

O efeito da cirurgia bariátrica na carga gravitacional e seu impacto na massa óssea

Autores

Florêncio Diniz-Sousa^{1,2}; Lucas Veras^{1,2}; Giorjines Boppre^{1,2}; Vítor Devezas³; Hugo Santos-Sousa³; John Preto³; Leandro Machado^{4,5}; José Oliveira^{1,2}; Hélder Fonseca^{1,2}

joseflorenciosousa@gmail.com

Resumo

Introdução: A diminuição da carga mecânica associada à perda de peso é proposta como a principal causa para a perda óssea induzida pela cirurgia bariátrica (CB), porém nenhum estudo testou essa hipótese. O nosso objetivo foi avaliar o efeito da CB na carga gravitacional e determinar a sua relação com a perda de massa óssea.

Métodos: Em 21 doentes com obesidade foi avaliada a densidade mineral óssea (DMO), hormonas calciotrópicas, esclerostina, composição corporal e atividade física diária antes, 1, 6 e 12 meses após CB. A carga gravitacional foi calculada através da soma das forças de reação do solo determinadas por acelerómetro com base na interação resultante entre peso e atividade física diária.

Resultados: O aumento do número de passos diários neutralizou a diminuição da carga gravitacional resultante da perda de peso após a CB. O volume da carga gravitacional diminuiu entre pré-CB e 1 mês pós-CB mas, apesar da contínua redução da DMO, permaneceu estável entre os 6 e 12 meses pós-CB. A esclerostina sérica aumentou do pré-CB para 1 mês pós-CB, retornando aos níveis pré-CB 6 meses após a cirurgia. As hormonas calciotrópicas não foram afetadas pela CB. Apesar do volume de carga gravitacional diária não se associar com as perdas da DMO, a variação de peso demonstrou ser um preditor significativo da diminuição da DMO tal como as alterações da massa gorda e magra.

Conclusão: A carga gravitacional diminuiu apenas durante o primeiro mês após CB, permanecendo estável depois disso e, portanto, essas alterações não parecem explicar a

¹ CIAFEL - Centro de Investigação em Atividade Física, Saúde e Lazer, Faculdade de Desporto da Universidade do Porto

² ITR - Laboratório para a Investigação Integrativa e Translacional em Saúde Populacional

³ Serviço de Cirurgia Geral, Centro Hospitalar Universitário de São João

⁴ CIF12D - Centro de Investigação, Formação, Inovação e Intervenção em Desporto, Faculdade de Desporto da Universidade do Porto

⁵ LABIOMEPEP - Laboratório de Biomecânica do Porto

perda óssea induzida pela CB. A associação entre peso e perda óssea após CB parecem resultar de fatores metabólicos associados à perda de massa gorda e magra.

Palavras-chave: Cirurgia bariátrica; Densidade mineral óssea; Carga gravitacional

INTRODUÇÃO

A cirurgia bariátrica (CB) é o tratamento mais eficaz para a obesidade severa, no entanto também induz perdas acentuadas de massa óssea, aumentando o risco de fratura [1]. Após CB, ocorre uma deterioração óssea acelerada, sendo durante a fase inicial de perda acentuada de peso, que ocorre até aos primeiros 1 a 2 anos pós-CB, que as perdas de massa óssea são mais expressivas [2].

A diminuição progressiva da carga mecânica provocada pela perda de peso tendo sido proposta como um fator etiológico na perda de massa óssea após CB [3]. No entanto, vários estudos que analisaram o efeito da perda de peso pós-CB na massa óssea revelam resultados contraditórios, com algumas evidências a sugerir forte associação [4-7] enquanto outras não [8-10]. As diferenças entre resultados obtidos em estudos prévios poderão dever-se ao facto de que o tecido ósseo é sensível às cargas mecânicas dinâmicas, mas não às estáticas [11]. Portanto, a influência da carga gravitacional na massa óssea deverá ter em conta não apenas o peso isoladamente, mas sim a interação entre o peso e as cargas dinâmicas decorrentes da atividade física diária, pois é essa combinação que modula de facto as cargas gravitacionais impostas ao tecido ósseo [12]. Consequentemente, variações na interação entre perda de peso e atividade física diária teriam o potencial de refletir com maior adequação a real contribuição das mudanças de carga gravitacional após a CB na massa óssea, ao invés de cada um dos parâmetros isoladamente [3].

Sabe-se que tanto o tecido adiposo como o músculo esquelético influenciam o metabolismo ósseo independentemente de seu efeito direto na carga gravitacional [13, 14]. Portanto, a possível associação entre variação de peso pós-CB e perda óssea pode ser também explicada pelo efeito metabólico das alterações nos dois principais determinantes do peso, massa gorda e massa magra.

Este estudo teve como principal objetivo investigar como o peso e a atividade física diária variam após CB, como a interação entre estes dois fatores se reflete na variação

da carga gravitacional e de que forma essa variação explica as perdas de massa óssea após CB. Como objetivo secundário, também exploramos a influência das alterações da massa gorda e massa magra na perda de massa óssea.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

Os resultados apresentados neste estudo resultam de uma análise secundária do ensaio clínico BaSEIB (clinicaltrials.gov/NCT02843048) cuja análise primária dos resultados está disponível noutra publicação [15]. Este estudo incluiu um subgrupo de doentes com obesidade classe II-III submetidos a *bypass* gástrico em Y-de-Roux (BGYR) que não participaram no protocolo intervenção com exercício. Todos os participantes deram o seu consentimento informado e o protocolo do estudo foi aprovado por uma Comissão de Ética (CES 192-14).

Amostra

Vinte e um doentes com obesidade (16 mulheres, idade $46,2 \pm 8,0$ anos, índice de massa corporal (IMC) $46,2 \pm 8,1 \text{ kg} \cdot \text{m}^{-2}$) foram recrutados entre 1 e 3 meses previamente à CB. Destes, 23,8% tinham diabetes tipo 2, 19,0% tomavam regularmente diuréticos tiazídicos e 14,3% eram fumadores. Das mulheres recrutadas, 25,0% eram pós-menopáusicas. Nenhum dos participantes reportou limitações neurológicas, ortopédicas ou musculoesqueléticas.

