sobrepeso: 37,1%, obesidad: 17,4%), siendo superior en hombres (sobrepeso: 44,3%, obesidad: 18,2%) que en mujeres (sobrepeso: 30,1%, obesidad: 16,7%). Sin embargo, esta encuesta se basa en datos auto-referidos y los datos son inferiores a los proporcionados por otras fuentes, como el observatorio de la OMS [3], el cual indica que un 61,6 % de la población española padece exceso de peso (sobrepeso: 37,8%, obesidad: 23,8%) o el estudio Estudio Nutricional de la Población Española (ENPE) [5], cuyos datos indican que la prevalencia de exceso de peso es de un 60,9% (sobrepeso: 39,3%, obesidad: 21,6%). En población infantil los datos tampoco son alentadores, la referencia representativa más actualizada procede del estudio PASOS (*Physical Activity, Sedentarism, and Obesity in Spanish Youth*, Actividad Física, Sedentarismo y Obesidad en Jóvenes Españoles) [6, 7], realizado en niños y adolescentes de 8 a 16 años de edad, el cual indica que la prevalencia de exceso de peso es del 34,9% (sobrepeso: 20,7%, obesidad: 14,2%), mientras que la Encuesta Nacional de Salud [4], realizada en población de 2 a 17 años de edad, proporciona datos algo inferiores, indicando que un 26,8 % de la población padece exceso de peso (sobrepeso: 18,3%, obesidad: 10,3%), sin encontrar diferencias importantes entre sexos (sobrepeso niños: 18,3%, obesidad niños: 10,4%; sobrepeso niñas: 18,2%, obesidad niñas: 10,2%). Tanto el Observatorio de la OMS [3] (población de 5 a 19 años de edad), como el estudio ENPE [5] (población de 9 a 18 años de edad) obtienen datos similares a los proporcionados por el estudio PASOS, indicando que la

prevalencia de exceso de peso es del 34,1% y el 34,0%, respectivamente [8]. Estos hechos sitúan a España en la decimoctava posición en el ranking de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OCDE) en cuanto a prevalencia de sobrepeso y obesidad en población adulta y en la duodécima en población infantil [6], por lo que indudablemente la obesidad supone un problema de salud con alto impacto en España.

La obesidad es una condición crónica, inflamatoria, sistémica y recurrente, caracterizada por una acumulación anormal o excesiva de grasa [3, 9], a la que se asocian comorbilidades de distinta índole y gravedad, entre las que destacan las alteraciones metabólicas (diabetes mellitus tipo 2 y dislipemias), y complicaciones no metabólicas como hipertensión arterial sistémica, síndrome de hipoventilación y de apnea obstructiva del sueño, hígado graso, colelitiasis, osteoartritis, enfermedad cardiovascular, algunos tipos de neoplasias, artropatía degenerativa de articulaciones de carga, infertilidad, síndrome de ovarios poliquísticos, incontinencia urinaria, nefrolitiasis, fibrilación auricular y ciertos tipos de demencias, entre otras [10-13]. Así mismo, no se deben olvidar las repercusiones a nivel social y psicológico, asociándose con falta de autoestima, sentimiento de culpabilidad y rechazo social [14, 15]. Además, el inicio de esta enfermedad se desarrolla cada vez a edades más tempranas y como consecuencia, cada vez son más los afectados por enfermedades y factores de riesgo asociados, cuyo origen típicamente se daba en la edad adulta, y que conducen a una vida más corta y de peor calidad [16-19]. Las repercusiones psicosociales en la población infantil cobran especial importancia, ya que puede derivar en depresión, ansiedad, desorden obsesivo-compulsivo, baja autoestima, fracaso escolar y mayor probabilidad de sufrir acoso escolar, entre otras [20-24]. También es importante resaltar las repercusiones económicas que esta situación implica para el país. Según el informe de la OCDE publicado en el año 2019, “en España el sobrepeso representa el 9,7% del gasto en salud y reduce la producción del mercado de trabajo en una cuantía equivalente a 479.000 trabajadores a tiempo completo, lo que se traduce en que el sobrepeso reduce el Producto Interior Bruto (PIB) español en un 2,9%” [25].

El desencadenamiento de la obesidad se origina por un desequilibrio energético mantenido en el tiempo, derivado de una ingesta energética excesiva y/o un gasto calórico deficiente [26] y, por tanto, los hábitos dietéticos, así como la práctica de actividad física son los principales determinantes de la misma, considerados tradicionalmente los únicos responsables [27]. Sin embargo, hoy día se sabe que estos dos factores no justifican por sí solos su alta prevalencia [28], y que existen otros

muchos implicados, entre los que destacan la alteración en la microbiota [29], alteraciones genéticas, epigenéticas y metagenómicas [30-32], sueño insuficiente [33], niveles altos de estrés [34] y, según diversos estudios [35, 36], el consumo de agua insuficiente también podría estar implicado, entre otros. Por lo tanto, ahondar en el posible papel de dichos factores en la prevención del sobrepeso y la obesidad resulta de gran interés. De entre los factores previamente citados, es especialmente interesante el posible efecto del aporte hídrico y el estado de hidratación sobre el peso y la composición corporal, ya que de ser así, se podrían establecer recomendaciones accesibles, sencillas y económicas y que, por tanto, podrían ser aplicadas a nivel poblacional. Sin embargo, hasta hace relativamente poco tiempo el agua era el “nutriente olvidado”, y ha sido en los últimos años cuando tanto el estudio del agua *per se*, como el estudio del estado de hidratación, ha adquirido un gran interés en el ámbito de la investigación y de la Salud Pública [37]. A raíz de estas investigaciones, se ha observado que un consumo adecuado de agua, así como un correcto estado de hidratación, se asocian con numerosos beneficios para la salud [38], entre los que cabe destacar la mejora del rendimiento físico y mental [39-41], mejores hábitos alimentarios y de estilo de vida [36, 42, 43] así como un peso y composición corporal más saludables [35, 36, 44-47]. De hecho, esta asociación entre el consumo de agua y el peso corporal ha sido plasmada en varias revisiones sistemáticas en población adulta e infantil [35, 36], las cuales concluyen que el incremento del consumo de agua podría tener un papel beneficioso en individuos que se encuentran en programas de pérdida o mantenimiento de peso. Así como, un efecto reductor del peso, si bien es cierto que la evidencia disponible para establecer causalidad es aún débil [48, 49], ya que la calidad de los estudios incluidos es limitada, principalmente debido al carácter observacional y/o transversal de los mismos.

El estado de hidratación se define como el nivel de fluidos que presenta el organismo, y se encuentra determinado por el balance hídrico (BH) (diferencia neta entre la ingesta y eliminación de agua) [39]. Se trata de un proceso dinámico, que se encuentra regulado de forma muy precisa, de tal forma que bajo condiciones ambientales de temperatura y humedad suaves y con un nivel de actividad físico moderado, permanece relativamente constante [37, 39]. Sin embargo, está influenciado por diversos factores entre los que destacan la ingesta de bebidas y alimentos, la actividad física, la edad, el consumo de fármacos y las condiciones ambientales [50, 51], pudiendo generarse desequilibrios tanto por exceso como por defecto, siendo más habituales estos últimos. Cuando el consumo de agua no es suficiente para compensar las pérdidas, el organismo entra en estado de

deshidratación, situación que conlleva repercusiones negativas, tanto si esta es aguda [38, 52] (confusión, delirio, y daño en la función renal, inmune y gastrointestinal) como si es leve pero sostenida (dolor de cabeza, irritabilidad, y disminución del rendimiento físico y de la función cognitiva, entre otras) [53]. Sin embargo, conocer el estado de hidratación de la población de forma precisa entraña una gran complejidad, ya que el recambio de agua en el organismo ocurre de forma constante, al igual que su movimiento entre los compartimentos intra y extracelulares [54]. Su evaluación clásica, requiere de pruebas y técnicas inviables a escala comunitaria dada su complejidad y/o elevado coste, como la espectrometría de masas por dilución con Deuterio, Oxígeno-18, Bromuro o Tritio, la conductividad eléctrica total y la bioimpedancia espectroscópica [55-57]. Con el objetivo de sustituir dichas pruebas, se han desarrollado algunas ecuaciones de regresión, pero la fiabilidad de las mismas es limitada [58-60]. También se han propuesto diversos marcadores, entre los que destacan los marcadores sanguíneos (presión arterial, hematocrito y concentración de hemoglobina), urinarios, (osmolaridad, volumen, gravedad específica y color de la orina) y salivares (concentración de proteínas, osmolalidad y flujo), así como la estimación del agua corporal a través de impedancia bioeléctrica. Sin embargo, ninguno de ellos ha sido reconocido como marcador de referencia, ya que no existe un método ideal para todas las situaciones [54, 61-63]. Por último, se han diseñado algunos cuestionarios que evalúan la ingesta hídrica y/o el estado de hidratación como el *Beverage Intake Questionnaire (BEVQ)* [64] y el *Water Balance Questionnaire (WBQ)* [65], y aunque ello supone un gran avance tanto en el ámbito clínico como en el campo de la investigación, cuentan con importantes limitaciones.

La situación descrita hace que exista un gran desconocimiento sobre el estado hídrico de la población española, si bien es cierto que en los últimos años se han realizado varios estudios con el objetivo de conocer el consumo de agua, cuyos resultados son preocupantes, ya que muestran que una gran parte de la población no cumple con las recomendaciones establecidas por la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (*European Food Safety Authority, EFSA*) [66]. Concretamente, en España, según el estudio ANIBES [67] (n = 2285) más del 75% de la población adulta no cumple con dichas recomendaciones. Los resultados obtenidos en población infantil mostraron la misma tendencia, observándose una ingesta de agua diaria en niños y niñas con edades comprendidas entre los 9 y los 13 años de edad, de $1398,0 \pm 43,3$ mL y de $1235,5 \pm 40,1$ mL, respectivamente y que, por tanto, tampoco llegan a cubrir dichas recomendaciones. En este sentido, también cabe destacar que se observan grandes diferencias en los resultados de ingesta obtenidos en los distintos estudios realizados

hasta la fecha, hecho que se debe principalmente a la metodología empleada en la recogida de dicha información [68-70]. Aquellos estudios que emplean encuestas dietéticas clásicas como recuerdos de 24 horas o registros dietéticos, obtienen resultados generalmente inferiores que aquellos que emplean cuestionarios específicos, ya que suelen infraestimar las bebidas y alimentos consumidos fuera de las comidas principales. Además, la mayoría de cuestionarios específicos desarrollados y validados hasta la fecha no tienen en cuenta la ingesta de agua procedente de alimentos [64] que, por lo general, supone aproximadamente un 20% [70-73] del aporte hídrico diario y que, por tanto, debe ser tenido en cuenta a la hora de valorar el consumo de agua, o finalmente no están diseñados y validados en población española [65].

La información expuesta en la presente Tesis Doctoral ha sido publicada en cuatro artículos de investigación.

- **Laja-García AI, Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Varela-Moreiras G.** *Validated questionnaire to assess the hydration status in a healthy adult Spanish population: a cross sectional study. Nutrición Hospitalaria. 2019; 36 (4): 875 – 883. Doi: 10.20960/nh.02533.* El índice de impacto en el año 2018, según el Journal Citation Report es: 0.754. La revista ocupa la posición 74 de 86, Q4) dentro de la categoría: NUTRITION & DIETETICS.
- **Laja-García AI, Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Varela-Moreiras G** *Adaptation and Validation of the Hydration Status Questionnaire in a Spanish Adolescent-Young Population: A Cross Sectional Study. Nutrients 2019; 11 (3) : 565. Doi: 10.3390/nu11030565.* El índice de impacto en el año 2018, según el Journal Citation Report es: 4.171. La revista ocupa la posición 16 de 87, Q1) dentro de la categoría: NUTRITION & DIETETICS.
- **Laja García AI, Moráis-moreno C, Samaniego-Vaesken ML, Puga AM, Partearroyo T, Varela-Moreiras G.** *Influence of Water Intake and Balance on Body Composition in Healthy Young Adults from Spain. Nutrients 2019; 11(8): 1923. Doi: 10.3390/nu11081923.* El índice de impacto en el año 2018, según el Journal Citation Report es: 4.171. La revista ocupa la posición 16 de 87, Q1) dentro de la categoría: NUTRITION & DIETETICS.
- **Laja García AI, Moráis-moreno C, Samaniego-Vaesken ML, Puga AM, Partearroyo T, Varela-Moreiras G.** *Association between Hydration Status and Body Composition in Healthy Adolescents from Spain. Nutrients 2019; 11(11): 2692. Doi:10.3390/nu11112692.* El índice de impacto en el año 2018, según el

Journal Citation Report es: 4.171. La revista ocupa la posición 16 de 87, Q1)
dentro de la categoría: NUTRITION & DIETETICS

3. Hipótesis y objetivos

3. Hipótesis y objetivos.

La obesidad es en la actualidad, de acuerdo a la OMS, la primera causa de riesgo para la salud en Europa. A pesar de los muchos programas destinados a su prevención desde las instituciones públicas, su prevalencia sigue en aumento, lo que hace necesario nuevos enfoques en la búsqueda de factores etiológicos, entre los que está el estado de hidratación, y en nuevas posibilidades de intervención. Varios expertos han subrayado la importancia del consejo nutricional sobre una hidratación saludable, dentro de las guías dietéticas y de hábitos de vida, para el correcto manejo y prevención de los problemas de salud pública como la obesidad y el sobrepeso [74].

Por todo lo anterior, la presente Tesis Doctoral pretende contribuir a un mejor conocimiento del estado de hidratación como biomarcador de un adecuado peso corporal en población española.

Nuestra propuesta plantea el diseño, validación y posterior aplicación de un cuestionario que valora el balance hídrico corporal, ya que se ha constatado que un estado inadecuado de hidratación se encuentra relacionado con el peso corporal, aunque se desconoce su papel *real*.

Como se ha mencionado anteriormente, la evaluación del estado de hidratación, de forma clásica, requiere de pruebas y técnicas complicadas y de elevado coste, inviábiles a escala comunitaria. El diseño de un cuestionario específico, permitiría identificar de forma rápida y sencilla a las personas con ingesta hídrica insuficiente y poder actuar para evitar las consecuencias que supone para la salud. Existen ya algunos cuestionarios elaborados como el BEVQ-15 [64], que ha sido validado para estimar la ingesta de líquidos, pero que no tiene en cuenta a los alimentos sólidos como fuente de agua, ni proporciona información sobre las pérdidas hídricas; el WBQ [65] soslaya ambos problemas, pero ha sido diseñado de acuerdo a los hábitos dietéticos y de vida de población griega y al ser un cuestionario cerrado, es difícilmente trasladable a la población española.

Por todo ello, consideramos prioritario elaborar un cuestionario aplicable a población española, que nos ayude a cribar a los individuos con deterioro de su estado hídrico, para posteriormente evaluar la asociación entre esta situación deficitaria y la composición corporal, como primer paso para profundizar en la relación agua/sobrepeso y poder establecer medidas de prevención e intervención adecuadas.

El mencionado cuestionario sería una herramienta apropiada de valoración del estado nutricional a emplear en posteriores proyectos en el ámbito de la nutrición, en muy diversos aspectos de la relación dieta/factores de riesgo/patologías.

Hipótesis de partida:

- Hipótesis nula: un correcto estado de hidratación está asociado a un menor índice de masa corporal y a una composición corporal adecuada.
- Hipótesis alternativa: las personas con diferentes índices de composición corporal presentan estados de hidratación similares.

Objetivos generales:

1. Diseñar y validar una herramienta que evalúe adecuadamente el estado de hidratación en población general (adolescentes y adultos), y permita el cribado de las personas con riesgo de deficiencia en su ingesta hídrica.

Subobjetivos específicos 1:

- Diseñar dos cuestionarios que evalúen con precisión, tanto la ingesta de agua como las pérdidas hídricas, con el objeto de evaluar el balance hídrico en dos grupos de población de diferente edad.
 - Evaluar la validez y reproducibilidad de los cuestionarios frente a parámetros bioquímicos y de composición corporal.
2. Determinar si un inadecuado estado de hidratación se asocia a un mayor índice de masa corporal.

Subobjetivos específicos 2:

- Aplicar el cuestionario a una muestra de voluntarios sanos (adolescentes y adultos), y determinar su composición corporal mediante técnicas antropométricas, así como factores confundentes como dieta o actividad física.

4. Material y métodos

4. Material y métodos.

4.1. Muestra y muestreo.

El presente trabajo incluyó el estudio de población adulta y adolescente, y en ambos casos se obtuvo la aprobación del Comité de Ética en Investigación Clínica de la Universidad CEU San Pablo (Madrid) con referencias 106-15 y 120/16/06, respectivamente, y se adhirió a las recomendaciones de la Declaración de Helsinki sobre aspectos éticos en investigación biomédica [75]. Todos los datos personales se trataron de manera confidencial y sólo los investigadores asignados al proyecto tuvieron acceso a los mismos. En cualquier caso, se aplicó la Ley de Protección de Datos de Carácter Personal 15/1999 del 13 de Diciembre [76] y en las acciones desarrolladas con fecha posterior al 7 de Diciembre de 2018, el Reglamento General de Protección de Datos (2016/679) [77] y la Ley de Protección de datos 2018 [78].

Los criterios de inclusión fueron: a) individuos mental y físicamente sanos con: a.1) edades comprendidas entre los 18 y los 39 años (estudio en población adulta joven) y con a.2) edades comprendidas entre los 12-18 años (estudio en población adolescente). Los criterios de exclusión fueron: a) individuos que sufrieran enfermedades relacionadas con el estado de hidratación, como daño renal, infección de orina, alteraciones del balance hídrico y diabetes; b) mujeres que tuvieran la menstruación en el momento del estudio.

Todos los voluntarios fueron debidamente informados, en una reunión explicativa previa, sobre en qué consistía su participación, y sólo se incluyeron aquellos voluntarios que firmaron el consentimiento informado. En el caso de los menores de 18 años, los padres o tutores también recibieron dicha información y firmaron el correspondiente consentimiento informado autorizando la participación de sus hijos o tutelados.

El reclutamiento de los participantes se realizó a través de charlas informativas en seis centros educativos privados-concertados emplazados en diversas ciudades españolas (Madrid, Vitoria, Murcia y Alicante) y un instituto público perteneciente a la Comunidad de Madrid, así como en la Universidad CEU San Pablo de Madrid, donde también se difundió por vía telemática y en los tablones de información. El estudio se desarrolló en cuatro fases, algunas de ellas simultáneas en el tiempo:

1. Diseño y validación del cuestionario en adultos: se llevó a cabo en los meses comprendidos entre octubre y diciembre de 2015 (ambos incluidos), en el Campus de Montepríncipe de la Universidad CEU San Pablo (Madrid, España)
2. Estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en adultos: se inició en octubre de 2015 y finalizó en octubre de 2017 en el mismo emplazamiento que la primera fase.
3. Adaptación y validación del cuestionario en población adolescente: se llevó a cabo en los meses de abril y mayo de los años 2017 y 2018 en tres centros educativos de la Comunidad de Madrid: Colegio Arcadia (Villanueva de la Cañada), Instituto de Educación Secundaria las Encinas (Villanueva de la Cañada), Colegio CEU San Pablo Montepríncipe (Boadilla del Monte/Alcorcón).
4. Estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente: la última fase comenzó en abril de 2018 y finalizó en marzo de 2019 en siete centros educativos: Los tres centros previamente citados, además de en el Colegio CEU San Pablo Sanchinarro (Madrid), Colegio CEU Virgen Niña (Vitoria), Colegio CEU Jesús María (Alicante), y Colegio CEU San Pablo (Murcia).

4.2. Diseño y validación de una herramienta para estimar el estado de hidratación en población adulta sana, española.

Se realizó en primer lugar una revisión para determinar los principales factores que afectan al estado de hidratación [39, 64-66, 68]. Una vez evaluados, estos fueron incluidos en el cuestionario titulado, *The Hydration Status Questionnaire* (Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación) (HSQ) y agrupados en 5 ítems: a) información personal, b) historia médica, c) hábitos y conocimientos sobre hidratación, d) cuestionario de frecuencia de consumo de agua, bebidas y alimentos (CFCA), y e) eliminación de agua.

La ingesta hídrica se estimó a través del CFCA. Dicho apartado del cuestionario incluyó todas las bebidas y alimentos con un contenido en agua superior al 75%, presentes en las Tablas de Composición de Alimentos Españolas [79]. Los alimentos y bebidas seleccionados se agruparon en doce apartados: agua; zumos; leche y derivados lácteos (batidos y yogures); bebidas refrescantes; cafés; infusiones y té; bebidas alcohólicas; otras bebidas (cerveza sin alcohol, bebidas energéticas, sorbetes, gelatinas y bebidas para deportistas); otros (bebidas vegetales, horchata y batidos sustitutivos de comidas); frutas; verduras; y platos típicos de la gastronomía española

que presentan un alto contenido en agua (gazpacho, salmorejo, sopas y caldos, y cremas de verduras). Para evaluar la cantidad consumida, se emplearon distintas medidas caseras como “vaso”, “taza”, “jarra”, “lata”, “botellín”, “plato hondo”, o “cuenco”. La frecuencia de consumo se determinó empleando cuatro categorías: “nunca”; “mensualmente”; “semanalmente” y “a diario”. Para determinar los momentos de consumo se incluyeron siete opciones en el cuestionario: “antes del desayuno”, “con el desayuno”, “durante la mañana”, “con la comida”, “durante la tarde”, “con la cena”, y “por la noche”. Por último, se incluyó un apartado para que los participantes indicaran si consumían los alimentos o bebidas durante todo el año, o sólo en las estaciones donde fueran predominantes.

Para estimar la eliminación de agua se tuvieron en cuenta sus tres principales vías de eliminación (piel, riñones e intestino). La eliminación de agua a través de orina y heces se estimó en función de la frecuencia de micción y defecación (micción: una vez al día, 2-4 veces/día, 5-7 veces/día, 8-10 veces/día, más de 10 veces al día, defecación: una vez al día, 5-6 veces/semana, 3-4 veces/semana, 1-2 veces/semana, menos de una vez cada 10 días) [80]. Por último, para estimar la cantidad de agua eliminada a través del sudor, se empleó una escala de 10 puntos por duplicado [80], de tal forma que con una de ellas se estimó la eliminación de agua a través del sudor en momentos sedentarios y, con la otra, durante la práctica de actividad física. La duración e intensidad de la actividad física realizada durante tres días consecutivos fue determinada empleando la técnica de la acelerometría a través del acelerómetro ActiGraph GT3X[®], método más preciso disponible en la actualidad, para evaluar tanto la duración como la intensidad de la actividad física [81]. Por último, los participantes también cumplimentaron la versión corta del cuestionario internacional de actividad física (IPAQ-SF) [82].

4.2.1. Análisis y codificación del cuestionario en población adulta.

El contenido en agua de las bebidas y alimentos incluidos en el cuestionario se calculó empleando las Tablas de Composición de Alimentos de Moreiras y cols. [79] de acuerdo a la fórmula: mililitros de bebida/alimento consumido al día * duración de su estacionalidad en días/365 * contenido en agua/100 * porción comestible. Con esta información se determinaron cuatro variables: 1) ingesta de agua (agua de grifo, agua embotellada con y sin gas y agua de sabores), 2) ingesta de agua procedente de bebidas (a la variable ingesta de agua, se le suma el agua procedente de zumos, leche y derivados lácteos, bebidas refrescantes, cafés, infusiones y té, bebidas alcohólicas, cerveza sin alcohol, bebidas energéticas, sorbetes, gelatinas, bebidas

para deportistas, horchata y batidos sustitutivos de comidas) 3) ingesta de agua procedentes de alimentos (frutas, verduras, recetas con alto contenido en agua) y 4) ingesta total de agua (agua de bebidas y agua de alimentos). Todas las variables se expresaron como mililitros de agua/día.

Para estimar la eliminación de agua a través de orina y heces, las cinco opciones de frecuencia previamente citadas se trataron como escalas de 5 puntos, en las que la primera opción (una vez/día) se correspondía con 1 punto y la última (micción: más de 10 veces al día, defecación: 1 vez cada 10 días) con 5 puntos. En la escala de frecuencia de micción, 1 punto correspondía con 750 mL agua eliminada al día y 5 puntos en 2500 mL [66, 83], mientras que en la escala de frecuencia de defecación, 1 punto correspondía con 150 mL de agua eliminada al día y 5 puntos con 75 mL [83, 84]. La estimación de la cantidad de agua eliminada a través del sudor en condiciones sedentarias se realizó empleando la escala de 10 puntos previamente citada, de acuerdo al siguiente procedimiento: las horas diarias en las que el individuo no practicaba actividad física se multiplicaron por un factor que dependía de la puntuación dada en la escala de 10 puntos, de tal forma que, 1 punto correspondía con 0,01 mL agua/hora y 10 puntos se correspondía con 0,02 mL agua/hora. La estimación de la eliminación de agua a través de sudor durante la práctica de actividad física se realizó de forma similar: las horas diarias de actividad física realizada se multiplicaron por el factor dado en la segunda escala de 10 puntos. Dicho factor dependía de la intensidad de la actividad física de tal forma que, para una actividad física intensa, 1 punto correspondía con 1000 mL agua/hora y 10 puntos con 2000 mL/hora; para actividad física moderada, 1 punto correspondía con 400 mL/hora y 10 puntos con 700 mL/hora; por último, para actividad física leve, 1 punto correspondía con 200 mL/hora y 10 puntos con 400 mL/hora (los valores intermedios en las escalas varían de forma análoga) [83, 85]. Para evaluar la intensidad de la actividad física se empleó la información proporcionada por los acelerómetros. Finalmente, se constituyeron cuatro variables de eliminación: 1) eliminación de agua a través de orina, 2) eliminación de agua a través de heces, 3) eliminación de agua a través de sudor, y 4) eliminación de agua total (calculada como la suma de las anteriores), las cuales se expresaron como mL de agua/día. Por último, el balance hídrico se definió como la diferencia entre la ingesta y la eliminación total de agua.

4.2.2. Validación del cuestionario en población adulta.

La validación del cuestionario se llevó a cabo a través de la determinación de varios

marcadores biológicos del estado de hidratación [54, 61, 86]: gravedad específica y color de orina, hemoglobina plasmática, hematocrito y contenido en agua corporal. Para validar el CFCA incluido en el cuestionario, los resultados procedentes del mismo se compararon con el consumo de agua resultante de un diario dietético de tres días (3DR) que los participantes cumplimentaron durante la misma semana del estudio. Además, se recogieron datos hemodinámicos (pulso, presión arterial sistólica (PAS) y presión arterial diastólica (PAD)) ya que, aunque no constituyen marcadores específicos del estado de hidratación, si se encuentran en estrecha relación con este [87]. Por último, la actividad física fue evaluada durante tres días consecutivos empleando la técnica de acelerometría. Para determinar la reproducibilidad del cuestionario, los participantes lo cumplimentaron por duplicado, con un transcurso de 28 días entre ambas ocasiones, y la actividad física fue evaluada a través del cuestionario IPAQ-SF [88].

Con el objetivo de mantener las condiciones ambientales estables durante el proceso de validación, todas las pruebas fueron llevadas a cabo en el laboratorio de Nutrición y Bromatología de la Universidad CEU San Pablo, empleando los mismos equipos, y fueron realizadas por el mismo personal investigador. Las temperaturas medias registradas en la ciudad de Madrid por la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET) [89] durante el periodo de validación se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Temperaturas medias registradas en Madrid durante el proceso de validación del cuestionario.

Año 2015			
	Octubre	Noviembre	Diciembre
Temperatura media (°C)	15,6	12,3	9,6

Información adquirida de la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET).

En la Figura 1 se encuentra representado el protocolo seguido para la validación del cuestionario.

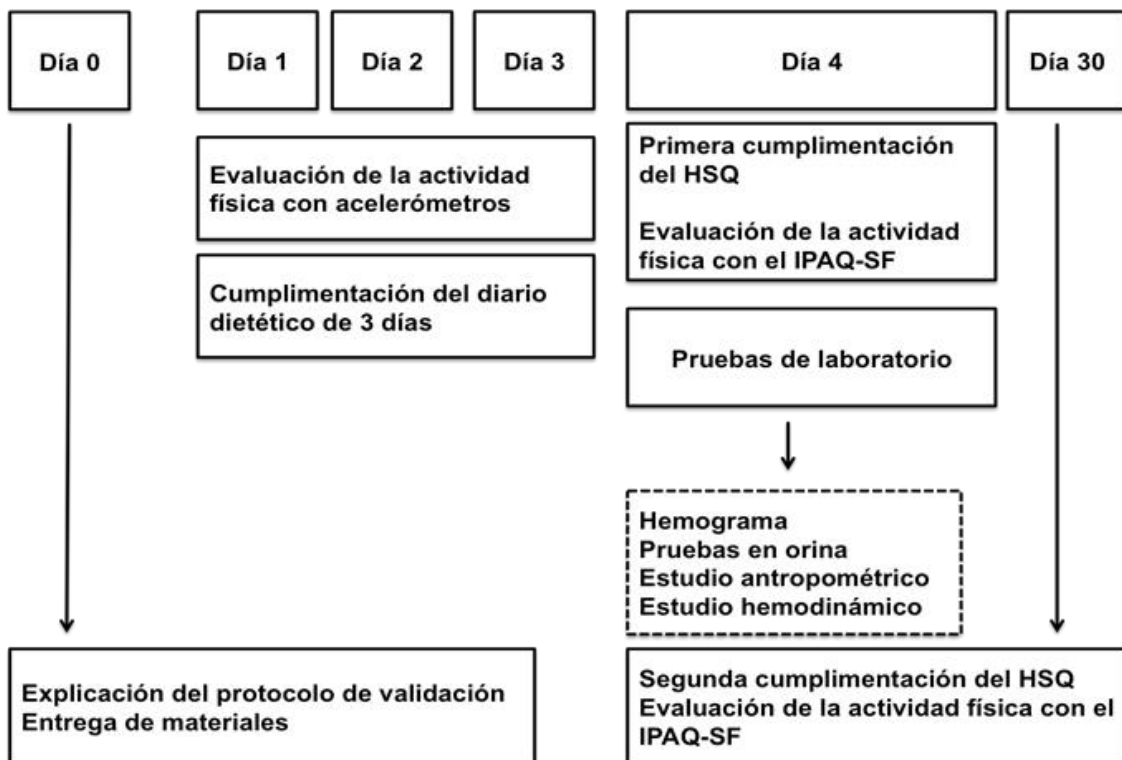


Figura 1: Protocolo de validación del Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación.

Durante tres días consecutivos (dos laborables y un festivo), los participantes cumplimentaron un diario dietético en el cual debían describir de forma detallada cada bebida y alimento consumido en este periodo de tiempo. Previamente fueron instruidos para que mantuvieran su dieta habitual y estilos de vida. El procesamiento de los datos procedentes del diario dietético de tres días se realizó con el software informático nutricional DIAL[®] [90]. La actividad física de los participantes también fue analizada durante este mismo periodo de tiempo a través de acelerómetros, lo que permitió conocer no solo la duración, sino también la intensidad de la actividad realizada. El cuarto día del estudio, los participantes cumplimentaban el cuestionario de hidratación y el cuestionario IPAQ-SF, y se recogieron las siguientes variables en condición de ayuno:

- Variables hematológicas: hemoglobina, hematocrito y eritrocitos fueron determinadas en sangre periférica del dedo a través del analizador Calligari[®].
- Estudio antropométrico: El peso se determinó empleando una escala digital con una precisión de 200g (Seca[®] 877), y la altura empleando un tallímetro de pared (Seca[®] 213) con una precisión de 0,1 cm. Las medidas antropométricas

fueron realizadas de acuerdo a las recomendaciones de la Sociedad Internacional para el Avance de la Cineantropometría (*International Society for the Advancement of Kinanthropometry*, ISAK) [91] por antropometristas acreditados nivel I y II del propio equipo investigador. Por último, se determinó el contenido en agua corporal por análisis de impedancia bioeléctrica multifrecuencia a través del equipo Bioscan Spectrum[®] (Bodystat 1500). Dicho equipo funciona midiendo la impedancia a dos frecuencias distintas de 5 y 50 kHz con una precisión de impedancia de 2-3 Ω , una resistencia (50 kHz): $\pm 1 \Omega$ y ángulo de fase (50 kHz): ± 0.2 . La prueba fue realizada bajo condiciones controladas [92]: con los participantes en condición de ayuno (de líquidos y sólidos), sin haber realizado actividad física intensa en las 24 horas previas, en la postura corporal recomendada (decúbito supino), con la correcta posición de electrodos y en la misma franja horaria (de 9:00 a 10:00 de la mañana).

- Variables urinarias: en una muestra de la primera orina de la mañana se determinó el color a través de la carta de color de orina [93], así como el pH y la gravedad específica a través de tiras reactivas (Spinreact[®]). Los resultados se compararon con los valores de referencia establecidos para dichos marcadores en primera orina de la mañana [94] (euhydratación: gravedad específica: 1.023 – 1.025 g/L y color de la orina: 4-5).
- Variables hemodinámicas: pulso, PAS, PAD se determinaron con un esfigmomanómetro digital (Omron[®] M3 model).

4.2.3. Análisis estadístico.

Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza del 95% para las variables de distribución normal (peso, altura, porcentaje de agua corporal, litros de agua corporal, hematocrito, eritrocitos, hemoglobina, PAD, PAS y pulso) y como mediana y rango intercuartílico para las no paramétricas (gravedad específica, pH y color de orina). La ingesta y eliminación de agua así como el BH se trataron como variables no paramétricas. Para probar la normalidad de las variables, se empleó la prueba de Shapiro-Wilk. Las diferencias entre las variables de distribución normal se evaluaron con la prueba t de Student, y la prueba de U de Mann-Whitney se empleó para las variables no paramétricas. Las diferencias se consideraron significativas si $p \leq 0,05$. El coeficiente Rho de Spearman fue empleado para estimar la correlación entre el BH, las variables cuantitativas discretas (hemoglobina, hematocrito y agua corporal total) y la Tau-b de Kendall para las variables ordinales cualitativas (color de orina). La reproducibilidad se evaluó empleando el coeficiente de correlación intraclase

(CCI) para demostrar que los resultados eran consistentes a lo largo del tiempo. El método Bland-Altman fue empleado para representar gráficamente la concordancia entre las medidas obtenidas en ambas cumplimentaciones del cuestionario. Además, con el coeficiente Rho de Spearman se calcularon las tendencias potenciales (valores significativos de Rho, indican divergencia en las variables entre ambas cumplimentaciones) entre la diferencia y la media de las variables estimadas. La prueba de rangos de Wilcoxon también fue aplicada para evaluar diferencias entre ambas cumplimentaciones. Por último, para determinar la consistencia interna del cuestionario, se empleó el alpha (α) de Cronbach. El análisis estadístico se realizó con SPSS 24.0 Software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

4.3. Estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en la población adulta sana.

Para alcanzar este objetivo, se estimó el estado de hidratación de los participantes, y se les realizó un estudio antropométrico. La determinación del estado de hidratación se realizó a través del cuestionario HSQ previamente validado. Los participantes también cumplimentaron el cuestionario IPAQ-SF para evaluar la práctica de actividad física y poder así estimar la eliminación de agua a través del sudor.

La evaluación antropométrica incluyó las siguientes medidas:

- Peso: se determinó con una balanza digital con precisión de 200g (SECA[®] 877).
- Altura: determinada con un tallímetro de pared con una precisión de 0,1cm (Seca[®] 213).
- Circunferencia de la cintura: medida con una cinta métrica inextensible (Cescorf[®]).
- Agua corporal total, masa grasa, masa magra y masa magra seca: dichas medidas fueron estimadas a través de impedancia bioeléctrica (Bioscan Spectrum Multifrequency[®]).

Las medidas antropométricas fueron realizadas de acuerdo a las recomendaciones establecidas por ISAK [91] por antropometristas acreditados nivel I y II del propio equipo investigador. Con las medidas del peso y la altura, se calculó el índice de masa corporal (IMC) de acuerdo a la fórmula (peso (Kg)/altura² (m)) para clasificar a la población en: bajo peso, normopeso, sobrepeso u obesidad, de acuerdo al criterio establecido por la OMS [95]. La prueba de la impedancia bioeléctrica se realizó bajo las condiciones recomendadas citadas previamente [92]. Con el objetivo de mantener

las condiciones ambientales estables durante el estudio, todas las pruebas fueron llevadas a cabo en el laboratorio de Nutrición y Bromatología de la Facultad de Farmacia de la Universidad CEU San Pablo, empleando los mismos equipos, y fueron realizadas por el mismo personal investigador. Las temperaturas medias registradas en la ciudad de Madrid por AEMET [89] durante el periodo de estudio se muestran en la Tabla 2.

Tabla 2. Temperaturas medias registradas en Madrid durante los meses en los que se llevó a cabo el estudio en población adulta.

	Temperatura media (°C)		
	año 2015	año 2016	año 2017
Enero	-	7,9	6,0
Febrero	-	8,1	9,0
Marzo	-	9,2	11,6
Abril	-	11,9	15,6
Mayo	-	15,9	19,7
Octubre	15,6	17,3	19,0
Noviembre	12,3	9,8	-
Diciembre	9,6	8,4	-

Información adquirida de Agencia Estatal de Meteorología (AEMET)

4.3.1. Análisis estadístico.

Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza del 95%. Las diferencias entre las variables se analizaron con la prueba de t de Student y se consideraron significativas si $p \leq 0,05$. La relación entre el estado de hidratación y la composición corporal se evaluó a través del coeficiente de correlación de Pearson (r). Las diferencias en el consumo de agua y en el estado de hidratación en función del IMC se analizaron a través del test ANOVA y se consideraron significativas si $p \leq 0,05$. Finalmente, las diferencias en las variables antropométricas en función de los percentiles de balance hídrico ($< p_{25} = 161,7$ mL, $p_{25} - p_{50} = 161,7 - 859,8$ mL, $p_{50} - p_{75} = 859,9 - 1484,5$ mL, $> p_{75} = 1484,6$) y en función de los percentiles de consumo de agua normalizada por el peso corporal ($< p_{25} = 39,7$ mL/kg, $p_{25} - p_{50} = 39,8 - 49,0$ mL/kg, $p_{50} - p_{75} = 49,1 - 60,1$ mL/kg, $> p_{75} = 60,2$ mL/kg) fueron también analizadas con el test ANOVA y consideradas significativas si $p \leq 0,05$. Se realizó un modelo de regresión lineal para explorar las asociaciones entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal como variable dependiente y las variables de

composición corporal como predictoras independientes. Para realizar el análisis estadístico se empleó el Software SPSS 24.0 (IBM, Corp., Armonk, NY, USA).

4.4. Adaptación y validación del cuestionario en población adolescente.

Con el objetivo de adaptar el cuestionario a población adolescente, se empleó un lenguaje más sencillo y comprensible para la población diana y se incluyeron imágenes y dibujos de las bebidas y alimentos presentes en el cuestionario, así como de los diferentes tamaños de raciones. El cuestionario adaptado a población adolescente, titulado *The Hydration Status Questionnaire for Adolescent-Young* (Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de jóvenes adolescentes) (HSQ-AY), se compuso de 5 ítems generales: a) información personal, b) historia médica, c) hábitos y conocimientos de hidratación, d) CFCA, y e) eliminación de agua. En el CFCA se incluyeron todas las bebidas y alimentos presentes en las Tablas de Composición de Alimentos Españolas con un contenido en agua superior al 80% [96] y se clasificaron en 11 grupos: agua, zumos, bebidas refrescantes, leche y derivados lácteos, cafés, infusiones y tés, bebidas alcohólicas, otras bebidas (bebidas vegetales y horchata), frutas, verduras y preparaciones culinarias con alto contenido en agua. La frecuencia de consumo se evaluó empleando tres categorías: (a) diariamente; (b) semanalmente; y (c) mensualmente. Por último, se incluyeron cuatro opciones de momentos de consumo: “con el desayuno”, “con la comida”, “con la cena” y “entre horas”. La estacionalidad de frutas, verduras y platos se tuvo en cuenta en el procesamiento de datos [97, 98]. La sección de eliminación de agua no sufrió ninguna modificación respecto al cuestionario original.

4.4.1. Análisis del cuestionario de población adolescente.

El procesamiento de la información derivada del nuevo cuestionario se realizó de forma análoga al análisis del cuestionario de adultos descrito previamente en el apartado 4.2.1.

4.4.2. Validación del cuestionario en población adolescente.

El proceso de validación del cuestionario se realizó de forma análoga a la validación del cuestionario en población adulta. La única diferencia entre ambos protocolos reside en el tiempo en que los participantes portaron el acelerómetro. En este caso, la

actividad física fue evaluada durante 7 días consecutivos, mientras que en los adultos dicha evaluación tuvo una duración de 3 días.



Figura 2: Protocolo de validación del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de adolescentes jóvenes.

Las temperaturas medias registradas en la ciudad de Madrid por la AEMET [89] durante el proceso de validación se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. Temperaturas medias registradas en Madrid durante el proceso de validación del cuestionario en población adolescente.

	Año 2017		Año 2018	
	Abril	Mayo	Abril	Mayo
Temperatura media (°C)	15,6	19,7	13,1	17,0

Información adquirida por la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET).

4.4.3. Análisis estadístico.

Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza del 95%. Las diferencias entre las variables se analizaron con la prueba de T de Student y se consideraron significativas si $p \leq 0,05$. La validez del cuestionario se evaluó empleando el coeficiente de correlación de Pearson (r) para estimar la correlación entre la ingesta,

eliminación y balance de agua con las variables cuantitativas discretas (hemoglobina, hematocrito, USG, agua corporal total, pulso, PAD y PAS) y la Tau-b de Kendall para las variables cualitativas ordinales (color de la orina). La reproducibilidad se analizó a través del coeficiente de correlación intraclase (CCI) para demostrar que los resultados eran consistentes a lo largo del tiempo. El método de Bland-Altman fue empleado para representar gráficamente la concordancia entre las medidas obtenidas en ambas cumplimentaciones del cuestionario. Además, con el coeficiente de correlación de Pearson (r) se estimaron las tendencias potenciales (valores significativos de r , indican divergencia en las variables entre ambas cumplimentaciones) entre la diferencia y la media de las variables estimadas). También se empleó la prueba t de Student para evaluar las diferencias significativas entre ambas cumplimentaciones. Por último, para determinar la consistencia interna del cuestionario, se empleó el alpha (α) de Cronbach. El análisis estadístico se realizó con SPSS 24.0 Software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

4.5. Estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente.

El estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente se realizó de forma análoga al estudio en población adulta, si bien es cierto que existen algunas diferencias entre ambos protocolos que se detallan a continuación. Por un lado, en población adolescente, en esta fase del estudio la actividad física fue evaluada durante 7 días consecutivos a través de acelerómetros; sin embargo, como se ha descrito previamente en el apartado 4.2.2, en los adultos, esta fue evaluada a través del cuestionario IPAQ-SF. Por otro lado, dado el rango de edad de los participantes, estos fueron clasificados en bajo peso, normo-peso o sobrepeso/obesidad de acuerdo a los percentiles establecidos por la Fundación Faustino Orbegozo [99] para edad y sexo, en lugar de por los criterios establecidos por la OMS [95], ya que estos últimos son para población adulta. Por último, las pruebas fueron realizadas en las instalaciones de cada centro escolar participante, en lugar de la Universidad, manteniéndose el resto de condiciones del estudio constantes (equipos empleados, personal investigador, condición de ayuno de los participantes y condiciones ambientales suaves).

Las temperaturas medias registradas por la AEMET [89] en las ciudades donde se llevó a cabo el estudio se muestran en la Tabla 4.

Tabla 4. Temperaturas medias registradas durante los meses en que se llevó a cabo el estudio en población adolescente.

	Madrid		Murcia	Vitoria	Alicante
Meses de estudio	Octubre 2018	Enero 2019	Febrero 2019	Febrero 2019	Marzo 2019
Temperaturas Medias (°C)	15,8	6,8	10,8	1,3	14,0

Información adquirida por la Agencia Estatal de Meteorología (AEMET).

4.5.1. Análisis estadístico.

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. La normalidad de las variables fue probada con la prueba de Shapiro-Wilk. Las diferencias entre las variables fue determinada con la prueba U de Mann-Whitney y consideradas significativas si $p \leq 0,05$. La relación entre el estado de hidratación, el consumo de agua (agua, agua procedente de bebidas, agua procedente de alimentos y agua total) y las características antropométricas (peso, IMC, circunferencia de la cintura, masa grasa, masa magra, masa magra seca y agua corporal total) fueron evaluadas a través del coeficiente de correlación de Spearman (Rho). Las diferencias en el consumo de agua y en el estado de hidratación en función del IMC fueron analizada a través del test de Kruskal-Wallis, seguido de la prueba de Dunn para ajustar la comparación múltiple y ajustar los valores de p con la corrección de Bonferroni. Finalmente, las diferencias en las características antropométricas y la composición corporal en función de los percentiles del balance hídrico ($< p_{25} = -1545,9$ mL, $p_{25}-p_{50} = -1545,9 - -835,7$ mL, $p_{50}-p_{75} = -835,6 - -145,4$ mL, $> p_{75} = -145,4$ mL) y en función de los percentiles de agua normalizada por el peso corporal ($< p_{25} = 40,7$ mL/Kg, $p_{25}-p_{50} = 40,7 - 53,0$ mL/Kg, $p_{50}-p_{75} = 53,1 - 69,5$ mL/Kg $> p_{75} = 69,5$ mL/Kg) fueron analizadas también empleando el test de Kruskal-Wallis seguida de la prueba de Dunn para ajustar la comparación múltiple y ajustar los valores de p con la corrección de Bonferroni. Se realizó un modelo de regresión lineal para explorar las asociaciones entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal como variable dependiente y las variables de composición corporal como predictoras independientes. El análisis estadístico se realizó con SPSS 24.0 Software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

5. Resultados

5. Resultados.

5.1. Resultados del diseño y validación de una herramienta para evaluar el estado de hidratación en población adulta sana española.

Inicialmente, 40 voluntarios sanos participaron en el proceso de validación: 22 hombres (55%) con una media de edad de 24,4 (22,3 – 26,5) años y 18 mujeres (45%) con una media de edad de 21,6 (20,1 – 23,2) años. Una mujer fue eliminada en el procesamiento de datos por haber cumplimentado el cuestionario de forma incorrecta. El tamaño de la muestra cumple con el criterio de Nunnally [100], según el cual se recomienda un mínimo de 5 participantes por cada ítem incluido en el cuestionario para proceder a su correcta validación.

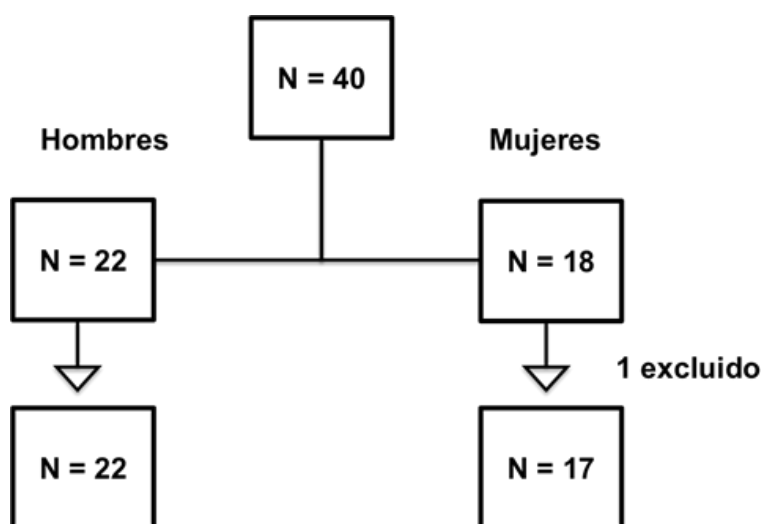


Figura 3: tamaño muestral empleado en el proceso de validación del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación.

Los resultados antropométricos, hematológicos, urinarios y hemodinámicos se encuentran recogidos en la tabla 5. Como puede observarse en dicha tabla, las variables analizadas se encontraban dentro de los valores fisiológicos normales para ambos sexos, de tal forma que se encontraron diferencias significativas en las variables antropométricas y hematológicas, y no se observaron diferencias en los marcadores urinarios. Por otro lado, la PAS fue significativamente superior en los hombres, sin observarse diferencias en la PAD ni en el pulso.

Tabla 5. Características antropométricas, contenido en agua corporal, marcadores urinarios, hematológicos y datos hemodinámicos de los participantes según el sexo (n = 39).

	Hombres (n = 22)	Mujeres (n = 17)	Valores p
Peso (kg)	74,0 (69,2 – 78,7)	56,9 (54,0 – 59,8)	0,000
Altura (cm)	180,9 (178,2 – 183,6)	165,5 (163,3 – 167,7)	0,000
Agua corporal (%)	57,1 (55,0 – 59,2)	52,5 (50,8 – 54,1)	0,002
Agua corporal (L)	41,8 (40,4 – 43,1)	29,8 (28,6 – 31,0)	0,000
Gravedad específica (g/L)	1,025 (1,020 – 1,030)	1,025 (1,020 – 1,030)	0,123
pH	5 (5-6)	5 (5-5)	0,952
Color de orina	4,0 (3,0 – 5,0)	4,0 (3,0 – 4,5)	0,579
Hematocrito (%)	44,9 (43,1 – 46,6)	40,5 (39,2 – 41,9)	0,000
Eritrocitos (mil/μL)	4,8 (4,7 – 5,0)	4,3 (4,2 – 4,5)	0,000
Hemoglobina (g/dL)	15,7 (15,1 – 16,3)	13,5 (12,7 – 14,3)	0,000
PAS (mmHg)	126,9 (121,9 – 132,0)	111,7 (106,6 – 117,2)	0,000
PAD (mmHg)	69,4 (65,6 – 73,1)	65,5 (61,8 – 69,1)	0,138
Pulso (latidos/minuto)	64,6 (60,7 – 69,0)	70,6 (64,1 – 77,1)	0,097

*PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica. Los resultados con distribución normal se presentan como la media (intervalo de confianza) y como la mediana (rango intercuartílico) los no paramétricos. *valores p derivados de la prueba t de student para las variables de distribución normal y derivados de la prueba U de Mann-Whitney para los no paramétricos después de controlar las características de distribución de los mismos.*

Los resultados de ingesta, eliminación y BH procedentes del cuestionario HSQ y los resultados de ingesta procedentes del 3DR se encuentran representados en la tabla 6. No se observaron diferencias significativas en la ingesta de agua procedente del HSQ entre ambos sexos. Sin embargo, según los datos procedentes del 3DR la ingesta de agua total fue significativamente superior en los hombres ($p = 0,023$). También se observó que la eliminación de agua era significativamente superior en los hombres, ya que el volumen de agua que eliminaban a través del sudor era superior en estos (hombres: 1406 (1135 – 1864) mL; mujeres: 964 (680 – 1312) mL; $p = 0,004$), aunque no se encontraron diferencias en la eliminación de agua a través de las heces (hombres: 150 (131- 150) mL; mujeres: 150 (112 – 150) mL $p = 0,644$) ni a través de la orina (hombres: 1406 (1188 – 1625) mL; mujeres: 1625 (1188 – 1625) mL; $p = 0,685$).

Tabla 6. Ingesta, eliminación y balance hídrico procedentes del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación HSQ y del diario dietético de tres días según el sexo.

	Hombres (n = 22)	Mujeres (n = 17)	Valores p
Ingesta de agua (mL/día)	1230 (1000 – 1800)	1336 (875 – 2000)	0,922
Ingesta de agua de bebidas (mL/día)	2334 (1930 – 2727)	2395 (1941 – 3003)	0,475
Ingesta de agua de alimentos (mL/día)	695 (361 – 935)	786 (523 – 1213)	0,181
Ingesta de agua total (mL/día)	3124 (2276 – 3753)	3278 (2754 – 4162)	0,528
Eliminación de agua (mL/día)	3145 (2552 – 3360)	2460 (2309 – 3087)	0,036
Balance hídrico (mL/día)	102 (-617 – 738)	521 (-51 – 1441)	0,067
Ingesta de agua total del 3DR (mL/día)	2868 (2278 – 3507)	2261 (1836 – 2818)	0,023

3DR: Diario dietético de tres días. Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. Valores p obtenidos a través de la prueba U de Mann-Whitney.

Los resultados de la intensidad y duración de la actividad física realizada por los participantes adquiridos a través de los acelerómetros se encuentran representados en la tabla 7. Como puede observarse, las mujeres permanecen mayor tiempo en estado sedentario que los hombres ($p = 0,030$), sin embargo, no se observan diferencias significativas en el tiempo dedicado a realizar actividad física ligera, moderada o vigorosa.

Tabla 7. Actividad física realizada por los participantes incluidos en la validación del cuestionario.

	Hombres (n = 22)	Mujeres (n =17)	Valores <i>p</i>
Tipo sedentaria (minutos/día)	1299 (1255 – 1315)	1318 (1296 – 1351)	0,030
Actividad física ligera (minutos/día)	70 (56 – 115)	71 (49 – 80)	0,240
Actividad física moderada (minutos/día)	54 (43 – 68)	41 (34 – 64)	0,110
Actividad física vigorosa (minutos/día)	8 (3 – 19)	5 (3 – 10)	0,251

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. Valores p obtenidos a través de la prueba U de Mann-Whitney

En la tabla 8, se encuentran representadas las correlaciones encontradas entre las variables de ingesta de agua (ingesta de agua, Ingesta de agua de bebidas, ingesta de agua de alimentos, ingesta de agua total) y el BH con los distintos marcadores del estado de hidratación incluidos en el estudio en la muestra completa. Como puede observarse, la gravedad específica se correlacionó con todas las variables de ingesta de agua así como con el BH. La fuerza de dicha asociación fue fuerte en el caso del balance hídrico ($r = -0,524$, $p = 0,001$) y de la ingesta de agua total ($r = -0,551$, $p = 0,000$) y moderada en el resto de variables (ingesta de agua: $r = -0,375$, $p = 0,019$; ingesta de agua de bebidas: $r = -0,395$, $p = 0,013$; ingesta de agua de alimentos: $r = -0,414$, $p = 0,009$). El color de la orina también se correlacionó de forma moderada e inversa con la ingesta de agua procedente de alimentos ($r = -0,355$, $p = 0,003$), la ingesta de agua total ($r = -0,346$, $p = 0,004$) y el BH ($r = -0,392$, $p = 0,001$) y de forma débil con la ingesta de agua ($r = -0,247$, $p = 0,045$). Por último, se encontró una fuerte correlación inversa entre la ingesta de agua procedente de alimentos y la PAS ($r = -0,504$, $p = 0,001$) y correlación inversa moderada entre esta misma variable y la PAD ($r = -0,443$, $p = 0,005$).

Tabla 8. Correlación entre la ingesta y el balance de agua con los marcadores hídricos analizados en la muestra completa.

	Ingesta de agua (mL/día)		Ingesta de agua de bebidas (mL/día)		Ingesta de agua de alimentos (mL/día)		Ingesta de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
Agua corporal (%)	-0,008	0,960	-0,042	0,801	-0,067	0,683	0,004	0,979	-0,199	0,225
Agua corporal (L)	-0,059	0,762	-0,094	0,569	-0,232	0,156	-0,142	0,388	-0,273	0,093
Gravedad específica (g/L)	-0,375	0,019	-0,395	0,013	-0,414	0,009	-0,551	0,000	-0,524	0,001
pH	0,171	0,299	0,025	0,881	-0,015	0,929	0,064	0,698	0,025	0,881
Color de orina	-0,247	0,045	-0,226	0,063	-0,355	0,003	-0,346	0,004	-0,392	0,001
Hematocrito (%)	0,009	0,956	-0,124	0,453	0,099	0,549	0,018	0,912	-0,185	0,260
Eritrocitos (mil/ μ L)	0,009	0,955	-0,042	0,802	-0,027	0,870	0,042	0,800	-0,199	0,231
Hemoglobina (g/dL)	-0,149	0,366	-0,190	0,247	-0,109	0,507	-0,161	0,329	-0,275	0,090
PAS (mmHg)	0,123	0,457	0,158	0,338	-0,504	0,001	-0,079	0,632	0,098	0,554
PAD (mmHg)	0,126	0,444	0,112	0,498	-0,443	0,005	-0,158	0,338	-0,088	0,592
Pulso (latidos/minuto)	0,191	0,245	0,237	0,146	-0,117	0,480	0,146	0,374	0,074	0,655

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (Rho) y Tau b de Kendal (T) para la variable color de orina.

PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica

En las tablas 9 y 10 se encuentran representados dichos resultados en función del sexo. Como puede observarse en la tabla 9, en los hombres, el BH, la ingesta de agua total y la ingesta de agua procedente de alimentos se correlacionaron de forma inversa con marcadores urinarios como gravedad específica (BH: rho = -0,451, p = 0,035; Ingesta de agua total: rho = - 0,570, p = 0,006; ingesta de agua procedente de alimentos: rho = -0,551, p = 0,008) y color de orina (BH: rho = -0,402, p = 0,016; Ingesta de agua total: rho = - 0,392, p = 0,018; ingesta de agua procedente de alimentos: rho = -0,490, p = 0,003). También puede observarse que la ingesta de agua procedente de alimentos se correlacionó inversamente con la variable hemodinámica, PAS (rho = - 0,440; p = 0,040). En cuanto a las mujeres, se observó que todas las variables de ingesta de agua (excepto la ingesta de agua procedente de alimentos) y el BH se correlacionaron de forma inversa con la gravedad específica (ingesta de agua: rho = - 0,616, p = 0,008; ingesta de agua de bebidas: rho = -0,497, p = 0,042; ingesta de agua total: rho = -0,516, p = 0,034; BH: rho = -0,672, p = 0,003); sin embargo, sólo el balance hídrico se correlacionó con el color de la misma (rho = - 0,438, p = 0,021). Por último, la ingesta de agua procedente de alimentos se correlacionó con el marcador sanguíneo hematocrito (rho = -0,622, p = 0,008), y al igual que en el caso de los hombres con la PAS (rho = - 0,644, p = 0,005).

También se compararon los resultados de ingesta hídrica obtenidos a partir del cuestionario con los obtenidos a través del 3DR y se analizó la existencia de asociación entre ambos, observándose que la ingesta de agua total procedente del 3DR se correlacionaba de forma positiva con la ingesta de agua (rho = 0,465, p = 0,003), la ingesta de agua procedente de bebidas (rho = 0,464, p = 0,003), y con la ingesta de agua total (rho = 0,432, p = 0,006). Sin embargo, al analizar dicha asociación en función del sexo, esta sólo se mantuvo en el grupo de los hombres (rho = 0,668, p = 0,001; rho = 0,696, p = 0,000; rho = 0,660, p = 0,001).

Tabla 9. Correlación entre la ingesta y el balance de agua con los marcadores hídricos analizados en la población masculina.

	Ingesta de agua (mL/día)		Ingesta de agua de bebidas (mL/día)		Ingesta de agua de alimentos (mL/día)		Ingesta de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
Agua corporal (%)	-0,040	0,861	-0,236	0,291	-0,058	0,799	-0,197	0,381	-0,216	0,334
Agua corporal (L)	0,127	0,573	-0,246	0,269	0,242	0,278	0,280	0,207	0,272	0,221
Gravedad específica (g/L)	-0,192	0,391	-0,398	0,066	-0,551	0,008	-0,570	0,006	-0,451	0,035
pH	0,330	0,134	0,182	0,417	0,168	0,456	0,168	0,456	0,095	0,675
Color de orina	-0,207	0,224	-0,202	0,227	-0,490	0,003	-0,392	0,018	-0,402	0,016
Hematocrito (%)	0,142	0,528	0,042	0,851	0,090	0,691	0,092	0,684	-0,121	0,592
Eritrocitos (mil/ μ L)	-0,017	0,940	-0,053	0,814	0,148	0,511	0,077	0,734	-0,295	0,183
Hemoglobina (g/dL)	-0,059	0,795	-0,049	0,830	0,065	0,774	-0,049	0,828	-0,116	0,608
PAS (mmHg)	0,228	0,390	0,255	0,251	-0,440	0,040	-0,036	0,873	0,148	0,510
PAD (mmHg)	0,258	0,246	0,208	0,352	0,376	0,085	-0,050	0,824	0,057	0,802
Pulso (latidos/minuto)	0,211	0,345	0,018	0,936	0,062	0,783	0,015	0,946	-0,103	0,650

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (*Rho*) y Tau *b* de Kendal (*T*) para la variable color de orina.

PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica

Tabla 10. Correlación entre la ingesta y el balance de agua con los marcadores hídricos analizados en la población femenina.

	Ingesta de agua (mL/día)		Ingesta de agua de bebidas (mL/día)		Ingesta de agua de alimentos (mL/día)		Ingesta de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
Agua corporal (%)	-0,037	0,889	0,179	0,492	-0,284	0,269	0,061	0,815	-0,120	0,646
Agua corporal (L)	-0,150	0,566	-0,028	0,914	0,363	0,152	0,098	0,708	-0,060	0,819
Gravedad específica (g/L)	-0,616	0,008	-0,497	0,042	-0,157	0,548	-0,516	0,034	-0,672	0,003
pH	0,016	0,952	-0,031	0,904	-0,220	0,395	-0,063	0,810	0,126	0,630
Color de orina	-0,285	0,136	-0,275	0,148	-0,081	0,670	-0,275	0,148	-0,438	0,021
Hematocrito (%)	0,038	0,885	0,110	0,673	0,622	0,008	0,274	0,288	0,372	0,142
Eritrocitos (mil/ μ L)	0,043	0,875	0,050	0,854	0,056	0,837	-0,062	0,820	0,168	0,535
Hemoglobina (g/dL)	-0,141	0,590	-0,140	0,592	0,156	0,550	-0,206	0,427	0,010	0,970
PAS (mmHg)	0,239	0,355	0,345	0,175	-0,644	0,005	0,110	0,673	0,077	0,768
PAD (mmHg)	-0,050	0,848	-0,066	0,801	-0,324	0,205	-0,270	0,295	-0,145	0,579
Pulso (latidos/minuto)	0,145	0,578	0,300	0,242	-0,472	0,056	0,186	0,476	0,023	0,929

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (Rho) y Tau b de Kendall (T) para la variable color de orina

PAS: presión arterial sistólica, PAD: presión arterial diastólica.

Por último, para conocer la influencia de la actividad física sobre el estado de hidratación, se analizó si existía asociación entre la actividad física realizada y la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico (tablas 11 y 12).

Tabla 11. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico en la población masculina.

	Eliminación agua sudor (mL/día)		Eliminación agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
	Tipo sedentaria (min/día)	-0,894	0,000	-0,820	0,000	0,495
A.F ligera (min/día)	0,574	0,005	0,588	0,004	-0,200	0,371
A.F moderada (min/día)	0,418	0,053	0,339	0,122	-0,521	0,013
A.F vigorosa (minutos/día)	0,606	0,003	0,595	0,004	-0,076	0,736

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (Rho). AF: actividad física.

Tabla 12. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico en la población femenina.

	Eliminación agua sudor (mL/día)		Eliminación agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
	Tipo sedentaria (min/día)	-0,708	0,001	-0,272	0,291	0,015
A.F ligera (min/día)	0,321	0,209	-0,081	0,758	0,061	0,815
A.F moderada (min/día)	0,745	0,001	0,380	0,133	0,000	1,000
A.F vigorosa (min/día)	0,681	0,003	0,395	0,017	-0,154	0,554

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (Rho). AF: actividad física.

Como puede observarse, en los hombres se encontró una fuerte asociación inversa entre el tiempo en estado sedentario, la eliminación de agua a través del sudor ($\rho = -0,895$, $p = 0,000$) y la eliminación de agua total ($\rho = -0,820$, $p = 0,000$), y correlación positiva con el BH ($\rho = 0,495$, $p = 0,019$). La duración en la práctica de actividad física ligera y vigorosa se asoció de forma positiva con la eliminación de agua a través del sudor ($\rho = 0,574$, $p = 0,005$; $\rho = 0,606$, $p = 0,003$) y la eliminación de agua total ($\rho = 0,588$, $p = 0,004$; $\rho = 0,595$, $p = 0,004$) y la práctica de actividad física de intensidad moderada se asoció de forma inversa con el BH ($\rho = -0,521$, $p = 0,013$). En las mujeres, la inactividad física o sedentarismo se asoció de forma inversa con la

eliminación de agua a través del sudor ($\rho = -0,780$, $p = 0,01$) y se encontró correlación positiva entre la práctica de actividad física moderada y la eliminación de agua a través del sudor ($\rho = 0,745$, $p = 0,001$), y entre la práctica de actividad física vigorosa y la eliminación de agua a través del sudor ($\rho = 0,681$, $p = 0,003$), y la eliminación de agua total ($\rho = 0,395$, $p = 0,017$).

Para estudiar la reproducibilidad del cuestionario, se determinó el coeficiente de correlación intraclase, obteniéndose como resultado un valor de 0,501. Además, como puede observarse en la tabla 13, no se encontraron diferencias significativas entre los resultados obtenidos entre ambas cumplimentaciones del cuestionario.

Tabla 13. Resultados del estudio de reproducibilidad del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación.

Ingesta, eliminación y balance hídrico	HSQ1	HSQ2	media de la diferencia	Valores p	límites de concordancia
Ingesta de agua (mL/día)	1236 (1000 - 1800)	1371 (1000 - 2000)	-51,9	0,569	-1183 - 1080
Ingesta de agua de bebidas (mL/día)	2353 (1965 - 2865)	2343 (2009 - 3029)	-98,8	0,665	-1730 - 1532
Ingesta de agua de alimentos (mL/día)	737 (461 - 1038)	750 (476 - 1154)	-27,9	0,812	-743 - 687
Ingesta de agua total (mL/día)	3240 (2573 - 4026)	3082 (2704 - 4195)	-126,8	0,686	-2124 - 1870
Eliminación de agua (mL/día)	2826 (2398 - 3270)	2826 (2410 - 3262)	-2,6	0,982	-45 - 446
Balance hídrico (mL/día)	431 (-290 - 979)	514 (-270 - 1151)	-124,2	0,727	-2168 - 1919

HSQ1: Primera cumplimentación del cuestionario, HSQ2: segunda cumplimentación del cuestionario. Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. Valores p procedentes de la prueba U de Mann-Whitney.

De acuerdo al método Bland-Altman (figura 5), la media de las diferencias de las variables estimadas no difirieron de cero (prueba de rangos de Wilcoxon). La amplitud de los límites de concordancia fue apropiada, observándose que más del 95% de las diferencias entre ambas cumplimentaciones se encontraban dentro de estos. No se observaron sesgos en las distintas variables estimadas entre ambas

complimentaciones (ingesta de agua de bebida: $Rho = -0,026$, $p = 0,875$; ingesta de agua procedente de bebidas: $Rho = -0,121$, $p = 0,400$, ingesta de agua procedente de alimentos: $Rho = 0,005$, $p = 0,978$; ingesta de agua total: $Rho = -0,048$, $p = 0,772$; eliminación de agua total: $Rho = -0,061$, $p = 0,710$; balance hídrico: $Rho = -0,140$, $p = 0,388$) y por último, según el α de Cronbach, la consistencia interna de fue elevada y similar en ambas complimentaciones del cuestionarios ($\alpha_1 = 0,832$ y $\alpha_2 = 0,852$).

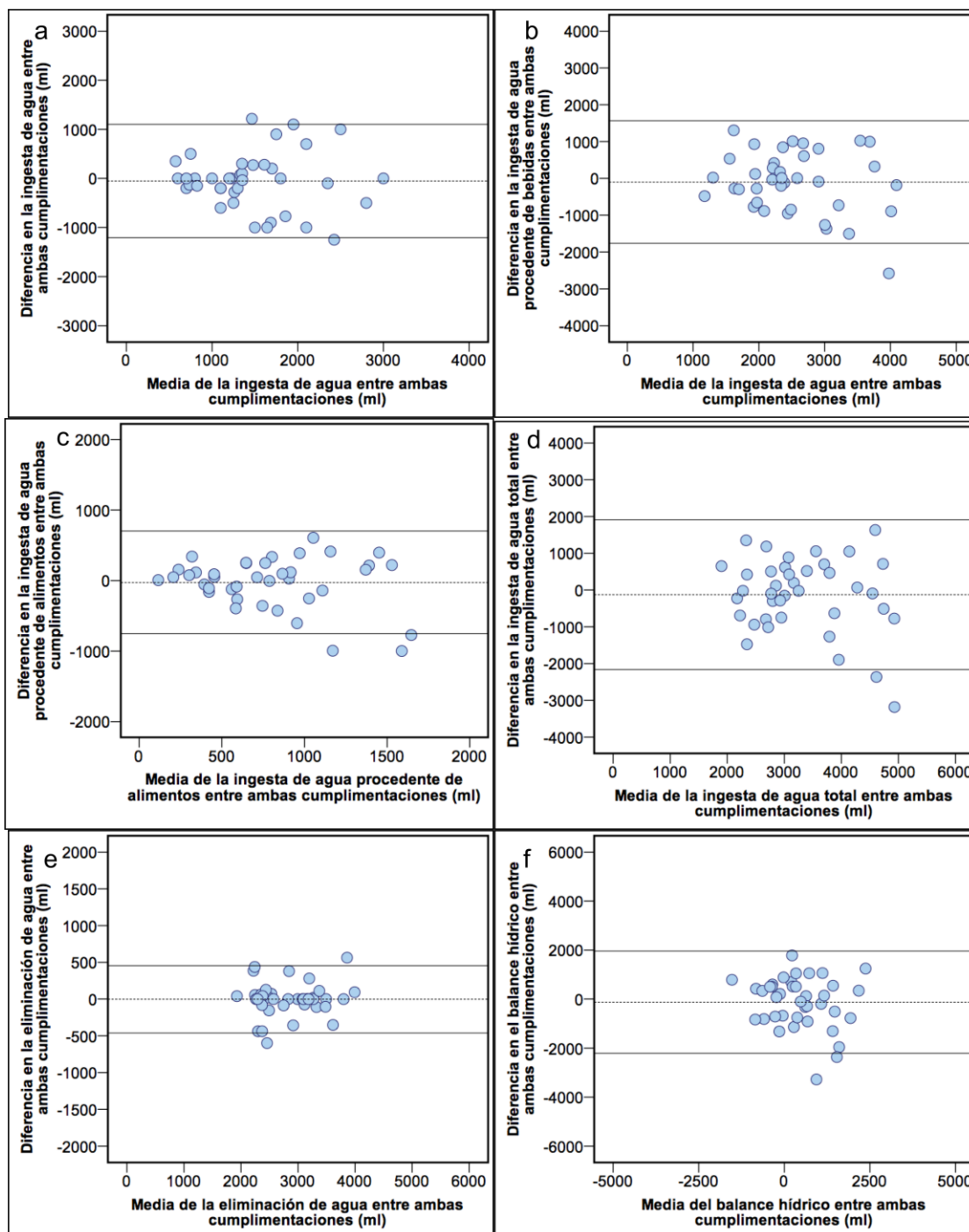


Figura 4: Gráficos Bland-Altman de la diferencia vs media de las variables: a. Ingesta de agua; b. Ingesta de agua procedente de bebidas; c. Ingesta de agua procedente de alimentos; d. Ingesta de agua total, e. Eliminación de agua; f. Balance hídrico.

5.2. Resultados del estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adulta sana española.

361 voluntarios participaron en el estudio, de los cuales tres de ellos fueron excluidos en el procesamiento de datos por cumplimentar de forma incorrecta el cuestionario por lo que, finalmente, 358 voluntarios sanos, 121 hombres (33,8%) con una media de edad de 21,6 (21,0-22,2) años y 237 mujeres (66,2%) con una media de edad de 21,6 (21,2-22,1) años fueron finalmente incluidos en el estudio.

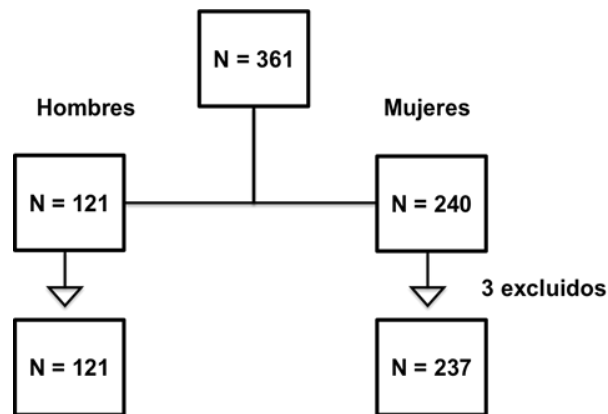


Figura 5: Tamaño muestral empleado en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adulta.

Las características antropométricas se encuentran representadas en la Tabla 14. Como puede observarse, existen diferencias significativas en todas las variables analizadas entre ambos sexos, correspondiendo dichos resultados con las diferencias antropométricas y de composición corporal habituales entre hombres y mujeres.

En la población de estudio, la prevalencia de sobrepeso y obesidad fue del 12,3%; al analizar los datos por sexo, se observó que dicha prevalencia fue significativamente superior en hombres que en mujeres (23,1% y 6,8%, respectivamente) ($p = 0,000$). Sin embargo, la prevalencia de bajo peso para el total de la muestra fue del 7,3%, siendo superior en mujeres (9,3%) que en hombres (3,3%) ($p = 0,051$), aunque dicha diferencia no fue significativa. Finalmente, un 80,4% de la muestra presentó normopeso (hombres 73,6%, mujeres 84,0%, $p = 0,024$).

Tabla 14. Características antropométricas de los participantes en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adulta sana española.

VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS	Hombres (n = 121)	Mujeres (n = 237)	Valores p
Peso (Kg)	73,6 (71,8 – 75,3)	57,4 (56,4 – 58,4)	0,000
Altura (cm)	177,3 (176,1 – 178,5)	164,4 (163,6 – 165,2)	0,000
IMC (Kg/M ²)	23,4 (22,9 – 24,0)	21,2 (20,9 – 21,5)	0,000
CC (cm)	79,1 (77,8 – 80,3)	67,5 (66,8 – 68,2)	0,000
ACT (%)	55,5 (54,7 – 56,2)	50,2 (49,7 – 50,7)	0,000
ACT (L)	40,5 (39,8 – 41,2)	28,6 (28,3 – 28,9)	0,000
MG (%)	17,4 (16,7 – 18,1)	27,4 (26,8 – 27,9)	0,000
MG (Kg)	13,0 (12,2 – 13,8)	15,9 (15,4 – 16,5)	0,000
MM (Kg)	60,6 (59,5 – 61,8)	41,6 (41,0 – 42,2)	0,000
MMS (Kg)	19,9 (19,4 – 20,5)	12,9 (12,6 – 13,3)	0,000

Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza; valores p derivados de la prueba T de Student. (IMC - índice de masa corporal, CC – circunferencia de la cintura, ACT – agua corporal total, MG – masa grasa, MM – masa magra, MMS – masa magra seca.

Los resultados procedentes del HSQ en función del sexo se muestran en la Tabla 15, donde puede observarse que la ingesta de agua procedente de todas las fuentes analizadas fue significativamente superior en los hombres que en las mujeres ($p = 0,033$; $p = 0,001$; $p = 0,048$), a excepción del consumo de agua procedente de alimentos, el cual fue significativamente superior en las mujeres ($p = 0,011$). Por otro lado, también se puede observar que el BH en las mujeres fue significativamente superior en comparación a los hombres ($p = 0,027$), lo cual viene determinado por la menor eliminación de agua de éstas ($p = 0,000$). Respecto a las variables de ingesta hídrica normalizadas por el peso corporal, se puede observar que en todos los casos fueron significativamente superiores en el grupo de mujeres que en el grupo de los hombres ($p = 0,000$; $p = 0,002$; $p = 0,002$; $p = 0,000$).

Tabla 15. Ingesta de agua, eliminación, balance hídrico e ingesta de agua normalizada por el peso corporal, en función del sexo.

	Hombres (n =121)	Mujeres (n = 237)	Valores <i>p</i>
Ingesta de agua (mL/día)	1570 (1449 – 1691)	1422 (1346 – 1497)	0,033
Ingesta de agua de bebidas (mL/día)	2616 (2454 – 2778)	2297 (2196 – 2398)	0,001
Ingesta de agua de alimentos (mL/día)	675 (608 – 742)	781 (734 – 828)	0,011
Ingesta de agua total (mL/día)	3291 (3111 – 3470)	3078 (2958 – 3198)	0,048
Eliminación total de agua (mL/día)	2653 (2468 – 2838)	2182 (2097 – 2267)	0,000
Balance hídrico (mL/día)	638 (443 – 832)	896 (765 – 1027)	0,027
Ingesta de agua total /peso corporal (mL/Kg)	45 (43 – 48)	54 (52 – 57)	0,000
Ingesta de agua/peso corporal (mL/Kg)	22 (20 – 23)	25 (24 – 27)	0,002
Ingesta de agua de bebidas/peso (mL/Kg)	36 (34 – 38)	41 (39 – 42)	0,002
Ingesta de agua de alimentos/peso (mL/Kg)	9 (8 – 10)	14 (13 – 15)	0,000

*Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza. Valores *p* obtenidos de la prueba T de Student.*

En la tabla 16, se muestran los resultados de la evaluación de la actividad física a través del cuestionario IPAQ-SF en función del sexo.

Tabla 16. Actividad física realizada por los participantes incluidos en el estudio de la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal en población adulta.

	Hombres (121)	Mujeres (237)	Valores p
Tipo sedentaria (minutos/día)	1354 (1339 – 1369)	1382 (1375 – 1388)	0,001
Actividad física ligera (minutos/día)	48 (34 – 62)	39 (33 – 45)	0,264
Actividad física moderada (minutos/día)	13 (10 – 15)	6 (5 – 8)	0,000
Actividad física vigorosa (minutos/día)	26 (21 – 31)	13 (11 – 15)	0,000

Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza. Valores p obtenidos de la prueba T de Student.

Como puede observarse, los hombres realizan más actividad física de intensidad moderada y vigorosa que las mujeres (ambos, $p = 0,000$), y en éstas el tiempo en estado sedentario es mayor ($p = 0,001$).

Para conocer la influencia de la actividad física sobre el estado de hidratación, se analizó si existía asociación entre la actividad física realizada, con la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el BH (tablas 17 y 18).

Tabla 17. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico en la población masculina.

	eliminación agua sudor (mL/día)		Eliminación de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	r	Valores p	r	Valores p	r	Valores p
Tipo sedentaria (min/día)	-0,648	0,000	-0,626	0,000	0,309	0,001
AF ligera (min/día)	0,332	0,000	0,311	0,001	-0,129	0,157
AF moderada (min/día)	0,340	0,000	0,374	0,000	-0,237	0,009
AF vigorosa (min/día)	0,816	0,000	0,786	0,000	-0,432	0,000

Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza. Valores p obtenidos de la prueba T de Student. AF: actividad física.

Tabla 18. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico en la población femenina.

	Eliminación agua sudor (mL/día)		Eliminación de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>
Tipo sedentaria (min/día)	-0,639	0,000	-0,583	0,000	0,256	0,000
AF ligera (min/día)	0,303	0,000	0,282	0,000	-0,101	0,122
AF moderada (min/día)	0,263	0,000	0,229	0,000	-0,072	0,268
AF vigorosa (min/día)	0,882	0,000	0,795	0,000	-0,426	0,000

Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza. Valores p obtenidos de la prueba T de Student. AF: actividad física.

Como puede observarse, tanto en hombres como en mujeres, el tiempo en estado sedentario se asocia de forma negativa con la eliminación de agua a través del sudor ($r = -0,648$, $p = 0,000$; $r = -0,639$, $p = 0,000$) y con la eliminación de agua total ($r = -0,626$, $p = 0,000$; $r = -0,583$, $p = 0,000$) y de forma positiva con el balance hídrico ($r = 0,309$, $p = 0,001$; $r = 0,256$, $p = 0,000$). De forma contraria, la práctica de actividad física de cualquier intensidad (ligera, moderada y vigorosa), se asocia positivamente con la eliminación de agua a través del sudor y la eliminación de agua total tanto en hombres (actividad física ligera: $r = 0,332$, $p = 0,000$; $r = 0,311$, $p = 0,001$, actividad física moderada: $r = 0,340$, $p = 0,000$; $r = 0,374$, $p = 0,000$; actividad física vigorosa: $r = 0,816$ $p = 0,000$; $r = 0,786$, $p = 0,000$) como en mujeres (actividad física ligera: $r = 0,303$, $p = 0,000$; $r = 0,282$, $p = 0,000$, actividad física moderada: $r = 0,263$, $p = 0,000$; $r = 0,229$, $p = 0,000$; actividad física vigorosa: $r = 0,882$ $p = 0,000$; $r = 0,795$, $p = 0,000$). En cuanto al BH, se encontró asociación inversa con la actividad física moderada y vigorosa en los hombres ($r = -0,237$, $p = 0,009$; $r = -0,432$, $p = 0,000$) y con la actividad física vigorosa en las mujeres ($r = -0,426$, $p = 0,000$).

5.2.1. Estado de hidratación y correlación con las variables antropométricas.

La ingesta de agua y la ingesta de agua total se correlacionaron con el contenido en agua corporal en mujeres ($r = 0,196$, $p = 0,002$; $r = 0,180$, $p = 0,006$) y en hombres ($r = 0,187$, $p = 0,040$; $r = 0,270$, $p = 0,003$), confirmando la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal. No se obtuvo correlación con el resto de variables antropométricas. Sin embargo, al normalizar la ingesta de agua por el peso corporal, se pudieron observar correlaciones entre la ingesta de agua y

todas las variables antropométricas analizadas. Las correlaciones entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal con las variables antropométricas se muestran en las tablas 19 y 20, para hombres y mujeres.

