PAULA LEME CARO

Efeito do treinamento físico sobre a microbiota intestinal e impactos nutricionais da caquexia associada ao câncer

Dissertação apresentação ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Celular e Tecidual do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do Título de Mestre em Ciências.

São Paulo
2017

PAULA LEME CARO

Efeito do treinamento físico sobre a microbiota intestinal e impactos nutricionais da caquexia associada ao câncer

Dissertação apresentada ao Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, para obtenção do título de Mestre em Ciências

Área de concentração: Biologia Celular e Tecidual

Orientadora: Profa. Dra. Marília Cerqueira Leite Seelaender

Versão original

São Paulo
2017

CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
Serviço de Biblioteca e informação Biomédica
do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo

Ficha Catalográfica elaborada pelo(a) autor(a)

Caro , Paula Leme
Efeito do treinamento físico sobre a microbiota intestinal e impactos nutricionais da caquexia associada ao câncer / Paula Leme Caro ; orientadora Marília Seelaender. -- São Paulo, 2017.
126 p.

Dissertação (Mestrado)) -- Universidade de São Paulo, Instituto de Ciências Biomédicas.

1. Caquexia. 2. Inflamação. 3. . Desnutrição . 4. Microbiota intestinal. 5. Treinamento físico. I. Seelaender, Marília , orientador. II. Título.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Candidata: Paula Leme Caro

Título da Dissertação: **Efeito do treinamento físico sobre a microbiota intestinal e impactos nutricionais da caquexia associada ao câncer**

Orientador: Professora Dra. Marília Cerqueira Leite Seelaender

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa da Dissertação de Mestrado/Tese de Doutorado, em sessão publica realizada a **...../...../.....**, considerou o(a) candidato(a):

( ) Aprovado(a) ( ) Reprovado(a)

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Examinador(a): Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

Presidente: Assinatura: .....
Nome: .....
Instituição: .....

ICBUSP

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira", Butantã, São Paulo, SP · Av. Professor Lineu Prestes, 2415 - ICB III - 05508 000
Comissão de Ética em Pesquisa - Telefone (11) 3091-7733 - e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 23 de junho de 2015.

PARECER 1249/CEPSH
CAAE: 43693915.4.0000.5467

A Comissão de *Ética em Pesquisas em Seres Humanos* do ICB, nesta data, **APROVOU** o projeto intitulado: "*Efeito do treinamento físico sobre a inflamação sistêmica associada à caquexia no câncer: modulação da microbiota*" da pesquisadora Profa. Dra. **Marília Cerqueira Leite Seelaender** e da aluna **Paula Leme Caro**.

Cabe aos pesquisadores elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais e final), de acordo com a Resolução nº 466/12, item II, II.19 e II.20, do Conselho Nacional de Saúde, conforme modelo constante no site: www.icb.usp.br.

Aos pesquisadores cabe também finalizar o processo junto à Plataforma Brasil quando do encerramento deste.

O primeiro relatório deverá ser encaminhado à Secretaria deste CEP em **23.06.2016**, bem como anexado uma cópia à Plataforma Brasil.

Atenciosamente,

Prof. Dr. **PAOLO M. A. ZANOTTO**
Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB/USP

intestinal com a presença de tumores do intestino e possível influência de um programa de treinamento físico na modificação da microbiota e as repercussões sobre o quadro clínico geral dos pacientes.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Considero que o TCLE apresentado é de excelente qualidade e poderia ser utilizado como um exemplo de como esse termo deve ser redigido.

Recomendações:

Nada a acrescentar.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não há.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Cabe ao pesquisador elaborar e apresentar a este Comitê, relatórios anuais (parciais e final), de acordo com a Resolução nº 466/12, item II, II.19 e II.20, do Conselho Nacional de Saúde.

Em não havendo um biorrepositório e se houver retenção de material deverá ser solicitado o devido cadastro conforme modelo constante site do ICB.

Ao pesquisador cabe também finalizar o processo junto à Plataforma Brasil quando do encerramento deste.