Cirurgia bariátrica

Os participantes foram submetidos a BGYR laparoscópico, de acordo com os procedimentos padrão do Centro Hospitalar Universitário de São João, pela mesma equipe cirúrgica, e todos os pacientes receberam os cuidados médicos habituais pós-CB. Suplementos multivitamínicos e proteicos foram prescritos, o aumento dos níveis de atividade física foi encorajada, mas nenhuma prescrição de exercício foi dada.

Avaliações

Todos os doentes foram avaliados antes, 1, 6 e 12 meses após CB. Em cada um dos momentos foram realizadas as seguintes avaliações: densidade mineral óssea

(DMO), hormonas calcitrópicas, antropometria, composição corporal e atividade física diária.

Antropometria

A altura e o peso foram avaliados segundo procedimentos padronizados com um estadiómetro e balança digital, respetivamente, e o IMC foi calculado.

Densidade mineral óssea e composição corporal

A DMO ($\text{g}\cdot\text{cm}^{-2}$) no fémur total, colo do fémur, vertebrae lombares e do terço distal do rádio foi avaliada através de densitometria radiológica de dupla energia (DEXA; Hologic Explorer QDR). A massa gorda (kg) e a massa magra (kg) foram determinadas através de DXA de corpo inteiro.

Hormonas calcitrópicas

Foram colhidas amostras de sangue venoso em jejum entre as 8 e as 9h da manhã, imediatamente centrifugadas a 5000rpm, 4°C durante 10min e o soro separado e armazenado a -80°C. A concentração de hormona da paratiroide intacta (PTH; PTH 1-84, ref. 8044, TECOmedical), 25-hidroxivitamina D (25-OHD; ref. AC-57SF1, Immunodiagnostic Systems) e esclerostina (ref. TE1023-HS, TECOmedical) foi determinada por ensaio de imunoabsorção enzimática (ELISA) utilizando kits comerciais e seguindo as indicações dos fabricantes.

Carga gravitacional

A atividade física diária foi registada objetivamente durante 1 semana durante o período de vigília através de um acelerómetro triaxial (GT9X Link, ActiGraph) posicionado na região da cintura e os dados brutos (g) foram processados em linguagem de programação Python (Python Software Foundation, versão 3.8.2; Beaverton, OR, EUA). Inicialmente, os dados foram filtrados, as acelerações resultantes determinadas e os picos das acelerações identificados de acordo com aquilo que foi já descrito anteriormente [16]. De seguida, os dados processados dos acelerómetros foram usados para quantificar os seguintes parâmetros de carga gravitacional diária, designadamente: i) número de passos, ii) cargas gravitacionais de alto impacto e iii) volume de carga gravitacional. Os passos, que representam o

número de estímulos gravitacionais ambulatórios, foram reconhecidos através da identificação dos picos de aceleração superiores a 1,3g e com um afastamento mínimo de 0,4s [17]. Os impactos da alta carga gravitacional foram determinados pelo número de movimentos corporais envolvendo picos de aceleração acima de 4,9g, valor previamente identificado como um limiar de carga osteogénica [18]. O volume de carga gravitacional foi determinado como a soma das forças de reação do solo ambulatórias (N) ao longo de um dia inteiro. As forças de reação do solo foram previstas com base numa equação previamente validada pelo nosso grupo e que considera a interação entre peso e estímulos gravitacionais ambulatórios [16]. Mais detalhes sobre as análises realizadas podem ser encontrados num repositório aberto (<https://bit.ly/3piwmFJ>).

Comportamento sedentário e intensidades da atividade física

Os dados da acelerometria também foram utilizados para caracterizar as intensidades de atividade física tipicamente associadas com a resposta cardiorrespiratória (ex. equivalentes metabólicos). O software fornecido pelo fabricante do acelerómetro (ActiLife, versão 6.13.3; ActiGraph) foi usado para converter os dados brutos de aceleração em contagens de atividade, que foram então analisados em *epochs* de 60s. O tempo de não utilização foi definido como 90 minutos de contagens consecutivas de zero. Os resultados de atividade física só foram considerados válidos se os dados tivessem ≥ 10 h/d de tempo de uso durante ≥ 3 dias. Comportamento sedentário, atividade física ligeira e moderada a vigorosa foram definidos como < 200 contagens por minuto (cpm), 200 a 2.689 cpm e > 2690 cpm, respectivamente [19, 20].

Análise dos dados

O software estatístico R (versão 4.0.3, R Foundation for Statistical Computing) foi usado para realizar as análises estatísticas. O código das análises efetuadas pode ser obtido através do *link* <https://bit.ly/375SCwm> [21].

As mudanças ocorridas em cada parâmetro ao longo do primeiro ano após a CB foram testadas por análise de modelos lineares mistos. A variável tempo foi utilizada como fator fixo e os sujeitos como fator aleatório. Diferenças entre as avaliações foram usadas para testar o efeito do tempo. Foram reportadas as diferenças médias

estimadas, intervalo de confiança de 95% (IC 95%) e valor de p ajustado (correção de Bonferroni-Holm).

A influência de potenciais preditores das mudanças na DMO ocorridas durante o primeiro ano após a CB também foi testada. Os modelos de predição foram realizados por meio da análise de modelos mistos, em que os preditores foram definidos como fator fixo, enquanto os sujeitos e o tempo foram definidos como fatores aleatórios.

O valor de $\alpha=0,05$ foi definido como sendo estatisticamente significativo.

RESULTADOS

A Figura 1 mostra as mudanças na DMO nas diferentes regiões de interesse testadas ao longo do primeiro ano após o BGYR. Foram observados padrões de alteração distintos da DMO, com diminuição significativa na região lombar e, ainda de forma mais expressiva, na região da anca, enquanto que no 1/3 distal do radio, uma região do esqueleto apendicular, não se verificaram alterações de DMO ao longo do tempo. Durante o primeiro ano após o BGYR verificou-se também uma perda de peso consistente ao longo de todos os momentos de avaliação (Figura 2, painel A).

Os níveis de atividade física também se modificaram após o BGYR tendo os doentes tornando-se mais ativos (Figura 2, painel B, e Figura Suplementar S1). Entre o momento pré-CB e os 12 meses pós-CB, os pacientes passaram menos tempo em comportamentos sedentários e mais tempo a realizar atividades físicas ligeiras e moderadas a vigorosas (Figura Suplementar S1). O número de passos diários realizados também apresentou uma mudança de padrão semelhante após a cirurgia, com uma tendência de diminuição (não significativa) do pré-CB para o primeiro mês, seguida de um aumento consistente até ao final do primeiro ano (Figura 2, painel B).