Como puede observarse en dichas tablas, tanto en hombres como en mujeres, la ingesta de agua total normalizada por el peso corporal se correlacionó de forma inversa con el peso (hombres: $r = -0,220$, $p = 0,015$; mujeres: $r = -0,318$, $p = 0,000$), la masa grasa (Kg) (hombres: $r = -0,200$, $P = 0,028$; mujeres: $r = -0,320$, $p = 0,000$) y la circunferencia de la cintura (hombres: $r = -0,215$, $p = 0,018$; mujeres: $r = -0,237$, $p = 0,000$) y de forma positiva con el porcentaje de agua corporal (hombres: $r = 0,226$, $p = 0,013$; mujeres: $r = 0,327$, $p = 0,000$). En las mujeres también se encontró correlación negativa con el IMC ($r = -0,275$, $p = 0,000$) y el porcentaje de grasa ($r = -0,267$, $p = 0,000$) y el resto de variables de ingesta normalizadas por el peso corporal (agua, agua procedente de bebidas y agua procedente de alimentos) se asociaron con estas mismas variables antropométricas.

Tabla 19. Correlación entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal con las variables antropométricas analizadas en la población masculina.

	Ingesta de agua/peso (mL/Kg)		Ingesta de agua bebidas/peso (mL/Kg)		Ingesta de agua alimentos/peso (mL/Kg)		Ingesta de agua total/peso (mL/Kg)	
	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>
Peso (Kg)	-0,169	0,063	-0,162	0,076	-0,199	0,028	-0,220	0,015
IMC (Kg/m ²)	-0,084	0,358	-0,094	0,304	-0,173	0,058	-0,150	0,100
MG (%)	-0,104	0,256	-0,106	0,248	-0,166	0,068	-0,158	0,084
MG (Kg)	-0,147	0,180	-0,145	0,113	-0,186	0,041	-0,200	0,028
CC (cm)	-0,167	0,069	-0,176	0,055	-0,157	0,087	-0,215	0,018
ACT (%)	0,177	0,053	0,165	0,071	0,210	0,021	0,226	0,013

Coefficiente de correlación de Pearson (r) (IMC – índice de masa corporal, MG – masa grasa, CC – circunferencia de la cintura, ACT – agua corporal total)

Tabla 20: Correlación entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal con las variables antropométricas analizadas en la población femenina.

	Ingesta de agua/peso (mL/Kg)		Ingesta de agua bebidas/peso (mL/Kg)		Ingesta de agua alimentos/peso (mL/Kg)		Ingesta de agua total/peso (mL/Kg)	
	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>
Peso (Kg)	-0,218	0,001	-0,263	0,000	-0,262	0,000	-0,318	0,000
IMC (Kg/m ²)	-0,184	0,005	-0,216	0,001	-0,251	0,000	-0,275	0,000
MG (%)	-0,138	0,034	-0,229	0,000	-0,202	0,002	-0,267	0,000
MG (Kg)	-0,192	0,003	-0,267	0,000	-0,258	0,000	-0,320	0,000
CC (cm)	-0,144	0,027	-0,183	0,000	-0,223	0,001	-0,237	0,000
ACT (%)	0,206	0,001	0,290	0,000	0,227	0,000	0,327	0,000

Coefficiente de correlación de Pearson (r) (IMC – índice de masa corporal, MG – masa grasa, CC- circunferencia de la cintura, ACT – agua corporal total)

Las diferencias en el consumo de agua en función del IMC se encuentran representadas en las tablas 21 y 22. Como puede observarse, existen diferencias significativas en el consumo de agua procedente de bebidas entre los hombres con exceso de peso y los que se encuentran en bajo peso, siendo superior en estos últimos. ($p = 0,037$). En las mujeres, la ingesta de agua procedente de alimentos normalizada por el peso corporal, fue significativamente inferior en aquellas con exceso de peso respecto a las que se encontraban en bajo peso ($p = 0,035$). También se encontraron diferencias significativas en la ingesta de agua total normalizada por el peso corporal entre las mujeres con exceso de peso y las que se encontraban en índices de normopeso ($p = 0,016$) y bajo peso ($p = 0,011$), siendo superior en estas últimas.

Tabla 21. Diferencias en las variables de ingesta de agua en función del Índice de Masa Corporal en la población masculina.

	Percentiles del Índice de Masa Corporal (Kg/m ²)		
	Bajo peso (n = 4)	Normo peso (n = 89)	Sobrepeso/obesidad (n = 28)
Ingesta de agua (mL/día)	1092 (915 – 1270)	1511 (1386 – 1635)	1827 (1492 – 2163)
Ingesta de agua de bebidas (mL/día)	1797 ^a (1287 – 2307)	2537 ^{ab} (2378 – 2696)	2983 ^b (2516 – 3451)
Ingesta de agua de alimentos (mL/día)	764 (203 – 1731)	661 (584 – 738)	705 (560 – 850)
Ingesta de agua total (mL/día)	2561 (1287 – 3835)	3198 (3020 – 3376)	3688 (3176 – 4200)
Balance hídrico (mL/día)	-345 (-2203 – 1513)	696 (490 – 903)	591 (80 - 1102)
Ingesta de agua/peso (mL/Kg)	19 (15 – 23)	22 (20 – 24)	21 (17 – 25)
Ingesta de agua de bebidas/peso (mL/Kg)	32 (21 – 43)	36 (34 – 39)	35 (29 – 40)
Ingesta de agua dealimentos/peso (mL/Kg)	13 (3 – 30)	9,4 (8 – 10)	8,3 (7 – 10)
Ingesta de agua total/peso (mL/Kg)	45 (22 – 68)	46 (43 – 49)	43 (37 – 49)

Los datos se presentan como la media \pm el error estándar de la media. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través del test ANOVA (Bonferroni). Puntos de corte del índice de masa corporal: bajo peso $<18,5$ kg/m², normopeso: $18,5 - 24,9$ kg/m², sobrepeso/obesidad > 25 kg/m².

Tabla 22. Diferencias en las variables de ingesta de agua en función del Índice de Masa Corporal en la población femenina.

	Percentiles del Índice de Masa Corporal (Kg/m ²)		
	Bajo peso (n = 24)	Normo peso (n = 197)	Sobrepeso/obeso (n = 16)
Ingesta de agua (mL/día)	1342 (1099 – 1585)	1429 (1348 – 1510)	1449 (1028 – 1870)
Ingesta de agua de bebidas (mL/día)	2090 (1824 – 2355)	2311 (2200 – 2422)	2440 (1911 – 2967)
Ingesta de agua de alimentos (mL/día)	724 (607 – 842)	793 (740 – 847)	714 (554 – 874)
Ingesta de agua total (mL/día)	2814 (2500 – 3128)	3104 (2971 – 3237)	3153 (2584 – 3722)
Balance hídrico (mL/día)	731 (293 – 1170)	908 (761 – 1054)	1000 (581 – 1420)
Ingesta de agua/peso (mL/Kg)	28 ^a (23 – 33)	25 ^{ab} (24 – 27)	19 ^b (14 – 24)
Ingesta de agua de bebidas/peso (mL/Kg)	43 (38 – 49)	41 (39 – 43)	33 (27 – 38)
Ingesta de agua de alimentos/peso (mL/Kg)	15 ^c (13 -17)	14 ^{cd} (13 – 15)	10 ^d (8 – 12)
Ingesta de agua total/peso (ml/Kg)	58 ^e (52 – 65)	55 ^e (52 – 57)	42 ^f (36 – 49)

Los datos se presentan como la media \pm el error estándar de la media. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través del test ANOVA. Puntos de corte del índice de masa corporal: bajo peso < 18,5 kg/m², normopeso: 18,5 – 24,9 kg/m², sobrepeso/obesidad > 25 kg/m².

Así mismo, también se analizaron las diferencias en las variables antropométricas en función del BH y, como puede observarse en la tabla 24, se encontraron diferencias significativas en el contenido en agua corporal en las mujeres, siendo éste superior en los percentiles más altos de BH ($p = 0,040$); sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en los hombres (tabla 23).

Las diferencias en las variables de composición corporal en función de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal también fueron analizadas. Los resultados obtenidos se presentan en las tablas 25 y 26, donde se puede observar que las

mujeres que consumían mayor cantidad de agua normalizada por el peso corporal, presentaban menor peso (p75 vs <p25: p = 0,000; p75 vs p25-p50: p = 0,048; p75 vs p50-p75: p = 0,007), e IMC (p75 vs <p25: p = 0,000; p75 vs p50-p75: p = 0,007), menor contenido en grasa (Kg) (p75 vs <p25: p = 0,001), menor porcentaje de grasa (p75 vs <p25: p = 0,000; p75 vs p50-p75: p = 0,012) y menor circunferencia de la cintura (p75 vs <p25: p = 0,001) y, por el contrario, mayor porcentaje de agua corporal (p75 vs <p25: p = 0,000; p75 vs p50-p75: p = 0,010). Sin embargo, en los hombres no se observaron diferencias en las variables antropométricas en función del consumo de agua normalizada por el peso corporal.

Tabla 23. Diferencias en las variables antropométricas en función del balance hídrico en la población masculina.

Variables antropométricas	Distribución de balance hídrico (mL)			
	< p25 (n = 35)	p 25 – p50 (n = 34)	p 50 – p75 (n = 26)	p 75 (n = 26)
Peso (Kg)	73,8 (70,8 – 76,9)	73,7 (70,0, – 77,4)	71,9 (68,3 – 75,6)	74,7 (70,7 – 78,7)
IMC (Kg/m ²)	23,2 (22,2 – 24,2)	23,9 (22,5 – 25,3)	22,7 (21,7 – 23,6)	23,9 (22,7 – 24,9)
MG (%)	16,9 (15,6 – 18,3)	17,6 (16,3 – 19,0)	16,6 (15,0 – 18,2)	18,5 (17,1 – 19,9)
MG (kg)	12,7 (11,3 – 14,0)	13,3 (11,7 – 14,9)	12,1 (10,4 – 13,8)	14,0 (12,3 – 15,7)
CC (cm)	78,8 (76,8 – 80,8)	79,3 (76,6 – 82,0)	77,9 (75,0 – 80,8)	80,1 (77,3 – 82,9)
MM (Kg)	61,2 (58,9 – 63,4)	60,4 (58,0 – 62,8)	59,8 (57,2 – 62,4)	61,1 (58,3 – 63,8)
MMS (Kg)	19,8 (18,6 – 21,0)	20,1 (19,0 – 21,2)	19,6 (18,5 – 20,8)	20,2 (19,1 – 21,3)
ACT (L)	41,1 (39,8 – 42,4)	40,3 (39,0 – 41,7)	40,2 (38,7 – 41,7)	40,4 (38,8 – 42,1)
ACT (%)	56,0 (54,5 – 57,6)	55,2 (53,7 – 56,6)	56,1 (54,7 – 57,6)	54,5 (53,1 – 55,8)

Los datos se presentan como la media \pm el error estándar de la media. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través del test ANOVA (Bonferroni). Percentiles de balance hídrico: < p25 = 161,7 mL; p25-p50 = 161,8 – 859,8 ml, p50-p75 = 859,9 – 1484,5 mL ; >p75= 1484,6 mL. (p = percentil; IMC – índice de masa corporal, MG – masa grasa; CC – circunferencia de la cintura, MM – masa magra, MMS – masa magra seca, ACT – agua corporal total

Tabla 24. Diferencias en las variables antropométricas en función del balance hídrico en la población femenina.

Variables antropométricas	Distribución de balance hídrico (mL)			
	< p25 (n = 54)	p 25 – p50 (n = 56)	p 50 – p75 (n =64)	p 75 (n =63)
Peso (Kg)	57,7 (55,7 – 59,7)	56,2 (54,4 – 58,1)	56,6 (54,6 – 58,6)	59,0 (56,7 – 61,2)
IMC (Kg/m ²)	21,4 (20,8 – 22,0)	21,0 (20,4 – 21,6)	21,1 (20,4 – 21,7)	21,4 (20,7 – 22,1)
MG (%)	27,3 (26,1 – 28,5)	27,8 (26,7 – 28,9)	27,5 (26,4 – 28,5)	27,1 (25,9 – 28,2)
MG (kg)	16,0 (14,8 – 17,1)	15,8 (14,8 – 16,9)	15,7 (14,7 – 16,8)	16,2 (14,9 – 17,5)
CC (cm)	67,9 (66,4 – 69,4)	66,0 (64,6 – 67,5)	67,1 (65,7 – 68,5)	68,8 (67,3 – 70,4)
MM (Kg)	41,8 (40,6 – 43,0)	40,8 (39,7 – 41,8)	40,9 (39,6 – 42,1)	42,9 (41,6 – 44,1)
MMS (Kg)	12,9 (12,3 – 13,6)	12,7 (12,1 – 13,3)	12,6 (12,0 – 13,2)	13,6 (12,9 – 14,2)
ACT (L)	28,8 ^{ab} (28,2 – 29,4)	28,1 ^a (27,6 – 28,6)	28,3 ^{ab} (27,6 – 29,0)	29,3 ^b (28,6 – 30,0)
ACT (%)	50,4 (49,2 – 51,6)	50,0 (49,0 – 51,0)	50,4 (49,5 – 51,3)	50,3 (49,0 – 51,0)

Los datos se presentan como la media \pm el error estándar de la media. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través del test ANOVA (Bonferroni). Percentiles de balance hídrico: < p25 = 161,7 mL; p25-p50 = 161,8 – 859,8 mL, p50-p75 = 859,9 – 1484,5 mL ; >p75= 1484,6 mL. (p = percentil; IMC – índice de masa corporal, MG – masa grasa; CC – circunferencia de la cintura, MM – masa magra, MMS – masa magra seca, ACT – agua corporal total)

Tabla 25. Diferencias en las variables antropométricas en función de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal en la población masculina.

Variables antropométricas	Percentiles de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal (mL/Kg)			
	< p25 (n = 44)	p 25 – p50 (n = 39)	p 50 – p75 (n = 24)	p 75 (n = 13)
Peso (Kg)	75,4 (72,9 – 78,0)	74,2 (70,6 – 77,7)	71,6 (68,5 – 74,8)	69,0 (62,4 – 75,7)
IMC (Kg/m ²)	23,9 (22,9 – 25,0)	23,3 (22,3 – 24,2)	23,1 (22,1 – 24,1)	22,6 (20,7 – 24,5)
MG (%)	18,0 (16,9 – 19,1)	17,3 (15,8 – 18,8)	17,0 (15,5 – 18,5)	16,3 (14,7 – 18,0)
MG (kg)	13,8 (12,6 – 15,0)	13,1 (11,4 – 14,8)	12,3 (10,9 – 13,7)	11,4 (9,5 – 13,3)
CC (cm)	80,4 (78,5 – 82,3)	79,3 (76,8 – 81,8)	77,7 (75,7 – 79,6)	76,3 (71,2 – 81,3)
MM (Kg)	61,6 (60,0 – 63,2)	61,0 (58,6 – 63,4)	59,8 (57,4 – 62,1)	57,7 (52,4 – 62,9)
MMS (Kg)	20,6 (19,8 – 21,5)	20,1 (19,0 – 21,2)	19,5 (18,4 – 20,5)	18,2 (16,2 – 20,1)
ACT (L)	40,9 (40,0 – 41,7)	40,9 (39,5 – 42,2)	39,9 (38,5 – 41,2)	39,5 (36,1 – 41,9)
ACT (%)	54,5 (53,4 – 55,6)	55,7 (54,2 – 57,1)	55,9 (54,3 – 57,5)	57,4 (55,7 – 59,1)

Los datos se presentan como la media \pm el error estándar de la media. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través del test ANOVA (Bonferroni). Percentiles de agua normalizada por el peso corporal: < p25 = 39,6 mL/kg; p25-p50 = 39,7 – 48,9 mL/kg; p50-p75 = 49,0 – 60,1 mL/kg; >p75 = 60,2 mL/kg.

Tabla 26. Diferencias en las variables antropométricas en función de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal en la población femenina.

Variables antropométricas	Percentiles de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal (mL/Kg)			
	< p25 (n = 63)	p 25 – p50 (n = 62)	p 50 – p75 (n =59)	p 75 (n =53)
Peso (Kg)	60,9 ^a (58,4 – 63,3)	57,8 ^a (55,8 – 59,9)	58,4 ^a (56,2 – 60,5)	54,2 ^o (52,7 – 55,7)
IMC (Kg/m ²)	22,3 ^c (21,5 – 23,1)	21,3 ^{cd} (20,7 – 22,0)	21,4 ^c (20,9 – 22,0)	20,0 ^d (19,8 – 20,9)
MG (%)	29,1 ^e (27,7 – 30,6)	27,4 ^{ef} (26,2 – 28,5)	27,9 ^{ef} (26,9 – 28,8)	26,0 ^f (25,1 – 27,0)
MG (Kg)	18,0 ^g (16,4 – 19,5)	16,0 ^{gh} (14,9 – 17,1)	16,5 ^g (15,4 – 17,6)	14,2 ^h (13,4 – 15,1)
CC (cm)	69,9 ⁱ (67,9 – 71,9)	67,2 ^{ij} (65,7 – 68,7)	68,2 ^{ij} (66,6 – 69,8)	65,8 ^j (64,8 – 66,8)
MM (Kg)	42,8 ^k (41,6 – 48,7)	41,9 ^{kl} (40,8 – 43,1)	41,9 ^{kl} (40,7 – 43,2)	40,2 ^l (39,1 – 41,3)
MMS (Kg)	13,8 ^m (13,1 – 14,4)	13,1 ^{mn} (12,4 – 13,7)	13,1 ^{mn} (12,5 – 13,8)	12,2 ⁿ (11,7 – 12,7)
ACT (L)	29,2 (28,5 – 29,8)	28,8 (28,2 – 29,4)	28,8 (28,2 – 29,4)	28,0 (27,4 – 28,6)
ACT (%)	48,4 ^o (47,1 – 49,7)	50,1 ^p (49,1 – 51,2)	49,7 ^o (48,8 – 50,6)	51,7 ^p (50,9 – 52,2)

Los datos se presentan como la media \pm el error estándar de la media. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través del test ANOVA (Bonferroni). Percentiles de agua normalizada por el peso corporal: < p25 =39,6 mL/kg; p25-p50 = 39,6 – 48,9 mL/kg, p50-p75 = 49,0 – 60,1 mL/kg; >p75= 60,2 mL/kg. (p = percentil; IMC – índice de masa corporal, MG –masa grasa; CC – circunferencia de la cintura, MM – masa magra, MMS – masa magra seca, ACT – agua corporal total.

Por último, para evaluar la relación independiente entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal y las variables de composición corporal (circunferencia de la cintura, porcentaje de grasa corporal y masa magra seca), se realizó un modelo de regresión lineal (tabla 27). Como puede observarse, la ingesta de agua normalizada por el peso corporal se asocia de forma significativa con el porcentaje de grasa ($p = 0,025$) y con la masa magra seca ($p = 0,001$).

Tabla 27. Ingesta de agua normalizada por el peso corporal en un análisis de regresión lineal.

Variable	B	SE	β	95% IC	Valor p
CC (cm)	-0,120	0,199	-0,058	-0,512 – 0,272	0,549
MG (%)	-0,373	0,166	-0,139	-0,699 – -0,047	0,025
MMS (Kg)	-1,459	0,432	-0,367	-2,319 - - 0,609	0,001
Constante	91,114	9,165		73,098 – 109,138	

SE: Error estándar de medida, 95% IC: intervalo de confianza, $R = 0,376$, $R^2 = 0,142$, R ajustado = $0,134$ (CC- circunferencia de la cintura, MG – masa grasa, MMS – masa magra seca).

5.3. Resultados de la adaptación y validación del cuestionario en población adolescente.

Un total de 137 participantes fueron reclutados para el proceso de validación. Sin embargo, nueve de ellos fueron eliminados por cumplir alguno de los criterios de exclusión, y doce fueron eliminados del estudio de reproducibilidad al no haber cumplimentado por segunda vez el cuestionario. Así, finalmente, 128 participantes, 68 hombres (53,1%) con una media de edad de 14,1 (13,8 – 14,4) años y 60 mujeres (46,9%) con una media de edad de 14,4 (14,0– 14,8) años, fueron incluidos en el estudio de validación, y 116 participantes, 61 hombres (52,6%) y 55 mujeres (47,4%) fueron incluidos en el estudio de reproducibilidad. El tamaño de la muestra cumple con el criterio de Nunnally [100] según el cual se recomienda un mínimo de 5 participantes por cada ítem incluido en el cuestionario para proceder a su correcta validación.

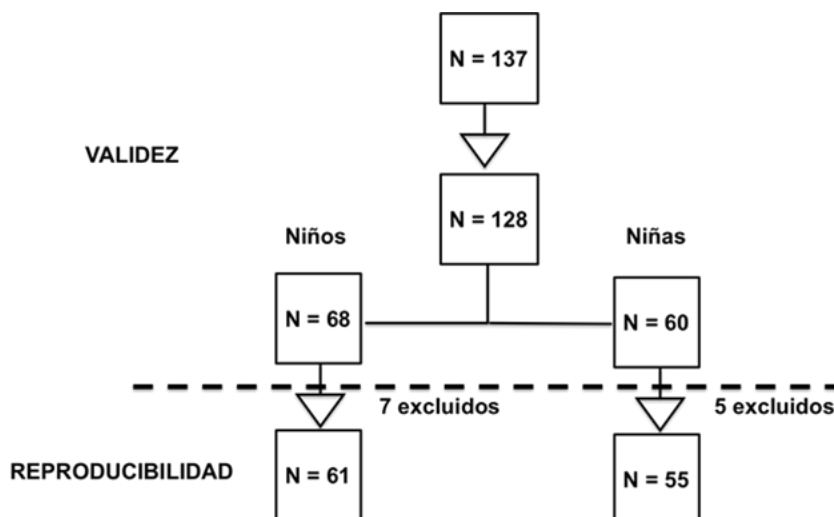


Figura 6: Tamaño muestral empleado en el proceso de validación del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de adolescentes jóvenes.

Las características antropométricas, contenido en agua, marcadores sanguíneos, urinarios y datos hemodinámicos de esta población se muestran en la tabla 28. Como puede observarse, se encontraron diferencias significativas en todas las características antropométricas (en todos los casos: $p = 0,000$), excepto en el peso. En cuanto a los índices urinarios, se observaron diferencias en el pH de la orina, siendo este ligeramente más ácido en las niñas ($p = 0,043$). También se observaron diferencias en el hematocrito y en la concentración de hemoglobina, encontrándose ambos parámetros más elevados en los niños ($p = 0,000$; $p = 0,002$, respectivamente), lo cual corresponde con las características fisiológicas propias de cada sexo. Por último, también se observaron diferencias en los datos hemodinámicos. La PAS fue significativamente superior en los niños ($p = 0,003$), mientras que se observaron valores superiores de PAD y pulso en las niñas ($p = 0,003$; $p = 0,000$ respectivamente).

Tabla 28. Características antropométricas, contenido en agua, marcadores urinarios, hematológicos y datos hemodinámicos de los participantes en el proceso de validación.

	Niños (n = 68)	Niñas (n=60)	Valores p
Peso (Kg)	58,3 (55,3 – 61,3)	54,8 (52,2 – 57,5)	0,084
Altura (cm)	166,7 (164,5 – 169,0)	161,4 (160,0 – 162,7)	0,000
Agua corporal (%)	56,0 (55,0 – 57,1)	51,3 (50,1 – 52,5)	0,000
Agua corporal (L)	32,9 (31,3 – 34,5)	28,1 (27,1 – 29,1)	0,000
Gravedad específica (g/L)	1,025 (1,024 – 1,027)	1,025 (1,024 – 1,026)	0,681
pH	5,3 (5,2 – 5,4)	5,1 (5,1 – 5,2)	0,043
Color de la orina	3,5 (3,2 – 3,7)	3,4 (3,2 – 3,9)	0,671
Hematocrito (%)	43,1 (42,3 – 44,0)	40,0 (39,1 – 41,0)	0,000
Eritrocitos mil/ μ L)	5,5 (4,1 – 6,9)	4,4 (4,3 – 4,6)	0,133
Hemoglobina (g/dL)	14,6 (14,2 – 15,0)	13,7 (13,2 – 14,1)	0,002
PAS (mm/Hg)	120,1 (116,6 – 123,5)	111,9 (107,6 – 116,2)	0,003
PAD (mmHg)	62,3 (60,2 – 64,5)	67,1 (65,0 – 69,2)	0,003
pulso (latidos/minuto)	70,9 (68,1 – 73,8)	81,0 (78,0 – 84,9)	0,000

Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza. Valores p derivados de la prueba t de Student. PAS - Presión arterial sistólica, PAD – presión arterial diastólica.

Los resultados procedentes del HSQ-AY y del diario dietético de 3 días se encuentran representados en la tabla 29. Como puede observarse, excepto en la eliminación de agua total, no se encontraron diferencias significativas entre ambos sexos. Concretamente, se encontraron diferencias en la eliminación de agua a

través de sudor, la cual fue superior en niños (eliminación de agua a través del sudor en niños: 2303 (2139 – 2467) mL/día y en niñas: 1620 (1466 – 1775) mL/día ($p = 0,000$)), mientras que no se observaron diferencias en la eliminación de agua a través de la orina ($p = 0,115$), ni a través de las heces ($p = 0,082$).

Tabla 29. Ingesta, eliminación y balance hídrico procedentes del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de adolescentes jóvenes y del diario dietético de tres días, según el sexo.

	niños (n = 68)	niñas (n = 60)	Valores <i>p</i>
Ingesta de agua (mL/día)	1898 (1683 – 2112)	1611 (1293 – 1929)	0,138
Ingesta de agua de bebidas (mL/día)	2714 (2465 – 2962)	2309 (1983 – 2634)	0,051
Ingesta de agua de alimentos (mL/día)	424 (367 – 481)	502 (425 – 578)	0,107
Ingesta de agua total (mL/día)	3138 (2881 – 3395)	2810 (2466 – 3155)	0,131
Eliminación de agua total (mL/día)	3811 (3631 – 3990)	3214 (3030 – 3397)	0,000
Balance hídrico (mL/día)	-673 (-975 - -372)	-403 (-772 - -35)	0,259
Ingesta de agua total procedente del 3DR (mL/día)	2280 (2103 – 2457)	2317 (2128 – 2505)	0,777

*Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza. Valores *p* derivados de la prueba *t* de Student. 3DR- Diario dietético de tres días.*

Los resultados de la intensidad y duración de la actividad física realizada por los participantes adquiridos a través de los acelerómetros se encuentran representados en la tabla 30, donde puede observarse que la duración de la actividad física realizada en las tres categorías de intensidad consideradas, es mayor en los niños que en las niñas ($p = 0,014$, $p = 0,000$, $p = 0,000$), aunque estas permanecen más tiempo en estado sedentario ($p = 0,000$).

Tabla 30: Actividad física realizada por los participantes incluidos en la validación del cuestionario para población adolescente.

		Niños (n = 68)	Niñas (n = 60)	Valores p
Tipo	sedentaria	1197	1242	0,000
	(minutos/día)	(1182 – 1212)	(1228 – 1256)	
Actividad física	ligera	83	74,7	0,014
	(minutos/día)	(78 – 88)	(70 – 79)	
Actividad física	moderada	138	113	0,000
	(minutos/día)	(128 – 147)	(104 – 121)	
Actividad física	vigorosa	22	11	0,000
	(minutos/día)	(19 – 26)	(9 – 13)	

Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza. Valores p derivados de la prueba t de Student..

Para analizar la validez del cuestionario, se determinó la correlación entre el BH, la ingesta y eliminación de agua obtenida a través del HSQ-AY con los índices de hidratación incluidos en el estudio. Al analizar la muestra completa (tabla 31), se encontró correlación moderada entre la gravedad específica y el balance hídrico ($r = -0,202$, $p = 0,023$) y correlación leve en la ingesta de agua y la ingesta de agua total con este mismo marcador urinario ($r = -0,177$, $p = 0,045$; $r = -0,184$, $p = 0,037$, respectivamente). Se encontró correlación moderada entre la ingesta de agua, la ingesta de agua procedente de bebidas y la ingesta de agua total con el contenido en agua corporal (L) ($r = 0,259$, $p = 0,003$; $r = 0,291$, $p = 0,001$, $r = 0,263$, $p = 0,003$). La ingesta de agua procedente de alimentos se correlacionó de forma inversa y moderada con el hematocrito ($r = -0,231$, $p = 0,009$). Sin embargo, se encontró correlación leve positiva entre la ingesta de agua y este mismo marcador ($r = 0,180$, $p = 0,042$). Los datos hemodinámicos se correlacionaron con la eliminación de agua de tal forma que el pulso, la PAS y la PAD se correlacionaron con la eliminación de agua a través del sudor ($p = -0,237$, $r = 0,000$; $r = 0,178$, $p = 0,045$, $r = -0,281$, $p = 0,001$, respectivamente) y con la eliminación de agua total ($r = -0,189$, $p = 0,032$; $r = 0,200$, $p = 0,024$; $r = -0,209$, $p = 0,018$, respectivamente). Por último, el consumo de agua, el agua procedente de bebidas, la ingesta de agua total y el BH procedentes del HSQ-AY se correlacionaron con la ingesta de agua procedente del diario dietético de 3 días ($r = 0,539$, $p = 0,000$; $r = 0,504$, $p = 0,000$; $r = 0,468$, $p = 0,000$; $r = 0,357$, $p = 0,000$). En las tablas 31 y 32 se muestran los resultados obtenidos en función del sexo. Como puede observarse en la tabla 31, en los niños, el BH, la ingesta de agua sola, agua procedente de bebidas y agua total se correlacionaron positivamente con el agua corporal total ($r = 0,387$, $p = 0,001$; $r =$

0,368; $p = 0,002$; $r = 0,423$, $p = 0,000$; $r = 0,392$, $p = 0,001$). En las niñas no se encontró dicha asociación, pero estas mismas variables (BH, ingesta de agua sola, agua procedente de bebidas, y agua total) se correlacionaron de forma inversa con la gravedad específica de la orina ($r = -0,315$, $p = 0,014$; $r = -0,328$, $p = 0,011$; $r = -0,309$, $p = 0,016$; $r = -0,306$; $p = 0,017$). Además, en las niñas, también se encontró correlación inversa entre la ingesta de agua procedente de alimentos y el hematocrito ($r = -0,277$, $p = 0,032$).

Tabla 31. Correlación entre la ingesta y el balance hídrico con los marcadores hídricos analizados en la muestra completa.

	Ingesta de agua (mL/día)		Ingesta de agua de bebidas (mL/día)		Ingesta de agua de alimentos (mL/día)		Ingesta de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>
Agua corporal (%)	0,125	0,159	0,141	0,111	-0,040	0,658	0,127	0,153	0,056	0,531
Agua corporal (L)	0,259	0,003	0,291	0,001	-0,076	0,391	0,263	0,003	0,149	0,094
Gravedad específica	-0,177	0,045	-0,161	0,070	-0,136	0,127	-0,184	0,037	-0,202	0,023
pH	0,057	0,522	0,094	0,290	-0,020	0,822	0,086	0,334	0,120	0,179
Color de orina	-0,091	0,172	-0,075	0,256	-0,068	0,302	-0,088	0,182	-0,053	0,420
Hematocrito (%)	0,180	0,042	0,155	0,080	-0,231	0,009	0,098	0,271	0,097	0,275
Eritrocitos (mil/ μ L)	-0,009	0,922	-0,044	0,618	0,018	0,842	-0,039	0,664	-0,002	0,981
Hemoglobina (g/dL)	0,105	0,237	0,121	0,172	-0,097	0,275	0,095	0,286	0,112	0,209
PAS (mmHg)	0,149	0,093	0,166	0,192	-0,064	0,471	0,097	0,275	-0,030	0,738
PAD (mmHg)	0,028	0,750	-0,074	0,409	-0,141	0,122	-0,102	0,252	0,031	0,729
Pulso (latidos/minuto)	0,003	0,973	0,040	0,966	0,044	0,625	0,013	0,881	0,123	0,166

*Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Pearson (*r*) y Tau b de Kendal (*T*) para la variable color de orina.*

PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica

Tabla 32. Correlación entre la ingesta y el balance hídrico con los marcadores hídricos analizados, en niños.

	Ingesta de agua (mL/día)		Ingesta de agua de bebidas (mL/día)		Ingesta de agua de alimentos (mL/día)		Ingesta de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>R</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>
Agua corporal (%)	0,047	0,705	0,038	0,756	-0,103	0,404	0,014	0,908	0,003	0,980
Agua corporal (L)	0,368	0,002	0,423	0,000	-0,077	0,531	0,392	0,001	0,387	0,001
Gravedad específica	0,002	0,987	-0,009	0,944	-0,210	0,086	-0,055	0,655	-0,073	0,544
pH	0,037	0,765	0,088	0,477	-0,014	0,913	0,082	0,507	0,186	0,129
Color de orina	0,001	0,991	-0,014	0,880	-0,070	0,446	-0,059	0,522	-0,072	0,432
Hematocrito (%)	0,055	0,653	0,043	0,725	-0,091	0,462	0,022	0,859	0,187	0,127
Eritrocitos (mil/ μ L)	-0,045	0,718	-0,102	0,407	0,063	0,609	-0,085	0,492	0,011	0,929
Hemoglobina (g/dL)	0,127	0,302	0,132	0,284	-0,138	0,263	0,097	0,432	0,225	0,065
PAS (mmHg)	0,230	0,059	0,123	0,316	-0,031	0,802	0,113	0,361	0,126	0,308
PAD (mmHg)	-0,016	0,897	-0,083	0,499	-0,133	0,279	-0,110	0,370	0,134	0,275
Pulso (latidos/minuto)	0,040	0,748	0,073	0,556	0,157	0,201	0,105	0,393	0,158	0,199

*Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Pearson (*r*) y Tau b de Kendal (*T*) para la variable color de orina.*

PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica

Tabla 33. Correlación entre la ingesta y el balance hídrico con los marcadores hídricos analizados, en niñas.

	Ingesta de agua (mL/día)		Ingesta de agua de bebidas (mL/día)		Ingesta de agua de alimentos (mL/día)		Ingesta de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>R</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>
Agua corporal (%)	0,092	0,486	0,096	0,467	0,146	0,266	0,123	0,350	0,222	0,089
Agua corporal (L)	0,074	0,572	-0,003	0,982	0,070	0,593	0,013	0,923	-0,072	0,583
Gravedad específica	-0,328	0,011	-0,309	0,016	-0,067	0,612	-0,306	0,017	-0,315	0,014
pH	0,034	0,794	0,042	0,749	0,029	0,825	0,046	0,726	0,087	0,508
Color de orina	-0,178	0,068	-0,107	0,263	-0,058	0,543	-0,112	0,241	-0,021	0,829
Hematocrito (%)	0,206	0,115	0,141	0,281	-0,277	0,032	0,072	0,583	0,115	0,381
Eritrocitos (mil/ μ L)	0,014	0,917	-0,024	0,856	-0,061	0,645	-0,036	0,785	0,052	0,692
Hemoglobina (g/dL)	0,032	0,806	0,033	0,801	0,002	0,988	0,032	0,809	0,074	0,572
PAS (mmHg)	0,042	0,748	0,035	0,791	-0,025	0,847	0,027	0,835	-0,115	0,383
PAD (mmHg)	0,029	0,828	0,026	0,842	-0,248	0,056	-0,030	0,821	-0,138	0,294
Pulso (latidos/minuto)	0,075	0,567	0,084	0,524	-0,151	0,250	0,046	0,728	0,034	0,798

*Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Perason (*r*) y Tau b de Kendal (*T*) para la variable color de orina.*

PAS: Presión arterial sistólica, PAD: Presión arterial diastólica

Por otro lado, también se analizó la correlación entre los marcadores hídricos y las variables de eliminación de agua observándose que, en las niñas, el color de la orina se correlacionaba de forma inversa con la eliminación de agua a través de la orina ($t = -0,228$, $p = 0,042$), asociación que no se encontró en los niños; sin embargo, en éstos los índices hematológicos se correlacionaron de forma inversa con la eliminación total de agua (hemoglobina: $r = -0,239$, $p = 0,005$; hematocrito: $r = -0,282$, $p = 0,020$) y con la eliminación de agua a través del sudor (hemoglobina: $r = -0,272$, $p = 0,025$; hematocrito: $r = -0,316$, $p = 0,0099$). Respecto a los parámetros hemodinámicos, en niños, la PAD se correlacionó inversamente con la eliminación de agua total ($r = -0,382$, $p = 0,001$) y con la eliminación de agua a través del sudor ($r = -0,404$, $p = 0,001$) y en las niñas, la PAS se correlacionó de forma positiva con la eliminación total de agua ($r = 0,282$, $p = 0,029$). Por último, al igual que para la muestra completa, la ingesta de agua, el agua procedente de bebidas y la ingesta de agua total se correlacionaron con la ingesta de agua procedente del diario dietético de tres días tanto en niños ($r = 0,470$, $p = 0,000$, $r = 0,424$, $p = 0,000$, $r = 0,398$, $p = 0,001$) como en niñas ($r = 0,624$, $p = 0,000$; $r = 0,609$, $p = 0,000$; $r = 0,588$, $p = 0,000$, respectivamente) y con el BH ($r = 0,505$, $p = 0,000$).

Por último, para conocer la influencia de la actividad física sobre el estado de hidratación, se analizó si existía asociación entre la actividad física realizada con la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el BH (tablas 34 y 35).

Tabla 34. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico, en niños.

	Eliminación agua sudor (mL/día)		Eliminación agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>
Tipo sedentaria (min/día)	-0,877	0,000	-0,818	0,000	0,539	0,000
AF ligera (min/día)	0,652	0,000	0,623	0,000	-0,370	0,000
AF moderada (min/día)	0,810	0,000	0,742	0,000	-0,536	0,000
AF vigorosa (min/día)	0,691	0,000	0,659	0,000	-0,357	0,003

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Perason (r). AF: actividad física.

Tabla 35. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico, en niñas.

	Eliminación agua sudor (mL/día)		Eliminación agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>	<i>r</i>	Valores <i>p</i>
Tipo sedentaria (min/día)	-0,905	0,000	-0,851	0,000	0,370	0,004
AF ligera (min/día)	0,710	0,000	0,706	0,000	-0,307	0,019
AF moderada (min/día)	0,891	0,000	0,825	0,000	-0,333	0,011
AF vigorosa (min/día)	0,679	0,000	0,612	0,000	-0,367	0,005

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Perason (r). AF: actividad física.

Como puede observarse, tanto en niños como en niñas se encontró una fuerte asociación inversa entre la inactividad física o estado sedentario, la eliminación de agua a través del sudor ($r = -0,877$, $p = 0,000$; $r = -0,905$, $p = 0,000$) y la eliminación de agua total ($r = -0,818$, $p = 0,000$, $r = -0,851$, $p = 0,000$), así como asociación positiva con el BH ($r = 0,539$, $p = 0,000$; $r = 0,370$, $p = 0,004$). Por el contrario, la practica de actividad física de todos los niveles de intensidad se encontraba asociada positivamente con la eliminación de agua a través de sudor y la eliminación de agua total, y negativamente con el BH (Niños: Actividad física ligera: $r = 0,652$, $p = 0,000$; $r = 0,623$, $p = 0,000$; $r = -0,370$, $p = 0,000$, Actividad física moderada: $r = 0,810$, $p = 0,000$, $r = 0,742$, $p = 0,000$; $r = -0,536$, $p = 0,000$, Actividad física vigorosa: $r = 0,691$, $p = 0,000$; $r = 0,659$, $p = 0,000$; $r = -0,357$, $p = 0,003$. Niñas: Actividad física ligera: $r = 0,710$, $p = 0,000$, actividad física moderada: $r = 0,891$, $p = 0,000$; $r = 0,825$, $p = 0,000$; $r = -0,333$, $p = 0,011$, actividad física vigorosa: $r = 0,679$, $p = 0,000$; $r = 0,612$, $p = 0,000$, $r = -0,367$, $p = 0,005$).

Para analizar la reproducibilidad del cuestionario, se calculó el coeficiente de correlación intraclase, obteniéndose un valor de 0,842. Como puede observarse en la tabla 36, no se encontraron diferencias significativas en los resultados obtenidos en ambas cumplimentaciones del cuestionario.

Tabla 36. Resultados del estudio de reproducibilidad del cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de adolescentes jóvenes.

Consumo, eliminación y balance hídrico	HSQ1-AY (n =128)	HSQ2-AY (n = 116)	Media de la diferencia	Valores <i>p</i>	Límites de concordancia
Ingesta de agua (mL/día)	1628 (1472 - 1784)	1577 (1429 - 1725)	51,1	0,292	1069 - 967
Ingesta de agua de bebidas (mL/día)	2380 (2203 - 2557)	2301 (2128 - 2473)	79,1	0,230	1462 -1304
Ingesta de agua de alimentos (mL/día)	459 (409 - 509)	438 (380 - 495)	21,3	0,398	552 - 509
Ingesta de agua total (mL/día)	2839 (2649 - 3029)	2739 (2546 - 2931)	100,4	0,184	1686 -1485
Eliminación de agua (mL/día)	3558 (3408 - 3708)	3606 (3455 - 3757)	-48,2	0,090	547 - 643
Balance hídrico (mL/día)	-719 (-934 - - 504)	-855 (-1075 - -636)	136,4	0,095	1848 -1575

*HSQ1: Primera cumplimentación del cuestionario, HSQ2: segunda cumplimentación del cuestionario. Los resultados se presentan como la media y el intervalo de confianza. Valores *p* procedentes de la prueba *T* de Student.*

Según el método Bland Altman (figura 7), la media de las diferencias de las variables estimada no difirieron de cero (*T* de Student). La amplitud de los límites de concordancia fue apropiada, observándose que más del 95% de las diferencias entre ambas cumplimentaciones se encontraban dentro de estos. No se observaron sesgos en las distintas variables estimadas entre ambas cumplimentaciones (ingesta de agua de bebida: $r = 0,968$, $p = 0,335$; ingesta de agua procedente de bebidas: $r = 0,404$, $p = 0,687$, ingesta de agua procedente de alimentos: $r = -0,192$, $p = 0,056$; ingesta de agua total: $r = -0,240$, $p = 0,811$; eliminación de agua total: $r = -0,162$, $p = 0,871$; BHR = $-0,318$, $p = 0,751$) y, por último, según el α de Cronbach la consistencia interna de fue elevada y similar en ambas cumplimentaciones del cuestionarios ($\alpha_1 = 0,811$ y $\alpha_2 = 0,809$)

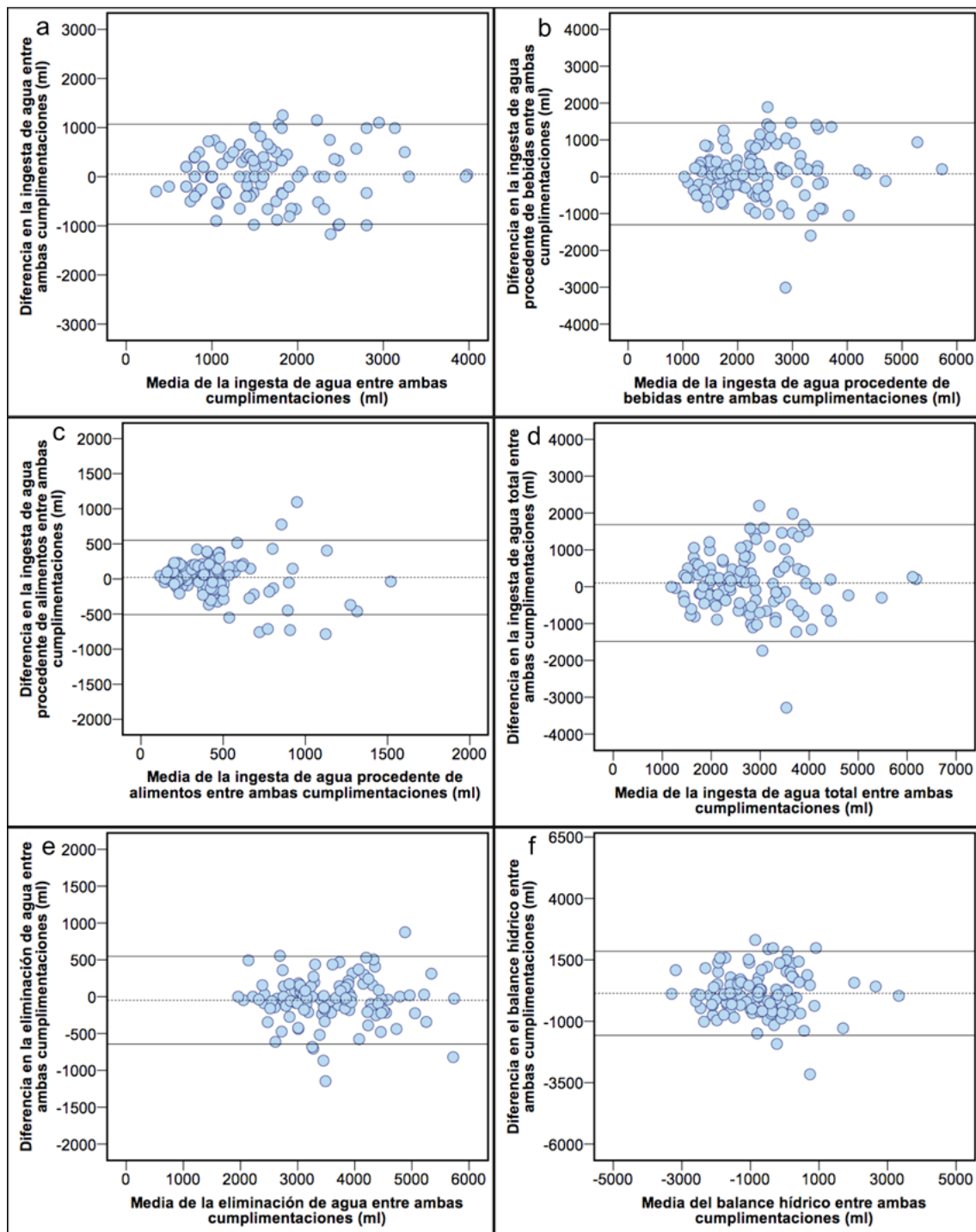


Figura 7: Gráficos Bland-Altman de la diferencia vs la media de las variables: a. Ingesta de agua; b. Ingesta de agua procedente de bebidas; c. Ingesta de agua procedente de alimentos; d. Ingesta de agua total, e. Eliminación de agua; f. Balance de agua.

5.4. Resultados del estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente española.

Un total de 434 voluntarios sanos (222 niños y 212 niñas) fueron reclutados para el estudio, de los que 62 fueron excluidos por cumplir alguno de los criterios de exclusión o por no cumplimentar de forma adecuada algún apartado del estudio. Finalmente, 192 niños (51,6%) y 180 niñas (48,4%) fueron incluidos en el estudio.

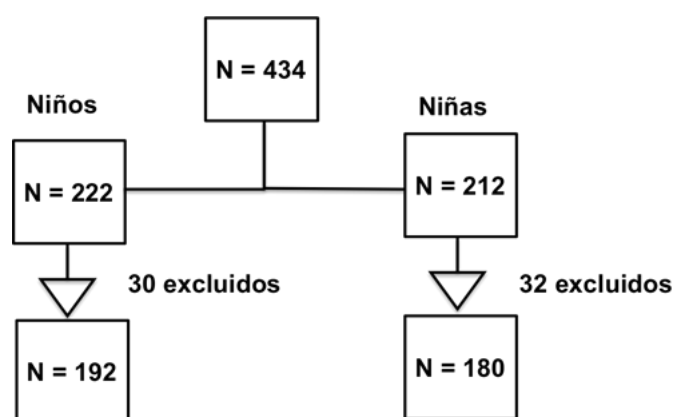


Figura 8: Tamaño muestral empleado en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente española.

Las características antropométricas de la población objeto de estudio se muestran en la tabla 37, donde puede observarse que excepto en la edad, el peso, la altura y el IMC, existen diferencias significativas entre ambos sexos (CC: $p = 0,000$; ACT(%): $p = 0,000$; ACT (L): $p = 0,005$; MG(%): $p = 0,000$; MG (Kg): $p = 0,000$; MM (Kg): $p = 0,001$; MMS (Kg): $p = 0,000$). En la población adolescente, la prevalencia de sobrepeso y obesidad fue del 13,7% siendo superior en niños que en niñas (17,2% y 10,0%, respectivamente) aunque dichas diferencias no fueron significativas ($p = 0,050$). La prevalencia de bajo peso para la muestra completa fue del 5,6%, siendo superior en niñas (6,1%) que en niños (5,2%), sin encontrar diferencias significativas ($p = 0,149$). Finalmente, un 80,6% de la muestra presentó un peso normal (niños 77,6%, niñas 83,9%).

Tabla 37. Características antropométricas de los participantes en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adolescente española.

VARIABLES ANTROPOMÉTRICAS	Niños (n = 192)	Niñas (n = 180)	Valores P
Edad	13,0 (12,0 – 14,0)	13,0 (12,0 – 14,0)	0,427
Peso (Kg)	49,0 (43,4 – 59,0)	51,0 (45,4 – 54,8)	0,507
Altura(cm)	160,2 (154,2 -166,3)	160,1 (155,1 – 164,5)	0,536
IMC(Kg/m ²)	18,8 (17,5 – 21,3)	19,4 (17,8 – 21,2)	0,201
CC (cm)	66,0 (63,0 – 70,9)	63,5 (60,1 – 66,6)	0,000
ACT (%)	56,2 (52,8 – 60,0)	53,2 (50,2 – 56,2)	0,000
ACT (L)	28,1 (24,5 – 32,3)	27,1 (24,7 – 29,2)	0,005
MG (%)	24,6 (20,0 – 29,4)	29,6 (26,2 – 33,9)	0,000
MG (Kg)	12,0 (9,3 – 16,1)	15,3 (12,0 – 18,6)	0,000
MM (Kg)	37,5 (32,5 – 42,9)	35,5 (32,7 – 38,6)	0,001
MMS (Kg)	9,5 (8,1 – 10,9)	8,6 (7,8 – 9,4)	0,000

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico; valores p derivados de la prueba U de Mann-Whitney. (IMC: índice de masa corporal, CC: circunferencia de la cintura, ACT: agua corporal total, MG: masa grasa, MM: masa magra, MMS: masa magra seca.

Los resultados procedentes del cuestionario HSQ-AY se presentan en la tabla 38. Como puede observarse, aunque no se encontraron diferencias en las variables de ingesta de agua, el BH fue significativamente superior en las niñas, ya que la eliminación de agua en estas fue inferior. Concretamente, la eliminación de agua a través de heces y sudor fue superior en los niños (eliminación de agua a través de las heces: niños: 150 (131 – 150) mL; niñas: 131 (113 – 150) mL, p = 0,002, eliminación de agua a través del sudor: niños: 2268 (1790 – 2870) mL, niñas: 1635 (1299 – 2049); p = 0,000). Mientras que el agua eliminada a través de la vía urinaria fue superior en las niñas que en los niños (1222 (1188 – 1625) mL; 1188 (1188 – 1635) mL; p = 0,000).

Tabla 38. Ingesta de agua, eliminación y balance hídrico de los participantes en función del sexo.

	Niños (n = 192)	Niñas (n =180)	Valores p
Ingesta de agua (mL/día)	1650 (1000 – 2000)	1400 (1000 – 2000)	0,089
Ingesta de agua procedente de bebidas (mL/día)	2339 (1779 – 2890)	2087 (1576 – 2770)	0,067
Ingesta de agua procedente de alimentos (mL/día)	384 (258 – 544)	414 (266 – 596)	0,227
Ingesta total de agua (mL/día)	2649 (2217 – 3353)	2510 (1924 – 3316)	0,153
Eliminación de agua (mL/día)	3735 (3184 – 4327)	3173 (2746 – 3785)	0,000
Balance hídrico (mL/día)	-979 (-1749 – -308)	-661 (-1329 – 160)	0,002
Ingesta de agua/peso(mL/Kg)	32 (22 – 43)	28 (19 – 41)	0,122
Ingesta de agua procedente de bebidas/peso (mL/Kg)	46 (35 – 61)	42 (31– 56)	0,051
Ingesta de agua procedente de alimentos/peso (mL/Kg)	8 (5 – 11)	8 (5 – 13)	0,369
Ingesta de agua total/peso (mL/Kg)	54 (43 – 70)	51 (39 – 66)	0,135

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico, valores p procedentes de la prueba U de Mann-Whitney.

En la tabla 39, se muestran los resultados de la evaluación de la actividad física a través de los acelerómetros en función del sexo.

Tabla 39. Actividad física realizada por los participantes incluidos en el estudio de la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal en población adolescente.

	Niños (n = 192)	Niñas (n =180)	Valores p
Tipo sedentaria (minutos/día)	1167 (1079 – 1213)	1208 (1138 – 1250)	0,000
Actividad física ligera (minutos/día)	94 (78 – 122)	85 (70 – 108)	0,002
Actividad física moderada (minutos/día)	152 (124 – 185)	131 (104 – 157)	0,000
Actividad física vigorosa (minutos/día)	27 (16 – 53)	14 (9 – 44)	0,000

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico, valores p procedentes de la prueba U de Mann-Whitney.

Como puede observarse, la duración de la actividad física realizada en las tres categorías de intensidad consideradas, es mayor en los niños que en las niñas ($p = 0,002$, $p = 0,000$, $p = 0,000$) quienes, sin embargo, estas permanecen más tiempo en estado sedentario ($p = 0,000$). Para conocer la influencia de la actividad física sobre el estado de hidratación, se analizó si existía asociación entre la actividad física realizada con la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el BH (tablas 40 y 41). Además, tanto en niños como en niñas, se encontró asociación inversa entre la inactividad física o estado sedentario, la eliminación de agua a través del sudor ($\rho = -0,427$, $p = 0,000$; $\rho = -0,557$, $p = 0,000$) y la eliminación de agua total ($\rho = -0,441$, $p = 0,000$, $\rho = -0,447$, $p = 0,000$) y asociación positiva con el BH ($\rho = 0,292$, $p = 0,000$; $\rho = 0,291$, $p = 0,000$). Por el contrario, la practica de actividad física de todos los niveles de intensidad se encontraba asociada positivamente con la eliminación de agua a través de sudor y la eliminación de agua total (Niños: Actividad física ligera: $\rho = 0,305$, $p = 0,000$; $\rho = 0,335$, $p = 0,000$; Actividad física moderada: $\rho = 0,507$, $p = 0,000$, $\rho = 0,515$, $p = 0,000$; Actividad física vigorosa: $\rho = 0,239$, $p = 0,001$; $\rho = 0,248$, $p = 0,001$. Niñas: Actividad física ligera: $\rho = 0,422$, $p = 0,000$, $\rho = 0,335$, $p = 0,000$; actividad física moderada: $\rho = 0,665$, $p = 0,000$; $\rho = 0,561$, $p = 0,000$; actividad física vigorosa: $\rho = 0,316$, $p = 0,000$; $\rho = 0,210$, $p = 0,007$). Por último, se encontró correlación inversa entre el BH y la actividad física de intensidad ligera y moderada en ambos sexos (Niños: $\rho = -0,229$; $p = 0,000$; $\rho = -0,338$, $p = 0,000$. Niñas: $\rho = -0,193$, $p = 0,000$; $\rho = -0,377$, $p = 0,000$).

Tabla 40. Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico, en niños.

	Eliminación agua sudor (mL/día)		Eliminación agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
Tipo edentaria (min/día)	-0,427	0,000	-0,441	0,000	0,292	0,000
AF ligera (min/día)	0,305	0,000	0,329	0,000	-0,229	0,000
AF moderada (min/día)	0,507	0,000	0,515	0,000	-0,338	0,000
AF vigorosa (min/día)	0,239	0,001	0,248	0,001	-0,141	0,051

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (*Rho*) AF: Actividad física.

Tabla 41: Correlación entre la actividad física, la eliminación de agua a través del sudor, la eliminación de agua total y el balance hídrico, en niñas.

	Eliminación agua sudor (mL/día)		Eliminación agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
Tipo sedentaria (min/día)	-0,557	0,000	-0,447	0,000	0,291	0,000
AF ligera (min/día)	0,422	0,000	0,335	0,000	-0,193	0,000
AF moderada (min/día)	0,665	0,000	0,561	0,000	-0,377	0,000
AF vigorosa (min/día)	0,316	0,000	0,201	0,007	-0,126	0,092

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (*Rho*) AF: Actividad física.

5.4.1. Estado de hidratación y su correlación con las variables antropométricas.

La correlación entre la ingesta de agua procedente de todas las fuentes analizadas y el BH, con las variables antropométricas se encuentra representada en las tablas 30 y 31. Como puede observarse, el BH se encontró correlacionado de forma inversa con el IMC percentilado en ambos sexos (Niños: $Rho = -0,225$, $p = 0,002$; Niñas: $Rho = -0,180$, $p = 0,016$) confirmando la relación entre el estado de hidratación y el peso corporal. En los niños, el BH también se correlacionó de forma inversa con la circunferencia de la cintura ($Rho = -0,183$, $p = 0,011$) y la masa grasa (%) ($Rho = -0,167$, $p = 0,021$) y de forma positiva con el porcentaje de agua corporal ($Rho = 0,158$, $p = 0,029$), confirmando de nuevo la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal a través de otros marcadores. Además, el porcentaje de agua corporal se correlacionó de forma positiva con el consumo de agua procedente de bebidas ($Rho = 0,187$, $p = 0,009$) y la ingesta de agua total ($Rho = 0,174$, $p = 0,026$) y, por el contrario, el porcentaje de grasa se correlacionó de forma inversa con estas mismas variables ($r = -0,195$, $p = 0,007$; $r = -0,182$, $p = 0,011$). Sin embargo, no se encontraron asociaciones entre la ingesta de agua y la composición corporal en niñas.

Tabla 42. Correlaciones entre la ingesta de agua y el balance hídrico con las variables antropométricas, en niños.

	Ingesta de agua (mL/día)		Ingesta de agua procedente de bebidas (mL/día)		Ingesta de agua procedente de alimentos (mL/día)		Ingesta de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
Peso (Kg)	0,051	0,485	0,026	0,718	-0,141	0,050	0,021	0,777	-0,060	0,406
IMC (Kg/m ²)	-0,048	0,512	-0,093	0,197	-0,187	0,009	-0,099	0,171	-0,206	0,004
IMC p (Kg/m ²)	-0,085	0,242	-0,091	0,209	-0,120	0,098	-0,076	0,294	-0,225	0,002
CC (cm)	-0,088	0,225	-0,085	0,241	-0,091	0,211	-0,073	0,317	-0,183	0,011
ACT (%)	0,115	0,113	0,187	0,009	0,118	0,104	0,174	0,016	0,158	0,029
ACT (L)	0,131	0,070	0,139	0,055	-0,117	0,107	0,119	0,099	0,035	0,632
MG (%)	-0,124	0,088	-0,195	0,007	-0,116	0,109	-0,182	0,011	-0,167	0,021
MG (Kg)	-0,043	0,555	-0,100	0,167	-0,147	0,042	-0,094	0,195	-0,104	0,152
MM (Kg)	0,111	0,125	0,120	0,098	-0,122	0,092	0,101	0,162	0,038	0,601
MMS (Kg)	0,129	0,075	0,136	0,060	-0,110	0,127	0,118	0,104	0,037	0,607

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (Rho). (IMC - índice de masa corporal, IMC p - índice de masa corporal percentilado, CC - circunferencia de la cintura, ACT - agua corporal total, MG - masa grasa, MM - masa magra, MMS - masa magra seca)

Tabla 43. Correlaciones entre la ingesta de agua y el balance hídrico con las variables antropométricas, en niñas.

	Ingesta de agua (mL/día)		Ingesta de agua procedente de bebidas (mL/día)		Ingesta de agua procedente de alimentos (mL/día)		Ingesta de agua total (mL/día)		Balance hídrico (mL/día)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
Peso	0,039	0,606	0,013	0,868	0,094	0,212	0,025	0,741	0,023	0,762
IMC (Kg/m ²)	0,020	0,792	-0,045	0,553	-0,041	0,584	-0,059	0,431	-0,025	0,737
IMC p (Kg/m ²)	-0,081	0,282	-0,173	0,020	-0,094	0,211	-0,180	0,015	-0,180	0,016
CC (cm)	0,034	0,653	0,006	0,934	0,009	0,904	-0,003	0,968	-0,119	0,112
ACT (%)	-0,061	0,413	-0,023	0,762	0,051	0,498	0,013	0,860	-0,049	0,517
ACT (L)	0,007	0,927	-0,003	0,973	0,139	0,062	0,029	0,702	-0,016	0,836
MG (%)	0,077	0,304	0,020	0,786	-0,032	0,672	-0,007	0,925	0,045	0,546
MG (Kg)	0,079	0,292	0,028	0,707	0,012	0,877	0,010	0,890	0,047	0,533
MM (Kg)	-0,013	0,862	-0,020	0,792	0,127	0,088	0,010	0,898	-0,018	0,809
MMS (Kg)	-0,034	0,648	-0,038	0,611	0,110	0,140	-0,012	0,875	0,010	0,893

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (Rho). (IMC - índice de masa corporal, IMC p - índice de masa corporal percentilado, CC - CC-circunferencia de la cintura, ACT - agua corporal total, MG - masa grasa, MM - masa magra, MMS - masa magra seca.

Sin embargo, al normalizar las variables de ingesta de agua por el peso corporal (tablas 44 y 45), sí se encontraron asociaciones entre la ingesta de agua procedente de todas las fuentes con la mayoría de las variables antropométricas en ambos sexos. Además, al realizar dicha normalización, la fuerza de la asociación fue mayor que cuando se analizan los valores absolutos de ingesta de agua.

Concretamente, en los niños (tabla 44), se encontró correlación moderada inversa entre la ingesta de agua total, el peso y el IMC (Rho = -0,516, p = 0,000; Rho = -0,548, p = 0,000). Además, se observó correlación inversa entre esta variable y la circunferencia de la cintura (Rho = -0,476, p = 0,000), la masa grasa (Kg) (Rho = -0,488, p = 0,000), el porcentaje de grasa (Rho = -0,329, p = 0,000), el IMC percentilado (Rho = -0,395, p = 0,000) la masa magra (Rho = -0,389, p = 0,000), la masa magra seca (rho = -0,372, p = 0,000) y los litros de agua corporal (Rho = -0,379, p = 0,000), y una asociación positiva entre esta variable y el porcentaje de agua corporal (Rho = 0,342, p = 0,000), aunque la fuerza de dichas asociaciones fueron mas débiles. Así mismo, la ingesta de agua sola, agua procedente de bebidas y agua procedente de alimentos normalizada por el peso corporal se asociaron en la misma dirección con estas variables antropométricas (Peso Rho = -0,351, p = 0,000; Rho = -0,462, p = 0,000; Rho = -0,445, p = 0,000; IMC: Rho = -0,388, p = 0,000; Rho = -0,497, p = 0,000, Rho = -0,440, p = 0,000; CC: Rho = -0,390, p = 0,000; Rho = -0,447, p = 0,000; Rho = -0,328, p = 0,000; MG (Kg): Rho = -0,340, p = 0,000; Rho = -0,454, p = 0,000; Rho = -0,367, p = 0,000; MG (%): Rho = -0,243, p = 0,001; Rho = -0,321, p = 0,000; Rho = -0,200, r = 0,006; IMCp: Rho = -0,320, p = 0,000; Rho = -0,368, p = 0,000; Rho = -0,299, p = 0,000; MM: Rho = -0,255, p = 0,000; Rho = -0,322, p = 0,000; Rho = -0,394, p = 0,000; MMS: Rho = -0,235, p = 0,001; Rho = -0,314, p = 0,000; Rho = -0,386, p = 0,000; ACT (L): Rho = -0,239, p = 0,001; Rho = -0,319, p = 0,000; Rho = -0,395, p = 0,000; ACT (%): Rho = 0,250, p = 0,000; Rho = 0,332, p = 0,000, Rho = 0,213, p = 0,003). En cuanto a las niñas (tabla 45), se encontró asociación inversa entre la ingesta de agua total normalizada por el peso corporal con el peso (Rho = -0,336, p = 0,000), el IMC (Rho = -0,376, p = 0,000), el IMCp (Rho = -0,400, p = 0,000), la circunferencia de la cintura (Rho = -0,253, p = 0,001), el contenido en agua corporal (L) (Rho = -0,274, p = 0,000), el porcentaje de grasa (Rho = -0,242, p = 0,001), la masa grasa (Kg) (Rho = -0,300, p = 0,000), la masa magra (Rho = -0,299, p = 0,000) y la masa magra seca (Rho = -0,319, p = 0,000) y correlación positiva con el porcentaje de agua corporal (Rho = 0,237, p = 0,000). Equivalentemente, se encontraron asociaciones similares entre la ingesta de agua sola, el agua procedente de bebidas y el agua procedente de alimentos con la mayoría de las variables antropométricas

aunque la fuerza de dichas asociaciones fueron mas débiles en la mayoría de los casos (peso: Rho = - 0,263, p = 0,000; Rho = -0,333, p = 0,000; Rho = -0,176, p = 0,018; IMC: Rho = -0,254, p = 0,000; Rho = -0,348, p = 0,000; Rho = -0,273, p = 0,000; IMCp: Rho = -0,281, p = 0,000; Rho = -0,386, p = 0,000; Rho = -0,271, p = 0,000; CC: Rho = -0,178, p = 0,017; Rho= -0,233, p = 0,002; Rho = 0,181, p = 0,015, ACT (L): Rho = -0,247, p = 0,001; Rho = -0,294, p = 0,000; MG (%): Rho = -0,207, p = 0,05; Rho = -0,198, p = 0,008; MG (Kg): Rho = -0,181, p = 0,015; Rho = -0,270, p = 0,000; Rho = -0,216, p = 0,004, MM: Rho = -0,275, p = 0,000; Rho = -0,318, p = 0,000; MMS: Rho = -0,296, p = 0,000; Rho = -0,296, p = 0,000; Rho = -0,336, p = 0,000, ACT (L): Rho = 0,125, p = 0,096; Rho = 0,197, p = 0,008; Rho = 0,214, p = 0,004). Cabe destacar que no se encontró asociación entre la ingesta de agua procedente de bebidas y la masa magra y la masa magra seca, ni tampoco se encontró asociación entre la ingesta de agua sola y el porcentaje de grasa corporal.

Tabla 44. Correlaciones entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal y las variables antropométricas, en niños.

	Ingesta de agua/peso (mL/día/Kg)		Ingesta de agua de bebidas/peso (mL/día/Kg)		Ingesta de agua de alimentos/peso (mL/día/Kg)		Ingesta de agua total/peso (mL/día/Kg)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
Peso (Kg)	-0,351	0,000	-0,462	0,000	-0,445	0,000	-0,516	0,000
IMC (Kg/m ²)	-0,388	0,000	-0,497	0,000	-0,440	0,000	-0,548	0,000
IMCp(Kg/m ²)	-0,320	0,000	-0,368	0,000	-0,299	0,000	-0,395	0,000
CC (cm)	-0,390	0,000	-0,447	0,000	-0,328	0,000	-0,476	0,000
ACT (%)	0,250	0,000	0,332	0,000	0,213	0,003	0,342	0,000
ACT (L)	-0,239	0,001	-0,319	0,000	-0,395	0,000	-0,379	0,000
MG (%)	-0,243	0,001	-0,321	0,000	-0,200	0,006	-0,329	0,000
MG (Kg)	-0,340	0,000	-0,454	0,000	-0,367	0,000	-0,488	0,000
MM (Kg)	-0,255	0,000	-0,332	0,000	-0,394	0,000	-0,389	0,000
MMS (Kg)	-0,235	0,001	-0,314	0,000	-0,386	0,000	-0,372	0,000

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (Rho). (IMC – índice de masa corporal, IMC p – índice de masa corporal percentilado, cc – circunferencia de la cintura, ACT – agua corporal total, MG – masa grasa, MM – masa magra, MMS – masa magra seca).

Tabla 45. Correlaciones entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal y las variables antropométricas, en niñas.

	Ingesta de agua/peso (mL/día/Kg)		Ingesta de agua de bebidas/peso (mL/día/Kg)		Ingesta de agua de alimentos/peso (mL/día/Kg)		Ingesta de agua total/peso (mL/día/Kg)	
	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>	<i>rho</i>	Valores <i>p</i>
Peso (Kg)	-0,263	0,000	-0,333	0,000	-0,176	0,018	-0,336	0,000
IMC (Kg/m ²)	-0,254	0,000	-0,348	0,000	-0,273	0,000	-0,376	0,000
IMCp(Kg/m ²)	-0,281	0,000	-0,386	0,000	-0,271	0,000	-0,400	0,000
CC(cm)	-0,178	0,017	-0,233	0,002	-0,181	0,015	-0,253	0,001
ACT (%)	0,125	0,096	0,197	0,008	0,214	0,004	0,237	0,001
ACT (L)	-0,247	0,001	-0,294	0,000	-0,099	0,184	-0,274	0,000
MG (%)	-0,117	0,116	-0,207	0,005	-0,198	0,008	-0,242	0,001
MG (Kg)	-0,181	0,015	-0,270	0,000	-0,216	0,004	-0,300	0,000
MM (Kg)	-0,275	0,000	-0,318	0,000	-0,118	0,116	-0,299	0,000
MMS (Kg)	-0,296	0,000	-0,336	0,000	-0,135	0,071	-0,319	0,000

Los resultados se presentan como el coeficiente de correlación de Spearman (*Rho*). (IMC – índice de masa corporal, IMC *p* – índice de masa corporal percentilado, cc – circunferencia de la cintura, ACT – agua corporal total, MG – masa grasa, MM – masa magra, MMS – masa magra seca).

Las diferencias en las variables de ingesta de agua y en el balance hídrico en función del IMC en niños y niñas se muestran en las tablas 46 y 47, respectivamente. En los niños, se encontraron diferencias significativas en el BH entre aquellos que presentaban normo-peso respecto a los que presentaban exceso de peso ($p = 0,006$), los cuales contaban con un BH inferior. Tanto en niños como en niñas se encontraron diferencias significativas en todas las variables de ingesta hídrica normalizadas por el peso corporal, observándose una disminución de la ingesta a medida que aumenta el IMC: ingesta de agua, (niños: normo-peso y bajo peso vs. exceso de peso: $p = 0,001$, $p = 0,003$; niñas: bajo peso vs. normo-peso y exceso de peso: $p = 0,002$, $p = 0,000$) la ingesta de agua procedente de bebidas (niños: bajo peso y normo-peso vs. exceso de peso: $p = 0,001$, $p = 0,000$; niñas: bajo peso y normo-peso vs. exceso de peso: $p = 0,000$, $p = 0,0003$ y bajo peso vs. normo-peso: $p = 0,000$), la ingesta de agua procedente de alimentos (niños: bajo peso y normo-peso vs. exceso de peso: $p = 0,000$, $p = 0,015$ y bajo peso vs. normo-peso $p = 0,007$; niñas: bajo peso vs. normo-peso y exceso de peso: $p = 0,015$, $p = 0,001$) y la ingesta total de agua (niños: bajo peso y normo-peso vs. exceso de peso: ambos, $p = 0,000$; niñas: bajo peso y normo-peso vs. exceso de peso $p = 0,000$, $p = 0,0001$ y bajo peso vs. normo-peso $p = 0,000$).

Tabla 46. Diferencias en las variables de ingesta de agua y balance hídrico en función del índice de masa corporal, en niños.

	Índice de Masa Corporal (Kg/m ²)		
	Bajo peso (n = 10)	Normo-peso (n = 149)	Sobrepeso/ obesidad (n = 33)
Ingesta de agua (mL/día)	1575 (1188 – 2393)	1650 (1000 – 2050)	1600 (1000 – 1890)
Ingesta de agua de bebidas (mL/día)	1859 (1717 – 2893)	2391 (1870 – 2925)	2063 (1456 – 2567)
Ingesta de agua de alimentos (mL/día)	531 (399 – 707)	383 (253 – 525)	321 (231 – 519)
Ingesta de agua total (mL/día)	2316 (2104 – 3474)	2691 (2274 – 3456)	2585 (2040 – 3113)
Balance hídrico (mL/día)	-931 ^{ab} (-1220 - -308)	-947 ^a (-1585 - -274)	-1522 ^b (-2085 - -734)
Ingesta de agua/ peso (mL/Kg)	39 ^c (31 – 70)	35 ^c (23 – 44)	23 ^d (16 – 28)
Ingesta de agua de bebidas/peso (mL/Kg)	51 ^e (39 – 84)	49 ^e (38 – 62)	31 ^f (23 – 41)
Ingesta de agua de alimentos/peso (mL/Kg)	14 ^g (10 – 20)	8 ^h (5 – 11)	5 ⁱ (4 – 9)
Ingesta de agua total/peso (mL/Kg)	65 ^j (52 – 101)	56 ^j (46 – 76)	40 ^k (30 – 51)

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través de la prueba de Kruskal-Wallis seguido del test de Dunn para ajustar por comparaciones múltiples y ajustar el valor p con la corrección de Bonferroni.

Tabla 47. Diferencias en las variables de ingesta de agua y balance hídrico en función del índice de masa corporal, en niñas.

	Índice de Masa Corporal (Kg/m ²)		
	Bajo peso (n = 11)	Normo- peso (n = 151)	Sobrepeso/obesidad (n = 18)
Ingesta de agua (mL/día)	1800 (1320 – 2000)	1400 (1000 – 2000)	1550 (950 – 1985)
Ingesta de agua de bebidas (mL/día)	2651 (1980 – 3373)	2066 (1571 – 2771)	1899 (1266 – 2532)
Ingesta de agua de alimentos (mL/día)	489 (387 – 729)	401 (262 – 601)	400 (204 – 494)
Ingesta de agua total (mL/día)	3220 (2499 – 3913)	2491 (1912 – 3393)	2551 (1807 – 2922)
Balance hídrico (mL/día)	- 540 (-579 - -985)	-664 (-1351 – 197)	-933 (-1584 - -458)
Ingesta de agua/ peso (mL/Kg)	47 ^a (38 – 59)	28 ^b (19 – 41)	23 ^b (17 – 30)
Ingesta de agua de bebidas/peso (mL/Kg)	67 ^c (54 – 87)	42 ^d (32 – 55)	30 ^e (20 – 39)
Ingesta de agua de alimentos/peso (mL/Kg)	15 ^f (11 – 16)	8 ^{fg} (5 – 12)	6 ^g (3 – 8)
Ingesta de agua total/peso (mL/Kg)	82 ^h (66 – 104)	52 ⁱ (39 – 66)	39 ^j (27 – 47)

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través de la prueba de Kruskal-Wallis seguido del test de Dunn para ajustar por comparaciones múltiples y ajustar el valor p con la corrección de Bonferroni.

Así mismo, las diferencias en las variables antropométricas en función del BH también fueron analizadas y se encuentran representadas en las tablas 48 y 49. Como puede observarse, se encontraron diferencias significativas en el IMC ($p = 0,005$), la masa grasa ($p = 0,039$) y la circunferencia de la cintura en los niños ($p = 0,004$, $p = 0,006$), de tal forma que presentaron valores más altos en estas variables aquellos que presentaban un BH inferior. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas en el grupo de las niñas.

Tabla 48. Diferencias en las variables antropométricas en función del balance hídrico, en niños.

Percentiles	Distribución del balance hídrico (mL)			
	< p 25 (n = 58)	p 25 - p50 (n = 50)	p 50 – p75 (n = 47)	> p 75 (n = 37)
Peso (Kg)	50,1 (44,4 – 61,8)	47,3 (42,4 – 56,7)	51,0 (45,6 – 60,1)	46,6 (42,0 – 55,8)
IMC (Kg/m ²)	19,9 ^a (17,9 – 22,6)	18,6 ^{ab} (17,6 – 21,0)	19,2 ^{ab} (18,0 – 21,4)	18,0 ^b (16,6 – 19,6)
MG (%)	27,5 ^c (21,9 – 32,5)	22,9 ^{cd} (19,3 – 28,6)	25,0 ^{cd} (21,5 – 29,4)	21,5 ^d (18,8 – 26,8)
MG(Kg)	13,2 (10,0 – 18,7)	10,6 (8,1 – 14,5)	12,9 (10,5 – 16,1)	10,4 (8,7 – 15,5)
CC (Cm)	68,0 ^e (63,9 – 74,0)	64,8 ^{ef} (62,4 – 69,0)	67,4 ^e (63,9 – 72,2)	63,8 ^f (61,0 – 67,0)
MM (Kg)	37,3 (32,3 – 44,4)	36,1 (32,4 – 40,9)	39,7 (33,2 – 42,8)	36,7 (30,8 – 45,4)
MMS (kg)	9,3 (7,9 – 11,2)	9,3 (8,0 – 10,4)	9,9 (8,4 – 10,8)	9,3 (7,8 – 11,6)
ACT (%)	54,2 (50,6 – 58,7)	58,1 (53,6 – 60,7)	55,9 (53,1 – 58,7)	58,2 (54,8– 60,9)

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través de la prueba de Kruskal-Wallis seguido del test de Dunn para ajustar por comparaciones múltiples y ajustar el valor p con la corrección de Bonferroni. (IMC – índice de masa corporal, CC – circunferencia de la cintura, ACT – agua corporal total, MG – masa grasa, MM – masa magra, MMS – masa magra seca).

Tabla 49. Diferencias en las variables antropométricas en función del balance hídrico, en niñas.

Percentiles	Distribución del balance hídrico (mL)			
	< p 25 (n = 35)	p 25 - p50 (n = 43)	p 50 – p75 (n = 46)	> p 75 (n = 56)
Peso (Kg)	52,2 (45,9 – 53,8)	48,7 (43,7 – 54,2)	51,0 (43,1 – 55,0)	52,1 (46,3 – 56,0)
IMC (Kg/m ²)	19,3 (18,6 – 21,4)	19,6 (17,6 – 21,1)	19,4 (17,3 – 20,9)	19,4 ^b (17,9 – 21,4)
MG (%)	29,5 (26,6 – 34,1)	29,5 (25,9 – 32,9)	29,5 (25,5 – 34,2)	30,2 ^d (26,2 – 34,9)
MG(Kg)	15,1 (12,8 – 18,8)	14,4 (11,2 – 17,9)	15,1 (11,8 – 18,7)	16,1 (12,4 – 20,3)
CC (Cm)	64,0 (62,3 – 66,5)	64,0 (59,0 – 67,5)	62,5 ^e (58,8 – 66,1)	63,0 ^f (59,5 – 66,6)
MM (Kg)	35,8 (32,7 – 39,8)	35,4 (32,1 – 38,7)	35,1 (31,2 – 37,7)	36,7 (33,0 – 38,7)
MMS (kg)	8,7 (7,8 – 9,5)	8,5 (7,8 – 9,6)	8,5 (7,6 – 9,2)	8,7 (8,0 – 9,5)
ACT (%)	53,2 (49,9 – 56,3)	53,4 (50,9 – 55,8)	53,5 (50,5 – 56,5)	52,7 (49,2– 56,1)

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través de la prueba de Kruskal-Wallis seguido del test de Dunn para ajustar por comparaciones múltiples y ajustar el valor p con la corrección de Bonferroni. (IMC – índice de masa corporal, CC – circunferencia de la cintura, ACT – agua corporal total, MG – masa grasa, MM – masa magra, MMS – masa magra seca).

Por último, las diferencias en las variables antropométricas en función de la ingesta de agua total normalizada por el peso corporal también fueron analizadas. Los resultados obtenidos se muestran en las tablas 50 y 51. En ambos sexos se encuentran diferencias significativas en el peso (niños: >p75 vs p25-p50 y <p25: ambos, $p = 0,000$; p50-p75 vs. p25-p50 y <p25: $p = 0,000$, $p = 0,030$; niñas: > p75 vs. p50-p75, p25-p50 y <p25: $p = 0,007$, $p = 0,018$, $p = 0,000$), el IMC (niños: >p75 vs. p25-p50 y <p25: ambos, $p = 0,000$; p50-p75 vs. <p25: $p = 0,000$; niñas: >p75 vs. p25-p50 y <p25: $p = 0,019$, $p = 0,000$; p50-p75 vs. <p25: $p = 0,024$), el porcentaje de grasa (niños: >p75 y p50-p75 vs. <p25: $p = 0,000$, $p = 0,035$; niñas: > p75 vs. p25-p50 y < p25: ambos, $p = 0,004$), la masa grasa (Kg) (niños: > p75 vs. p25-p50 y < p25: ambos $p = 0,000$; p50-p75 vs. <p25: $p = 0,002$; niñas: >p75 vs. p50-p75, p25-p50 y <p25: $p = 0,037$, $p =$

0,001, $p = 0,000$) y la circunferencia de la cintura (niños: $>p75$ vs $p25-p50$ y $<p25$: ambos, $p = 0,000$, $p50-p75$ vs. $<p25$: $p = 0,000$; niñas: $>p75$ vs. $<p25$: $p = 0,001$), siendo estas variables inferiores en los percentiles más altos de consumo de agua. Además, el contenido en agua corporal fue significativamente superior en los percentiles más altos de ingesta de agua. (niños: $>p75$ y $p50-p75$ vs. $<p25$: $p = 0,000$, $p = 0,027$; niñas: $>p75$ vs. $p25-p50$ y $<p25$: $p = 0,007$, $p = 0,002$).

Tabla 50. Diferencias en las variables antropométricas en función de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal, en niños.