SAO PAULO, 23 de Junho de 2015

Assinado por:
Regina Scivoletto
(Coordenador)

Endereço: Av. Profº Lineu Prestes, 2415
Bairro: Cidade Universitária **CEP:** 05.508-000
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)3091-7733 **Fax:** (11)3091-8405 **E-mail:** cep@icb.usp.br

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do treinamento físico sobre a inflamação sistêmica associada à caquexia no câncer: modulação da microbiota

Pesquisador: Marilia Cerqueira Leite Seelaender

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 43693915.4.3001.0076

Instituição Proponente: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo - ICB/USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.162.722

Data da Relatoria: 17/07/2015

Apresentação do Projeto:

Esta pesquisa contará com a participação de pacientes voluntários de ambos os sexos,idade superior a 18 anos, sem discernimento da classe social
e da raça, serem portadores de tumor intestinal e caquexia, submetidos à cirurgia no Hospital Universitário (Universidade de São Paulo),para a
retirada de tumor.Serão selecionados e divididos em dois grupos experimentais: 1. Grupo Tumor com Caquexia Sedentário (CS):grupo de
voluntários caquéticos portadores de tumor gastrointestinal (n = 30). 2. Grupo Tumor com Caquexia Treinado (CT):grupo de voluntários caquéticos
portadores de tumor gastrointestinal (n = 30).

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Investigar se o treinamento físico de endurance altera a microbiota intestinal de pacientes caquéticos.

Objetivo Secundário:

- Identificar a microbiota no cólon dos pacientes caquéticos treinados e sedentários, por meio de sequenciamento dos genes das cepas presentes;-

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

Elaborado pela Instituição Coparticipante

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Efeito do treinamento físico sobre a inflamação sistêmica associada à caquexia no câncer: modulação da microbiota

Pesquisador: Marília Cerqueira Leite Seelaender

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 43693915.4.3002.5479

Instituição Proponente: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo - ICB/USP

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 1.428.344

Apresentação do Projeto:

A caquexia é uma síndrome multifatorial cuja característica marcante é a perda de peso. Ela está associada a diversas condições clínicas, como o câncer. Até o momento, não existe uma terapia única capaz de reverter a progressão de seus sintomas, uma vez que sua etiologia é ainda obscura. A inflamação sistêmica desempenha um papel fundamental na síndrome, na qual os sintomas gastrointestinais são diversos. Sabe-se que o exercício crônico modula tanto a inflamação sistêmica, como a microbiota intestinal. Apesar da reconhecida importância da microbiota na inflamação crônica e local, não há estudos disponíveis na literatura sobre a microbiota na caquexia. O objeto do presente estudo é investigar se o treinamento físico regula a microbiota intestinal de pacientes caquéticos. Participarão da pesquisa pacientes submetidos à cirurgia para tratamento de tumores intestinais no HU-USP. Serão coletadas amostras do intestino grosso, sangue e fezes dos pacientes. Parte das amostras de fezes será
encaminhada para sequenciamento genético (colaboração com NIH, EUA) e identificação das cepas bacterianas. Será aferida a concentração de endotoxina lipopolissacarídeo (LPS) do plasma sanguíneo, e realizada a análise morfológica dos segmentos de cólon coletados no procedimento cirúrgico. As amostras de pacientes caquéticos sedentários e exercitados serão analisadas adotando-se o teste T de Student. A análise dos

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho, com grande carinho e todo o meu amor, àqueles que se tornaram responsáveis pela pessoa que me tornei: meus pais **Adelaide** e **Júlio** que sempre depositaram amor e confiança em mim, minha irmã **Juliana** por ser minha parceira incondicional, aos meus irmãos **David** e **Daniel**, ao meu esposo **Guilherme** por todo apoio, paciência e carinho e aos meus avós (*in memorium*) Raul e Marilandis, Dieter e Guette.

"A maior recompensa para o trabalho do homem não é o que ele ganha com isso, mas o que ele se torna com isso".

John Riskin

AGRADECIMENTOS

À Professora Dra. Marília Cerqueira Leite Seelaender pela oportunidade a mim concedida; por ter acreditado e confiado em meu trabalho; pelo seu apoio em tantos momentos difíceis; por compartilhar comigo, ao menos, uma parcela de todo o seu conhecimento; e pelos ensinamentos, os quais levarei comigo para o resto de minha vida, em especial os ensinamentos que não é a ciência que explica, mas sim o coração.