O cálculo da carga gravitacional ambulatória diária a que os doentes estiveram expostos ao longo do seguimento mostrou que o estímulo mecânico promovido pelo aumento do número de passos neutralizou a diminuição da carga gravitacional derivada da significativa perda de peso após BGYR (Figura 2, painel C). O volume de carga gravitacional diminuiu significativamente entre pré-CB e 1 mês pós-CB mas permaneceu estável e sem mais mudanças significativas aos 6 e 12 meses pós-CB.

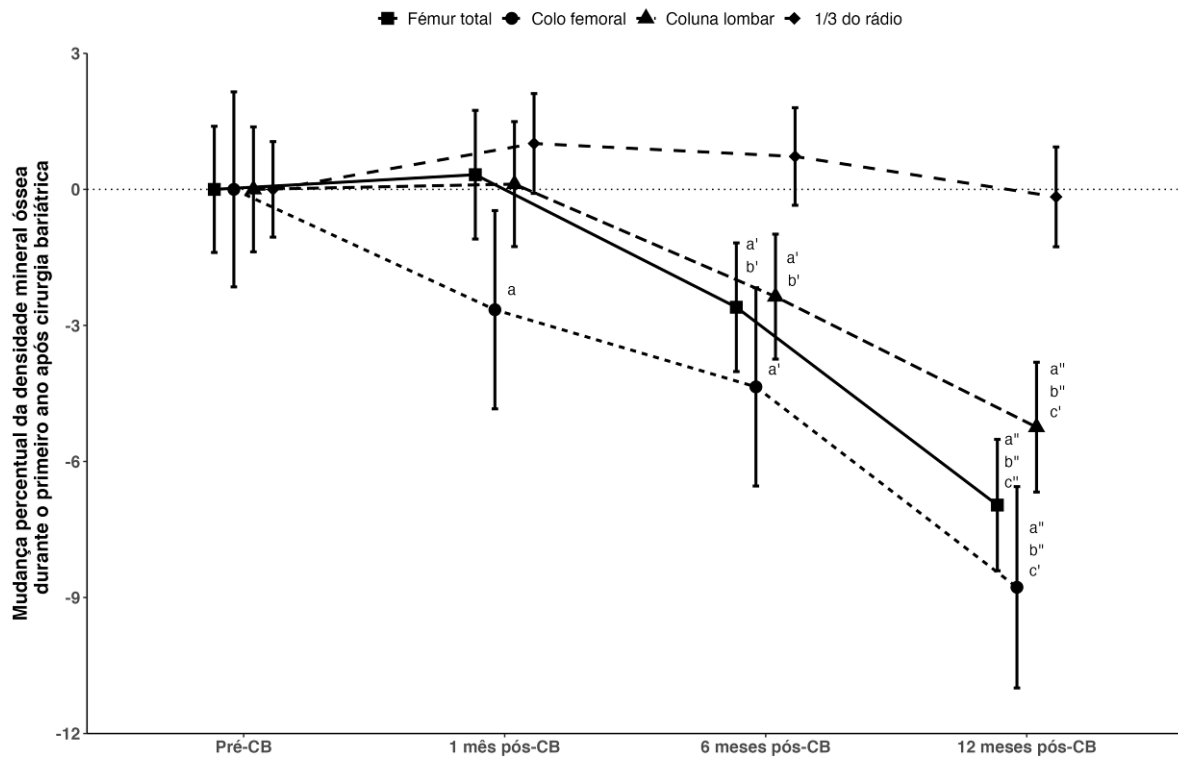


Figura 1. Alterações na densidade mineral óssea ao longo do primeiro ano após o bypass gástrico em Y-de-Roux.

CB = cirurgia bariátrica.

Dados: média estimada (intervalo de confiança de 95%).

versus pré-CB: ^a $p < .05$; ^{a'} $p < ,01$; ^{a''} $p < ,001$.

versus 1 mês pós-CB: ^b $p < ,01$; ^{b''} $p < ,001$.

versus 6 meses pós-CB: ^c $p < ,01$; ^{c''} $p < ,001$.