Percentiles	Distribución de la ingesta de agua /peso (mL/Kg)			
	< p 25 (n = 42)	p 25 - p50 (n = 51)	p 50 – p75 (n = 46)	> p 75 (n = 53)
Peso (Kg)	59,8 ^a (49,0 – 66,8)	52,3 ^a (46,6 – 60,1)	46,8 ^b (43,0 – 51,5)	43,8 ^b (37,5 – 48,4)
IMC (Kg/m ²)	21,4 ^c (19,5 – 24,3)	20,1 ^{cd} (18,3 – 21,6)	18,5 ^{de} (17,7 – 19,9)	17,4 ^e (16,6 – 18,5)
MG (%)	28,6 ^f (24,7 – 32,9)	24,3 ^{fg} (21,4 – 29,4)	24,4 ^g (19,6 – 29,0)	21,9 ^g (19,6 – 27,7)
MG (Kg)	16,9 ^h (11,5 – 21,6)	13,3 ^{hi} (10,0 – 15,8)	11,8 ^{ij} (8,8 – 14,7)	9,4 ^j (8,1 -11,1)
CC (Cm)	72,5 ^k (65,0 – 80,1)	68,0 ^l (64,0 – 71,8)	64,6 ^{lm} (61,5 – 68,3)	63,8 ^m (60,8 – 66,0)
MM (Kg)	40,9 ⁿ (36,9 – 46,6)	41,3 ⁿ (34,6 – 45,1)	35,7 ^o (31,5 – 39,4)	33,5 ^o (28,1 – 38,6)
MMS (kg)	10,3 ^p (9,3 – 11,8)	10,4 ^p (8,6 – 11,5)	8,9 ^q (7,9 – 10,0)	8,4 ^q (6,9 – 9,8)
ACT (%)	53,2 ^r (50,1 – 56,4)	56,3 ^{rs} (53,3 – 58,7)	56,4 ^s (53,6 – 60,3)	58,9 ^s (54,5 – 60,6)

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través de la prueba de Kruskal-Wallis seguido del test de Dunn para ajustar por comparaciones múltiples y ajustar el valor p con la corrección de Bonferroni. (IMC – índice de masa corporal, CC – circunferencia de la cintura, ACT – agua corporal total, MG – masa grasa, MM – masa magra, MMS – masa magra seca)

Tabla 51. Diferencias en las variables antropométricas en función de la ingesta de agua normalizada por el peso corporal, en niñas.

Percentiles	Distribución de la ingesta de agua/peso (mL/Kg)			
	< p 25 (n = 51)	p 25 - p50 (n = 43)	p 50 – p75 (n = 47)	> p 75 (n = 39)
Peso (Kg)	53,2 ^a (48,1 – 58,0)	50,9 ^a (45,5 – 54,1)	52,0 ^a (47,4 – 54,8)	45,4 ^b (40,2 – 49,7)
IMC(Kg/m ²)	20,9 ^c (19,2 – 23,1)	19,6 ^{cd} (17,8 – 21,4)	19,2 ^{de} (18,0 – 21,0)	17,7 ^e (16,9 – 19,9)
MG (%)	31,4 ^f (28,0 – 35,5)	31,3 ^f (27,2 – 35,6)	29,6 ^{fg} (25,0 – 33,9)	27,5 ^g (24,9 – 29,6)
MG (Kg)	16,5 ^h (13,3 – 21,0)	15,8 ^h (13,6 – 20,5)	15,1 ^h (12,0 – 18,6)	12,0 ⁱ (9,9 – 16,0)
CC (cm)	65,9 ^j (61,5 – 68,0)	63,5 ^{jk} (60,8 – 66,5)	63,2 ^{jk} (62,0 – 66,6)	60,5 ^k (57,8 – 64,0)
MM (Kg)	37,1 ^l (35,1 – 39,7)	35,1 ^{lm} (32,7 – 38,4)	36,7 ^l (33,2 – 38,9)	32,9 ^m (30,0 – 36,3)
MMS (kg)	9,0 ⁿ (8,3 – 9,7)	8,6 ^{no} (7,8 – 9,4)	8,7 ⁿ (7,9 – 9,3)	8,0 ^o (7,2 – 8,5)
ACT (%)	52,4 ^p (49,3 – 54,5)	52,5 ^p (49,0 – 55,1)	53,4 ^{pq} (50,2 – 56,6)	55,5 ^q (53,1 – 57,5)

Los resultados se presentan como la mediana y el rango intercuartílico. Las letras minúsculas en superíndice diferentes indican diferencias significativas en cada fila ($p \leq 0,05$) evaluado a través de la prueba de Kruskal-Wallis seguido del test de Dunn para ajustar por comparaciones múltiples y ajustar el valor p con la corrección de Bonferroni. (IMC – índice de masa corporal, CC – circunferencia de la cintura, ACT – agua corporal total, MG – masa grasa, MM – masa magra, MMS – masa magra seca.

Para evaluar la relación independiente entre la ingesta de agua normalizada por el peso corporal y las variables de composición corporal (circunferencia de la cintura, porcentaje de grasa corporal, y masa magra seca se realizó un modelo de regresión lineal (tabla 52). La ingesta de agua normalizada por el peso corporal se asocia de forma significativa con el porcentaje de grasa corporal y con la masa magra seca (ambas, $p = 0,000$).

Tabla 52. Ingesta de agua normalizada por el peso corporal en un análisis de regresión lineal.

Variable	B	SEM	β	95% IC	Valor p
CC (cm)	-0,244	0,225	-0,070	-0,688 – 0,199	0,279
MG (%)	-1,042	0,195	-0,284	-1,426 - -0,658	0,000
MMS (Kg)	-3,841	0,850	0,274	-5,513 – 2,170	0,000
Constante	136,735	10,946		115,209 – 158,260	

SEM: Error estándar de medida, 95% IC: intervalo de confianza, R = 0,429, R² = 0,184, R ajustado = 0,177 CC- circunferencia de la cintura, MG – masa grasa, MMS – masa magra seca).

6. Discusión

6. Discusión.

El significativo aumento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad hace que el desarrollo de nuevas investigaciones encaminadas a dilucidar sus posibles causas sea de suma importancia. En niños y adolescentes, la prevención y manejo de la citada condición es crucial, ya que ello implicaría la posible prevención de una larga lista de enfermedades asociadas como son: diabetes mellitus tipo 2, enfermedad cardiovascular, algunos tipos de cáncer, enfermedad renal, apnea obstructiva del sueño, gota, osteoartritis y enfermedad hepatobiliar, entre otras [10]. Hoy en día se conoce que la etiología del sobrepeso y la obesidad es multifactorial, incluyendo factores genéticos, ambientales y comportamentales [10]. En este contexto, recientemente, el importante papel de la hidratación en la salud y el bienestar ha recibido gran atención en el campo de la investigación y varios estudios han demostrado el papel beneficioso del consumo de agua en el control del peso [35, 36, 45-47, 101, 102]. Sin embargo, existe muy poca información disponible sobre su efecto potencial en la composición corporal, así como sobre el efecto del estado de hidratación en estos mismos parámetros [103-105].

Los resultados de la presente Tesis Doctoral demuestran la relación entre el estado de hidratación y el consumo de agua con el peso y la composición corporal en población adulta y adolescente española. El hecho de que una mayor ingesta de agua se asocie con un menor IMC y peso, y con una composición corporal más saludable es de gran interés, ya que podría resultar útil en la elaboración de estrategias de prevención de sobrepeso/obesidad en combinación con cambios en la dieta y la actividad física. De hecho, en un estudio publicado recientemente realizado en población adulta (18-65 años) china, se ha demostrado que el consumo de al menos 1 litro de agua al día, disminuye el riesgo de padecer sobrepeso en el futuro [106], y que esta disminución del riesgo es mayor, a mayor volumen de ingesta. Los mecanismos responsables de dicha asociación aún no están claros, aunque se ha sugerido que podría deberse a la combinación de varios efectos derivados del consumo de agua, como son: incremento de la sensación de saciedad [107-110], incremento de la tasa de lipólisis y del gasto energético como consecuencia de un estímulo simpático e inducción de la termogénesis [111, 112] y disminución de la ingesta calórica al evitar errores en la percepción del hambre y la saciedad [113]. Además, el consumo adecuado de agua se asocia con patrones de dieta y estilo de vida más saludables [114-118]. En población adolescente, se observa que el BH también se encuentra asociado con el IMC, la

circunferencia de la cintura, la masa grasa y el contenido en agua corporal, poniendo de manifiesto la importancia no solo del consumo de agua, sino también del estado de hidratación en el peso y la composición corporal.

En cuanto a las fuentes hídricas, es importante mencionar que la EFSA [66] recomienda que un 70-80% de la ingesta hídrica diaria sea proporcionada por bebidas y un 20-30% por alimentos, poniendo de manifiesto la importancia del consumo de alimentos con alto contenido en agua, principalmente frutas y verduras. Aparte del agua, cuya ingesta constituye la principal vía para lograr un estado de hidratación adecuado [119, 120], existen otras fuentes de líquidos con capacidades de hidratación similares, con diferentes sabores y que también proporcionan nutrientes o estimulantes como la cafeína o tienen mayor palatabilidad, como es el caso de la leche, los zumos de frutas y verduras, las infusiones y las bebidas refrescantes, entre otros muchos [71]. De hecho, la gran variedad de bebidas disponibles hoy día, hace necesario establecer recomendaciones específicas con respecto a la ingesta de estos líquidos, en las que se tenga en cuenta la capacidad para hidratar y suministrar energía u otros nutrientes, así como cualquier otro efecto que puedan tener sobre el organismo [121]. En este sentido, algunos estudios han sugerido que la variedad de bebidas consumidas es un predictor positivo de la ingesta de agua total [67, 122-124]. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que el consumo excesivo de algunas de estas bebidas se asocia con efectos negativos sobre la salud, como es el caso de las bebidas azucaradas y el riesgo de padecer obesidad, Diabetes Mellitus tipo II, enfermedad cardiovascular y caries [125-132], constituyendo una de las principales fuentes de azúcar libre en la dieta [133] cuyo consumo, según las recomendaciones de la OMS, debería suponer menos del 10% de la ingesta energética total [134].

En lo que respecta a las necesidades hídricas, en las dos poblaciones incluidas en el estudio se pone de manifiesto la gran importancia de la composición corporal en los requerimientos nutricionales ya que, aunque se observan algunas asociaciones entre las variables absolutas de ingesta de agua con el peso y la composición corporal, es al normalizar su consumo por el peso corporal cuando se observa que prácticamente todas las variables antropométricas analizadas se encontraban asociadas a la ingesta de agua en ambos grupos poblacionales y, además, la fuerza de dichas asociaciones era mayor. Otros factores como el sexo, la actividad física, el consumo de fármacos, la ingesta energética y las condiciones de temperatura y humedad, entre otras [50, 51, 135, 136] también afectan a las necesidades hídricas, de tal forma que deberían ser tenidos en cuenta a la hora de establecer recomendaciones poblacionales de ingesta

de agua. Concretamente, nuestros resultados muestran que atendiendo al BH, las necesidades de ingesta de agua en hombres y en niños son superiores que en mujeres y niñas, ya que estos presentan una eliminación de agua superior, principalmente debido a una mayor eliminación de agua a través del sudor. Este hecho se relaciona directamente con la práctica de actividad física, ya que se ha podido comprobar como los distintos niveles de intensidad de esta se asocian positivamente con la eliminación de agua a través del sudor y con la eliminación de agua total, e inversamente con el BH, determinando un incremento de las necesidades que debería ser compensado con una mayor ingesta hídrica.

En lo que respecta a las recomendaciones de ingesta de agua, es importante mencionar que, aunque ya se han establecido recomendaciones por peso corporal en adultos, las cuales sugieren una ingesta hídrica mínima diaria de 30 - 45 mL/Kg/día [121, 137, 138], las recomendaciones más ampliamente reconocidas son las establecidas por la EFSA [66] y por el Instituto de Medicina (IOM) [51] observándose cierta disparidad entre ellas. Ya que las Ingestas adecuadas establecidas por la EFSA [66] son de 2,5 L/día en hombres y 2,0 L/día en mujeres, mientras que en los menores de 14 años son de 2,1 L/día en niños y 1,9 L/día en el caso de las niñas. Sin embargo, las ingestas adecuadas establecidas por el IOM [66] establecen que el consumo debe de ser de 3,3 L/día en hombres, 2,3 L/día en mujeres y en los menores de 14 años de 2,4 L/día en niños y de 2,1 L/día en niñas. En este sentido, es importante mencionar que existen diferencias metodológicas relevantes en la elaboración de dichas recomendaciones, ya que mientras que el IOM se basa en ingestas medias poblacionales obtenidas a través de encuestas nacionales [51], la EFSA también emplea datos de osmolaridad urinaria y de volumen de ingesta por unidad energética consumida [66]. Además, la EFSA emplea información procedente de encuestas nacionales de distintos países europeos donde se observan grandes diferencias en las ingestas de agua (desde 720 mL/día a 2621 mL/día) que no pueden ser explicadas por las características climatológicas o culturales de estos países, sugiriendo que la metodología empleada en la recogida de dicha información podría jugar un papel importante en dicha variación [66, 139]. En cualquier caso, la población incluida en el estudio, cumple con las recomendaciones establecidas por la EFSA, y por el IOM (excepto los hombres incluidos en la validación del cuestionario, cuya ingesta de agua total fue 3,1 L y que por tanto no cubre las recomendaciones indicadas por el IOM). Sin embargo, es interesante destacar que un 35,5% de la población no cumple con la recomendación de ingesta hídrica de 45 mL/Kg/día [138], mientras que un 8,9% no alcanza la recomendación de 30 mL/Kg/día [121].

Para analizar con detalle la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal, ambas poblaciones (adultas y adolescentes) fueron categorizadas en función de tres criterios: el IMC, la ingesta de agua normalizada por el peso corporal y el balance hídrico. Al categorizar en función del IMC, se observó que tanto las mujeres adultas como los adolescentes con sobrepeso u obesidad presentaban una ingesta de agua normalizada por el peso corporal inferior, que aquellos que presentaban un peso saludable. Además, en los niños adolescentes también se observó que aquellos que se encontraban en un peso normal, presentaban un BH superior que los sujetos obesos o con sobrepeso. Asimismo, al categorizar en función del consumo de agua normalizado por el peso corporal, se observó que las mujeres adultas y los adolescentes que se encontraban en los percentiles más altos de ingesta hídrica presentaban menor peso, IMC y circunferencia de la cintura y mejor composición corporal (menor contenido en grasa y mayor contenido en agua). Por último, al categorizar en función del BH, se observó que las mujeres adultas con mayor BH presentaban mayor contenido en agua corporal y que los niños adolescentes con mayor BH presentaban menor IMC, menor circunferencia de la cintura y menor porcentaje de grasa. Los estudios realizados sobre esta cuestión a día de hoy son escasos, lo que dificulta enormemente la comparación de nuestros resultados con otras investigaciones. Sin embargo, en algunos estudios se ha observado que tanto los adultos como los niños obesos se encuentran peor hidratados e ingieren menor cantidad de agua que sus homólogos con normopeso [44, 47, 140-143]. Cabe mencionar que dichos estudios determinan el estado de hidratación basándose en distintos marcadores como la osmolaridad urinaria y plasmática y la gravedad específica de la orina, pero no se han encontrado investigaciones que analicen las variables antropométricas en función del BH. Por otro lado, en población infantil se ha observado que un mejor estado de hidratación se encuentra directamente relacionado con una ingesta de agua superior [47, 142]. Sin embargo, los resultados en adultos son contradictorios, ya que en algunos estudios no se observan diferencias en el consumo de agua en función del IMC, o incluso esta es superior en los individuos con obesidad [35], aunque paradójicamente, como se ha mencionado previamente, estos se encuentran peor hidratados [35, 141]. Este hecho podría ser justificado según algunos autores por un aumento en las necesidades de agua [44], ya que estas dependen de la tasa metabólica, el área de superficie corporal y el peso corporal [144]. Además, la tasa de recambio de agua aumenta con el IMC, en base a mayores requerimientos energéticos, mayor consumo de alimentos y mayor producción metabólica [51, 144]. Las investigaciones de Rosinger y cols. [141] confirman esta

teoría ya que observaron que con una ingesta diaria de agua de 3 L, la probabilidad de hipohidratación para un adulto con bajo peso o peso normal era del 27,6% mientras que para un adulto obeso era de un 46,6%, e incluso que con ingestas de agua de 4 L/día, muy superiores a las recomendaciones, la probabilidad de hipohidratación en sujetos obesos tan solo disminuía a un 42,1%. Otros autores han sugerido que el mayor consumo de agua en los individuos obesos responde a un fenómeno compensatorio para equilibrar la carga renal de solutos generada por un mayor consumo de alimentos con alto contenido en sal por parte de estos [35]. También cabe citar un estudio realizado por Walton y cols. [140], en el que observó que los sujetos que consumían mayor cantidad de agua *per se* y mayor cantidad de agua procedente de alimentos, tenían menor IMC, menor porcentaje de grasa y menor circunferencia de la cintura. Sin embargo, no encontraron dichas diferencias con el consumo de agua total ni con el consumo de agua procedente de bebidas. Por último, es importante mencionar los hallazgos de otros autores sobre el efecto positivo e independiente del consumo de agua en la reducción del peso y en la mejora composición corporal [46, 101, 145]. Los diferentes resultados encontrados entre ambos géneros en población adulta, pueden deberse al distinto tamaño de muestra (121 hombres vs. 237 mujeres), mientras que en población adolescente, dichas diferencias pueden estar influenciadas por los cambios antropométricos asociados al desarrollo puberal, el cual tiene un inicio más temprano en las niñas (8-13 años) que en los niños (9-14 años de edad) [146] y que implica grandes diferencias en las características antropométricas entre individuos de la misma edad. Además, las hormonas sexuales determinan diferencias importantes en la regulación del estado de hidratación entre hombres y mujeres, así como entre las distintas fases del ciclo menstrual de la mujer [147]. De hecho, los receptores de los estrógenos y la progesterona se encuentran en tejido no reproductivo involucrados en la regulación de fluidos como el hipotálamo [148, 149], el sistema cardiovascular [150, 151] y los túbulos renales [150] y, tanto el estradiol como la progesterona, pueden influir en los complejos sistemas neuronales y hormonales encargados del control de la sed, y la regulación del estado de hidratación [147]. Por otro lado, diversos estudios [147, 152] han demostrado que la concentración sérica de la hormona antidiurética también conocida como arginina vasopresina (hormona liberada principalmente en respuesta a cambios en la osmolaridad sérica o en el volumen sanguíneo [153] es superior en hombres que en mujeres, aunque sólo durante la fase folicular. Además, las mujeres presentan mayor recambio de agua que los hombres tras la administración de la misma, tanto en la fase lútea media como en la fase folicular del ciclo menstrual, hechos que ponen de manifiesto que las diferencias en la

regulación del estado de hidratación entre hombres y mujeres dependen en gran medida de la fase del ciclo menstrual [30, 152].

En relación con los resultados de consumo de agua total obtenidos en la presente Tesis Doctoral, son superiores a los datos de consumo de la población española obtenidos en el estudio ANIBES [67]. Este hecho podría estar influenciado en parte, por la metodología empleada para su evaluación [38]. La calidad de los datos disponibles a día de hoy sobre el consumo de agua de la población ha sido cuestionada en diversas publicaciones científicas [68, 139, 154], ya que se han empleado metodologías muy diversas para su obtención, tales como recuerdos de 24 horas, cuestionarios de frecuencia de consumo de alimentos o registros dietéticos de siete días. De hecho, en una revisión sistemática elaborada por Ozen y cols. [155], se pudo observar que la herramienta metodológica empleada con mayor frecuencia para evaluar la ingesta de agua era el recuerdo de 24 horas de un sólo día y que tan sólo dos estudios empleaban herramientas específicamente diseñadas para tal fin [156, 157]. Se debe considerar que las herramientas previamente citadas, además de no estar validadas frente a la ingesta de agua, han sido diseñadas para evaluar la ingesta de alimentos y, por tanto, suelen estar estructuradas en función de las distintas comidas que se realizan a lo largo del día; sin embargo, la ingesta de agua y bebidas puede realizarse en cualquier otro momento [122], hecho que puede llevar al encuestado a olvidar aquellas bebidas que consume fuera de las comidas [158, 159]. De hecho, se ha observado que los cuestionarios inespecíficos tienden a infraestimar el consumo de agua [65, 68, 69, 154]. En este sentido, es importante citar el estudio de Bardosono S y cols. [158] en el que se compararon los resultados de ingesta de agua total obtenidos a través de un recuerdo de 24 horas vs. un registro dietético de 7 días, específicamente diseñado para evaluar la ingesta de líquidos. Y se observó que a través del recuerdo de 24 horas la infraestimación media en la ingesta total de líquidos era de 382 mL y que esta se incrementaba a medida que lo hacía el volumen de ingesta, llegando hasta 1265 mL/día.

Por otro lado, nuestros resultados muestran, al igual que en la bibliografía disponible [67, 116], que los hombres ingieren mayor cantidad de agua total que las mujeres. Sin embargo, para la correcta interpretación de estos resultados se debe tener en cuenta que los requerimientos hídricos y, por consiguiente, las recomendaciones de ingesta de agua también son superiores en ellos. De hecho, estudios previos muestran que las mujeres tienden a cumplir con las recomendaciones de ingesta de agua en mayor medida que los hombres [69]. En nuestro estudio, aunque ambos cumplen con las

recomendaciones de ingesta de agua de la EFSA, las mujeres lo hacen en mayor medida (155% vs. 132 %). Aunque cabe destacar que las mujeres, también presentan un mayor consumo de agua procedente de alimentos, hecho que refleja un mayor consumo de frutas y verduras, y que concuerda con resultados de estudios previos en los que se muestra que las mujeres tienden a exhibir un patrón dietético de alimentación y elección de alimentos más saludable que los hombres [160, 161]. Además, las mujeres presentan un mejor BH, lo cual nos indica una mejor compensación de las pérdidas hídricas. En este sentido, es importante recordar que la eliminación de agua total y agua a través del sudor, fue superior en los hombres que en las mujeres, hecho que se encuentra relacionado con la práctica de actividad física, ya que como se ha podido observar, esta se correlaciona de forma positiva con la eliminación de agua a través del sudor y con la eliminación de agua total y de forma inversa con el BH, mientras que la inactividad o estado sedentario, se correlaciona positivamente con el BH y de forma inversa con la eliminación de agua. Por último, la ingesta de agua procedente de todas las fuentes analizadas normalizadas por el peso corporal, fue superior en mujeres que en hombres, reflejando un mayor consumo de agua relativo.

En la población adolescente, la ingesta de agua fue superior en los niños que en las niñas, aunque dichas diferencias no fueron significativas, resultados que concuerdan con la escasa bibliografía disponible [67, 72]. Sin embargo, el BH fue significativamente inferior en los niños que en las niñas. Este hecho se debe principalmente a una mayor eliminación de agua, en concreto, a una mayor eliminación de agua a través del sudor. Nuestros resultados muestran que, en la población adolescente, al igual que ocurre en la población adulta, la práctica de actividad física a distintas intensidades se encuentra correlacionada de forma positiva con la eliminación de agua total y agua a través del sudor y positivamente con el BH, mientras que la inactividad se correlaciona de forma inversa a como lo hace la actividad física con estas mismas variables.

Según la información proporcionada por los acelerómetros, los niños realizan más actividad física que las niñas en las tres categorías de intensidad (actividad física ligera, moderada e intensa), mientras que estas permanecen más tiempo en estado sedentario. Resultados que concuerdan con la literatura disponible [162-164] y que confirman la teoría de que los niños son más activos que las niñas [165]. En concreto, en el estudio ANIBES, en el grupo de edad de 13 a 17 años, se observan resultados similares en las tres categorías de intensidad, aunque nuestra población muestra un

nivel de actividad física superior, lo cual puede estar condicionado por la metodología empleada para registrar la actividad, ya que en el citado estudio emplearon el cuestionario IPAQ y, en nuestro caso acelerómetros. En estudios previos también se ha observado que estas diferencias son mayores a mayor nivel de intensidad de actividad [163, 166], hecho que también concuerda con los resultados obtenidos.

Cabe mencionar que una de las principales diferencias entre el estudio realizado en población adulta y población adolescente reside en la metodología empleada para evaluar la actividad física en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal, ya que en la fase de validación, en ambos casos se emplearon acelerómetros, mientras que para el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal, en los adultos se empleó el cuestionario IPAQ-SF mientras que en los adolescentes ésta fue evaluada a través de acelerómetros. Ello se debe principalmente a que el citado cuestionario está diseñado específicamente para individuos de quince años de edad en adelante y, por tanto, no resulta válido para la población objeto de estudio [167]. Además, la actividad física de los adultos durante la fase de validación fue evaluada durante tres días consecutivos, mientras que en los adolescentes esta evaluación se extendió a siete días, puesto que consideramos que este grupo poblacional podría experimentar una mayor variabilidad. Cabe citar que ambos intervalos temporales se consideran válidos metodológicamente para evaluar la actividad física [168-171], ya que se ha establecido que para obtener resultados fiables la evaluación debe realizarse durante al menos 3 días (siendo uno de ellos fin de semana) y un mínimo de 8 horas consecutivas al día, y como periodo máximo 8,5 días. En cualquier caso, los resultados de actividad física obtenidos en población adulta muestran que las mujeres son más sedentarias que los hombres, datos que concuerdan con los publicados en la última Encuesta Nacional de Salud [4], en la que se indica que el sedentarismo en tiempo de ocio es mayor en mujeres (41,9%) que en hombres (33,5%). Por otro lado, no se encontraron diferencias entre sexos en la práctica de actividad física a distintas intensidades en los sujetos incluidos en la validación, pero sí entre los sujetos incluidos en el estudio de la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal, observándose que los hombres realizaban más actividad física de intensidad moderada y vigorosa que las mujeres. Estos resultados concuerdan con estudios previos en lo que respecta a la práctica de actividad física vigorosa [4, 172], los cuales indican que esta es superior en hombres que en mujeres, pero no respecto a la práctica de actividad física moderada, ya que en los citados estudios, se observó que las mujeres realizaban más actividad de esta intensidad que los hombres.

Uno de los principales objetivos de la presente Tesis Doctoral fue determinar si un inadecuado estado de hidratación se asocia con un mayor IMC y, por consiguiente, con un mayor riesgo de padecer sobrepeso/obesidad. Es por ello que, consideramos de interés describir la situación de la población de estudio al respecto. Como se ha podido observar, los datos de prevalencia de sobrepeso/obesidad obtenidos tanto en adultos como en adolescentes, son inferiores a los datos establecidos para población general en otros estudios [3-5, 7, 173]. De hecho, si comparamos los resultados obtenidos con los publicados en la última Encuesta Nacional de Salud [6] estas diferencias son bastante marcadas, sobre todo en el caso de la población adulta (Adultos: 12,3% vs. 54,5%; adolescentes: 13,7% vs. 26,8%). Estos resultados pueden estar afectados por varios factores: el hecho de que la participación fuera totalmente voluntaria, así como que la recogida de datos antropométricos pudiera haber supuesto una barrera para ciertos perfiles de individuos. Y por último, y no menos importante, al nivel socioeconómico de los participantes, ya que según el “*International Classification of Education*” [174] el nivel socioeconómico de los participantes es alto, lo cual se relaciona con menor prevalencia de sobrepeso y obesidad [175, 176]. Sin embargo, es importante citar que, al igual que en la bibliografía disponible [3-5], la prevalencia de exceso de peso fue significativamente superior en hombres que en mujeres (23,1% vs. 6,8%, $p= 0,000$) y aunque resultó ser superior en los niños que en las niñas (17,2% vs. 10,0%), dichas diferencias no fueron significativas.

Otro de los objetivos principales de la presente Tesis Doctoral fue diseñar y validar una herramienta para evaluar de forma adecuada el estado de hidratación de la población general. Además de suponer un objetivo en si mismo, constituyó un aspecto clave en la metodología del presente trabajo, ya que es la herramienta a través de la cual se evaluó la ingesta de agua y el BH en el estudio de la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal, por lo que merece especial atención. A continuación se procederá a la discusión de los aspectos claves en el diseño y validación de dicha herramientas: El cuestionario para la evaluación del estado de hidratación “HSQ” y su versión adaptada a población adolescente, el cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de jóvenes adolescentes “HSQ-AY”.

En primer lugar, se realizó una amplia revisión [64, 65, 177-180] sobre el diseño y validación de los cuestionarios existentes a día de hoy destinados a evaluar la ingesta hídrica y/o el estado de hidratación de la población en general. Del total de cuestionarios encontrados, tan solo el WBQ de Malisova y cols. [65] permite calcular el

BH. Este cuestionario evalúa la ingesta de agua procedente de alimentos y bebidas a través de un cuestionario de frecuencia de consumo, y fue validado frente a diversos marcadores urinarios del estado de hidratación (gravedad específica, color, osmolalidad, pH y volumen). Sin embargo, está diseñado específicamente para población griega, lo que impide su aplicación a población española, ya que existen cambios significativos en los patrones dietéticos de ambos países [160, 181]. Además, los cuestionarios de frecuencia de consumo deben ser diseñados específicamente para la población de estudio, puesto que la etnia, la cultura, el nivel socio-económico y las preferencias alimentarias entre otros, influyen en la ingesta de alimentos y bebidas [182]. El resto de los cuestionarios disponibles actualmente se centran en evaluar la ingesta de agua sin tener en cuenta la eliminación de la misma. En concreto, dada su sencillez, uno de los cuestionarios mas ampliamente utilizados es el BEVQ diseñado por Hedrick y cols. [64] y su versión corta BEVQ-15 [177]. En ambas versiones sólo se tiene en cuenta el agua aportada por bebidas, sin considerar el agua procedente de alimentos que, como se ha mencionado previamente, constituye una fuente importante de agua que puede variar sustancialmente entre individuos con diferentes hábitos alimentarios [66, 124, 139, 183]. Además, mientras que el BEVQ si fue validado frente a marcadores del estado de hidratación, en concreto frente a la gravedad específica de la orina, en la validación de su versión corta no se empleó ningún marcador específico, sino tres recuerdos dietéticos de 24 horas. Por otro lado, Jhonson y cols. [178] elaboraron y validaron un registro de líquidos de 7 días frente al recambio de agua a través de la administración de óxido de Deuterio, pero tampoco se registra el consumo de alimentos, sino que emplean un diario dietético independiente para tal fin. En población adulta española, el único cuestionario validado era el “*Spanish Beverage Intake Assessment Questionnaire*” (Cuestionario Español para la Evaluación de la Ingesta de Bebidas) [184], que consiste en una adaptación del BEVQ. Hill y cols [179] también validaron el BEVQ-15 en población adolescente, pero para ello tampoco se emplearon marcadores del estado de hidratación sino recuerdos de 24 horas. También cabe citar el cuestionario elaborado y validado por Neuhausser y cols. [180] para evaluar la ingesta de bebidas y “snaks” en población adolescente. Aunque dicho cuestionario si evalúa el agua procedente de alimentos, su objetivo principal no es valorar el aporte de agua en si mismo ni el estado de hidratación, por lo que tampoco fue validado frente a marcadores hídricos sino frente a un diario dietético. Por último, cabe destacar que se han detectado diversos estudios que emplean registros dietéticos de alimentos y bebidas o recuerdos de 24 horas diseñados específicamente para evaluar la ingesta de agua, sin que estos hubieran sido previamente validados [72, 185, 186].

Dado que nuestro objetivo era diseñar un cuestionario que permitiera evaluar el BH, era necesario que este estimara de forma precisa no solo la ingesta, sino también la eliminación de agua total. Es por ello que para su diseño, se tuvieron en cuenta las principales vías de entrada (agua procedente de bebidas y de alimentos) y salida (orina, heces, sudor) de agua corporal. Sin embargo, dado que la cantidad de agua eliminada a través de la respiración es similar a la cantidad de agua producida de forma endógena, estos dos aspectos no fueron incluidos en el mismo [39].

El hecho de que, a día de hoy, no exista ningún marcador de referencia del estado de hidratación, hace que su evaluación sea complicada y que la combinación de distintos índices sea el método más apropiado para su conocimiento. De entre todos los marcadores disponibles, los índices urinarios son los más ampliamente utilizados en el campo de la investigación [94, 187-189]. Estos, en combinación con índices hematológicos, la estimación del agua corporal a través de bioimpedancia y síntomas subjetivos de deshidratación (turgencia cutánea, sequedad bucal y sed) también suelen ser los más empleados en el ámbito clínico [190, 191]. Estudios recientes han demostrado que tanto la gravedad específica como el color de la orina se encuentran fuertemente correlacionados con la osmolaridad, considerado actualmente el marcador más prometedor del estado de hidratación [189, 192]. De hecho, ante una situación de deshidratación aguda los tres marcadores podrían ser empleados de forma indistinta [62, 189, 193]. Sin embargo, la gravedad específica y el color de la orina son las pruebas más sencillas y cuya aplicación a escala comunitaria resulta más factible [187]. Además, recientemente se ha visto que la gravedad específica también constituye un marcador útil ante desequilibrios hídricos leves y moderados [54, 86]. La evidencia científica disponible muestra que el color de la orina constituye un marcador válido para estimar el estado de hidratación de población adulta e infantil [194, 195] y su sencillez y bajo costo lo convierten en un marcador de gran utilidad. Sin embargo, se debe tener en cuenta que también depende de otros factores, como el consumo previo de determinados alimentos o fármacos [196], el momento del día [197], las condiciones ambientales [197, 198] y la fase del ciclo menstrual [86, 189], entre otros. Por ello, es recomendable que sea empleado en combinación con otros marcadores [199, 200]. En el presente estudio, el color de la orina fue valorado con la escala de color de orina de Armstrong y cols. [93] y la gravedad específica a través de tiras reactivas, cuya validez como método de cribado ha sido demostrado en varios estudios [201, 202], si bien es cierto que existen técnicas más precisas para tal fin como la refractometría [203]. Por otro lado, es importante mencionar que, aunque la orina de 24 horas constituye la muestra más apropiada para determinar los índices

urinarios previamente descritos, en el presente estudio fueron determinados en la primera orina de la mañana, ya que la recolección de orina de 24 horas implica un gran esfuerzo por parte de los participantes y podría suponer una barrera a la hora de participar en el estudio. Además, presenta otros inconvenientes como mayor probabilidad de errores en su recogida y la necesidad de añadir aditivos para preservar la muestra, lo que podrían alterar los resultados obtenidos [204]. Este hecho debe ser tenido en cuenta en la interpretación de los resultados, ya que en la orina de primera orina de la mañana los analitos se presentan de forma mas concentrada y, por tanto, los resultados obtenidos deben ser comparados con los rangos de referencia correspondientes a dicho tipo de muestra [94]. En el presente estudio se pudo observar que, tanto en los adultos como en los adolescentes, el BH y la ingesta de agua total se encontraban asociados de forma inversa con la gravedad específica. En los adultos, estas dos variables también se correlacionaron inversamente con el color de la orina. Sin embargo, en las niñas, el color se correlacionó con la eliminación de agua a través de la orina, de tal forma que a mayor volumen de agua eliminada, menor puntuación en la escala de color. En este sentido, es importante mencionar que en condiciones de actividad leve-moderada y bajo condiciones ambientales suaves, el BH viene determinado principalmente por la ingesta de agua [86]. Sin embargo, una baja ingesta y eliminación de agua podría resultar en un BH positivo, sin ello equivaler necesariamente a un estado de hidratación adecuado [86] y, por ello, a la hora de valorar el estado de hidratación, es fundamental tener en cuenta la ingesta y eliminación de agua, en cuanto a valores absolutos, además del BH.

También se determinó el agua corporal total a través de impedancia bioeléctrica, considerado otro importante marcador del estado de hidratación [61, 62, 188, 189, 205]. Se sabe que la metodología más precisa para su estimación es la hidrometría con isótopos como el deuterio, tritio y oxígeno-18, pero estas técnicas requieren el empleo de equipos muy complejos, un gran coste económico, implicaciones éticas y son de larga duración, lo que imposibilita su aplicación a nivel comunitario [206, 207]. Por ello, en el presente estudio el agua corporal total se determinó a través de impedancia bioeléctrica multifrecuencia, ya que se trata de una técnica no invasiva, sencilla y viable económicamente, que ha demostrado ser útil para estimar el agua total, intracelular y extracelular y que parece ser uno de los métodos más precisos para estimar el contenido en agua corporal tanto en individuos sanos como en obesos [208-211]. Sin embargo, esta técnica no permite identificar pequeños cambios en el contenido en agua corporal. En el presente estudio no se encontró correlación entre el contenido en agua corporal total y el estado de hidratación en los adultos, hecho que

podría deberse al tamaño y homogeneidad de la muestra en cuanto a sus características antropométricas. En la población adolescente, el contenido de agua corporal total si se encontraba correlacionado positivamente con la ingesta de agua total y con el BH, aunque sólo en las niñas.

Por último, se determinaron marcadores sanguíneos del estado de hidratación, particularmente la concentración de hemoglobina y el hematocrito en sangre capilar. Ambos parámetros responden a cambios en el estado de hidratación, de tal forma que ante una situación de deshidratación estos sufrirían un incremento respecto a sus niveles basales, ya que al disminuir el volumen sanguíneo, se produciría un fenómeno de hemoconcentración [212, 213]. Sin embargo, en estados de deshidratación leve, pueden no apreciarse cambios en los mismos [61], hecho que ha sido demostrado en diversas investigaciones [189, 193, 214], como la llevada a cabo por Francesconi y cols. [214], cuyos resultados mostraron que sujetos que perdieron más de un 3% de peso corporal por sudoración no mostraron cambios en el hematocrito, pero sí en ciertos marcadores urinarios del estado de hidratación. En el presente estudio se obtuvo correlación entre la ingesta y la eliminación de agua total con el hematocrito y la concentración de hemoglobina tanto en niños como en niñas, de tal forma que un mayor volumen de ingesta de agua se asoció con niveles más bajos de hematocrito, mientras que una mayor eliminación de agua se asoció con valores más bajos tanto de hematocrito como de hemoglobina, lo cual podría ser explicado por el hecho de que aquellos individuos que ingieren mayor cantidad de agua también suelen experimentar una mayor eliminación [200, 215, 216]. Por el contrario, en los adultos no se encontró ninguna asociación entre el estado de hidratación y los marcadores hematológicos. En estudios similares realizados en población adulta [54], tampoco se encuentran diferencias significativas en el hematocrito en función de la ingesta de agua.

Adicionalmente, se recogieron datos hemodinámicos, ya que aunque dichos parámetros no constituyen marcadores en sí mismos [54, 61, 86], sí se encuentran relacionados con el estado de hidratación. De hecho, se sabe que la deshidratación crónica se asocia con niveles de PAS elevados [217-219] ya que, entre otros motivos, aumenta la actividad de la Kinasa 1 (SGK1), enzima que participa en la fisiopatología de varios estados patológicos como hipertensión, trombosis, fibrosis cardiaca y accidente cerebrovascular [217]. Además, en un estudio llevado a cabo por Perrier y cols. [54], se observó que los individuos que ingerían menor cantidad de agua presentaban una mayor expresión de la hormona Arginina-Vasopresina, la cual se encuentra estrechamente relacionada con la regulación de la presión arterial [220,

221]. Sin embargo, es importante destacar que, ante una situación de deshidratación aguda, el volumen de agua en el torrente sanguíneo disminuye, lo cual puede derivar en una disminución de la presión arterial [87, 222]. En el presente estudio, no se encontró asociación entre los datos hemodinámicos y el estado de hidratación en población adulta. Sin embargo, en población adolescente los datos hemodinámicos se asociaron con la eliminación de agua, y más específicamente con la eliminación de agua a través del sudor. En la muestra total, la eliminación de agua a través del sudor se asoció inversamente con la PAD y el pulso, y de forma positiva con la PAS. Al analizar los datos por sexo, se observó que en las niñas la eliminación de agua a través del sudor se correlacionaba positivamente con la PAS, y en los niños se encontró correlación inversa entre esta misma variable y la PAD. Estos hechos podrían indicar cierta asociación entre los parámetros hemodinámicos y la actividad física [223, 224], ya que la eliminación de agua a través del sudor se encuentra fuertemente correlacionada con esta. Sin embargo, para ahondar en los mecanismos responsables de dichas asociaciones sería necesario disponer de información específica sobre diversos aspectos fisiológicos y hormonales relacionados con la regulación de la presión arterial, que no han sido analizados en el presente estudio puesto que no constituyen el objetivo del mismo, aunque cabe destacar que la diferente respuesta fisiológica a la activación del sistema renina-angiotensina en función del sexo, ha sido documentado en diversas investigaciones [225-227].

Los resultados de ingesta de agua obtenidos a través de ambos cuestionarios también fueron comparados con los resultados obtenidos a partir de un diario dietético de tres días para comprobar que los resultados de ingesta obtenidos eran válidos. Hasta la fecha, el diario dietético de 3 o 4 días es el método de elección para la validación de cuestionarios [64, 65, 180]. Como se ha podido observar, tanto en adultos como en adolescentes, la ingesta de agua, la ingesta de agua procedente de bebidas y la ingesta de agua total, se encontraban asociados con la ingesta de agua total procedente del diario dietético.

Respecto al volumen de agua eliminada, los datos obtenidos en el presente estudio se encuentran en concordancia con la literatura actual (1500 - 3100 mL/día) [53, 66]. De las tres vías de eliminación analizadas, bajo condiciones de salud adecuadas, la eliminación de agua a través de las heces suele presentar una escasa variabilidad y suponer unos 100-200 mL/día [66], la eliminación de agua a través de la orina suele ser de 1000 a 2000 mL día, y depende de varios factores como la ingesta de líquidos y alimentos y las condiciones de temperatura y actividad física [66]. El volumen de orina

eliminado se encuentra inversamente relacionado con el estado de hidratación, de tal forma que se ve disminuido en condiciones de deshidratación y aumentado en condiciones de hiperhidratación, de tal forma que se considera que en estado de euhidratación este es aproximadamente 50 mL/hora, lo que equivaldría a 1200 mL/díarios, mientras que en estado de deshidratación este puede disminuir hasta 15mL/hora (360 mL/día) y, en condiciones de hiperhidratación, puede aumentar hasta 600-1000 mL/hora [66]. Por último, la eliminación de agua a través de sudor se encuentra directamente relacionada con la práctica de actividad física. De hecho, se han publicado estudios sobre la variabilidad que esta presenta en función del tipo de deporte o ejercicio practicado [228, 229] . Las condiciones de humedad y temperatura también influyen notablemente en la producción de sudor, de tal forma que esta puede variar desde los 500 mL diarios en climas fríos sin practicar actividad física hasta 10 L diarios bajo altas temperaturas y practicando actividad física [230]. Otros factores como el tipo de ropa, el peso, el sexo y la genética [198, 231] también influyen en la producción de sudor. En el presente estudio, para estimar con la mayor precisión posible la eliminación de agua a través del sudor, la intensidad y duración de la actividad física practicada fue evaluada a través de acelerómetros.

Por último, para analizar la reproducibilidad, se analizó la concordancia entre las dos cumplimentaciones de ambos cuestionarios mediante el coeficiente de correlación intraclass, el cual indicó que en ambos casos era elevada (ICC > 0,8: concordancia elevada). También se analizó la consistencia interna a través del α de Cronbach, obteniéndose resultados adecuados y muy similares en ambos casos (α de Cronbach > 0,7: consistencia adecuada). El método gráfico Bland-Altman indicó que la fiabilidad de ambos cuestionarios era adecuada, ya que más del 95% de las diferencias entre ambas cumplimentaciones se encontraban dentro de los límites de concordancia y no se encontraron diferencias sistemáticas ni sesgos.

Por todo lo descrito anteriormente, pudimos concluir que ambos cuestionarios eran válidos y reproducibles para cumplir el objetivo propuesto y es la primera vez que se diseña y valida un cuestionario para evaluar la ingesta, eliminación y BH en población adulta y adolescente española.

Entre las principales fortalezas del presente estudio, encontramos la novedad de sus hallazgos, el gran número de sujetos estudiados, el uso de un cuestionario específico del estado de hidratación, la calidad de las variables antropométricas recogidas, el diseño de una herramienta novedosa, útil y atractiva que permite estimar la ingesta,

eliminación y BH, y el empleo de acelerómetros para la estimación de la actividad física. Sin embargo, no está exento de limitaciones que deben ser mencionadas. Entre ellas, encontramos la imposibilidad de medir de forma directa el consumo de agua y la composición corporal, dadas las implicaciones éticas y económicas que estas técnicas conllevarían, así como, la imposibilidad de analizar el efecto de cada tipo de bebida sobre el peso y la composición corporal. Además, en el estudio de adultos nos encontramos ante una muestra con una gran homogeneidad socioeconómica, lo cual puede influenciar los datos de prevalencia de sobrepeso/obesidad obtenidos, así como también la mayor participación de mujeres que hombres. En cuanto al estudio de validación, el análisis de la gravedad específica a través de tiras reactivas y en la primera orina de la mañana, en lugar de en orina de 24 horas, constituye la principal limitación.

7. Conclusiones

7. Conclusiones

7.1. Conclusiones del estudio realizado en población adulta:

- “El cuestionario para la evaluación del estado de hidratación” es válido y reproducible para estimar la ingesta y eliminación de agua, así como el balance hídrico, en población adulta sana.
- Existe una clara asociación entre la ingesta de agua y el estado de hidratación, con el peso y la composición corporal en población adulta, ya que:
 - Valores más elevados de ingesta hídrica se asocian con un mayor contenido en agua corporal.
 - La ingesta de agua normalizada por el peso corporal se asocia de forma inversa con varios marcadores de sobrepeso/obesidad como son: el peso, el índice de masa corporal, la masa grasa y la circunferencia de la cintura, y de forma positiva con el contenido en agua corporal.
 - Se encuentran diferencias significativas en la ingesta de agua en función del índice de masa corporal de tal forma que, las mujeres obesas o con sobrepeso ingieren menor cantidad de agua total y agua procedente de alimentos (ambas variables normalizadas por el peso corporal), que aquellas que presentan normopeso o bajo peso.
 - Las mujeres con mejor balance hídrico muestran mayor contenido en agua corporal total.
 - Las mujeres que consumen mayor cantidad de agua total normalizada por el peso corporal, presentan menor peso, índice de masa corporal, circunferencia de la cintura, y grasa corporal y, por el contrario, mayor contenido en agua corporal.

7.2. Conclusiones del estudio realizado en población adolescente:

- “El cuestionario para la evaluación del estado de hidratación para adolescentes” es válido y reproducible para estimar la ingesta y eliminación de agua, así como el balance hídrico en población sana adolescente.
- Existe una clara asociación entre la ingesta de agua y el estado de hidratación con el peso y la composición corporal en población adolescente, ya que:
 - El balance hídrico se asocia de forma inversa con el índice de masa corporal percentilado. Además, en los niños, el balance hídrico también

se encuentra inversamente correlacionado con la circunferencia de la cintura y la masa grasa y, de forma positiva, con el contenido en agua corporal.

- Valores más elevados de ingesta y balance hídrico se asocian con mayor contenido en agua corporal y menor contenido en grasa en los niños.
- La ingesta de agua normalizada por el peso corporal se asocia de forma inversa con varios marcadores de sobrepeso/obesidad, como son: el peso, el índice de masa corporal, la masa grasa y la circunferencia de la cintura y, de forma positiva, con el contenido en agua corporal.
- Se encuentran diferencias significativas en la ingesta de agua en función del índice de masa corporal de tal forma que, los adolescentes con sobrepeso u obesidad ingieren menor cantidad de agua, agua procedente de bebidas, agua procedente de alimentos y agua total (todas las variables normalizadas por el peso corporal), que aquellos que presentan normopeso y/o bajo peso.
- Los niños adolescentes con mejor balance hídrico presentaron menor índice de masa corporal, masa grasa y circunferencia de la cintura.
- Los adolescentes de ambos sexos que consumen mayor cantidad de agua normalizada por el peso corporal presentan, menor peso, índice de masa corporal, masa grasa y circunferencia de la cintura.

7.3. Conclusión general

Los resultados expuestos en la presente Tesis Doctoral muestran que el estado de hidratación constituye un marcador innovador, válido y predictivo del sobrepeso/obesidad, ya que existe una clara asociación entre la ingesta de agua y el balance hídrico, con el el peso y la composición corporal, de tal forma que las personas que se encuentran mejor hidratadas exhiben una composición corporal más saludable y un peso inferior. Por lo tanto, estrategias en ingesta de agua individualizada (“hidratación de precisión”) y en el balance hídrico, podría ser usadas en el mantenimiento del peso corporal y en la prevención del sobrepeso y la obesidad en la población.

9. Bibliografía

9. Bibliografía.

1. Organización Mundial de la Salud (OMS). *10 datos sobre la obesidad*. October 2019]; Available from: <https://www.who.int/features/factfiles/obesity/es/>.
2. Popkin, M.S.B., *Obesity: Health and Economic Consequences of an Impending Global Challenge*. Obesity: Health and Economic Consequences of an Impending Global Challenge.
3. Organización Mundial de la Salud (OMS). *Obesidad y sobrepeso*. October 2019]; Available from: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
4. Ministerio de Sanidad, C.y.B.S. *Encuesta Nacional de Salud. España 2017*. April 2019]; Available from: <http://www.msbs.gob.es/estadEstudios/estadisticas/encuestaNacional/encuesta2017.htm>
5. Aranceta-Bartrina, J., et al., *Prevalence of General Obesity and Abdominal Obesity in the Spanish Adult Population (Aged 25-64 Years) 2014-2015: The ENPE Study*. Rev Esp Cardiol (Engl Ed), 2016. **69**(6): p. 579-87.
6. Ministerio de Sanidad consumo y Bienestar Social. *Prevalencia de sobrepeso y obesidad en España en el informe "The heavy burden of obesity" (OCDE 2019) y en otras fuentes de datos*. 2019 Abril 2020]; Available from: http://www.aecosan.msssi.gob.es/AECOSAN/docs/documentos/nutricion/observatorio/Resumen_resultados_informe_OCD-NAOS.pdf.
7. Gasol, F. *Estudio PASOS resultados preliminares Gasol Foundation*. 2019 Abril 2020]; Available from: <https://www.gasolfoundation.org/wp-content/uploads/2019/09/diptico-resultados-preliminares-PASOS.pdf>.
8. Organización Mundial de la Salud. *Growth reference 5-19 years*. Abril 2020]; Available from: https://www.who.int/growthref/who2007_bmi_for_age/en/.
9. Perea-Martínez A, et al., *Obesidad y comorbilidades en niños y adolescentes asistidos en el Instituto Nacional de Pediatría*. Acta Pediatr Mex. , 2009. **30**(3): p. 167-74.

10. Bray GA, et al., *The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement*. *Endocr Rev.* Apr 1():. doi: , 2018. ;**39**(2): p. 79-132.
11. Cabrerizo L, et al., *Complicaciones asociadas a la obesidad*. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 2008. **14**(3): p. 156-62.
12. Martínez-Rodríguez E, et al., *Comorbidity associated with obesity in a large population: The APNA study*. *Obes Res Clin Pract* 2015. **9** (5): p. 435-47.
13. Sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO) *Consenso SEEDO 2016*. . Octubre 2019]; Available from: <https://www.seedo.es/images/site/ConsensoSEEDO2016.pdf>.
14. Chu DT, et al., *An update on obesity: Mental consequences and psychological interventions*. *Diabetes Metab Syndr*, 2019 **13**(1): p. 155-160.
15. sociedad Española para el Estudio de la Obesidad (SEEDO), *Consenso SEEDO 2000 para la evaluación del sobrepeso y la obesidad y el establecimiento de criterios de intervención terapéutica. Conferencia de consenso*. *Med Clin (Barc)*, 2000. **115**: p. 587-97.
16. Barton M, *Childhood obesity: a life-long health risk*. *Acta Pharmacol Sin*, 2012
17. Bridger T, *Childhood obesity and cardiovascular disease*. *Paediatrics & child health*, 2009. **14**(3): p. 177-82.
18. Pulgaron ER and Delamater AM, *Obesity and type 2 diabetes in children: epidemiology and treatment*. *Curr Diab Rep*, 2014 **14**(8): p. 508.
19. Buttitta M, et al., *Quality of life in overweight and obese children and adolescents: a literature review*. *Qual Life Res*, 2014. **23**(4): p. 1117-39.
20. Wardle J and Cooke L, *The impact of obesity on psychological well-being*. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*, 2005,. **19**(3): p. 421- 40.
21. Pine DS, et al., *The associations between childhood depression and adulthood body mass index*. *Pediatrics*, 2003. **107**: p. 1049–56.
22. Anderson SE, et al., *Association of depression and anxiety disorders with weight change in a prospective community-based study of children followed up into adulthood*. *Arch Pediatr Adolesc Med*, 2006. **160**(3): p. 285–91.

23. Anton SD, et al., *Association of depression with body mass index, sedentary behavior, and maladaptive eating attitudes and behaviors in 11 to 13-year old children*. *Eat Weight Disord*, 2006. **11**(3): p. e102-8.
24. Luppino FS, et al., *Overweight, obesity, and depression: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies*. *Arch Gen Psychiatry*, 2010 **67**(3): p. 220-9.
25. Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE). *The Heavy Burden of Obesity : The Economics of Prevention (Summary)*. 2019; Available from: <https://doi.org/10.1787/f563de08-en> .
26. Bray GA, *Obesity: The Disease*. *J Med Chem*, 2006. **49**(14): p. 4001-7.
27. Lakerveld J and Mackenbach J, *The Upstream Determinants of Adult Obesity*. *Obes Facts*, 2017. **10**(3): p. 216-22.
28. Hruby A and Hu FB, *The Epidemiology of Obesity: A Big Picture*. *Pharmacoeconomics*, 2015. **33**(7): p. 673-89.
29. Castaner O, et al., *The Gut Microbiome Profile in Obesity: A Systematic Review*. *Int J Endocrinol*, 2018. **2018**: p. 4095789.
30. Marti A, Martínez-González MA, and Martínez JA, *Interaction between genes and lifestyle factors on obesity*. *Proc Nutr Soc*, 2008 **67**(1): p.:1-8.
31. Lopomo A, Burgio E, and Migliore L, *Epigenetics of obesity*. *Prog Mol Biol Transl Sci*, 2016. **140**: p. 151-84.
32. San-Cristobal, R., et al., *Contribution of macronutrients to obesity: implications for precision nutrition*. *Nat Rev Endocrinol*, 2020. **16**(6): p. 305-320.
33. Patel SR and Hu FB, *Short sleep duration and weight gain: a systematic review*. *Obesity*, 2008. **16**: p. 643–53.
34. Ayanian JZ, et al., *Psychosocial stress and change in weight among US adults*. *Am J Epidemiol*, 2009. **170**: p. 181–92.
35. Muckelbauer R, et al., *Association between water consumption and body weight outcomes: a systematic review*. *Am J Clin Nutr*, 2013. **98**(2): p. 282-99.
36. Daniels MC and Popkin BM, *Impact of water intake on energy intake and weight status: a systematic review*. *Nutr Rev*, 2010. **68**(9): p. 505-21.
37. Jequier E and Constant F, *Water as an essential nutrient: the physiological basis of hydration*. *Eur J Clin Nutr* 2009. **64**: p. 115-23.

38. Popkin BM, D'Anci KE, and Rosenberg IH, *Water, hydration, and health*. Nutr Rev., 2010 **68**(8): p. 439-58.
39. Riebl, S.K. and B.M. Davy, *The Hydration Equation: Update on Water Balance and Cognitive Performance*. ACSMs Health Fit J, 2013. **17**(6): p. 21-28.
40. Benton, D. and N. Burgess, *The effect of the consumption of water on the memory and attention of children*. Appetite, 2009. **53**(1): p. 143-6.
41. Bar-David, Y., J. Urkin, and E. Kozminsky, *The effect of voluntary dehydration on cognitive functions of elementary school children*. Acta Paediatr, 2005. **94**(11): p. 1667-73.
42. Park, S., et al., *Factors associated with low water intake among US high school students - National Youth Physical Activity and Nutrition Study, 2010*. J Acad Nutr Diet, 2012. **112**(9): p. 1421-1427.
43. Franse, C.B., et al., *Factors associated with water consumption among children: a systematic review*. Int J Behav Nutr Phys Act, 2019. **16**(1): p. 64.
44. Chang, T., et al., *Inadequate Hydration, BMI, and Obesity Among US Adults: NHANES 2009-2012*. Ann Fam Med, 2016. **14**(4): p. 320-4.
45. Thornton, S.N., *Increased Hydration Can Be Associated with Weight Loss*. Front Nutr, 2016. **3**: p. 18.
46. Pan, A., et al., *Changes in water and beverage intake and long-term weight changes: results from three prospective cohort studies*. Int J Obes (Lond), 2013. **37**(10): p. 1378-85.
47. Milla-Tobarra, M., et al., *The association between water intake, body composition and cardiometabolic factors among children - The Cuenca study*. Nutr Hosp, 2016. **33**(Suppl 3): p. 312.
48. Atkins, D., et al., *Grading quality of evidence and strength of recommendations*. Bmj, 2004. **328**(7454): p. 1490.
49. Kiene, H., H.J. Hamre, and G.S. Kienle, *In support of clinical case reports: a system of causality assessment*. Glob Adv Health Med, 2013. **2**(2): p. 64-75.
50. Puga, A.M., T. Partearroyo, and G. Varela-Moreiras, *Hydration status, drug interactions, and determinants in a Spanish elderly population: a pilot study*. J Physiol Biochem, 2018. **74**(1): p. 139-151.

51. Institute of Medicine of the National Academies, *Dietary Reference Intakes for Water, Sodium, Chloride, Potassium and Sulfate*. 2005, Washington, D.C: National Academy Press.
52. Benelman B and Wyness L, *Hydration and Health*. Nutr Bull, 2010. **35**: p. 3-25.
53. Maughan, R.J., *Impact of mild dehydration on wellness and on exercise performance*. Eur J Clin Nutr, 2003. **57 Suppl 2**: p. S19-23.
54. Perrier, E., et al., *Hydration biomarkers in free-living adults with different levels of habitual fluid consumption*. Br J Nutr, 2013. **109**(9): p. 1678-87.
55. Earthman, C., et al., *Bioimpedance spectroscopy for clinical assessment of fluid distribution and body cell mass*. Nutr Clin Pract, 2007. **22**(4): p. 389-405.
56. Ellis, K.J., *Human body composition: in vivo methods*. Physiol Rev, 2000. **80**(2): p. 649-80.
57. Bellido Guerrero D, et al., *Análisis de la Composición corporal.*, in *Tratado de Nutrición. Tomo III: Nutrición Humana en el Estado de Salud*, G. A, Editor. 2010, Editorial médica panamericana.
58. Watson, P.E., I.D. Watson, and R.D. Batt, *Total body water volumes for adult males and females estimated from simple anthropometric measurements*. Am J Clin Nutr, 1980. **33**(1): p. 27-39.
59. Hume, R. and E. Weyers, *Relationship between total body water and surface area in normal and obese subjects*. J Clin Pathol, 1971. **24**(3): p. 234-8.
60. Basile, C., et al., *Total body water in health and disease: Have anthropometric equations any meaning?* Nephrol Dial Transplant, 2008. **23**(6): p. 1997-2002.
61. Shirreffs, S.M., *Markers of hydration status*. Eur J Clin Nutr, 2003. **57 Suppl 2**: p. S6-9.
62. Armstrong, L.E., *Assessing hydration status: the elusive gold standard*. J Am Coll Nutr, 2007. **26**(5 Suppl): p. 575s-584s.
63. Aranceta-Bartrina, J., et al., *Conclusions of the II International and IV Spanish Hydration Congress. Toledo, Spain, 2nd-4th December, 2015*. Nutr Hosp, 2016. **33**(Suppl 3): p. 308.

64. Hedrick, V.E., et al., *The beverage intake questionnaire: determining initial validity and reliability*. J Am Diet Assoc, 2010. **110**(8): p. 1227-32.
65. Malisova, O., et al., *The water balance questionnaire: design, reliability and validity of a questionnaire to evaluate water balance in the general population*. Int J Food Sci Nutr, 2012. **63**(2): p. 138-44.
66. EFSA Panel on Dietetic Products, N.a.A.N., *Scientific opinion on dietary reference values for water*. EFSA J 2010. **8**: p. 1459.
67. Nissensohn, M., et al., *Beverage Consumption Habits and Association with Total Water and Energy Intakes in the Spanish Population: Findings of the ANIBES Study*. Nutrients, 2016. **8**(4): p. 232.
68. Gandy, J., et al., *Relevance of Assessment Methods for Fluid Intake*. Ann Nutr Metab, 2016. **68 Suppl 2**: p. 1-5.
69. Ferreira-Pego, C., et al., *Total fluid intake and its determinants: cross-sectional surveys among adults in 13 countries worldwide*. Eur J Nutr, 2015. **54 Suppl 2**: p. 35-43.
70. Athanasatou, A., et al., *Water Intake in a Sample of Greek Adults Evaluated with the Water Balance Questionnaire (WBQ) and a Seven-Day Diary*. Nutrients, 2016. **8**(9).
71. Nissensohn, M., et al., *Beverage Consumption Habits among the European Population: Association with Total Water and Energy Intakes*. Nutrients, 2017. **9**(4).
72. Fenandez-Alvira, J.M., et al., *Fluid intake in Spanish children and adolescents; a cross-sectional study*. Nutr Hosp, 2014. **29**(5): p. 1163-70.
73. Iglesia, I., et al., *Total fluid intake of children and adolescents: cross-sectional surveys in 13 countries worldwide*. Eur J Nutr, 2015. **54 Suppl 2**: p. 57-67.
74. Armstrong, L.E., et al., *Recommendations for healthier hydration: addressing the public health issues of obesity and type 2 diabetes*. Clin Obes, 2012. **2**(5-6): p. 115-24.
75. *World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects*. Jama, 2013. **310**(20): p. 2191-4.
76. Ministerio de la Presidencia relaciones con las cortes y memoria democrática Gobierno de España Agencia Estatal Boletín Oficial del

- Estado, *Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal*. . 1999.
77. Unión Europea, *Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento Europeo y del Consejo del 27 de abril de 2016 relativo a la protección de personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos y por el que se deroga la directiva 95/46/CE (Reglamento general de protección de datos)*. 2016, Diario Oficial de la Unión Europea,.
 78. Ministerio de la Presidencia relaciones con las cortes y memoria democrática Gobierno de España Agencia Estatal Boletín Oficial del Estado, *Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales. Documento BOE-A-2018-16673*. 2018.
 79. Moreiras O, et al., *Tablas de composición de alimentos*. 15th ed. 2013, Madrid: Pirámide.
 80. Panagiotakos, D., *Health measurement scales: methodological issues*. Open Cardiovasc Med J, 2009. **3**: p. 160-5.
 81. Plasqui, G., A.G. Bonomi, and K.R. Westerterp, *Daily physical activity assessment with accelerometers: new insights and validation studies*. Obes Rev, 2013. **14**(6): p. 451-62.
 82. Lee, P.H., et al., *Validity of the International Physical Activity Questionnaire Short Form (IPAQ-SF): a systematic review*. Int J Behav Nutr Phys Act, 2011. **8**: p. 115.
 83. Fischbach FT, *A manual of laboratory & diagnostic tests*. 2003, Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins.
 84. Jensen, R., D. Buffangeix, and G. Covi, *Measuring water content of feces by the Karl Fischer method*. Clin Chem, 1976. **22**(8): p. 1351-4.
 85. Rehrer NJ and Burke LM, *Sweating losses during various sports*. Aust J Nutr Diet, 1996. **53**: p. 13-6.
 86. Armstrong, L.E., et al., *Hydration biomarkers and dietary fluid consumption of women*. J Acad Nutr Diet, 2012. **112**(7): p. 1056-61.
 87. Gonzalez-Alonso, J., et al., *Dehydration markedly impairs cardiovascular function in hyperthermic endurance athletes during exercise*. J Appl Physiol (1985), 1997. **82**(4): p. 1229-36.

88. Craig, C.L., et al., *International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity*. Med Sci Sports Exerc, 2003. **35**(8): p. 1381-95.
89. Agencia Estatal de Meteorología (AEMET). abril 2020]; Available from: http://www.aemet.es/es/serviciosclimaticos/vigilancia_clima/resumenes?w=1&datos=-1&n=5&k=mad.
90. Ortega RM, et al. *DIAL software for assessing diets and food calculations (for Windows, version 3.0.0.5)*. 2013 22 de diciembre de 2015]; Available from: <https://www.alceingenieria.net/nutricion.htm>
91. Stewart A and Marfell-Jones M, *International Standards for Anthropometric Assessment*. 2011, New Zealand: Lower Hutt.
92. *Bioelectrical impedance analysis in body composition measurement: National Institutes of Health Technology Assessment Conference Statement*. Am J Clin Nutr, 1996. **64**(3 Suppl): p. 524s-532s.
93. Armstrong, L.E., *Performing in Extreme Environments*. 2000: Human Kinetics.
94. Armstrong, L.E., et al., *Human hydration indices: acute and longitudinal reference values*. Int J Sport Nutr Exerc Metab, 2010. **20**(2): p. 145-53.
95. Organización Mundial de la Salud, *Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic; No. 894;*. 2000, Geneva, Switzerland: Organización Mundial de la Salud.
96. Moreiras, O.C., A.; CaMoreiras, O.; Carbajal, A.; Cabrera, L.; Cuadrado, C.;, *Tablas de Composición de Alimentos*. 19th ed. 2018 Madrid, Spain, : Pirámide: .
97. Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente and Gobierno de España. Tabla informativa de verduras de temporada; Available from: <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/frutas-verduras-temporada/>.
98. Ministerio de Agricultura y Pesca Alimentación y Medio Ambiente, G.d.E. *Tabla informativa de frutas de temporada*. . Diciembre 2016]; Available from: <https://www.mapa.gob.es/es/alimentacion/temas/frutas-verduras-temporada/>.
99. Fernández C, et al. *Estudio de crecimiento de Bilbao. Curvas y tablas de crecimiento (Estudio transversal)*. 2011; Available from: <https://www.fundacionorbegozo.com/wp-content/uploads/pdf/tPC.pdf>

100. Nunnally, J.C., *Psychometric theory*. 1978: McGraw-Hill.
101. Stookey, J.D., et al., *Drinking water is associated with weight loss in overweight dieting women independent of diet and activity*. *Obesity (Silver Spring)*, 2008. **16**(11): p. 2481-8.
102. Stookey JD, *Drinking Water and Weight Management*. *Nutrition Today*,, 2010. **45**(6S): p. S7-12.
103. Stookey, J.D., *Another look at: fuel + O₂ --> CO₂ + H₂O. Developing a water-oriented perspective*. *Med Hypotheses*, 1999. **52**(4): p. 285-90.
104. Keller, U., et al., *Effects of changes in hydration on protein, glucose and lipid metabolism in man: impact on health*. *Eur J Clin Nutr*, 2003. **57 Suppl 2**: p. S69-74.
105. Stahl, A., et al., *Relation between hydration status in children and their dietary profile - results from the DONALD study*. *Eur J Clin Nutr*, 2007. **61**(12): p. 1386-92.
106. Pan, X.B., et al., *Plain Water Intake and Association With the Risk of Overweight in the Chinese Adult Population: China Health and Nutrition Survey 2006-2011*. *J Epidemiol*, 2020. **30**(3): p. 128-135.
107. Lappalainen, R., et al., *Drinking water with a meal: a simple method of coping with feelings of hunger, satiety and desire to eat*. *Eur J Clin Nutr*, 1993. **47**(11): p. 815-9.
108. Van Walleghe, E.L., et al., *Pre-meal water consumption reduces meal energy intake in older but not younger subjects*. *Obesity (Silver Spring)*, 2007. **15**(1): p. 93-9.
109. Dennis, E.A., et al., *Water consumption increases weight loss during a hypocaloric diet intervention in middle-aged and older adults*. *Obesity (Silver Spring)*, 2010. **18**(2): p. 300-7.
110. Corney, R.A., C. Sunderland, and L.J. James, *Immediate pre-meal water ingestion decreases voluntary food intake in lean young males*. *Eur J Nutr*, 2016. **55**(2): p. 815-819.
111. Boschmann, M., et al., *Water drinking induces thermogenesis through osmosensitive mechanisms*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. **92**(8): p. 3334-7.

112. Dubnov-Raz, G., et al., *Influence of water drinking on resting energy expenditure in overweight children*. *Int J Obes (Lond)*, 2011. **35**(10): p. 1295-300.
113. Wong, J.M.W., et al., *Effects of Advice to Drink 8 Cups of Water per Day in Adolescents With Overweight or Obesity: A Randomized Clinical Trial*. *JAMA Pediatr*, 2017. **171**(5): p. e170012.
114. Popkin, B.M., D.V. Barclay, and S.J. Nielsen, *Water and food consumption patterns of U.S. adults from 1999 to 2001*. *Obes Res*, 2005. **13**(12): p. 2146-52.
115. Ferreira-Pêgo, C., N. Babio, and J. Salas-Salvadó, *A higher Mediterranean diet adherence and exercise practice are associated with a healthier drinking profile in a healthy Spanish adult population*. *Eur J Nutr*, 2017. **56**(2): p. 739-748.
116. Elmadfa, I. and A.L. Meyer, *Patterns of drinking and eating across the European Union: implications for hydration status*. *Nutr Rev*, 2015. **73 Suppl 2**: p. 141-7.
117. Duffey, K.J. and B.M. Popkin, *Adults with healthier dietary patterns have healthier beverage patterns*. *J Nutr*, 2006. **136**(11): p. 2901-7.
118. Gazan, R., et al., *Drinking Water Intake Is Associated with Higher Diet Quality among French Adults*. *Nutrients*, 2016. **8**(11).
119. Lieberman, H.R., *Hydration and cognition: a critical review and recommendations for future research*. *J Am Coll Nutr*, 2007. **26**(5 Suppl): p. 555s-561s.
120. Murray, B., *Hydration and physical performance*. *J Am Coll Nutr*, 2007. **26**(5 Suppl): p. 542s-548s.
121. Iglesias Rosado, C., et al., *[Importance of water in the hydration of the Spanish population: FESNAD 2010 document]*. *Nutr Hosp*, 2011. **26**(1): p. 27-36.
122. Gibson, S. and S.M. Shirreffs, *Beverage consumption habits "24/7" among British adults: association with total water intake and energy intake*. *Nutr J*, 2013. **12**: p. 9.
123. Mistura, L., L. D'Addezio, and A. Turrini, *Beverage Consumption Habits in Italian Population: Association with Total Water Intake and Energy Intake*. *Nutrients*, 2016. **8**(11).

124. Szabo de Edelenyi, F., et al., *Characteristics of Beverage Consumption Habits among a Large Sample of French Adults: Associations with Total Water and Energy Intakes*. *Nutrients*, 2016. **8**(10).
125. Malik, V.S. and F.B. Hu, *Sugar-Sweetened Beverages and Cardiometabolic Health: An Update of the Evidence*. *Nutrients*, 2019. **11**(8).
126. Miller, C., et al., *Consumption of Sugar-Sweetened Beverages, Juice, Artificially-Sweetened Soda and Bottled Water: An Australian Population Study*. *Nutrients*, 2020. **12**(3).
127. Haque, M., et al., *A narrative review of the effects of sugar-sweetened beverages on human health: A key global health issue*. *J Popul Ther Clin Pharmacol*, 2020. **27**(1): p. e76-e103.
128. Malik, V.S., et al., *Sugar-sweetened beverages and weight gain in children and adults: a systematic review and meta-analysis*. *Am J Clin Nutr*, 2013. **98**(4): p. 1084-102.
129. Vartanian, L.R., M.B. Schwartz, and K.D. Brownell, *Effects of soft drink consumption on nutrition and health: a systematic review and meta-analysis*. *Am J Public Health*, 2007. **97**(4): p. 667-75.
130. Hu, F.B. and V.S. Malik, *Sugar-sweetened beverages and risk of obesity and type 2 diabetes: epidemiologic evidence*. *Physiol Behav*, 2010. **100**(1): p. 47-54.
131. Bernabé, E., et al., *Sugar-sweetened beverages and dental caries in adults: a 4-year prospective study*. *J Dent*, 2014. **42**(8): p. 952-8.
132. Te Morenga, L.A., et al., *Dietary sugars and cardiometabolic risk: systematic review and meta-analyses of randomized controlled trials of the effects on blood pressure and lipids*. *Am J Clin Nutr*, 2014. **100**(1): p. 65-79.
133. Amoutzopoulos, B., et al., *Free and Added Sugar Consumption and Adherence to Guidelines: The UK National Diet and Nutrition Survey (2014/15-2015/16)*. *Nutrients*, 2020. **12**(2).
134. Organización Mundial de la Salud. *Reducing free sugar intake in children and adults*. Abril 2020]; Available from: https://www.who.int/elena/titles/guidance_summaries/sugars_intake/en/.

135. Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research, *Fluid Replacement and Heat Stress*. 1994, Washington D.C.: National Academies Press (US).
136. Ritz, P., et al., *Influence of gender and body composition on hydration and body water spaces*. Clin Nutr, 2008. **27**(5): p. 740-6.
137. Ferry, M., *Strategies for ensuring good hydration in the elderly*. Nutr Rev, 2005. **63**(6 Pt 2): p. S22-9.
138. Vivanti, A.P., *Origins for the estimations of water requirements in adults*. Eur J Clin Nutr, 2012. **66**(12): p. 1282-9.
139. Gandy, J., *Water intake: validity of population assessment and recommendations*. Eur J Nutr, 2015. **54 Suppl 2**(Suppl 2): p. 11-6.
140. Walton, J., L. O'Connor, and A. Flynn, *Cross-sectional association of dietary water intakes and sources, and adiposity: National Adult Nutrition Survey, the Republic of Ireland*. Eur J Nutr, 2019. **58**(3): p. 1193-1201.
141. Rosinger, A.Y., et al., *The role of obesity in the relation between total water intake and urine osmolality in US adults, 2009-2012*. Am J Clin Nutr, 2016. **104**(6): p. 1554-1561.
142. Maffeis, C., et al., *Fluid intake and hydration status in obese vs normal weight children*. Eur J Clin Nutr, 2016. **70**(5): p. 560-5.
143. Carretero-Gómez, J., et al., *Hydration and obesity among outpatient-based population: H2Ob study*. J Investig Med, 2018. **66**(4): p. 780-783.
144. O'Connell, B.N., et al., *Water turnover assessment in overweight adolescents*. Obesity (Silver Spring), 2011. **19**(2): p. 292-7.
145. Parretti, H.M., et al., *Efficacy of water preloading before main meals as a strategy for weight loss in primary care patients with obesity: RCT*. Obesity (Silver Spring), 2015. **23**(9): p. 1785-91.
146. Tembory Molina, M.C., *Desarrollo puberal normal: Pubertad precoz*. Pediatría Atención Primaria, 2009. **11**: p. 127-142.
147. Stachenfeld, N.S., *Sex hormone effects on body fluid regulation*. Exerc Sport Sci Rev, 2008. **36**(3): p. 152-9.
148. Heritage, A.S., et al., *Brainstem catecholamine neurons are target sites for sex steroid hormones*. Science, 1980. **207**(4437): p. 1377-9.
149. Sar, M. and W.E. Stumpf, *Simultaneous localization of [3H]estradiol and neurophysin I or arginine vasopressin in hypothalamic neurons*

- demonstrated by a combined technique of dry-mount autoradiography and immunohistochemistry. Neurosci Lett, 1980. 17(1-2): p. 179-84.*
150. Dubey, R.K. and E.K. Jackson, *Estrogen-induced cardiorenal protection: potential cellular, biochemical, and molecular mechanisms. Am J Physiol Renal Physiol, 2001. 280(3): p. F365-88.*
 151. Orshal, J.M. and R.A. Khalil, *Gender, sex hormones, and vascular tone. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2004. 286(2): p. R233-49.*
 152. Claybaugh, J.R., et al., *Effects of time of day, gender, and menstrual cycle phase on the human response to a water load. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2000. 279(3): p. R966-73.*
 153. Bankir, L., N. Bouby, and M.M. Trinh-Trang-Tan, *The role of the kidney in the maintenance of water balance. Baillieres Clin Endocrinol Metab, 1989. 3(2): p. 249-311.*
 154. Sebastian, R.S., et al., *Change in methodology for collection of drinking water intake in What We Eat in America/National Health and Nutrition Examination Survey: implications for analysis. Public Health Nutr, 2012. 15(7): p. 1190-5.*
 155. Özen, A.E., et al., *Fluid intake from beverages across age groups: a systematic review. J Hum Nutr Diet, 2015. 28(5): p. 417-42.*
 156. Ma, G., et al., *Fluid intake of adults in four Chinese cities. Nutr Rev, 2012. 70 Suppl 2: p. S105-10.*
 157. Max Rubner Institut, *National Food Intake Study II. Countrywide assessment of nutrition in adolescents and adults. Federal Research Institute for Nutrition and Food Karlsruhe, 2008: p. 280.*
 158. Bardosono, S., et al., *Total fluid intake assessed with a 7-day fluid record versus a 24-h dietary recall: a crossover study in Indonesian adolescents and adults. Eur J Nutr, 2015. 54 Suppl 2(Suppl 2): p. 17-25.*
 159. Le Bellego L, et al., *Understanding Fluid Consumption Patterns to Improve Healthy Hydration. Nutrition Today, 2010. 45(6): p. S22-S26.*
 160. Malisova, O., et al., *Water Intake and Hydration Indices in Healthy European Adults: The European Hydration Research Study (EHRS). Nutrients, 2016. 8(4): p. 204.*
 161. Wardle, J., et al., *Gender differences in food choice: the contribution of health beliefs and dieting. Ann Behav Med, 2004. 27(2): p. 107-16.*

162. Mielgo-Ayuso, J., et al., *Physical Activity Patterns of the Spanish Population Are Mostly Determined by Sex and Age: Findings in the ANIBES Study*. PLoS One, 2016. **11**(2): p. e0149969.
163. Vasickova, J., et al., *Determining gender differences in adolescent physical activity levels using IPAQ long form and pedometers*. Ann Agric Environ Med, 2013. **20**(4): p. 749-55.
164. Teixeira e Seabra, A.F., et al., *Age and sex differences in physical activity of Portuguese adolescents*. Med Sci Sports Exerc, 2008. **40**(1): p. 65-70.
165. Van Hecke, L., et al., *Variation in population levels of physical activity in European children and adolescents according to cross-European studies: a systematic literature review within DEDIPAC*. Int J Behav Nutr Phys Act, 2016. **13**: p. 70.
166. Armstrong, N. and J.R. Welsman, *The physical activity patterns of European youth with reference to methods of assessment*. Sports Med, 2006. **36**(12): p. 1067-86.
167. International Physical Activity Questionnaire- Short Form. *Youthrex Research & Evaluation exchange*. Febrero 2020]; Available from: <https://journals.plos.org/plosone/article/file?type=supplementary&id=info:doi/10.1371/journal.pone.0219193.s010>.
168. Ruiz, J.R., et al., *Objectively measured physical activity and sedentary time in European adolescents: the HELENA study*. Am J Epidemiol, 2011. **174**(2): p. 173-84.
169. Laguna, M., et al., *Recommended levels of physical activity to avoid adiposity in Spanish children*. Pediatr Obes, 2013. **8**(1): p. 62-9.
170. Aguilar Cordero, M.J., et al., *[Accelerometer description as a method to assess physical activity in different periods of life; systematic review]*. Nutr Hosp, 2014. **29**(6): p. 1250-61.
171. Aparicio-Ugarriza R, et al., *Estimación de la actividad física en población general: métodos instrumentales y nuevas tecnologías*. Rev Esp Nutr Comunitaria, 2015. **21**(1): p. 215-24.
172. Mielgo-Ayuso, J., et al., *Physical Activity Patterns of the Spanish Population Are Mostly Determined by Sex and Age: Findings in the ANIBES Study*. PLoS One, 2016. **11**(2): p. e0149969.

173. Lopez-Sobaler, A.M., et al., *Overweight and General and Abdominal Obesity in a Representative Sample of Spanish Adults: Findings from the ANIBES Study*. Biomed Res Int, 2016. **2016**: p. 8341487.
174. UNESCO Institute for Statistic. *International Standard Classification of Education*. 1997 26 June 2019]; Available from: http://www.unesco.org/education/information/nfsunesco/doc/isced_1997.htm.
175. Hoffmann, K., et al., *Trends in educational inequalities in obesity in 15 European countries between 1990 and 2010*. Int J Behav Nutr Phys Act, 2017. **14**(1): p. 63.
176. Perez-Rodrigo, C., et al., *Epidemiology of obesity in Spain. Dietary guidelines and strategies for prevention*. Int J Vitam Nutr Res, 2006. **76**(4): p. 163-71.
177. Hedrick, V.E., et al., *Development of a brief questionnaire to assess habitual beverage intake (BEVQ-15): sugar-sweetened beverages and total beverage energy intake*. J Acad Nutr Diet, 2012. **112**(6): p. 840-9.
178. Johnson, E.C., et al., *Validation Testing Demonstrates Efficacy of a 7-Day Fluid Record to Estimate Daily Water Intake in Adult Men and Women When Compared with Total Body Water Turnover Measurement*. J Nutr, 2017. **147**(10): p. 2001-2007.
179. Hill, C.E., et al., *Evaluation of the Relative Validity and Test-Retest Reliability of a 15-Item Beverage Intake Questionnaire in Children and Adolescents*. J Acad Nutr Diet, 2017. **117**(11): p. 1757-1766.e5.
180. Neuhouser, M.L., et al., *Development and validation of a beverage and snack questionnaire for use in evaluation of school nutrition policies*. J Am Diet Assoc, 2009. **109**(9): p. 1587-92.
181. Varela-Moreiras G, et al., *Valoración de la dieta española de acuerdo al Panel de Consumo Alimentario del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA)*. 2008, Madrid: Fundación Española de la Nutrición (FEN). Ministerio de Medioambiente y Medio Rural y Marino.
182. Pérez-Rodrigo C, et al., *Métodos de frecuencia de consumo alimentario*. Rev Esp Nutr Comunitaria, 2015. **21**: p. 45-52.