A todos aqueles com quem convivi nestes últimos anos do Laboratório que ainda estão presentes, e também àqueles que não se fazem mais presentes mas que tiveram, de alguma forma, feito passagem pela minha vida e contribuíram para que este mestrado fosse concluído: Ana Flávia, Anna Taranko, Ariene Murari, Brit Schjeide, Bruna Fernanda, Daniela Caetano, Daniela Riccardi, Diego Cavallaro, Emídio Matos Neto, Estefânia Simoes, Gabriel Macedo, Geovana Leite, Graziela Ravacci, Henrique Andrade, Joanna Carola , Joyce Lima, Katrin Radloff, Lucas Enjiu, Marcelo Carvalho, Marcelo Semiatzh, Michele Alves, Reinado Bassit, Rodolfo Camargo, Rodrigo das Neves, Sílvio Gomes e Urike Lenz. Em especial, à Raquel Galvão Figueredo, que foi uma grande amiga e parceira desde o início! À Emília Ribeiro e Ivanir, pelo excelente suporte técnico. Muito obrigada a todos vocês, por estes anos de convívio e de trabalho cheio de emoções, trabalhos, aprendizados e ensinamentos. Cada um com seu jeitinho de ser contribuiu de alguma forma, não apenas neste trabalho, mas também na construção da pessoa que me tornei após esta jornada! *Good Vibes*!!

Aos voluntários que aceitaram participar deste trabalho e contribuir de alguma forma com a humanidade e saúde do próximo. Sem eles a realização deste trabalho seria inviabilizada!! Assim como os médicos Dr. José Pinhata Otoch, Dra. Linda Ferreira Maximiano e, em especial, Dr. Paulo Sérgio Martins de Alcântara e o Dr. Flávio Tokeshi que se envolveram no projeto com competência e eficiência, contribuindo com o recrutamento dos pacientes, com suas excelências na medicina e seus conhecimentos. Além da colaboração dos enfermeiros (as), patologistas e de toda a equipe do Hospital Universitário da USP.

À Professora Nágila Damasceno e nutricionistas do SND do Hospital Universitário Lila, Laura Grandisoli, Irene Saito, Evelyn e Bruno Dantas. Agradeço pelo suporte em todos os aspectos nutricionais que constam neste trabalho.

À professora Lila Oyama e Cláudia Oller, e seus alunos Nelson Inácio, Daniela Miranda, Laís, Alessandra, Karina Gascho, Marcela, Ana Claudia, Fernanda e Valter. Muito obrigada! Sem vocês este mestrado não teria sido o mesmo, agradeço os ensinamentos, as contribuições, as risadas e a amizade!

Ao Professor Cesar Rosa Neto e todos os alunos que compõe o seu laboratório: Edson Lima, Alexandre, Loriane, Luana, Helena e Tiego.

Ao Laboratório da Professora Patrícia Gama pelos ensinamentos e contribuição para a realização de parte essencial deste trabalho.

Ao apoio de Giorgio Trinchieri e toda a sua equipe do programa “Microbiome and genetics Core of the câncer inflammation” do NIH (National Institute Healt), pela parceria na análise das nossas amostras.

A todos os funcionários do ICB, especialmente, aos professores, alunos, funcionárias da secretaria e funcionários do Departamento de Biologia Celular e do Desenvolvimento, que de certa forma, participaram e contribuíram com a minha formação ao longo destes três anos. Aos profissionais da Biblioteca que sempre estiveram à disposição para ajudar no que fosse necessário e ainda deram o suporte necessário para que este trabalho ganhasse mais forma. Obrigada especial à Teresa que contribuiu não apenas com o seu trabalho, como também com a sua luz de espirito, me tranquilizando quando foi necessário. Aos seguranças e porteiros que garantiram a minha segurança na saída do ICB quando o trabalho pernoitava.

À Rosana Pisco, que agregou seus conhecimentos estatísticos neste trabalho.