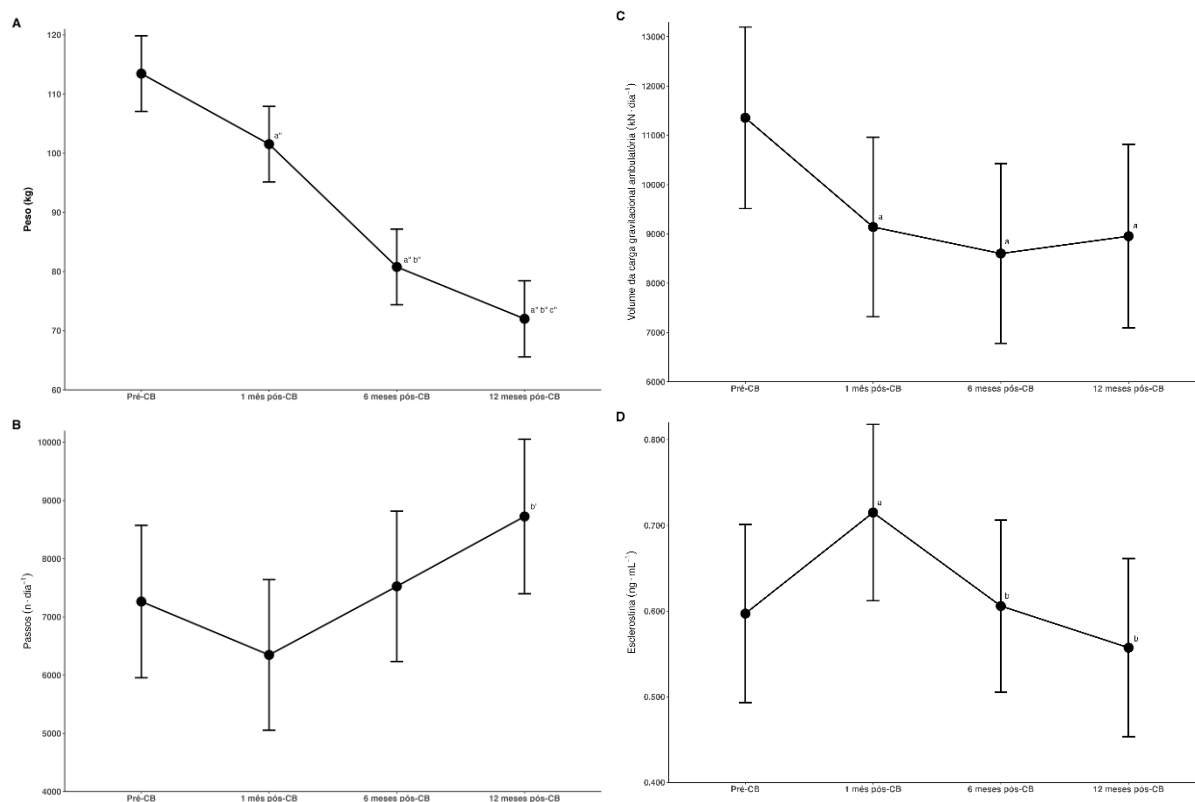


Figura 2. Peso, passos diários, volume diário de carga gravitacional e níveis de esclerostina ao longo do primeiro ano após o bypass gástrico em Y-de-Roux.

CB = cirurgia bariátrica.

Dados: média estimada (intervalo de confiança de 95%).

versus pré-CB: ^a $p < ,05$; ^{a''} $p < ,001$.

versus 1 mês pós-CB: ^b $p < ,05$; ^{b'} $p < ,01$; ^{b''} $p < ,001$.

versus 6 meses pós-CB: ^{c''} $p < ,001$.

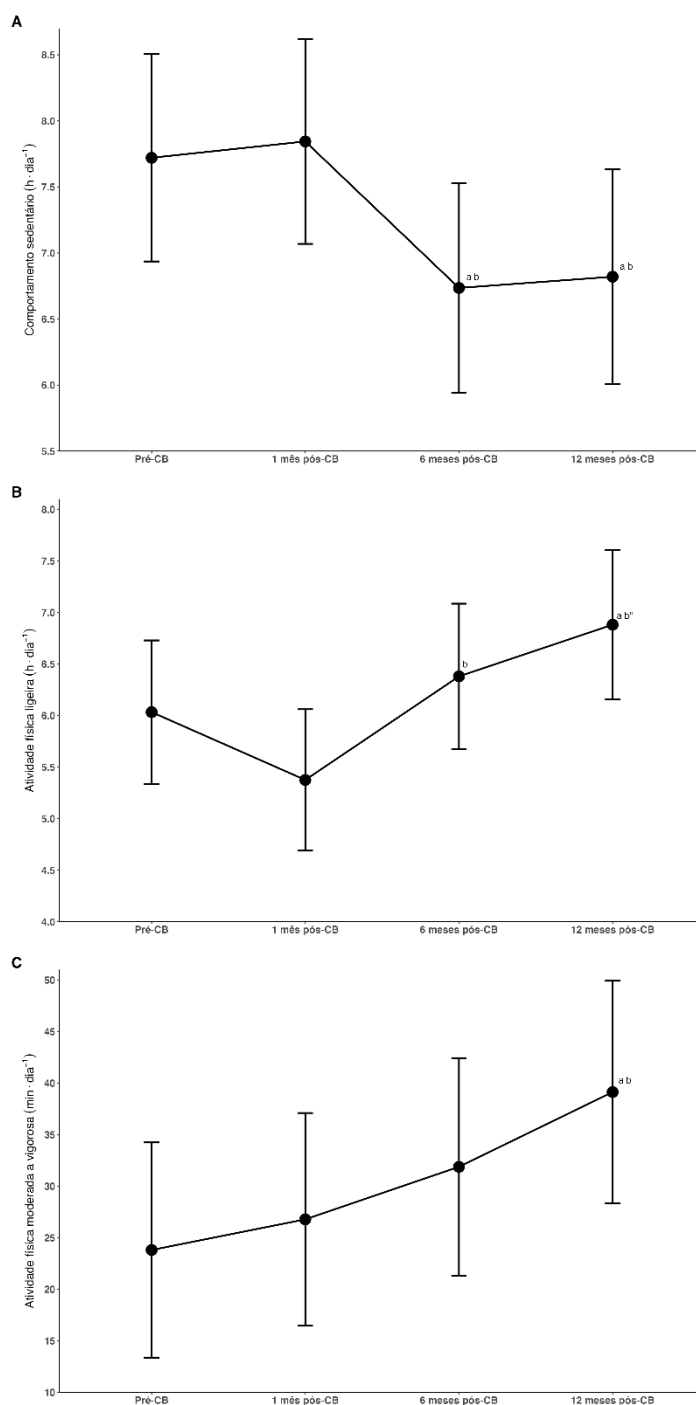


Figura S1. Tempo gasto em comportamento sedentário, atividade física ligeira e moderada a vigorosa ao longo do primeiro ano após o bypass gástrico em Y-de-Roux.

CB = cirurgia bariátrica.

Dados: média estimada (intervalo de confiança de 95%).

versus pré-CB: ^a $p < ,05$.

versus 1 mês pós-CB: ^b $p < ,05$; ^{b'} $p < ,001$.

Inversamente, a concentração de esclerostina sérica (Figura 2, painel D) aumentou significativamente do pré-CB para 1 mês após o BGYR regressando aos níveis pré-cirúrgicos 6 meses após a cirurgia. Curiosamente, as alterações na concentração de esclerostina não revelaram uma associação significativa com as alterações no volume de carga gravitacional diário nem com a perda de peso.

Notavelmente, os aumentos observados nos níveis de atividade física, nomeadamente na atividade física de intensidade moderada a vigorosa, não se refletiram num maior número de movimentos corporais envolvendo impactos de elevada carga gravitacional ao longo do seguimento (Figura 3).