183. O'Connor, L., J. Walton, and A. Flynn, *Water intakes and dietary sources of a nationally representative sample of Irish adults*. *J Hum Nutr Diet*, 2014. **27**(6): p. 550-6.
184. Ferreira-Pêgo, C., et al., *Beverage Intake Assessment Questionnaire: Relative Validity and Repeatability in a Spanish Population with Metabolic Syndrome from the PREDIMED-PLUS Study*. *Nutrients*, 2016. **8**(8).
185. Senterre, C., M. Dramaix, and I. Thiébaud, *Fluid intake survey among schoolchildren in Belgium*. *BMC Public Health*, 2014. **14**: p. 651.
186. Ferreira-Pêgo, C., et al., *Fluid intake from beverages in Spanish adults; cross-sectional study*. *Nutr Hosp*, 2014. **29**(5): p. 1171-8.
187. Perrier, E., et al., *Relation between urinary hydration biomarkers and total fluid intake in healthy adults*. *Eur J Clin Nutr*, 2013. **67**(9): p. 939-43.
188. Kavouras, S.A., *Assessing hydration status*. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2002. **5**(5): p. 519-24.
189. Armstrong, L.E., et al., *Urinary indices during dehydration, exercise, and rehydration*. *Int J Sport Nutr*, 1998. **8**(4): p. 345-55.
190. Cátedra Internacional de Estudios Avanzados de Hidratación. *Evaluación del estado de Hidratación*. Mayo 2020]; Available from: <http://cieah.ulpgc.es/es/hidratacion-humana/evaluacion-estado-hidratacion>.
191. Gómez C, et al., *La hidratación en el paciente hospitalizado. Manual de Nutrición Clínica*. 2019.: Hospital Universitario La Paz. Universidad Nacional de Educación a distancia.
192. Oppliger, R.A., et al., *Accuracy of urine specific gravity and osmolality as indicators of hydration status*. *Int J Sport Nutr Exerc Metab*, 2005. **15**(3): p. 236-51.
193. Armstrong, L.E., et al., *Urinary indices of hydration status*. *Int J Sport Nutr*, 1994. **4**(3): p. 265-79.
194. Kavouras, S.A., et al., *Validation of a urine color scale for assessment of urine osmolality in healthy children*. *Eur J Nutr*, 2016. **55**(3): p. 907-15.
195. Kostelnik, S.B., et al., *The Validity of Urine Color as a Hydration Biomarker within the General Adult Population and Athletes: A Systematic Review*. *J Am Coll Nutr*, 2020: p. 1-8.

196. Simerville, J.A., W.C. Maxted, and J.J. Pahira, *Urinalysis: a comprehensive review*. Am Fam Physician, 2005. **71**(6): p. 1153-62.
197. Thomas, D.T., K.A. Erdman, and L.M. Burke, *Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance*. J Acad Nutr Diet, 2016. **116**(3): p. 501-528.
198. Sawka, M.N., et al., *American College of Sports Medicine position stand. Exercise and fluid replacement*. Med Sci Sports Exerc, 2007. **39**(2): p. 377-90.
199. Perrier, E.T., et al., *Criterion values for urine-specific gravity and urine color representing adequate water intake in healthy adults*. Eur J Clin Nutr, 2017. **71**(4): p. 561-563.
200. Zhang, N., et al., *Urine color for assessment of dehydration among college men students in Hebei, China - a cross-sectional study*. Asia Pac J Clin Nutr, 2017. **26**(5): p. 788-793.
201. Chatasingh, S. and W. Tapaneya-Olarn, *Comparison of urine specific gravity values from total-solids refractometry and reagent strip method*. J Med Assoc Thai, 1989. **72 Suppl 1**: p. 39-41.
202. Gounden, D. and R.G. Newall, *Urine specific gravity measurements: comparison of a new reagent strip method with existing methodologies, as applied to the water concentration/dilution tests*. Curr Med Res Opin, 1983. **8**(6): p. 375-81.
203. Stuempfle, K.J. and D.G. Drury, *Comparison of 3 Methods to Assess Urine Specific Gravity in Collegiate Wrestlers*. J Athl Train, 2003. **38**(4): p. 315-319.
204. Morales García LJ, Ventura Pedret S, and Solé Llop E, *Muestras de orina de 24 horas y orina reciente para la medición de las magnitudes biológicas mas comunes*, S.E.d.M.d. Laboratorio, Editor.
205. Armstrong, L.E., *Hydration assessment techniques*. Nutr Rev, 2005. **63**(6 Pt 2): p. S40-54.
206. Moon, J.R., et al., *Total body water estimations in healthy men and women using bioimpedance spectroscopy: a deuterium oxide comparison*. Nutr Metab (Lond), 2008. **5**: p. 7.

207. Schoeller, D.A., et al., *Total body water measurement in humans with 18O and 2H labeled water*. Am J Clin Nutr, 1980. **33**(12): p. 2686-93.
208. Kushner, R.F. and D.A. Schoeller, *Estimation of total body water by bioelectrical impedance analysis*. Am J Clin Nutr, 1986. **44**(3): p. 417-24.
209. Matias, C.N., et al., *Suitability of Bioelectrical Based Methods to Assess Water Compartments in Recreational and Elite Athletes*. J Am Coll Nutr, 2016. **35**(5): p. 413-21.
210. Segal, K.R., et al., *Estimation of extracellular and total body water by multiple-frequency bioelectrical-impedance measurement*. Am J Clin Nutr, 1991. **54**(1): p. 26-9.
211. Matias, C.N., et al., *Estimation of total body water and extracellular water with bioimpedance in athletes: A need for athlete-specific prediction models*. Clin Nutr, 2016. **35**(2): p. 468-474.
212. Holsworth, R.E., Jr., Y.I. Cho, and J. Weidman, *Effect of hydration on whole blood viscosity in firefighters*. Altern Ther Health Med, 2013. **19**(4): p. 44-9.
213. Bak, A., A. Tsiami, and C. Greene, *Methods of Assessment of Hydration Status and their Usefulness in Detecting Dehydration in the Elderly*. Current Research in Nutrition and Food Science Journal, 2017. **5**: p. 43-54.
214. Francesconi, R.P., et al., *Urinary and hematologic indexes of hypohydration*. J Appl Physiol (1985), 1987. **62**(3): p. 1271-6.
215. Athanasatou, A., et al., *Fluctuation of Water Intake and of Hydration Indices during the Day in a Sample of Healthy Greek Adults*. Nutrients, 2019. **11**(4).
216. Braun, H., et al., *Differing Water Intake and Hydration Status in Three European Countries-A Day-to-Day Analysis*. Nutrients, 2019. **11**(4).
217. Lang, F., et al., *Two Liters a Day Keep the Doctor Away? Considerations on the Pathophysiology of Suboptimal Fluid Intake in the Common Population*. Kidney Blood Press Res, 2017. **42**(3): p. 483-494.
218. Manz, F., *Hydration and disease*. J Am Coll Nutr, 2007. **26**(5 Suppl): p. 535s-541s.
219. Watso, J.C. and W.B. Farquhar, *Hydration Status and Cardiovascular Function*. Nutrients, 2019. **11**(8).

220. Robertson, G.L. and S. Athar, *The interaction of blood osmolality and blood volume in regulating plasma vasopressin in man*. J Clin Endocrinol Metab, 1976. **42**(4): p. 613-20.
221. Robertson, G.L., *OSMOTIC AND HEMODYNAMIC CONTROL OF VASOPRESSIN: FUNCTIONAL AND ANATOMICAL RELATIONSHIPS*, in *Kidney and Body Fluids*, L. Takács, Editor. 1981, Pergamon. p. 537-546.
222. International Chair for Advanced Studies on Hydration. 20 diciembre 2018]; Available from: <http://cieah.ulpgc.es/en/icach>
223. Hegde, S.M. and S.D. Solomon, *Influence of Physical Activity on Hypertension and Cardiac Structure and Function*. Curr Hypertens Rep, 2015. **17**(10): p. 77.
224. Diaz, K.M. and D. Shimbo, *Physical activity and the prevention of hypertension*. Curr Hypertens Rep, 2013. **15**(6): p. 659-68.
225. Tatchum-Talom, R., K.M. Eyster, and D.S. Martin, *Sexual dimorphism in angiotensin II-induced hypertension and vascular alterations*. Can J Physiol Pharmacol, 2005. **83**(5): p. 413-22.
226. Xue, B., A.K. Johnson, and M. Hay, *Sex differences in angiotensin II- and aldosterone-induced hypertension: the central protective effects of estrogen*. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2013. **305**(5): p. R459-63.
227. Santollo, J., A.M. Torregrossa, and D. Daniels, *Sex differences in the drinking response to angiotensin II (AngII): Effect of body weight*. Horm Behav, 2017. **93**: p. 128-136.
228. Barnes, K.A., et al., *Normative data for sweating rate, sweat sodium concentration, and sweat sodium loss in athletes: An update and analysis by sport*. J Sports Sci, 2019. **37**(20): p. 2356-2366.
229. Davis, J.K., et al., *Thermoregulation, Fluid Balance, and Sweat Losses in American Football Players*. Sports Med, 2016. **46**(10): p. 1391-405.
230. Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research, *Water Requirements During Exercise in the Heat, in Nutritional Needs in Hot Environments: Applications for Military Personnel in Field Operations*, M. BM, Editor. 1993, National Academies Press (US): Washington (DC).

231. Baker, L.B., *Physiology of sweat gland function: The roles of sweating and sweat composition in human health*. Temperature (Austin), 2019. **6**(3): p. 211-259.

10. Anexo

10. Anexo

10.1 Resumen y copia de los artículos publicados.

10.1.1. Laja-García AI, Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Validated questionnaire to assess the hydration status in a healthy adult Spanish population: a cross sectional study. *Nutrición Hospitalaria*. 2019; 36 (4): 875 – 883. Doi: 10.20960/nh.02533. *Cuestionario válido para determinar el estado de hidratación en población adulta sana española: un estudio transversal.*

El Mantenimiento de un estado de hidratación adecuado es crucial para la mayoría de las funciones fisiológicas. Sin embargo, la escasez de herramientas de investigación obstaculiza su correcta determinación. Por ello, el objetivo del presente estudio fue desarrollar y validar un cuestionario novedoso que permitiera evaluar el estado de hidratación de población adulta sana española. Dicho cuestionario fue diseñado y validado en base a importantes marcadores del estado de hidratación: parámetros bioquímicos en sangre (hematocrito y hemoglobina), gravedad específica y color de orina y contenido en agua corporal. En el estudio participaron 39 sujetos sanos con edades comprendidas entre 18 y 39 años. El consumo de alimentos y bebidas se evaluó mediante el nuevo cuestionario y mediante un registro dietético de tres días. La actividad física se evaluó empleando dos herramientas distintas: acelerómetros Actigraph GT3X y la versión corta del cuestionario internacional de actividad física (IPAQ-SF). La validez se determinó mediante la correlación de los marcadores previamente citados con el balance hídrico y la ingesta de agua resultante del cuestionario. Para evaluar su reproducibilidad, el cuestionario fue administrado por duplicado con un intervalo de 28 días entre ambas cumplimentaciones, y se calculó el coeficiente de correlación intraclase y la representación gráfica mediante el método Bland Altman. La consistencia interna del cuestionario fue determinada a través del coeficiente alfa de Cronbach. El balance hídrico y la ingesta de agua total se correlacionaron con la gravedad específica ($\rho = -0,524$, $p = 0,00$; $\rho = -0,551$, $p = 0,000$) y el color de la orina ($\tau = -0,392$, $r = 0,001$; $\tau = -0,346$, $p = 0,004$). La ingesta de agua de bebida y de agua total obtenidas a través del cuestionario se correlacionaron con la ingesta de agua procedente del diario dietético ($\rho = 0,465$, $p = 0,001$; $\rho = 0,432$, $p = 0,006$). El coeficiente de correlación intraclase (CCI) indicó concordancia moderada entre las dos cumplimentaciones del cuestionario (CCI = 0,501), y el método Bland Altman indicó que los límites de confianza eran adecuados para mostrar la confiabilidad de las medidas estimadas. Por último, según el

coeficiente alfa de Cronbach la consistencia interna del cuestionario fue elevada y similar en ambas cumplimentaciones ($\alpha_1 = 0,832$, $\alpha_2 = 0,852$). Según lo expuesto anteriormente, podemos concluir que el cuestionario diseñado constituye una nueva herramienta valida y fiable para estimar el estado de hidratación de población adulta en el contexto de la evaluación dietética y nutricional.



Trabajo Original

Valoración nutricional

Validated questionnaire to assess the hydration status in a healthy adult Spanish population: a cross sectional study

Validación de un cuestionario para evaluar el estado de hidratación de una población adulta sana española: un estudio transversal

Ana Isabel Laja-García, María de Lourdes Samaniego-Vaesken, Teresa Partearroyo and Gregorio Varela-Moreiras

Department of Pharmaceutical and Health Sciences. Faculty of Pharmacy, Universidad San Pablo-CEU. CEU Universities. Alcorcón, Madrid, Spain

Key words:

Hydration status,
Water balance,
Questionnaire,
Validation.

Palabras clave:

Estado de hidratación, Balance hídrico, Cuestionario, Validación.

Abstract

Introduction: adequate hydration status is crucial in most physiological functions; conversely, its assessment is hindered by the limited availability of research tools.

Objective: to develop and validate a novel questionnaire that evaluates the hydration status of a healthy adult Spanish population.

Method: a novel questionnaire was designed and validated relying on biochemical parameters related to blood, urine, and body water content. The study involved 39 healthy subjects aged between 18 and 39 years. Food and beverage consumption were assessed by the novel questionnaire and through a three-day dietary record. Physical activity was assessed using both: accelerometers and the Short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ). Validity was determined by correlation of the aforementioned parameters with the water balance and water intake obtained by the novel questionnaire. The questionnaire was administered twice over the course of 28 days to evaluate its reliability.

Results: water balance and total water intake were correlated with specific gravity, and urine color. Water intake obtained by the novel questionnaire was correlated with water intake results from the three-day dietary record. Intraclass correlation coefficient indicated moderate concordance between both recordings, and the Cronbach's alpha revealed high consistency. Finally, the Bland and Altman method indicated that the limits of agreement were acceptable to reveal the reliability of the estimated measures.

Conclusions: the questionnaire designed is a new valid and reliable screening tool to estimate hydration status of adult populations in dietary and nutritional assessment.

Resumen

Introducción: un estado hídrico adecuado es crucial para la mayoría de funciones fisiológicas; sin embargo, su evaluación se encuentra obstaculizada por la escasez de herramientas de diagnóstico e investigación.

Objetivos: desarrollar y validar un cuestionario que permita evaluar el estado hídrico de población española adulta sana.

Métodos: un nuevo cuestionario ha sido diseñado y validado a través de parámetros bioquímicos en orina y sangre y contenido en agua corporal. El estudio incluyó finalmente a 39 sujetos sanos con edades comprendidas entre 18 y 39 años. El consumo de alimentos y bebidas se evaluó empleando el nuevo cuestionario y un diario dietéticos de tres días. La actividad física fue estimada a través de acelerometría y con el Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ). La validez se determinó analizando la correlación de los parámetros citados, con el balance y con la ingesta hídrica. El cuestionario fue administrado por duplicado, con un transcurso de 28 días entre ambas cumplimentaciones para evaluar su reproducibilidad.

Resultados: el balance y la ingesta hídrica se correlacionaron con la gravedad específica y con el color de la orina. La ingesta hídrica se correlacionó con los resultados procedentes del diario dietético. Según el coeficiente de correlación intraclass, la concordancia entre ambas cumplimentaciones fue moderada y el alfa de Cronbach indicó consistencia elevada. El método Bland-Altman mostró que los límites de confianza eran aceptables para revelar la reproducibilidad de las medidas estimadas.

Conclusiones: el cuestionario diseñado constituye una herramienta de cribado válida y fiable para estimar el estado hídrico de población adulta sana.

Received: 31/01/2019 • Accepted: 16/04/2019

Laja-García AI, Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Validated questionnaire to assess the hydration status in a healthy adult Spanish population: a cross sectional study. *Nutr Hosp* 2019;36(4):875-883

DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.02533>

Correspondence:

Gregorio Varela-Moreiras. Department of Pharmaceutical and Health Sciences, Faculty of Pharmacy, Universidad San Pablo-CEU, CEU Universities, Urb. Montepríncipe, 28925 Alcorcón, Madrid, Spain
e-mail: gvarela@ceu.es

©Copyright 2019 SENPE y ©Arán Ediciones S.L. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

INTRODUCTION

Water is a major component of the human body and it is involved in practically all functions of our organism playing a crucial role in life and health (1). It must be obtained externally through the consumption of foods and beverages because there is no real water storage in the body and the amount lost in metabolism exceeds the amount synthesized endogenously (1,2). Despite this, water consumption is often forgotten in dietary recommendations and the importance of adequate hydration is not usually mentioned (1).

Hydration status (HS) is defined as the body's fluid level and is determined by water balance (WB) (net difference between water input and output) (2). It is influenced by dietary intake, physical activity level, age, and environmental conditions amongst others, and its regulation is very precise, as loss of 1% of body water is usually compensated within 24 hours. Under conditions of temperate ambient temperature (18–20 °C) and with a moderate activity level, WB remains relatively constant; nevertheless, water deficit as well as water excess can occur (2). In this context, it is important to mention that even small losses of body water can have negative effects in health: reductions in the subjective perception of alertness, ability to concentrate, disruption in mood, cognitive functioning, increase of tiredness and headache, as well as a decrease in performance capacity, between others (3). To keep an adequate WB, individuals are recommended to comply with reference values of total water intake (WI) (3,4). These reference values are largely based on observational studies of total WI conducted in healthy individuals and the estimation of WB. However, the established reference values vary considerably, which can be partly explained by differences in the methodology used to estimate fluid intake and/or losses (5). In addition, in recent years it has been shown that an important portion of the population does not hydrate properly, which potentially could lead to higher hypohydration prevalence (6). In Spain, results from the nationwide representative ANIBES study ($n = 2,285$) showed that more than 75% of individuals were not meeting the European Food Safety Authority (EFSA) WI recommendations (7).

The lack of suitable research tools designed to estimate the HS (8,9), coupled with the lack of consensus about the best method to evaluate WI (10), constitutes one of the most important limitations in the field of hydration. This is mainly due to the complexity involved in its assessment: there is no "gold standard" and techniques and methods available are expensive, invasive and/or complicated, making it impossible to apply them at the population level (8,9).

For all the aforementioned, developing suitable methodologies which evaluate HS is of key interest. Given its simplicity and cost-effectiveness, questionnaires could be useful both, in the field of research and in the clinical and community practices. The objective of the present study was to develop a novel questionnaire to evaluate the HS of a healthy adult Spanish population.

MATERIAL AND METHODS

In this cross sectional study, a novel questionnaire entitled The Hydration Status Questionnaire (HSQ) (Supplementary file 1; [http://](http://ediciones.grupoaran.com/revistanutricion/Supplementary_file_2533.pdf)

ediciones.grupoaran.com/revistanutricion/Supplementary_file_2533.pdf) was developed and validated. Ethical approval was granted by the Clinical Research Ethics Committee of the CEU San Pablo University (Madrid). The study has been performed in accordance with the ethical standards laid down in the Declaration of Helsinki of 1964 and its later amendments. Participants signed an informed consent prior to their inclusion in the study. All personal data are confidential and only investigators assigned to the project have access to them. In any case, it complies with the Law 15/1999 of 13th December, of Personal Data Protection.

DESIGN OF THE QUESTIONNAIRE

After thorough research (2,4,10–12), the main factors that affect HS were included in the questionnaire and compiled into five items: a) personal information; b) medical history; c) hydration habits and knowledge; d) water, beverages and food frequency questionnaire (WBFFQ); and e) water elimination (WE). This information allows for the assessment of the profile of the interviewee and the estimation of WB.

Water input was recorded through the WBFFQ. For its development, beverages and foods with water content higher than 75% were selected from the Spanish Food Composition Tables (13) and classified into 12 groups: (d.1) water; (d.2) juices; (d.3) milk and dairy products; (d.4) sodas; (d.5) coffees; (d.6) tea and infusions; (d.7) alcoholic beverages; (d.8) other beverages (alcohol free beer, energy drinks, sorbets, jellies and sports drinks); (d.9) others (plant-based beverages, *horchata* and meal replacement drinks); (d.10) fruits; (d.11) vegetables; and (d.12) cooked dishes. The amount, frequency and time of consumption were recorded, and the seasonality of foods and beverages, which are predominant at a specific time of the year, were taken into account. To assess serving sizes, different household measures were used. The frequency of consumption was evaluated using four categories: a) never; b) per month; c) per week; and (d) daily. Eating occasions were recorded as "before breakfast", "at breakfast", "in the morning", "at lunch", "in the afternoon", "at dinner" and "at night".

To estimate water output three elimination pathways were taken into account (skin, kidneys and digestive system). Urination and defecation were recorded on the basis of frequency (urination options: once/day, two-four times/day, five-seven times/day, eight-ten times/day and more than ten times/day; defecation options: once/day, five-six times/week, three-four times/week, one-two times/week or less than one time/each ten days) (14). To calculate WE from sweating, a ten-point scale was used for both, physical activity and sedentary conditions (14). To assess physical activity, two different approaches were used: the short International Physical Activity Questionnaire (IPAQ-S) (15) and accelerometry by ActiGraph GT3X™ model accelerometer.

QUESTIONNAIRE ANALYSIS

The water content from beverages and foods was calculated using the Spanish Food Composition Tables by Moreiras et al. (13). The amount of water from drinking water, beverages and foods were calculated separately and expressed as milliliters of WI per

[Nutr Hosp 2019;36(4):875-883]

day, Water provided by each beverage was calculated according to the following formula: milliliters of beverage consumed per day * duration of its seasonality in days/365 * water content/100. Water from foods was calculated in the same way but also taking into account the edible portion. To calculate WE from sweating in sedentary conditions, the ten-point scale described before was used. The duration in hours per day of this condition was multiplied with a factor to quantify WE; this factor depends of the score that the participant gave for sweating in the scale (i.e., point 1 corresponded to 0,01 ml water/h and point 10 to 0,02 ml/h), in-between values varying in a proportional manner. The WE from sweating during exercise was also estimated using the ten-point scale. The duration and intensity level of the physical activity performed during three consecutive days were estimated by accelerometers. The duration of physical activity in hours was multiplied with a factor that depends on the score given in the scale and on the activity intensity level: for intense exercise, point 1 corresponded to 1,000 ml water/h and point 2 to 2,000 ml/h; for moderate exercise, point 1 corresponded to 400 ml/h and point 10 to 700 ml/h; and for mild exercise, point 1 corresponded to 200 ml/h and point 10 to 400 ml/h (16,17). In-between values varied in a proportional manner. To estimate WE from urination and defecation, participants had five frequency options in both cases. These options were transformed into a five-point scale, in which the first option (once/day) corresponded to point 1 and the last one (more than ten times/day or one time/ten days) corresponded to point 5. For urination, point 1 corresponded to 750 ml water/day and point 5 to 2,500 ml water/day (4,17). For defecation, point 1 corresponded to 150 ml water/day and point 5 to 75 ml water/day (17,18). In-between values varied in an analogous manner. WB was defined as the difference between total WI and total WE.

QUESTIONNAIRE VALIDATION

The study took place from October to December 2015 in the Montepríncipe Campus of CEU San Pablo University (Madrid, Spain). Participants were recruited at the University premises by informative talks and posters. The inclusion criteria were: individuals who were a) mentally and physically healthy; and b) aged 18-39 years. Exclusion criteria were suffering from diseases related to HS, and/or women who were menstruating during the study. Finally, 40 healthy volunteers participated in the validation process. This sample size is in line with the Nunnally criterion (19), which recommends a ratio of minimum five participants for each item of the questionnaire.

The validity study took place through the use of several biomarkers, most of them acknowledged as important biological indicators of HS (20-22): urine specific gravity (USG) and urine color (UC), plasma hemoglobin and hematocrit in blood and total body water (TBW). To validate the WBFFQ included in the questionnaire, results derived from it were compared with water consumption from a three-day dietary record (3DR). In addition, hemodynamic data (pulse, systolic blood pressure [SBP] and diastolic blood pressure [DBP]) were collected (23). For the reliability study, participants completed the questionnaire twice over the course of 28 days. The validation process was performed under similar weather conditions in the same laboratory of the University.

VALIDATION PROTOCOL

Each volunteer's first visit was preceded by a short explanation on the procedures involved in the validation process and its protocol (Fig. 1).

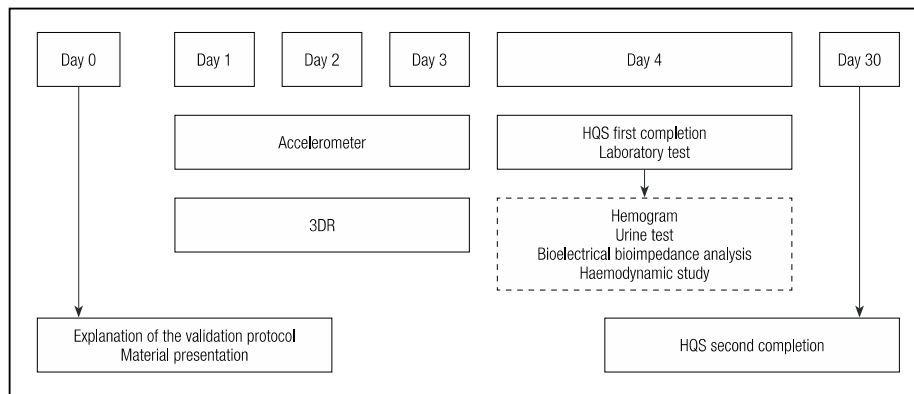


Figure 1. Protocol of the validation process.

[Nutr Hosp 2019;36(4):875-883]

Participants completed a 3DR over the course of three consecutive days (one weekend and two weekdays) in which they were asked to give detailed descriptions of each food and beverage item consumed, providing them previously with clear instructions on how to fill in it. Subjects were also instructed to follow their usual diet. The DIAL™ software (24) was used to process the information of the 3DR. During these three days, individuals also wore an accelerometer that estimated their physical activity. The fourth day of the study, participants completed the HSQ and the following laboratory tests and measurements were performed under fasting conditions:

- *Hematological variables:* hemoglobin, hematocrit and erythrocyte were determined by capillary finger-stick whole blood with Calligari™ Analyzer.
- *Body composition:* TBW and water percentage was estimated by bioelectrical bioimpedance analysis (BIA) with Bioscan Spectrum™ Multifrequency. Individuals were weighed using a digital scale with an accuracy of 200 g (Seca™ 877). Height was measured to the nearest 0.1 cm using a wall-mounted stadiometer (Seca™ 213). The anthropometric measurements were made according to the recommendations of the International Standards for Anthropometric Assessment (ISAK) (25) by level I and II accredited anthropometrists.
- *Urine variables:* volunteers provided a first morning urine sample in which urine pH and USG was determined through the use of urine stick test Spinreact™ and UC via the urine color chart (26). Results were compared with reference values of hydration biomarkers in first urine morning spot established by Lawrence E et al. (27) (euhydration: specific gravity = 1.023-1.025, urine color = 4-5).
- *Hemodynamic variables:* pulse, SBP and DBP were determined using a digital sphygmomanometer (Omron™, M3 model).

STATISTICAL ANALYSIS

Results are presented as mean (95% confidence interval) for the normally distributed variables (weight, height, body water percentage, TBW, hematocrit, erythrocyte, hemoglobin, SBP, DBP and pulse) and as median (interquartile range) for non-parametric ones (USG, pH and UC). WI, WB and WE were treated as non-parametric data. Variables were tested for normality using the Shapiro-Wilk test. Differences between normally distributed variables were assessed with the Student's paired t-test and the Mann-Whitney U test was applied for non-parametric ones. Differences were considered as significant at $p < 0.05$. The validity of the questionnaire was evaluated through the use of Spearman's (rho) coefficient to estimate the correlation between WB and quantitative discrete variables (hemoglobin, hematocrit and TBW) and Kendall's tau-b (τ) for ordinal qualitative ones (UC). Test-retest reliability was assessed using the intraclass correlation coefficient (CCI) to demonstrate that results were consistent over time. The Bland-Altman plot was used to graphically represent

the agreement between measurements in both completions of the questionnaire. Moreover, Spearman's coefficient between the difference and the average of the variables estimated was calculated to assess potential bias (significant values of Spearman's coefficient indicate divergence in the variable between the two completions). Wilcoxon signed-rank was applied to further evaluate the differences between the two completions. Cronbach's alpha (α) was also applied to assess the internal consistency of the HSQ. All statistical analyses were performed using SPSS 24.0 Software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

RESULTS

SAMPLE CHARACTERISTICS

A total of 40 healthy volunteers, 22 males (55%) with a mean of 24.4 (22.3-26.5) years of age and 18 females (45%) with a mean age of 21.6 (20.1-23.2) years participated in the validation process. One female was eliminated for completing the questionnaire incorrectly. Their anthropometric characteristics, body water content, urine and blood markers, and hemodynamic data are presented in table I.

As it can be observed in table I, average values for TBW were lower in females than in males, there were no significant differences in urinary indices and hematological indices were higher in males than in females. Lastly, SPBs of males were higher than in females.

Results of WI, WE and WB estimated by the HSQ and sorted by gender are presented in table II. As it can be observed, except in WE, there were no significant differences in any variable between both genders. The main reason for this difference was the lower WE from sweating in females in comparison to men, given that no differences were found in WE from urine and feces. Results using accelerometer information also show that males eliminated 1,405.5 (1,135.3-1,864.1) ml per day by sweat while females eliminated 963.7 (680.1-1,311.5) ml/day ($p = 0.004$) (this difference is mainly due to the intensity and duration of the physical activity practiced by each gender).

According to results from 3DR, total WI of the sample was 2,459.0 (2,009.0-3,084.0) ml/day. Sorting results by gender, total WI of males was 2,867.5 (2,278.2-3,507.2) ml/day and 2,261.0 (1,835.5-2,818.0) ml/day in females.

VALIDITY OF THE QUESTIONNAIRE

WB, as estimated by the HSQ, was further correlated with urine indices to assess the validity of the tool. Moderate agreement between the WB and the respective biomarkers was evident for UC ($\tau = -0.392$, $p = 0.001$) and USG ($\rho = -0.524$, $p = 0.001$). Total WI was correlated with the same biomarkers ($\tau = -0.346$, $p = 0.004$, $\rho = -0.551$, $p = 0.000$). Drinking water and total WI from HSQ correlated moderately with WI data from 3DR

[Nutr Hosp 2019;36(4):875-883]

Table I. Anthropometric characteristics, body water content, urine and blood markers and hemodynamic data of participants (n = 39)

	Males (n = 22)	Females (n = 17)	p values*
Weight (kg)	74.0 (69.2-78.7)	56.9 (54.0-59.8)	0.000
Height (cm)	180.9 (178.2-183.6)	165.5 (163.3-167.7)	0.000
Body water (%)	57.1 (55.0-59.2)	52.5 (50.8-54.1)	0.002
Body water (l)	41.8 (40.4-43.1)	29.8 (28.6-31.0)	0.000
USG	1.025 (1.020-1.030)	1.025 (1.020-1.030)	0.123
pH	5 (5-6)	5 (5-5)	0.952
UC	4.0 (3.0-5.0)	4.0 (3.0-4.5)	0.579
Hematocrit (%)	44.9 (43.1-46.6)	40.5 (39.2-41.9)	0.000
Erythrocyte (mill/ μ l)	4.8 (4.7-5.0)	4.3 (4.2-4.5)	0.000
Hemoglobin (g/dl)	15.7 (15.1-16.3)	13.5 (12.7-14.3)	0.000
SBP (mmHg)	126.9 (121.9-132.0)	111.7 (106.6-117.2)	0.000
DBP (mmHg)	69.4 (65.6-73.1)	65.5 (61.8-69.1)	0.138
Pulse (beats/minute)	64.6 (60.7-69.0)	70.6 (64.1-77.1)	0.097

USG: urine specific gravity; UC: urine color; SBP: systolic blood pressure; DBP: diastolic blood pressure. Results are presented as mean (confidence interval) for the normally distributed variables and as median (interquartile range) for the non-parametric ones. *p values derived through Student's t test for the normally distributed variables and Mann-Whitney U test for the non-parametric ones after controlling for the normality of the characteristics distribution.

Table II. Water intakes from all the sources, water elimination and water balance obtained from the novel questionnaire, sorted by gender (n = 39)

	Males (n = 22)	Females (n = 17)	p values*
Drinking water (ml/day)	1,230.3 (1,000-1,800)	1,335.7 (875.0-2,000.0)	0.922
Water from beverages (ml/day)	2,334.4 (1,930.6-2,727.0)	2,395.4 (1,940.8-3,003.1)	0.475
Water from food (ml/day)	694.7 (360.7-934.5)	785.6 (523.0-1,212.8)	0.181
Total water intake (ml/day)	3,123.7 (2,276.4-3,753.3)	3,277.6 (2,753.6-4,161.6)	0.528
Water loss (ml/day)	3,114.7 (2,551.5-3,360.3)	2,460.3 (2,309.1-3,086.5)	0.036
Water balance (ml/day)	102.1 (-617.4-738.4)	521.4 (-51.2-1,441.3)	0.067

Results are presented as median (interquartile range). *p values derived through Mann-Whitney U test.

(rho = 0.465, p = 0.001; rho = 0.432, p = 0.006). No correlation was obtained for the rest of parameters.

Results analyzed by gender showed that the WB was correlated with USG and UC among females ($\tau = -0.438$, p = 0.021; rho = -0.672, p = 0.003, respectively) and males ($\tau = -0.402$, p = 0.016; rho = -0.451, p = 0.035, respectively). Total WI was correlated with USG in both females and males (rho = -0.516, p = 0.034; rho = -0.570, p = 0.006, respectively), but UC only among males ($\tau = -0.392$, p = 0.018). Drinking water and total WI correlated with WI data from 3DR (rho = 0.668, p = 0.001; rho = 0.660, p = 0.01, respectively) in males, but not in females.

RELIABILITY OF THE QUESTIONNAIRE

Results from both HSQ completions are presented for the total sample in table III. To analyze the test-retest reliability, the ICC was calculated obtaining a value of 0.501. As it can be observed in table III, there were no differences in any variables between the two recordings. According to the Bland-Altman method (Fig. 2), the mean differences of the estimated variables did not differ from zero (Wilcoxon signed-rank test). The limits of agreement were quite narrow; all six-scatter plots were predominantly distributed within the 95% limits of agreement and were considered

Table III. Results of the reliability procedure for the HSQ

	1 st completion	2 nd completion	Mean difference	p values*	Limits of agreement
Drinking water (ml/day)	1,235.7 (1,000.0-1,800.0)	1,371.4 (1,000.0-2,000.0)	-51.9	0.569	-1,183.4-1,079.6
Water from beverages (ml/day)	2,352.8 (1,964.7-2,865.2)	2,343.2 (2,009.4-3,028.5)	-98.8	0.665	-1,729.8-1,532.1
Water from food (ml/day)	736.6 (460.8-1,038.3)	750.0 (475.9-1,154.0)	-27.9	0.812	-743.4-687.4
Total water intake (ml/day)	3,240.4 (2,573.4-4,026.3)	3,082.1 (2,704.2-4,195.1)	-126.8	0.686	-2,124.0-1,870.4
Water loss (ml/day)	2,826.3 (2,398.0-3,270.0)	2,826.3 (2,409.6-3,261.6)	-2.6	0.982	-451.4-446.3
Water balance (ml/day)	430.9 (-289.7-979.0)	514.3 (-270.2-1,150.5)	-124.2	0.727	-2,167.9-1,919.4

HSQ: hydration status questionnaire. Results are presented as median (interquartile range). *p values derived through Mann-Whitney U test.

as acceptable to reveal the reliability of the estimated measures. No bias was evident regarding the two recordings in all studied cases (drinking water: $\rho = -0.026$, $p = 0.875$; water from beverage: $\rho = -0.121$, $p = 0.400$; water from food: $\rho = 0.005$, $p = 0.978$; WI: $\rho = -0.048$, $p = 0.772$; WE: $\rho = -0.061$, $p = 0.710$; WB: $\rho = -0.14$, $p = 0.388$). To test the internal consistency of the questionnaire, the Cronbach's α of each recording was calculated; 0.832 and 0.852, respectively, were obtained as a result.

DISCUSSION

The HSQ has been designed with the objective of creating and validating a new tool, which can allow for the estimation of WB of the population at a community level. The simplicity, quickness and low-cost of questionnaires make this technique appropriate to achieve the targeted goal. From our knowledge, the Water Balance Questionnaire (WBQ) (11) is the only questionnaire that evaluates WI and WE. It evaluates WI throughout a food frequency questionnaire (FFQ) and has been designed and validated in the Greek population, which belongs to a Mediterranean region but with differences among eating patterns in contrast to the Spanish population (28,29). Moreover, FFQ should be designed specifically for each population of study, because the ethnic, cultural and socio-economic level as well as the food preferences could influence food and beverage intake (30).

An accurate estimation of WI and WE is a key factor in the assessment of WB. Water inputs come from beverage and food ingestion and normal metabolic processes, while skin, kidneys, lungs and digestive system are the sources of water output (2). The HSQ takes into account most of these pathways: WI from food and beverages and WE from skin, kidneys and digestive system. Because the amount of water lost from lungs is similar to the amount of endogenous water formation (2), neither of these two

aspects were considered. The assessment of WE was performed through the use of point scales for self-estimation (14,16-18). Score ranges provided in the point scale corresponded to the range of physiological WE through the equivalent route. It should be noted that the estimation of WE through sweat has an added difficulty: it depends on several factors among which physical activity is determinant, because inter and intra-individual variation can be very large. To overcome this limitation and assess the quantity, intensity and typology of the physical activity from each participant, the information was acquired by accelerometers, which is, at the present, the most refined method to quantify physical activity (31). WE data provided by the questionnaire were in accordance with current literature, which is 1,500-3,100 ml/day for adults (3,4), in moderate climates such as the Spanish Mediterranean.

The water consumption obtained by the HSQ was similar to other studies that evaluate WI through specific questionnaires (7); nevertheless, it was higher than results of hydration studies that are based on general questionnaires (6). Ordinarily, fluid specific records report higher fluid intake compared to tools that are not specifically designed to record WI, mainly due to the fact that general questionnaires only record eating occasions around meals and snacks, but not all drinking occasions (11,32). There were no differences in WI between genders, being these results in accordance with known literature (33). In addition, results from different epidemiological studies have shown that foods may provide 20-32% of total WI (6,32), being results of the present study (28%) consistent with these data.

To date, different biomarkers of HS have been proposed (20,33,34), but no single method appears to be ideal for all situations, therefore, the combination of different hydration indices seems to be the most appropriate method to evaluate HS. The validity evaluation of the present study has been based in several of them (USG, UC, TBW, hemoglobin and hematocrit). Recent investigations have demonstrated that both USG and UC are strongly

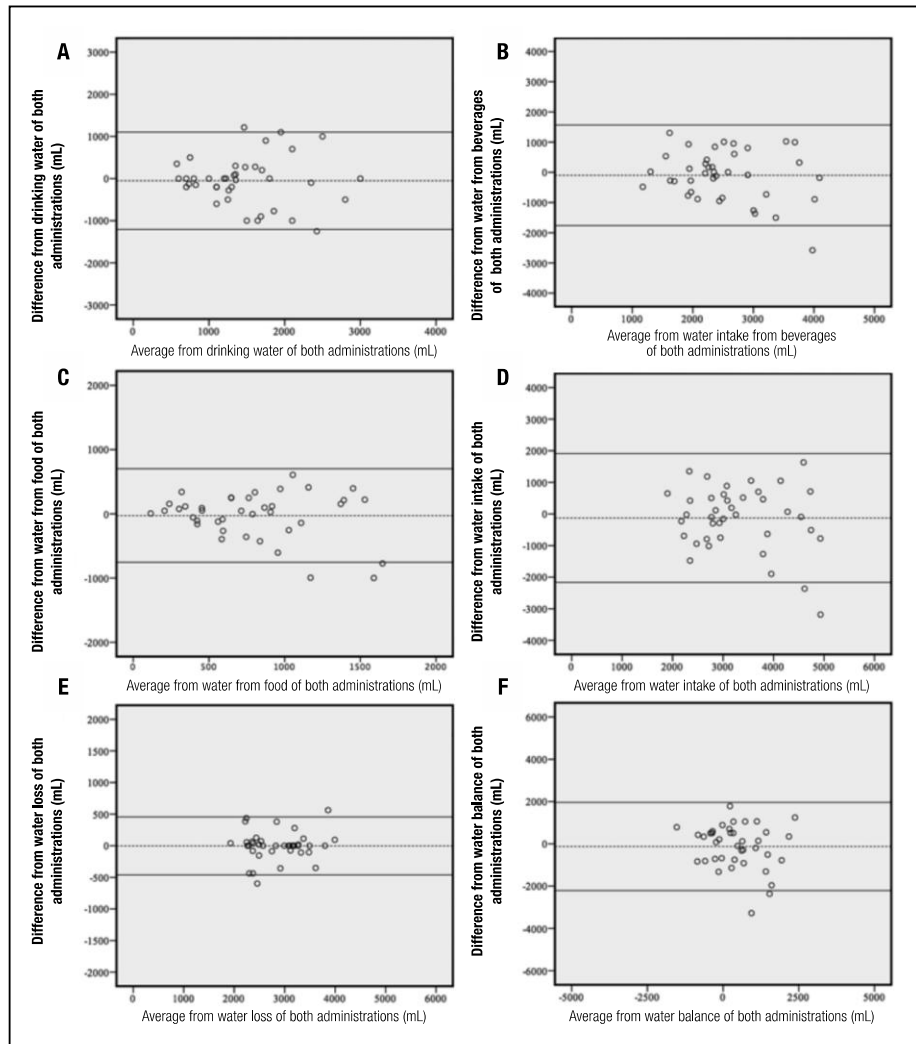


Figure 2. Bland-Altman plots of differences *versus* means for the variables: A. Drinking water; B. Water from beverages; C. Water from food; D. Total water intake; E. Water loss; and F. Water balance.

correlated with urine osmolality, which has been proposed as the most promising HS marker available nowadays (35,36). Indeed, during acute progressive dehydration, USG, osmolality and UC may be used interchangeably (9,33-35). Recent studies have

demonstrated USG utility not only in acute water loss, but also in real-life conditions (8,22), being an accurate and rapid indicator of HS. UC is more subjective, but it can be used as a marker in combination with a more quantifiable method. Although refractometry

[Nutr Hosp 2019;36(4):875-883]

seems to provide the most accurate measurement of USG (37), in this study it was measured through reagent strips, whose suitability as screening method has also been supported by several studies (38,39). WB and total WI obtained by the HSQ correlated with USG and UC, being both correlations very similar. It is mainly due to the fact that in sedentary to moderately active adults, and with moderate weather conditions, WB is largely determined by the adequacy of fluid intake (22). Nevertheless, it is important to highlight that a low daily WI and a low WE, which could result in an adequate WB, are not equivalent to an adequate HS (22).

Body water content has also been recognized as a marker of HS. In this study, it was estimated through BIA. It is known that the most accurate methodology available to estimate TBW is mass spectrometry through tritium or deuterium dilution, but it cannot be applied at community level due to ethical implications. Given the limitations of BIA, it must be performed under controlled conditions and the information acquired must be interpreted with caution (40). Nevertheless, even when these conditions are achieved, BIA is not able to identify small changes in TBW. In the current study no correlation was obtained for this parameter.

Due to their potential as HS indicators, the correlation between blood parameters and WB was analyzed (20). However, there is an important limitation: changes in their concentration represent changes in plasma volume and not in TBW. To estimate changes in plasma volume the baseline values of those parameters have to be known. In this study, WB was not correlated with blood parameters. Finally, HS also affects hemodynamic parameters (23), even though researchers are not able to identify fluid imbalances independently of other indices. For this reason, SBP, DBP, and pulse were measured in the present study and used as additional information in the assessment of HS.

In order to evaluate results of water consumption from the new questionnaire, a well-known dietary intake estimation method was used; in particular, a 3DR. Drinking water data and WI from the questionnaire were compared with data from the 3DR showing the existence of a moderate correlation between both ($\rho = 0.465$, $p = 0.001$; $\rho = 0.432$, $p = 0.006$, respectively). Nevertheless, results of WI from 3DR were lower than from HSQ, being this results in accordance with known literature (6,11,32).

With regard to the reproducibility of the questionnaire, the Cronbach's α revealed a high and similar consistency in both recordings (values equal or higher than 0.7 are considered as adequate). The ICC revealed the existence of moderate concordance between both administrations of the questionnaire. The Bland-Altman method allows assessing the agreement between the methods across the range of WI and losses and can determine if there was any systematic difference between the administrations of the questionnaire, and to what extent the two administrations agree (limits of agreement). Accordingly, the HSQ was repeatable for all the components studied.

The validity and reliability shown by the HSQ in both genders, the combination of different biomarkers in the validation process, coupled with the simplicity and low-cost of the tool designed are the main advantages of the present study. However, the most important limitation refers to the non-availability of a gold standard

against which to validate it, as well as the measurement of USG through reagent strips instead of refractometry and the non-availability of 24 hours urine samples.

CONCLUSIONS

These findings show that the HSQ is a reliable and valid tool, which could be used as an affordable, rapid screening method to estimate WB of healthy adults. Its application at community level would allow a deeper knowledge of the HS as part of the nutritional status and, consequently, the possibility of establishing recommendations based in real hydration needs. Developing future studies that confirm these results and allow the use of this tool in other population groups are of further interest.

REFERENCES

1. Jequier E, Constant F. Water as an essential nutrient: the physiological basis of hydration. *Eur J Clin Nutr* 2009;64:115-23. DOI: 10.1038/ejcn.2009.111
2. Riehl SK, Davy BM. The hydration equation: update on water balance and cognitive performance. *ACSMs Health Fit J* 2013;17:21-8. DOI: 10.1249/FIT.0b013e3182a9570f
3. Maughan RJ. Impact of mild dehydration on wellness and on exercise performance. *Eur J Clin Nutr* 2003;57:19-23. DOI: 10.1038/sj.ejcn.1601897
4. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition and Allergies (NDA). Scientific opinion on dietary reference values for water. *EFSA J* 2010;8:1459. DOI: 10.2903/j.efsa.2010.145
5. Institute of Medicine. Panel on Dietary Reference Intakes for Electrolytes & Water. DRI dietary reference intakes for water, potassium, sodium, chloride, and sulfate. Washington DC: The National Academy Press; 2005.
6. Nissensohn M, Sánchez-Villegas A, Galan P, Turrini A, Arnault N, Mistura L, et al. Beverage consumption habits among the European population: association with total water and energy intakes. *Nutrients* 2017;9:363. DOI: 10.3390/nu9040363
7. Nissensohn M, Sánchez-Villegas A, Ortega RM, Aranceta-Bartrina J, Gil A, González-Gross M, et al. Beverage consumption habits and association with total water and energy intakes in the Spanish population: findings of the ANIBES Study. *Nutrients* 2016;8:232. DOI: 10.3390/nu8040232
8. Perrier E, Vergne S, Klein A, Poupin M, Rondeau P, Le Bellego L, et al. Hydration biomarkers in free-living adults with different levels of habitual fluid consumption. *Br J Nutr* 2013;109:1678-87. DOI: 10.1017/S0007114512003601
9. Armstrong LE. Assessing hydration status: the elusive gold standard. *J Am Coll Nutr* 2007;26:575-84.
10. Gandy J, Martínez H, Guellinckx I, Moreno LA, Bardosono S, Salas-Salvadó J, et al. Relevance of assessment methods for fluid intake. *Ann Nutr Metab* 2016;68:1-5. DOI: 10.1159/000446197
11. Malisova O, Bountziouka V, Panagiotakos DB, Zampelas A, Kapsokefalou M. The water balance questionnaire: design, reliability and validity of a questionnaire to evaluate water balance in the general population. *Int J Food Sci* 2011;63:138-44. DOI: 10.3109/09637486.2011.607799
12. Hedrick VE, Comber DL, Estabrooks PA, Savia J, Davy BM. The Beverage Intake Questionnaire: initial validity and reliability. *J Am Diet Assoc* 2010;110:1227-32. DOI: 10.1016/j.jada.2010.05.005
13. Moreiras O, Carbajal A, Cabrera L, Cuadrado C. Tablas de composición de alimentos. 15th ed. Madrid: Pirámide; 2013.
14. Panagiotakos D. Health measurement scales: methodological issues. *Open Cardiovasc Med J* 2009;23:160-5. DOI: 10.2174/1874192400903010160
15. Craig CL, Marshall AL, Sjöström M, Bauman AE, Booth ML, Ainsworth BE, et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med Sci Sport Exerc* 2013;35:1381-95.
16. Rehrer NJ, Burke LM. Sweating losses during various sports. *Aust J Nutr Diet* 1996;53:13-6.
17. Fischbach FT. A manual of laboratory & diagnostic tests. Philadelphia, USA: Lippincott Williams & Wilkins; 2003.

[Nutr Hosp 2019;36(4):875-883]

18. Jensen R, Buffangeix D, Covi G. Measuring water content of feces by the Karl Fischer method. *Clin Chem* 1976;22:1351-4.
19. Nunnally JC. *Psychometric theory*. 2nd ed. New York: McGraw Hill; 1978.
20. Shirreefs SM. Markers of hydration status. *Eur J Clin Nutr* 2003;57:6-9. DOI: 10.1038/sj.ejcn.1601895
21. Perrier E, Rondeu P, Pounpin M, Le Bellego L, Armstrong LE, Lang F, et al. Relation between urinary hydration biomarkers and total fluid intake in healthy adults. *Eur J Clin Nutr* 2013;67:939-43. DOI: 10.1038/ejcn.2013.93
22. Armstrong LE, Johnson EC, Muñoz CX, Swokla B, Le Bellego L, Jiménez L, et al. Hydration biomarkers and dietary fluid consumption of women. *J Acad Nutr Diet* 2012;112:1056-71. DOI: 10.1016/j.jand.2012.03.036
23. González-Alonzo J, Mora-Rodríguez R, Below PR, Coyle EF. Dehydration markedly impairs cardiovascular function in hyperthermic endurance athletes during exercise. *J Appl Physiol* 1977;82:1229-36.
24. Ortega RM, López-Sobaler AM, Andrés P, Requejo AM, Aparicio A, Molinero ML. DIAL software for assessing diets and food calculations (for Windows, version 3.0.0.5). Madrid: Department of Nutrition (UCM) and Alceingeniería, S.A.; 2013. Available from: <https://www.alceingenieria.net/nutricion.htm> Last access: Dec 22nd, 2015.
25. Stewart A, Marfell-Jones M. *International Standards for Anthropometric Assessment*. New Zealand: Lower Hutt; 2011.
26. Armstrong LE. *Performing in extreme environments*. Illustrated ed. Champaign, IL: Human Kinetics; 2000.
27. Armstrong LE, Pumerantz AC, Fialla KA, Roti MW, Kavouras SA, Le Bellego L, et al. Human hydration indices: acute and longitudinal references values. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2010;20:145-53. DOI: 10.1017/S0007114512003601
28. Varela-Moreiras G, Ávila JM, Cuadrado C, Del Pozo S, Ruiz E, Moreiras O. *Valoración de la dieta española de acuerdo al Panel de Consumo Alimentario del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación (MAPA)*. Fundación Española de la Nutrición (FEN), Madrid: Ministerio de Medioambiente y Medio Rural y Marino; 2008. p. 68.
29. Malisova O, Athanasatau A, Pepa A, Husemann M, Domnik K, Braun H, et al. Water intake and hydration indices in healthy European adults: The European Hydration Research Study (EHRS). *Nutrients* 2016;8:204. DOI: 10.3390/nu8040204
30. Pérez-Rodrigo C, Aranceta J, Salvador G, Varela-Moreiras G. Métodos de frecuencia de consumo alimentario. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 2015;21:45-52. DOI: 10.14642/RENC.2015.21.sup1.5050
31. Plasqui G, Bonomi AG, Westerterp KR. Daily physical activity assessment with accelerometers: new insights and validation studies. *Obes Rev* 2013;14:451-62. DOI: 10.1111/obr.12021
32. Ferreira-Pêgo C, Guelinckx I, Moreno LA, Kavouras SA, Gandy J, Martínez H, et al. Total fluid intake and its determinants: cross-sectional surveys among adults in 13 countries worldwide. *Eur J Nutr* 2015;54:35-43. DOI: 10.1007/s00394-015-0943-9
33. Armstrong LE, Maresh CM, Castellani JW, Bergeron MF, Kenefick RW, La Gasse KE, et al. Urinary indices of hydration status. *Int J Sport Nutr* 1994;4:265-79.
34. Kavouras SA. Assessing hydration status. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2002;5:519-24.
35. Armstrong LE, Soto JA, Hacker FT Jr, Casa DJ, Kavouras SA, Maresh CM. Urinary indices during dehydration, exercise, and rehydration. *Int J Sport Nutr* 1998;8:345-55.
36. Oplinger RA, Magnes SA, Popowski LA, Gisolfi CV. Accuracy of urine specific gravity and osmolality as indicators of hydration status. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2005;15:236-51.
37. Stuemfle KJ, Drury DG. Comparison of 3 methods to assess urine specific gravity in collegiate wrestlers. *J Athl Train* 2003;38:315-9.
38. Chatasingsh S, Tapaneja-Olam W. Comparison of urine specific gravity values from total-solids refractometry and reagent strip method. *J Med Assoc Thai* 1980;72:39-41.
39. Gounden D, Newall RG. Urine specific gravity measurements: comparison of a new reagent strip method with existing methodologies, as applied to the water concentration/dilution tests. *Curr Med Res Opin* 1983;8:375-81.
40. Matias CN, Júdece PB, Santos DA, Magalhães JP, Minderico CS, Fields DA, et al. Suitability of bioelectrical based methods to assess water compartments in recreational and elite athletes. *J Am Coll Nutr* 2016;2:1-9. DOI: 10.1080/07315724.2015.1058198

10.1.2. Laja-García AI, Samaniego-Vaesken ML, Partearroyo T, Varela-Moreiras G Adaptation and Validation of the Hydration Status Questionnaire in a Spanish Adolescent-Young Population: A Cross Sectional Study. *Nutrients* 2019; 11 (3): 565. Doi: 10.3390/nu11030565. *Adaptación y validación del cuestionario para estimar el estado de hidratación en una población de jóvenes adolescentes españoles: Un estudio transversal.*

Alcanzar y mantener un correcto estado de hidratación es importante para el rendimiento físico y mental, así como para la salud en general, especialmente en niños y adolescentes. Sin embargo, existe un gran desconocimiento sobre el estado hídrico de esta población, hecho que se debe principalmente a la limitada disponibilidad de herramientas de investigación que permitan su determinación. Es por ello que el objetivo del presente estudio fue adaptar y validar el cuestionario del estado de hidratación en una población de adolescentes jóvenes españoles. El cuestionario fue validado frente a importantes marcadores del estado de hidratación: color y gravedad específica de la orina, hemoglobina y hematocrito en sangre capilar y contenido en agua corporal. 128 sujetos sanos de entre 12 y 17 años fueron incluidos en el estudio. La ingesta de agua se evaluó a través del cuestionario diseñado y a través de un registro dietético de tres días y la actividad física fue evaluada durante 7 días consecutivos a través de acelerómetros Actigraph GT3X. Los participantes cumplimentaron el cuestionario por duplicado para analizar la reproducibilidad del mismo. El balance hídrico y la ingesta de agua total se correlacionaron con la gravedad específica ($r = -0,202$, $p = 0,023$; $r = -0,184$, $p = 0,037$). También se encontró asociación entre la ingesta de agua total, el contenido en agua corporal ($r = 0,263$, $p = 0,003$) y el hematocrito ($r = -0,231$, $p = 0,009$). La ingesta de agua de bebida y de agua total se correlacionaron con la ingesta de agua procedente del diario dietético de tres días ($r = 0,539$, $p = 0,000$; $r = 0,468$, $p = 0,000$). El coeficiente de correlación intraclase (CCI) mostró concordancia moderada entre las dos cumplimentaciones del cuestionario (CCI = 0,842) y el método Bland Altman indicó que los límites de confianza eran adecuados para mostrar la confiabilidad de las medidas estimadas. Por último, según el coeficiente alfa de Cronbach, la consistencia interna del cuestionario fue elevada y similar en ambas cumplimentaciones ($\alpha_1 = 0,811$, $\alpha_2 = 0,809$). En conclusión, según lo expuesto anteriormente y desde nuestro conocimiento, es la primera vez que se diseña y valida un cuestionario que permita estimar el estado de hidratación de una población de jóvenes adolescentes españoles.

Article

Adaptation and Validation of the Hydration Status Questionnaire in a Spanish Adolescent-Young Population: A Cross Sectional Study

Ana Isabel Laja García, Maria de Lourdes Samaniego-Vaesken[†], Teresa Partearroyo[†] and Gregorio Varela-Moreiras *

Department of Pharmaceutical and Health Sciences, Universidad CEU San Pablo, 28668 Madrid, Spain; a.laja90@gmail.com (A.I.L.G.); l.samaniego@ceu.es (M.d.L.S.-V.); t.partearroyo@ceu.es (T.P.)

* Correspondence: gvarela@ceu.es; Tel.: +34-91-3724726

Received: 14 January 2019; Accepted: 27 February 2019; Published: 6 March 2019



Abstract: The achievement of adequate hydration status is essential for mental and physical performance and for health in general, especially in children and adolescents. Nevertheless, little is known about hydration status of this population, mainly due to the limited availability of research tools; thus, the objective of the current study was to adapt and validate our hydration status questionnaire in a Spanish adolescent-young population. The questionnaire was validated against important hydration markers: urine colour, urine specific gravity, haemoglobin, haematocrit and total body water and involved 128 subjects aged between 12–17 years. Water intake was also estimated through a three-day dietary record and physical activity was assessed through accelerometers. Participants completed the questionnaire twice. Water balance and water intake were correlated with urine specific gravity and with total body water content. Water intake obtained by the questionnaire was correlated with results from the three-day dietary record. The intraclass correlation coefficient indicated moderate concordance between both recordings and the Cronbach's alpha revealed high consistency. The Bland and Altman method indicated that the limits of agreement were acceptable to reveal the reliability of the estimated measures. In conclusion, this is the first time that a questionnaire is valid and reliable to estimate hydration status of adolescent-young populations.

Keywords: hydration status; water balance; questionnaire; validation; adolescents-young

1. Introduction

Water is the main component of human body and is essential for life and health. It is crucial for the adequate function of several physiological processes, in such a way that an inadequate hydration status (HS) is associated with poor health [1,2].

The state in which total body water is insufficient for proper cell, organ and system functioning is called dehydration [3]. It is well known that grave dehydration status is associated with health problems such as confusion, delirium, impaired immune, renal and gastrointestinal functioning. But even mild dehydration states entail negative health consequences: headache, irritability, decrement in physical performance and reduced cognitive function, among others [2,4–9]. These facts gain special importance in children and adolescents considering that it could have implications for both health, sports and school performance [6–12]. Nevertheless, paradoxically, little is known about the HS of this population and its consequences [6].

On the other hand, in recent years, beverage intake in children and adolescents has been more widely investigated [12–14] and in general, available data suggest that it is suboptimal compared to reference values [15]. In this context, it is important to take into account that current

guidelines for adequate water intake (WI) vary widely: many regional and global authorities have established their own recommendations; however, these recommendations are based on population median WI, with limited consideration of links between WI and HS and without links between WI and health [16,17]. The European Food Safety Authority (EFSA) has published the most recent official guideline for total WI in 2010 [16,18] and results from nutritional surveys show that its noncompliance in children ranged from 30% in Brazil, Spain and the United Kingdom, to more than 80% in France, Belgium and China [15]. These results are of concern, not only for its possible negative health impact [6,10–12,19] but also for its long-term behavioural effect, considering that habits are established early in life and can predict dietary intake patterns that persist during childhood, adolescence and into adult age [20]. Despite all this, no conclusion on HS can be drawn from these surveys, only that this population may be at risk of dehydration [21]. This lack of information about HS is mainly due to the complexity that its measurement implies [21–24].

The body's fluid level is determined by water balance (WB), defined as the equilibrium between water input and output [3]. It is a dynamic process, which is influenced by several variables (environmental conditions, food and drink availability, physical activity, thirst and hormonal mechanisms between others) and is precisely regulated over a 24 h period, as intake and losses must be equal in such a way that under condition of temperate ambient temperature and with a moderate activity level it remains relatively constant [1,3]. The accurate measurement of HS is complicated because body water turnover occurs constantly and water moves between intracellular and extracellular compartments [23]. Several biomarkers have been proposed such as blood (haematocrit and haemoglobin) and urinary indices (specific gravity, urine colour and urine osmolality) as well as the estimation of body water via bioelectrical impedance (BIA) or spectroscopy. Nevertheless, there are no markers, which have been recognized as "gold standard," because no single method appears to be ideal for all situations [17,22–25]. Nowadays, the combination of different hydration indices seems to be the more appropriate available method for the estimation of HS.

Recently, a novel research tool, a questionnaire entitled: The Hydration Status Questionnaire (HSQ) has been developed by our research group and validated through different biomarkers in adult population [26]. The HSQ supplies information about WI, water elimination (WE) and WB and it could be applied as a screening method to detect individuals at risk of dehydration and to support adequate recommendations. The adaptation and validation of the HSQ to other population groups could allow for a better, deeper knowledge of HS.

For all the aforementioned, the aim of the present study was to adapt and validate the HSQ in a healthy adolescent-young Spanish population (HSQ-AY).

2. Materials and Methods

The HSQ was modified to HSQ-AY (see Supplementary File S1) to make it suitable and understandable for adolescent young population. The main modifications respect to the HSQ were a simpler and more understandable language for the target population, including images of the drinks and foods included as well as different sizes of rations to facilitate their completion and, likewise, beverages and foods were eliminated with very low frequency of consumption. After its modification, the HSQ-AY was validated in the target group as described below, with a similar methodology that was followed for the validation of the HSQ [26].

Ethical approval was granted by the Clinical Research Ethics Committee of the CEU San Pablo University (Madrid). The corresponding ethical code was 120/16/06. The study has been performed in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments. Participants and their parents or guardians were informed on the objectives of the study and the procedures involved and both signed an informed consent prior to their inclusion in the study. All personal data are confidential and only investigators assigned to the project have access to them. In any case, it complies with the General Data Protection Regulation (2016/679).

2.1. Design of the Hydration Status Questionnaire in a Healthy Adolescent-Young Spanish Population

The HSQ-AY contains five sections in which the main factors that affect hydration were recorded [3,18,22,25–29]: (a) personal information, (b) medical history, (c) hydration habits and knowledge, (d) water beverage and food frequency questionnaire (WBFFQ) and (e) WE. WI was recorded through the WBFFQ, which included all beverages and foods with water content higher than 80%, present in the Spanish Food Composition Tables [30]. The establishment of this cut-off value in the food and beverages included is necessary to make the length of the questionnaire appropriate to complete in a period of 20–30 min and recall the main contributors to water consumption. Food and beverage items were classified into twelve groups: (d.1) water, (d.2) juices, (d.3) sodas, (d.4) milk and dairy products, (d.5) coffees, (d.6) tea and infusions, (d.7) alcoholic beverages, (d.8) other beverages (plant-based beverages and horchata), (d.9) fruits, (d.10) vegetables and (d.11) cooked dishes. Pictures of each food and beverage presented in the questionnaire as well as different household units such as glasses, bottles, cups and plates of various sizes were included in the questionnaire to facilitate its completion. The frequency of consumption was evaluated using three categories: (a) daily; (b) per week; (c) or per month and times of consumption were recorded as “at breakfast,” “at lunch,” “at dinner,” and/or “between hours.” In addition, the seasonality of fruits, vegetables, beverages and cook dishes was considered in the data processing since not all these foods are usually intake throughout the year. To estimate WE from urination and defecation, the questionnaire provided different frequency options in each case [31] (urination options: once/day, two–four times/day, five–seven times/day, eight–ten times/day and more than ten times/day; defecation options: once/day, five–six time/week, three–four times/week, one–two times/week or less than one time/each 10 days). To calculate WE from sweating, a 10-point scale was used for both, physical activity and sedentary conditions [31]. WB was calculated through WI and WE data. The other sections of the HSQ-AY allow for the assessment of the participant profile.

2.2. Questionnaire Analysis

The data processing was performed as described below, using the same methodology as for the HSQ [26].

The water content from beverages and foods was calculated using the Spanish Food Composition Tables by Moreiras et al. [30] and the Spanish Food Composition Data Base (BEDCA) [32]. The amount of water from drinking water, beverages and foods were calculated separately and expressed as millilitres of WI per day. Water provided by each beverage was calculated according to the following formula: millilitres of beverage consumed per day \times duration of its seasonality in days/336 \times water content/100. Water from foods was calculated in the same way but also considering the edible portion. To calculate WE from sweating in sedentary conditions, the 10-point scale described before was used. The duration in hours per day of this condition was multiplied with a factor to quantify WE; this factor depends on the score that the participant gave for sweating in the scale (i.e., point 1 corresponded to 0.01 mL water/h and point 10 to 0.02 mL/h), in-between values varied in a proportional manner. The WE from sweating during exercise was also estimated using the 10-point scale [31]. To calculate it, the duration and intensity level of the physical activity performed during seven consecutive days were estimated by accelerometers. The duration of physical activity in hours was multiplied with a factor that depends of the score given in the scale and of the activity intensity level: for intense exercise, point 1 corresponded to 1000 mL water/h and point 10 to 2000 mL/h, for moderate exercise point 1 corresponded to 400 mL/h and point 10 to 700 mL/h and for mild exercise, point 1 corresponded to 200 mL/h and point 10 to 400 mL/h [33–36]. In-between values varied in a proportional manner. To estimate WE from urination and defecation, participants had five frequency options in both cases. These options were transformed into a 5 point-scale, in which the first option (once/day) corresponded to point 1 and the last one (more than 10 times/day or 1 time/10 days) corresponded to point 5. For urination, point 1 corresponded to 750 mL water/day and point 5 to 2500 mL water/day. For defecation, point 1 corresponded to 150 mL water/day and

point 5 to 75 mL water/day. In-between values varied in an analogous manner. WB was defined as the difference between total WI and total WE.

2.3. Questionnaire Validation

The validation process took place in the same range of months (April to May) of the two following years: 2017 and 2018. Volunteers were recruited from three schools in Madrid (Arcadia Private School, Secondary Institute Encinas and CEU San Pablo Montepincipe School), Spain. The inclusion criteria were: individuals who were (a) mentally and physically healthy (b) aged 12–17 years. Exclusion criteria were those suffering from disease related to hydration, including renal impairment, urinary tract infection, WB disease, diabetes and or females who were menstruating during the study. The recruitment of volunteers was performed through informative talks given in each school. The sample size was calculated according to Nunnally criterion [37], which recommends a ratio of minimum 5 participants for each item of the questionnaire.

The validity study was performed using several indicators of HS [22,24,26,38–41]: urine specific gravity (USG), urine colour (UC), plasma haemoglobin, haematocrit and total body water content (TBW). WI data obtained by the HSQ-AY were compared with water consumption from a three-day dietary record (3DR). In addition, haemodynamic data (pulse, systolic blood pressure (SBP) and diastolic blood pressure (DBP) were collected because these parameters are also related with HS [42]. For the reliability study, participants completed the questionnaire twice over the course of 28 days. The tests and measurements included in the validation process were performed in a facilitated room of each school by qualified staff.

2.4. Validation Protocol

Each volunteer's first visit was preceded by a short explanation on the procedures involved in the validation process and its protocol (Figure 1).

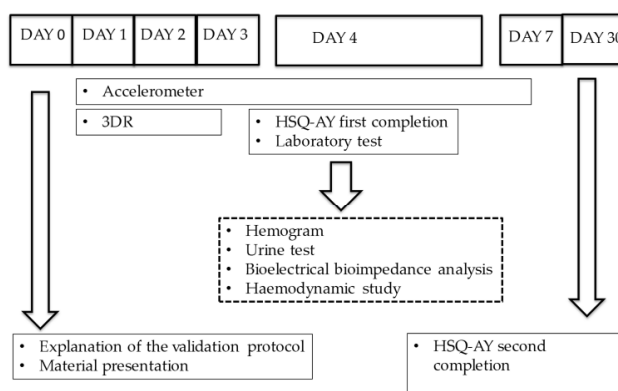


Figure 1. Protocol of the validation process. 3DR: three-day dietary record; HSQ-AY: hydration status questionnaire in a healthy adolescent-young Spanish population.

For seven days, participants wore an accelerometer that estimated their physical activity and completed, over the course of three consecutive days, (one weekend and two weekdays) a 3DR of foods and beverages. They were asked to give detailed descriptions of each food and beverage item consumed, including portion size, cooking method applied, recipe, brand and moment of consumption, providing them previously with clear instructions on how to fill in it. Subjects were also instructed to follow their usual diet. The DIAL™ software was used to process the information of the 3DR.

At last, participants completed the HSQ-AY and the following laboratory tests and measurements were performed under fasting conditions:

- Haematological variables: haemoglobin, haematocrit and erythrocyte were determined by capillary finger-stick whole blood with Calligari™ Analyser.
- Body composition: TBW and water percentage was estimated by BIA with Bioscan Spectrum™ Multifrequency. Individuals were weighed using a digital scale with an accuracy of 200 g (SECA™ 877). Height was measured to the nearest 0.1cm using a wall-mounted stadiometer (SECA™ 213). The anthropometric measurements were made according to the recommendations of the International Standards for Anthropometric Assessment (ISAK) [43] by level I and II accredited anthropometrists.
- Urine variables: volunteers provided a first morning urine sample in which urine pH and USG was determined using urine stick test Spinreact™ and urine colour via the Urine Colour Chart [44]. Results were compared with reference values of hydration biomarkers in first urine morning spot established by Armstrong et al. [40] (Euhydration: specific gravity = 1.023–1.025, urine colour = 4–5).
- Haemodynamic variables: pulse, SBP and DBP were determined using a digital sphygmomanometer (Omron™, M3 model).

2.5. Statistical Analysis

Results are presented as mean and 95% confidence interval. Differences between variables were assessed with the Student's paired *t*-test and considered significant at $p < 0.05$. The validity of the questionnaire was evaluated using Pearson's (*r*) coefficient to estimate the correlation between WI, WE and WB with quantitative discrete variables (haemoglobin, haematocrit, USG, TBW, pulse, SBP, DBP) and Tau b the Kendall (τ) for ordinal qualitative ones (UC). Test-retest reliability was assessed using the intraclass correlation coefficient (CCI) to demonstrate that results were consistent over time. The Bland-Altman plot was used to represent graphically the agreement between measurements in both administration of the questionnaire. Moreover, Pearson's coefficient between the difference and the average of the variables estimated through both records was calculated to assess potential bias in estimation (significant values of Pearson's coefficient indicate divergence in the variable between the two administrations). Student *t* test was applied to further evaluate the difference between the two recordings. Cronbach's alpha (α) was also applied to assess the internal consistency of the HSQ in both administrations. All statistical analyses were performed using SPSS 24.0 Software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

3. Results

3.1. Sample Characteristics

A total of 137 volunteers were recruited for the validation process: nine of them were excluded after meeting some of the exclusion criteria and twelve participants did not complete the questionnaire a second time. Therefore, the final sample size for the validity study was 128 participants, 68 males (53.1%) with a mean of 14.1 (13.8–14.4) years and 60 females (46.9%) with a mean age of 14.4 (14.0–14.8) and 116 for the analysis of the reproducibility, 61 males (52.6%) and 55 females (47.4%) (Figure 2).

Their anthropometric characteristics, body water content, urine and blood markers and haemodynamic data are presented in Table 1.

As it can be observed in Table 1, average values for TBW were lower in females than in males. With the exception of the urine pH, there were no significant differences in urinary indices between both genders. Haematological indices (haematocrit and haemoglobin) were higher in males than in females and no differences were found in the quantity of erythrocytes. At last, blood pressure values of males were higher than in females and no differences were found in the pulse between both genders.

Results of the HSQ-AY, sorted by gender, are presented in Table 2.

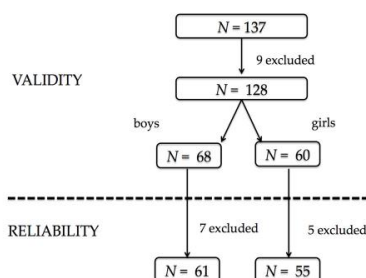


Figure 2. Effective sample size.

Table 1. Anthropometric characteristic, body water content, urine and blood markers and haemodynamic data of participants.

	Males (n = 68)	Females (n = 60)	p Values
Weight (Kg)	58.3 (55.3–61.3)	54.8 (52.2–57.5)	0.084
Height (cm)	166.7 (164.5–169.0)	161.4 (160.0–162.7)	0.000
Body fat mass (Kg)	15.1 (13.6–16.6)	18.2 (16.7–19.7)	0.004
Body lean mass (Kg)	44.0 (41.9–46.1)	36.9 (35.9–38.0)	0.000
TBW (%)	56.0 (55.0–57.1)	51.3 (50.1–52.5)	0.000
TBW (L)	32.9 (31.3–34.5)	28.1 (27.1–29.1)	0.000
Specific gravity (g/L)	1.025 (1.024–1.027)	1.025 (1.024–1.026)	0.681
pH	5.3 (5.2–5.4)	5.1 (5.1–5.2)	0.043
Urine colour	3.5 (3.2–3.7)	3.4 (3.2–3.9)	0.671
Haematocrit (%)	43.1 (42.3–44.0)	40.0 (39.1–41.0)	0.000
Erythrocyte (mill/ μ L)	5.5 (4.1–6.9)	4.4 (4.3–4.6)	0.133
Haemoglobin (g/dL)	14.6 (14.2–15.0)	13.7 (13.2–14.1)	0.002
SBP (mmHg)	120.1 (116.6–123.5)	111.9 (107.6–116.2)	0.003
DBP (mmHg)	62.3 (60.2–64.5)	67.1 (65.0–69.2)	0.003
Pulse (beats/min)	70.9 (68.1–73.8)	81.0 (78.0–84.9)	0.000

Results are presented as mean and confidence interval. *p* values derived through the Student's *t* test. TBW: Total body water; SBP: Systolic blood pressure; DBP: Diastolic blood pressure.

Table 2. Water intake from all sources, water elimination and water balance obtained by the hydration status questionnaire adolescent-young (HSQ-AY), sorted by gender.

	Males (n = 68)	Females (n = 60)	p Values
Drinking water (mL/day)	1897.6 (1683.2–2112.1)	1611.1 (1293.2–1929.0)	0.138
Water from beverages (mL/day)	2713.7 (2465.0–2962.4)	2308.8 (1983.2–2634.4)	0.051
Water from food (mL/day)	424.0 (366.8–481.2)	501.5 (425.3–577.8)	0.107
Water intake (mL/day)	3137.7 (2880.7–3394.8)	2810.3 (2465.6–3154.9)	0.131
Total water loss (mL/day)	3811.0 (3631.1–3990.3)	3213.5 (3030.0–3397.0)	0.000
Water balance (mL/day)	−673.3 (−975.1–−371.5)	−403.2 (−771.7–−34.7)	0.259

Results are presented as mean and confidence interval. *p* values derived through the Student's *t* test.

As shown, except for WE, there were no significant differences in any variable between both genders. This difference is mainly due to the elimination of water through sweat, which is higher in males than in females. Results using accelerometers information showed that in males WE through sweat was 2302.5 (2138.5–2466.5) mL and 1620.3 (1465.8–1774.7) mL ($p = 0.000$) in females, while no differences were found in WE through urination ($p = 0.115$) and defecation ($p = 0.082$). This fact may be caused by the intensity and duration of the physical activity practiced by each gender.

According to the results obtained from 3DR, total WI of the sample was 2297.1 (2170.1–2424.1) mL/day. Sorting results by gender, total WI of males was 2280.0 (2103.4–2456.5) mL/day and 2316.5 (2128.4–2504.6) mL/day in females.

3.2. Validity of the Questionnaire

To assess the validity of the tool, WB, WI and WE estimated by the HSQ-AY were correlated with the hydration indices analysed.

Moderate agreement between the WB and the respective biomarkers was evident for USG ($r = -0.202, p = 0.023$). The total WI was correlated with this same biomarker ($r = -0.184, p = 0.037$) and, also, with the haematocrit value ($r = -0.231, p = 0.009$) and with the TBW ($r = 0.263, p = 0.003$). Haemodynamic parameters were correlated with WE: Pulse, SBP and DBP were correlated with WE through sweat ($p = -0.237, r = 0.000; r = 0.178, p = 0.045; r = -0.281, p = 0.001$, respectively) and with total WE ($r = -0.189, p = 0.032; r = 0.200, p = 0.024; r = -0.209, p = 0.018$, respectively). At last, drinking water, water from beverages, total WI and WB estimated through the HSQ-AY were correlated with WI from 3DR ($r = 0.539, p = 0.000; r = 0.504, p = 0.000; r = 0.468, p = 0.000; r = 0.357, p = 0.000$).

Results analysed by gender showed that WB and total WI were correlated with USG ($r = -0.315, p = 0.014; r = -0.306, p = 0.017$) among females and with TBW in males ($r = 0.387, p = 0.001; r = 0.392, p = 0.001$). UC was correlated with WE through urine only among females ($\tau = -0.228, p = 0.042$). In males, blood indices were correlated with total WE (Haemoglobin: $r = -0.239, p = 0.050$; Haematocrit: $r = -0.282, p = 0.020$) and with WE from sweat (Haemoglobin: $r = -0.272, p = 0.025$; Haematocrit: $r = -0.316, p = 0.009$). With respect to haemodynamic parameters, in males DBP was correlated with total WE ($r = -0.382, p = 0.001$) and with WE through sweat ($r = -0.404, p = 0.001$), while in females the correlation obtained was for SBP with total WE ($r = 0.282, p = 0.029$). At last, as well as for the whole sample, drinking water, water from beverages and total WI estimated through the HSQ-AY were correlated with WI from 3DR in both, males ($r = 0.470, p = 0.000; r = 0.424, p = 0.000, r = 0.398, p = 0.001$, respectively) and females ($r = 0.624, p = 0.000; r = 0.609, p = 0.000; r = 0.588, p = 0.000$, respectively) and WB only among females ($r = 0.505, p = 0.000$).

3.3. Reliability of the Questionnaire

Results from both HSQ-AY administrations are presented in Table 3.

Table 3. Results of the reliability procedure for de HSQ-AY.

	1st Completion (n = 128)	2nd Completion (n = 116)	Mean Difference	p Values	Limits of Agreements
Drinking water (mL/day)	1628.1 (1472.2–1784.0)	1577.0 (1429.3–1724.7)	51.1	0.292	1068.8–966.6
Water from beverages (mL/day)	2380.0 (2203.0–2557.0)	2300.8 (2128.4–2473.1)	79.1	0.230	1462.2–1303.9
Water from food (mL/day)	459.0 (409.2–509.0)	437.7 (380.0–495.3)	21.3	0.398	551.5–508.9
Water intake (mL/day)	2839.0 (2649.1–3029.0)	2738.5 (2545.6–2931.3)	100.4	0.184	1685.8–1485.0
Water loss (mL/day)	3558.0 (3408.0–3708.0)	3606.1 (3455.2–3757.0)	−48.2	0.090	547.0–643.4
Water balance (mL/day)	−719.0 (−934.0–−504.0)	−855.4 (−1074.9–−636.0)	136.4	0.095	1848.1–1575.2

Results are presented as mean and confidence interval. p values derived through the Student's t test.

To analyse the test-retest reliability, the ICC was calculated obtaining a value of 0.842. As it can be observed in Table 3 there were no differences in any variables between the two recordings. According to the Bland and Altman method (Figure 3) the mean differences of the estimated variables did not differ from zero (Student t test). The limits of agreement were quite narrow and all six-scatter plots were predominantly distributed within the 95% limits of agreement, as well as being considered acceptable to reveal the reliability of the estimated measures. No bias was evident regarding the two

recordings in all studied cases (drinking water: $r = 0.968$, $p = 0.335$; water from beverages: $r = 0.404$, $p = 0.687$; water from food: $r = -0.192$, $p = 0.056$; WI: $r = -0.240$, $p = 0.811$; WE: $r = -0.162$, $p = 0.871$; WB: $r = -0.318$, $p = 0.751$). To test the internal consistency of the questionnaire, the Cronbach's α of each recording was calculated, obtained as results 0.811 and 0.809 respectively.