À família e amigos, gratidão eterna pelo apoio e amor incondicional especialmente da minha mãe Adelaide Monteiro, minha irmã Juliana e meu marido Guilherme. Obrigada ao meu pai Júlio e sua esposa Pin, aos meus irmão David e Daniel, aos meus sogros José e Ivete e todos os meus cunhados e concunhados, que para mim têm sido como irmãos também Mariana, Gustavo, Tiago, Laís e Daniel, aos meus tio “de coração” Tânia e Carlinhos e aos meus avós “de coração” Didi, Miguel e Dona Maria, e por último, mas para quem me conhece sabe que, com certeza, não é menos especial: minha afilhada Juju e sobrinhos amados Bê e Lele; Agradeço às minhas amigas de infância e colégio Izabela, Lorena, Pâmela e Rachel e da faculdade Alyne, Ana Lúcia, Bárbara, Fernanda, Karen, Mariana, Mayara, Renata e Rudmila. Enfim, todos vocês que vivenciaram bem de perto cada momento, alegria, tristeza, preocupação e vitória destes anos de muito aprendizado e, que acima de tudo, demostraram estar sempre ao meu lado e me apoiando em todos os sentidos em todos os momentos. Obrigada pelo apoio, paciência, força, confiança, compreensão, carinho e amor de cada um de vocês, mesmo diante de minhas ausências e distância não deixaram de me apoiar. Esse trabalho e título é nosso!

À FAPESP pelo apoio financeiro ao projeto temático (FAPESP 2012/50079-0), possibilitando o desenvolvimento e a realização desta dissertação de mestrado que é um subprojeto deste temático.

“O momento que vivemos é um momento pleno de desafios. Mais do que nunca é preciso ter coragem, é preciso ter esperanças para enfrentar o presente. É preciso resistir e sonhar. É necessário alimentar os sonhos e concretizá-los dia-a-dia no horizonte de novos tempos mais humanos, mais justos, mais solidários”.

Marilda Lamamoto

Resumo

CARO, P.L. **Efeito do treinamento físico sobre a microbiota intestinal e impactos nutricionais da caquexia associada ao câncer.** 2017. 126f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

A caquexia é uma síndrome multifatorial cuja característica marcante é a perda de peso, podendo ser agravada pela presença da anorexia, bem como desnutrição decorrente de ingestão inadequada e/ou aumento das necessidades nutricionais, como também prejuízo na absorção e/ou transporte de nutrientes e alterações na biodisponibilização de nutrientes. A síndrome é resistente ao suporte nutricional e está associada a diversas condições clínicas, como o câncer. Até o momento, não existe uma terapia única capaz de reverter a progressão de seus sintomas, uma vez que a sua etiologia é ainda obscura. Sabe-se que os mediadores inflamatórios possuem uma importante contribuição para o desenvolvimento da caquexia, sendo um gatilho para a inflamação sistêmica, considerada o papel chave da síndrome. Alguns estudos apontam que tanto o exercício físico como a microbiota podem modular a inflamação, outros apontam o impacto do exercício físico na microbiota intestinal, caquexia e inflamação. Apesar da importância da microbiota, e de sua ligação com a caquexia e o exercício, não há estudos experimentais em humanos, na literatura, que abordem esta correlação. Desta forma, o presente estudo investigou o impacto do treinamento físico (TF) aeróbio e crônico sobre a inflamação e microbiota intestinal de pacientes com caquexia associada ao câncer, e os impactos nutricionais deste contexto doença e tratamento. Participaram deste estudo pacientes submetidos à cirurgia para o tratamento de tumores intestinais no Hospital Universitário-USP/SP e Santa Casa de SP, sendo divididos nos grupos: portadores de tumor gastrintestinal sem caquexia sedentários (WSC SED) e treinados (WSC TR) e portadores de tumor gastrintestinal com caquexia sedentários (CC SED) e treinados (CC TR). Após assinarem o Termo de Consentimento, foram avaliados peso, composição corporal, consumo alimentar (R24 h), qualidade de vida (QLQ-C30 e STO22) e anorexia (FAACT) dos pacientes. Foram coletados sangue, fezes e fragmento do cólon para análise do perfil bioquímico (Hg e Alb.), inflamatório (PCR, LPS e citocinas), morfológico (HE) e da população microbiana fecal (Piro sequenciamento). Verificamos um menor consumo proteico em CC SED em relação ao WSC TR, contudo, não há correlação positiva entre a perda de peso dos caquéticos com o consumo de proteínas, e sim entre a perda de peso e os parâmetros inflamatórios (IL-6). Os parâmetros bioquímicos para a classificação da caquexia mostraram-se diferentes entre WSC (SED e TR) e CC (SED e TR). O TF não promoveu alterações significativas no consumo energético-proteico de CC TR e WSC TR, contudo, foi observado em ambos os grupos, o aumento da massa corporal total, da massa magra total e a cessação de perda de gordura corpórea; PCR e IL-6 de CC TR estavam aumentados na *Baseline* em relação ao WSC TR, contudo não na semana 6, indicando redução da inflamação; TF reduziu a celularidade e o número de eosinófilos, plasmócitos e fibroblastos na lâmina própria do intestino (morfologia); na microbiota, melhorou a relação entre os filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*. Nosso estudo indica uma complexa interação entre fatores humorais, metabólicos e imunitários na caquexia, que pode ser favoravelmente modulada pelo TF aeróbio.