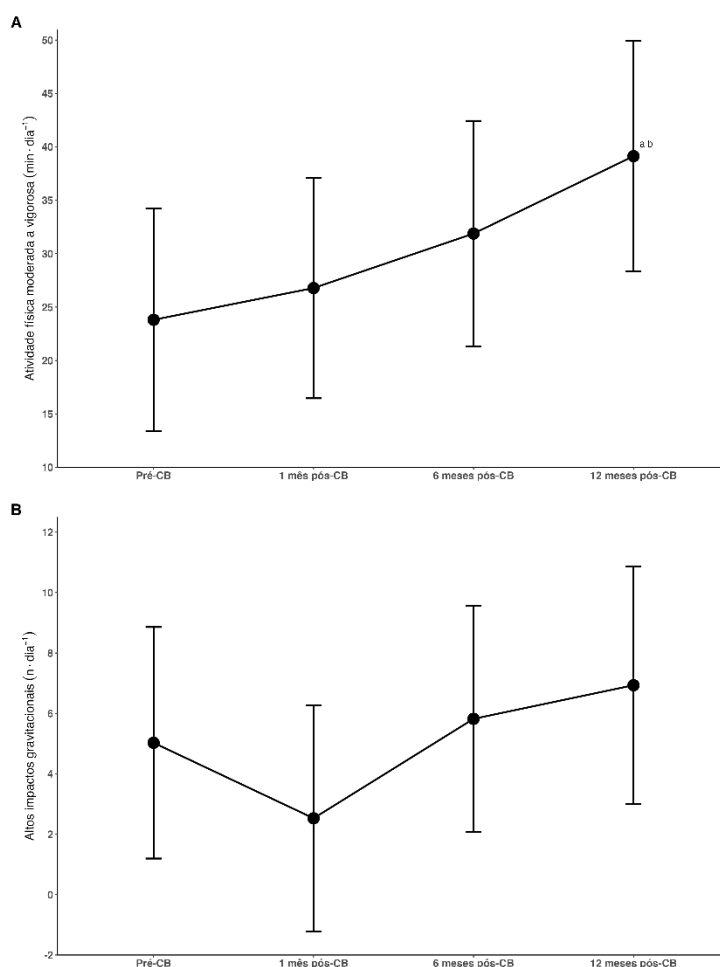


Figura 3. Mudanças ocorridas ao longo do primeiro ano após o bypass gástrico em Y-de-Roux na atividade física moderada a vigorosa e impactos de alta carga gravitacional.

CB = cirurgia bariátrica.

Dados: média estimada (intervalo de confiança de 95%).

versus pré-CB: ^a $p < ,05$.

versus 1 mês pós-CB: ^b $p < ,05$.

As concentrações das hormonas calciotrópicas (PTH e vitamina D) avaliadas ao longo do primeiro ano após o BGYR são apresentadas na Tabela 1. Não houve mudanças significativas na vitamina D entre pré-CB e 12 meses pós-CB, embora tenha ocorrido um aumento significativo no final do primeiro semestre após o BGYR em comparação com os níveis pré-operatórios. Uma tendência não significativa de redução da concentração de PTH foi também observada durante o período de seguimento dos doentes.

Tabela 1. Alterações nas hormonas calciotrópicas ao longo do primeiro ano após o bypass gástrico em Y de Roux.

Parâmetros	Pré-CB	1 mês pós-CB	6 meses pós-CB	12 meses pós-CB
PTH (pg·mL ⁻¹)	35,8 (30,2 a 41,5)	34,5 (29,1 a 40,0)	31,9 (26,6 a 37,1)	30,5 (25,0 a 36,1)
Vitamina D (ng·mL ⁻¹)	27,1 (20,2 a 34,0)	29,7 (22,9 a 36,5)	35,3 (28,7 a 41,9)*	34,4 (27,5 a 41,2)

CB = cirurgia bariátrica; PTH = paratormona.

Dados: média estimada (intervalo de confiança de 95%).

* $p < .05$ em comparação com o momento pré-operatório.

A perda de peso ocorrida durante o primeiro ano após o BGYR resultou de uma diminuição substancial tanto da massa gorda como da massa magra (Figura 4).

Por fim, a influência de potenciais preditores da redução da DMO foi testada (Tabela Suplementar S1). Os preditores significativos das alterações da DMO no fémur total foram peso e massa gorda, enquanto que os preditores das alterações da DMO no colo do fémur foram o peso e a massa magra (Figura Suplementar S2). Esses preditores não foram testados juntos num modelo final por apresentarem colinearidade moderada a alta, com fator de inflação da variância de 2,4 entre as variações do peso e massa magra e de 8,5 entre as variações do peso e massa magra.

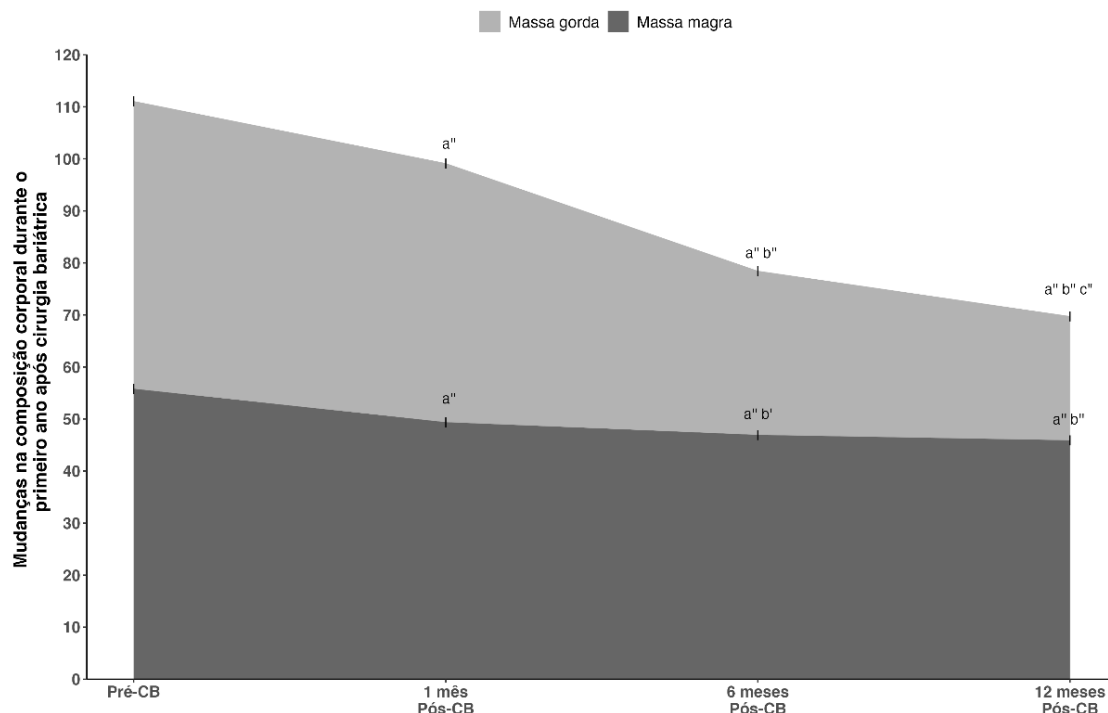


Figura 4. Mudanças na massa gorda e magra ao longo do primeiro ano após o bypass gástrico em Y-de-Roux.