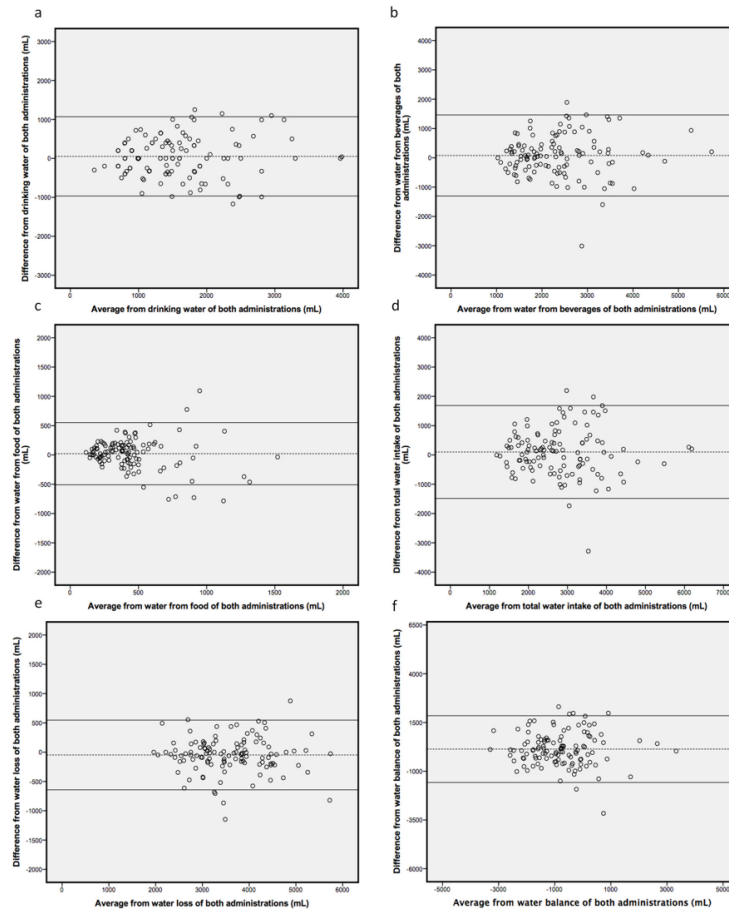


Figure 3. Bland-Altman plots of differences versus means for the variables: (a) drinking water (regression line has a slope of 0.0598 and an intercept of -44.783 (95% confidence interval: -0.06 – 0.18) and $p \geq 0.05$), (b) water from beverages (regression line has a slope of 0.0303 and an intercept of 8.225 (95% confidence interval: -0.12 – 0.18) and $p \geq 0.05$), (c) water from food (regression line has a slope of 0.1851 and an intercept of 104.28 (95% confidence interval: -0.38 – 0.01) and $p \geq 0.05$), (d) total water intake (regression line has a slope of 0.189 and an intercept of 153.22 (95% confidence interval: -0.18 – 0.13) and $p \geq 0.05$), (e) water loss (regression line has a slope of -0.0057 and an intercept of -27.662 (95% confidence interval: -0.08 – 0.06) and $p \geq 0.05$) and (f) water balance (regression line has a slope of -0.0237 and an intercept of 117.8 (95% confidence interval: -0.17 – 0.12) and $p \geq 0.05$).

4. Discussion

From our knowledge, this is the first time that a questionnaire, which allows for the estimation of WB, has been validated in a healthy adolescent-young Spanish population. Results of the validation process showed that, WB, total WI and WE were correlated with several of the most important markers of HS: USG, TBW, UC and also with haematocrit and haemoglobin. It is important to highlight that an adequate WB is not equivalent to an adequate HS if it is the result of a low WI and a low WE [45]. For this reason, it was considered that the estimation of only WB was not still enough for the assessment of HS and as consequence WI and WE should also be included in the validation of the questionnaire.

Nowadays urinary indices are the most widely hydration markers used in the field of research [17,39,40,46] and recent investigations have demonstrated that both USG are strongly correlated with urine osmolality, which has been proposed as the most promising marker of HS [23,24,39]. USG is not only useful during acute water loss but also in real life conditions, constituting an accurate and rapid indicator of HS. Nevertheless, UC is somewhat more subjective because depends on several factors such as food and/or medicines consumed and therefore it must be used in combination with a more quantifiable method [47–49]. In the current study WB and WI of the whole sample were correlated with USG in an inverse manner, while WE through urine of females was correlated with UC, in such a way that higher amount of water output was related to lighter colour of the urine. Another point to underline is that results obtained for USG did not differ between males and females but TBW was different between genres. This possibly is due to body composition differences between them. Specifically, males present a higher proportion of lean mass than females.

In respect to the TBW, which is an indicator of HS [22,24,39,41,46], a positive correlation was found for TWI in the whole sample and also with WB but only among males. It is known that the most accurate methodology for the estimation of TBW is the criterion isotope method such as deuterium oxide, hydrogen, tritium and oxygen-18. But these techniques are time-consuming, expensive and require cumbersome equipment and in consequence, they cannot be applied at the community level. In the current study it was estimated through BIA, which is a cost-effective, non-invasive and easy technique, which has produced valid measurements of TBW when compared to a criterion method, such as deuterium oxide [22,50–55]. Nevertheless, given its limitations, (i.e., dependence on factors such as skin temperature, body posture before the measurement) it must be performed under controlled conditions [56]. Because of this, the test was carried out with participants in fasting conditions and without practicing intense physical activity in the previous 24 h, with the recommended body posture and correct electrode positioning. Women who were menstruating were also excluded from the validation process.

On the other hand, the haematological markers (haemoglobin and haematocrit) respond to greater changes in HS, in such a way that in severely dehydration status both parameters will increase with respect to basal levels [22]. In this study, total WI as well as WE were correlated with both parameters: higher volumes of WI were related to lower values of haematocrit and higher volumes of water output with lower values of haemoglobin and haematocrit. It may be explained because in those individuals whose drink more, the WE is also greater.

At last, it is well known that HS also affects haemodynamic parameters. High blood pressure is common in people who are chronically dehydrated; nevertheless, in acute dehydration status the volume of water in the bloodstream decreases and a diminution in the blood pressure could happen [42,57]. However, haemodynamic parameters are not able to identify fluid imbalances independently of other indices. In the current study haemodynamic parameters were correlated with WE, especially with WE through sweat, which may demonstrate certain relation between the physical activity and haemodynamic parameters.

Results of the current study were in accordance with known literature showing lower median values for TBW in woman than in men [58,59]. Blood and urinary indices were within the physiological ranges [18,60] nevertheless, according to the urine colour chart [44], a score equal or higher than three indicates risk of hypohydration in children and adolescents [61]; in the present study, both males

and females obtained a score higher than this value. On the other hand, blood pressure values were compared with the *Task Force for Blood Pressure in Children*; which establish for age and sex the percentiles of blood pressure values related to the height percentiles [62]. A normal blood pressure is defined as a SBP and DBP that is less than the 90th percentile for sex, age and height. According to this criteria blood pressure values of the sample included in this study were optimal.

With regard to the reproducibility of the questionnaire, the Cronbach's α revealed a high and similar consistency in both recording (values equal or higher than 0.7 are considered adequate). The ICC revealed the existence of strong concordance between both administrations of the questionnaire (ICC higher than 0.8 indicate high concordance). The Bland-Altman method allows assessing the agreement between the methods across the range of WI and losses and can determine if there was any systematic difference between the administrations of the questionnaire and to what extent the two administrations agree (limits of agreement). Accordingly, the HSQ-AY was repeatable for all the components studied (WI, WE and WB).

At present there are few studies that evaluate WI in the target population group and most of them used unspecific questionnaires to its estimation. Recently, some studies have been developed in Spain with this objective but only one of them used a specific hydration questionnaire and it did not included water from food [15]. In general, this type of surveys tends to underestimate, as they solely record eating occasions around meals but not all drinking occasions [15,25,63–65]. Because of that, water consumption obtained in the current study through the HSQ-AY was slightly higher when compared to other studies; however, WI obtained through the 3DR was quite similar [15,64]. In addition, results from different epidemiological studies have shown that foods may provide the 20% [15,63–66] of total WI, being results of the present study consistent with these data for the group of females (19.2%) but not in males, whose consumption of water from food was much less, roughly a 13%.

From our knowledge, there are no hydration questionnaires specifically designed and validated in the adolescent-young population, which take into account water from all sources (liquid and solid) and WE. Nevertheless, the estimation of WE is essential to calculate WB. In the current study, the estimation of WE was performed through the use of point scales for self-estimation, which have demonstrated to be valid to achieve this objective [33–36,67]. The assessment of WE through sweat was based on the information acquired by accelerometers that participants wore for seven days. This allowed a more accurate estimation of WE, because WE through sweat depends greatly of the duration and intensity of the physical activity performed and accelerometers are at the present the most refined method to its quantification [68].

Advantages of this study included the design of the questionnaire, which has demonstrated to be understandable, attractive and suitable to estimate WI and WB in the target population. Its structure, length and colour code, as well as the inclusion of pictures of each food and beverage, has been a key aspect to achieve this objective. This fact plays a crucial role in the validity and reliability showed by the questionnaire against important indicators of HS. However, the most important limitations refer to the non-availability of 24 h urine sample as well as the measurement of USG through reagent strip.

5. Conclusions

The present questionnaire may be used as an affordable and valid screening tool to estimate WB in healthy children and adolescents, which would allow further a deeper knowledge of HS of the general population.

Supplementary Materials: The following are available online at <http://www.mdpi.com/2072-6643/11/3/565/s1>, Supplementary File S1: The hydration Status Questionnaire adolescent-young (HSQ-AY).

Author Contributions: Conceptualization, G.V.-M. and T.P.; methodology, G.V.-M., T.P. and A.I.L.G.; validation, T.P. and A.I.L.G.; formal analysis, T.P. and A.I.L.G.; investigation, T.P., M.d.L.S.-V. and A.I.L.G.; resources, G.V.-M. and T.P.; data curation, A.L.G.; writing—original draft preparation, A.I.L.G.; writing—review and editing, G.V.L., T.P., M.d.L.S.-V. and A.I.L.G.; visualization, A.I.L.G.; supervision, T.P. and G.V.-M.; project administration, G.V.-M. and funding acquisition, G.V.-M.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: The authors would like to thank Alejandra Carretero Krug, Carmen Morais Moreno, Marietta Jankowska, Laura Beatrice Mattioli, Clara Gómez Donoso, Catalina Ballastero Fernández, Rocío Forero Martín and Maria Martínez Rodríguez for their collaboration in this project.

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

References

- Jequier, E.; Constant, F. Water as an essential nutrient: The physiological basis of hydration. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2009**, *64*, 115–123. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Popkin, B.M.; D'Anci, K.E.; Rosenberg, I.H. Water, hydration, and health. *Nutr. Rev.* **2010**, *68*, 439–458. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Riebl, S.K.; Davy, B.M. The Hydration Equation: Update on Water Balance and Cognitive Performance. *ACSMs Health Fit. J.* **2013**, *17*, 21–28. [[PubMed](#)]
- Benton, D.; Burgess, N. The effect of the consumption of water on the memory and attention of children. *Appetite* **2009**, *53*, 143–146. [[CrossRef](#)]
- Edmonds, C.J.; Burford, D. Should children drink more water?: The effects of drinking water on cognition in children. *Appetite* **2009**, *52*, 776–779. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Kenney, E.L.; Long, M.W.; Craddock, A.L.; Gortmaker, S.L. Prevalence of Inadequate Hydration Among US Children and Disparities by Gender and Race/Ethnicity: National Health and Nutrition Examination Survey, 2009–2012. *Am. J. Public Health* **2015**, *105*, e113–e118. [[CrossRef](#)]
- Phillips, S.M.; Sykes, D.; Gibson, N. Hydration Status and Fluid Balance of Elite European Youth Soccer Players during Consecutive Training Sessions. *J. Sports Sci. Med.* **2014**, *13*, 817–822. [[PubMed](#)]
- Castro-Sepulveda, M.; Ramirez-Campillo, R.; Abad-Colil, F.; Monje, C.; Peñailillo, L.; Cancino, J.; Zbinden-Foncea, H. Basal Mild Dehydration Increase Salivary Cortisol After a Friendly Match in Young Elite Soccer Players. *Front. Physiol.* **2018**, *9*, 1347. [[CrossRef](#)]
- Castro-Sepulveda, M.; Astudillo, J.; Letelier, P.; Zbinden-Foncea, H. Prevalence of Dehydration Before Training Sessions, Friendly and Official Matches in Elite Female Soccer Players. *J. Hum. Kinet.* **2016**, *50*, 79–84. [[CrossRef](#)]
- Bar-David, Y.; Urkin, J.; Kozminsky, E. The effect of voluntary dehydration on cognitive functions of elementary school children. *Acta Paediatr.* **2005**, *94*, 1667–1673. [[CrossRef](#)]
- Fadda, R.; Rapinett, G.; Grathwohl, D.; Parisi, M.; Fanari, R.; Calò, C.M.; Schmitt, J. Effects of drinking supplementary water at school on cognitive performance in children. *Appetite* **2012**, *59*, 730–737. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Warren, J.; Guelinckx, I.; Livingstone, B.; Potischman, N.; Nelson, M.; Foster, E.; Holmes, B. Challenges in the assessment of total fluid intake in children and adolescents: A discussion paper. *Eur. J. Nutr.* **2018**, *57* (Suppl. 3), 43–51. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Kant, A.K.; Graubard, B.I. Contributors of water intake in US children and adolescents: Associations with dietary and meal characteristics—National Health and Nutrition Examination Survey 2005–2006. *Am. J. Clin. Nutr.* **2010**, *92*, 887–896. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Malik, V.S.; Pan, A.; Willett, W.C.; Hu, F.B. Sugar-sweetened beverages and weight gain in children and adults: A systematic review and meta-analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* **2013**, *98*, 1084–1102. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Iglesia, I.; Guelinckx, I.; De Miguel-Etayo, P.M.; González-Gil, E.M.; Salas-Salvadó, J.; Kavouras, S.A.; Gandy, J.; Martínez, H.; Bardosono, S.; Abdollahi, M.; et al. Total fluid intake of children and adolescents: Cross-sectional surveys in 13 countries worldwide. *Eur. J. Nutr.* **2015**, *54* (Suppl. 2), 57–67. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Hydration for Health. Available online: <https://www.h4hinitiative.com/hydration-science/hydration-lab/water-intake-and-hydration-physiology-during-childhood/consumption#total-water-intake> (accessed on 10 December 2018).
- Perrier, E.; Rondeau, P.; Poupin, M.; Le Bellego, L.; Armstrong, L.E.; Lang, F.; Stookey, J.; Tack, I.; Vergne, S.; Klein, A. Relation between urinary hydration biomarkers and total fluid intake in healthy adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2013**, *67*, 939–943. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

18. European Food Safety Agency (EFSA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for water. *EFSA J.* **2010**, *8*, 1459.
19. Dougherty, K.A.; Baker, L.B.; Chow, M.; Kenney, W.L. Two percent dehydration impairs and six percent carbohydrate drink improves boys basketball skills. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2006**, *38*, 1650–1658. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
20. Fiorito, L.M.; Marini, M.; Mitchell, D.C.; Smiciklas-Wright, H.; Birch, L.L. Girls' early sweetened carbonated beverage intake predicts different patterns of beverage and nutrient intake across childhood and adolescence. *J. Am. Diet. Assoc.* **2010**, *110*, 543–550. [[CrossRef](#)]
21. Guelinckx, I.; Frémont-Marquis, A.S.; Eon, E.; Kavouras, S.A.; Armstrong, L.E. Assessing Hydration in Children: From Science to Practice. *Ann. Nutr. Metab.* **2015**, *66*, 5–9. [[CrossRef](#)]
22. Shirreffs, S.M. Markers of hydration status. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2003**, *57* (Suppl. 2), S6–S9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Perrier, E.; Vergne, S.; Klein, A.; Poupin, M.; Rondeau, P.; Le Bellego, L.; Armstrong, L.E.; Lang, F.; Stookey, J.; Tack, I. Hydration biomarkers in free-living adults with different levels of habitual fluid consumption. *Br. J. Nutr.* **2013**, *109*, 1678–1687. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Armstrong, L.E. Assessing hydration status: The elusive gold standard. *J. Am. Coll. Nutr.* **2007**, *26*, 575S–584S. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Gandy, J.; Martinez, H.; Guelinckx, I.; Moreno, L.A.; Bardosono, S.; Salas-Salvado, J.; Kavouras, S.A. Relevance of Assessment Methods for Fluid Intake. *Ann. Nutr. Metab.* **2016**, *68* (Suppl. 2), 1–5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Laja García, A.; Mercuur, N.; Samaniego-Vaesken, M.L.; Partearroyo, T.; Varela-Moreiras, G. Questionnaire design to evaluate water balance. *Nutr. Hosp.* **2015**, *32* (Suppl. 2), 10310.
27. Malisova, O.; Bountziouka, V.; Panagiotakos, D.B.; Zampelas, A.; Kapsokefalou, M. The water balance questionnaire: Design, reliability and validity of a questionnaire to evaluate water balance in the general population. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2012**, *63*, 138–144. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Hedrick, V.E.; Comber, D.L.; Estabrooks, P.A.; Savla, J.; Davy, B.M. The beverage intake questionnaire: Determining initial validity and reliability. *J. Am. Diet. Assoc.* **2010**, *110*, 1227–1232. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Murray, B. Hydration and physical performance. *J. Am. Coll. Nutr.* **2007**, *26* (Suppl. 5), 542S–548S. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
30. Moreiras, O.; Carbajal, A.; Cabrera, L.; Cuadrado, C. *Tablas de Composición de Alimentos*, 19th ed.; Pirámide: Madrid, Spain, 2018.
31. Panagiotakos, D. Health measurement scales: Methodological issues. *Open Cardiovasc. Med. J.* **2009**, *3*, 160–165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Ministerio de Ciencia e Innovación. Base de Datos Española de Composición de Alimentos (BEDCA). Available online: www.bedca.net (accessed on 20 December 2018).
33. Rehrer, N.J.; Burke, L.M. Sweating losses during various sports. *Aust. J. Nutr. Diet.* **1996**, *53*, 13–16.
34. Costill, D.L. Sweating: Its composition and effects on body fluids. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1977**, *301*, 160–174. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Clarkson, P.M. The effects of exercise and heat on vitamin and requirements. In *Nutritional Needs in Hot Environments*; Marriott, B.M., Ed.; National Academies Press: Washington, DC, USA, 1993; pp. 137–171.
36. Fischbach, F.T.; Dunning, M.B. *A Manual of Laboratory & Diagnostic Tests*; Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia, PA, USA, 2003.
37. Nunnally, J.C.; Bernstein, I.H.; Berge, J.M.T. *Psychometric Theory*; McGraw Hill: New York, NY, USA, 1967.
38. Oppliger, R.A.; Magnes, S.A.; Popowski, L.A.; Gisolfi, C.V. Accuracy of urine specific gravity and osmolality as indicators of hydration status. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2005**, *15*, 236–251. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. Kavouras, S.A. Assessing hydration status. *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care* **2002**, *5*, 519–524. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
40. Armstrong, L.E.; Pumerantz, A.C.; Fiala, K.A.; Roti, M.W.; Kavouras, S.A.; Casa, D.J.; Maresh, C.M. Human hydration indices: Acute and longitudinal reference values. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2010**, *20*, 145–153. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
41. Armstrong, L.E. Hydration assessment techniques. *Nutr. Rev.* **2005**, *63*, S40–S54. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. González-Alonso, J.; Mora-Rodríguez, R.; Below, P.R.; Coyle, E.F. Dehydration markedly impairs cardiovascular function in hyperthermic endurance athletes during exercise. *J. Appl. Physiol.* **1985**, *82*, 1229–1236.

43. Marfell-Jones, M.J.; Stewart, A.D.; De Ridder, J.H. *International Standards for Anthropometric Assessment*; Lower Hutt: North Island, New Zealand, 2011.
44. Armstrong, L.E. *Performing in Extreme Environments*; Human Kinetics: Champaign, IL, USA, 2000.
45. Armstrong, L.E.; Johnson, E.C.; Munoz, C.X.; Swokla, B.; Le Bellego, L.; Jimenez, L.; Casa, D.J.; Maresh, C.M. Hydration biomarkers and dietary fluid consumption of women. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2012**, *112*, 1056–1061. [[CrossRef](#)]
46. Armstrong, L.E.; Soto, J.A.; Hacker, F.T., Jr.; Casa, D.J.; Kavouras, S.A.; Maresh, C.M. Urinary indices during dehydration, exercise, and rehydration. *Int. J. Sport Nutr.* **1998**, *8*, 345–355. [[CrossRef](#)]
47. McKenzie, A.L.; Muñoz, C.X.; Ellis, L.A.; Perrier, E.T.; Guelinckx, I.; Klein, A.; Kavouras, S.A.; Armstrong, L.E. Urine color as an indicator of urine concentration in pregnant and lactating women. *Eur. J. Nutr.* **2017**, *56*, 355–362. [[CrossRef](#)]
48. McKenzie, A.L.; Muñoz, C.X.; Armstrong, L.E. Accuracy of Urine Color to Detect Equal to or Greater Than 2% Body Mass Loss in Men. *J. Athl. Train.* **2015**, *50*, 1306–1309. [[CrossRef](#)]
49. Armstrong, L.E.; Maresh, C.M.; Castellani, J.W.; Bergeron, M.F.; Kenefick, R.W.; LaGasse, K.E.; Riebe, D. Urinary indices of hydration status. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **1994**, *4*, 265–279. [[CrossRef](#)]
50. Van Marken Lichtenbelt, W.D.; Westerterp, K.R.; Wouters, L.; Luijendijk, S.C. Validation of bioelectrical-impedance measurements as a method to estimate body-water compartments. *Am. J. Clin. Nutr.* **1994**, *60*, 159–166. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. Van Loan, M.D.; Withers, P.; Matthie, J.; Mayclin, P.L. Use of bioimpedance spectroscopy to determine extracellular fluid, intracellular fluid, total body water, and fat-free mass. *Basic Life Sci.* **1993**, *60*, 67–70. [[PubMed](#)]
52. Patel, R.V.; Matthie, J.R.; Withers, P.O.; Peterson, E.L.; Zarowitz, B.J. Estimation of total body and extracellular water using single- and multiple-frequency bioimpedance. *Ann. Pharmacother.* **1994**, *28*, 565–569. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Matthie, J.; Zarowitz, B.; De Lorenzo, A.; Andreoli, A.; Katzarski, K.; Pan, G.; Withers, P. Analytic assessment of the various bioimpedance methods used to estimate body water. *J. Appl. Physiol.* **1985**, *84*, 1801–1816. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Matias, C.N.; Júdece, P.B.; Santos, D.A.; Magalhães, J.P.; Minderico, C.S.; Fields, D.A.; Sardinha, L.B.; Silva, A.M. Suitability of Bioelectrical Based Methods to Assess Water Compartments in Recreational and Elite Athletes. *J. Am. Coll. Nutr.* **2016**, *35*, 413–421. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Armstrong, L.E.; Kenefick, R.W.; Castellani, J.W.; Riebe, D.; Kavouras, S.A.; Kuznicki, J.T.; Maresh, C.M. Bioimpedance spectroscopy technique: Intra-, extracellular, and total body water. *Med. Sci. Sports Exerc.* **1997**, *29*, 1657–1663. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. National Institute of Health. Bioelectrical impedance analysis in body composition measurement: National Institutes of Health Technology Assessment Conference Statement. *Am. J. Clin. Nutr.* **1996**, *64*, 524S–532S. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. International Chair for Advanced Studies on Hydration. Available online: <http://cieah.ulpgc.es/en/icash> (accessed on 20 December 2018).
58. Moreno, L.A.; Mesana, M.I.; González-Gross, M.; Gil, C.M.; Fleta, J.; Wärnberg, J.; Ruiz, J.R.; Sarria, A.; Marcos, A.; Bueno, M.; et al. Anthropometric body fat composition reference values in Spanish adolescents. The AVENA Study. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2006**, *60*, 191–196. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. McCarthy, H.D.; Cole, T.J.; Fry, T.; Jebb, S.A.; Prentice, A.M. Body fat reference curves for children. *Int. J. Obes. (Lond.)* **2006**, *30*, 598–602. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Kasper, D.L.; Braunwald, E.; Fauci, A.S.; Hauser, S.L.; Longo, D.L.; Jameson, J.L. *Harrison's Principles of Internal Medicine*, 16th ed.; McGraw-Hill: New York, NY, USA, 2004.
61. Kavouras, S.A.; Johnson, E.C.; Bougatsas, D.; Arnaoutis, G.; Panagiotakos, D.B.; Perrier, E.; Klein, A. Validation of a urine color scale for assessment of urine osmolality in healthy children. *Eur. J. Nutr.* **2016**, *55*, 907–915. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
62. National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* **2004**, *114*, 555–576. [[CrossRef](#)]

63. Ferreira-Pêgo, C.; Guelinckx, I.; Moreno, L.A.; Kavouras, S.A.; Gandy, J.; Martinez, H.; Bardosono, S.; Abdollahi, M.; Nasser, E.; Jarosz, A.; et al. Total fluid intake and its determinants: Cross-sectional surveys among adults in 13 countries worldwide. *Eur. J. Nutr.* **2015**, *54* (Suppl. 2), 35–43. [[CrossRef](#)]
64. Fernández-Alvira, J.M.; Iglesia, I.; Ferreira-Pêgo, C.; Babio, N.; Salas-Salvadó, J.; Moreno, L.A. Fluid intake in Spanish children and adolescents; a cross-sectional study. *Nutr. Hosp.* **2014**, *29*, 1163–1170. [[PubMed](#)]
65. Athanasatou, A.; Malisova, O.; Kandyliari, A.; Kapsokefalou, M. Water Intake in a Sample of Greek Adults Evaluated with the Water Balance Questionnaire (WBQ) and a Seven-Day Diary. *Nutrients* **2016**, *8*, 559. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Nissensohn, M.; Sánchez-Villegas, A.; Galan, P.; Turrini, A.; Arnault, N.; Mistura, L.; Ortiz-Andrellucchi, A.; Edelenyi, F.S.; D'Addezio, L.; Serra-Majem, L. Beverage Consumption Habits among the European Population: Association with Total Water and Energy Intakes. *Nutrients* **2017**, *9*, 383. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
67. Jensen, R.; Buffangeix, D.; Covi, G. Measuring water content of feces by the Karl Fischer method. *Clin. Chem.* **1976**, *22*, 1351–1354. [[PubMed](#)]
68. Plasqui, G.; Bonomi, A.G.; Westerterp, K.R. Daily physical activity assessment with accelerometers: New insights and validation studies. *Obes. Rev.* **2013**, *14*, 451–462. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]



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



10.1.3. Laja García AI, Moráis-moreno C, Samaniego-Vaesken ML, Puga AM, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Influence of Water Intake and Balance on Body Composition in Healthy Young Adults from Spain. Nutrients 2019; 11(8): 1923. Doi: 10.3390/nu11081923. *Influencia de la ingesta de agua y el balance hídrico en la composición corporal de adultos sanos españoles.*

La creciente prevalencia de sobrepeso y obesidad constituye un importante problema de salud pública a nivel mundial. En los últimos años, diversas investigaciones han sugerido que la ingesta de agua podría tener importantes implicaciones en el control del peso y en la composición corporal. Sin embargo, de forma general, existe poca información sobre el consumo de agua de la población. Por ello, el objetivo del presente estudio fue analizar la asociación entre el estado de hidratación y la composición corporal en una muestra de adultos sanos españoles. El estudio se realizó en 358 sujetos con edades comprendidas entre 18 y 39 años. Para evaluar la ingesta, eliminación y balance hídrico, se empleó el cuestionario para la evaluación del estado de hidratación, el cual ha sido recientemente validado. Las medidas antropométricas fueron tomadas de acuerdo a las Normas Internacionales para la Evaluación Antropométrica (ISAK), por antropometristas acreditados nivel I y II. La composición corporal fue estimada a través de impedancia bioeléctrica multifrecuencia. Las diferencias en las variables antropométricas en función del estado de hidratación y del consumo de agua fueron evaluadas a través del test ANOVA y consideradas significativas si $p < 0,05$. Se observó asociación positiva entre el consumo de agua y el contenido en agua corporal tanto en hombres (H) como en mujeres (M) (H: $r = 0,270$ $p = 0,003$; M: $r = 0,180$, $p = 0,006$). En las mujeres, la ingesta de agua normalizada por el peso corporal (ml/kg) se asoció de forma inversa con el peso ($r = -0,318$, $p = 0,000$) el índice de masa corporal ($r = -0,275$, $p = 0,000$), el porcentaje y los kilos de masa grasa ($r = -0,267$, $p = 0,000$; $r = -0,320$, $p = 0,000$) y la circunferencia de la cintura ($r = -0,237$, $p = 0,000$) y de forma positiva con el contenido en agua corporal ($r = 0,327$, $p = 0,000$) y en los hombres, la ingesta de agua normalizada por el peso corporal se correlacionó de forma inversa con el peso ($r = -0,220$, $p = 0,015$), la masa grasa (kg) ($r = -0,200$, $p = 0,028$) y la circunferencia de la cintura ($r = -0,215$, $p = 0,018$) y de forma positiva con el contenido en agua corporal ($r = 0,226$, $p = 0,013$). Además, se observaron diferencias significativas en el contenido en agua corporal de las mujeres en función del balance hídrico ($p_{25-p50} = 28.1$ (27.6–28.6) L; $p_{75} = 29.2$ (28.6–29.9) L, ($p = 0.04$). En conclusión, un mayor consumo de agua parece estar relacionado con una composición corporal más saludable. Por tanto, mejorar el estado de hidratación de la población podría ser útil en la prevención

de sobrepeso y obesidad, si bien es cierto que son necesarios mas estudios que confirmen los hallazgos del presente estudio.

Article

Influence of Water Intake and Balance on Body Composition in Healthy Young Adults from Spain

Ana Isabel Laja García, Carmen Moráis-Moreno, M^a de Lourdes Samaniego-Vaesken ,
Ana M. Puga, Teresa Partearroyo ^{*,†}  and Gregorio Varela-Moreiras [†]

Departamento de Ciencias Farmacéuticas y de la Salud, Facultad de Farmacia, Universidad San Pablo-CEU, CEU Universities, Urbanización Montepríncipe, 28925 Alcorcón, Madrid, Spain

* Correspondence: t.partearroyo@ceu.es; Tel.: +34-91-3724719

† These authors contributed equally for the manuscript.

Received: 3 July 2019; Accepted: 13 August 2019; Published: 15 August 2019



Abstract: The increasing prevalence of overweight and obesity has become an epidemic public health problem worldwide. In the last years, several investigations have suggested that water intake and retention could have important implications for both weight management and body composition. However, there is a lack of information about this issue globally, and mainly specifically in Spain. Thus, the aim of this study was to analyze the association between hydration status and body composition in a sample of healthy Spanish adults. The study involved 358 subjects, aged 18–39 years. The recently validated “hydration status questionnaire” was used to assess their water intake, elimination, and balance. Anthropometric measurements were performed according to the recommendations of the International Standards for Anthropometric Assessment (ISAK). Body composition variables were acquired by bioelectrical impedance analysis. Differences in anthropometric and body composition variables were assessed through the ANOVA test and considered significant at $p < 0.05$. Fluid intake was correlated with body water content. Inverse associations between water consumption, normalized by weight, with body weight, body fat mass, and waist circumference were found. Moreover, according to water balance, significant differences in body water content in females were observed. In conclusion, higher fluid intake seems to be related with a healthier body composition. Therefore, the improvement of water intake and water balance could be useful for overweight and obesity prevention, although further studies are needed to confirm the present findings.

Keywords: water intake; water balance; weight management; obesity; overweight; body composition

1. Introduction

It is well known that the rising prevalence of overweight and obesity has become a public epidemic around the world [1]. Particularly, in Spain, in the last thirty years, the prevalence of overweight and obesity has increased from 25.6% and 7.9% in women and 38.4% and 6.9% in men, to 30.1%/16.7% and 44.3%/18.2%, respectively [2]. Overweight and obesity has a multifactorial etiology involving genetic predisposition, and environmental and behavioral factors [3]. In addition, obesity is associated with and contributes to a shortened life span, type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease, some cancers, kidney disease, obstructive sleep apnea, gout, osteoarthritis, and hepatobiliary disease, among others [3]. Therefore, the first step to develop prevention is to further understand the obesity–environmental interrelationships. The fact that their classical determinants (diet and physical activity) do not sufficiently explain this situation make it necessary to examine other possible factors which could be implicated [4,5]. In this regard, several investigations have suggested that water intake (WI) and water balance (WB) could have important implications for both weight management and body composition [6–9].

In recent years, the role of an adequate hydration status (HS) in human health has acquired great interest in research [10–12]. Nowadays, water, which is the most abundant component of the human body, comprising approximately 45%–75% of body weight depending on age and physiological status [13,14], is considered an essential nutrient [14]. Some of its functions are transporting nutrients, regulating body temperature, being solvent for many organic and inorganic materials, lubricating joints and internal organs, and providing structure to cells and tissues, among others. Therefore, water is of such importance that humans could only survive 2 to 4 days without it [13]. Despite the key role that an adequate HS exerts in health and wellness, available data of water consumption amongst the population shows a high prevalence of inadequate hydration habits [15]. Particularly, data from the Spanish ANIBES study (“anthropometric data, macronutrients and micronutrients intake, practice of physical activity, socioeconomic data and lifestyles in Spain”) [16] showed that more than 75% of participants did not achieve the European Food Safety Association (EFSA) WI recommendations (2.5 L/day for men and 2.0 L/day for woman).

Drinking high amounts of water is commonly and popularly related to weight loss; however, until recent years, limited scientific evidence was available to justify this relationship. In this regard, recently, several investigations [17–19] have tried to support this association by concluding that there is a positive relation between WI, weight management, and body composition, although the responsible mechanisms remain unclear. It has been suggested that drinking water increases the rate of lipolysis and energy expenditure by means of sympathetic stimulus and thermogenesis induction [20–22]. Furthermore, short-term effects of water consumption include increased satiety and, consequently, reduced hunger feeling [23]. In this context, some investigations have demonstrated an increase of energy intake when pre-meal water ingestion was removed [17,24,25]. Finally, drinking water and an adequate HS were also related to healthier dietary patterns [26]. Noteworthy, the consumption of foods with high water content, such as fruits and vegetables, can contribute to increased daily WI and, as a consequence, improve HS [27].

The evidence of the important role that HS and WI plays on body weight and body composition make it necessary to develop new studies which confirm and aid the deepening of the knowledge of this relation, with the purpose of establishing public health measures which may contribute to reduce current rates of overweight and obesity. In this regard, it is important to mention that nowadays there is lack of consensus about the best method to estimate WI [28] and the accurate estimation of HS implies a great difficulty [29,30]. In fact, there is no “gold standard”, and the techniques and methods available are expensive, invasive and/or complicated, making it difficult to apply at population level [29–33]. Recently, our research group designed a questionnaire entitled “The hydration status questionnaire” (HSQ) [34], which has been demonstrated to be valid for the evaluation of WI and HS of a healthy adult population, as well as an adaptation for an adolescent-young population [35].

For all the aforementioned, the hypothesis of this study was that an adequate WI and HS could play a beneficial role in weight and body composition. Thus, the aim of the present study was to examine, for the first time, the effect of WI and WB, estimated by means of the previously mentioned HSQ, on body composition in healthy young adults from Spain.

2. Materials and Methods

This cross-sectional study started in October 2015 and was developed during two consecutive years, finishing in October 2017. Volunteers were recruited from Montepríncipe Campus of CEU San Pablo University (Madrid, Spain). The inclusion criteria were: Individuals who were (a) mentally and physically healthy and (b) aged 18–39 years. Exclusion criteria were: (a) Suffering from diseases related to HS, including renal impairment, urinary tract infection, WB disease, and diabetes; and/or (b) females who were menstruating during the study. Volunteer recruitment was performed through informative talks, posters, and through the website of the University.

Ethical approval was granted by the Clinical Research Ethics Committee of the CEU San Pablo University (Madrid). The corresponding ethical code was 106-15. Moreover, the study was performed

in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments. Participants were informed about the objectives of the study and the procedures involved, and signed an informed consent prior to their inclusion in the study. All personal data were confidential and only investigators assigned to the project had access to them. In any case, it complied with the General Data Protection Regulation (2016/679).

2.1. Study Protocol

The study included the HS and WI assessment and the anthropometric evaluation of the subjects. Participants completed the HSQ [34], which was previously validated in a healthy adult population and allowed the estimation of WI from food and beverages and water elimination (WE) from urine and feces. Moreover, volunteers also completed the short form of the international physical activity questionnaire (IPAQ-SF) [36] to assess their physical activity and to estimate WE by sweat. WB was calculated as the difference between total WI and total WE.

The anthropometric evaluation comprised the measurement of weight, by a digital scale with an accuracy of 200 g (SECATM 877); height, measured to the nearest 0.1 cm using a wall-mounted stadiometer (SECATM); and waist circumference (WC), which was measured with a flexible tape (CescorTM). Anthropometric measurements were performed according to the recommendations of the International Standards for Anthropometric Assessment (ISAK) [37] by level I and II accredited anthropometrists. Weight and height data were used to calculate the body mass index (BMI), or Quetelet index, according to the following formula [38] ($\text{weight (Kg)}/\text{height}^2 \text{ (m)}$) and classified as underweight, normal weight, overweight, and obese according to the World Health Organization criteria [39]. Lastly, body composition (total body water (TBW), fat body mass (FBM), lean body mass (LBM), and dry lean body mass (DLBM)) were estimated by bioelectrical impedance (BIA) with a Bioscan Spectrum MultifrequencyTM. All measurements were achieved under fasting conditions, in the same laboratory of the University and under mild temperature conditions (22 ± 2 °C and relative humidity of $50\% \pm 10\%$).

2.2. Statistical Analysis

Results are presented as mean and 95% confidence interval. Differences between variables were assessed with the Student's paired t-test and considered significant at $p \leq 0.05$. The relation between HS, WI, and anthropometric characteristics was evaluated using Pearson's (r) correlation coefficient. Differences in water consumption and HS according to body BMI were analyzed through ANOVA test and considered significant at $p \leq 0.05$. Finally, differences in anthropometric and body composition variables, according to WB percentiles (p) ($<p_{25} = 161.7$ mL, $p_{25}-p_{50} = 161.7-859.8$ mL, $p_{50}-p_{75} = 859.9-1484.5$ mL, $>p_{75} = 1484.6$ mL) and according to WI normalized by body weight percentiles ($<p_{25} = 39.7$ mL/Kg, $p_{25}-p_{50} = 39.8-49.0$ mL/Kg, $p_{50}-p_{75} = 49.1-60.1$ mL/Kg, $>p_{75} = 60.2$ mL/Kg), were also analyzed through ANOVA test and were considered significant at $p \leq 0.05$. All statistical analyses were performed using SPSS 24.0 Software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

3. Results

3.1. Sample Characteristics

A total of 358 healthy volunteers, 121 males (33.8%) with a mean age of 21.6 (21.0–22.2) years and 237 females (66.2%) with a mean age of 21.6 (21.2–22.1) years, participated in the study. Their anthropometric characteristics are presented in Table 1, where it can be observed that there were significant differences between genders in all the collected variables.

Table 1. Anthropometric characteristics of participants from the study.

Anthropometric Variables	Males (n = 121)	Females (n = 237)	p Values
Weight (Kg)	73.6 (71.8–75.3)	57.4 (56.4–58.4)	0.000
Height (cm)	177.3 (176.1 - 178.5)	164.4 (163.6–165.2)	0.000
BMI (Kg/m ²)	23.4 (22.9–24.0)	21.2 (20.9–21.5)	0.000
WC (cm)	79.1 (77.8–80.3)	67.5 (66.8–68.2)	0.000
TBW (%)	55.5 (54.7–56.2)	50.2 (49.7–50.7)	0.000
TBW (L)	40.5 (39.8–41.2)	28.6 (28.3–28.9)	0.000
FBM (%)	17.4 (16.7–18.1)	27.4 (26.8–27.9)	0.000
FBM (Kg)	13.0 (12.2–13.8)	15.9 (15.4–16.5)	0.000
LBM (Kg)	60.6 (59.5–61.8)	41.6 (41.0–42.2)	0.000
DLBM (Kg)	19.9 (19.4–20.5)	12.9 (12.6–13.3)	0.000

Results are presented as mean and confidence interval; *p* values derived through Student's *t* test. (BMI—body mass index, WC—waist circumference, TBW—total body water, FBM—fat body mass, LBM—lean body mass, DLBM—dry lean body mass).

In the study population, overweight and obesity prevalence was 12.2% and data analyzed by gender showed that it was significantly higher in males when compared to females (23.1% and 6.8%, respectively) ($p = 0.000$). Nevertheless, the prevalence of underweight for the total sample was 7.9%, being higher in females (10.1%) than in males (3.3%). Finally, 79.9% of the sample presented as normal weight (males: 73.6%; females: 83.1%).

Results of the HSQ sorted by gender are presented in Table 2. It can be observed that WI, drinking water, water from beverages, and total WI were significantly higher in males compared to females. Nevertheless, water from food and WB were significantly higher in females than in males. In addition, significant differences in the amount of WI per body weight from all sources were observed, being higher in females than in males.

Table 2. Water intake from all sources, water elimination, water balance, and water intake from all sources normalized by body weight, obtained by the hydration status questionnaire and sorted by gender.

	Males (n = 121)	Females (n = 237)	p Values
Drinking water (mL/day)	1569.9 (1449.0–1690.9)	1421.7 (1346.2–1497.2)	0.033
Water from beverages (other than water) (mL/day)	2615.9 (2454.1–2777.6)	2297.1 (2196.1–2398.2)	0.001
Water from food (mL/day)	674.7 (607.5–742.0)	780.9 (733.8–827.9)	0.011
Water intake (mL/day)	3290.6 (3111.0–3470.2)	3078.0 (2958.3–3197.8)	0.048
Total water loss (mL/day)	2653.0 (2468.2–2837.8)	2181.9 (2097.1–2266.8)	0.000
Water balance (mL/day)	637.6 (443.3–831.9)	896.1 (765.2–1026.9)	0.027
Water intake/weight (mL/Kg)	45.1 (42.6–47.6)	54.4 (52.2–56.6)	0.000
Drinking water/weight (mL/ Kg)	21.5 (19.9–23.2)	25.1 (23.7–26.5)	0.002
Water from beverages/weight (mL/Kg)	35.8 (33.6–37.9)	40.5 (38.7–42.4)	0.002
Water from food/weight (mL/Kg)	9.3 (8.3–10.3)	13.8 (13.0–14.7)	0.000

Results are presented as mean and confidence interval; *p* values derived through Student's *t* test.

3.2. Hydration Status and the Correlation with Anthropometric Variables

Drinking water and WI were correlated with TBW in females ($r = 0.196$, $p = 0.002$; $r = 0.180$, $p = 0.006$) and in males ($r = 0.187$, $p = 0.040$; $r = 0.270$, $p = 0.003$), confirming the relationship between HS and body composition. However, no correlations were obtained for the rest of the anthropometric variables. Nevertheless, after data normalization by body weight, associations between WI variables from all sources with all the anthropometric parameters were found. Associations between WI from different sources and total WI normalized by body weight, with the anthropometric and body

composition variables in males and females are presented in Tables 3 and 4, respectively. As it can be observed, WI normalized by body weight was inversely correlated with weight, BMI, FBM, and WC and, in contrast, positively correlated with TBW percentage.

Table 3. Correlation between water intake normalized by body weight from all the sources analyzed with anthropometric and body composition variables of males.

Anthropometric Variables	Drinking Water/Weight (mL/Kg)		Water from Beverages/Weight (mL/Kg)		Water from Food/Weight (mL/Kg)		Water Intake/Weight (mL/Kg)	
	<i>r</i>	<i>p</i> Values	<i>r</i>	<i>p</i> Values	<i>r</i>	<i>p</i> Values	<i>r</i>	<i>p</i> Values
Weight (Kg)	−0.169	0.063	−0.162	0.076	−0.199	0.028	−0.220	0.015
BMI (Kg/m ²)	−0.084	0.358	−0.094	0.304	−0.173	0.058	−0.150	0.100
FBM (%)	−0.104	0.256	−0.106	0.248	−0.166	0.068	−0.158	0.084
FBM (Kg)	−0.147	0.108	−0.145	0.113	−0.186	0.041	−0.200	0.028
WC (cm)	−0.167	0.069	−0.176	0.055	−0.157	0.087	−0.215	0.018
TBW (%)	0.177	0.053	0.165	0.071	0.210	0.021	0.226	0.013

Results are presented as Pearson's (*r*) correlation coefficient. (BMI—body mass index, FBM—fat body mass, WC—waist circumference, TBW—total body water).

Table 4. Correlation between water intake normalized by body weight from all the sources analyzed with anthropometric and body composition variables of females.

Anthropometric Variables	Drinking Water/Weight (mL/Kg)		Water from Beverages/Weight (mL/Kg)		Water from Food/Weight (mL/Kg)		Water Intake/Weight (mL/Kg)	
	<i>r</i>	<i>p</i> Values	<i>r</i>	<i>p</i> Values	<i>r</i>	<i>p</i> Values	<i>r</i>	<i>p</i> Values
Weight (Kg)	−0.218	0.001	−0.263	0.000	−0.262	0.000	−0.318	0.000
BMI (Kg/m ²)	−0.184	0.005	−0.216	0.001	−0.251	0.000	−0.275	0.000
FBM (%)	−0.138	0.034	−0.229	0.000	−0.202	0.002	−0.267	0.000
FBM (Kg)	−0.192	0.003	−0.267	0.000	−0.258	0.000	−0.320	0.000
WC (cm)	−0.144	0.027	−0.183	0.000	−0.223	0.001	−0.237	0.000
TBW (%)	0.206	0.001	0.290	0.000	0.227	0.000	0.327	0.000

Results are presented as Pearson's (*r*) correlation coefficient. (BMI—body mass index, FBM—fat body mass, WC—waist circumference, TBW—total body water).

In males, inverse associations between WI normalized by body weight with weight, FBM (Kg), and WC and a positive association between this variable and TBW (%) were found. Moreover, water from food normalized by weight was also correlated with weight, FBM (Kg) and with TBW (%).

Differences in WI variables and WB related to BMI are presented in Table 5. Our results showed that overweight/obese males had higher water intakes from beverages than those who were underweight. Nevertheless, in females the volume of WI normalized by body weight as well as water from food normalized by body weight was higher in normal weight and underweight woman than in overweight and obese individuals. Lastly, females who were underweight also had a higher WI normalized by body weight than overweight/obese individuals.

On the other hand, differences in anthropometric and body composition variables related to WB percentiles were also analyzed and significant differences in TBW of females were observed (p₂₅–p₅₀ = 28.1 (27.6–28.6) L; p₇₅ = 29.2 (28.6–29.9) L, (*p* = 0.04).

Table 5. Differences in water intake variables and water balance according to body mass index and sorted by gender.

	Males			Females		
	Underweight (<i>n</i> = 4)	Normal Weight (<i>n</i> = 89)	Overweight/Obesity (<i>n</i> = 28)	Underweight (<i>n</i> = 24)	Normal Weight (<i>n</i> = 197)	Overweight/Obesity (<i>n</i> = 16)
Drinking water (mL/day)	1091.9 (914.8–1269.2)	1510.5 (1385.8–1635.2)	1827.2 (1491.5–2162.8)	1341.8 (1099.2–1584.5)	1429.2 (1348.2–1510.1)	1448.9 (1027.8–1869.9)
Water from beverages (mL/day)	1797.1 ^a (1287.4–2306.8)	2537.1 ^{ab} (2377.8–2696.3)	2983.3 ^b (2515.8–3450.8)	2089.7 (1824.1–2355.2)	2310.9 (2200.1–2421.7)	2439.1 (1910.8–2967.4)
Water from food (mL/day)	764.0 (202.5–1730.6)	661.2 (584.2–738.3)	704.8 (559.5–850.2)	724.4 (606.9–841.8)	793.2 (739.5–846.9)	713.8 (553.6–873.99)
Water intake (mL/day)	2561.1 (1286.9–3835.2)	3198.3 (3019.8–3376.3)	3688.2 (3176.3–4200.1)	2814.0 (2500.4–3127.6)	3104.1 (2971.3–3236.9)	3152.9 (2584.0–3721.8)
Water balance (mL/day)	−345.0 (−2203.2–1513.2)	696.4 (489.9–902.9)	591.1 (80.1–1102.0)	731.3 (292.9–1169.7)	907.7 (761.6–1053.7)	1000.4 (581.3–1419.6)
Drinking water/ body weight (mL/Kg)	19.1 (15.1–23.1)	21.7 (19.8–23.6)	21.4 (17.4–25.4)	27.9 ^c (22.6–33.2)	25.2 ^{cd} (23.7–26.7)	19.1 ^d (14.4–24)
Water from beverages/body weight (mL/Kg)	31.6 (20.7–42.6)	36.2 (33.9–38.8)	34.7 (29.4–40.0)	43.3 (37.6–48.9)	40.8 (38.8–42.9)	32.7 (27.1–38.3)
Water from food/body weight (mL/Kg)	13.3 (3.1–29.7)	9.4 (8.3–10.5)	8.3 (6.5–10.0)	15.0 ^e (12.5–17.4)	14.0 ^e (13.1–15.0)	9.7 ^f (7.6–11.8)
Water intake/body weight (mL/Kg)	44.9 (22.3–67.6)	45.8 (43.0–48.6)	43.0 (37.1–48.9)	58.3 ^g (51.6–65.0)	54.9 ^g (52.4–57.4)	42.4 ^h (36.2–48.7)

Data reported as means ± standard error of the mean per group. Different superscript lowercase letters indicate statistical significance in each row ($p \leq 0.05$) assessed through ANOVA test. Body mass index cut offs: Underweight: < 18.5 kg/m²; normal weight: 18.5–24.9 kg/m²; overweight/obesity > 25 kg/m².

Finally, differences in body composition and anthropometric variables related to WI normalized by body weight were analyzed. Results obtained in females are presented in Table 6, where it can be observed that women who had higher WI normalized by body weight presented a lower weight, BMI, FBM, and WC, whereas, in contrast, their TBW was higher. No significant differences were found in males.

Table 6. Differences in anthropometric and body composition variables according to water intake per body weight percentiles in females.

Percentiles	Percentiles of Water Intake Normalized by Body Weight (mL/Kg)			
	<p25 (n = 63)	p25–p50 (n = 62)	p50–p75 (n = 59)	>p75 (n = 53)
Weight (Kg)	60.86 ^a (58.4–63.3)	57.8 ^a (55.8–59.9)	58.4 ^a (56.2–60.5)	54.2 ^b (52.7–55.7)
BMI (Kg/m ²)	22.3 ^c (21.5–23.1)	21.3 ^{cd} (20.7–22.0)	21.4 ^c (20.9–22.0)	20 ^d (19.8–20.9)
FBM (%)	29.1 ^e (27.7–30.6)	27.4 ^{ef} (26.2–28.5)	27.9 ^{ef} (26.9–28.8)	26.0 ^f (25.1–27.0)
FBM (Kg)	18.0 ^g (16.4–19.5)	16.0 ^{gh} (14.9–17.1)	16.5 ^g (15.4–17.6)	14.2 ^h (13.4–15.1)
WC (Cm)	69.9 ⁱ (67.9–71.9)	67.2 ^{ij} (65.7–68.7)	68.2 ^{ij} (66.6–69.8)	65.8 ^j (64.8–66.8)
LBM (Kg)	42.8 ^k (41.6–49.7)	41.9 ^{kl} (40.8–43.1)	41.9 ^{kl} (40.7–43.2)	40.2 ^l (39.1–41.3)
DLBM (kg)	13.8 ^m (13.1–14.4)	13.1 ^{mn} (12.4–13.7)	13.1 ^{mn} (12.5–13.8)	12.2 ⁿ (11.7–12.7)
TBW (%)	48.4 (47.1–49.7)	50.1 ^p (49.1–51.2)	49.7 (48.8–50.6)	51.7 ^p (50.9–52.2)

Data reported as means ± standard error of the mean per group. Different superscript lowercase letters indicate statistical significance in each row ($p \leq 0.05$) according to ANOVA test. Percentiles of water intake normalized by body weight: < p25 = 39.6 mL/Kg; p25–p50 = 39.6–48.9 mL/Kg; p50–p75 = 49.0–60.1 mL/Kg; > p75 = 60.2 mL/Kg. (p—percentiles; BMI—body mass index, WC—waist circumference, TBW—total body water, FBM—fat body mass, LBM—lean body mass, DLBM—dry lean body mass).

4. Discussion

Results of the present study confirmed the existence of a relation between WI, either from water, other beverages, food, or total WI, with weight and body composition. As expected, a positive correlation between water consumption and TBW was observed. The fact that the other anthropometric variables analyzed (weight, BMI, FBM, and WC) were correlated with total WI and WI from the different sources normalized by body size, but not with their absolute values, brings to light the important role of body size in water requirements. Additionally, other factors such as gender, physical activity, drug consumption [40], energy intake, environmental temperature and humidity, among others [41–43], can affect water needs. Therefore, WI recommendations should be as personalized as possible. In this regard, it is important to mention that WI recommendation per body weight has already been established for free-living adults, which suggest a minimum daily intake of 30–45 mL/Kg [44,45]. Around 35.5% of the population included in the current study did not accomplish the highest recommendation, while 8.9% did not even achieve the lowest. Nevertheless, the most widely accepted WI recommendations are the ones established by the EFSA and the Institute of Medicine of the United States of America (IOM) [46,47]. In the current study, both males and females fulfilled the EFSA recommendations (men: 2.5 L/day, women: 2.0 L/day), but only females achieved the ones from IOM (men: 3.7 L/day, women: 2.7 L/day). The reason for the considerable differences between the EFSA and the IOM recommendations remains unclear, considering that both include water from food and water from beverages.

In recent years, several investigations have shown a positive effect of increasing water consumption in body weight loss and decrease of WC and FBM (%) [7,9,17–19,23,24,48]. Moreover, another study observed that women and obese people display indicators of cellular dehydration and have a higher risk of dehydration [49]. Therefore, current available literature indicates that, on the one hand, water consumption can support weight loss and the achievement of an adequate body composition, and on the other, that overweight and obese people tend to be more dehydrated and thus they constitute an at-risk population group. In the current study, inverse associations were observed between WI from all the sources (drinking water, water from beverages, water from food and total WI) normalized by body weight with weight status, FBM, and WC, as well as a positive correlation between WI parameters

with TBW in both males and females. When population was categorized by BMI, it was observed that normal weight and underweight females presented higher values of total WI and water from food normalized by body weight than overweight/obese females. Nevertheless, this was not observed in males, given that overweight/obese males drank more water from beverages than underweight ones. Previous investigations have also provided similar results showing that plain water consumption was higher in adults of higher BMI, but it is important to consider that these results were from limited data [50]. Moreover, for a proper interpretation of the results obtained in males, it must be considered that the group of beverages of the HSQ is very wide including plain water, juices, sweet beverages, light beverages, milk and dairy products, infusions, and alcoholic beverages, among others.

The studied population was also categorized by percentiles of WI normalized by body weight, and it was observed that females who had higher water intakes presented lower weight, BMI, FBM, and WC and, in contrast, greater TBW. The influence of WB in weight and body composition is also of interest, given that it largely determines the HS, which is essential for health, wellness, and performance [12,13]. Hence, in the current study, percentiles of WB were also used to categorize the population and results showed that the TBW was greater in females with higher WB, indicating that it might also affect body composition.

It is important to notice that overweight and obesity prevalence obtained in the current study was considerably lower than the available data for the general population of previous studies [2]. In particular, results of the ANIBES study [51] in a population group aged 18–40 years, showed that the prevalence of overweight and obesity was 52.6% and 36.2% in men and women, respectively. These differences could be attributed to the wide age range considered in this study. However, according to the 2017 Spanish National Health Survey [2], the prevalence of overweight and obesity in population aged 18–24 years was 28% and 16.3% in men and women, respectively. These results are similar to those obtained in the current study.

Nevertheless, as it occurs in the general population, and in the ANIBES study, there were significant differences in the prevalence of overweight and obesity between genders, being higher in males compared to females. Concerning this matter, it is important to consider that the participation in the study was entirely voluntary and the collection of anthropometric measurements may have constituted a barrier in certain population groups, which could be influencing the previous data.

Results of water consumption obtained in the current study were slightly higher when compared to others, which is mainly due to the methodology used for data collection. In this case, the recently validated questionnaire “HSQ” was used, which was specifically designed to recall water consumption, elimination and thus estimate WB [34,35], whereas most of the previously available surveys used unspecific questionnaires, which leads to an underestimation of WI in most of the cases [28,52,53]. Furthermore, it has been observed that absolute WI was higher in males of this study than in females, although a higher volume of WI from food, higher WB, as well as higher volume of WI from all sources normalized by body weight was reported in the group of females. Thus, although absolute WI was higher in males than in females, when the body size was considered, it was higher in females compared to males. Results of previous studies showed that women tend to exhibit a healthier pattern of eating and food choices than men, whose dietary choices usually are likely to be less healthy [54–56]. These results could reflect as well the positive effects of water consumption in weight management.

Strengths of this study included the novelty, the sample size, the use of a specific validated hydration questionnaire, and the quality of the anthropometric data collected. Moreover, it is important to highlight the new and accurate methodology used for food collection. However, the most important limitation refers to the differences in sample size between genders, as well as to the sample homogeneity: According to the International Standard Classification of Education [57], the socioeconomic level of all the participants included in the study is “high”, a fact which is related with lower prevalence of overweight and obesity [58,59]. Likewise, another important limitation is the impossibility of the designed study to differentiate the effect of each type of beverage on body weight and body composition. In addition, underreporting and misreporting of water and other beverage intakes

by subjects could have an influence in overall WI and WB. When it comes to dietary patterns, and according to literature, women are more likely to underreport than men, and underreporting is more common among overweight and obese individuals [60]. However, in the present study, underreporting and misreporting was not assessed. Finally, subjects' socioeconomical status could have an influence as it is related to better BMI across the population [61]. However, we did not assess our data taking these factors into account.

5. Conclusions

Our results indicate that fluid intake plays a positive role in body composition and body weight. Therefore, individualized water intake and water balance strategies could be useful in weight management and in the prevention of overweight and obesity in healthy young adults.

Author Contributions: Conceptualization, G.V.-M. and T.P.; methodology, G.V.-M.; T.P., A.I.L.G. and C.M.-M. formal analysis, T.P. and A.I.L.G.; investigation, T.P., A.I.L.G., M.d.L.S.-V. and A.M.P.; resources, G.V.-M. and T.P.; data curation, A.I.L.G.; writing—original draft preparation, A.I.L.G.; writing—review and editing, G.V.-M., T.P., M.d.L.S.-V., A.I.L.G. and A.M.P.; visualization, A.I.L.G.; supervision, T.P. and G.V.M.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: The authors would like to thank Alejandra Carretero Krug and Catalina Ballestero Fernández for their collaboration in this project.

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

References

1. Friedrich, M.J. Global Obesity Epidemic Worsening. *JAMA* **2017**, *318*, 603. [CrossRef] [PubMed]
2. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Encuesta Nacional de Salud. España 2017. Available online: <http://www.msbs.gob.es/estadEstudios/estadisticas/encuestaNacional/encuesta2017.htm> (accessed on April 2019).
3. Bray, G.A.; Heisel, W.E.; Afshin, A.; Jensen, M.D.; Dietz, W.H.; Long, M.; Kushner, R.F.; Daniels, S.R.; Wadden, T.A.; Tsai, A.G.; et al. The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr. Rev.* **2018**, *39*, 79–132. [CrossRef] [PubMed]
4. Lakerveld, J.; Mackenbach, J. The Upstream Determinants of Adult Obesity. *Obes. Facts* **2017**, *10*, 216–222. [CrossRef] [PubMed]
5. Marti, A.; Martínez-González, M.A.; Martínez, J.A. Interaction between genes and lifestyle factors on obesity. *Proc. Nutr. Soc.* **2008**, *67*, 1–8. [CrossRef] [PubMed]
6. Thornton, S.N. Increased Hydration Can Be Associated with Weight Loss. *Front. Nutr.* **2016**, *3*, 18. [CrossRef] [PubMed]
7. Muckelbauer, R.; Sarganas, G.; Grüneis, A.; Müller-Nordhorn, J. Association between water consumption and body weight outcomes: A systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.* **2013**, *98*, 282–299. [CrossRef]
8. Chang, T.; Ravi, N.; Plegue, M.A.; Sonnevile, K.R.; Davis, M.M. Inadequate Hydration, BMI, and Obesity Among US Adults: NHANES 2009–2012. *Ann. Fam. Med.* **2016**, *14*, 320–324. [CrossRef]
9. Stookey, J.D. Drinking Water and Weight Management. *Nutr. Today* **2010**, *45*, S7–S12. [CrossRef]
10. Maughan, R.J. Impact of mild dehydration on wellness and on exercise performance. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2003**, *57*, S19–S23. [CrossRef]
11. Zhang, J.; Zhang, N.; Du, S.; He, H.; Xu, Y.; Cai, H.; Guo, X.; Ma, G. The Effects of Hydration Status on Cognitive Performances among Young Adults in Hebei, China: A Randomized Controlled Trial (RCT). *Int. J. Environ. Public Health* **2018**, *15*, 1477. [CrossRef]
12. Riebl, S.K.; Davy, B.M. The Hydration Equation: Update on Water Balance and Cognitive Performance. *ACSMs Health Fit. J.* **2013**, *17*, 21–28. [PubMed]
13. Popkin, B.M.; D'Anci, K.E.; Rosenberg, I.H. Water, hydration, and health. *Nutr. Rev.* **2010**, *68*, 439–458. [CrossRef] [PubMed]
14. Jéquier, E.; Constant, F. Water as an essential nutrient: The physiological basis of hydration. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2010**, *64*, 115–123. [CrossRef] [PubMed]

15. Nissensohn, M.; Sánchez-Villegas, A.; Galan, P.; Turrini, A.; Arnault, N.; Mistura, L.; Ortiz-Andrellucchi, A.; Edelenyi, F.S.; D'Addezio, L.; Serra-Majem, L. Beverage Consumption Habits among the European Population: Association with Total Water and Energy Intakes. *Nutrients* **2017**, *9*, 383. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Nissensohn, M.; Sánchez-Villegas, A.; Ortega, R.M.; Aranceta-Bartrina, J.; Gil, Á.; González-Gross, M.; Varela-Moreiras, G.; Serra-Majem, L. Beverage Consumption Habits and Association with Total Water and Energy Intakes in the Spanish Population: Findings of the ANIBES Study. *Nutrients* **2016**, *8*, 232. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Dennis, E.A.; Dengo, A.L.; Comber, D.L.; Flack, K.D.; Savla, J.; Davy, K.P.; Davy, B.M. Water consumption increases weight loss during a hypocaloric diet intervention in middle-aged and older adults. *Obesity* **2010**, *18*, 300–307. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Parretti, H.M.; Aveyard, P.; Blannin, A.; Clifford, S.J.; Coleman, S.J.; Roalfe, A.; Daley, A.J. Efficacy of water preloading before main meals as a strategy for weight loss in primary care patients with obesity: RCT. *Obesity* **2015**, *23*, 1785–1791. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Vij, V.A.; Joshi, A.S. Effect of excessive water intake on body weight, body mass index, body fat, and appetite of overweight female participants. *J. Nat. Sci. Biol. Med.* **2014**, *5*, 340–344. [[CrossRef](#)]
20. Boschmann, M.; Steiniger, J.; Franke, G.; Birkenfeld, A.L.; Luft, F.C.; Jordan, J. Water drinking induces thermogenesis through osmosensitive mechanisms. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2007**, *92*, 3334–3337. [[CrossRef](#)]
21. Boschmann, M.; Steiniger, J.; Hille, U.; Tank, J.; Adams, F.; Sharma, A.M.; Klaus, S.; Luft, F.C.; Jordan, J. Water-induced thermogenesis. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2003**, *88*, 6015–6019. [[CrossRef](#)]
22. Vij, V.A.; Joshi, A.S. Effect of 'water induced thermogenesis' on body weight, body mass index and body composition of overweight subjects. *J. Clin. Diagn. Res.* **2013**, *7*, 1894–1896. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Dennis, E.A.; Flack, K.D.; Davy, B.M. Beverage consumption and adult weight management: A review. *Eat. Behav.* **2009**, *10*, 237–246. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Davy, B.M.; Dennis, E.A.; Dengo, A.L.; Wilson, K.L.; Davy, K.P. Water consumption reduces energy intake at a breakfast meal in obese older adults. *J. Am. Diet. Assoc.* **2008**, *108*, 1236–1239. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Van Walleghe, E.L.; Orr, J.S.; Gentile, C.L.; Davy, B.M. Pre-meal water consumption reduces meal energy intake in older but not younger subjects. *Obesity* **2007**, *15*, 93–99. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Popkin, B.M.; Barclay, D.V.; Nielsen, S.J. Water and food consumption patterns of U.S. adults from 1999 to 2001. *Obes. Res.* **2005**, *13*, 2146–2152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Guelinckx, I.; Tavoularis, G.; König, J.; Morin, C.; Gharbi, H.; Gandy, J. Contribution of water from food and fluids to total water intake: Analysis of a French and UK population surveys. *Nutrients* **2016**, *8*, 630. [[CrossRef](#)]
28. Gandy, J.; Martinez, H.; Guelinckx, I.; Moreno, L.A.; Bardosono, S.; Salas-Salvadó, J.; Kavouras, S.A. Relevance of Assessment Methods for Fluid Intake. *Ann. Nutr. Metab.* **2016**, *68*, 1–5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Shirreffs, S.M. Markers of hydration status. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2003**, *57*, S6–S9. [[CrossRef](#)]
30. Perrier, E.; Rondeau, P.; Poupin, M.; Le Bellego, L.; Armstrong, L.E.; Lang, F.; Stookey, J.; Tack, I.; Vergne, S.; Klein, A. Relation between urinary hydration biomarkers and total fluid intake in healthy adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2013**, *67*, 939–943. [[CrossRef](#)]
31. Armstrong, L.E.; Johnson, E.C.; Munoz, C.X.; Swokla, B.; Le Bellego, L.; Jimenez, L.; Casa, D.J.; Maresh, C.M. Hydration biomarkers and dietary fluid consumption of women. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2012**, *112*, 1056–1061. [[CrossRef](#)]
32. Perrier, E.; Vergne, S.; Klein, A.; Poupin, M.; Rondeau, P.; Le Bellego, L.; Armstrong, L.E.; Lang, F.; Stookey, J.; Tack, I. Hydration biomarkers in free-living adults with different levels of habitual fluid consumption. *Br. J. Nutr.* **2013**, *109*, 1678–1687. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Armstrong, L.E. Assessing hydration status: The elusive gold standard. *J. Am. Coll. Nutr.* **2007**, *26*, 575S–584S. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Laja, A.I.; Samaniego-Vaesken, M.L.; Partearroyo, T.; Varela-Moreiras, G. Validated questionnaire to assess the hydration status in a healthy adult Spanish population: A cross sectional study. *Nutr. Hosp.* **2019**, *36*, 875–883. [[CrossRef](#)]
35. Laja García, A.I.; Samaniego-Vaesken, M.L.; Partearroyo, T.; Varela-Moreiras, G. Adaptation and Validation of the Hydration Status Questionnaire in a Spanish Adolescent-Young Population: A Cross Sectional Study. *Nutrients* **2019**, *11*, 565. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

36. Craig, C.L.; Marshall, A.L.; Sjöström, M.; Bauman, A.E.; Booth, M.L.; Ainsworth, B.E.; Pratt, M.; Ekelund, U.; Yngve, A.; Sallis, J.F.; et al. International physical activity questionnaire: 12-country reliability and validity. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2003**, *35*, 1381–1395. [[CrossRef](#)]
37. Stewart, A.; Marfell-Jones, M.; Olds, T.; de Ridder, H. *International Standards for Anthropometric Assessment*; Hutt, L., Ed.; International Standards for Anthropometric Assessment (ISAK): Lower Hutt, New Zealand, 2011.
38. Khosla, T.; Lowe, C.R. Indices of obesity derived from body weight and height. *Br. J. Prev. Soc. Med.* **1967**, *21*, 122–128. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
39. World Health Organization. *Obesity: Preventing and Managing the Global Epidemic*; No. 894; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2000.
40. Puga, A.; Partearroyo, T.; Varela-Moreiras, G. Hydration status, drug interactions, and determinants in a Spanish elderly population: A pilot study. *J. Physiol. Biochem.* **2018**, *74*, 139–151. [[CrossRef](#)]
41. Institute of Medicine of the National Academies. *Water. Dietary Reference Intakes for Water, Sodium, Chloride, Potassium and Sulfate*; National Academy Press: Washington, DC, USA, 2005.
42. Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research. *Fluid Replacement and Heat Stress*; Marriott, B.M., Ed.; National Academies Press (US): Washington, DC, USA, 1994.
43. Ritz, P.; Völ, S.; Berrut, G.; Tack, L.; Arnaud, M.J.; Tichet, J. Influence of gender and body composition on hydration and body water spaces. *Clin. Nutr.* **2008**, *27*, 740–746. [[CrossRef](#)]
44. Iglesias Rosado, C.; Villarino Marín, A.L.; Martínez, J.A.; Cabrerizo, L.; Gargallo, M.; Lorenzo, H.; Quiles, J.; Planas, M.; Polanco, I.; Romero de Ávila, D.; et al. Importance of water in the hydration of the Spanish population: FESNAD 2010 document. *Nutr. Hosp.* **2011**, *26*, 27–36.
45. Ferry, M. Strategies for ensuring good hydration in the elderly. *Nutr. Rev.* **2005**, *63*, S22–S29. [[CrossRef](#)]
46. European Food Safety Agency (EFSA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for water. *Eur. Food Saf. Agency J.* **2010**, *8*, 1459.
47. Institute of Medicine. Panel on Dietary Reference Intakes for Electrolytes, & Water. In *DRI, Dietary Reference Intakes for Water, Potassium, Sodium, Chloride, and Sulfate*; The National Academy Press: Washington, DC, USA, 2005.
48. Akers, J.D.; Cornett, R.A.; Savla, J.S.; Davy, K.P.; Davy, B.M. Daily self-monitoring of body weight, step count, fruit/vegetable intake, and water consumption: A feasible and effective long-term weight loss maintenance approach. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2012**, *112*, 685–692. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Stookey, J.D.; Constant, F.; Popkin, B.M.; Gardner, C.D. Drinking water is associated with weight loss in overweight dieting women independent of diet and activity. *Obesity* **2008**, *16*, 2481–2488. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Kant, A.K.; Graubard, B.I.; Atchison, E.A. Intakes of plain water, moisture in foods and beverages, and total water in the adult US population—nutritional, meal pattern, and body weight correlates: National Health and Nutrition Examination Surveys 1999–2006. *Am. J. Clin. Nutr.* **2009**, *90*, 655–663. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
51. López-Sobaler, A.M.; Aparicio, A.; Aranceta-Bartrina, J.; Gil, Á.; González-Gross, M.; Serra-Majem, L.; Ortega, R.M.; Moreiras, G.V. Overweight and General and Abdominal Obesity in a Representative Sample of Spanish Adults: Findings from the ANIBES Study. *BioMed Res. Int.* **2016**, *2016*, 8341487. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
52. Malisova, O.; Bountziouka, V.; Panagiotakos, D.B.; Zampelas, A.; Kapsokefalou, M. The water balance questionnaire: Design, reliability and validity of a questionnaire to evaluate water balance in the general population. *Int. J. Food Sci. Nutr.* **2012**, *63*, 138–144. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
53. Ferreira-Pêgo, C.; Guelinckx, I.; Moreno, L.A.; Kavouras, S.A.; Gandy, J.; Martinez, H.; Bardosono, S.; Abdollahi, M.; Nasser, E.; Jarosz, A.; et al. Total fluid intake and its determinants: Cross-sectional surveys among adults in 13 countries worldwide. *Eur. J. Nutr.* **2015**, *54*, 35–43. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Malisova, O.; Athanasatou, A.; Pepa, A.; Husemann, M.; Domnik, K.; Braun, H.; Mora-Rodriguez, R.; Ortega, J.; Fernandez-Elias, V.; Kapsokefalou, M. Water intake and hydration indices in healthy European adults: The European Hydration Research Study (EHRS). *Nutrients* **2016**, *8*, 204. [[CrossRef](#)]
55. Wardle, J.; Haase, A.M.; Steptoe, A.; Nillapun, M.; Jonwutiwes, K.; Bellisle, F. Gender differences in food choice: The contribution of health beliefs and dieting. *Ann. Behav. Med.* **2004**, *27*, 107–116. [[CrossRef](#)]

56. Arganini, C.; Turrini, A.; Saba, A.; Virgili, F.; Comitato, R. Gender differences in food choice and dietary intake in modern western societies. In *Public Health—Social and Behavioral Health*; Jay, M., Ed.; InTech Open Access: Rijeka, Croatia, 2012; pp. 85–102.
57. Ulf, Statistics. International Standard Classification of Education. Available online: http://www.unesco.org/education/information/nfsunesco/doc/isced_1997.htm (accessed on 26 June 2019).
58. Hoffmann, K.; De Gelder, R.; Hu, Y.; Bopp, M.; Vitrai, J.; Lahelma, E.; Menvielle, G.; Santana, P.; Regidor, E.; Ekholm, O.; et al. Trends in educational inequalities in obesity in 15 European countries between 1990 and 2010. *Int. J. Behav. Nutr. Phys. Act.* **2017**, *14*, 63. [[CrossRef](#)]
59. Pérez-Rodrigo, C.; Aranceta Bartrina, J.; Serra Majem, L.; Moreno, B.; Delgado Rubio, A. Epidemiology of obesity in Spain. Dietary guidelines and strategies for prevention. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.* **2006**, *76*, 163–171. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Serra-Majem, L.; García-Closas, R.; Ribas, L.; Pérez-Rodrigo, C.; Aranceta, J. Food patterns of Spanish schoolchildren and adolescents: The enKid Study. *Public Health Nutr.* **2001**, *4*, 1433. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
61. Gutiérrez-Fisac, J.L.; Regidor, E.; Rodríguez, C. Trends in obesity differences by educational level in Spain. *J. Clin. Epidemiol.* **1996**, *49*, 351–354. [[CrossRef](#)]





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

10.1.4. Laja García AI, Moráis-moreno C, Samaniego-Vaesken ML, Puga AM, Partearroyo T, Varela-Moreiras G. Association between Hydration Status and Body Composition in Healthy Adolescents from Spain. *Nutrients* 2019; 11(11): 2692. Doi:10.3390/nu11112692. *Asociación entre el estado de hidratación y la composición corporal en adolescentes sanos españoles.*

En la actualidad, el sobrepeso y la obesidad suponen un gran problema de salud pública. Sus determinantes clásicos (dieta y actividad física), no explican suficientemente la situación actual, y por ello es urgente investigar otras posibles causas. Recientemente, se ha sugerido que la ingesta de agua podría tener importantes implicaciones en el control del peso. Por ello, el objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto del estado de hidratación en el peso y la composición corporal en adolescentes sanos españoles. El estudio incluyó a 372 sujetos con edades comprendidas entre los 12 y los 18 años. La ingesta, eliminación y balance hídrico fue evaluada empleando el cuestionario para la evaluación del estado de hidratación de jóvenes adolescentes, el cual ha sido recientemente validado. Las medidas antropométricas fueron tomadas de acuerdo a las Normas Internacionales para la Evaluación Antropométrica (ISAK) por antropometristas acreditados nivel I y II. La composición corporal se determinó a través de impedancia bioeléctrica multifrecuencia. Se encontró asociación positiva entre la ingesta de agua normalizada por el peso (ml/kg) con el contenido en agua corporal tanto en niños como en niñas. (niños : $r = 0,316$, $p = 0,000$; niñas: $r = 0.245$, $p = 0,000$) y asociación inversa con el índice de masa corporal (niños: $r = -0,515$, $p = 0,000$; niñas: $r = -0,385$, $p = 0,000$) y la masa grasa (niños: $r = -0,306$, $p = 0,000$; niñas: $r = -0,250$, $p = 0,001$). Además, se observó que los individuos con sobrepeso u obesidad consumían menor cantidad de agua que los individuos con un peso normal. En conclusión, un mayor consumo de agua y balance hídrico parece estar asociado con un peso y composición corporal mas saludable.

Article

Association between Hydration Status and Body Composition in Healthy Adolescents from Spain

Ana Isabel Laja García, Carmen Moráis-Moreno, M^a de Lourdes Samaniego-Vaesken ,
Ana M. Puga, Gregorio Varela-Moreiras [†] and Teresa Partearroyo ^{*,†} 

Department of Pharmaceutical and Health Sciences, Universidad CEU San Pablo, 28668 Madrid, Spain; a.laja90@gmail.com (A.I.L.G.); car.morais.ce@ceindo.ceu.es (C.M.-M.); l.samaniego@ceu.es (M.d.L.S.-V.); anamaria.pugagimenezazca@ceu.es (A.M.P.); gvarela@ceu.es (G.V.-M.)

* Correspondence: t.partearroyo@ceu.es; Tel.: +34-91-3724719

[†] These authors share senior authorship.

Received: 16 October 2019; Accepted: 5 November 2019; Published: 7 November 2019



Abstract: At present, obesity and overweight are major public health concerns. Their classical determinants do not sufficiently explain the current situation and it is urgent to investigate other possible causes. In recent years, it has been suggested that water intake could have important implications for weight management. Thus, the aim of this study was to examine the effect of hydration status on body weight and composition in healthy adolescents from Spain. The study involved 372 subjects, aged 12–18 years. Water intake was assessed through the validated “hydration status questionnaire adolescent young”. Anthropometric measurements were performed according to the recommendations of the International Standards for Anthropometric Assessment (ISAK) and body composition was estimated by bioelectrical impedance analysis. Water intake normalized by body weight was positively correlated with body water content (boys (B): $r = 0.316$, $p = 0.000$; girls (G): $r = 0.245$, $p = 0.000$) and inversely with body mass index (BMI) (B: $r = -0.515$, $p = 0.000$; G: $r = -0.385$, $p = 0.000$) and fat body mass (B: $r = -0.306$, $p = 0.000$; G: $r = -0.250$, $p = 0.001$). Moreover, according to BMI, overweight/obese individuals consumed less water than normal weight ones. In conclusion, higher water balance and intake seems to be related with a healthier body composition.

Keywords: water intake; water balance; weight management; obesity; overweight; body composition

1. Introduction

Obesity and overweight are currently the fifth leading global risk factor for mortality [1]. Its continuously increasing prevalence throughout the world has made prevention a major public health challenge. The current situation in children and adolescents is an issue of special concern, given that, according to the World Health Organization (WHO), over 340 million people aged between five and nineteen years are obese or overweight [2]. Particularly in Spain, the latest National Health Survey [3] has shown that the prevalence of this chronic disease in children and adolescents has increased dramatically in the last thirty years. This situation has resulted in diseases and health problems that were previously observed only in adults, such as diabetes mellitus, arterial hypertension, coronary artery disease and/or fatty liver disease, affecting obese children [4–6]. Consequently, the resulting complications of these pathologies in this population group are even more severe, leading to short life and worse quality of life [4,7]. Furthermore, childhood is the best stage of life to prevent diseases and to promote healthy habits and, thus, the prevention of obesity is of major importance.

It is well known that the main determinants of overweight and obesity are diet and physical activity; nevertheless, they do not sufficiently explain the current situation [8,9]. In recent years, several investigations have demonstrated that there are other factors implicated in weight regulation and

obesity development [10,11], such as water intake and hydration status, which is defined as the body's fluid level and is determined by water balance (net difference between water input and output) [12]. Its positive role has been documented by several studies conducted in adults [13–18] as well as in children [19,20]. In fact, some systematic reviews [14,18,19] conclude that water consumption might have a beneficial effect on weight status as well as a weight reducing effect, although the available evidence for the establishment of causal associations is still scarce. In this context, our research group has recently published a cross-sectional study [21] conducted in healthy adults, where inverse associations between water consumption (normalized by body weight) and body weight, fat body mass and waist circumference were found. Understanding the mechanisms for the aforementioned associations are of interest and although this remains unclear, it has been suggested that a combination of the effects derived from water consumption could explain them. Thus, water consumption leads to satiety increase [22–24], lipolysis rate and energy expenditure enhance by means of sympathetic stimulus and thermogenesis induction [25,26], caloric intake decrease due to mistakes in the perception of hunger and thirst cues [27] and improvement in diet quality [28–30], among others. Despite all acquired knowledge, available data of water intake for the general population and in particular for children are a cause for concern. According to data from the “anthropometric data, macronutrients and micronutrients intake, practice of physical activity, socioeconomic data and lifestyles in Spain” (ANIBES) study [31], the daily water intake from Spanish children aged between 13 and 17 years was 1398.04 ± 43.29 mL in boys and 1235.51 ± 40.07 mL in girls, thus, lower than the European Food Safety Authority (EFSA) water intake recommendations (2100 mL/day and 1900 mL/day for boys and girls aged 9–13 years, respectively) [32]. Moreover, adolescents aged 14 years and older are considered as adults regarding EFSA water intake recommendations (2500 mL/day and 2000 mL/day in males and females, respectively). This fact could entail several negative effects on the health and wellness of the target population, since a proper hydration status is essential for the adequate functioning of the human body [33,34].