Palavras-chave: Caquexia. Inflamação. Desnutrição. Microbiota intestinal. Treinamento físico.

ABSTRACT

CARO, P. L. **Effect of physical training on the gut microbiota and the nutritional impacts of cancer cachexia.** 2017. 126p. Master's thesis Masters thesis (Cellular and Tissue Biology) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017.

Cachexia is a multifactorial syndrome, which the main characteristic is weight loss, being worst followed by anorexia and malnutrition, resulting from inadequate consumption of nutrients or an increased nutritional requirement, as well as injury of nutrient absorption and / or transport or changes in the bioavailability of nutrients. The syndrome is resistant to nutritional support and is associated with several clinical conditions, such as cancer. There is no one exclusive therapy, which reverses the progression of its symptoms, since its etiology is still obscure. It is known that the inflammatory mediators contribute substantially to the development of cachexia as a start for systemic inflammation, currently considered the key's syndrome. Some studies indicate that both physical exercise and microbiota can modulate inflammation; others evidence the impact that physical exercise employ on the intestinal microbiota, cachexia and inflammation. Despite the importance of the microbiota and its association with cachexia and physical exercise, there are no experimental human studies in the literature to establish the correlation between them. Therefore, the present study investigated the impact that aerobic physical training employ on the inflammation and intestinal microbiota of weight stable cancer and cancer cachectic patients, as well as the nutritional impacts of cachexia associated with cancer. It was recruited patients, who experience surgery to treat intestinal tumors, from the University Hospital and Santa Casa de São Paulo; after signature informed consent they were divided in: weight-stable patients with gastrointestinal cancer sedentary (WSC SED) and trained (WSC TR) and patients with gastrointestinal cancer and cachexia sedentary (CC SED) and trained (CC TR). Body composition, food consumption assessment (R24), quality of life questionnaire (QLQ-C30 e STO22) and anorexia (FAACT) were evaluated. Blood, feces and colon fragment were collected to analyze some profiles like biochemical (Hg and Alb.), Inflammatory (CRP, LPS and cytokines), morphological (HE) and fecal microbial populations (Piro sequencing). We found a lower protein consumption in CC SED comparing to WSC TR, however, in cachectic patients, there is no positive correlation between weight loss and protein consumption, but rather between weight loss and inflammatory parameters (IL-6); And the biochemical parameters for classification of cachexia were different between WSC (SED and TR) and CC (SED and TR). The physical training (TF) did not promote changes in the energy-protein consumption of CC TR and WSC TR, although in both groups there was an increase in total body mass, total lean mass and discontinuance of body fat loss. PCR and IL-6 were higher in CC TR compared to WSC TR in Baseline but not at week six of TF, showing decrease of inflammation. TF reduced cellularity and the number of eosinophils, plasma cells and fibroblasts in the intestine's lamina propria (morphology); and in the microbiota improved the composition ratio between *Firmicutes* and *Bacteroidetes*. Therefore, our study indicates a complex interaction between humoral, metabolic and immune factors in cachexia, which aerobic physical training favorably can modulated.