CB = cirurgia bariátrica.

Dados: média estimada.

versus pré-CB: $a'' p < ,001$.

versus 1 mês pós-CB: $b' p < ,01$; $b'' p < ,001$.

versus 6 meses pós-CB: $c'' p < ,001$.

Tabela S1. A influência de potenciais preditores de perda de densidade mineral óssea em locais do esqueleto com suporte de peso durante o primeiro ano após o bypass gástrico em Y-de-Roux.

	Fémur total DMO ($g \cdot cm^{-2}$)			Colo femoral DMO ($g \cdot cm^{-2}$)			Coluna lombar DMO ($g \cdot cm^{-2}$)		
	β (95% IC)	p valor	R^2	β (95% IC)	p valor	R^2	β (95% IC)	p valor	R^2
Peso (kg)	0,238 (0,075 a 0,401)	,026	0,06	0,321 (0,174 a 0,469)	,022	0,12	0,149 (0,004 a 0,294)	,144	0,02
Massa gorda (kg)	0,213 (0,078 a 0,347)	,031	0,05	0,233 (-1,298 a 1,764)	,093	0,05	0,177 (0,079 a 0,275)	,057	0,03
Massa magra (kg)	0,148 (-0,076 a 0,372)	,200	0,02	0,342 (0,094 a 0,590)	,010	0,14	-0,038 (-0,256 a 0,181)	,736	0,00
Volume diário de carga gravitacional (kN)	-0,350 (-0,226 a 0,474)	,583	0,00	0,043 (-0,143 a 0,229)	,654	0,00	-0,022 (-0,135 a 0,092)	,709	0,00

DMO = densidade mineral óssea; IC = intervalo de confiança; R^2 = coeficiente de determinação; β = coeficiente beta padronizado.

Os valores significativos estão marcados em negrito.

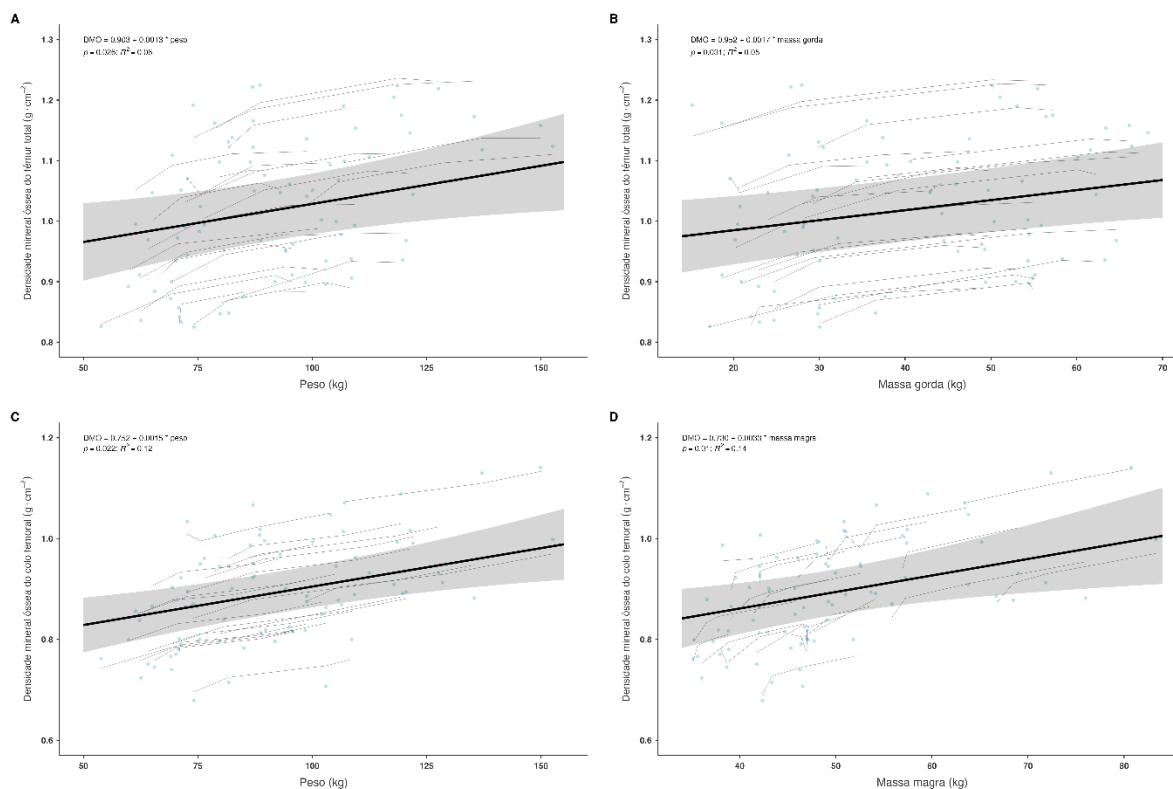


Figura S2. A influência do peso e da massa gorda nas alterações da densidade mineral óssea do fémur total, e do peso e da massa magra na densidade mineral óssea do colo do fémur muda ao longo do primeiro ano após o bypass gástrico em Y-de-Roux.