For all the aforementioned, novel studies that confirm and allow deepening knowledge on the relation between hydration status, water intake and body composition are of interest. Until recently, the assessment of hydration status as the estimation of water intake has involved great difficulty [35,36] as there is no “gold standard” and the techniques and methods available are expensive, invasive and/or complex, making them difficult to apply at the population level [35–39]. Nevertheless, recently, our research group designed a questionnaire that has demonstrated validity in achieving the previous objective and which has been validated in a healthy adult population [40], the hydration status questionnaire (HSQ), and in a healthy adolescent population [41], the hydration status questionnaire for adolescent young (HSQ-AY). In the present study, our aim was to analyze the association of hydration status estimated by means of water intake and balance obtained through the HSQ-AY with body composition and body weight in a population of adolescents from Spain.

2. Materials and Methods

This school-based cross-sectional study was carried out in several periods between the years 2018 and 2019. Volunteers were recruited from a total of seven state and private schools in several cities in Spain—specifically, in Madrid (average temperature of 15.8 °C in October 2018 and an average temperature of 6.8 °C in January 2019), in Victoria (average temperature of 1.3 °C in February 2019), in Murcia (average temperature of 10.8 °C in February 2019) and in Alicante (average temperature of 14.0 °C in March 2019). The inclusion criteria were individuals who were (a) mentally and physically healthy and (b) aged 12–18 years. Exclusion criteria were (a) individuals suffering from diseases related to hydration status, including renal impairment, urinary tract infection, water balance disease and diabetes and/or (b) females who were menstruating during the study. Volunteer recruitment was performed through informative talks in each school.

Ethical approval was granted by the Clinical Research Ethics Committee of the CEU San Pablo University (Madrid). The corresponding ethical code was 120/16/06, and the study was performed

in accordance with the ethical standards laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments. Participants were informed about the objectives of the study and the procedures involved and signed an informed consent prior to their inclusion in the study. All personal data were confidential and only investigators assigned to the project had access to them, complying with the General Data Protection Regulation (2016/679) and with the Personal Data protection Act of 2018. 2.1 Study Protocol.

2.1. Study Protocol

The protocol of the study (Figure 1) was explained to the potential volunteers prior to their inclusion.

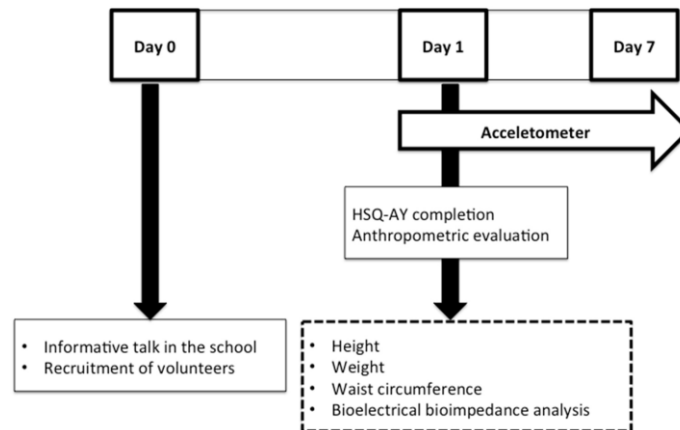


Figure 1. Protocol of the study. HSQ-AY: hydration status questionnaire in a healthy adolescent young Spanish population.

The study involved water intake and hydration status assessment, anthropometric evaluation and physical activity assessment of the subjects. Participants completed the HSQ-AY [41], previously validated in a healthy adolescent population, which allowed the estimation of water intake from foods and beverages and water elimination from urine, feces and sweat. In particular, the variables: drinking water (which included tap water and bottle water, still and sparkle), water from beverages (drinking water and water from juices, sodas, milk and dairy products, coffees, tea and infusions, alcoholic beverages and other beverages), water from food (vegetables, fruits and cooked dishes with high water content such as soups), water intake defined as the sum of water from beverages and water from food, and water balance defined as the net difference between water intake and water elimination, were analyzed. Volunteers also wore an accelerometer during seven consecutive days, which estimated not only the quantity of physical activity performed but also its intensity [42]. This information combined with the HSQ-AY was used to estimate water elimination by sweat. Water balance was calculated as the difference between total water intake and total water elimination.

The anthropometric evaluation comprised the measurement of weight by a digital scale with an accuracy of 200 g (SECA™ 877), height, measured to the nearest 0.1 cm using a wall-mounted stadiometer (SECA™), and waist circumference, which was measured with a flexible tape (Cescorf™). Anthropometric measurements were performed according to the recommendations of the International Standards for Anthropometric Assessment (ISAK) [43] by level I and II accredited anthropometrists. Weight and height data were used to calculate the body mass index (BMI), or Quetelet index, according to the following formula [44]:

$$\text{BMI} = \text{weight (Kg)} / \text{height}^2 \text{ (m)}$$

Subjects were classified as underweight, normal weight, overweight and obese according to the percentiles established by the Faustino Orbegozo Foundation (Spanish BMI cut-offs) [45] for sex and age. Finally, body composition (total body water, fat body mass, lean body mass, and dry lean body mass) was estimated by bioelectrical impedance (BIA) with a Bioscan Spectrum Multifrequency™. Multi-frequency bioelectrical impedance analysis is described as a tool able to assess total, extracellular and intracellular fluid in humans and seems to be a more accurate method for estimating the TBW compartment for healthy and obese adults [46–49]. Specifically, Bioscan Spectrum Multifrequency™ works by measuring the impedance at two frequencies of 5 and 50 kHz with an accuracy of impedance of 2–3 Ω , a reactance (50 kHz) of $\pm 1 \Omega$ and a phase angle (50 kHz) of ± 0.2 . This test was performed under controlled conditions [50]: with participants in fasting conditions (liquid and solid), without practicing intense physical activity in the previous 24 h, with the recommended body posture (lying down) and correct electrode positioning, and in the same time-slot (from 09:00 to 10:00).

2.2. Statistical Analysis

Results are presented as median and interquartile range. Variables were tested for normality using the Shapiro–Wilk test. Differences between variables were assessed with the Mann–Whitney U test and considered significant at $p \leq 0.05$. The population study was classified by gender and the statistical analysis was performed in each group independently given their physiological differences with respect to their anthropometric characteristics.

The relation between hydration status, water intake (drinking water, water from beverages, water from food, and total water intake) and anthropometric characteristics (weight, BMI, waist circumference, fat body mass, lean body mass, dry lean body mass, and total body water) was evaluated using Spearman (Rho) correlation coefficient. Differences in water consumption and hydration status in relation to BMI were analyzed by the Kruskal–Wallis test followed by the Dunn test to adjust for multiple comparison and adjust p values with Bonferroni correction were applied. Finally, differences in anthropometric and body composition variables according to water balance percentiles ($< p_{25} = -1545.9$ mL, $p_{25}–p_{50} = -1545.9$ to -835.7 mL, $p_{50}–p_{75} = -835.6$ to -145.4 mL, $> p_{75} = -145.4$ mL) and according to water intake normalized by body weight percentiles ($< p_{25} = 40.7$ mL/Kg, $p_{25}–p_{50} = 40.7–53.0$ mL/Kg, $p_{50}–p_{75} = 53.1–69.5$ mL/Kg, $> p_{75} = 69.5$ mL/Kg) were also analyzed by the Kruskal–Wallis test followed by the Dunn test to adjust for multiple comparison and adjust p values with Bonferroni correction. A linear regression model was constructed to explore the associations between water intake adjusted by body weight as a dependent variable and body composition variables as independent predictors. All statistical analyses were performed using SPSS 24.0 Software (IBM Corp., Armonk, NY, USA).

3. Results

3.1. Sample Characteristics

A total of 434 volunteers (222 boys and 212 girls) were recruited for the study. In total, 62 of them were excluded after meeting some of the exclusion criteria or not adequately accomplishing a part of the study. Therefore, 372 healthy volunteers—192 boys (51.6%) and 180 girls (48.4%)—were included in the data processing (Figure 2).

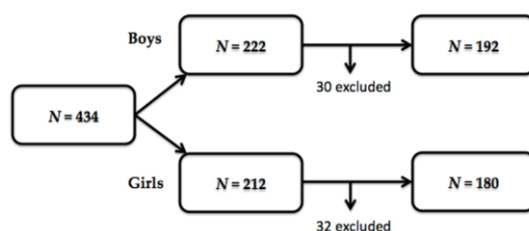


Figure 2. Effective sample size.

Their anthropometric characteristics are presented in Table 1, where it can be observed that there were significant differences between genders in most of the collected variables although no significant differences were found for weight, height and BMI.

Table 1. Anthropometric characteristics of participants from the study.

Anthropometric Variables	Boys (n = 192)	Girls (n = 180)	p Values
Age	13.0 (12.0–14.0)	13.0 (12.0–14.0)	0.427
Weight (Kg)	49.0 (43.4–59.0)	51.0 (45.4–54.8)	0.507
Height (cm)	160.2 (154.2–166.3)	160.1 (155.1–164.5)	0.536
BMI (Kg/m ²)	18.8 (17.5–21.3)	19.4 (17.8–21.2)	0.201
WC (cm)	66.0 (63.0–70.9)	63.5 (60.1–66.6)	0.000
TBW (%)	56.2 (52.8–60.0)	53.2 (50.2–56.2)	0.000
TBW (L)	28.1 (24.5–32.3)	27.1 (24.7–29.2)	0.005
FBM (%)	24.6 (20.0–29.4)	29.6 (26.2–33.9)	0.000
FBM (Kg)	12.0 (9.3–16.1)	15.3 (12.0–18.6)	0.000
LBM (Kg)	37.5 (32.5–42.9)	35.5 (32.7–38.6)	0.001
DLBM (Kg)	9.5 (8.1–10.9)	8.6 (7.8–9.4)	0.000

Results are presented as the median and interquartile range; p values derived through the Mann–Whitney U test. (BMI: Body Mass Index, WC: waist circumference, TBW: total body water, FBM: fat body mass, LBM: lean body mass, and DLBM: dry lean body mass).

In the studied population, and according to the BMI percentile, overweight and obesity prevalence was 13.7% and data analyzed by gender showed that prevalence was higher in boys when compared to girls (17.2% and 10.0%, respectively). Nevertheless, the prevalence of underweight for the total sample was 5.6%—higher in girls (6.1%) than in boys (5.2%). Finally, 80.6% of the sample presented normal weight (boys: 77.6%; girls: 83.9%).

Results of the HSQ-AY sorted by gender are presented in Table 2. We found no differences in water intake variables between genders. Nevertheless, water balance was significantly higher in girls and conversely, total water elimination was significantly higher in boys. In particular, water elimination from feces and sweat was higher in boys (water elimination from feces: Boys (B): 150.0 (131.3–150.0) mL; girls (G): 131.2 (112.5–150.0) mL $p = 0.002$, water elimination from sweat: B: 2268.3 (1790.3–2869.8) mL, G: 1634.9 (1299.3–2049.4); $p = 0.000$). Water elimination from urine was higher in girls than in boys (G: 1222.2 (1187.5–1625.0) mL; B: 1187.5 (1187.5–1635.0) mL $p = 0.000$).

Table 2. Water intake from all sources, water elimination and water balance of participants from the study, sorted by gender.

	Boys (n = 192)	Girls (n = 180)	p Values
Drinking water (mL/day)	1650.0 (1000.0–2000.0)	1400.0 (1000.0–2000.0)	0.089
Water from beverages (mL/day)	2339.1 (1779.0–2890.2)	2086.6 (1575.7–2769.7)	0.067
Water from food (mL/day)	383.5 (257.8–544.4)	413.5 (265.7–596.4)	0.227
Water intake (mL/day)	2648.8 (2217.4–3352.7)	2509.5 (1923.9–3315.9)	0.153
Total water loss (mL/day)	3734.7 (3183.6–4327.4)	3172.7 (2746.1–3785.3)	0.000
Water balance (mL/day)	−979.3 (−1748.8 to −308.1)	−661.0 (−1329.2 to 160.1)	0.002
Drinking water /weight (mL/Kg)	32.2 (21.7–42.6)	28.4 (19.1–41.2)	0.122
Water from beverages/weight (mL/ Kg)	46.3 (35.1–61.1)	41.8 (30.9–56.0)	0.051
Water from food/weight (mL/Kg)	7.6 (4.7–11.4)	8.1 (5.4–12.6)	0.369
Water intake/weight (mL/Kg)	53.9 (42.6–70.4)	50.7 (38.6–66.1)	0.135

Results are presented as median and interquartile range; p values derived through Mann–Whitney U test.

3.2. Hydration Status and Body Composition

Associations between water intake from all the analyzed sources and water balance in boys and girls are presented in Table 3; Table 4, respectively.

Table 3. Correlation between water intake and balance with anthropometric and body composition variables in boys.

	Drinking Water (mL/day)		Water from Beverages (mL/day)		Water from Food (mL/day)		Water Intake (mL/day)		Water Balance (mL/day)	
	r	p Values	r	p Values	r	p Values	r	p Values	r	p Values
Weight (Kg)	0.051	0.485	0.026	0.718	−0.141	0.050	0.021	0.777	−0.060	0.406
BMI (Kg/m ²)	−0.048	0.512	−0.093	0.197	−0.187	0.009	−0.099	0.171	−0.206	0.004
BMI p (Kg/m ²)	−0.085	0.242	−0.091	0.209	−0.120	0.098	−0.076	0.294	−0.225	0.002
WC (cm)	−0.088	0.225	−0.085	0.241	−0.091	0.211	−0.073	0.317	−0.183	0.011
TBW (%)	0.115	0.113	0.187	0.009	0.118	0.104	0.174	0.016	0.158	0.029
TBW (L)	0.131	0.070	0.139	0.055	−0.117	0.107	0.119	0.099	0.035	0.632
FBM (%)	−0.124	0.088	−0.195	0.007	−0.116	0.109	−0.182	0.011	−0.167	0.021
FBM (Kg)	−0.043	0.555	−0.100	0.167	−0.147	0.042	−0.094	0.195	−0.104	0.152
LBM (Kg)	0.111	0.125	0.120	0.098	−0.122	0.092	0.101	0.162	0.038	0.601
DLBM (Kg)	0.129	0.075	0.136	0.060	−0.110	0.127	0.118	0.104	0.037	0.607

Results are presented as Spearman's (Rho) correlation coefficient. (BMI: body mass index, BMI p: body mass index percentiles, WC: waist circumference, TBW: total body water, FBM: fat body mass, LBM: lean body mass, and DLBM: dry lean body mass).

Table 4. Correlation between water intake and balance with anthropometric and body composition variables in girls.

	Drinking Water (mL/day)		Water from Beverages (mL/day)		Water from Food (mL/day)		Water Intake (mL/day)		Water Balance (mL/day)	
	r	p Values	r	p Values	r	p Values	r	p Values	r	p Values
Weight (Kg)	0.039	0.606	0.013	0.868	0.094	0.212	0.025	0.741	0.023	0.762
BMI (Kg/m ²)	0.020	0.792	-0.045	0.553	-0.041	0.584	-0.059	0.431	-0.025	0.737
BMI p (Kg/m ²)	-0.081	0.282	-0.173	0.020	-0.094	0.211	-0.180	0.015	-0.180	0.016
WC (cm)	0.034	0.653	0.006	0.934	0.009	0.904	-0.003	0.968	-0.119	0.112
TBW (%)	-0.061	0.413	-0.023	0.762	0.051	0.498	0.013	0.860	-0.049	0.517
TBW (L)	0.007	0.927	-0.003	0.973	0.139	0.062	0.029	0.702	-0.016	0.836
FBM (%)	0.077	0.304	0.020	0.786	-0.032	0.672	-0.007	0.925	0.045	0.546
FBM (Kg)	0.079	0.292	0.028	0.707	0.012	0.877	0.010	0.890	0.047	0.533
LBM (Kg)	-0.013	0.862	-0.020	0.792	0.127	0.088	0.010	0.898	-0.018	0.809
DLBM (Kg)	-0.034	0.648	-0.038	0.611	0.110	0.140	-0.012	0.875	0.010	0.893

Results are presented as Spearman's (Rho) correlation coefficient. (BMI: body mass index, BMI p: body mass index percentiles, WC: waist circumference, TBW: total body water, FBM: fat body mass, LBM: lean body mass, and DLBM: dry lean body mass).

It can be observed that water balance was inversely correlated with BMI percentile in both boys and girls, confirming the relation between hydration status and body weight. In addition, in boys, it was also inversely correlated with waist circumference, fat body mass and positively with total body water. Although these associations were weak, they confirm the relation between hydration status and body composition.

Regarding body composition variables, in boys, total body water was positively correlated with water from beverages, total water intake and water balance and in contrast, fat body mass was inversely correlated with the same variables. No correlations were found between water intake and body composition variables in girls. It is important to take into account that the effect size of the mentioned associations was weak.

Nevertheless, after data normalization by body weight (Tables 5 and 6), associations between water intake variables from all sources with the majority of anthropometric parameters were found in both genders. In addition, when water intake variables were normalized by body weight, the effect size of the associations found was stronger than when absolute values of water intake were studied.

Table 5. Correlation between water intakes normalized by body weight with anthropometric and body composition variables in boys.

	Drinking Water/Weight (mL/day/Kg)		Water from Beverages/Weight (mL/day/Kg)		Water from Food/Weight (mL/day/Kg)		Water Intake/Weight (mL/day/Kg)	
	r	p Values	r	p Values	r	p Values	r	p Values
BMI (Kg/m ²)	-0.388	0.000	-0.497	0.000	-0.440	0.000	-0.548	0.000
BMI p (Kg/m ²)	-0.320	0.000	-0.368	0.000	-0.299	0.000	-0.395	0.000
WC (cm)	-0.390	0.000	-0.447	0.000	-0.328	0.000	-0.476	0.000
TBW (%)	0.250	0.000	0.332	0.000	0.213	0.003	0.342	0.000
TBW (L)	-0.239	0.001	-0.319	0.000	-0.395	0.000	-0.379	0.000
FBM (%)	-0.243	0.001	-0.321	0.000	-0.200	0.006	-0.329	0.000
FBM (Kg)	-0.340	0.000	-0.454	0.000	-0.367	0.000	-0.488	0.000
LBM (Kg)	-0.255	0.000	-0.332	0.000	-0.394	0.000	-0.389	0.000
DLBM (Kg)	-0.235	0.001	-0.314	0.000	-0.386	0.000	-0.372	0.000

Results are presented as Spearman's (Rho) correlation coefficient. (BMI: body mass index, BMI p: body mass index percentiles, WC: waist circumference, TBW: total body water, FBM: fat body mass, LBM: lean body mass, and DLBM: dry lean body mass).

Table 6. Correlation between water intakes normalized by body weight with anthropometric and body composition variables in girls.

	Drinking Water/Weight (mL/day/Kg)		Water from Beverages/Weight (mL/day/Kg)		Water from Food/Weight (mL/day/Kg)		Water Intake/Weight (mL/day/Kg)	
	<i>r</i>	<i>p</i> Values	<i>r</i>	<i>p</i> Values	<i>r</i>	<i>p</i> Values	<i>r</i>	<i>p</i> Values
BMI (Kg/m ²)	−0.254	0.000	−0.348	0.000	−0.273	0.000	−0.376	0.000
BMI p (Kg/m ²)	−0.281	0.000	−0.386	0.000	−0.271	0.000	−0.400	0.000
WC (cm)	−0.178	0.017	−0.233	0.002	−0.181	0.015	−0.253	0.001
TBW (%)	0.125	0.096	0.197	0.008	0.214	0.004	0.237	0.001
TBW (L)	−0.247	0.001	−0.294	0.000	−0.099	0.184	−0.274	0.000
FBM (%)	−0.117	0.116	−0.207	0.005	−0.198	0.008	−0.242	0.001
FBM (Kg)	−0.181	0.015	−0.270	0.000	−0.216	0.004	−0.300	0.000
LBM (Kg)	−0.275	0.000	−0.318	0.000	−0.118	0.116	−0.299	0.000
DLBM (Kg)	−0.296	0.000	−0.336	0.000	−0.135	0.071	−0.319	0.000

Results are presented as Spearman's (Rho) correlation coefficient. (BMI: body mass index, BMI p: body mass index percentiles, WC: waist circumference, TBW: total body water, FBM: fat body mass, LBM: lean body mass, and DLBM: dry lean body mass).

In boys, a stronger inverse association was found between total water intake, weight and BMI. In addition, inverse moderate associations between this variable and waist circumference, fat body mass, dry lean body mass and liters of total body water were determined, whereas positive associations of the same variables with total body water percentage were found. As can be observed, drinking water, water from beverages and water from food normalized by body weight were associated in the same direction with anthropometric variables, but the effect size of the association was less strong. Regarding girls, inverse moderate associations were found between total water intake and weight, BMI, dry lean body mass and fat body mass (Kg) Inverse weak associations were found between this variable and waist circumference, fat body mass (%), lean body mass and total body water (L), and positive weak association with total body water (%). Similar associations were found between drinking water, water from beverages and water from food, with the anthropometric variables although the size of these associations was slighter.

Differences in water intake variables and water balance related to BMI in boys and girls are presented in Tables 7 and 8, respectively. In boys, significant differences were found in water balance of normal weight participants when compared to overweight/obese ones, who presented lower water balance. Significant differences were also found in drinking water, water from beverages, water from food and total water intake normalized by body weight in both boys and girls, showing a decline in water consumption as subjects' BMI increases.

Table 7. Differences in water intake variables and water balance according to body mass index among boys.

	Underweight (N = 10)	Normal Weight (N = 149)	Overweight/Obesity (N = 33)
Drinking water (mL/day)	1575.0 (1187.5–2392.5)	1650.0 (1000.0–2050.0)	1600.0 (1000.0–1890.0)
Water from beverages (mL/day)	2390.7 (1717.3–2892.8)	2063.1 (1869.8–2924.7)	(1455.7–2566.5)
Water from food (mL/day)	531.0 (399.2–707.2)	382.7 (253.2–525.2)	321.0 (230.6–518.6)
Water intake (mL/day)	2315.5 (2103.6–3473.9)	2690.6 (2273.8–3455.9)	2584.8 (2040.0–3112.5)
Water balance (mL/day)	−931.1 ^{ab} (−1219.7 to −308.1)	−946.5 ^a (−1584.9 to −274.4)	−1522.1 ^b (−2085.1 to −734.2)
Drinking water/body weight (mL/Kg)	39.3 ^c (30.5–70.1)	35.4 ^c (22.8–44.2)	23.2 ^d (15.8–28.4)
Water from beverages/body weight (mL/Kg)	50.6 ^e (39.4–84.4)	48.6 ^e (38.2–62.2)	31.1 ^f (23.1–40.8)
Water from food/body weight (mL/Kg)	14.1 ^g (9.8–19.7)	8.1 ^h (5.1–11.4)	5.0 ⁱ (3.5–9.2)
Water intake/body weight (mL/Kg)	64.7 ^j (52.1–101.3)	55.7 ^j (45.9–75.5)	40.2 ^k (30.0–50.7)

Data reported as median and interquartile range per group. Different superscript lowercase letters indicate statistical significance in each row ($p \leq 0.05$) assessed using the Kruskal–Wallis test followed by the Dunn test to adjust for multiple comparisons and adjust the p value with Bonferroni correction. Body mass index percentile according to Orbeogo criteria.

Table 8. Differences in water intake variables and water balance according to body mass index among girls.

	Underweight (N = 11)	Normal Weight (N = 151)	Overweight/Obesity (N = 18)
Drinking water (mL/day)	1800.0 (1320.0–2000.0)	1400.0 (1000.0–2000.0)	1550.0 (950.0–1985.0)
Water from beverages (mL/day)	2651.0 (1979.5–3373.0)	2065.6 (1571.0–2771.3)	1898.6 (1265.9–2531.8)
Water from food (mL/day)	488.5 (387.1–729.1)	400.8 (262.4–601.0)	400.4 (203.5–494.1)
Water intake (mL/day)	3219.7 (2498.7–3913.1)	2490.8 (1912.2–3393.4)	2551.4 (1807.0–2921.8)
Water balance (mL/day)	−540.3 (−578.8 to −984.5)	−664.1 (−1350.6–196.7)	−933.3 (−1583.8 to −457.8)
Drinking water/body weight (mL/Kg)	46.5 ^a (37.9–58.6)	28.1 ^b (19.0–41.1)	23.1 ^b (16.6–29.9)
Water from beverages/body weight (mL/Kg)	67.4 ^c (53.9–86.5)	42.1 ^d (31.8–55.4)	29.7 ^e (19.5–39.2)
Water from food/body weight (mL/Kg)	14.8 ^f (10.6–15.9)	8.1 ^g (5.4–11.7)	5.8 ^g (3.1–8.1)
Water intake/body weight (mL/Kg)	82.4 ^h (67.5–104.4)	52.1 ⁱ (39.4–65.7)	38.6 ^j (26.5–46.5)

Data reported as median and interquartile range per group. Different superscript lowercase letters indicate statistical significance in each row ($p \leq 0.05$) assessed using the Kruskal–Wallis test followed by the Dunn test to adjust for multiple comparisons and adjust the p value with Bonferroni correction. Body mass index percentile according to Orbeogo criteria.

Differences in anthropometric and body composition variables related to water balance percentiles were analyzed and significant differences in BMI, fat body mass and waist circumference were found in boys (Table 9). Noteworthy, BMI as well as fat body mass and waist circumference were significantly higher in the lowest percentile of water balance. No differences, however, were found in girls.

Table 9. Differences in anthropometric and body composition variables according to water balance percentiles among boys.

Percentiles	Distribution of Water Balance (mL)			
	< <i>p</i> 25 (<i>N</i> = 58)	<i>p</i> 25– <i>p</i> 50 (<i>N</i> = 50)	<i>p</i> 50– <i>p</i> 75 (<i>N</i> = 47)	> <i>p</i> 75 (<i>N</i> = 37)
Weight (Kg)	50.1 (44.4–61.8)	47.3 (42.4–56.7)	51.0 (45.6–60.1)	46.6 (42.0–55.8)
BMI (Kg/m ²)	19.9 ^a (17.9–22.6)	18.6 ^{ab} (17.6–21.0)	19.2 ^a (18.0–21.4)	18.0 ^b (16.6–19.6)
FBM (%)	27.5 ^c (21.9–32.5)	22.9 ^{cd} (19.3–28.6)	25.0 ^{cd} (21.5–29.4)	21.5 ^d (18.8–26.8)
FBM (Kg)	13.2 (10.0–18.7)	10.6 (8.1–14.5)	12.9 (10.5–16.1)	10.4 (8.7–15.5)
WC (Cm)	68.0 ^e (63.9–74.0)	64.8 ^{ef} (62.4–69.0)	67.4 ^e (63.9–72.2)	63.8 ^f (61.0–67.0)
LBM (Kg)	37.3 (32.3–44.4)	36.1 (32.4–40.9)	39.7 (33.2–42.8)	36.7 (30.8–45.4)
DLBM (kg)	9.3 (7.9–11.2)	9.3 (8.0–10.4)	9.9 (8.4–10.8)	9.3 (7.8–11.6)
TBW (%)	54.2 (50.6–58.7)	58.1 (53.6–60.7)	55.9 (53.1–58.7)	58.2 (54.8–60.9)

Data reported as median and interquartile range per group. Different superscript lowercase letters indicate statistical significance in each row ($p \leq 0.05$) according to the Kruskal–Wallis test followed by the Dunn test to adjust for multiple comparisons and adjust the p value with Bonferroni correction. Percentiles of water balance: < $p25 = -1545.9$ mL; $p25-p50 = -1545.9$ to -835.7 mL; $p50-p75 = -835.7$ to -145.4 mL; $>p75 = -145.3$ mL (p : percentiles, BMI: body mass index, WC: waist circumference, TBW: total body water, FBM: fat body mass, LBM: lean body mass, and DLBM: dry lean body mass).

Finally, differences in body composition and anthropometric variables related to water intake normalized by body weight were also analyzed. Results obtained in boys and girls are presented in Tables 10 and 11. In both genders there were significant differences in body weight, BMI, fat body mass and waist circumference according to water consumption, being higher in the lower percentiles of water intake normalized by body weight. In addition, body water content was significantly higher in the highest percentiles of water intake normalized by body weight.

To evaluate the independent relation between water intake adjusted by body weight and body composition variables (waist circumference, fat body mass and dry lean body mass), a linear regression model was used (Table 12). The water intake adjusted by body weight was related significantly with fat body mass and dry lean body mass (both, $p = 0.000$).

Table 10. Differences in anthropometric and body composition variables according to water intake normalized per body weight percentiles in boys.

Percentiles	Distribution of Water Intake/Body Weight (mL/Kg)			
	< p 25 (N = 42)	p 25–p50 (N = 51)	p 50–p75 (N = 46)	> p 75 (N = 53)
Weight (Kg)	59.8 ^a (49.0–66.8)	52.3 ^a (46.6–60.1)	46.8 ^b (43.0–51.5)	43.8 ^b (37.5–48.4)
BMI (Kg/m ²)	21.4 ^c (19.5–24.3)	20.1 ^{cd} (18.3–21.6)	18.5 ^{de} (17.7–19.9)	17.4 ^e (16.6–18.5)
FBM (%)	28.6 ^f (24.7–32.9)	24.3 ^{fg} (21.4–29.4)	24.4 ^g (19.6–29.0)	21.9 ^g (19.6–27.7)
FBM (Kg)	16.9 ^h (11.5–21.6)	13.3 ^{hi} (10.0–15.8)	11.8 ^{ij} (8.8–14.7)	9.4 ⁱ (8.1–11.1)
WC (Cm)	72.5 ^k (65.0–80.1)	68.0 ^l (64.0–71.8)	64.6 ^{lm} (61.5–68.3)	63.8 ^m (60.8–66.0)
LBM (Kg)	40.9 ⁿ (36.9–46.6)	41.3 ⁿ (34.6–45.1)	35.7 ^o (31.5–39.4)	33.5 ^o (28.1–38.6)
DLBM (kg)	10.3 ^p (9.3–11.8)	10.4 ^p (8.6–11.5)	8.9 ^q (7.9–10.0)	8.4 ^q (6.9–9.8)
TBW (%)	53.2 ^r (50.1–56.4)	56.3 ^{rs} (53.3–58.7)	56.4 ^s (53.6–60.3)	58.9 ^s (54.5–60.6)

Data reported as median and interquartile range per group. Different superscript lowercase letters indicate statistical significance in each row ($p \leq 0.05$) using the Kruskal–Wallis test followed by the Dunn test to adjust for multiple comparisons and adjust the p value with Bonferroni correction. Percentiles of water intake/body weight: < p25 = 40.7 mL/Kg; p25–p50 = 40.8–53.0 mL/Kg; p50–p75 = 53.1–69.5 mL/Kg; > p75 = 69.6 mL/Kg. (p: percentiles, BMI: body mass index, WC: waist circumference, TBW: total body water, FBM: fat body mass, LBM: lean body mass, and DLBM: dry lean body mass).

Table 11. Differences in anthropometric and body composition variables according to water intake normalized per body weight percentiles in girls.

Percentiles	Distribution of Water Intake/Body Weight (mL/Kg)			
	< p 25 (N = 51)	p 25–p50 (N = 43)	p 50–p75 (N = 47)	> p 75 (N = 39)
Weight (Kg)	53.2 ^a (48.1–58.0)	50.9 ^a (45.5–54.1)	52.0 ^a (47.4–54.8)	45.4 ^b (40.2–49.7)
BMI (Kg/m ²)	20.9 ^c (19.2–23.1)	19.6 ^{cd} (17.8–21.4)	19.2 ^{de} (18.0–21.0)	17.7 ^e (16.9–19.9)
FBM (%)	31.4 ^f (28.0–35.5)	31.3 ^f (27.2–35.6)	29.6 ^{fg} (25.0–33.9)	27.5 ^g (24.9–29.6)
FBM (Kg)	16.5 ^h (13.3–21.0)	15.8 ^h (13.6–20.5)	15.1 ^h (12.0–18.6)	12.0 ⁱ (9.9–16.0)
WC (Cm)	65.9 ^j (61.5–68.0)	63.5 ^k (60.8–66.5)	63.2 ^k (62.0–66.6)	60.5 ^k (57.8–64.0)
LBM (Kg)	37.1 ^l (35.1–39.7)	35.1 ^{lm} (32.7–38.4)	36.7 ^l (33.2–38.9)	32.9 ^m (30.0–36.3)
DLBM (kg)	9.0 ⁿ (8.3–9.7)	8.6 ^{no} (7.8–9.4)	8.7 ⁿ (7.9–9.3)	8.0 ^o (7.2–8.5)
TBW (%)	52.4 ^p (49.3–54.5)	52.5 ^p (49.0–55.1)	53.4 ^{pq} (50.2–56.6)	55.5 ^q (53.1–57.5)

Data reported as median and interquartile range per group. Different superscript lowercase letters indicate statistical significance in each row ($p \leq 0.05$) using the Kruskal–Wallis test followed by the Dunn test to adjust for multiple comparisons and adjust the p value with Bonferroni correction. Percentiles of water intake/ body weight: < p25 = 40.7 mL/Kg; p25–p50 = 40.8–53.0 mL/Kg; p50–p75 = 53.1–69.5 mL/Kg; > p75 = 69.6 mL/Kg. (p: percentiles, BMI: body mass index, WC: waist circumference, TBW: total body water, FBM: fat body mass, LBM: lean body mass, and DLBM: dry lean body mass).

Table 12. Water intake adjusted by body weight in a linear regression analysis.

Variable	B	SEM	β	95%CI	p Value
Waist circumference (cm)	−0.244	0.225	−0.070	−0.688 to 0.199	0.279
Fat body mass (%)	−1.042	0.195	−0.284	−1.426 to −0.658	0.000
Dry lean body mass (Kg)	−3.841	0.850	0.274	−5.513 to −2.170	0.000
Constant	136.735	10.946		115.209 to 158.260	

SEM: standard error of the mean, 95%CI: confidence interval, R = 0.429, R² = 0.184 and R adjusted = 0.177.

4. Discussion

The significant increase in overweight and obesity prevalence makes research focused on elucidating the causes of these pathologies especially necessary and challenged. In children and adolescent populations, the management of these diseases is especially crucial in order to prevent associated diseases such as type 2 diabetes mellitus, cardiovascular disease, some cancers, kidney disease, obstructive sleep apnea, gout, osteoarthritis, and hepatobiliary disease, among others [51]. It is well known that both overweight and obesity have a multifactorial etiology including genetic, environmental and behavioral factors [51]. In this context, recently, the important role of hydration in health and wellness [12,52,53] has received great attention in research, and several investigations have demonstrated the beneficial effects of water consumption in weight management [17,19]. Nevertheless, little is known about its potential effect on body composition as well as the effect of hydration status in these same parameters [54–56].

Our present results confirm the relation between water intake from different sources with body weight and with body composition among a sample of healthy Spanish adolescents. From our knowledge, this is the first time that a study confirms the existence of this association in the target population. Interestingly, the fact that higher levels of water balance and water consumption were associated with lower BMI and with a healthier body composition is of great importance, given that it could be useful in the prevention of overweight and obesity and confirm the existence of an important relation between hydration status, body weight and body composition. When specific water sources and water balance were studied against anthropometric and body composition variables, we found that water balance was not only inversely correlated with BMI percentiles in both boys and girls, but also, in boys, it was inversely correlated with relevant variables such as waist circumference and fat body mass, and positively associated with total body water. Furthermore, a positive correlation between water intake and total body water and an inverse association with fat body mass was observed mainly in boys. Regarding girls, we found that water from beverages as well as total water intake were inversely correlated with BMI percentile, but no correlations were obtained for the rest of the parameters. It is important to mention that the effect size of the associations found was weak and future investigations which confirm these results are of interest. These differences between genders could be explained by the anthropometric changes associated with pubertal development, with an earlier start in girls (8–13 years of age) than in boys (9–14 years of age) [57], and which implies great differences in anthropometric characteristics between individuals of the same age, giving rise to a very heterogeneous girls group.

Nowadays, water is considered an essential nutrient [33] and as consequence, it should be regarded as such. Because of that, given the important role of body size in nutrients requirements [58], in the current study, water consumption was normalized by body weight, as an approach to body size. Its relationship with body composition and weight status was also investigated, observing differences relating to the absolute values of water intake. The main differences affect, first of all, the number of associations found. In boys, absolute values of water consumption were positively associated with total body water, and inversely with fat body mass while in girls, an inverse association with BMI percentiles was found. Nevertheless, when body weight was considered, all the anthropometric variables were

associated with water consumption in boys (drinking water, water from beverages, water from food and water intake were positively correlated with total body water percentage and inversely with the rest of the parameters: weight, BMI, waist circumference, fat body mass, lean body mass, dry lean body mass, and liters of total body water). In girls, correlations were found with the majority of them (except for drinking water, which was not correlated with total body water percentage and fat body mass and water from food, which was not associated with liters of total body water, lean body mass and dry lean body mass). Surprisingly, the direction of certain associations also changed. In particular, those variables that depend on body size (lean body mass, dry lean body mass and liters of total body water) were associated inversely with water intake normalized by body weight. These changes in the direction of the associations are due to a higher body size, which necessarily involves a higher amount of these components, but not a higher proportion or relative amount of them. Lastly, when water intake variables were normalized by body weight, the associations found with anthropometric variables were stronger than when absolute values of water intake were studied. These findings are in accordance with the results recently published by our group in healthy adults [21]. Likewise, linear regression analysis showed that BIA measures such as fat body mass and dry lean body mass were independent predictors of water intake normalized by body weight in the study population. These findings suggest that a suitable water intake could improve body composition. Nevertheless, waist circumference was not found to be a significant predictor of water intake normalized by body weight in the linear regression analysis. Thus, in addition, body composition parameters should be taken into account in hydration status monitoring. Therefore, a “tailored water prescription” that considers gender, age and body composition differences is required.

To analyze the obtained results further, the study population was categorized by BMI. Differences found in water balance and water consumption are of interest, because they confirm and strengthen the previous results mentioned: water intake normalized by body weight was higher in normal-weight and underweight individuals when compared to overweight/obese individuals. Furthermore, water balance was higher in normal-weight boys than in those with excess weight. Additionally, individuals were also categorized by percentiles of water intake normalized by body weight, and it has been observed that those individuals who were within the higher percentiles had a better weight status and body composition (lower fat body mass, weigh and waist circumference, and higher total body water) than those who were in the lowest water intake percentiles. Again, we presented similar findings among healthy adult subjects [21].

These facts bring to light the important role of body size in water requirements. Additionally, other intrinsic (gender) and extrinsic (physical activity, drugs consumption, energy intake, environmental temperature and humidity) factors may affect water needs [59–62] and consequently, water intake recommendations should be as personalized as much as possible. In spite of this, to date, there are no water intake recommendations per body weight in children and adolescents, although it has already been established for free-living adults [63,64]. The EFSA [32] recommends a daily water intake for children from 9 to 13 years of 2100 mL in boys and 1900 mL in girls. Adolescents of 14 years and more are considered adults with respect to water intake recommendations (females: 2000 mL and males: 2500 mL). In the current study, both girls (water intake: 2731.9 (2575.5–2888.2) mL/day) and boys (water intake: 2869.1 (2721.7–3016.4) mL/day) fulfilled the EFSA water intake recommendations when all the sources of water intake (drinking water, water from beverages and water from food) were considered. Mean water intake values were similar between genders, which was in agreement with available literature [65]. However, water balance was significantly higher among girls, a fact that can be explained by the higher water elimination values (via feces and sweat) obtained in boys. The higher water losses by sweating were mainly due to the intensity and duration of the physical activity practiced, which was estimated through accelerometers, considered as the most refined method to quantify physical activity [42]. On the other hand, water consumption obtained in the current study was slightly higher when compared to other investigations [65,66]. These differences could be mainly due to the methodology used for data collection since most of these studies used unspecific questionnaires for

water intake estimation, which could lead to underestimation, as they solely record water consumption in the main meals, dismissing the fluid intake that may occur throughout the day [67,68]. In the present study, the recently validated questionnaire “HSQ-AY” [41], which was specifically designed to recall water consumption, elimination and water balance was used. On the other hand, the fact that participation in the study was entirely voluntary and that the anthropometric measurement collection may have constituted a barrier in certain population groups could be influencing the overweight and obesity prevalence of the population analyzed, which was lower than the available data for the general population [3].

The strengths of the present study include the novelty, the important associations found between the hydration status (HS) and body composition, the use of a specific validated hydration questionnaire, the quality of the anthropometric data collected and the sample size. However, the current study is not exempt of limitations. The most important weaknesses refer to the impossibility of directly assessing water consumption as well as body composition, which have been estimated through a validated questionnaire and BIA respectively. Nevertheless, given the ethical and economic implications of direct measurement, it is impossible to apply them to the general population. Another limitation is the impossibility of the designed study to differentiate the effect of each type of beverage on body weight and body composition and the lack of sex hormone level information, which could explain the differences found between genders. In addition, underreporting and misreporting of water and other beverages and food intakes by subjects could have an influence in overall water intake and balance and, according to literature, women are more likely to underreport than men [69]. Nevertheless, in the present study, underreporting and misreporting was not assessed. Lastly, although it is known that most of the participants belong to a private or state school, the socioeconomic status of their families was not assessed.

5. Conclusions

Our results demonstrate that there is a clear association between hydration status and fluid intake with body composition and body weight. Therefore, further research into individualized water intake and water balance strategies could be useful in weight management and overweight and obesity prevention amongst healthy young adolescents.

Author Contributions: Conceptualization, G.V.-M. and T.P.; methodology, G.V.-M.; T.P., A.I.L.G. and C.M.-M. formal analysis, T.P. and A.I.L.G.; investigation, T.P., A.I.L.G., M.d.L.S.-V. and A.M.P.; resources, G.V.-M. and T.P.; data curation, A.I.L.G.; writing—original draft preparation, A.I.L.G.; writing—review and editing, G.V.-M., T.P., M.d.L.S.-V., A.I.L.G. and A.M.P.; visualization, A.I.L.G.; supervision, T.P. and G.V.-M.

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgments: The authors would like to thank Alejandra Carretero Krug for her collaboration in this project.

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

References

1. World Health Organization. *Global Health Risks: Mortality and Burden of Disease Attributable to Selected Major Risks*; World Health Organization: Geneva, Switzerland, 2009.
2. World Health Organization. Obesity and Overweight. 2018. Available online: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight> (accessed on 22 July 2019).
3. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Encuesta Nacional de Salud. España 2017. Available online: <http://www.mscbs.gob.es/estadEstudios/estadisticas/encuestaNacional/encuesta2017.htm> (accessed on 17 June 2019).
4. Barton, M. Childhood obesity: A life-long health risk. *Acta Pharm. Sin.* **2012**, *33*, 189–193. [CrossRef] [PubMed]
5. Bridger, T. Childhood obesity and cardiovascular disease. *Paediatr. Child Heal.* **2009**, *14*, 177–182. [CrossRef]
6. Pulgaron, E.R.; Delamater, A.M. Obesity and type 2 diabetes in children: Epidemiology and treatment. *Curr. Diabetes Rep.* **2014**, *14*, 508. [CrossRef] [PubMed]

7. Buttitta, M.; Iliescu, C.; Rousseau, A.; Guerrien, A. Quality of life in overweight and obese children and adolescents: A literature review. *Qual. Life Res.* **2014**, *23*, 1117–1139. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
8. Lakerveld, J.; Mackenbach, J. The Upstream Determinants of Adult Obesity. *Obes. Facts* **2017**, *10*, 216–222. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
9. Marti, A.; Martínez-González, M.A.; Martínez, J.A. Interaction between genes and lifestyle factors on obesity. *Proc. Nutr. Soc.* **2008**, *67*, 1–8. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
10. Ang, Y.N.; Wee, B.S.; Poh, B.K.; Ismail, M.N. Multifactorial influences of childhood obesity. *Curr. Obes. Rep.* **2013**, *2*, 10–22. [[CrossRef](#)]
11. Hruby, A.; Hu, F.B. The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *Pharm. Econ.* **2015**, *33*, 673–689. [[CrossRef](#)]
12. Riebl, S.K.; Davy, B.M. The Hydration Equation: Update on Water Balance and Cognitive Performance. *ACSM Health Fit. J.* **2013**, *17*, 21–28.
13. Stookey, J.D. Drinking Water and Weight Management. *Nutr. Today* **2010**, *45*, 7–12. [[CrossRef](#)]
14. Muckelbauer, R.; Sarganas, G.; Grüneis, A.; Müller-Nordhorn, J. Association between water consumption and body weight outcomes: A systematic review. *Am. J. Clin. Nutr.* **2013**, *98*, 282–299. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Chang, T.; Ravi, N.; Plegue, M.A.; Sonnevile, K.R.; Davis, M.M. Inadequate Hydration, BMI, and Obesity Among US Adults: NHANES 2009–2012. *Ann. Fam. Med.* **2016**, *14*, 320–324. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Thornton, S.N. Increased Hydration Can Be Associated with Weight Loss. *Front. Nutr.* **2016**, *3*, 1678. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Pan, A.; Malik, V.S.; Hao, T.; Willett, W.C.; Mozaffarian, D.; Hu, F.B. Changes in water and beverage intake and long-term weight changes: Results from three prospective cohort studies. *Int. J. Obes.* **2013**, *37*, 1378–1385. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Daniels, M.C.; Popkin, B.M. Impact of water intake on energy intake and weight status: A systematic review. *Nutr. Rev.* **2010**, *68*, 505–521. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
19. Muckelbauer, R.; Barbosa, C.L.; Mittag, T.; Burkhardt, K.; Mikelaishvili, N.; Müller-Nordhorn, J. Association between water consumption and body weight outcomes in children and adolescents: A systematic review. *Obesity* **2014**, *22*, 2462–2475.
20. Milla-Tobarra, M.; García-Hermoso, A.; Lahoz-García, N.; Notario-Pacheco, B.; La Cruz, L.L.-D.; Pozuelo-Carrascosa, D.P.; García-Meseguer, M.J.; Martínez-Vizcaino, V. The association between water intake, body composition and cardiometabolic factors among children—The Cuenca study. *Nutr. Hosp.* **2016**, *33*, 19–26. [[CrossRef](#)]
21. Laja García, A.I.; Moráis-Moreno, C.; Samaniego-Vaesken, M.; Puga, A.M.; Partearroyo, T.; Varela-Moreiras, G. Influence of Water Intake and Balance on Body Composition in Healthy Young Adults from Spain. *Nutrients* **2019**, *11*, 1923. [[CrossRef](#)]
22. Lappalainen, R.; Mennen, L.; Van Weert, L.; Mykkänen, H. Drinking water with a meal: A simple method of coping with feelings of hunger, satiety and desire to eat. *Eur. J. Clin. Nutr.* **1993**, *47*, 815–819.
23. Van Walleghe, E.L.; Orr, J.S.; Gentile, C.L.; Davy, B.M. Pre-meal water consumption reduces meal energy intake in older but not younger subjects. *Obesity* **2007**, *15*, 93–99. [[CrossRef](#)]
24. Dennis, E.A.; Dengo, A.L.; Comber, D.L.; Flack, K.D.; Savla, J.; Davy, K.P.; Davy, B.M. Water consumption increases weight loss during a hypocaloric diet intervention in middle-aged and older adults. *Obesity* **2010**, *18*, 300–307. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Boschmann, M.; Steiniger, J.; Franke, G.; Birkenfeld, A.L.; Luft, F.C.; Jordan, J. Water Drinking Induces Thermogenesis through Osmosensitive Mechanisms. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2007**, *92*, 3334–3337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Dubnov-Raz, G.; Constantini, N.W.; Yariv, H.; Nice, S.; Shapira, N. Influence of water drinking on resting energy expenditure in overweight children. *Int. J. Obes.* **2011**, *35*, 1295–1300. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Wong, J.M.W.; Ebbeling, C.B.; Robinson, L.; Feldman, H.A.; Ludwig, D.S. Effects of Advice to Drink 8 Cups of Water per Day in Adolescents with Overweight or Obesity: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Pediatrics* **2017**, *171*, e170012. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Popkin, B.M.; Barclay, D.V.; Nielsen, S.J. Water and Food Consumption Patterns of U.S. Adults from 1999 to 2001. *Obes. Res.* **2005**, *13*, 2146–2152. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
29. Stookey, J.D.; Constant, F.; Popkin, B.M.; Gardner, C.D. Drinking Water Is Associated with Weight Loss in Overweight Dieting Women Independent of Diet and Activity. *Obesity* **2008**, *16*, 2481–2488. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

30. Kant, A.K.; Graubard, B.I. Contributors of water intake in US children and adolescents: Associations with dietary and meal characteristics—National Health and Nutrition Examination Survey 2005–2006. *Am. J. Clin. Nutr.* **2010**, *92*, 887–896. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
31. Nissensohn, M.; Sánchez-Villegas, A.; Ortega, R.M.; Aranceta-Bartrina, J.; Gil, A.; González-Gross, M.; Varela-Moreiras, G.; Serra-Majem, L. Beverage Consumption Habits and Association with Total Water and Energy Intakes in the Spanish Population: Findings of the ANIBES Study. *Nutrients* **2016**, *8*, 232. [[CrossRef](#)]
32. European Food Safety Agency (EFSA). Scientific Opinion on Dietary Reference Values for water. *EFSA J.* **2010**, *8*, 1459.
33. Jéquier, E.; Constant, F. Water as an Essential Nutrient: The Physiological Basis of Hydration. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2010**, *64*, 115–123. [[CrossRef](#)]
34. Popkin, B.M.; D’Anci, K.E.; Rosenberg, I.H. Water, hydration, and health. *Nutr. Rev.* **2010**, *68*, 439–458. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Shirreffs, S.M. Markers of hydration status. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2003**, *57*, 6–9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Perrier, E.; Rondeau, P.; Poupin, M.; Le Bellego, L.; Armstrong, L.E.; Lang, F.; Stookey, J.; Tack, I.; Vergne, S.; Klein, A. Relation between urinary hydration biomarkers and total fluid intake in healthy adults. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2013**, *67*, 939–943. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Armstrong, L.E. Assessing Hydration Status: The Elusive Gold Standard. *J. Am. Coll. Nutr.* **2007**, *26*, 575–584. [[CrossRef](#)]
38. Armstrong, L.E.; Johnson, E.C.; Muñoz, C.X.; Swokla, B.; Le Bellego, L.; Jimenez, L.; Casa, D.J.; Maresh, C.M. Hydration Biomarkers and Dietary Fluid Consumption of Women. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2012**, *112*, 1056–1061. [[CrossRef](#)]
39. Perrier, E.; Vergne, S.; Klein, A.; Poupin, M.; Rondeau, P.; Le Bellego, L. Hydration biomarkers in free-living adults with different levels of habitual fluid consumption. *Br. J. Nutr.* **2013**, *109*, 1678–1687. [[CrossRef](#)]
40. Laja, G.A.; Samaniego, V.M.; Partearroyo, T.; Varela, M.G. Validated questionnaire to assess the hydration status in a healthy adult Spanish population: A cross sectional study. *Nutr. Hosp.* **2019**, *36*, 875.
41. Laja García, A.I.; Samaniego-Vaesken, M.D.L.; Partearroyo, T.; Varela-Moreiras, G. Adaptation and Validation of the Hydration Status Questionnaire in a Spanish Adolescent-Young Population: A Cross Sectional Study. *Nutrients* **2019**, *11*, 565. [[CrossRef](#)]
42. Plasqui, G.; Bonomi, A.G.; Westerterp, K.R. Daily physical activity assessment with accelerometers: New insights and validation studies. *Obes. Rev.* **2013**, *14*, 451–462. [[CrossRef](#)]
43. Marfell-Jones, M.J.; Stewart, A.D.; De Ridder, J.H. *International Standards for Anthropometric Assessment*; International Standards for Anthropometric Assessment (ISAK): Wellington, New Zealand, 2011.
44. Khosla, T.; Lowe, C.R. Indices of obesity derived from body weight and height. *J. Epidemiol. Community Heal.* **1967**, *21*, 122–128. [[CrossRef](#)]
45. Fernández, C.; Lorenzo, H.; Vrotsou, K.; Aresti, U.; Rica, I.; Sánchez, E. Estudio de crecimiento de Bilbao. Curvas y tablas de crecimiento (Estudio transversal). Instituto de Investigación Sobre Crecimiento y Desarrollo. Fundación Faustino Orbeagoiz Eizaguirre. 2011 Edition. Available online: <https://www.fundacionorbeagoiz.com/wp-content/uploads/pdf/tPC.pdf> (accessed on 5 July 2019).
46. Kushner, R.F.; Schoeller, D.A. Estimation of total body water by bioelectrical impedance analysis. *Am. J. Clin. Nutr.* **1986**, *44*, 417–424. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Matias, C.N.; Júdece, P.B.; Santos, D.A.; Magalhães, J.P.; Minderico, C.S.; Fields, D.A.; Sardinha, L.B.; Silva, A.M. Suitability of Bioelectrical Based Methods to Assess Water Compartments in Recreational and Elite Athletes. *J. Am. Coll. Nutr.* **2016**, *35*, 413–421. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
48. Segal, K.R.; Burastero, S.; Chun, A.; Coronel, P.; Pierson, R.N.; Wang, J. Estimation of extracellular and total body water by multiple-frequency bioelectrical-impedance measurement. *Am. J. Clin. Nutr.* **1991**, *54*, 26–29. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
49. Matias, C.N.; Santos, D.A.; Júdece, P.B.; Magalhães, J.P.; Minderico, C.S.; Fields, D.A.; Lukaski, H.C.; Sardinha, L.B.; Silva, A.M. Estimation of total body water and extracellular water with bioimpedance in athletes: A need for athlete-specific prediction models. *Clin. Nutr.* **2016**, *35*, 468–474. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
50. Yanovski, S.Z.; Hubbard, V.S.; Heymsfield, S.B.; Lukaski, H.C. Bioelectrical impedance analysis in body composition measurement: National institutes of health technology assessment conference statement. *Am. J. Clin. Nutr.* **1996**, *64*, 524–532.

51. Bray, G.A.; Heisel, W.E.; Afshin, A.; Jensen, M.D.; Dietz, W.H.; Long, M.; Kushner, R.F.; Daniels, S.R.; Wadden, T.A.; Tsai, A.G.; et al. The Science of Obesity Management: An Endocrine Society Scientific Statement. *Endocr. Rev.* **2018**, *39*, 79–132. [[CrossRef](#)]
52. Maughan, R.J. Impact of mild dehydration on wellness and on exercise performance. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2003**, *57*, 19–23. [[CrossRef](#)]
53. Zhang, J.; Zhang, N.; Du, S.; He, H.; Xu, Y.; Cai, H.; Guo, X.; Ma, G. The Effects of Hydration Status on Cognitive Performances among Young Adults in Hebei, China: A Randomized Controlled Trial (RCT). *Int. J. Environ. Res. Public Heal.* **2018**, *15*, 1477. [[CrossRef](#)]
54. Stookey, J. Another look at: Fuel⁺ O₂→CO₂+ H₂O. Developing a water-oriented perspective. *Med. Hypotheses* **1999**, *52*, 285–290.
55. Keller, U.; Szinnai, G.; Bilz, S.; Berneis, K. Effects of changes in hydration on protein, glucose and lipid metabolism in man: Impact on health. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2003**, *57*, 69–74. [[CrossRef](#)]
56. Stahl, A.; Kroke, A.; Bolzenius, K.; Manz, F. Relation between hydration status in children and their dietary profile—Results from the DONALD study. *Eur. J. Clin. Nutr.* **2007**, *61*, 1386–1392. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Molina, T. Desarrollo puberal normal: Pubertad precoz. *Pediatría Atención Primaria* **2009**, *11*, 127–142.
58. Nutrient Requirements in Relation to Body Size and Body Function. *Nutr. Rev.* **1952**, *10*, 42–45. [[CrossRef](#)]
59. Puga, A.; Partearroyo, T.; Varela-Moreiras, G. Hydration status, drug interactions, and determinants in a Spanish elderly population: A pilot study. *J. Physiol. Biochem.* **2018**, *74*, 139–151. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
60. Institute of Medicine of the National Academies. *Water. Dietary Reference Intakes for Water, Sodium, Chloride, Potassium and Sulfate*; National Academy Press: Washington, DC, USA, 2005.
61. Institute of Medicine (US) Committee on Military Nutrition Research. *Fluid Replacement and Heat Stress*; National Academy Press: Washington, DC, USA, 1994.
62. Ritz, P.; Vol, S.; Berrut, G.; Tack, I.; Arnaud, M.; Tichet, J. Influence of gender and body composition on hydration and body water spaces. *Clin. Nutr.* **2008**, *27*, 740–746. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
63. Ferry, M. Strategies for Ensuring Good Hydration in the Elderly. *Nutr. Rev.* **2005**, *63*, 22–29. [[CrossRef](#)]
64. Iglesias, C.R.; Villarino, A.M.; Martínez, J.A.; Cabrerizo, L.; Gargallo, M.; Lorenzo, H. Importance of water in the hydration of the Spanish population: FESNAD 2010 document. *Nutr. Hosp.* **2011**, *26*, 27–36.
65. Iglesia, I.; Guelinckx, I.; De Miguel-Etayo, P.M.; González-Gil, E.M.; Salas-Salvadó, J.; Kavouras, S.A.; Gandy, J.; Martínez, H.; Bardosono, S.; Abdollahi, M.; et al. Total fluid intake of children and adolescents: Cross-sectional surveys in 13 countries worldwide. *Eur. J. Nutr.* **2015**, *54*, 57–67. [[CrossRef](#)]
66. Fernández-Alvira, J.M.; Iglesia, I.; Ferreira-Pêgo, C.; Babio, N.; Salas-Salvadó, J.; Moreno, L.A. Fluid intake in Spanish children and adolescents; a cross-sectional study. *Nutr. Hosp.* **2014**, *29*, 1163–1170.
67. Ferreira-Pêgo, C.; Guelinckx, I.; Moreno, L.A.; Kavouras, S.A.; Gandy, J.; Martínez, H.; Bardosono, S.; Abdollahi, M.; Nasser, E.; Jarosz, A.; et al. Total fluid intake and its determinants: Cross-sectional surveys among adults in 13 countries worldwide. *Eur. J. Nutr.* **2015**, *54*, 35–43. [[CrossRef](#)]
68. Gandy, J.; Martínez, H.; Guelinckx, I.; Aznar, L.A.M.; Bardosono, S.; Salas-Salvadó, J.; Kavouras, S.A. Relevance of Assessment Methods for Fluid Intake. *Ann. Nutr. Metab.* **2016**, *68*, 1–5. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
69. Serra-Majem, L.; García-Closas, R.; Ribas, L.; Pérez-Rodrigo, C.; Aranceta, J. Food patterns of Spanish schoolchildren and adolescents: The enKid Study. *Public Heal. Nutr.* **2001**, *4*, 1433–1438. [[CrossRef](#)]



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

10.2. Documentos

10.2.1. Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación.

FECHA: ____/____/____

1. Datos personales.

Nombre: _____ Apellidos: _____ Sexo: _____
 Fecha de nacimiento: _____ e-mail: _____ Teléfono: _____

Profesión	<input type="checkbox"/> desempleado/a	<input type="checkbox"/> empleado/a	<input type="checkbox"/> autónomo
	<input type="checkbox"/> funcionario/a	<input type="checkbox"/> P.A.S	<input type="checkbox"/> profesor
	<input type="checkbox"/> estudiante universitario	<input type="checkbox"/> otro: _____ (indique cual)	
Nivel de estudios	<input type="checkbox"/> educación primaria	<input type="checkbox"/> educación secundaria	<input type="checkbox"/> estudios superiores
	<input type="checkbox"/> sin estudios	<input type="checkbox"/> otros: _____ (indique cual)	

2. Historia de salud.

¿Consume algún tipo de medicación? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> laxantes <input type="checkbox"/> diuréticos <input type="checkbox"/> antiinflamatorios <input type="checkbox"/> antihipertensivos <input type="checkbox"/> otros: _____ (indique cuales)
¿Consume algún tipo de suplemento alimenticio*? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no Si la respuesta es afirmativa, indique cual/les: _____
¿Padece alguna de estas enfermedades ? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> diabetes <input type="checkbox"/> infección de orina <input type="checkbox"/> enfermedad intestinal <input type="checkbox"/> insuficiencia cardiaca <input type="checkbox"/> enfermedad renal <input type="checkbox"/> otra: _____ (indique cual)
¿Está embarazada? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no Si la respuesta es afirmativa, indique el mes de embarazo: _____
¿Padece alguno de los siguientes síntomas? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> escalofríos <input type="checkbox"/> estreñimiento <input type="checkbox"/> diarrea <input type="checkbox"/> mareos <input type="checkbox"/> calambres <input type="checkbox"/> taquicardia <input type="checkbox"/> falta de concentración <input type="checkbox"/> falta de energía <input type="checkbox"/> sequedad de boca <input type="checkbox"/> cefaleas
¿Tiene dificultad para realizar alguna de las siguientes acciones? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> Agarrar un vaso <input type="checkbox"/> tragar <input type="checkbox"/> abrir un envase

Suplementos alimenticios*: vitaminas, minerales, hierbas, extractos de plantas y/o animales, aminoácidos, y enzimas

3. Hábitos de hidratación.

¿Suele llevar agua cuando sale a la calle?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Suele llevar agua cuando va a trabajar?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Consume agua embotellada cuando está en casa?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Consume agua embotellada frecuentemente?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Consume agua cuando practica ejercicio físico?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
	Si la respuesta es afirmativa indique en qué cantidad: _____	
¿Consume bebidas isotónicas/energéticas cuando practica ejercicio físico?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
	Si la respuesta es afirmativa indique en qué cantidad: _____	
¿Consume líquidos antes de sentir sed?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Consume agua por gusto/placer?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Cuándo tiene sed, prefiere consumir otro tipo de bebida en lugar de agua?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
	Si la respuesta es afirmativa indique cual/les: _____	
¿El consumo de líquidos le hace sentir saciado?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Sabe qué cantidad de agua debe beber de forma aproximada una persona al día?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
	Si la respuesta es afirmativa indique qué cantidad: _____	

4. Cuestionario de frecuencia de consumo de bebidas y alimentos.

Indique con **NÚMEROS** la cantidad que suele ingerir de cada uno de los alimentos y bebidas de este cuestionario y con una **X** la frecuencia y el/los momento/s en que lo hace.
Ejemplo: 6 vasos grandes de agua del grifo al día, con la comida y con la cena.

Agua.

TIPO	CANTIDAD				FRECUENCIA				MOMENTO						
	Vaso 200 ml	Vaso grande	Botella 500cc	Botella 1l	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	Antes del desayuno	Con el desayuno	mañana	con comida	tarde	Con la cena	noche
Agua de grifo															
Agua embotellada sin gas															
Agua embotellada con gas															
Agua de sabores															

Zumos.

TIPO	CANTIDAD				FRECUENCIA				MOMENTO						
	Vaso 200 ml	Vaso grande	Unidad 200ml	Unidad 330ml	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	Antes del desayuno	Con el desayuno	mañana	con comida	tarde	Con la cena	noche
Zumo natural de frutas															
Zumo envasado de frutas															
Zumo vegetal natural															
Zumo vegetal envasado															
Néctar de frutas															
Zumo envasado con leche															

Lácteos.

TIPO	CANTIDAD					FRECUENCIA				MOMENTO						
	Vaso 200 ml	Vaso grande	Unidad 200ml	Unidad 330ml	Envase 125 ml	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	Antes del desayuno	Con el desayuno	mañana	Con comida	tarde	Con la cena	noche
Leche entera																
Leche semidesnatada																
Leche desnatada																
Yogur																
Yogur bebido																
Batido natural																
Batido comercial																

Refrescos

TIPO	CANTIDAD					FRECUENCIA				MOMENTO						
	Vaso 200 ml	Vaso grande	Lata 330ml	Botella 250ml	Botella 500ml	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	Antes del desayuno	Con el desayuno	mañana	Con comida	tarde	Con la cena	noche
Refresco																
Refresco light																
Refresco zero																

Café.

TIPO	CANTIDAD			FRECUENCIA				MOMENTO						
	Taza 250ml	Taza 125 ml	Taza 30-50 ml	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	Antes del desayuno	Con el desayuno	mañana	Con comida	tarde	Con la cena	noche
Café sólo/ cortado con azúcar														
Café solo/cortado sin azúcar o con edulcorante														
Café con leche/americano con azúcar														
Café con leche/americano sin azúcar o con edulcorante artificial														

Infusiones.

TIPO	CANTIDAD		FRECUENCIA				MOMENTO						
	Taza 250ml	Taza 125 ml	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	Antes del desayuno	Con el desayuno	mañana	Con comida	tarde	Con la cena	noche
Té con azúcar													
Té sin azúcar o con edulcorante													
Otras infusiones con azúcar													
Otras infusiones sin azúcar o con edulcorante artificial													

Bebidas alcohólicas.

TIPO	CANTIDAD						FRECUENCIA				MOMENTO							
	Lata/botella 33cl	Botella 25 cl	Lata 50 cl	Copa 125ml	Vaso de tubo	Vaso de sidra 350 ml	Vaso 200 ml	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	Antes del desayuno	Con el desayuno	mañana	comida	tarde	Con la cena	noche
Cerveza con alcohol																		
Sidra																		
Vino blanco, tinto, rosado/cava																		
Sangría/tinto de verano																		
Bebidas alcohólicas de alta graduación*																		
Bebidas alcohólicas combinadas*																		

Otras bebidas.

TIPO	CANTIDAD						FRECUENCIA				MOMENTO							
	Lata/botella 33cl	Botella 25 cl	Lata 50 cl	Copa 125ml	Vaso de tubo	Vaso de sidra 350ml	Vaso 200 ml	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	Antes del desayuno	Con el desayuno	mañana	comida	tarde	Con la cena	noche
Cerveza sin alcohol																		
Bebidas energéticas																		
Sorbetes, granizados, gelatinas <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En verano																		
Bebidas para deportistas (isotónicas)																		

- Bebidas alcohólicas de alta graduación: whisky, ron, ginebra, vodka, orujo, aguardiente, tequila
- Bebidas alcohólicas combinadas: Gin-tonic, cubata, cocktail tipo mojito, daikiri, caipiriña.
- Bebidas energéticas: aquellas que contienen altas cantidades de estimulantes como cafeína y taurina.

Otros.

TIPO	CANTIDAD					FRECUENCIA				MOMENTO						
	Vaso 200 ml	Vaso grande	Botón 700 ml	Cuenco 500ml	Plato 350ml	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	Antes del desayuno	Con el desayuno	mañana	Con comida	Tarde	Con la cena	noche
Bebidas "vegetales" (soja, avena, almendra)																
Horchata <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En verano																
Batidos sustitativos de comidas/híper proteicos																

En caso de consumir batidos sustitativos de comidas y/o hiperproteicos, reconstituye el producto en:

- agua leche otros

Si lo reconstituye en leche, ¿En qué tipo de leche lo hace?

- desnatada semidesnatada entera

Si lo reconstituye en cualquier otro líquido, ¿De cuál se trata?

Otras bebidas consumidas no incluidas en el cuestionario.

TIPO	CANTIDAD	FRECUENCIA	MOMENTO
------	----------	------------	---------

-
-
-
-
-
-
-
-
-
-
-
-
-
-
-

Indique con **NÚMEROS** la cantidad que suele ingerir de cada uno de los alimentos de este cuestionario y con una **X marque** la frecuencia en que lo hace, el tamaño habitual, y si lo consume durante todo el año o tan sólo en temporada.
Ejemplo: 6 rodajas medianas de sandía a la semana, en temporada, 2 raciones medianas de fresas al mes, durante todo el año.

Frutas.

TIPO	CANTIDAD	FRECUENCIA			
		Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Diariamente
Sandía/melón <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Rodaja: <input type="radio"/> grande (345g) <input type="radio"/> mediana (300g) <input type="radio"/> pequeña (255g) N° de rodajas:				
Granada <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Ración: <input type="radio"/> grande (230g) <input type="radio"/> mediana (200g) <input type="radio"/> pequeña (170g) N° de raciones:				
Fresas <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Ración: <input type="radio"/> grande (230g) <input type="radio"/> mediana (200g) <input type="radio"/> pequeña (170g) N° de raciones:				
Melocotón/nectarina <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad: <input type="radio"/> grande (230g) <input type="radio"/> mediana (200g) <input type="radio"/> pequeña (170g) N° de unidades:				
Naranja <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad: <input type="radio"/> grande (260g) <input type="radio"/> mediana (225g) <input type="radio"/> pequeña (190g) N° de unidades:				
Papaya <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Ración: <input type="radio"/> grande (230g) <input type="radio"/> mediana (200g) <input type="radio"/> pequeña (170g) N° de raciones:				
Kiwi/mandarina <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad: <input type="radio"/> grande (110g) <input type="radio"/> mediana (95g) <input type="radio"/> pequeña (80g) N° de unidades:				
Albaricoque/ciruela <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad: <input type="radio"/> grande (60g) <input type="radio"/> mediana (50g) <input type="radio"/> pequeña (40g) N° de unidades:				

TIPO	CANTIDAD	FRECUENCIA				
		Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Al día	
Moras/frambuesas <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Ración : <input type="radio"/> grande (20g) <input type="radio"/> mediana (15g) <input type="radio"/> pequeña (10g) N° de raciones:					
Piña <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Rodaja : <input type="radio"/> grande (185g) <input type="radio"/> mediana (160g) <input type="radio"/> pequeña (135g) N° de rodajas:					
Manzana/pera <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad : <input type="radio"/> grande (230g) <input type="radio"/> mediana (200g) <input type="radio"/> pequeña (170g) N° de unidades:					
Uvas blancas y negras <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Racimo : <input type="radio"/> grande (185g) <input type="radio"/> mediano (160g) <input type="radio"/> pequeña (135g) N° de racimos:					
Cerezas/picotas <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Ración : <input type="radio"/> grande (175g) <input type="radio"/> mediana (150g) <input type="radio"/> pequeña (125g) N° de raciones:					
Mango <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Ración : <input type="radio"/> grande (230g) <input type="radio"/> mediana (200g) <input type="radio"/> pequeña (170g) N° de raciones:					
Higos y brevas <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad : <input type="radio"/> grande (50g) <input type="radio"/> mediana (40g) <input type="radio"/> pequeña (30g) N° de unidades:					
Aguacate <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad : <input type="radio"/> grande (230g) <input type="radio"/> mediano (200g) <input type="radio"/> pequeña (170g) N° de unidades:					
Nísperos <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad : <input type="radio"/> grande (100g) <input type="radio"/> mediano (80g) <input type="radio"/> pequeña (60g) N° de unidades:					
Chirimoya <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad : <input type="radio"/> grande (230g) <input type="radio"/> mediano (200g) <input type="radio"/> pequeña (170g) N° de unidades:					
Plátano/banana <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada	Unidad : <input type="radio"/> grande (185g) <input type="radio"/> mediana (160g) <input type="radio"/> pequeña (145g) N° de unidades:					

¿En qué momento del día suele realizar la ingesta de fruta? (MULTIRESPUESTA)

- En el desayuno
- A media mañana
- En la merienda
- En la comida
- En la cena
- Entre horas

Complete la tabla siguiendo el mismo procedimiento que en el caso anterior y marque con una **X** si lo consume crudo y/o cocinado.
***NO incluya las verduras que consume en forma de crema/puré ya que existe un apartado específico para ello**

TIPO	FORMA DE CONSUMO		CANTIDAD				FRECUENCIA			
	Crudo	Cocinado	Ración estándar (200-250g)	Ración grande (280-300g)	Ración pequeña (170-150g)	Guarnición (50-70g)	Nunca o casi nunca	Al mes	A la semana	Diariamente
Calabacín/calabaza <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Lechuga/canónigos <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Berenjena/berros/cardo/espárragos <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Escarola/endibia <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Grelos/nabizas <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Col/coliflor/brécol/lombarda <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Champiñones/setas <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Acelga/espinaca <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Alcachofa/judía verde <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Remolacha <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Habas <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										
Guisantes <input type="checkbox"/> Siempre <input type="checkbox"/> En temporada										

Verduras.

TIPO	FORMA DE CONSUMO		CANTIDAD	FRECUENCIA			
	Crudo	Cocinado		Nunca o casi nunca	al mes	A la semana	Diariamente
Pepino			Unidad: <input type="radio"/> grande (150g) <input type="radio"/> mediana (125g) <input type="radio"/> pequeña (100g) <input type="radio"/> rodaja (10g) Nº de unidades:				
Rábano			Unidad: <input type="radio"/> grande (45g) <input type="radio"/> mediana (40g) <input type="radio"/> pequeña (35g) <input type="radio"/> rodaja (5g) Nº de unidades:				
Tomate			Unidad: <input type="radio"/> grande (175g) <input type="radio"/> mediana (150g) <input type="radio"/> pequeña (125g) <input type="radio"/> rodaja (20g) Nº de unidades:				
Pimiento			Unidad: <input type="radio"/> grande (210g) <input type="radio"/> mediana (180g) <input type="radio"/> pequeña (155g) <input type="radio"/> rodaja (10g) Nº de unidades:				
Cebolla/cebolleta			Unidad: <input type="radio"/> grande (175g) <input type="radio"/> mediana (150g) <input type="radio"/> pequeña (125g) <input type="radio"/> rodaja (10g) Nº de unidades:				
Zanahoria			Unidad: <input type="radio"/> grande (95g) <input type="radio"/> mediana (80g) <input type="radio"/> pequeña (65g) <input type="radio"/> rodaja (10g) Nº de unidades:				
Puerro			Unidad: <input type="radio"/> grande (85g) <input type="radio"/> mediana (75g) <input type="radio"/> pequeña (65g) Nº de unidades:				

¿En qué momento del día suele realizar la ingesta de verdura? (MULTIRESPUESTA)

- En el desayuno
- A media mañana
- En la merienda
- En la comida
- En la cena
- Entre horas

10.2.2. Cuestionario para la evaluación del estado de hidratación para adolescentes.

1. Datos personales.

Nombre				Apellidos			
Edad :		Curso:		Sexo:		Fecha:	

2. Historia de salud.

¿Tienes alguna enfermedad o problema de salud?	<input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no
¿La enfermedad que padeces, es alguna de las siguientes? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> diabetes <input type="checkbox"/> infección de orina <input type="checkbox"/> enfermedad intestinal <input type="checkbox"/> insuficiencia cardíaca <input type="checkbox"/> enfermedad renal <input type="checkbox"/> otra: _____ (indica cual)
¿Tomas habitualmente alguno de los siguientes medicamentos? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> laxantes → medicamento que acelera el tránsito intestinal. Se usan para corregir el estreñimiento. <input type="checkbox"/> diuréticos → medicamento para eliminar más líquidos. Aumentan la producción de orina. <input type="checkbox"/> antiinflamatorios → medicamento para reducir inflamación y el dolor como por ejemplo el ibuprofeno. <input type="checkbox"/> antihipertensivos → medicamento para controlar la tensión. <input type="checkbox"/> otros: _____ (indica cuales)
¿Tomas habitualmente suplementos alimenticios, como por ejemplo vitaminas o minerales?	<input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no Si la respuesta es afirmativa indica cual:
¿Padeces habitualmente alguno de los siguientes síntomas? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> escalofríos <input type="checkbox"/> estreñimiento <input type="checkbox"/> diarrea <input type="checkbox"/> mareos <input type="checkbox"/> calambres <input type="checkbox"/> taquicardia <input type="checkbox"/> falta de concentración <input type="checkbox"/> falta de energía <input type="checkbox"/> sequedad de boca <input type="checkbox"/> dolor de cabeza
¿Tienes dificultad para realizar alguna de las siguientes acciones? MULTIRESPUESTA	<input type="checkbox"/> Agarrar un vaso <input type="checkbox"/> tragar <input type="checkbox"/> abrir un envase


3. Hábitos y conocimientos de hidratación.

¿Sueles llevar una botella de agua cuando sales a la calle?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Sueles llevar una botella de agua cuando vas al instituto?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Consumes agua fuera de las comidas cuando estás en casa?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Consumes agua cuando haces ejercicio físico?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> n
¿Consumes bebidas isotónicas ó energéticas cuando haces ejercicio físico?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Consumes líquidos antes de sentir sed?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Te gusta beber agua?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Cuándo tienes sed, prefieres consumir otro tipo de bebida en lugar de agua?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
	Si la respuesta es afirmativa indica cual/les: _____	
¿Consumir líquidos te hace sentir lleno?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
¿Sabes qué cantidad de agua debe beber de forma aproximada una persona al día?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
	Si la respuesta es afirmativa indica qué cantidad: _____	

4. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos y bebidas.

Primera columna: señala con una x el tamaño del vaso o envase que sueles consumir
 Segunda columna: escribe con números las veces que consumes al día, a la semana o al mes las bebidas que se preguntan. (si lo consumes menos de una vez al mes, déjalo en blanco)
 Tercera columna. Señala con una X los momentos en los que sueles consumir estas bebidas.


AGUA. (Incluye agua de grifo, embotellada, con gas y de sabores)


Indica el tamaño habitual	Indica el número de vasos o botellas que bebes al día.	Indica los momentos del día en los que sueles beber agua
 200 ml 250 ml 330 ml 500 ml <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10 <input type="checkbox"/> 11 <input type="checkbox"/> 12 <input type="checkbox"/> Si la cantidad es mayor, indícala:	Con el desayuno <input type="checkbox"/> Con la comida <input type="checkbox"/> Con la cena <input type="checkbox"/> Entre horas <input type="checkbox"/>

ZUMOS (Naturales y envasados)

	Indica el tamaño habitual	Indica el número de vasos o envases que bebes al día, a la semana o al mes.			momentos del día en los que bebes	
Tipo 1: de frutas	 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Al día	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con el desayuno <input type="checkbox"/>
Tipo 2: de verduras		A la semana	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la comida <input type="checkbox"/>
Tipo 3: con leche		Al mes	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la cena <input type="checkbox"/> Entre horas <input type="checkbox"/>


REFRESCOS

	Indica el tamaño habitual	Indica el número de vasos, latas o botellas que bebes al día, a la semana o al mes.			momentos del día en los que bebes	
Tipo 1: normal	 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Al día	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con el desayuno <input type="checkbox"/>
Tipo 2: light		A la semana	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la comida <input type="checkbox"/>
Tipo 3: zero		Al mes	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la cena <input type="checkbox"/> Entre horas <input type="checkbox"/>


	Indica el tamaño habitual	Indica el número de vasos, latas o botellas que bebes al día, a la semana o al mes			momentos en los que las bebes
Tipo 1: isotónicas/ para deportistas	 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Al día	Tipo 1	Tipo 2	Con el desayuno <input type="checkbox"/>
Tipo 2: energéticas		A la semana	Tipo 1	Tipo 2	Con la comida <input type="checkbox"/>
		Al mes	Tipo 1	Tipo 2	Con la cena <input type="checkbox"/>
					Entre horas <input type="checkbox"/>

LÁCTEOS.


Leche → Incluye la leche que tomes sola, con cola-cao, con miel y con cereales. No incluye la leche que tomes con café y en batidos.

	Indica el tamaño habitual	Indica el número de vasos que bebes al día, a la semana o al mes.			momentos del día en los que bebes	
Tipo 1: entera	 200 ml 250 ml 350 ml <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Al día	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con el desayuno <input type="checkbox"/>
Tipo 2: semidesnatada		A la semana	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la comida <input type="checkbox"/>
Tipo 3: Desnatada		Al mes	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la cena <input type="checkbox"/>
						Entre horas <input type="checkbox"/>


Batidos y yogures.

	Indica el tamaño habitual	Indica el número de vasos o envases que consumes al día, a la semana o al mes.			momentos del día en los que bebes	
Tipo 1: batidos	 100 ml 125 ml 200 ml 330 ml <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Al día	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con el desayuno <input type="checkbox"/>
Tipo 2: yogur líquido		A la semana	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la comida <input type="checkbox"/>
Tipo 3: yogur normal		Al mes	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la cena <input type="checkbox"/>
						Entre horas <input type="checkbox"/>


CAFÉ


	Indica el tamaño habitual	Indica el número de tazas que bebes al día, a la semana o al mes.			momentos del día en los que bebes	
Tipo 1: café solo o cortado	 40 ml 125 ml 250 ml <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Al día	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con el desayuno <input type="checkbox"/>
Tipo 2: café con leche		A la semana	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la comida <input type="checkbox"/>
Tipo 3: café americano (largo de agua)		Al mes	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la cena <input type="checkbox"/>
						Entre horas <input type="checkbox"/>

INFUSIONES.