Keywords: Cachexia. Inflammation. Malnutrition. Gut microbiota. Exercise Training.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - MODELO DA PLANILHA EM EXCEL DESENVOLVIDA PARA AUXILIAR NA CARACTERIZAÇÃO DO PACIENTE COM E SEM CAQUEXIA. 34

FIGURA 2 - CRITÉRIOS UTILIZADOS PARA O DIAGNÓSTICO DA CAQUEXIA 35

FIGURA 3 - DESENHO EXPERIMENTAL DO PROTOCOLO DE TREINAMENTO FÍSICO (PFT) 36

FIGURA 4 - EQUIPAMENTO DEXA DA LUNAR DPX GE (GENERAL ELECTRIC DO BRASIL LTDA). 39

FIGURA 5 – ESQUEMA ILUSTRATIVO DAS ETAPAS PARA DETERMINAR A CONCENTRAÇÃO DE PROTEÍNAS PELO MAGPIX®. 42

FIGURA 6 - REPRESENTAÇÃO ESQUEMÁTICA DAS ETAPAS DE SELEÇÃO DOS VOLUNTÁRIOS ..46

FIGURA 7: CORRELAÇÃO ENTRE O CONSUMO ALIMENTAR DE FERRO (MG) E PROTEÍNA (% DE ADEQUAÇÃO PROTEICA) COM OS PARÂMETROS BIOQUÍMICOS HEMOGLOBINA (G/DL) E ALBUMINA (G/DL) NOS PACIENTES COM CAQUEXIA (CC SED). 51

FIGURA 8 - CORRELAÇÃO ENTRE O CONSUMO ALIMENTAR ENERGÉTICO-PROTEICO (% DE ADEQUAÇÃO) COM A PERDA DE PESO (%) DOS PACIENTES COM CAQUEXIA (CC SED). 51

FIGURA 9 - CORRELAÇÃO ENTRE A PERDA DE PESO (%) DOS PACIENTES COM CAQUEXIA (CC SED) COM OS PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS 52

FIGURA 10 - PARÂMETROS BIOQUÍMICOS E INFLAMATÓRIOS UTILIZADOS PARA O DIAGNÓSTICO DA CAQUEXIA, NO INÍCIO E TÉRMINO DO TF. 53

FIGURA 11 - EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO NA COMPOSIÇÃO CORPORAL PELO DEXA ENTRE OS GRUPOS E AO LONGO DE 6 SEMANAS. 54

FIGURA 12 - EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO NA COMPOSIÇÃO CORPORAL PELO DEXA ENTRE BASELINE E SEMANA 6 54

FIGURA 13 - EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO NO CONSUMO ENERGÉTICO PROTEICO DOS PACIENTES. 55

FIGURA 14 - EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO NO CONSUMO DE MACRONUTRIENTES PELOS PACIENTES. 55

FIGURA 15 - EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO NO CONSUMO DE MICRONUTRIENTES PELOS PACIENTES. 56

FIGURA 16 - EFEITO DO TREINAMENTO FÍSICO NO CONSUMO DE ÁCIDOS GRAXOS DO TIPO N-3 E N-6 PELOS PACIENTES 56

FIGURA 19 - EXPRESSÃO PROTEICA DE CITOCINAS PRÓ-INFLAMATÓRIAS (IL-6 E TNF-A) NO PLASMA DOS PACIENTES TREINADOS. 59

FIGURA 20 - EXPRESSÃO PROTEICA DAS QUIMIOCINAS CCL3 E CCL4 NO PLASMA DOS PACIENTES TREINADOS. 59

FIGURA 21 - EXPRESSÃO PROTEICA DO FATOR DE CRESCIMENTO G-CSF NO PLASMA DOS PACIENTES TREINADOS. 60

FIGURA 26 - ANÁLISE VISHAL – AVALAIÇÃO DA ABUNDÂNCIA RELATIVA DOS FILOS ENTRE OS GRUPOS E OS TEMPOS DO TREINAMENTO FÍSICO. 64

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 - CARACTERÍSTICAS GERAIS DOS PACIENTES NA *BASELINE.* 48

TABELA 2 - PARÂMETROS BIOQUÍMICOS PARA O DIAGNÓSTICO DA CAQUEXIA (BASELINE) ... 49

TABELA 3 - CARACTERIZAÇÃO DO CONSUMO DE MACRONUTRIENTES PELOS PACIENTES SEDENTÁRIOS. 50

TABELA 4 - CARACTERIZAÇÃO DO CONSUMO DE MICRONUTRIENTES PELOS PACIENTES 50

TABELA 5 - ABUNDÂNCIA RELATIVA (%) DOS FILOS DA MICROBIOTA FECAL DOS PACIENTES COM CÂNCER PELO TEMPO DE TREINAMENTO FÍSICO 62