Dados: linha preta = regressão de efeito fixo; faixa cinza = intervalo de confiança de 95%; linhas verdes = efeitos aleatórios; pontos azuis = dados observados;

DISCUSSÃO

A influência da carga mecânica na massa óssea é bem reconhecida e descrita pela lei de Wolff e pela teoria do mecanostato de Frost [22]. As perdas de massa óssea observadas neste estudo, mais extensas em regiões anatómicas centrais e em particular na região da anca, parecem à primeira vista, apoiar a hipótese de que as perdas ósseas após a CB refletem uma adaptação fisiológica à menor carga gravitacional decorrente da perda maciça de peso [6]. Embora os nossos resultados tenham mostrado que as perdas de massa óssea foram parcialmente explicadas pela magnitude da perda de peso, os mecanismos subjacentes a essa associação parecem não estar relacionados com os efeitos mecânicos da perda de peso *per se* (carga gravitacional) a que os doentes estiveram expostos após o BGYR. Os nossos

resultados mostraram que, embora o peso diminuísse constantemente ao longo do tempo, o volume de carga gravitacional ambulatoria diária teve uma redução significativa apenas durante o primeiro mês após a cirurgia bariátrica, permanecendo estável nos 11 meses seguintes. Isso ocorreu porque, após a cirurgia, os doentes tornaram-se fisicamente mais ativos, o que neutralizou o efeito negativo da perda de peso na carga mecânica a que as suas estruturas esqueléticas estavam expostas. De facto, vários estudos mostraram que, ao longo do primeiro ano após CB existe um aumento do número de passos diários realizados [23, 24], o que está em linha com os nossos resultados.

Um resultado relevante do nosso estudo, que corrobora a hipótese de que a perda de massa óssea não foi predominantemente desencadeada pela diminuição da carga mecânica, foi o facto da concentração sérica de esclerostina ter apenas aumentado entre o momento pré-CB e 1 mês pós-CB, quando os pacientes ainda estavam no período de recuperação e, portanto, estavam mais inativos. A concentração de esclerostina regressou aos valores basal logo aos 6 meses pós-CB. Os nossos resultados sugerem que as mudanças transitórias de esclerostina observadas imediatamente após a CB resultaram de uma resposta fisiológica às alterações de carga gravitacional a que os doentes estiveram expostos durante essa fase, aumentando em paralelo com a redução da carga gravitacional durante o primeiro mês após CB e, em seguida, retornando à concentração basal nos meses seguintes quando a carga gravitacional voltou a aumentar.

Os nossos resultados sugerem que a associação previamente descrita entre peso e perda óssea após a CB poderá estar sobretudo relacionada com as alterações que ocorreram na massa gorda e massa magra, uma vez que esses dois componentes do peso mostraram ser preditores significativos das alterações na DMO na região da anca. Estes resultados parecem ser corroborados por evidências de outros estudos nos quais a perda óssea também esteve associada com mudanças na massa gorda e na massa magra [7, 25]. A redução da massa gorda observada após a CB pode induzir a perda óssea através de alterações nos níveis de adipocinas circulantes [9, 5], enquanto a redução da massa magra pode induzir perdas ósseas através da diminuição da tensão mecânica [26, 27] e da produção local de miocinas [28, 13].

Curiosamente, os nossos resultados revelaram que, ao contrário do que seria de esperar, o aumento nos níveis de atividade física observados após a CB,

particularmente o tempo em atividades de intensidade moderada a vigorosa, não foi acompanhado por um aumento no número de atividades com altos impactos gravitacionais. Estes achados levam-nos a destacar dois pontos. Em primeiro lugar, que as métricas de atividade física tipicamente associadas com a resposta cardiorrespiratória da atividade física podem não ser um bom indicador para refletir a carga gravitacional. Em segundo lugar, o efeito positivo que o aumento da atividade física pode ter tido a contrabalançar a diminuição da carga gravitacional devido à redução de peso ocorreu quase exclusivamente por meio de estímulos de baixa intensidade mecânica. Estes resultados sugerem que futuras abordagens terapêuticas com o objetivo de minimizar a perda óssea induzida pela CB não se devem concentrar apenas no aumento do volume de carga gravitacional ambulatória diária, mas também em favorecer outros parâmetros importantes associados à formação óssea induzida pela carga mecânica, como a magnitude da carga [29]. Ou seja, será fundamental recomendar não apenas o aumento dos níveis de atividade física após a CB, como também a realização de atividades de maior intensidade e, conseqüentemente, geradoras de cargas gravitacionais de maior magnitude.

Em conclusão, os nossos resultados mostraram que a carga gravitacional ambulatória diminuiu apenas durante o primeiro mês após a cirurgia, permanecendo estável a partir daí, e que essas alterações não parecem explicar a perda óssea induzida pela CB. Isso ocorreu porque após a cirurgia os doentes tornaram-se fisicamente mais ativos, o que neutralizou o efeito negativo da perda de peso na carga mecânica. A associação entre a perda de peso e a perda óssea após a CB parece estar mais relacionada com as alterações na massa gorda e massa magra, uma vez que esses dois componentes do peso se mostraram preditores significativos das mudanças de DMO verificadas ao longo do estudo.

BIBLIOGRAFIA

1. Ahlin S, Peltonen M, Sjöholm K, Anveden Å, Jacobson P, Andersson-Assarsson JC et al. Fracture risk after three bariatric surgery procedures in Swedish obese subjects: up to 26 years follow-up of a controlled intervention study. *J Intern Med.* 2020;287(5):546-57. doi:10.1111/joim.13020.
2. Lindeman KG, Greenblatt LB, Rourke C, Bouxsein ML, Finkelstein JS, Yu EW. Longitudinal 5-Year Evaluation of Bone Density and Microarchitecture After Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(11):4104-12. doi:10.1210/jc.2018-01496.
3. Scibora LM, Ikramuddin S, Buchwald H, Petit MA. Examining the link between bariatric surgery, bone loss, and osteoporosis: a review of bone density studies. *Obes Surg.* 2012;22(4):654-67. doi:10.1007/s11695-012-0596-1.
4. Stein EM, Carrelli A, Young P, Bucovsky M, Zhang C, Schrope B et al. Bariatric surgery results in cortical bone loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(2):541-9. doi:10.1210/jc.2012-2394.
5. Maghrabi AH, Wolski K, Abood B, Licata A, Pothier C, Bhatt DL et al. Two-year outcomes on bone density and fracture incidence in patients with T2DM randomized to bariatric surgery versus intensive medical therapy. *Obesity (Silver Spring).* 2015;23(12):2344-8. doi:10.1002/oby.21150.
6. Fleischer J, Stein EM, Bessler M, Della Badia M, Restuccia N, Olivero-Rivera L et al. The decline in hip bone density after gastric bypass surgery is associated with extent of weight loss. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(10):3735-40. doi:10.1210/jc.2008-0481.
7. Schafer AL, Kazakia GJ, Vittinghoff E, Stewart L, Rogers SJ, Kim TY et al. Effects of Gastric Bypass Surgery on Bone Mass and Microarchitecture Occur Early and Particularly Impact Postmenopausal Women. *J Bone Miner Res.* 2018;33(6):975-86. doi:10.1002/jbmr.3371.
8. Yu EW, Bouxsein ML, Putman MS, Monis EL, Roy AE, Pratt JS et al. Two-year changes in bone density after Roux-en-Y gastric bypass surgery. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(4):1452-9. doi:10.1210/jc.2014-4341.