Indica el tamaño habitual de vaso	Indica el número de tazas que bebes al día, a la semana o al mes.	Indica los momentos del en los que bebes agua
 125 ml 250 ml <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Al día	Con el desayuno <input type="checkbox"/>
	A la semana	Con la comida <input type="checkbox"/>
	Al mes	Con la cena <input type="checkbox"/>
		Entre horas <input type="checkbox"/>





BEBIDAS ALCOHOLICAS

	Indica el tamaño habitual	Indica el número de vasos que bebes al día, a la semana o al mes.			momentos del día en los que bebes	
Tipo 1: sangría/tinto de verano	 <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Al día	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con el desayuno <input type="checkbox"/>
Tipo 2: sidra		A la semana	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la comida <input type="checkbox"/>
Tipo 3: vino blanco/tinto/rosado		Al mes	Tipo 1	Tipo 2	Tipo 3	Con la cena <input type="checkbox"/>
						Entre horas <input type="checkbox"/>





Indica el tamaño habitual de vaso	Indica el número de veces que bebes al día, a la semana o al mes estas bebidas.	Indica los momentos del en los que sueles consumirlas
 200 ml 250 ml 330 ml 500 ml <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>	Al día	Con el desayuno <input type="checkbox"/>
	A la semana	Con la comida <input type="checkbox"/>
	Al mes	Con la cena <input type="checkbox"/>
		Entre horas <input type="checkbox"/>

FRUTAS. (Incluye las frutas que tomes enteras. No incluye las frutas que tomes en zumo o batidos)





Señala con una **X** las frutas que consumes de cada recuadro.
 En la columna de la derecha, al lado de su letra correspondiente, **escribe con números las veces que las consumes** (al día, a la semana o al mes) y por último **indica el tamaño habitual** de las raciones que consumes.
 Ejemplo: si tomas fresas 1 vez a la semana, naranja 1 vez al mes y el resto de frutas de ese recuadro no las tomas nunca, deberás poner: a la semana (A-1) al mes (C-1)

A  Sandía/melón	B  Granada	C  Pomelo	D  Uvas
--	---	--	--





Frecuencia de consumo	Al día	A la semana	Al mes
	A: B: C: D:	A: B: C: D:	A: B: C: D:
Tamaño de ración	grande	mediana	pequeña

A  melocotón/ nectarina	B  fresas	C  naranja	D  Papaya
---	--	---	--

Frecuencia de consumo	Al día	A la semana	Al mes
	A: B: C: D:	A: B: C: D:	A: B: C: D:
Tamaño de ración	grande	mediana	pequeña

A  Albaricoque/c iruea	B  piña	C  Pera/ manzana	D  Kiwi/ mandarina
--	--	--	--

Frecuencia de consumo	Al día	A la semana	Al mes
	A: B: C: D:	A: B: C: D:	A: B: C: D:
Tamaño de ración	grande	mediana	pequeña

A  Cerezas	B  Mango	C  caqui	D  Higos y brevas
---	---	---	---

Frecuencia de consumo	Al día	A la semana	Al mes
	A: B: C: D:	A: B: C: D:	A: B: C: D:
Tamaño de ración	grande	mediana	pequeña

VERDURAS

Señala con una X las verduras que consumes de cada recuadro.

En la columna de la derecha, al lado de su letra correspondiente, **escribe con números las veces que las consumes** (al día, a la semana o al mes) y por último, en la columna tamaño de ración debes **señalar si la consumes como plato principal, guarnición o como ingrediente de un plato**. **NO INCLUYE LAS VERDURAS QUE TOMES EN CREMA O PURÉ**

Ejemplo de tamaño de ración:







PLATO PRINCIPAL:
Brócoli







GUARNICIÓN:
Brócoli con champiñones







INGREDIENTE DE UN PLATO:
Pasta con queso y brócoli

A	B	C	D
			
Calabacín/ calabaza	lechuga/ canónigos	pepino	tomate

Frecuencia de consumo	Al día	A la semana	Al mes									
	A: B: C: D:	A: B: C: D:	A: B: C: D:									
Tamaño de ración	plato				Guarnición				Ingrediente			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D




A	B	C	D
			
Berenjena/ espárrago	coliflor/ brócoli	champiñón	pimiento

Frecuencia de consumo	Al día	A la semana	Al mes									
	A: B: C: D:	A: B: C: D:	A: B: C: D:									
Tamaño de ración	plato				Guarnición				Ingrediente			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D

A	B	C	D
			
acelga/ espinaca	alcachofa/ judía verde	zanahoria	remolacha

Frecuencia de consumo	Al día	A la semana	Al mes									
	A: B: C: D:	A: B: C: D:	A: B: C: D:									
Tamaño de ración	plato				Guarnición				Ingrediente			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D

PLATOS.

	cantidad	frecuencia			momento	
Gazpacho	 <input type="checkbox"/> 250 ml <input type="checkbox"/> 350 ml <input type="checkbox"/> 450 ml	Al día	A la semana	Al mes	Con el desayuno	<input type="checkbox"/>
					Con la comida	<input type="checkbox"/>
Sopas y caldos	 <input type="checkbox"/> 250 ml <input type="checkbox"/> 350 ml <input type="checkbox"/> 450 ml	Al día	A la semana	Al mes	Con el desayuno	<input type="checkbox"/>
					Con la comida	<input type="checkbox"/>
Crema/puré de verduras	 <input type="checkbox"/> 250 ml <input type="checkbox"/> 350 ml <input type="checkbox"/> 450 ml	Al día	A la semana	Al mes	Con el desayuno	<input type="checkbox"/>
					Con la comida	<input type="checkbox"/>
					Con la cena	<input type="checkbox"/>
					Entre horas	<input type="checkbox"/>

5. Eliminación de fluidos.

¿Cuántas veces orina al día?	<input type="checkbox"/> 1 vez/día <input type="checkbox"/> 8-10 veces/día <input type="checkbox"/> 2-4 veces/día <input type="checkbox"/> > 10 veces/día <input type="checkbox"/> 5-7 veces/día
¿Con qué frecuencia defeca?	<input type="checkbox"/> ≥1 vez/día <input type="checkbox"/> 1-2 veces/semana <input type="checkbox"/> 5-6 veces/semana <input type="checkbox"/> <1 vez/cada 10 días <input type="checkbox"/> 3-4 veces/semana
¿Ha sufrido o sufre procesos diarreicos en el periodo de tiempo en que se está llevando a cabo este estudio?	<input type="checkbox"/> si <input type="checkbox"/> no
¿Qué cantidad de sudor produce en condiciones normales? (Seleccione una opción del 1 al 10, siendo 1 el mínimo y 10 el máximo.)	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10
¿Qué cantidad de sudor produce al realizar una hora de ejercicio físico? (Seleccione una opción del 1 al 10, siendo 1 el mínimo y 10 el máximo.)	<input type="checkbox"/> 1 <input type="checkbox"/> 2 <input type="checkbox"/> 3 <input type="checkbox"/> 4 <input type="checkbox"/> 5 <input type="checkbox"/> 6 <input type="checkbox"/> 7 <input type="checkbox"/> 8 <input type="checkbox"/> 9 <input type="checkbox"/> 10

10.2.3. Modelo de registro dietético empleado en el estudio de población adulta.



Proyecto de investigación:

ESTADO DE HIDRATACIÓN DE LA POBLACIÓN UNIVERSITARIA Y SU RELACIÓN CON LA COMPOSICIÓN CORPORAL

REGISTRO DIETÉTICO.

Nombre	
Apellidos	
Código	

INSTRUCCIONES:

En el presente diario deberá anotar todos los alimentos y bebidas que consuma durante tres días. Es importante que rellene el cuestionario en el momento de consumo, y no lo deje para el final del día.

- Anótelos en el momento del día en que lo ha consumido: Desayuno, media mañana, comida, merienda, cena, o entre horas.
- Exprese las cantidades lo más exactamente posible. Puede indicar los gramos de alimento (p.e 70g de arroz en seco), o puede hacerlo con medidas caseras (p.e. un plato llano grande, una cucharada sopera, 2 rodajas de piña...). Si indica los gramos de alimento, especifique si es en crudo o cocinado.
- Es **MUY** importante que indique el método culinario que ha empleado: fritura, plancha, hervido, rebozado, asado...
- Indique la cantidad de aceite que emplea para cocinar o aliñar las distintas comidas.
- Anote salsas, azúcares añadidos, edulcorantes, y tipo de aceite.
- Haga una descripción lo más detallada posible de cada alimento o bebida que incluya, prestando especial atención a los siguientes casos:
 - Pan, pasta: integral/blanco
 - Cereales, galletas: integrales/azucarados/con chocolate...
 - Leche: desnatada/semidesnatada/entera
 - Yogures: enteros/desnatados/edulcorados/azucarados
 - Bebidas: light/zero/sin azúcares añadidos
- En caso de conocer la marca del alimento, indíquela.
- No olvide anotar todas las bebidas que consume a lo largo del día (agua incluido).
- En caso de consumir algún tipo de medicamento y/o suplemento en este periodo de tiempo, también debe anotarlo, indicando de cual/les se trata, marca, y dosis.

DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO DEBE MANTENER SU ALIMENTACIÓN HABITUAL.

Día 1.

FECHA: ___/___/___

DESAYUNO

HORA:

MEDIA MAÑANA

HORA:

COMIDA

HORA:

MERIENDA

HORA:

CENA

HORA:

ENTRE HORAS

HORA:

Día 2.

FECHA: ___/___/___

DESAYUNO

HORA:

MEDIA MAÑANA

HORA:

COMIDA

HORA:

MERIENDA

HORA:

CENA

HORA:

ENTRE HORAS

HORA:

Día 3.

FECHA: ___/___/___

DESAYUNO

HORA:

MEDIA MAÑANA

HORA:

COMIDA

HORA:

MERIENDA

HORA:

CENA

HORA:

ENTRE HORAS

HORA:

10.2.4 Modelo de registro dietético empleado en el estudio en población adolescente.

DIARIO DIETÉTICO



- NOMBRE
- APELLIDOS
- CURSO

INSTRUCCIONES

En este diarios irás anotando todos los **ALIMENTOS** y **BEBIDAS (incluido el agua)** que consumes durante domingo, lunes y martes.

Para evitar que se te olvide alguno de los alimentos o bebidas, conviene anotarlos inmediatamente después de consumirlos.

Tienes que dar todos los detalles posibles:

- tipo de alimento → Ejemplo: leche: entera, semidesnatada o desnatada; pan: integral, blanco, de semillas; pescado; merluza, salmón, sardinas..
- Marca de alimentos → Si es un alimento envasado y sabes la marca, anótala.
- Tipo de cocinado → crudo, al vapor, frito, a la plancha..
- Comidas realizadas fuera de casa → describe todos los ingredientes que componían el plato.
- Cantidades → Si dispones de una balanza puedes pesar los alimentos. (En este caso, tienes que indicar si el peso del alimento se refiere al alimento crudo o cocinado, con o sin desperdicios). Si no dispones de balanza, indica con medidas caseras el tamaño y la cantidad de los alimentos consumidos. Ejemplo: cucharada sopera, cucharada de postre, plato hondo, plato llano, plato de postre, cuenco, vaso pequeño, lata de refresco, botellín.

Al final del diario, encontrarás un apartado donde tienes que anotar los ingredientes de los platos más laborados.

No olvides anotar: azúcar, pan, aceite, tapas, refrescos, bebidas alcohólicas, dulces, chocolate, frutos secos, patatas fritas,...

A continuación encontrarás un ejemplo de cómo se debe rellenar el diario dietético.

EJEMPLO

HORA	ALIMENTOS	BEBIDAS
Desayuno	1 naranja grande 2 tostadas de pan de molde integral (marca) 3 cucharadas de postre de tomate triturado con 1 cucharada de postre de aceite de oliva virgen	1 taza grande de café con leche desnatada (mitad de café, mitad de leche) 2 vasos de agua grandes.
Media mañana	1 plátano mediano 3 nueces	1 botella de agua de medio litro
Comida	Un plato hondo de puré de calabacín* 2 pechugas de pollo (como la palma de la mano de grande) 1 rebanada de pan blanco 1 manzana pequeña	3 vasos de agua grandes
Merienda	1 yogur (marca)	
Cena	Tortilla francesa de dos huevos medio tomate con 1 cucharada sopera de aceite de oliva y sal 1 rebanada de pan	1 taza grande de infusión de manzanilla 2 vasos de agua
ENTRE HORAS	1 onza de chocolate	1 botella de 500 ml de agua

RECETAS.**RECETA ejemplo: Puré de calabacín**

Ingrediente	Cantidades	Cantidades
1 grande (500g)		Calabacín
1 vaso grande		agua
1 cuarto		cebolla
1 pellizco		sal
1 porción		Quesito (marca)

DOMINGO	Alimentos	Bebidas
Desayuno		
Media mañana		
Comida		
Merienda		
Cena		
Entre horas		

LUNES	Alimentos	Bebidas
Desayuno		
Media mañana		
Comida		
Merienda		
Cena		
Entre horas		

MARTES	Alimentos	Bebidas
Desayuno		
Media mañana		
Comida		
Merienda		
Cena		
Entre horas		

RECETAS

Receta 1:

Cantidad	Ingredientes

Receta 2:

Cantidad	Ingredientes

Receta 3:

Cantidad	Ingredientes



10.2.6. Cuestionario Internacional de actividad física, versión corta (IPAQ-SF).

Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ-corto)

Estamos interesados en conocer el tipo de actividad física que realiza la población en su vida cotidiana. Las preguntas se referirán al tiempo que usted destinó a estar físicamente activo en los **últimos 7 días**. Por favor responda a cada pregunta aunque no se considere una persona activa. Por favor, piense acerca de las actividades que realiza en su trabajo, en las tareas domésticas o en el jardín, en sus desplazamientos, en el tiempo libre, el ejercicio o el deporte.

Piense en todas las actividades **INTENSAS** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Las actividades físicas **intensas** se refieren a aquellas que implican un esfuerzo físico intenso y que le hacen respirar mucho más intensamente que lo normal. Piense **solo** en aquellas actividades físicas que realizó durante al menos **10 minutos** seguidos.

Durante los últimos 7 días, ¿En cuantos realizó actividades físicas intensas tales como levantar cargas pesadas, cavar, hacer ejercicios aeróbicos o pedalear en bicicleta de forma intensa?	___ días/semana
Habitualmente, ¿Cuánto tiempo en total dedicó a una actividad física intensa en uno de esos días?	___ horas/días ___ minutos/día ___ no sabe

Piense en todas las actividades **MODERADAS** que usted realizó en los **últimos 7 días**. Las actividades **moderadas** son aquellas que requieren un esfuerzo físico moderado que le hace respirar algo más intensamente que lo normal. Piense solo en aquellas actividades físicas que realizó durante por lo menos **10 minutos** seguidos

Durante los últimos 7 días, ¿Cuántos días ha realizado una actividad física moderada como por ejemplo; transportar pesos ligeros, jugar un partido de tenis doble, o pedalear en bicicleta a velocidad normal? Por favor, no incluya andar.	___ días/semana
Habitualmente, ¿ Cuánto tiempo en total dedicó a una actividad física moderada en uno de esos días?	___ horas/días ___ minutos/día ___ no sabe

Piense en el tiempo que usted dedicó a **CAMINAR** en los últimos 7 días. Incluye caminar en el trabajo o en casa, para desplazarse de un lugar a otro y cualquier otra actividad recreacional y/o deportiva que lo implique.

Durante los últimos 7 días, ¿Cuántos días caminó durante al menos 10 minutos? Seguidos?	___ días/semana
Habitualmente ¿Cuánto tiempo total dedicó a caminar en uno de esos días?	___ horas/días ___ minutos/día ___ no sabe

Piense en el tiempo que pasó **sentado durante** los últimos 7 días laborables. Incluya; el tiempo dedicado al trabajo, en casa, en una clase y durante el tiempo libre. Por ejemplo, el tiempo sentado en un escritorio, leyendo, comiendo, acostado, o viendo la televisión. **No incluya dormir**

Durante los últimos 7 días, ¿Cuánto tiempo pasó sentado en un día hábil?	___ horas/días
	___ minutos/día
	___ no sabe

¿Son los últimos 7 días representativos de la actividad física que suele realizar?	<input type="checkbox"/> si	<input type="checkbox"/> no
---	-----------------------------	-----------------------------

10.2.7. Modelo de consentimiento informado para la participación en el proceso de validación del cuestionario de adultos.



INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

Validación de un cuestionario para el Proyecto de investigación:

ESTADO DE HIDRATACIÓN DE LA POBLACIÓN UNIVERSITARIA Y SU RELACION
CON LA COMPOSICION CORPORAL.

1) Información al paciente del objeto del estudio:

El grupo de Investigación en Nutrición y Ciencias de la Alimentación de la Universidad San Pablo CEU (Madrid), está llevando a cabo un proyecto para determinar si un correcto estado de hidratación promueve el mantenimiento de un índice de masa corporal (IMC) adecuado, y su asociación con un patrón de dieta saludable y actividad física, a través del diseño y validación de un cuestionario.

PROCEDIMIENTO:

Visita inicial:

- Se le entregará de un acelerómetro para cuantificar la actividad física, un diario dietético, y un recipiente de orina, y se le explicará el procedimiento a seguir durante el estudio.

Día 1 de estudio. Domingo:

- El estudio tendrá inicio un Domingo. Este día deberá comenzar a rellenar el diario dietético, el cual cumplimentará durante 3 días consecutivos (Domingo, Lunes y Martes), y deberá ponerse el acelerómetro que llevará consigo estos mismos días.

Día 4 de estudio. Miércoles:

- Deberá recoger la orina de primera hora de la mañana en el recipiente que se le habrá entregado en la visita inicial y la llevará al laboratorio. También deberá entregar el diario dietético que habrá cumplimentado durante los 3 días previos y el acelerómetro.
- En el laboratorio:
 - Se analizará la orina y se determinará: osmolaridad, densidad, color y pH.
 - Se rellenará el cuestionario WBQ
 - Se procederá a la extracción de sangre capilar a través de un pinchazo en el dedo y se determinará : hematocrito, hemoglobina y eritrocitos.
 - Se tomará el pulso y la tensión.
 - Se realizará el estudio antropométrico el cual incluirá: peso, talla, IMC, % grasa corporal, circunferencia de la cintura, % masa magra, agua corporal total, % agua corporal.

Día 16 de estudio. Lunes:

- Se procederá a la realización del cuestionario WBQ en el laboratorio de nutrición (lab1.20 edificio C, Campus Montepríncipe)

Día 30 de estudio. Lunes:

- Se procederá a la realización del cuestionario WBQ en el laboratorio de nutrición (lab1.20 edificio C, Campus Montepríncipe)

Se trata de un estudio observacional en el que se necesitan 40 voluntarios para la validación del cuestionario. No tiene coste económico alguno para los participantes, y todas las pruebas serán realizadas en el Campus de Montepríncipe de la Universidad CEU San Pablo. (Ctra. Boadilla del Monte km 5,3. Madrid 28668). Puede participar si trabaja o estudia en la Universidad. No podrá participar si padece enfermedades relacionadas con el riñón, el tracto urinario, el balance hídrico, o la menstruación.

Gracias a las herramientas que están previstas utilizarse, podrá no solo participar en un estudio pionero, sino que a través de un informe personalizado podrá conocer con información real y validada su modelo comportamental de estilo de vida, incluida la alimentación, el estado de hidratación, y el grado de actividad física, y así plantearse, en su caso, estrategias de mejora que le permitan beneficios para su salud presente y futura.

Si desea participar, envíe un correo electrónico a a.laja90@gmail.com indicando su nombre y un teléfono de contacto. Si lo prefiere, puede llamar al 667259080 y preguntar por Ana.

Muchas gracias por su colaboración.

2) Consentimiento informado:

1. He leído y comprendido la hoja informativa objeto del estudio.
2. He tenido la oportunidad de hacer preguntas.
3. Mis preguntas han sido respondidas de forma satisfactoria.
4. He recibido información suficiente del estudio y de las pruebas a realizar.
5. Entiendo que la participación es voluntaria y puedo abandonar el estudio cuando lo desee sin que tenga que dar explicaciones y sin que ello afecte a mis cuidados médicos.
6. Estoy de acuerdo en que mi consentimiento por escrito y otros datos estén a disposición de Ana Isabel Laja García y del proyecto de investigación clínico en el que estoy participando, pero siempre respetando la confidencialidad y la garantía de que mis datos no estarán disponibles públicamente de forma que pueda ser identificado.
7. Los datos recogidos para este estudio serán incluidos junto con los de otras personas que participen en este estudio en una base de datos de carácter personal de la Universidad CEU San Pablo, al que sólo los investigadores aprobados para este proyecto tendrán acceso.
8. Comprendo que tengo los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición a mis datos de carácter personal de acuerdo con lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal, que podré ejercitar mediante solicitud ante el investigador responsable en la dirección de contacto que figura en este documento.
9. Estos datos no podrán ser cedidos sin mi consentimiento expreso y no lo otorgo en este acto.

Firmo este consentimiento informado de forma voluntaria para manifestar mi deseo de participar en este estudio de investigación sobre "Evaluación del estado de hidratación y su relación con la composición corporal", hasta que decida lo contrario. Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos. Recibiré una copia de este consentimiento para guardarlo y poder consultarlo en el futuro.

Nombre y apellidos del paciente:

DNI/Pasaporte:

Firma:

Fecha:

Nombre y apellidos del representante legal si fuera el caso:

DNI/Pasaporte:

Firma:

Fecha:

Nombre y apellidos del investigador: Ana Laja García

DNI 80087953K

E-mail: a.laja90@gmail.com

Teléfono: 667259080

Firma:

Fecha:

Vº Bº del Director/ Investigador principal del Proyecto: Gregorio Varela Moreiras

Firma:

A handwritten signature in blue ink, consisting of several fluid, connected strokes. The signature is positioned to the right of the 'Firma:' label.

10.2.8. Modelo de consentimiento informado para la participación en el estudio de la relación entre el estado de hidratación, el peso y la composición corporal en población adulta.



INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO

ESTADO DE HIDRATACIÓN DE LA POBLACIÓN UNIVERSITARIA Y SU RELACIÓN CON LA COMPOSICIÓN CORPORAL.

1) Información al paciente del objeto del estudio:

El grupo de Investigación en Nutrición y Ciencias de la Alimentación de la Universidad San Pablo CEU (Madrid), está llevando a cabo un proyecto para determinar si un correcto estado de hidratación promueve el mantenimiento de un índice de masa corporal (IMC) adecuado, y su asociación con un patrón de dieta saludable y actividad física, a través del diseño y validación de un cuestionario.

PROCEDIMIENTO:

Los voluntarios realizarán una única visita al laboratorio (2.15 del edificio B) en la cual rellenarán el cuestionario WBQ y se les realizará un estudio antropométrico el cual incluirá: peso, talla, IMC, % grasa corporal, circunferencia de la cintura, % masa magra, agua corporal total, % agua corporal. Es imprescindible que las pruebas se realicen en situación de ayuno.

Se trata de un estudio observacional en el que se necesitan 300 voluntarios. No tiene coste económico alguno para los participantes, y todas las pruebas serán realizadas en el Campus de Montepíncipe de la Universidad CEU San Pablo. (Ctra. Boadilla del Monte km 5,3. Madrid 28668). Puede participar si trabaja o estudia en la Universidad y tiene entre 18 y 39 años. No podrá participar si padece enfermedades relacionadas con el riñón, el tracto urinario, el balance hídrico, la menstruación, está embarazada o si su edad no se encuentra en el rango de 18 a 39 años.

Gracias a las herramientas que están previstas utilizarse, podrá no solo participar en un estudio pionero, sino que a través de un informe personalizado podrá conocer con información real y validada de su modelo comportamental de estilo de vida, incluida la alimentación, el estado de hidratación y así plantearse, en su caso, estrategias de mejora que le permitan beneficios para su salud presente y futura.

Si desea participar, envíe un correo electrónico a a.laja90@gmail.com indicando su nombre y un teléfono de contacto. Si lo prefiere, puede llamar al 667259080 y preguntar por Ana Laja.

Muchas gracias por su colaboración.

2) Consentimiento informado:

1. He leído y comprendido la hoja informativa objeto del estudio.
2. He tenido la oportunidad de hacer preguntas.
3. Mis preguntas han sido respondidas de forma satisfactoria.
4. He recibido información suficiente del estudio y de las pruebas a realizar.
5. Entiendo que la participación es voluntaria y puedo abandonar el estudio cuando lo desee sin que tenga que dar explicaciones y sin que ello afecte a mis cuidados médicos.
6. Estoy de acuerdo en que mi consentimiento por escrito y otros datos estén a disposición de Ana Isabel Laja García y del proyecto de investigación clínico en el que estoy participando, pero siempre respetando la confidencialidad y la garantía de que mis datos no estarán disponibles públicamente de forma que pueda ser identificado.
7. Los datos recogidos para este estudio serán incluidos junto con los de otras personas que participen en este estudio en una base de datos de carácter personal de la Universidad CEU San Pablo, al que sólo los investigadores aprobados para este proyecto tendrán acceso.
8. Comprendo que tengo los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición a mis datos de carácter personal de acuerdo con lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal, que podré ejercitar mediante solicitud ante el investigador responsable en la dirección de contacto que figura en este documento.
9. Estos datos no podrán ser cedidos sin mi consentimiento expreso y no lo otorgo en este acto.

Firmo este consentimiento informado de forma voluntaria para manifestar mi deseo de participar en este estudio de investigación sobre "El estado de hidratación como biomarcador de un peso corporal adecuado. Evaluación en una población universitaria española", hasta que decida lo contrario. Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos. Recibiré una copia de este consentimiento para guardarlo y poder consultarlo en el futuro.

Nombre y apellidos del paciente:

DNI/Pasaporte:

Firma:

Fecha:

Nombre y apellidos del representante legal si fuera el caso:

DNI/Pasaporte:

Firma:

Fecha:

10.2.9. Modelo de consentimiento informado para la participación en el proceso de validación del cuestionario de hidratación en población adolescente.



Universidad San Pablo CEU, 11 de mayo de 2018

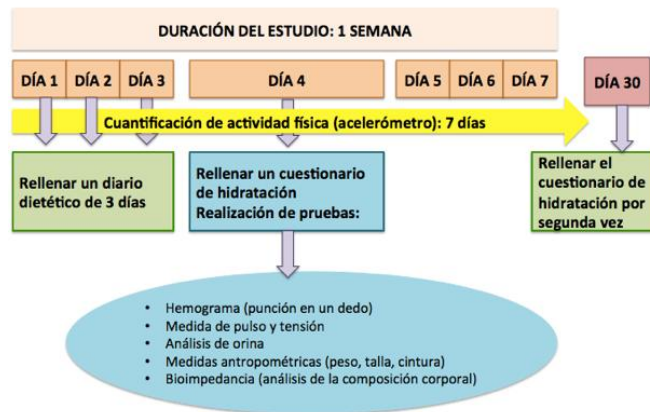
Estimados Padres y Madres:

El progresivo aumento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad a edades más tempranas, y el hecho de que los clásicos condicionantes de la citada enfermedad (dieta y actividad física) no justifiquen en muchas ocasiones dicha situación, hace necesario investigar otras posibles causas y/o desencadenantes, entre los cuales la *hidratación*, podría estar jugando un papel determinante.

Por ello, promovido por el Área de Salud y Área de Responsabilidad Social Corporativa, en dependencia con la Dirección Corporativa de Personas y por la Dirección de Colegios CEU el *Grupo de Investigación en Nutrición y Ciencias de la Alimentación de la Universidad San Pablo CEU (Madrid)* "CEUNUT", va a llevar a cabo un estudio piloto en el colegio CEU Jesús María Alicante, para determinar si un correcto estado de hidratación promueve el mantenimiento de un índice de masa corporal (IMC) adecuado, y su asociación con un patrón de dieta saludable y actividad física, a través del diseño y validación de un cuestionario. A través del cuestionario diseñado, se pretende no solo estudiar dicha relación, sino disponer de una nueva herramienta de cribado, que permita detectar estados de hidratación inadecuados y, de este modo, poder establecer las medidas y recomendaciones oportunas, para mejorar la salud y calidad de vida del alumno. El Grupo CEUNUT cuenta con una muy amplia experiencia en la evaluación de la alimentación y estado nutricional en diferentes grupos de población, incluida la infanto-juvenil.

El colegio, en colaboración con la familia, juega un papel fundamental para conseguir que nuestros jóvenes adquieran hábitos de vida saludable y que se mantengan durante toda la vida; por ello, les proponemos y pedimos participar en este proyecto, el cual no tiene coste económico alguno. Todas las pruebas serán realizadas por un profesional de la salud en el centro escolar y al finalizar el estudio, se entregará a cada participante, un informe personalizado a través del cual podrán conocer con información real y validada su modelo comportamental de estilo de vida, incluida la alimentación, el estado de hidratación y el grado de actividad física. Ante cualquier duda, tienen a su disposición una dirección de correo electrónico, anaisabel.lajagarcia@ceu.es y un número telefónico de contacto, 91 372 47 51, donde podrán realizar cualquier consulta.

PROTOCOLO DEL ESTUDIO.



ACLARACIONES:

Acelerómetro GT3X: Consiste en un dispositivo de última generación que permite cuantificar de forma objetiva la cantidad e intensidad de actividad física, así como una estimación del gasto energético en función del peso del sujeto. La utilización de los acelerómetros es muy sencilla y no tiene ninguna repercusión en el portador, de la misma forma que un reloj o cualquier otro dispositivo electrónico.



Bioimpedancia: Técnica para estimar la composición corporal basada en la respuesta que los tejidos biológicos presentan al paso de una corriente eléctrica alterna de baja intensidad. Es totalmente indolora.



Cuestionario de hidratación: se trata de un cuestionario diseñado por la Universidad CEU San Pablo para evaluar el estado de hidratación de la población. Incluye preguntas referentes a la historia de salud, los hábitos de hidratación, el consumo de ciertas bebidas y alimentos, así como de eliminación hídrica.

Visita inicial:

Se explicará detalladamente el procedimiento a seguir durante el estudio y todas las pruebas implicadas en el mismo. Este mismo día se les entregará un acelerómetro para cuantificar la actividad física y un diario dietético.

Día 1:

- El primer día de estudio los participantes deberán ponerse el acelerómetro que llevarán durante 7 días consecutivos, tan sólo deben quitárselo para la práctica de actividades que impliquen agua (ducha, natación...) y para dormir.
- Este mismo día comenzarán a cumplimentar el diario dietético, que deberán rellenarlo durante 3 días consecutivos y en el que deberán anotar todo lo que coman y beban en este periodo de tiempo.

Día 4:

- Los participantes deberán entregar el diario dietético cumplimentado.
- Este mismo día (en ayunas, a primera hora de la mañana):
 - Se tomará el pulso y la tensión.
 - Se realizará el estudio antropométrico el cual incluirá: peso, talla, circunferencia de la cintura, IMC, % grasa corporal, % masa magra, agua corporal total y % agua corporal.
- Por último, cumplimentarán en el centro escolar el cuestionario de hidratación.

Día 7:

- Procederán a quitarse el acelerómetro y entregarlo al día siguiente en el centro educativo.

Día 30:

- Los voluntarios cumplimentarán el cuestionario una vez más, con un transcurso de 30 días desde el inicio del estudio.

Consentimiento informado:

1. He leído y comprendido la hoja informativa objeto del estudio.
2. He tenido la oportunidad de hacer preguntas.
3. Mis preguntas han sido respondidas de forma satisfactoria.

4. He recibido información suficiente del estudio y de las pruebas a realizar.
5. Entiendo que la participación es voluntaria y puedo abandonar el estudio cuando lo desee sin que tenga que dar explicaciones y sin que ello afecte a mis cuidados médicos.
6. En cumplimiento de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, he sido informado de que mis datos personales, obtenidos mediante la cumplimentación de este formulario así como los resultantes de mi participación en el proyecto van a ser incorporados a un fichero bajo la responsabilidad de FUNDACIÓN UNIVERSITARIA SAN PABLO-CEU (entidad titular de la Universidad CEU San Pablo) con la finalidad de gestionar mi participación en el presente proyecto de investigación.
7. Estoy de acuerdo en que mi consentimiento por escrito y otros datos estén a disposición del proyecto de investigación clínico en el que estoy participando, y del investigador responsable del mismo, Gregorio Varela Moreiras, pero siempre respetando la confidencialidad y la garantía de que mis datos no estarán disponibles públicamente de forma que pueda ser identificado.
8. Los datos recogidos para este estudio serán incluidos, con los de otras personas que participen en este estudio, en una base de datos de carácter personal de la Universidad CEU San Pablo, a la que sólo los investigadores aprobados para este proyecto (Gregorio Varela-Moreiras, Teresa Partearroyo Cediel y Ana Isabel Laja García) tendrán acceso, estando todos ellos sometidos al secreto inherente a su profesión o derivado de un acuerdo de confidencialidad.
9. Comprendo que tengo los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición a mis datos de carácter personal de acuerdo con lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal, que podré ejercitar mediante solicitud al investigador responsable en la dirección de contacto que figura en este documento.
10. Estos datos se conservarán durante el tiempo necesario para el desarrollo de esta investigación, que se estima en 12 meses, siendo posteriormente destruidos, sin que puedan ser conservados sin haber sido previamente anonimizados. En cualquier caso, no podrán ser cedidos sin mi consentimiento expreso y no lo otorgo en este acto.

Firmo este documento de información y consentimiento de forma voluntaria para manifestar mi deseo de participar en este estudio de investigación sobre el estado de hidratación como potencial factor de riesgo de sobrepeso/obesidad en población infante-juvenil, hasta que decida lo contrario. Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos. Recibiré una copia de este documento para guardarlo y poder consultarlo en el futuro.

Nombre y apellidos del participante:

DNI/Pasaporte:

Firma:

Fecha:

Nombre y apellidos del padre/madre o representante legal si fuera el caso:

DNI/Pasaporte:

Firma:

Fecha:

Nombre y apellidos del investigador: Ana Isabel Laja García

DNI: 80087953 K

Dirección postal de contacto del Investigador: Facultad de Farmacia, Universidad CEU San Pablo.
Urbanización Montepríncipe, Ctra. Boadilla del Monte km 5.3 28668 Madrid España

E-mail: anaisabel.lajagarcia@ceu.es Teléfono: 913724751

Firma:



DNI:

Nombre y apellidos del investigador principal: Gregorio Varela Moreiras

50308010h

E-

mail: gvarela@ceu.es

Teléfono: 913724751

Firma:



Gregorio Varela Moreiras
Catedrático de Nutrición y Bromatología
Director del Dpto. CC. Farmacéuticas y de la Salud
Universidad CEU San Pablo
Presidente de la Fundación Española de la Nutrición (FEN)

10.2.10. Modelo de consentimiento informado para la participación en el estudio de la relación entre el estado de hidratación y la composición corporal en población adolescente



Universidad San Pablo CEU, 11 de mayo de 2018

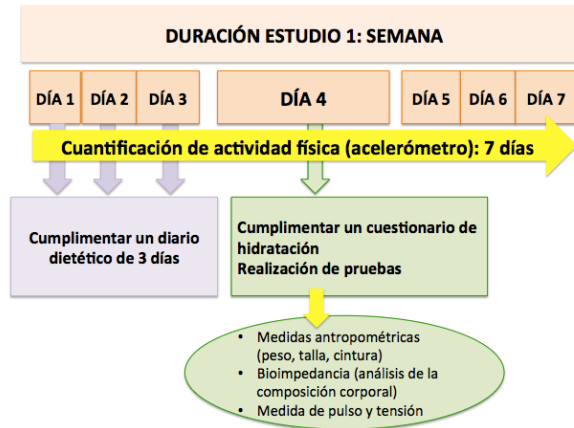
Estimados Padres y Madres:

El progresivo aumento en la prevalencia de sobrepeso y obesidad a edades más tempranas, y el hecho de que los clásicos condicionantes de la citada enfermedad (dieta y actividad física) no justifiquen en muchas ocasiones dicha situación, hace necesario investigar otras posibles causas y/o desencadenantes, entre los cuales la *hidratación*, podría estar jugando un papel determinante.

Por ello, promovido por el Área de Salud y Área de Responsabilidad Social Corporativa, en dependencia con la Dirección Corporativa de Personas y por la Dirección de Colegios CEU el *Grupo de Investigación en Nutrición y Ciencias de la Alimentación de la Universidad San Pablo CEU (Madrid)* "CEUNUT", va a llevar a cabo un estudio piloto en el Colegio CEU Jesús María Alicante, para determinar si un correcto estado de hidratación promueve el mantenimiento de un índice de masa corporal (IMC) adecuado, y su asociación con un patrón de dieta saludable y actividad física, a través del diseño y validación de un cuestionario. A través del cuestionario diseñado, se pretende no solo estudiar dicha relación, sino disponer de una nueva herramienta de cribado, que permita detectar estados de hidratación inadecuados y, de este modo, poder establecer las medidas y recomendaciones oportunas, para mejorar la salud y calidad de vida del alumno. El Grupo CEUNUT cuenta con una muy amplia experiencia en la evaluación de la alimentación y estado nutricional en diferentes grupos de población, incluida la infanto-juvenil.

El colegio, en colaboración con la familia, juega un papel fundamental para conseguir que nuestros jóvenes adquieran hábitos de vida saludable y que se mantengan durante toda la vida; por ello, les proponemos y pedimos participar en este proyecto, el cual no tiene coste económico alguno. Todas las pruebas serán realizadas por un profesional de la salud en el centro escolar y, al finalizar el estudio, se entregará a cada participante, a través de su responsable familiar, un informe personalizado a través del cual podrán conocer con información real y validada su modelo comportamental de estilo de vida, incluida la alimentación, el estado de hidratación y el grado de actividad física. Ante cualquier duda, tienen a su disposición dos direcciones de correo electrónico, anaisabel.lajagarcia@ceu.es y c.morais2@usp.ceu.es y un número telefónico de contacto, 91 372 47 51, donde podrán realizar cualquier consulta.

PROTOCOLO DEL ESTUDIO.



ACLARACIONES:

Acelerómetro GT3X: Consiste en un dispositivo de última generación que permite cuantificar de forma objetiva la cantidad e intensidad de actividad física, así como una estimación del gasto energético en función del peso del sujeto. La utilización de los acelerómetros es muy sencilla y no tiene ninguna repercusión en el portador, de la misma forma que un reloj o cualquier otro dispositivo electrónico.



Bioimpedancia: Técnica para estimar la composición corporal basada en la respuesta que los tejidos biológicos presentan al paso de una corriente eléctrica alterna de baja intensidad. Es totalmente indolora.



Cuestionario de hidratación: se trata de un cuestionario diseñado por el Grupo CEUNUT de la Universidad CEU San Pablo para evaluar el estado de hidratación de la población. Incluye preguntas referentes a la historia de salud, los hábitos de hidratación, el consumo de ciertas bebidas y alimentos, así como de eliminación hídrica.

Visita inicial:

Se explicará detalladamente el procedimiento a seguir durante el estudio y todas las pruebas implicadas en el mismo. Este mismo día, se les entregará un acelerómetro para cuantificar la actividad física y un diario dietético.

Día 1:

- El primer día de estudio, los participantes deberán ponerse el acelerómetro, que llevarán durante 7 días consecutivos, y tan sólo deben quitárselo para la práctica de actividades que impliquen contacto prolongado con agua (ducha, natación...).
- Este mismo día comenzarán a cumplimentar el diario dietético, que deberán rellenarlo durante 3 días consecutivos, y en el que deberán anotar todo lo que coman y beban en este periodo de tiempo.

Día 4:

- Los participantes deberán entregar el diario dietético cumplimentado.
- Este mismo día (en ayunas, a primera hora de la mañana):
 - Se tomará el pulso y la tensión.
 - Se realizará el estudio antropométrico el cual incluirá: peso, talla, circunferencia de la cintura, Índice de Masa Corporal (IMC), % grasa corporal, % masa magra, agua corporal total y % agua corporal.
- Por último, cumplimentarán en el centro escolar el cuestionario de hidratación.

Día 7:

- Procederán a quitarse el acelerómetro, y entregarlo al día siguiente en el centro educativo.

Consentimiento informado:

1. He leído y comprendido la hoja informativa objeto del estudio.
2. He tenido la oportunidad de hacer preguntas.
3. Mis preguntas han sido respondidas de forma satisfactoria.
4. He recibido información suficiente del estudio y de las pruebas a realizar.
5. Entiendo que la participación es voluntaria y puedo abandonar el estudio cuando lo desee sin que tenga que dar explicaciones y sin que ello afecte a mis cuidados médicos.
6. En cumplimiento de lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y en el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, he sido informado de que mis datos personales, obtenidos mediante la cumplimentación de este formulario así como los resultantes de mi participación en el proyecto van a ser incorporados a un fichero bajo la responsabilidad de FUNDACIÓN UNIVERSITARIA SAN PABLO-CEU (entidad titular de la Universidad CEU San Pablo) con la finalidad de gestionar mi participación en el presente proyecto de investigación.
7. Estoy de acuerdo en que mi consentimiento por escrito y otros datos estén a disposición del proyecto de investigación clínico en el que estoy participando, y del investigador responsable del mismo, Gregorio Varela Moreiras, pero siempre respetando la confidencialidad y la garantía de que mis datos no estarán disponibles públicamente de forma que pueda ser identificado.
8. Los datos recogidos para este estudio serán incluidos, con los de otras personas que participen en este estudio, en una base de datos de carácter personal de la Universidad CEU San Pablo, a la que sólo los investigadores aprobados para este proyecto (Gregorio Varela-Moreiras, Teresa Partearroyo Cediel y Ana Isabel Laja García) tendrán acceso, estando todos ellos sometidos al secreto inherente a su profesión o derivado de un acuerdo de confidencialidad.
9. Comprendo que tengo los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición a mis datos de carácter personal de acuerdo con lo dispuesto en la Ley Orgánica 15/1999 de protección de datos de carácter personal, que podré ejercitar mediante solicitud al investigador responsable en la dirección de contacto que figura en este documento.
10. Estos datos se conservarán durante el tiempo necesario para el desarrollo de esta investigación, que se estima en 12 meses, siendo posteriormente destruidos, sin que puedan ser conservados sin haber sido previamente anonimizados. En cualquier caso, no podrán ser cedidos sin mi consentimiento expreso y no lo otorgo en este acto.

Firmo este documento de información y consentimiento de forma voluntaria para manifestar mi deseo de participar en este estudio de investigación sobre el estado de hidratación como potencial factor de riesgo de sobrepeso/obesidad en población infanto-juvenil, hasta que decida lo contrario. Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos. Recibiré una copia de este documento para guardarlo y poder consultarlo en el futuro.

Nombre y apellidos del participante:

DNI/Pasaporte:

Firma:

Fecha:

Nombre y apellidos del padre/madre o representante legal si fuera el caso:

DNI/Pasaporte:

Firma:

Fecha:

Nombre y apellidos del investigador: Ana Isabel Laja García

DNI: 80087953 K

Dirección postal de contacto del Investigador: Facultad de Farmacia, Universidad CEU San Pablo.
Urbanización Montepríncipe, Ctra. Boadilla del Monte km 5.3 28668 Madrid España

Mail: anaisabel.lajagarcia@ceu.es Teléfono: 913724751



Firma:

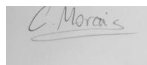
Nombre y apellidos del investigador: Carmen Morais Moreno

DNI: 51481709 G

Dirección postal de contacto del Investigador: Facultad de Farmacia, Universidad CEU San Pablo.
Urbanización Montepríncipe, Ctra. Boadilla del Monte km 5.3 28668 Madrid España

Mail: c.morais2@usp.ceu.es Teléfono: 913724751

Firma:



Nombre y apellidos del investigador principal: Gregorio Varela Moreiras

DNI: 50308010h

E-mail: gvarela@ceu.es

Teléfono: 913724751

Firma:



Gregorio Varela Moreiras

Catedrático de Nutrición y Bromatología

Director del Dpto. CC. Farmacéuticas y de la Salud

Universidad CEU San Pablo

Presidente de la Fundación Española de la Nutrición (FEN)

10.2.11. Modelo de informe entregado a los participantes en el proyecto en población adulta.

INFORME: ESTUDIO DE HIDRATACIÓN

Datos personales.

Nombre:
Apellidos:
Teléfono de contacto:
Email:

Resultados antropométricos.

Peso (Kg)	
Talla (m)	
IMC	

**IMC: Índice de masa corporal*

IMC	Clasificación
< 18.5	Peso insuficiente
18.5-24.9	Normopeso
25-26.9	Sobrepeso grado I
27-29.9	Sobrepeso grado II (preobesidad)
30-34.9	Obesidad tipo I
35-39.9	Obesidad tipo II
40-49.9	Obesidad tipo III (mórbida)
>50	Obesidad tipo IV (extrema)

SEEDO. Sociedad Española para el Estudio de la obesidad.

Masa grasa	%	Kg
Masa magra		Kg
Masa magra seca		Kg
Agua	%	L

	Rango normal hombres	Rango normal mujeres
Masa grasa (%)	15-21	18-31
Agua (%)	45-75	45-75

*SEEDO. Sociedad Española para el Estudio de la obesidad.
EFSA Journal 2010; 8(3):1459*

Resultados analíticos.

SAGRE

	Referencia hombres	Referencia mujeres	Real
Hemoglobina (g/dl)	14-18	12-16	
Hematocrito %	40-54	37-47	
Eritrocitos (mill/ μ l)	4,5-6,2	4,2-5,4	

*Valores de referencia aportados por fabricante (Callegari1930).

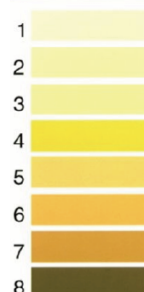
ORINA

	Referencia	Real
Densidad (g/l)	1.010-1.030	
pH	4,6-8	

* Valores de referencia tomados de EFSA Journal 2010; 8(3):1459

Carta de color de la orina

El color de su orina se corresponde con el número:



Resultados hemodinámicos.

	Referencia	Real
Pulso (latidos/minuto)	60-100	
PAS (mm Hg)	90-130	
PAD (mm Hg)	60-80	

*PAS: Presión arterial sistólica PAD: Presión arterial diastólica
Fuente: Medline Plus

Actividad física.

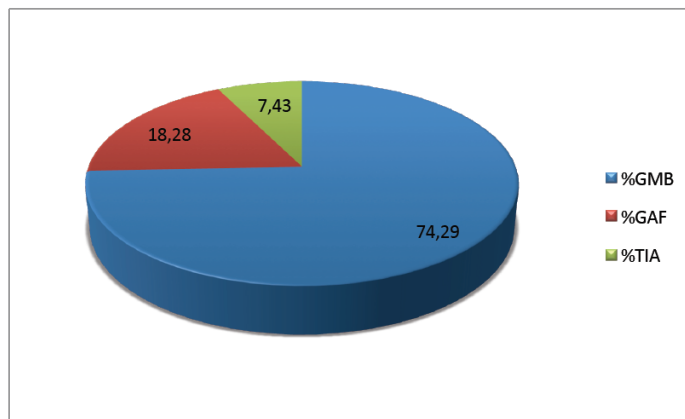
Gasto metabólico basal (GMB)		Gasto energético total (GET)		
Hombres	De 18 a 29 años: $(15,4 \times P) - (27 \times T (m)) + 717$	Si realiza actividad física ligera:	Si realiza actividad física moderada:	Si realiza actividad física pesada:
	De 30 a 59 años: $(11,3 \times P) + (16 \times T (m)) + 901$	GET= GMB x 1,55+TIA*	GET=GMB x1,78+TIA*	GET=GMB x 2,10+TIA*
Mujeres	De 18 a 29 años: $(13,3 \times P) + (334 \times T (m)) + 35$	Si realiza actividad física ligera:	Si realiza actividad física moderada:	Si realiza actividad física pesada:
	De 30 a 59 años: $(8,7 \times P) - (25 \times T (m)) + 865$	GET= GMB x 1,56+TIA*	GET=GMB x 1,64+TIA*	GET=GMB x 1,82+TIA*

*TIA(Termogénesis inducida por los alimentos) = 10% del GMB FAO/OMS/ONU. 1985

Gasto metabólico basal	Kcal	Gasto energético actividad física	Kcal	Gasto energético total	Kcal
Calculado:		Calculado:		Calculado:	
		Acelerómetro:		Acelerómetro:	

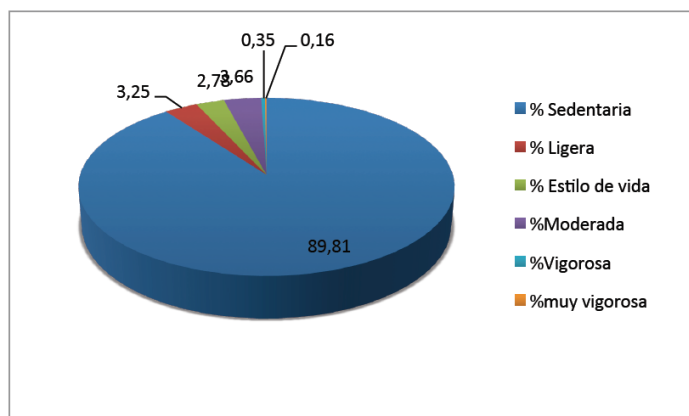
Número de pasos diarios registrados por el acelerómetro:

DISTRIBUCIÓN MEDIA DEL GASTO ENERGÉTICO TOTAL



*GMB (Gasto metabólico basal), GAF (Gasto por actividad física), TIA (Termogénesis de los alimentos)

INTENSIDAD DE LA ACTIVIDAD FÍSICA REALIZADA



Puntos de corte	Counts
Sedentaria	0-100
Ligera	101-759
Estilo de vida	760-1951
Moderada	1952-5724
Vigorosa	5725-9498
Muy vigorosa	9499

**Counts: Unidad de movimiento obtenida de la traducción y rectificación de la señal digital cuantificable (Gs) obtenida del cambio de aceleración del centro de masas en 3 ejes registrada por el acelerómetro. John D, Freedson P. Actigraph and Actical Physical Activity Monitors: A Peek under the Hood. Medicine and Science in Sport and Exercise. 2012;44,1: 86-89*

RECOMENDACIÓN:

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda:

- Realizar un mínimo de 10.000 pasos diarios para mantener un buen estado de salud.
- Dedicar como mínimo 150 minutos semanales a la práctica de actividad física aeróbica, de intensidad moderada, o bien 75 minutos de actividad física aeróbica vigorosa cada semana, o bien una combinación equivalente de actividades moderadas y vigorosas (la actividad aeróbica se practicará en sesiones de 10 minutos de duración, como mínimo).
- Para obtener aún mayores beneficios para la salud, aumentar hasta 300 minutos por semana la práctica de actividad física moderada aeróbica, o bien hasta 150 minutos semanales de actividad física intensa aeróbica, o una combinación equivalente de actividad moderada y vigorosa, y dos veces o más por semana, realizar actividades de fortalecimiento de los grandes grupos musculares

Perfil nutricional.

PERFIL MACRONUTRIENTES:

Macronutriente	% recomendado	% real
Hidratos de carbono	50-55	
Grasas	30-35	
Proteínas	10-15	

Sociedad Española de la Nutrición Comunitaria (SENC). 2011

INGESTA ENERGÉTICA DIARIA:

Referencia hombres	Referencia mujeres	Real
3.000 Kcal	2.300 Kcal	

Moreiras et al. Tabla de composición de alimentos. 2015

Las necesidades energéticas están calculadas para una actividad moderada.
Para una actividad ligera reducir en un 10% y para actividad alta aumentarlas en un 20%

PERFIL LIPÍDICO:

Grasas	% recomendado	% real
AGS	7-8	
AGM	20	
AGP	5	
AGP/AGS	≥0,5	
[AGP+AGM]/AGS	≥2	

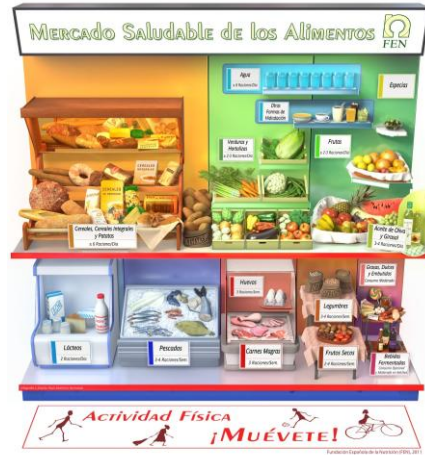
Sociedad Española de la Nutrición Comunitaria (SENC). 2011

Estado de hidratación:

Agua corporal (L)	% Agua referencia	% Agua real
	45-75	

*EFSA Journal 2010; 8(3):1459

RECOMENDACIÓN:



Grupos de alimentos	Frecuencia de consumo	Peso de la ración
Agua	8 raciones/día	200 ml
Cereales y patatas	≥ 6 raciones/día	40-80 g de pan 50-80 g de arroz, pasta 150-200 g de patatas 20-40 g de cereales
Verduras y hortalizas	≥ 2-3 raciones/día	150-200 g
Frutas	≥ 2-3 raciones/día	150-200 g
Aceite de oliva y girasol	3-4 raciones/día	10 ml
Lácteos	2 raciones/día	200-250 ml leche 125-250 ml yogur 40-60 g queso curado 80-125 g queso fresco
Pescados	3-4 raciones/semana	100-150 g
Carnes magras	3 raciones/semana	100-150 g
Huevos	3 raciones/semana	65-100 g
Legumbres	3-4 raciones/semana	60-80 g
Frutos secos	2-4 raciones/semana	20-30 g
Grasas dulces y embutidos	Consumo moderado	
Bebidas fermentadas	Consumo ocasional y moderado	

Grupos de alimentos, frecuencia de consumo y peso de las raciones incluidos en el Mercado Saludable de los Alimentos para la población general (Fundación Española de la Nutrición, FEN; 2011).

10.2.12. Modelo de informe entregado a los niños que participaron en el proyecto en población adolescente.



INFORME DEL ESTUDIO:

ESTADO DE HIDRATACIÓN COMO POTENCIAL FACTOR DE RIESGO DE SOBREPESO-OBESIDAD EN POBLACIÓN INFANTO-JUVENIL.

Datos personales.

Nombre:
Apellidos:

Resultados antropométricos.

Peso (kg)		Grasa (%)	
Talla (m)		Masa magra (kg)	
IMC		Masa magra seca (kg)	

Tabla 1: Clasificación del estado ponderal en función del Índice de Masa Corporal (OMS 2007)

Edad (años: meses)	Desnutrición severa (IMC)	Desnutrición moderada (IMC)	Normal (IMC)	Sobrepeso (IMC)	Obesidad (IMC)
12:0	Menos de 13,4	13,4-14,4	14,5-19,9	20,0-23,6	23,7 o más
12:6	Menos de 13,6	13,6-14,6	14,7-20,4	20,5-24,2	24,3 o más
13:0	Menos de 13,8	13,8-14,8	14,9-20,8	20,9-24,8	24,9 o más
13:6	Menos de 14,0	14,0-15,1	15,2-21,3	21,4-25,3	25,4 o más
14:0	Menos de 14,3	14,3-15,4	15,5-21,8	21,9-25,9	26,0 o más
14:6	Menos de 14,5	14,5-15,6	15,7-22,2	22,3-26,5	26,6 o más
15:0	Menos de 14,7	14,7-15,9	16,0-22,7	22,8-27,0	27,1 o más
15:6	Menos de 14,9	14,9-16,2	16,3-23,1	23,2-27,4	27,5 o más
16:0	Menos de 15,1	15,1-16,4	16,5-23,5	23,6-27,9	28,0 o más
16:6	Menos de 15,3	15,3-16,6	16,7-23,9	24,0-28,3	28,4 o más
17:0	Menos de 15,4	15,4-16,8	16,9-24,3	24,4-28,6	28,7 o más
17:6	Menos de 15,6	15,6-17,0	17,1-24,6	24,7-29,0	29,1 o más
18:0	Menos de 15,7	15,7-17,2	17,3-24,9	25,0-29,2	29,3 o más

OMS: Organización Mundial de la Salud.

Tabla 2: Percentiles para el porcentaje de grasa en hombres con edades entre 12 y 17 años

AÑOS	p25	p50	p75	p85	p95
12	15,1	17,4	20,4	22,7	27,9
13	14,5	16,8	19,8	22,0	27,0
14	14,0	16,2	19,2	21,3	25,9
15	13,6	15,8	18,7	20,7	25,0
16	13,3	15,5	18,4	20,3	24,3
17	13,1	15,4	18,3	20,1	23,9

H D McCarthy, T J Cole, T Fry, S A Jebb and A M Prentice. Body fat reference curves for children. Int J Obes. 2006;30:598-602

- > < P25: Bajo contenido en grasa
- > P25-P85: contenido en grasa normal
- > P85-P95: contenido en grasa elevado. Sobrepeso
- > >P95: contenido en grasa muy elevado. Obesidad

TALLA NIÑOS (cm)

m: meses a: años

EDAD	n	MEDIA	DE	P3	P10	P25	P50	P75	P90	P97	EDAD
11 a	85	144,17	6,17	132,69	136,73	140,84	145,43	150,04	154,21	158,35	11 a
11,5 a	84	147,49	6,48	135,23	139,38	143,61	148,31	153,04	157,30	161,52	11,5 a
12 a	91	150,10	6,90	137,84	142,10	146,42	151,24	156,05	160,39	164,68	12 a
12,5 a	84	153,95	7,42	140,52	144,88	149,29	154,18	159,07	163,47	167,80	12,5 a
13 a	75	156,87	9,12	143,27	147,70	152,17	157,13	162,07	166,50	170,87	13 a
13,5 a	82	160,97	8,23	146,06	150,54	155,06	160,06	165,03	169,48	173,85	13,5 a
14 a	82	164,13	8,22	148,86	153,38	157,92	162,93	167,91	172,36	176,72	14 a
14,5 a	61	165,04	8,41	151,64	156,17	160,72	165,72	170,68	175,10	179,44	14,5 a
15 a	81	168,79	8,31	154,35	158,87	163,40	168,37	173,29	177,67	181,96	15 a
15,5 a	74	170,94	6,92	156,92	161,41	165,91	170,83	175,70	180,02	184,24	15,5 a
16 a	78	172,98	6,64	159,28	163,73	168,17	173,04	177,83	182,08	186,23	16 a
16,5 a	127	175,32	6,54	161,34	165,74	170,12	174,91	179,62	183,80	187,87	16,5 a
17 a	96	176,04	7,35	163,01	167,34	171,66	176,37	181,00	185,10	189,09	17 a
17,5 a	117	176,69	7,09	164,16	168,43	172,68	177,32	181,88	185,92	189,84	17,5 a
18 a	121	176,27	5,69	164,67	168,89	173,09	177,67	182,17	186,16	190,03	18 a

ESTUDIO DE CRECIMIENTO DE BILBAO
CURVAS Y TABLAS DE CRECIMIENTO (Estudio transversal)
C Fernández, H Lorenzo, K Vrotsou, U Aresti, I Rica, E Sánchez

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SOBRE CRECIMIENTO Y
DESARROLLO. FUNDACIÓN FAUSTINO ORBEGOZO EIZAGUIRRE
Edición 2011. info@fundacionorbegozo.com

PESO VARONES (kg)

m: meses a: años

EDAD	n	MEDIA	DE	P3	P10	P25	P50	P75	P90	P97	EDAD
11a	85	39,58	7,75	28,28	31,18	34,62	39,21	44,84	51,07	58,69	11 a
11,5 a	84	41,61	7,62	29,72	32,84	36,54	41,44	47,43	54,02	62,00	11,5 a
12a	91	44,54	9,39	31,27	34,62	38,57	43,79	50,12	57,04	65,36	12 a
12,5 a	84	46,87	7,96	32,94	36,51	40,72	46,25	52,91	60,13	68,74	12,5 a
13 a	75	49,32	9,63	34,73	38,53	42,98	48,80	55,77	63,26	72,11	13 a
13,5 a	84	53,27	10,55	36,63	40,65	45,34	51,43	58,67	66,40	75,44	13,5 a
14 a	82	55,96	10,37	38,63	42,86	47,77	54,11	61,59	69,51	78,67	14 a
14,5 a	61	57,95	12,11	40,72	45,14	50,24	56,79	64,47	72,52	81,77	14,5 a
15 a	82	59,71	11,65	42,88	47,45	52,72	59,44	67,25	75,40	84,66	15 a
15,5 a	74	65,36	10,57	45,07	49,77	55,15	61,99	69,89	78,05	87,26	15,5 a
16 a	77	64,98	11,82	47,25	52,03	57,49	64,38	72,28	80,40	89,50	16 a
16,5 a	127	68,27	11,83	49,39	54,19	59,65	66,52	74,35	82,36	91,28	16,5 a
17 a	96	70,76	11,30	51,41	56,18	61,57	68,32	76,00	83,81	92,49	17 a
17,5 a	117	69,25	10,10	53,26	57,91	63,14	69,68	77,09	84,63	93,01	17,5 a
18 a	121	71,26	9,88	54,85	59,28	64,26	70,47	77,51	84,68	92,70	18 a

ESTUDIO DE CRECIMIENTO DE BILBAO
CURVAS Y TABLAS DE CRECIMIENTO (Estudio transversal)
C Fernández, H Lorenzo, K Vrotsou, U Aresti, I Rica, E Sánchez

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SOBRE CRECIMIENTO Y
DESARROLLO. FUNDACIÓN FAUSTINO ORBEGOZO EIZAGUIRRE
Edición 2011. info@fundacionorbegozo.com

Resultados hemodinámicos.

	Valores obtenidos
Pulso (latidos/minuto)	
Presión arteria Sistólica (mmHg)	
Presión arterial Diastólica (mmHg)	

Tabla 3: Tabla simplificada que indica los valores de presión arterial por encima de los cuales se deben consultar las tablas de referencia para identificar hipertensión arterial en población pediátrica.

Edad (años)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
12-15	≥ 115	≥ 75
15-17	≥ 120	≥ 80

Asociación Española de Pediatría. 2014

Los resultados de medida de presión arterial pueden verse alterados por el conocido fenómeno “hipertensión de la bata blanca” que consiste en un aumento de la presión arterial del paciente en la consulta médica, la cual desciende hasta normalizarse al salir de la misma. En caso de obtener un resultado fuera de los rangos de normalidad, se recomienda repetir la prueba para confirmar los resultados obtenidos.

Gasto energético.

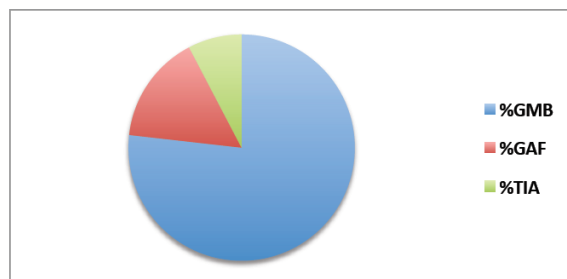
La Organización Mundial de la Salud define el Gasto energético total (GET) como “el nivel de energía necesario para mantener el equilibrio entre el consumo y el gasto energético, cuando el individuo presenta peso, composición corporal y actividad física compatibles con un buen estado de salud, debiéndose hacer ajustes para individuos con diferentes estados fisiológicos como crecimiento, gestación, lactancia y envejecimiento”. El GET comprende el gasto metabólico basal (GMB), el gasto por actividad física y la Termogénesis inducida por la dieta (TID). El GMB representa la integración de la actividad mínima de todos los tejidos del cuerpo en condiciones de equilibrio. El gasto energético por actividad física es muy variable entre individuos y puede cambiar día a día. La FAO-WHO-UNU (2001) consideran dos tipos de actividad física: las actividades obligatorias relacionadas con el trabajo, el estudio y la atención del hogar y las actividades discretionales referidas a la actividad física regular, la recreación y la interacción social. La TID se refiere al gasto energético producido después del consumo de alimentos, y corresponde a la energía necesaria para la digestión, absorción, transporte, metabolismo y almacenamiento de los macronutrientes. La intensidad y la duración de la TID están determinadas por la cantidad y composición de los alimentos consumidos.

	hombres (10-18 años)
Gasto Metabólico basal	$(0,068 \times \text{peso (kg)} + 0,574 \times \text{talla (m)} + 2,157) \times 239$

W.N. Schofield Predicting basal metabolic rate, new standard and review of previous work Hum Clin Nutr, 39 (1985), pp.s5-s41

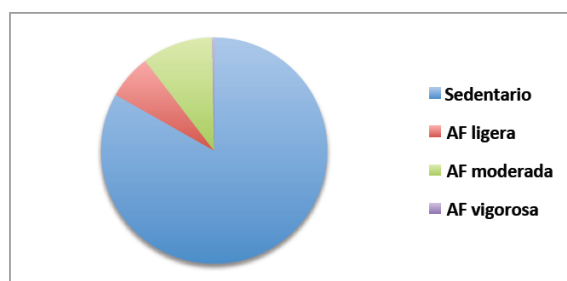
Gasto metabólico basal	Kcal	Gasto energético actividad física	Kcal	Gasto energético total	Kcal	Número de pasos diarios
Teórico:		Acelerómetro:		Acelerómetro:		

DISTRIBUCIÓN MEDIA DEL GASTO ENERGÉTICO TOTAL



GMB (Gasto metabólico basal), GAF (Gasto por actividad física), TIA (Termogénesis de los alimentos)

INTENSIDAD DE LA ACTIVIDAD FÍSICA REALIZADA



Puntos de corte	Contaje
Sedentario	0-99
Actividad física ligera	100-1951
Actividad física moderada	1952-5724
Actividad física vigorosa	> 5725

Contaje: Unidad de movimiento obtenida de la traducción y rectificación de la señal digital cuantificable (Gs) obtenida del cambio de aceleración del centro de masas en 3 ejes registrada por el acelerómetro. John D, Freedson P. Actigraph and Actical Physical Activity Monitors: A Peek under the Hood. Medicine and Science in Sport and Exercise. 2012;44,1: 86-89

RECOMENDACIONES GENERALES:

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda:

Para los niños y jóvenes en este grupo de edad, la actividad física consiste en juegos, deportes, desplazamientos, actividades recreativas, educación física o ejercicios programados, en el contexto de la familia, la escuela o las actividades comunitarias. Con el fin de mejorar las funciones cardiorrespiratorias y musculares y la salud ósea y de reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles, se recomienda que:

- Los niños y jóvenes de 5 a 17 años inviertan como mínimo 60 minutos diarios en actividades físicas de intensidad moderada a vigorosa.
- La actividad física por un tiempo superior a 60 minutos diarios reportará un beneficio aún mayor para la salud.
- La actividad física diaria debería ser, en su mayor parte, aeróbica. Convendría incorporar, como mínimo tres veces por semana, actividades vigorosas que refuercen, en particular, los músculos y huesos.

Perfil nutricional.

PERFIL MACRONUTRIENTES:

Macronutriente	% recomendado	% obtenido
Hidratos de carbono	50-55	
Grasas	30-35	
Proteínas	10-15	

Sociedad Española de la Nutrición Comunitaria (SENC). 2011

INGESTA ENERGÉTICA DIARIA: 1897 KCAL

Recomendación:

Edad	Kilocalorías
12	2450
13-15	2750
16-19	3000

Moreiras et al. Tabla de composición de alimentos. 2015

Las necesidades energéticas están calculadas para una actividad moderada.

Para una actividad ligera reducir en un 10% y para actividad alta aumentarlas en un 20%

PERFIL LIPÍDICO:

Grasas	% recomendado	% obtenido
AGS	7-8	
AGM	20	
AGP	5	
AGP/AGS	≥0,5	
[AGP+AGM]/AGS	≥2	

Sociedad Española de la Nutrición Comunitaria (SENC). 2011

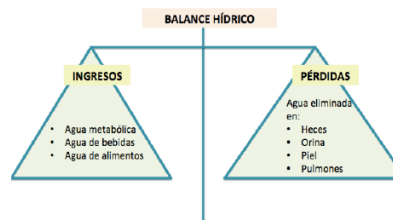
Estado de hidratación:

Agua corporal (l)	% agua referencia en hombres 12-18 años	% agua obtenido
	59 (52-66)	

Altman PL. Blood and Other Body Fluids. Washington, Federation of American Societies for Experimental Biology, 1961

BALANCE HÍDRICO= ml

El mantenimiento de un adecuado balance hídrico (diferencia neta entre el aporte y la pérdida de agua es esencial para la salud.



RECOMENDACIONES GENERALES:

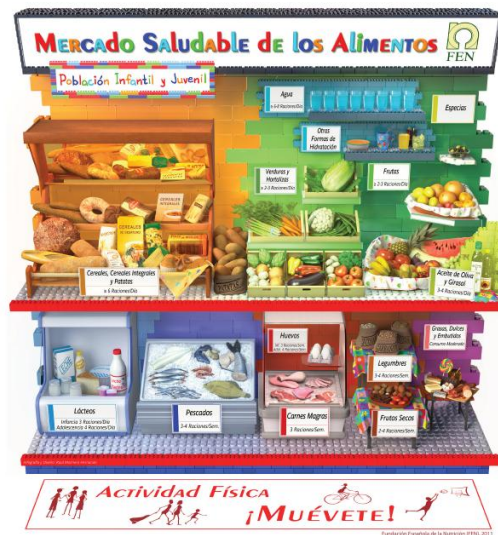


Figura 1: Mercado saludable de los Alimentos. FEN, 2011.

La siguiente tabla muestra la frecuencia de consumo recomendada para los diferentes grupos de alimentos:

Grupos de alimentos	Frecuencia de consumo	Peso de la ración
Agua	8 raciones/día	200 ml
Cereales y patatas	≥ 6 raciones/día	40-80 g de pan 50-80 g de arroz, pasta 150-200 g de patatas 20-40 g de cereales
Verduras y hortalizas	≥ 2-3 raciones/día	150-200 g
Frutas	≥ 2-3 raciones/día	150-200 g
Aceite de oliva y girasol	3-4 raciones/día	10 ml
Lácteos	3-4 raciones/día	200-250 ml leche 125-250 ml yogur 40-60 g queso curado 80-125 g queso fresco
Pescados	3-4 raciones/semana	100-150 g
Carnes magras	3 raciones/semana	100-150 g
Huevos	3 raciones/semana	65-100 g
Legumbres	3-4 raciones/semana	60-80 g
Frutos secos	2-4 raciones/semana	20-30 g
Grasas dulces y embutidos	Consumo moderado	
Bebidas fermentadas	Consumo ocasional y moderado	

Grupos de alimentos, frecuencia de consumo y peso de las raciones incluidos en el Mercado Saludable de los Alimentos para la población general (Fundación Española de la Nutrición, FEN; 2011)

A continuación se adjunta La Pirámide de la Hidratación Saludable elaborada por la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC). Las bebidas ubicadas en la base deben ser de consumo habitual y frecuente y las situadas hacia el vértice de consumo esporádico u ocasional.



Figura 2: Pirámide de la Hidratación Saludable. SENC, 2015.

Grupo 1	➤ Aguas minerales, aguas de manantial o de grifo de bajo contenido salino
Grupo 2	➤ Aguas minerales o de grifo con mayor contenido salino ➤ Bebidas refrescantes sin azúcar/acalóricas ➤ Té o café sin azúcar
Grupo 3	➤ Bebidas con cierto contenido calórico y nutrientes de interés ➤ Zumos de frutas naturales ➤ Zumos de verduras (tomate, gazpacho...) y caldos ➤ Zumos comerciales a base de fruta 100% ➤ Leche o productos lácteos bajos en grasa sin azúcar ➤ Leche o productos lácteos con azúcar y sustitutos de leche ➤ Cerveza sin alcohol ➤ Bebidas para deportistas ➤ Té o café con azúcar
Grupo 4	➤ Bebidas refrescantes carbonatadas o no, endulzadas con azúcar, fructosa o equivalentes

10.2.13. Modelo de informe entregado a las niñas que participaron en el proyecto en población adolescente.



INFORME DEL ESTUDIO:

ESTADO DE HIDRATACIÓN COMO POTENCIAL FACTOR DE RIESGO DE SOBREPESO-OBESIDAD EN POBLACIÓN INFANTO-JUVENIL.

Datos personales.

Nombre:
Apellidos:

Resultados antropométricos.

Peso (kg)		Grasa (%)	
Talla (m)		Masa magra (kg)	
IMC		Masa magra seca (kg)	

Tabla 1: Clasificación del estado ponderal en función del Índice de Masa Corporal (OMS 2007)

Edad (años: meses)	Desnutrición severa (IMC)	Desnutrición moderada (IMC)	Normal (IMC)	Sobrepeso (IMC)	Obesidad (IMC)
12:0	Menos de 13,4	13,4-14,4	14,5-19,9	20,0-23,6	23,7 o más
12:6	Menos de 13,6	13,6-14,6	14,7-20,4	20,5-24,2	24,3 o más
13:0	Menos de 13,8	13,8-14,8	14,9-20,8	20,9-24,8	24,9 o más
13:6	Menos de 14,0	14,0-15,1	15,2-21,3	21,4-25,3	25,4 o más
14:0	Menos de 14,3	14,3-15,4	15,5-21,8	21,9-25,9	26,0 o más
14:6	Menos de 14,5	14,5-15,6	15,7-22,2	22,3-26,5	26,6 o más
15:0	Menos de 14,7	14,7-15,9	16,0-22,7	22,8-27,0	27,1 o más
15:6	Menos de 14,9	14,9-16,2	16,3-23,1	23,2-27,4	27,5 o más
16:0	Menos de 15,1	15,1-16,4	16,5-23,5	23,6-27,9	28,0 o más
16:6	Menos de 15,3	15,3-16,6	16,7-23,9	24,0-28,3	28,4 o más
17:0	Menos de 15,4	15,4-16,8	16,9-24,3	24,4-28,6	28,7 o más
17:6	Menos de 15,6	15,6-17,0	17,1-24,6	24,7-29,0	29,1 o más
18:0	Menos de 15,7	15,7-17,2	17,3-24,9	25,0-29,2	29,3 o más

OMS: Organización Mundial de la Salud.

Tabla 2: Percentiles para el porcentaje de grasa en mujeres con edades entre 12 y 17 años

AÑOS	p25	p50	p75	p85	p95
12	20,7	23,5	27,0	29,1	33,1
13	20,8	23,8	27,2	29,4	33,3
14	20,9	24,0	27,5	29,6	33,6
15	21,0	24,1	27,7	29,9	33,8
16	21,0	24,3	27,9	30,1	34,1
17	21,0	24,4	28,2	30,4	34,4

H D McCarthy, T J Cole, T Fry, S A Jebb and A M Prentice. Body fat reference curves for children. Int J Obes. 2006;30:598-602

- > < P25: Bajo contenido en grasa
- > P25-P85: contenido en grasa normal
- > P85-P95: contenido en grasa elevado. Sobrepeso
- > >P95: contenido en grasa muy elevado. Obesidad

TALLA MUJERES (cm)

m: meses a: años

EDAD	n	MEDIA	DE	P3	P10	P25	P50	P75	P90	P97	EDAD
12 a	70	152,25	7,02	140,66	144,08	147,65	151,77	156,04	160,04	164,12	12 a
12,5 a	64	153,40	7,20	142,97	146,38	149,96	154,09	158,38	162,40	166,52	12,5 a
13 a	51	156,74	6,25	145,05	148,45	152,02	156,15	160,46	164,50	168,64	13 a
13,5 a	58	159,13	6,64	146,87	150,26	153,82	157,95	162,25	166,30	170,45	13,5 a
14 a	54	161,03	6,25	148,41	151,79	155,34	159,45	163,75	167,79	171,95	14 a
14,5 a	71	162,35	5,97	149,68	153,03	156,56	160,65	164,94	168,97	173,13	14,5 a
15 a	64	161,00	6,15	150,66	153,99	157,50	161,57	165,84	169,86	174,00	15 a
15,5 a	57	162,28	5,60	151,37	154,67	158,16	162,21	166,46	170,46	174,59	15,5 a
16 a	39	161,88	6,28	151,83	155,12	158,59	162,62	166,84	170,82	174,93	16 a
16,5 a	72	162,14	6,26	152,10	155,37	158,82	162,83	167,03	171,00	175,09	16,5 a
17 a	99	162,56	5,67	152,23	155,49	158,93	162,92	167,11	171,05	175,12	17 a
17,5 a	75	163,04	5,78	152,30	155,55	158,98	162,97	167,14	171,08	175,14	17,5 a
18 a	60	163,83	6,17	152,42	155,67	159,10	163,09	167,26	171,20	175,26	18 a

ESTUDIO DE CRECIMIENTO DE BILBAO
CURVAS Y TABLAS DE CRECIMIENTO (Estudio transversal)
C Fernández, H Lorenzo, K Vrotsou, U Aresti, I Rica, E Sánchez

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SOBRE CRECIMIENTO Y
DESARROLLO. FUNDACIÓN FAUSTINO ORBEGOZO EIZAGUIRRE
Edición 2011. info@fundacionorbegozo.com

PESO MUJERES (kg)

m: meses a: años

EDAD	n	MEDIA	DE	P3	P10	P25	P50	P75	P90	P97	EDAD
12 a	70	44,00	7,31	32,12	35,33	39,05	43,84	49,47	55,41	62,28	12 a
12,5 a	64	44,99	8,88	33,77	37,08	40,90	45,80	51,56	57,63	64,63	12,5 a
13 a	51	49,21	8,45	35,42	38,79	42,68	47,68	53,52	59,67	66,75	13 a
13,5 a	58	52,13	8,08	37,03	40,45	44,39	49,43	55,32	61,50	68,60	13,5 a
14 a	54	52,32	7,96	38,59	42,03	45,99	51,04	56,93	63,10	70,17	14 a
14,5 a	71	54,14	8,59	40,05	43,50	47,45	52,49	58,34	64,46	71,46	14,5 a
15 a	64	55,29	9,42	41,39	44,82	48,76	53,75	59,54	65,58	72,47	15 a
15,5 a	57	54,69	7,33	42,57	45,98	49,87	54,81	60,52	66,46	73,22	15,5 a
16 a	39	57,84	8,96	43,55	46,94	50,79	55,66	61,28	67,11	73,75	16 a
16,5 a	72	56,62	6,70	44,30	47,65	51,46	56,28	61,82	67,57	74,09	16,5 a
17 a	98	56,35	8,47	44,77	48,11	51,89	56,67	62,17	67,86	74,31	17 a
17,5 a	75	58,16	8,30	44,91	48,25	52,04	56,83	62,34	68,04	74,50	17,5 a
18 a	60	57,57	7,40	44,68	48,06	51,91	56,77	62,36	68,17	74,75	18 a

ESTUDIO DE CRECIMIENTO DE BILBAO
CURVAS Y TABLAS DE CRECIMIENTO (Estudio transversal)
C Fernández, H Lorenzo, K Vrotsou, U Aresti, I Rica, E Sánchez

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN SOBRE CRECIMIENTO Y
DESARROLLO. FUNDACIÓN FAUSTINO ORBEGOZO EIZAGUIRRE
Edición 2011. info@fundacionorbegozo.com

Resultados hemodinámicos.

	Valores obtenidos
Pulso (latidos/minuto)	
Presión arteria Sistólica (mmHg)	
Presión arterial Diastólica (mmHg)	

Tabla 3: Tabla simplificada que indica los valores de presión arterial por encima de los cuales se deben consultar las tablas de referencia para identificar hipertensión arterial en población pediátrica.

Edad (años)	PAS (mmHg)	PAD (mmHg)
12-15	≥ 115	≥ 75
15-17	≥ 120	≥ 80

Asociación Española de Pediatría. 2014

Los resultados de medida de presión arterial pueden verse alterados por el conocido fenómeno “hipertensión de la bata blanca” que consiste en un aumento de la presión arterial del paciente en la consulta médica, la cual desciende hasta normalizarse al salir de la misma. En caso de obtener un resultado fuera de los rangos de normalidad, se recomienda repetir la prueba para confirmar los resultados obtenidos.

Gasto energético.

La Organización Mundial de la Salud define el Gasto energético total (GET) como “el nivel de energía necesario para mantener el equilibrio entre el consumo y el gasto energético, cuando el individuo presenta peso, composición corporal y actividad física compatibles con un buen estado de salud, debiéndose hacer ajustes para individuos con diferentes estados fisiológicos como crecimiento, gestación, lactancia y envejecimiento”.

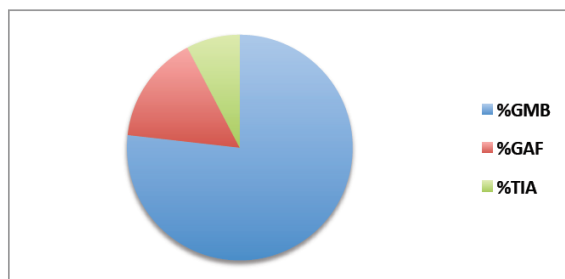
El GET comprende el gasto metabólico basal (GMB), el gasto por actividad física y la Termogénesis inducida por la dieta (TID). El GMB representa la integración de la actividad mínima de todos los tejidos del cuerpo en condiciones de equilibrio. El gasto energético por actividad física es muy variable entre individuos y puede cambiar día a día. La FAO-WHO-UNU (2001) consideran dos tipos de actividad física: las actividades obligatorias relacionadas con el trabajo, el estudio y la atención del hogar y las actividades discrecionales referidas a la actividad física regular, la recreación y la interacción social. La TID se refiere al gasto energético producido después del consumo de alimentos, y corresponde a la energía necesaria para la digestión, absorción, transporte, metabolismo y almacenamiento de los macronutrientes. La intensidad y la duración de la TID están determinadas por la cantidad y composición de los alimentos consumidos.

Kcal/día	Mujeres (10-18 años)
Gasto Metabólico basal	$(0,035 \times \text{peso (kg)} + 1,984 \times \text{talla (m)} + 0,837) \times 239$

W.N. Schofield Predicting basal metabolic rate, new standard and review of previous work Hum Clin Nutr, 39 (1985), pp.s5-s41

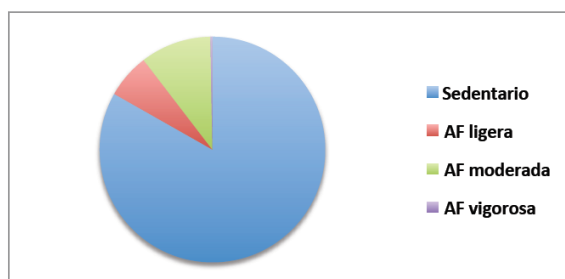
Gasto metabólico basal	Kcal	Gasto energético actividad física	Kcal	Gasto energético total	Kcal	Número de pasos diarios
Teórico:		Acelerómetro:		Acelerómetro:		

DISTRIBUCIÓN MEDIA DEL GASTO ENERGÉTICO TOTAL



GMB (Gasto metabólico basal), GAF (Gasto por actividad física), TIA (Termogénesis de los alimentos)

INTENSIDAD DE LA ACTIVIDAD FÍSICA REALIZADA



Puntos de corte	Contaje
Sedentario	0-99
Actividad física ligera	100-1951
Actividad física moderada	1952-5724
Actividad física vigorosa	> 5725

Contaje: Unidad de movimiento obtenida de la traducción y rectificación de la señal digital cuantificable (Gs) obtenida del cambio de aceleración del centro de masas en 3 ejes registrada por el acelerómetro. John D, Freedson P. Actigraph and Actical Physical Activity Monitors: A Peek under the Hood. Medicine and Science in Sport and Exercise. 2012;44,1: 86-89

RECOMENDACIONES GENERALES:

La Organización Mundial de la Salud (OMS) recomienda:

Para los niños y jóvenes en este grupo de edad, la actividad física consiste en juegos, deportes, desplazamientos, actividades recreativas, educación física o ejercicios programados, en el contexto de la familia, la escuela o las actividades comunitarias. Con el fin de mejorar las funciones cardiorrespiratorias y musculares y la salud ósea y de reducir el riesgo de enfermedades no transmisibles, se recomienda que:

- Los niños y jóvenes de 5 a 17 años inviertan como mínimo 60 minutos diarios en actividades físicas de intensidad moderada a vigorosa.
- La actividad física por un tiempo superior a 60 minutos diarios reportará un beneficio aún mayor para la salud.
- La actividad física diaria debería ser, en su mayor parte, aeróbica. Convendría incorporar, como mínimo tres veces por semana, actividades vigorosas que refuercen, en particular, los músculos y huesos.

Perfil nutricional.

PERFIL MACRONUTRIENTES:

Macronutriente	% recomendado	% obtenido
Hidratos de carbono	50-55	
Grasas	30-35	
Proteínas	10-15	

Sociedad Española de la Nutrición Comunitaria (SENC). 2011

INGESTA ENERGÉTICA DIARIA: KCAL

Recomendación:

Edad	Kilocalorías
12	2300
13-15	2500
16-19	2300

Moreiras et al. Tabla de composición de alimentos. 2015

Las necesidades energéticas están calculadas para una actividad moderada.

Para una actividad ligera reducir en un 10% y para actividad alta aumentarlas en un 20%

PERFIL LIPÍDICO:

Grasas	% recomendado	% obtenido
AGS	7-8	
AGM	20	
AGP	5	
AGP/AGS	≥0,5	
[AGP+AGM]/AGS	≥2	

Sociedad Española de la Nutrición Comunitaria (SENC). 2011

Estado de hidratación:

Agua corporal (l)	% agua referencia en mujeres 12-18 años	% agua obtenido
	56(49-63)	

Altman PL. Blood and Other Body Fluids. Washington, Federation of American Societies for Experimental Biology, 1961

BALANCE HÍDRICO= ml

El mantenimiento de un adecuado balance hídrico (diferencia neta entre el aporte y la pérdida de agua es esencial para la salud.



RECOMENDACIONES GENERALES:

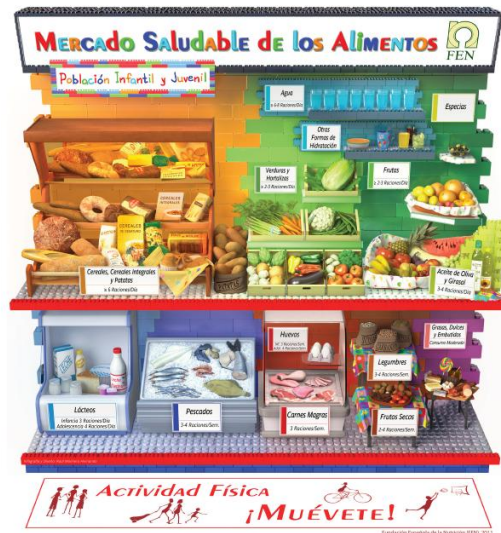


Figura 1: Mercado saludable de los Alimentos. FEN,2011.

La siguiente tabla muestra la frecuencia de consumo recomendada para los diferentes grupos de alimentos:

Grupos de alimentos	Frecuencia de consumo	Peso de la ración
Agua	8 raciones/día	200 ml
Cereales y patatas	≥ 6 raciones/día	40-80 g de pan 50-80 g de arroz, pasta 150-200 g de patatas 20-40 g de cereales
Verduras y hortalizas	≥ 2-3 raciones/día	150-200 g
Frutas	≥ 2-3 raciones/día	150-200 g
Aceite de oliva y girasol	3-4 raciones/día	10 ml
Lácteos	3-4 raciones/día	200-250 ml leche 125-250 ml yogur 40-60 g queso curado 80-125 g queso fresco
Pescados	3-4 raciones/semana	100-150 g
Carnes magras	3 raciones/semana	100-150 g
Huevos	3 raciones/semana	65-100 g
Legumbres	3-4 raciones/semana	60-80 g
Frutos secos	2-4 raciones/semana	20-30 g
Grasas dulces y embutidos	Consumo moderado	
Bebidas fermentadas	Consumo ocasional y moderado	

Grupos de alimentos, frecuencia de consumo y peso de las raciones incluidos en el Mercado Saludable de los Alimentos para la población general (Fundación Española de la Nutrición, FEN; 2011)

A continuación, se adjunta La Pirámide de la Hidratación Saludable elaborada por la Sociedad Española de Nutrición Comunitaria (SENC). Las bebidas ubicadas en la base deben ser de consumo habitual y frecuente y las situadas hacia el vértice de consumo esporádico u ocasional.



Figura 2: Pirámide de la Hidratación Saludable. SENC, 2015.

Grupo 1	➤ Aguas minerales, aguas de manantial o de grifo de bajo contenido salino
Grupo 2	➤ Aguas minerales o de grifo con mayor contenido salino ➤ Bebidas refrescantes sin azúcar/acalóricas ➤ Té o café sin azúcar
Grupo 3	➤ Bebidas con cierto contenido calórico y nutrientes de interés ➤ Zumos de frutas naturales ➤ Zumos de verduras (tomate, gazpacho...) y caldos ➤ Zumos comerciales a base de fruta 100% ➤ Leche o productos lácteos bajos en grasa sin azúcar ➤ Leche o productos lácteos con azúcar y sustitutos de leche ➤ Cerveza sin alcohol ➤ Bebidas para deportistas ➤ Té o café con azúcar
Grupo 4	➤ Bebidas refrescantes carbonatadas o no, endulzadas con azúcar, fructosa o equivalentes

APÉNDICE

Apéndice 1

Partearroyo T, Laja A, Varela-Moreiras G. Fortalezas y debilidades de la alimentación en la población española del siglo XXI. *Nutr Hosp* 2019;36 (Nº Extra 1): 3-6.



ISSN (electrónico): 1699-5198 - ISSN (papel): 0212-1611 - CODEN NUHOED S.V.R., 318

Nutrición Hospitalaria



Fortalezas y debilidades de la alimentación en la población española del siglo XXI *Strengths and weaknesses of food and diet in the Spanish population of the 21st century*

Teresa Partearroyo¹, Ana Laja¹ y Gregorio Varela-Moreiras^{1,2}

¹Departamento de Ciencias Farmacéuticas y de la Salud. Facultad de Farmacia. Universidad San Pablo-CEU, CEU Universities. Madrid. ²Fundación Española de la Nutrición (FEN). Madrid

Resumen

Introducción: en la actualidad, son precisamente los países mediterráneos, cuyo estilo de vida característico fue reconocido como paradigma de salud y promocionado al resto del mundo, los que se encuentran en situación de riesgo, en la que se hace necesario el desarrollo inmediato de estrategias que contribuyan a la adopción de hábitos saludables de vida.

Objetivos: revisar los patrones de la dieta actual en España, así como su evolución en los últimos años.

Métodos: revisión bibliográfica relacionada con el tema.

Resultados: los cambios en el estilo de vida que han ido introduciéndose poco a poco en los últimos años han propiciado una progresiva disminución en el consumo de cereales y derivados, patatas y legumbres, y un aumento de la ingesta de carnes rojas y derivados y de otras como las bebidas no alcohólicas. Desde el punto de vista nutricional, esta tendencia se ha traducido en un incremento de la dieta en grasa y proteínas, en detrimento de los hidratos de carbono complejos (y un incremento asociado de los azúcares totales, incluidos los añadidos). Al mismo tiempo, la población española, con independencia de la edad, muestra un comportamiento mayoritariamente sedentario. Todo lo anterior ha propiciado que España se encuentre en una situación preocupante, puesto que contamos con una de las tasas de prevalencia de obesidad infantil y juvenil más elevadas de toda Europa, fenómeno que también resulta grave en la población adulta.

Conclusiones: se constata la necesidad de favorecer la recuperación de nuestra cultura alimentaria, a través de la educación, y de volver a alimentarnos y a vivir de acuerdo con unos patrones que nos han mantenido protegidos durante generaciones, tratando de responder a la siguiente pregunta: si no hace tantos años llevábamos una alimentación que cumplía con las recomendaciones de dieta saludable, ¿qué nos impide volver a ella?

Palabras clave:

Nutrición, Dieta mediterránea, España, Estilos de vida, Hábitos alimentarios.

Abstract

Introduction: at present, it is precisely the Mediterranean countries whose characteristic lifestyle was recognized as a health paradigm and promoted to the rest of the world, those who are at mostly at risk, in which it becomes necessary the immediate development of strategies based on education that may contribute to the adoption of a healthier diet and lifestyle.

Objectives: to review the current dietary patterns in Spain, as well as its evolution in the last years.

Methods: review of the studies that have been published in relation to the subject.

Results: changes in the diet and lifestyle that have been introduced in recent years in Spain have led to a gradual decreased in the consumption of cereals and derivatives, potatoes and legumes, whereas an increase in the intake of meats and meat derivatives and non-alcoholic drinks has occurred. From the nutritional point of view, these trends resulted in an increase of the proportion of total fats (mainly saturated) and proteins (highly in those of animal origin) in the diet while complex carbohydrates have experienced a decrease (accompanied by a higher consumption of total sugars, including added ones). At the same time, the Spanish society should be considered as with a sedentary behavior. These facts have as one of the main negative consequences that Spain show one of the highest prevalence rates of childhood obesity in Europe, but also in adults.

Conclusions: in this context, there is a need to promote the recovery of our culture (Mediterranean diet), and to return to feed and live according to patterns that have kept us protected during generations of many diseases. In fact, it should be important to try to answer the following question: If not so many years ago we had a food model that fulfilled all the recommendations of a healthy diet, which are the main barriers at present from returning to it?

Key words:

Nutrition, Mediterranean diet, Spain, Lifestyle, Dietary habits.

Partearroyo T, Laja A, Varela-Moreiras G. Fortalezas y debilidades de la alimentación en la población española del siglo XXI. *Nutr Hosp* 2019;36(Nº Extra 1):3-6

DOI: <http://dx.doi.org/10.20960/nh.02685>

©Copyright 2019 SENPE y ©Arán Ediciones S.L. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-SA (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>).

Correspondencia:

Gregorio Varela-Moreiras. Departamento de Ciencias Farmacéuticas y de la Salud. Facultad de Farmacia. Universidad San Pablo-CEU, CEU Universities. Urbanización Montepríncipe, 28925 Alcorcón, Madrid e-mail: gvarela@ceu.es

INTRODUCCIÓN

Actualmente, las enfermedades crónicas no transmisibles (enfermedad cardiovascular, diabetes, hipertensión, dislipemia, enfermedades respiratorias, obesidad y cáncer) son, con mucho, la principal causa de muerte en el mundo, y su impacto aumenta continuamente, lo que las convierte en un gran problema de salud pública (1). Concretamente, la influencia que la dieta y el estilo de vida tienen en la aparición y desarrollo de dichas enfermedades es muy elevada (2), hecho que se ve reflejado en las consecuencias que han traído consigo los cambios ocurridos en los últimos tiempos.

En este sentido, desde que en la década de los cincuenta del pasado siglo se comprobó que la enfermedad cardiovascular no era tan prevalente en los países mediterráneos como en el norte de Europa y en América, se evidenció que la dieta mediterránea (DM) como la mejor solución a esta patología y a los factores de riesgo asociados.

El término DM (3) surgió con el fin de divulgar entre la población los patrones dietarios y la forma de vida propia de los países que rodean al mar Mediterráneo, responsables de la buena salud observada en estas regiones y reconocidos como paradigma de salud. El estudio, denominado de "los siete países", constituye históricamente el fundamento científico pionero de este concepto, posteriormente validado en numerosos estudios, entre los que se encuentra el reciente estudio en España PREDIMED (4) (*Estudio para la prevención primaria de las enfermedades cardiovasculares a través de la dieta mediterránea*), cuyos resultados muy positivos suponen que la preservación de la DM sea considerada como una "medida de salud pública de primer orden".

Sin embargo, lamentablemente, los hábitos alimentarios siempre han estado en continuo cambio, ligados a la evolución de los estilos de vida y, por supuesto, a la disponibilidad de alimentos. En este sentido, los hábitos alimentarios en el continente europeo han sufrido un cambio significativo durante los últimos años, lo que ha propiciado que la elección de alimentos sea menos variada y, por tanto, más monótona, y, asimismo, que haya una tendencia hacia una dieta cada vez más "occidental" (5), aunque con importantes diferencias regionales en cuanto a su evolución y consecuencias.

Como era de esperar, el notable progreso que ha vivido España en los últimos 40 años, tanto a nivel económico como en la proyección internacional, ha supuesto un cambio y una evolución en el patrón de consumo alimentario y de estilos de vida. Por tanto, la alimentación de los españoles cada vez se aleja más del concepto tradicional y probado de DM (6). Dicha evolución ha dado lugar a una nueva *forma de comer*, que se ve reflejada tanto en los alimentos que ingerimos y su frecuencia como en su forma de elaboración y consumo, los propios ritmos alimentarios y la convivialidad, así como en los propios estilos de vida.

Concretamente, el análisis de la variación en el índice de adecuación a la DM entre 1960 y el periodo comprendido entre los años 2000-2003 pone de manifiesto que los países que expresan una mayor disminución de este indicador son preci-

samente los países europeos bañados por el mar Mediterráneo (8). Paradójicamente, estos países tradicionalmente contaban con un estilo de vida único que les mantenía en buena medida protegidos de las patologías crónicas no transmisibles, reconocido además por la Unesco en el año 2010 como Patrimonio Inmaterial de la Humanidad, nuestro auténtico *legado* de cultura alimentaria.

EVOLUCIÓN DEL MODELO ALIMENTARIO EN ESPAÑA

Específicamente, entre los grupos de alimentos cuyo consumo ha evolucionado incrementándose en España entre 1964 y el presente, pueden resaltarse los de carne y derivados (84,4%) y los de frutas (83,3%), y entre los grupos en los que el consumo ha evolucionado de forma negativa encontramos las legumbres (73,4%) y los cereales y sus derivados (64,0%) (9). Estas modificaciones indican un alejamiento de la tradicional DM en las poblaciones del sur de Europa en las últimas décadas (10,11), ya que ha disminuido el consumo de grupos de alimentos típicos de esta zona (9,12), además del de azúcares refinados, refrescos azucarados y productos de bollería industrial (13).

Otra de las tendencias negativas hacia la que se mueven las dietas europeas es el aumento en el consumo de sal. Durante muchos años los homínidos consumieron una dieta que aportaba aproximadamente 0,25 g/día de sal. Sin embargo, en los últimos años el consumo se ha incrementado hasta alcanzar consumos medios muy parecidos a los del año 1870, año en el que se data su consumo máximo (14). En España, la ingesta media de sal es de aproximadamente unos 9,8 ± 4,6 g/día (15), casi el doble del máximo recomendado, que es de 5 g/día (2). No obstante, cabe resaltar que la cuantificación del consumo de sal y la ingesta estimada de sodio es uno de los aspectos más complicados en la valoración dietética. Aunque se estima que en las dietas europeas y norteamericanas aproximadamente el 10-12% de la ingesta de sodio se realiza de manera natural a través de su contenido en los alimentos, en una proporción similar se encuentra el que añadimos voluntariamente para el aliño (sal de salero), mientras que el 75% de la ingesta de sodio procede de los alimentos procesados (16,17).

Lo que es indudable es que la dieta va haciéndose cada vez más *salada*, y también más *dulce*, debido a la incorporación de más alimentos muy procesados y de los cambios en hábitos dietéticos. Concretamente, en el último informe del consumo de la alimentación en España 2017 (18), elaborado por el Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación, hay una tendencia hacia un consumo de platos preparados, que se ha incrementado en un 2,2% desde el año 2012. Datos preocupantes, si se tiene en cuenta que las últimas investigaciones científicas encuentran una relación entre el consumo significativo de alimentos ultraprocesados con una menor calidad y densidad nutricional de la dieta (19), así como con diversas patologías, como la hipertensión y el cáncer en general (20,21).

SITUACIÓN NUTRICIONAL Y ESTILOS DE VIDA EN ESPAÑA

Todo lo anterior se ha traducido, como es lógico, en importantes modificaciones en la calidad de la dieta y, especialmente, en el perfil calórico y lipídico. Específicamente, en el análisis de los datos de disponibilidad de macronutrientes desde el año 1964 hasta el año 2011 en España (22) puede observarse que la evolución de la dieta de los hogares españoles presenta una reducción a la contribución porcentual energética a partir de los hidratos de carbono complejos (no así en los sencillos), un aumento de la contribución de las proteínas (dos terceras partes de origen animal) y de las grasas saturadas y grasa total. Por otro lado, en la actualidad, el consumo medio de energía de la población española en el estudio ANIBES (9-75 años) es de 1810 kcal/día, que si se compara con los datos disponibles en el año 1964 resulta significativamente menor, ya que en ese año el consumo energético se encontraba en 3008 kcal por persona y día (23). Asimismo, los datos actuales del consumo de los diferentes macronutrientes de la población del estudio ANIBES nos indican que el consumo medio de grasas es del 38,5% de la ingesta energética diaria, el de hidratos de carbono es del 41,1% (de los que el 17,0% son azúcares totales y un 7,2% corresponden a azúcares añadidos) y el de proteínas es del 16,8 % (23). Datos que se alejan claramente del patrón de los años sesenta, cuando se observaba que la contribución de los diferentes macronutrientes a la ingesta energética era del 12% a partir de las proteínas, del 32% a partir de las grasas y del 53% a partir de los hidratos de carbono (24); es decir, ahora, los resultados se separan marcadamente de los actuales objetivos nutricionales para la población española (25), que nos indican que la ingesta total de grasa no debería superar el 30-35% de la ingesta energética diaria, los hidratos de carbono deben proporcionar el 50-55% y, asimismo, las proteínas deben proporcionar entre el 10-15% de la energía diaria consumida.

A todos estos cambios en los patrones alimentarios hay que sumar las modificaciones en los estilos de vida, caracterizadas por una marcada disminución de la actividad física. En España, en concreto, el 27,0% de los adultos y el 55,4% de la población infantil-juvenil no cumple con las recomendaciones internacionales de actividad física (26), hecho asociado a un marcado incremento del sedentarismo. Concretamente, en España se estima que un alto porcentaje de los niños y de los adolescentes (48,4%) tiene conductas sedentarias, que son mayoritarias durante los fines de semana (27), lo que ha propiciado, junto al inadecuado comportamiento alimentario, que los países mediterráneos se encuentren en una situación alarmante, puesto que expresan tasas de prevalencia de obesidad elevadas en niños y en jóvenes, y con una preocupante tendencia creciente. En concreto, aunque existe una marcada tendencia a una disminución de la ingesta energética en los últimos años, esto no ha repercutido, sin embargo, en menores tasas de prevalencia de obesidad en España. De hecho, las tasas de prevalencia de sobrepeso se encuentran en el 35,8% y 19,9%, respectivamente (28), y el 76,9% de los niños y adolescentes del estudio científico ANIBES sigue un patrón de estilo de vida poco saludable, con tasas

de prevalencia de sobrepeso y obesidad del 28,0% y del 8%, respectivamente (29).

Esta situación constituye un importante problema de salud pública, además de social, en el que se hace necesario y urgente planificar e implantar estrategias que contribuyan a la adopción de hábitos de alimentación más saludables, así como a un incremento de la actividad física, que favorezcan la recuperación de nuestra cultura alimentaria y estilo de vida mediterráneo, ya que existe abundante evidencia epidemiológica de los efectos beneficiosos que de ella derivan.

CONCLUSIONES

En resumen, es innegable que los cambios socioeconómicos producidos en las últimas décadas influyen inevitablemente nuestro estilo de vida. Por un lado, cabe destacar de manera muy positiva la enorme disponibilidad y accesibilidad alimentaria alcanzada en nuestro país, además de las tasas de seguridad alimentaria, de las más altas del mundo. Pero, al mismo tiempo, y considerando que el concepto "mediterráneo" expresa no tanto lo que comemos, sino cómo lo comemos, en los últimos tiempos hay datos preocupantes. Es una manera de pensar en la alimentación y de relacionarnos con ella y que, hasta cierto punto, aparte de aspectos estrictamente nutricionales, engloba un rango de valores necesario y alcanzable. Volver al concepto de dieta mediterránea hoy día significa promover un paradigma alimentario más respetuoso con las personas y con su salud, así como con el entorno medioambiental en el que vivimos.

BIBLIOGRAFÍA

1. World Health Organization. Enfermedades no transmisibles. Datos y cifras. World Health Organization; 2018.
2. World Health Organization. Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. Joint WHO/FAO Expert Consultation. WHO Technical Report Series nº 916. Geneva: World Health Organization; 2003.
3. Silvestre Castelló D. Conceptos y bases de la dieta mediterránea. En: Alonso Aperte E, Varela Moreiras G, Silvestre Castelló D, editores. ¿Es posible la dieta mediterránea en el siglo XXI? Madrid: International Marketing and Communication; 2011. pp. 30-7.
4. Estruch R, Martínez-González MA, Corbella D, et al. Effects of a Mediterranean-style diet on cardiovascular risk factors: a randomized trial. *Ann Intern Med* 2006; 145(1):1-11.
5. Kontogianni MD, Vidra N, Farmaki AE, et al. Adherence rates to the Mediterranean diet are low in a representative sample of Greek children and adolescents. *J Nutr* 2008;138(10):1951-6.
6. Contreras Sánchez J. Vivir en el Mediterráneo: antes y ahora. En: Alonso Aperte E, Varela Moreiras G, Silvestre Castelló D, editores. ¿Es posible la dieta mediterránea en el siglo XXI? Madrid: International Marketing and Communication; 2011. pp. 133-45.
7. Alberti A, Fruttini D, Fidanza F. The Mediterranean Adequacy Index: further confirming results of validity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2009;19(1):61-6.
8. Da Silva R, Bach-Faig A, Raidó Quintana B, et al. Worldwide variation of adherence to the Mediterranean diet, in 1961-1965 and 2000-2003. *Public Health Nutr* 2009;12(9A):1676-84.
9. Varela-Moreiras G. La dieta española, fortalezas y debilidades. *Nutr Clin Med* 2014;VIII(3):109-20.
10. Sofi F, Innocenti G, Dini C, et al. Low adherence of a clinically healthy Italian population to nutritional recommendations for primary prevention of chronic diseases. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2006;16(6):436-44.

11. Bonaccio M, Di Castelnuovo A, Bonanni A, et al. Decline of the Mediterranean diet at a time of economic crisis. Results from the Moli-sani study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2014;24(8):853-60.
12. Bibiloni MM, Martínez E, Lull R, et al. Western and Mediterranean dietary patterns among Balearic Islands' adolescents: Socioeconomic and lifestyle determinants. *Public Health Nutr* 2012;15:683-92.
13. Vareiro D, Bach-Faig A, Raidó Quintana B, et al. Availability of Mediterranean and non-Mediterranean foods during the last four decades: comparison of several geographical areas. *Public Health Nutr* 2009;12(9A):1667-75.
14. He FJ, MacGregor GA. A comprehensive review on salt and health and current experience of worldwide salt reduction programmes. *J Hum Hypertens* 2009;23(6):363-84.
15. Navia B, Aparicio A, Perea JM, et al. Sodium intake may promote weight gain: results of the FANPE study in a representative sample of the adult Spanish population. *Nutr Hosp* 2014;29(6):1263-9.
16. James WP, Ralph A, Sánchez-Castillo CP. The dominance of salt in manufactured food in the sodium intake of affluent societies. *Lancet* 1987;1(8530):426-9.
17. Mattes RD, Donnelly D. Relative contributions of dietary sodium sources. *J Am Coll Nutr* 1991;10(4):383-93.
18. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Informe del Consumo Alimentario en España 2017. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación; 2018.
19. Vandevijvere S, De Ridder K, Fiolet T, et al. Consumption of ultra-processed food products and diet quality among children, adolescents and adults in Belgium. *Eur J Nutr* 2018. [Epub ahead of print]
20. Fiolet T, Srour B, Sellem L, et al. Consumption of ultra-processed foods and cancer risk: results from NutriNet-Santé prospective cohort. *BMJ* 2018;360:k322.
21. Mendonça RD, Lopes AC, Pimenta AM, et al. Ultra-Processed Food Consumption and the Incidence of Hypertension in a Mediterranean Cohort: The Seguimiento Universidad de Navarra Project. *Am J Hypertens* 2017;30(4):358-66.
22. Varela-Moreiras G, Ruiz E, Valero T, et al. The Spanish diet: an update. *Nutr Hosp* 2013;28(Suppl.5):13-20.
23. Ruiz E, Ávila JM, Valero T, et al. Energy Intake, Profile, and Dietary Sources in the Spanish Population: Findings of the ANIBES Study. *Nutrients* 2015;7(6):4739-62.
24. Varela G, García D, Moreiras-Varela O. La nutrición de los españoles. Diagnósticos y recomendaciones. Madrid: Escuela Nacional de Administración Pública; 1971.
25. (SENC). Objetivos nutricionales para la población española. Consenso de la Sociedad de Nutrición Comunitaria 2011. *Rev Esp Nutr Comunitaria* 2011;17(4):178-99.
26. Mielgo-Ayuso J, Aparicio-Ugarriza R, Castillo A, et al. Physical Activity Patterns of the Spanish Population Are Mostly Determined by Sex and Age: Findings in the ANIBES Study. *PLoS One* 2016;11(2):e0149969.
27. Mielgo-Ayuso J, Aparicio-Ugarriza R, Castillo, et al. Sedentary behavior among Spanish children and adolescents: findings from the ANIBES study. *BMC Public Health* 2017;17(1):94.
28. López-Sobaler AM, Aparicio A, Aranceta-Bartrina J, et al. Overweight and General and Abdominal Obesity in a Representative Sample of Spanish Adults: Findings from the ANIBES Study. *Biomed Res Int* 2016;2016:8341487.
29. Pérez-Rodrigo C, Gil Á, González-Gross M, et al. Clustering of Dietary Patterns, Lifestyles, and Overweight among Spanish Children and Adolescents in the ANIBES Study. *Nutrients* 2015;8(1):pii:E11.

Apéndice 2.

Arpón A, Milagro FI, Laja A, Segura V, Sáenz de Pipaón M, Riezu-Boj JI, Martínez A. Methylation changes and pathways affected in preterm birth: a role for SLC6A3 in neurodevelopment. *Epigenomics* 2018; 10(1): 91-103.

Research Article

For reprint orders, please contact: reprints@futuremedicine.com

Epigenomics



Methylation changes and pathways affected in preterm birth: a role for SLC6A3 in neurodevelopment

Ana Arpón^{1,2}, Fermin I Milagro^{1,2,3}, Ana Laja⁴, Víctor Segura⁵, Miguel Sáenz de Pipaón^{6,7,8}, José-Ignacio Riezu-Boj^{1,2,9} & J Alfredo Martínez^{*,1,2,3,9,10}

¹Department of Nutrition, Food Sciences & Physiology, Universidad de Navarra, Irunlarrea 1, 31008 Pamplona, Spain

²Centre for Nutrition Research, Universidad de Navarra, Irunlarrea 1, 31008 Pamplona, Spain

³Spanish Biomedical Research Centre in Physiopathology of Obesity & Nutrition (CIBERObn), Institute of Health Carlos III, Madrid, Spain

⁴Department of Pharmaceutical & Health Sciences, Faculty of Pharmacy, CEU San Pablo University, Madrid, Spain

⁵Unit of Bioinformatics, Centre for Applied Medical Research (CIMA), Universidad de Navarra, Pamplona, Spain

⁶Neonatology Department, Hospital Universitario de la Paz, Madrid, Spain

⁷Instituto de Salud Carlos III, Red de Salud Materno Infantil y Desarrollo (SAMID), Madrid, Spain

⁸Department of Pediatrics, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, Spain

⁹Digestive disease and Nutrition group, Navarra Institute for Health Research (IdiSNA), Pamplona, Spain

¹⁰Madrid Institute of Advanced Studies (IMDEA), IMDEA Food, Madrid, Spain

* Author for correspondence: Tel.: +34 948 425 600; Fax: +34 948 425 740; jalfmtz@unav.es

[†] These authors share senior authorship

Aim: To analyze whether preterm newborns show differences in methylation patterns in comparison to full-term newborns in white blood cells. **Patients & methods:** Anthropometrical, biochemical features and methylation levels of preterm newborns (n = 24) and full-term newborns (n = 22) recruited in La Paz University Hospital (Spain) were assessed at 12 months of gestational age, whereas Bayley Scale of Infant Development was evaluated at 24/36 months. **Results:** From all the statistically significant CpGs, methylation levels of cg00997378 (*SLC6A3* gene) showed the highest differences (p < 0.0001), being associated with prematurity risk factors. **Conclusion:** *SLC6A3* methylation, previously related to attention-deficit/hyperactivity disorder, neuronal function and behavior, might be a potential epigenetic biomarker with value in the early diagnosis and management of neurodevelopmental diseases in newborns.

First draft submitted: 3 July 2017; Accepted for publication: 29 September 2017; Published online: 27 November 2017

Keywords: Bayley scale • epigenetics • full-term newborns • peripheral white blood cells • prematurity • preterm newborns • *SLC6A3*

Despite recent advances in healthcare, preterm births continue to be a major health issue [1]. Preterm newborns (PT) not only exhibit an increased risk of mortality and morbidity in infancy but also the risk of disabilities and developing chronic diseases into adulthood, such as hypertension, Type 2 diabetes, cardiovascular disease and obesity [1,2]. Furthermore, PT children have an increased risk of neurodevelopmental and behavioral disorders such as attention-deficit/hyperactivity disorder (ADHD) [1], cerebral palsy or specific learning and behavioral impairments [3]. The underlying molecular mechanisms involved in the higher likelihood of suffering these lifelong effects are still not clear, though epigenetics is probably contributing to a part of this increased risk [4].

Epigenetic mechanisms play a crucial role in fetal development [2,5]. During these stages, epigenetic programming is especially susceptible to environmental factors, including maternal nutrition and health behavior [4,6]. Alterations in the epigenome in these first steps of life can lead to an increased risk of later developing chronic diseases [2].

Epigenetics have been defined as the study of heritable changes that cannot be merely explained through variations in DNA nucleotide sequence but can result in alterations of gene expression [7], providing a connection among genetics, diseases and the environment [8]. DNA methylation is one of the most investigated epigenetic processes in mammals, primarily occurring in CG sites (CpGs) by the addition of a methyl group in the carbon 5' position

Future
Medicine

of a cytosine adjacent to a guanine [9]. Interestingly, temporal and tissue-specific gene expression is guided by DNA methylation during fetal development and tissue differentiation [1]. Furthermore, DNA methylation has been associated with gestational age [10,11]. Once born, DNA methylation is not permanent and may be influenced by drugs, nutrition, lifestyle, etc. [12].

Due to advances in perinatal medicine, the survival of preterm infants has increased considerably in the last years [1]. However, prematurity is accompanied by a risk of adverse neonatal outcomes. Modulation of gene expression through epigenetic mechanisms could play an important role in the development of neurological and metabolic diseases; however, to date, very few studies have been conducted in PT. The aim of this study was to determine epigenetic differences between PT and full-term newborns (FT), which could help to explain the adverse effects associated with prematurity.

Patients & methods

Study design & participants

This study involved a randomly selected group from a cohort of newborns from the neonatal unit of the La Paz University Hospital in Madrid, Spain, as a convenient sample for exploratory investigation. This group comprises 24 PT and 22 FT, who were controlled postnatally concerning nutritional and environmental conditions during the first 3 years. PT group includes newborns with a gestational age <34 weeks and <1500 g of body weight, which are classified as very low birth weight newborns, whereas FT had a gestational age >37 weeks. Only PT classified as very low birth weight were included since they are at higher risk of stress and nutrition deficit than other PT, which in turn may lead to perinatal complications through epigenetic mechanisms. Exclusion criteria were the presence of congenital diseases, chromosomal abnormalities and short bowel syndrome or others digestive disorders, where absorption of nutrients might be impaired. The local research ethics committee of the La Paz University Hospital approved the study and written informed consent was obtained from the parent(s).

Anthropometrical and body composition measurements including weight, length, head circumference (HC) and fat mass were recorded at 12 months following standardized protocols. A nude weight was obtained in duplicate using a Seca electronic infant scale accurate to the nearest 10 g (Seca 375, Hamburg, Germany) and length was obtained in duplicate on an infant length board to the nearest 0.1 cm (Seca 210, Hamburg, Germany). HC was measured to the nearest millimeter by using validated procedures. Fat mass was obtained with dual-energy x-ray absorptiometry following manufacturer's instructions (Lunar-DPX-MD; GE Healthcare, Chalfont St Giles, UK) and analyzed by using infant whole body analysis software (General Electric, Chalfont St Giles, UK).

Biochemical measurements recorded at 12 months included plasma glucose, total cholesterol, insulin, triglycerides, leptin, adiponectin, acylated ghrelin, IL-6 and cortisol, which were measured following validated procedures at the La Paz Hospital. Glucose was immediately quantified from blood samples by enzymatic methods in an autoanalyzer. Insulin was determined by radioimmunoassay (Diagnostic Products Corporation, CA, USA). The homeostatic model assessment of insulin resistance was calculated with the following formula: $[\text{glucose (mmol/l)} \times \text{insulin (mU/ml)}] / 22.5$. The rest of measurements were obtained from the medical records at the La Paz University Hospital in Madrid. Developmental outcomes were assessed at 24 months of gestational age using the Bayley scale of Infant Development version II (BSID-II) [13] and at 36 months using the BSID version III (BSID-III) [14]. Perinatal complications of PT such as periventricular leukomalacia, retinopathy, sepsis, chronic lung disease and intraventricular hemorrhage were recorded. Maternal and paternal data such as age, height, weight, BMI, educational level, smoking and presence of history of diabetes were collected at the La Paz University Hospital in Madrid.

Nutritional management entailed the following recommendations for PT: a supplement of elemental iron at 2 mg/kg per day starting at 2 months of age and extending through to 12 months of age; exclusive breastfeeding for a minimum of 4 months but preferably for 6 months, without supplementation after discharge; if human milk was not available, preterm formula was used until 3 months of age. Preterm formula was used only for infants with bronchopulmonary dysplasia. For FT, exclusive breastfeeding was also recommended for a minimum of 4 months but preferable for 6 months, and no iron supplementation was suggested. The iron requirements for toddlers (1–3 years of age) were presumed to be met with naturally iron-rich foods.

DNA extraction & methylation analysis

All products and reagents were purchased from Sigma-Aldrich (MO, USA) unless otherwise indicated. After overnight fasting, venous blood samples were obtained in ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) tubes at 12 months of age. Blood was transferred to other tubes and red blood lineage was lysed by adding cold water

(4°C) up to a total of 50 ml and gently mixing. Samples were centrifuged at $2000 \times g$, 4°C, 20 min. Supernatants were removed and pellets were washed and resuspended with 25 ml of 0.1% Igepal CA-630 to break membranes and centrifuged at $2000 \times g$ for 20 min at 4°C. Supernatants were discarded and pellets (nuclear fraction) were lysed with 3 ml of lysis buffer (10 mM Tris, 400 mM NaCl and 2 mM Na₂ EDTA). After this, 600 µl of Proteinase K solution (2 mg Proteinase K + 1 ml of 2 mM Na₂ EDTA and 1% SDS) and 200 µl of 10% SDS were added to samples and they were incubated at 60°C for 2 h or at 37°C overnight. Then, samples were tempered at room temperature and proteins were precipitated by vigorous mixing with 1 ml of saturated ammonium acetate solution (9.6 mol/l) for 15 s and resting 10 min at room temperature. Samples were centrifuged at $2000 \times g$ for 20 min. Supernatants were transferred to other tubes and DNA was precipitated with two volumes of absolute ethanol, recovered with a blunt and curve Pasteur pipette and dissolved in another tube with enough TE buffer (10 ml Tris-HCl [pH 8.0] and 1 mM EDTA [pH 8.0]) to reach a final concentration of 250 µg/ml. Isolated DNA of peripheral white blood cells samples were shipped on dry ice to Unidad de Genotipado y Diagnóstico Genético from Fundación Investigación Clínico de Valencia (INCLIVA), where microarray preparation, hybridization and scanning were performed. As previously described by Mansego *et al.*, DNA was quantified using PicoGreen double-stranded DNA Quantification Reagent (Invitrogen, CA, USA). EZ DNA Methylation Kit (Zymo Research, CA, USA) was used to bisulfite modification of 500 mg of genomic DNA according to the manufacturer's protocol [15]. Bisulfite-treated genomic DNA was amplified and hybridized using the Infinium HumanMethylation450 Bead-Chip (Illumina, CA, USA) and scanned using the Illumina hiScanSQ platform. The intensity of the images was extracted with the GenomeStudio Methylation Software Module following the instructions of the company (v 1.9.0, Illumina).

Treatment of methylation raw data

Microarray data were normalized (intracell type) using the Subset-quantile Within Array Normalization method to avoid the bias introduced by the Infinium type 2 probe design [16]. After data normalization, the magnitude of batch effects was assessed and corrected using the ComBat normalization method [17,18]. Differences in methylation resulting from differences in cellular heterogeneity were corrected by the Houseman method [19]. Linear Models for Microarray Data [20] for the R statistical software [21] were used to compute a F-statistic adjusted by sex. Raw p-values were adjusted with the Benjamini–Hochberg procedure.

Ingenuity Pathway Analysis

Out of all the significant CpGs obtained after Linear Models for Microarray Data analysis ($p < 0.05$), a number of them were selected in order to have an appropriate quantity of CpGs for obtaining relevant results in the analysis of canonical pathways by the Ingenuity Pathway Analysis (IPA) platform (Qiagen, CA, USA [22]). Due to the high number of tests performed in this study, type I error cannot be discarded. Therefore, in order to avoid this error, a stringent selection of CpGs with an effect size ≤ -4 or ≥ 4 and $B > 0$ was further implemented. The effect size represents the methylation for the CpG site. A positive value of effect size indicates hypermethylation of a CpG site and a negative value indicates hypomethylation. The B-value represents the log odds that the CpG is differentially methylated. A B-statistic of zero means the probability of the CpG being differentially methylated is equal to the probability that it is not differentially methylated [23]. Relevant gene regulatory networks for significant differentially methylated genes were determined. Network analyses were performed with the IPA's Core Analysis module. Significance values were calculated based on Fisher's exact test. A $p < 0.05$ was defined as a statistically significant over-representation of input genes in a given process, based on IPA threshold recommendations.

Statistical analyzes

Differences in anthropometric and biochemical features of participants as well as food consumption were explored using Student's *t*-test or Mann–Whitney U test, as appropriate. The Shapiro–Wilk test was used to test for normality and the statistically significant level was set at $p < 0.05$.

Correlations (Pearson or Spearman, as convenient) were calculated between CpG methylation and the different anthropometric, biochemical and neurodevelopmental variables. Multivariable regressions considering methylation and gestational age as independent variables were performed for each of the significant variables obtained after correlations.

CpGs with an effect size ≤ -4 or ≥ 4 and $B > 0$ were represented in a heat map created with the R software [21] using library `gplots` and `heatmap.2` function.

Table 1. Anthropometrical, biochemical and neurodevelopmental features and differences between preterm and full-term newborns.

Variable	PT (n = 24)	FT (n = 22)	p-value
Sex (women)	12 (50)	9 (41)	0.541
Gestational age (weeks) ¹	28.23 (0.52)	38.87 (0.25)	<0.001
Weight (g) ¹	8478 (1322)	9826 (1368)	0.039
Length (cm) ¹	72.85 (0.71)	76.24 (0.49)	<0.001
Cephalic perimeter (cm) ¹	45.84 (0.25)	47.27 (0.37)	0.003
Fat mass (g) ¹	1890 (667)	2555 (939)	0.279
Plasma glucose (mg/dl) ¹	74.58 (1.36)	74.24 (1.70)	0.874
Total cholesterol (mg/dl) ¹	159.08 (4.67)	144.86 (6.05)	0.066
Insulin (mcU/ml) ¹	2.38 (0.97)	2.71 (1.36)	0.461
Triglycerides (mg/dl) ¹	97.67 (6.97)	116.00 (13.20)	0.229
Leptin (ng/l) ¹	3.52 (1.44)	3.80 (1.95)	0.768
Adiponectin (µg/ml) ¹	22.82 (7.65)	23.18 (8.13)	0.889
Acylated ghrelin (pg/ml) ¹	65.70 (31.15)	77.25 (40.38)	0.182
IL-6 (pg/ml) ¹	2.29 (2.36)	3.68 (3.25)	0.391
Cortisol (µg/dl) ¹	12.09 (1.16)	11.87 (0.78)	0.878
HOMA-IR ²	0.66 (0.33)	0.51 (0.25)	0.284
BSID-II motor ³	82.78 (3.51)	104.09 (2.84)	<0.001
BSID-II mental ³	92.57 (4.88)	107.23 (2.89)	0.014
BSID-III cognitive ³	100.50 (10.50)	99.74 (5.89)	0.232
BSID-III language ³	103.70 (9.44)	104.79 (6.26)	0.425
BSID-III receptive language subscale ³	11.70 (0.22)	11.63 (0.38)	0.876
BSID-III expressive language subscale ³	9.05 (1.39)	9.47 (1.58)	0.597
BSID-III motor ³	94.60 (9.95)	96.11 (21.27)	0.152
BSID-III fine motor subscale ³	9.45 (0.34)	10.74 (0.30)	0.008
BSID-III gross motor subscale ³	8.70 (2.20)	8.42 (2.97)	0.432

Values are represented as mean (SD) except for Sex which is represented as n (%). Values measured at ¹12, ²24 or ³36 months. p-values were obtained by Student's t-test, median test or Mann-Whitney's U test, when appropriate, p < 0.05 was considered significant. BSID-II: Bayley Scale of Infant Development version II; BSID-III: Bayley Scale of Infant Development version III; FT: Full-term newborns; HOMA-IR: Homeostatic model assessment of insulin resistance; PT: Preterm newborns; SD: Standard deviation.

Statistical calculations and graphs were performed using STATA version 12.0 (Stata Corp, TX, USA) and GraphPad Prism 6 (Graph-Pad Software, CA, USA), respectively.

Results

Preterm newborns showed important changes in anthropometrical, biochemical & neurodevelopmental features

PT and FT showed expected differences in some anthropometrical, biochemical and neurodevelopmental features. Specifically, statistically significant differences were found in gestational age, weight, length, HC, the BSID-II motor scale, the BSID-II mental scale and the BSID-III fine motor subscale (Table 1). In all cases, the values of PT were lower than FT. Considering brain damage, seven PT showed periventricular leukomalacia and two of them also exhibited moderate-to-severe intraventricular hemorrhage (grades III and IV) as reported (Supplementary Table 1), although only one was considered pathological (BSID-II <70). Other perinatal complications were retinopathy (n = 7), sepsis (n = 6) and chronic lung disease (n = 11) as reported (Supplementary Table 1). Maternal and paternal data are described in Supplementary Table 1 for PT and Supplementary Table 2 for FT.

The most relevant differentially methylated CpGs were related to nervous system & general body development

Methylation data were analyzed by comparing the two groups of newborns (PT and FT) and a great number of significant CpGs were identified. The most relevant CpGs were selected by B>0 and effect size ≤-4 or ≥4, resulting in a total of 317 CpGs, corresponding to 232 genes according to the Illumina CG database. These

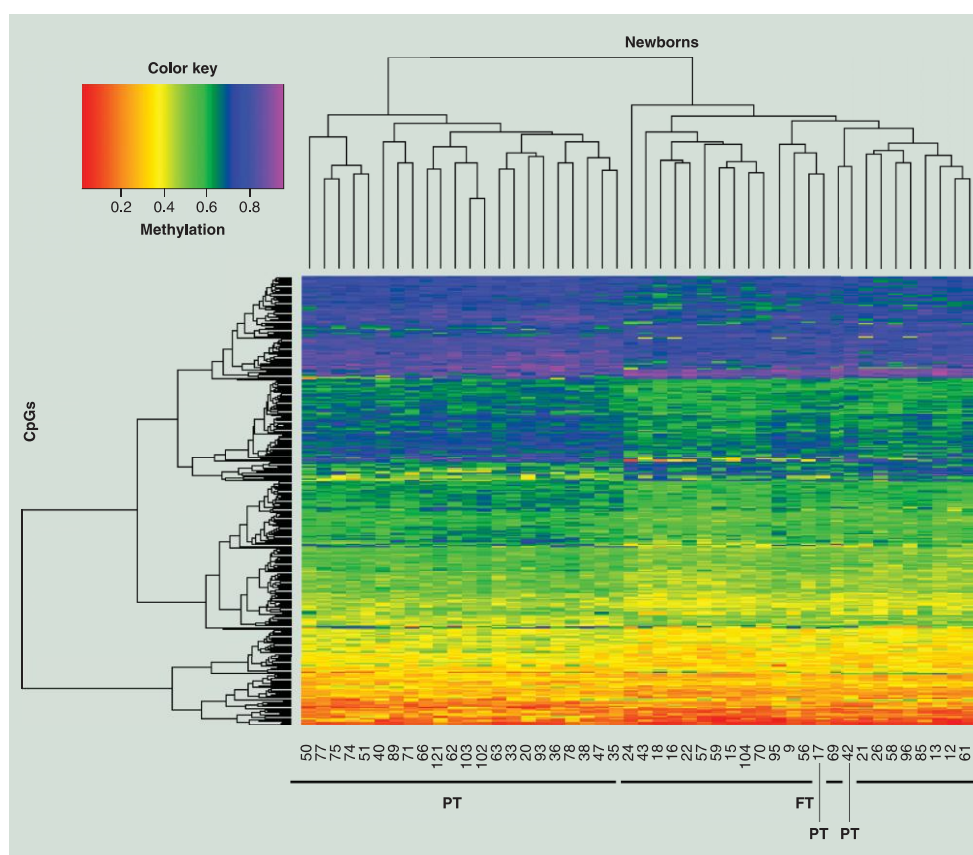


Figure 1. Heatmap of CpGs selected by effect size ≤ -4 or ≥ 4 and $B > 0$.

selected CpGs separated PT from FT as shown in the clusters, except for two PT that were grouped with FT (Figure 1). When these CpGs were screened by IPA, relevant gene regulatory networks were identified, in which highly significant genes were implicated (Table 2). Most of the identified networks were related to nervous system and general body development, such as neurological disease, cellular development, nervous system development and function, cardiovascular system development and function, tissue development or auditory and vestibular system development and function.

CpG cg00997378 showed the largest methylation differences between PT & FT

After this preliminary analysis, a search of specific CpGs with interesting functions was performed. The CpG cg00997378 was chosen as it showed the largest methylation differences between the two groups of newborns (p -value = $3.87E-11$, p -value adjusted with Benjamini–Hochberg = $1.51E-05$, $B = 14.63$) as reported (Figure 2). The CpG cg00997378 was located in 5' UTR of the corresponding gene named Solute Carrier Family 6 Member 3 (*SLC6A3*) in chromosome 5 (position: 1444260).

Table 2. Networks from Ingenuity Pathway Analysis obtained with a selection of CpGs with effect size ≤ -4 or ≥ 4 and $B > 0$.

Top diseases and functions	Score	Focus molecules	Molecules in network
Cancer, dermatological diseases and conditions, organismal injury and abnormalities	40	22	AGBL1, BSN, C2orf54, CACNB1, CERS1, CERS4, DES, FBXL22, GDF1, GIMAP5, HHIPL1, HLA-DQB2, HSPA7, KLHL35, miR-3689d (and other miRNAs w/seed GGAGGUG), miR-6081 (miRNAs w/seed GGAGCAG), miR-6742-3p (miRNAs w/seed CCUGGGU), OC90, PCDHA1, PCDHA2, PCDHA3, PCDHA4, PCDHA6, PCDHA7, PCDHA8, PCNX2, SOGA3, TEAD3, TMEM53, TP63, TRIML2, UBE2G2, UNC119B, voltage-gated calcium channel, WNK2
Molecular transport, hereditary disorder, metabolic disease	33	19	26 s Proteasome, ABCC1, ARHGAP27, CDH22, Ck2, DMTN, EP400, estrogen receptor, F actin, FOXR1, GTPase, HDAC, hemoglobin, HIF3A, HISTONE, Histone h3, Histone h4, HLCS, Hsp70, Hsp90, ISL1, KLF1, MAD1L1, NFkB (complex), Nr1h, PCDHA5, PREX1, Proinsulin, PTPRN2, RAB3C, SLC2A12, SLC6A19, TAP1, TRIM6, Ubiquitin
Cancer, dermatological diseases and conditions, organismal injury and abnormalities	33	19	AFAP1L1, AKR7A3, ANKRD33B, C10orf120, CHL1, CNTN6, DRAXIN, FAM83A, FAM91A1, GPR45, Hd-perinuclear inclusions, HSPA5, IL13, INS-IGF2, KIAA1024, KIAA1614, KIF6, KRTAP3-3, MC4R, MCSR, miR-3192-5p (miRNAs w/seed CUGGGAG), miR-4292 (and other miRNAs w/seed CCCUGG), miR-449b-3p (and other miRNAs w/seed AGCCACA), miR-4728-3p (miRNAs w/seed AUGGUA), MMR, NPFFR2, OPRK1, OR10AG1, phospholipase, PRR19, RWDD1, RXFP2, SAC3D1, SNCA, TMEM67
Cardiovascular system development and function, organ development and nervous system development and function	26	16	ADCY, ADRB, ALP, AMPK, ARHGAP35, atrial natriuretic peptide, CACNA1D, CAT, Cg, collagen type I, DDAH1, DIO2, ERK1/2, FSH, GNAI1, HRC, IFIT3, INSL3, KCNQ1, LDL, Lh, MAST1, NOS3, p70 S6k, PDGF BB, Pkg, PMAIP1, PP2A, PPP2R2C, PRKAA, PRLR, SLC6A3, Sod, Spectrin, TSH
Cellular development, nervous system development and function, tissue development	26	16	ALDH3B2, CAV3, CYP26B1, CYP4F11, DNASE1L1, FBXW8, GJD3, GXYLT2, H2AFB3 (includes others), HOXB5, JPH2, KDM3B, LGR6, LRRC15, MDGA1, miR-105-3p (miRNAs w/seed CGGAUGU), miR-1471 (miRNAs w/seed CCCGCGU), miR-3621 (miRNAs w/seed CGGGGUC), miR-4723-5p (and other miRNAs w/seed GGGGGAG), miR-572 (miRNAs w/seed UCCGUC), miR-6070 (miRNAs w/seed CGGUUC), miR-6125 (miRNAs w/seed CGGAAGG), miR-6741-3p (miRNAs w/seed CGGCUCU), NANOS2, NLGN2, NOL10, NPAS3, P2RY8, PALM, POT1, POU6F2, SLC8A1, TMEM151B, TMEM63C, ZNF512B
Developmental disorder, hereditary disorder, ophthalmic disease	26	16	ADAMTS17, ADAMTS19, ANKRD30B, AZIN2, C10orf71, DENND4B, DNAJB13, FBXL6, FCAR, GALNT10, GLI4, INLR1, IRX6, miR-6752-3p (miRNAs w/seed CCCUGCC), miR-6756-5p (and other miRNAs w/seed GGGUGGG), miR-6880-5p (miRNAs w/seed GGGUGGAG), MLLT1, MOGAT3, NEMP2, OR2F1, OR2F2, P2RX5, P116, PRPF40B, PRR34, PRSS36, PRX, RBAK-RBAKDN, REEP6, SNED1, SNX15, TMPRSS9, ZBTB38, ZDHHC24, ZNF554
Cellular movement, cancer, organismal injury and abnormalities	24	15	ABR, Akt, ALK, ALPI, ANGPLT2, Ap1, c-Src, calcineurin protein(s), calpain, COL5A3, collagen(s), G protein alpha, GP6, IgA, IgE, IgG, immunoglobulin, ITGB3, MHC, mir-15, MYO16, NFAT (complex), NFATC1, NR4A2, P38 MAPK, Pdgf (complex), PDGFD, PI3K (complex), PLC- γ , Rac, SEMA4B, SFLN12L, SYK/ZAP, TGF- β , TNFSF8
Cell death and survival, skeletal and muscular disorders, cancer	24	15	Actin, ARHGEF17, caspase, CBFA2T3, CD3, Creb, DLC1, ERK, focal adhesion kinase, GNMT, Gpcr, Gsk3, IGF2, IL12 (complex), insulin, IFN- α , Jnk, Mapk, MAPK4, MCF2L, NCF4, NRXN1, NXPH3, Pka, Pkc(s), RABEP1, Ras homolog, SH3BP5, SRC (family), TCR, TNF (family), TP73, TRIM6-TRIM34, TSPAN9, VEGF
Cell-to-cell signaling and interaction, cellular assembly and organization and cellular development	22	14	AP2A2, APP, BEND2, CALML4, CCZ1/CCZ1B, DENND1C, EBF4, FANCM, GLB1L, HERC6, HIGD2A, KCNAB3, KIAA1217, KIAA1841, KIF1A, KIFC3, KNTC1, LENG1, LMCD1, MAP6, miR-8056 (miRNAs w/seed GUGGAUU), Na-k-ATPase, PRRC1, PRSS3, RALGAP5, RASAL1, RP2, RSRC2, SIX2, SPATS2, TBGD, TUBA8, TUBB6, ZCCHC12, ZNF483
Cell death and survival, auditory and vestibular system development and function, cellular growth and proliferation	20	13	AFAP1, ARHGAP25, C2orf27A/C2orf27B, CTNBN1, CTNNB-LEF1, FGF20, FGF18/20, HILPDA, HLA-DQA2, HRNR, IL7R, KCNQ1OT1, LYNX1, miR-4765 (miRNAs w/seed GAGUGAU), miR-6509-5p (miRNAs w/seed UUAGGUA), MYC, NFKBIA, NLRP14, NOM1, PCBD1, Pdlim3, RMST, Scf TrCP beta, SOX2, Sprr1b, Sprr2a1/Sprr2a2, Sprr2b, Sprr2c, Sprr2e, Sprr2f, Sprr2g, Sprr2i, Sprr2k, TCF4-CTNNB, TLL2, β -catenin-BCL9-PYGO-TCF/LEF
Hereditary disorder, neurological disease, organismal injury and abnormalities	18	12	3',5'-cyclic-GMP phosphodiesterase, ACKR1, ADORA3, AHNAK, DHR57, DRD3, DRD4, EGFR ligand, endothelin receptor, ERBB2, ERIC1, EWSR1, FAM118A, G protein alpha, G-protein gamma, GLRX3, GNAI1, LCE2C/LCE2D, mGluR, miR-708-3p (miRNAs w/seed AACUAGA), MTNR1A, MTNR1B, OBSCN, PCNA, PKD1L2, POLI, PTGER1, RGS20, RNA polymerase II, SMAD4, SMC4, SUMO-Ubc9 E2, TTC32, YY1, ZNF8
Dermatological diseases and conditions, hereditary disorder, immunological disease	10	8	ADGRE2, ADGRE3, CELSR1, CFAP74, CPPED1, ELAC2, FFAR3, fibrin, GADD45GIP1, gamma tubulin, GTPBP10, HTR1E, LBX2, MCM8, miR-877-5p (and other miRNAs w/seed UAGAGGA), miR-939-3p (miRNAs w/seed CCUGGGC), MLNR, MMP16, MRPL17, MRPL47, MRPL53, MRPL55, MRPS30, Mt-mmp, NDUFB8, PGA5 (includes others), Pik3r, RB1, SLC12A4, SLC16A13, SLC52A2, TGM2, transglutaminase, WFDC10A, ZNF566

SLC6A3 is indicated in bold.

Methylation changes in cg00997378 were associated with prematurity risk factors

The methylation level of cg00997378 in PT was significantly higher than in FT (Figure 3). The association between methylation and gestational age was statistically significant (Figure 4A). There was also a significant negative association between methylation and some studied variables such as triglycerides, BSID-II motor and

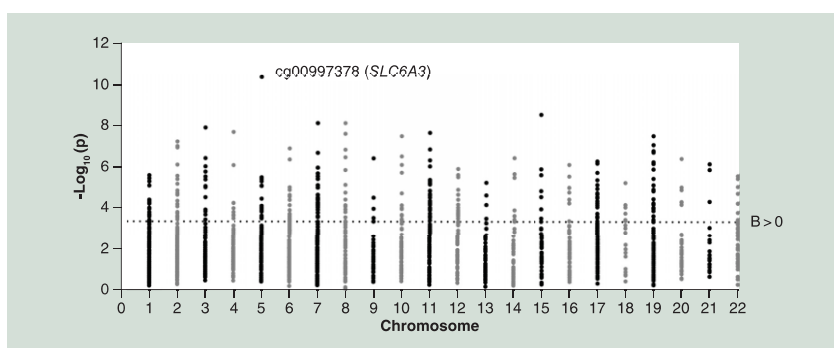


Figure 2. Manhattan plot of CpGs selected by effect size ≤ -4 or ≥ 4 in each chromosome. Points above the horizontal line are $B > 0$ ($-\log_{10}(p) = 3.40$).

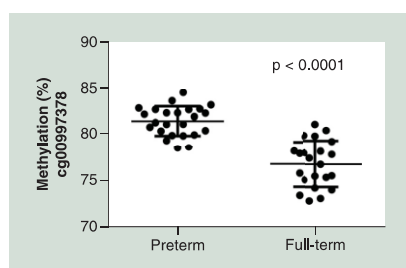


Figure 3. Differences in methylation of cg00997378 (SLC6A3) between preterm and full-term newborns. Lines in the distribution represent mean and SD. Two-tailed p-value was calculated using Student's t-test. $p < 0.05$ was considered significant.

Table 3. Regression values (coefficient and p-value) for cg00997378 methylation in relation to different descriptive variables, adjusted by sex.

Variables	Simple linear regression				Multiple linear regression			
	Methylation		Gestational age		Methylation		Gestational age	
	Coefficient	p-value	Coefficient	p-value	Coefficient	p-value	Coefficient	p-value
Triglycerides (mg/dl)	-6.74	0.003	1.37	0.290	-11.65	0.001	-3.52	0.050
BSID-II motor	-3.25	<0.001	2.11	<0.001	-0.91	0.387	1.73	0.005
BSID-II mental	-2.70	0.005	1.38	0.010	-1.90	0.177	0.59	0.443

$p < 0.05$ was considered significant.
BSID-II: Bayley Scale of Infant Development version II.

BSID-II mental (Figure 4B–D), displaying r-coefficients of -0.44, -0.55 and -0.44, respectively, corresponding to p-values of 0.0026, 0.0001 and 0.0028, respectively.

The methylation level of cg00997378 was associated with descriptive clinical variables that were different between PT and FT as explained before (Table 1 & Figure 4). Simple and multiple linear regressions adjusted by sex were performed between each one of these measurements as dependent variables and methylation or/and gestational age as independent variables (Table 3) in order to elucidate whether these associations were due to changes in methylation or in gestational age. When comparing simple versus multiple linear regressions results, triglycerides showed a significantly association with cg00997378 methylation in both types of regression, but not with gestational age. Furthermore, the BSID-II motor score showed a significant association with both cg00997378 methylation

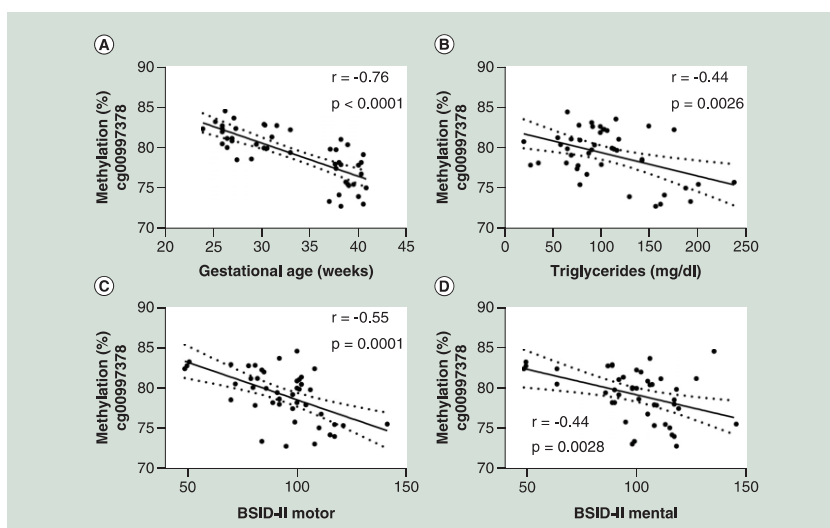


Figure 4. Statistically significant correlation graphs representing the association between methylation of cg00997378 (*SLC6A3*) with descriptive variables. Dot lines on both sides of the solid line (linear regression for correlation) represent 95% confidence band. Correlation tests used were Pearson or Spearman, when appropriate. BSID-II: Bayley scale of infant development version II.

and gestational age in the simple linear regression model, but it remained significant for gestational age only in the multiple linear regression model. In the case of the BSID-II mental score, methylation and gestational age were significantly associated with this score in simple linear regressions. However, multiple linear regression revealed no association with either of them. The coefficients for methylation changed from -2.70 to -1.90, while the coefficient for gestational age changed from 1.38 to 0.59.

Discussion

The present study demonstrates that PT and FT exhibit differences in the methylation patterns of a number of genes in peripheral white blood cells, mainly related to nervous system functions and general body development. The CpG with the largest methylation difference between both groups was cg00997378 (*SLC6A3* gene). In this study, *SLC6A3* methylation has been associated with triglycerides, BSID-II motor and BSID-II mental scores. Furthermore, multiple linear regression analysis suggest a possible influence of *SLC6A3* methylation and gestational age on neurodevelopment assessed by BSID-II mental scale and a relation between *SLC6A3* methylation and triglyceride levels.

Prematurity involves being born before being physically ready for autonomous life [24]. Indeed, this study showed differences between PT and FT in physical and neurodevelopmental characteristics. This developmental immaturity can lead to an increased risk of suffering health problems later in life such as intellectual impairment, cerebral palsy, cardiovascular diseases, obesity, chronic lung disease, vision and hearing loss among others [1,3]. Indeed, one of the PT suffered from pathological brain damage since it exhibit periventricular leukomalacia [25], grade IV intraventricular hemorrhage [26] and BSID-II <70 [27].

Maternal risk factors can contribute to preterm delivery [28] and changes in the offspring methylation [4]. Spontaneous preterm birth is influenced by age at pregnancy, pregnancy spacing, multiple pregnancies, infections, underlying maternal chronic medical conditions, nutritional factors, lifestyle (alcohol and smoking) and physiological status [28]. Methylation in the offspring is also affected by nutritional factors, lifestyle or stress [4]. Some PT mothers were smokers, reported diabetes during pregnancy and they had a wide range of BMIs (from 17.6 to

32.4 kg/m²). However, some FT mothers also exhibited these features. Spontaneous preterm birth is a multifactorial process; therefore, these factor risks might have played a role in PT mothers and in the offspring methylation, whereas this may not be the case in FT birth.

DNA methylation has been associated with gestational age [10,11]. In fact, previous studies have demonstrated methylation differences between PT and FT in several genes. For instance, in comparison with FT, lower methylation levels on the *IGF2* in PT have been reported in buccal samples [29]. This gene also showed methylation differences between PT and FT in the current study (cg15168906 and cg04057455). Moreover, Kantake *et al.* described that glucocorticoid receptor promoter methylation at postnatal day 4 was larger in PT than in FT in peripheral white blood cells [30]. Another study showed larger methylation levels of *MC4R* and *HNF4α* in cord blood samples from PT than in those from FT [31]. Neural function-related genes were also reported to be differentially methylated between PT and FT in saliva samples [32]. Thus, the differences in methylation may be associated with the adverse effects that PT may manifest in their development.

In the current study, PT and FT evidenced methylation differences in more than 300 relevant CpGs (effect size ≤ -4 or ≥ 4 and $B > 0$). These genes are involved in several pathways, most of them related to general body development, including nervous system development and function, cardiovascular system development and function, tissue development or auditory and vestibular system development and function.

The CpG cg00997378 showed the largest differences between both PT and FT. This CpG site is strongly associated with active chromatin sites including DNase hypersensitivity sites and activates histone H3k27ac in a wide range of cell lines (USCS Genome Browser). The cg00997378 is located at 5'UTR of *SLC6A3* according to the Illumina CG database, possibly affecting its expression. Actually, *SLC6A3* encodes a dopamine transporter, belonging to the sodium- and chloride-dependent neurotransmitter transporter family [33].

Interestingly, *SLC6A3* methylation showed an association with triglycerides, the BSID-II motor and BSID-II mental scales. When multiple linear regression analyses were performed for these variables, p-values were significant with methylation for the variable triglycerides and with gestational age for the BSID-II motor scale. However, simple linear regressions were significant with both variables for the BSID-II motor scale and only with methylation in the case of triglycerides. Intriguingly, both methylation and gestational age seemed to have an effect on the BSID-II mental scale since both coefficients in multiple linear regression were decreased (30% for methylation and 57% for gestational age), while both variables were significantly associated in simple linear regressions. Therefore, it is likely that *SLC6A3* methylation is related to triglyceride levels and neurodevelopment.

On one hand, the dopaminergic system is involved in food reward, which regulates food intake [34]. *SLC6A3* (dopamine transporter DAT-1) methylation changes may be related to triglyceride levels, as they directly affect cognitive and reward processes, contributing to obesity [35], which has been described as a prematurity risk [1]. On the other hand, dopamine has been intimately related to neurological and behavioral disorders such as Parkinson [36], Tourette syndrome [37], depression [38], behavioral impairments [39] and specially, ADHD. In particular, ADHD patients seem to have a reduced cortical dopamine or dopaminergic dysregulation [40,41]. In addition, a low score on the Bayley Mental Scale has been associated with ADHD [42]. Therefore, *SLC6A3* methylation may have a role in neurodevelopment, which may lead to neurologic differences between PT and FT, such as future adverse effects of prematurity-like behavioral problems and ADHD [1].

Methylation changes in *SLC6A3* have been previously described, since it has high sensitivity to epigenetic regulation [43]. For instance, *SLC6A3* methylation has been correlated with age within ADHD patients [44] and involved in the modulation of the response to methylphenidate treatment in ADHD [40]. On the other hand, Vucetic *et al.* demonstrated that maternal consumption of a high-fat diet can change DNA methylation of the offspring in association with long-term alterations in gene expression (*SLC6A3*) and behavior (preference for palatable foods) [45]. Furthermore, methylation of this gene has been found to be altered by alcohol exposure during pregnancy [46].

SLC6A3 appeared in IPA networks related to cardiovascular system development and function, organ development and nervous system development and function. Among the genes of this network, there were 14 that appeared differentially methylated between PT and FT when using the selection criteria by $B > 0$ and effect size ≤ -4 or ≥ 4 . Interestingly, 13 of them were also associated with BSID scores (Supplementary Table 3). The fact that there were several differentially methylated genes involved in those pathways and related to neurodevelopment suggests an interconnection among them. In addition, other networks related to general body development involving differentially methylated genes were identified in IPA analysis. Thus, methylation was not singular since several genes

seemed to be affected, probably creating a network of changes in gene expression that could influence the development of the newborn. Indeed, the finding that methylation of several genes involved in neurodevelopment were conjointly affected offers a unique perspective to understand our hypothesis that epigenetic signature is implicated in gene expression and function.

The present investigation was not devoid of limitations such as the sample size, which was relatively low, increasing the probability for type II error. However, the sample involves a highly specific population. In addition, peripheral white blood cells were used, which are not part of a tissue related to neurodevelopment. However, it has been demonstrated that these cells can act as a surrogate for other tissues that are less accessible but clinically important, such as the brain [47,48].

Further analysis of methylation changes in time would be interesting in order to determine if the differences are maintained or even other variations appear. In addition, investigating mRNA levels would also allow to elucidate whether methylation changes were affecting the expression of *SLC6A3*, unfortunately no samples were available. The use of alternative techniques and replication of the results in other populations would allow validating the present results. However, *SLC6A4*, paralog of *SLC6A3* that encodes for a serotonin receptor, evidenced a similar trend when measured by pyrosequencing [49]. Finally, the cross-sectional feature of this research does not allow to set up causal inferences, neither consequences, but it appears that gestational age is important when interpreting the experimental outcomes in relation to *SLC6A3* methylation changes.

As a conclusion, this study shows that prematurity could contribute to differential methylation in peripheral white blood cells. Specifically, important methylation changes occur in *SLC6A3*, a gene that has been previously related to ADHD. Therefore, some of the prematurity adverse effects such as neurodevelopmental impairment could be mediated by epigenetic modifications. *SLC6A3* might be a potential epigenetic biomarker with value in the early diagnosis of neurological diseases, in order to identify susceptible individuals and develop preventive and therapeutic measures. Further studies are necessary to confirm the interaction between gestational age as a cause of the changes or a causal role for *SLC6A3* and genes related with this pathologic pathway.

Summary points

- This group of preterm newborns showed lower values of weight, length, cephalic perimeter, Bayley Scale of Infant Development (BSID) version II motor and mental scales and version III fine motor subscale.
- More than 300 relevant CpGs showed a differential methylation pattern between both groups of newborns in peripheral white blood cells.
- Those CpGs were related to nervous system and general body development.
- cg00997378 showed the largest methylation changes between both groups of newborns.
- cg00997378 methylation level is negatively associated with triglyceride levels and the BSID version II motor and mental scales.
- The BSID version II motor scale is mainly influenced by gestational age, whereas triglycerides by cg00997378 methylation. The BSID version II mental scale appears to be influenced by both gestational age and cg00997378 methylation.
- Prematurity could contribute to differential methylation pattern in peripheral white blood cells.
- Some of the prematurity adverse effects such as neurodevelopmental impairment may be mediated by epigenetic modifications in genes, such as *SLC6A3*.

Supplementary data

To view the supplementary data that accompany this paper please visit the journal website at: www.futuremedicine.com/doi/full/10.2217/epi-2017-0082

Acknowledgements

The authors are grateful to E Almiron-Roig (visiting scientist at MRC Elsie Widdowson Laboratory, Cambridge, UK) for reviewing the manuscript prior to submission.

Financial & competing interests disclosure

Authors are very grateful to CIBERobn (CB12/03/30002 to JA Martínez) and MINECO (AGL 2013–45554-R to JA Martínez and FI Milagro; FIS PI041631 and PI16/00606 to M Sáenz de Pipaón) for financial help and scientific support. A Arpón was supported by

a 'Formación de Profesorado Universitario' fellow from Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (FPU15/02790). The authors have no other relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript apart from those disclosed.

No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.

Ethical conduct of research

The local research ethics committee of the La Paz University Hospital approved the study and written informed consent was obtained from the parent(s).

References

Papers of special note have been highlighted as: ● of interest; ●● of considerable interest

1. Parets SE, Bedient CE, Menon R, Smith AK. Preterm birth and its long-term effects: methylation to mechanisms. *Biology (Basel)* 3(3), 498–513 (2014).
- **An overview of the relationship between prematurity and DNA methylation.**
2. Agha G, Hajj H, Rifas-Shiman SL *et al.* Birth weight-for-gestational age is associated with DNA methylation at birth and in childhood. *Clin. Epigenetics* 8, 118 (2016).
3. Blencowe H, Lee AC, Cousens S *et al.* Preterm birth-associated neurodevelopmental impairment estimates at regional and global levels for 2010. *Pediatr. Res.* 74(Suppl. 1), 17–34 (2013).
- **A wide summary of neurodevelopmental impairments associated with prematurity.**
4. Knight AK, Smith AK. Epigenetic biomarkers of preterm birth and its risk factors. *Genes (Basel)* 7(4), pii: E15 (2016) (Epub ahead of print).
- **A review of the relationship between environmental risk factors and DNA methylation in preterm newborns.**
5. Casanello P, Krause BJ, Castro-Rodriguez JA, Uauy R. Fetal programming of chronic diseases: current concepts and epigenetics. *Rev. Chil. Pediatr.* 86(3), 135–137 (2015).
6. Geraghty AA, Lindsay KL, Alberdi G, McAuliffe FM, Gibney ER. Nutrition during pregnancy impacts offspring's epigenetic status – evidence from human and animal studies. *Nutr. Metab. Insights* 8(Suppl. 1), 41–47 (2015).
7. Rozek LS, Dolinoy DC, Sartor MA, Omenn GS. Epigenetics: relevance and implications for public health. *Annu. Rev. Public Health* 35, 105–122 (2014).
8. Corella D, Ordovas JM. Biomarkers: background, classification and guidelines for applications in nutritional epidemiology. *Nutr. Hosp.* 31(3), 177–188 (2015).
9. Tammen SA, Friso S, Choi SW. Epigenetics: the link between nature and nurture. *Mol. Aspects Med.* 34(4), 753–764 (2013).
10. Parets SE, Conneely KN, Kilaru V *et al.* Fetal DNA methylation associates with early spontaneous preterm birth and gestational age. *PLoS ONE* 8(6), e67489 (2013).
11. Schroeder JW, Conneely KN, Cubells JC *et al.* Neonatal DNA methylation patterns associate with gestational age. *Epigenetics* 6(12), 1498–1504 (2011).
- **Association between gestational age and DNA methylation in some genes from umbilical cord blood samples.**
12. Lillycrop KA, Burdge GC. Environmental challenge, epigenetic plasticity and the induction of altered phenotypes in mammals. *Epigenomics* 6(6), 623–636 (2014).
13. Bayley N. *Bayley Scales of Infant Development*. Psychological Corporation, TX, USA (1993).
14. Bayley N. *Bayley Scales of Infant and Toddler Development*. Harcourt Assessment, Inc., TX, USA (2006).
15. Mansego ML, Milagro FI, Zulet MA, Moreno-Aliaga MJ, Martinez JA. Differential DNA methylation in relation to age and health risks of obesity. *Int. J. Mol. Sci.* 16(8), 16816–16832 (2015).
16. Maksimovic J, Gordon L, Oshlack A. SWAN: subset-quantile within array normalization for illumina infinium HumanMethylation450 BeadChips. *Genome Biol.* 13(6), R44 (2012).
17. Teschendorff AE, Zhuang J, Widschwendter M. Independent surrogate variable analysis to deconvolve confounding factors in large-scale microarray profiling studies. *Bioinformatics* 27(11), 1496–1505 (2011).
18. Johnson WE, Li C, Rabinovic A. Adjusting batch effects in microarray expression data using empirical Bayes methods. *Biostatistics* 8(1), 118–127 (2007).
19. Houseman EA, Accomando WP, Koestler DC *et al.* DNA methylation arrays as surrogate measures of cell mixture distribution. *BMC Bioinformatics* 13, 86 (2012).
20. Smyth GK. LIMMA: linear models for microarray data. In: *Bioinformatics and Computational Biology Solutions Using R and Bioconductor*. Gentleman R, Carey VJ, Huber W, Irizarry RA, Dudoit S (Eds). Springer, NY, USA, 397–420 (2005).
21. Team R. RStudio: integrated development for R. www.rstudio.com/

22. Qiagen. www.ingenuity.com
23. Martino D, Saffery R. Characteristics of DNA methylation and gene expression in regulatory features on the Infinium 450k Beadchip. *bioRxiv* doi:10.1101/032862 (2015) (Epub ahead of print).
24. Stoll BJ, Hansen NI, Bell EF *et al.* Trends in care practices, morbidity, and mortality of extremely preterm neonates, 1993–2012. *JAMA* 314(10), 1039–1051 (2015).
25. Deng W, Pleasure J, Pleasure D. Progress in periventricular leukomalacia. *Arch. Neurol.* 65(10), 1291–1295 (2008).
26. Bolisetty S, Dhawan A, Abdel-Latif M *et al.* Intraventricular hemorrhage and neurodevelopmental outcomes in extreme preterm infants. *Pediatrics* 133(1), 55–62 (2014).
27. Jary S, Whitelaw A, Walloe L, Thoresen M. Comparison of Bayley-2 and Bayley-3 scores at 18 months in term infants following neonatal encephalopathy and therapeutic hypothermia. *Dev. Med. Child Neurol.* 55(11), 1053–1059 (2013).
28. Blencowe H, Cousens S, Chou D *et al.* Born too soon: the global epidemiology of 15 million preterm births. *Reprod. Health* 10(Suppl. 1), S2 (2013).
29. Piyasena C, Cartier J, Khulan B *et al.* Dynamics of DNA methylation at IGF2 in preterm and term infants during the first year of life: an observational study. *Lancet* 385(Suppl. 1), S81 (2015).
30. Kantake M, Yoshitake H, Ishikawa H, Araki Y, Shimizu T. Postnatal epigenetic modification of glucocorticoid receptor gene in preterm infants: a prospective cohort study. *BMJ Open* 4(7), e005318 (2014).
31. Kwon EJ, Lee HA, You YA *et al.* DNA methylations of MC4R and HNF4alpha are associated with increased triglyceride levels in cord blood of preterm infants. *Medicine (Baltimore)* 95(35), e4590 (2016).
32. Sparrow S, Manning JR, Cartier J *et al.* Epigenomic profiling of preterm infants reveals DNA methylation differences at sites associated with neural function. *Transl. Psychiatry* 6, e716 (2016).
- **DNA methylation differences between preterm and full-term newborns in genes association with neural function.**
33. Weizmann Institute of Science. GeneCards Human Gene Database. www.genecards.org
34. Fontana C, Vitolo MR, Campagnolo PD, Mattevi VS, Genro JP, Almeida S. DRD4 and SLC6A3 gene polymorphisms are associated with food intake and nutritional status in children in early stages of development. *J. Nutr. Biochem.* 26(12), 1607–1612 (2015).
35. Cansell C, Luquet S. Triglyceride sensing in the reward circuitry: a new insight in feeding behaviour regulation. *Biochimie* 120, 75–80 (2016).
36. Habak C, Noreau A, Nagano-Saito A *et al.* Dopamine transporter SLC6A3 genotype affects cortico-striatal activity of set-shifts in Parkinson's disease. *Brain* 137(Pt 11), 3025–3035 (2014).
37. Yoon DY, Rippel CA, Kobets AJ *et al.* Dopaminergic polymorphisms in Tourette syndrome: association with the DAT gene (SLC6A3). *Am. J. Med. Genet. B Neuropsychiatr. Genet.* 144B(5), 605–610 (2007).
38. Huang CC, Lu RB, Shih MC, Yen CH, Huang SY. The dopamine transporter gene possibly affects personality traits in patients with early-onset major depressive disorder. *Acta Neuropsychiatr.* 25(4), 227–234 (2013).
39. Qadeer MI, Amar A, Mann JJ, Hasnain S. Polymorphisms in dopaminergic system genes; association with criminal behavior and self-reported aggression in violent prison inmates from Pakistan. *PLoS ONE* 12(6), e0173571 (2017).
40. Ding K, Yang J, Reynolds GP *et al.* DAT1 methylation is associated with methylphenidate response on oppositional and hyperactive-impulsive symptoms in children and adolescents with ADHD. *World J. Biol. Psychiatry* 18(4), 291–299 (2016).
41. Bidwell LC, Willcutt EG, McQueen MB *et al.* A family based association study of DRD4, DAT1, and 5HTT and continuous traits of attention-deficit hyperactivity disorder. *Behav. Genet.* 41(1), 165–174 (2011).
- **Association between SLC6A3 and attention deficit and hyperactivity disorder.**
42. Espirito Santo JL, Portuguez MW, Nunes ML. Cognitive and behavioral status of low birth weight preterm children raised in a developing country at preschool age. *J. Pediatr. (Rio J)* 85(1), 35–41 (2009).
43. Shumay E, Fowler JS, Volkow ND. Genomic features of the human dopamine transporter gene and its potential epigenetic states: implications for phenotypic diversity. *PLoS ONE* 5(6), e11067 (2010).
44. Xu Y, Chen XT, Luo M *et al.* Multiple epigenetic factors predict the attention deficit/hyperactivity disorder among the Chinese Han children. *J. Psychiatr. Res.* 64, 40–50 (2015).
45. Vucetic Z, Kimmel J, Totoki K, Hollenbeck E, Reyes TM. Maternal high-fat diet alters methylation and gene expression of dopamine and opioid-related genes. *Endocrinology* 151(10), 4756–4764 (2010).
46. Kitsiou-Tzeli S, Tzetzis M. Maternal epigenetics and fetal and neonatal growth. *Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.* 24(1), 43–46 (2017).
47. Seifuddin F, Wand G, Cox O *et al.* Genome-wide Methyl-Seq analysis of blood-brain targets of glucocorticoid exposure. *Epigenetics* 12(8), 637–652 (2017).
48. Arosio B, D'addario C, Gussago C *et al.* Peripheral blood mononuclear cells as a laboratory to study dementia in the elderly. *Biomed. Res. Int.* 2014, 169203 (2014).

49. Montirosso R, Provenzi L, Giorda R *et al.* SLC6A4 promoter region methylation and socio-emotional stress response in very preterm and full-term infants. *Epigenomics* 8(7), 895–907 (2016).