9. Shanbhogue VV, Støving RK, Frederiksen KH, Hanson S, Brixen K, Gram J et al. Bone structural changes after gastric bypass surgery evaluated by HR-pQCT: a two-year longitudinal study. *Eur J Endocrinol.* 2017;176(6):685-93. doi:10.1530/eje-17-0014.
10. Bredella MA, Greenblatt LB, Eajazi A, Torriani M, Yu EW. Effects of Roux-en-Y gastric bypass and sleeve gastrectomy on bone mineral density and marrow adipose tissue. *Bone.* 2017;95:85-90. doi:10.1016/j.bone.2016.11.014.
11. Robling AG, Duijvelaar KM, Geeveres JV, Ohashi N, Turner CH. Modulation of appositional and longitudinal bone growth in the rat ulna by applied static and dynamic force. *Bone.* 2001;29(2):105-13. doi:10.1016/s8756-3282(01)00488-4.
12. Rosa N, Simoes R, Magalhães FD, Marques AT. From mechanical stimulus to bone formation: A review. *Med Eng Phys.* 2015;37(8):719-28. doi:10.1016/j.medengphy.2015.05.015.
13. Bettis T, Kim BJ, Hamrick MW. Impact of muscle atrophy on bone metabolism and bone strength: implications for muscle-bone crosstalk with aging and disuse. *Osteoporos Int.* 2018;29(8):1713-20. doi:10.1007/s00198-018-4570-1.
14. Gkastaris K, Goulis DG, Potoupnis M, Anastasilakis AD, Kapetanios G. Obesity, osteoporosis and bone metabolism. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2020;20(3):372-81.
15. Diniz-Sousa F, Veras L, Boppre G, Sa-Couto P, Devezas V, Santos-Sousa H et al. The Effect of an Exercise Intervention Program on Bone Health After Bariatric Surgery: A Randomized Controlled Trial. *J Bone Miner Res.* 2020. doi:10.1002/jbmr.4213.
16. Veras L, Diniz-Sousa F, Boppre G, Devezas V, Santos-Sousa H, Preto J et al. Accelerometer-based prediction of skeletal mechanical loading during walking in normal weight to severely obese subjects. *Osteoporos Int.* 2020;31(7):1239-50. doi:10.1007/s00198-020-05295-2.
17. John D, Morton A, Arguello D, Lyden K, Bassett D. "What Is a Step?" Differences in How a Step Is Detected among Three Popular Activity Monitors That Have Impacted Physical Activity Research. *Sensors (Basel).* 2018;18(4). doi:10.3390/s18041206.
18. Vainionpää A, Korpelainen R, Vihriälä E, Rinta-Paavola A, Leppäluoto J, Jämsä T. Intensity of exercise is associated with bone density change in premenopausal women. *Osteoporos Int.* 2006;17(3):455-63. doi:10.1007/s00198-005-0005-x.

19. Aguilar-Farias N, Brown WJ, Peeters GM. ActiGraph GT3X+ cut-points for identifying sedentary behaviour in older adults in free-living environments. *J Sci Med Sport*. 2014;17(3):293-9. doi:10.1016/j.jsams.2013.07.002.
20. Sasaki JE, John D, Freedson PS. Validation and comparison of ActiGraph activity monitors. *J Sci Med Sport*. 2011;14(5):411-6. doi:10.1016/j.jsams.2011.04.003.
21. Veras L. (2021, February 12). verasls/BaSEIB_bariatric_surgery_bone_health: The effect of bariatric surgery on gravitational loading and its impact on bone mass (Version v1.1.0). Zenodo. <http://doi.org/10.5281/zenodo.4537251>.
22. Frost HM. Muscle, bone, and the Utah paradigm: a 1999 overview. *Med Sci Sports Exerc*. 2000;32(5):911-7. doi:10.1097/00005768-200005000-00006.
23. King WC, Chen JY, Bond DS, Belle SH, Courcoulas AP, Patterson EJ et al. Objective assessment of changes in physical activity and sedentary behavior: Pre-through 3 years post-bariatric surgery. *Obesity (Silver Spring)*. 2015;23(6):1143-50. doi:10.1002/oby.21106.
24. Josbeno DA, Jakicic JM, Hergenroeder A, Eid GM. Physical activity and physical function changes in obese individuals after gastric bypass surgery. *Surg Obes Relat Dis*. 2010;6(4):361-6. doi:10.1016/j.soard.2008.08.003.
25. Geoffroy M, Charlot-Lambrecht I, Chrusciel J, Gaubil-Kaladjian I, Diaz-Cives A, Eschard JP et al. Impact of Bariatric Surgery on Bone Mineral Density: Observational Study of 110 Patients Followed up in a Specialized Center for the Treatment of Obesity in France. *Obes Surg*. 2019;29(6):1765-72. doi:10.1007/s11695-019-03719-5.
26. Hart NH, Nimphius S, Rantalainen T, Ireland A, Siafarikas A, Newton RU. Mechanical basis of bone strength: influence of bone material, bone structure and muscle action. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2017;17(3):114-39.
27. Robling AG. Is bone's response to mechanical signals dominated by muscle forces? *Med Sci Sports Exerc*. 2009;41(11):2044-9. doi:10.1249/MSS.0b013e3181a8c702.
28. Kumar S, Hossain J, Inge T, Balagopal PB. Changes in Myokines in Youths With Severe Obesity Following Roux-en-Y Gastric Bypass Surgery. *JAMA Surg*. 2019;154(7):668-9. doi:10.1001/jamasurg.2019.0424.
29. Turner CH, Robling AG. Designing exercise regimens to increase bone strength. *Exerc Sport Sci Rev*. 2003;31(1):45-50. doi:10.1097/00003677-200301000-00009.