TABELA 6 - VALORES DE FOLD CHANGE (EM LOG DE BASE 2) DE CADA GENE QUE FOI DIFERENTEMENTE EXPRESSO EM PELO MENOS UM DOS GRUPOS NA BASELINE DO TREINAMENTO FÍSICO. 65

TABELA 7 - VALORES DE FOLD CHANGE (EM LOG DE BASE 2) DE CADA GENE QUE FOI DIFERENTEMENTE EXPRESSO EM PELO MENOS UM DOS GRUPOS NA SEMANA 6 DO TREINAMENTO FÍSICO. 65

TABELA 8 - EXPRESSÃO PROTEICA DE CITOCINAS, QUIMIOCINAS E FATORES DE CRESCIMENTO NO PLASMA DOS PACIENTES TREINADOS. 110

TABELA 9 - TABELA DE CLASSIFICAÇÃO DAS OTUS DA REDE MICROBIANA FECAL DOS PACIENTES CC TR E WSC TR. 113

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

Δ	Delta
AA	Ácido araquidônico
AGL	Ácidos graxos livres
Alb	Albumina
CC	Câncer com caquexia
CC SED	Câncer com caquexia sedentário
CC TR	Câncer com caquexia treinado
CCL2	Proteínas quimioatraentes de monócitos 1
CEP	Comitê de ética e pesquisa
DEXA	Absorciometria de raios-X de dupla energia
DNA	Ácido desoxinucleico
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético (tipo de anticoagulante)
FAACT-ESPEN	Pontuação anoréxica
Hb	Hemoglobina
HU	Hospital Universitário
ICB	Instituto de Ciências Biomédicas
IFN-γ	Interferon gamma
IL	Interleucina
IL-1ra	Receptor antagonista de interleucina 1
IMC	Índice de massa corporal
LA	Ácido linoleico
LPS	Lipopolissacarídeo
LP	Lâmina própria
NIH	Instituto Nacional de Saúde (National Intitute of Health - USA)
n-3	Ômega-3
n-6	Ômega-6
OMS	Organização mundial de saúde
OTU	Unidades Taxonômicas Operacionais
PCR	Proteína C-reativa

QLQ-C30	Questionário de qualidade de vida
QLQ-STO22	Questionário qualidade de vida pacientes com câncer gástrico
R24 h	Recordatório alimentar de 24 horas
SIDA	Síndrome da imunodeficiência adquirida
SFA	Ácidos graxos saturados
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TF	Treinamento físico
TLR-4	Receptor Toll-like 4
TNF	Fator de necrose tumoral
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa
U.A.	Unidade arbitrária
UI	Unidades internacionais
U.E.	Unidade de Endotoxina
USP	Universidade de São Paulo
VO2	Volume máximo de oxigênio
WSC	Câncer sem perda de peso
WSC SED	Câncer sem perda de peso sedentário
WSC TR	Câncer sem perda de peso treinado

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 21
1.1 A caquexia associada ao câncer 21
1.2 Caquexia e inflamação sistêmica 23
1.3 Microbiota e inflamação sistêmica 24
1.4 Exercício físico, inflamação sistêmica e microbiota 27
2 JUSTIFICATIVA 30
3 OBJETIVOS 31
3.1 Objetivo geral 31
3.2 Objetivos específicos 31
3.2.1 *Analisar em pacientes com câncer sem caquexia e com caquexia* 31
3.2.2 *Avaliar o efeito do treinamento físico nos pacientes com câncer sem caquexia e com caquexia sobre os seguintes parâmetros* 31
4 MATERIAL E MÉTODOS 32
4.1 Seleção dos sujeitos da pesquisa 32
4.2 Aspectos éticos 33
4.3 Critérios para diagnosticar a caquexia 33
4.4 Grupos experimentais 35
4.5 Protocolo de treinamento físico 35
4.6 Avaliação nutricional 36
4.7 Avaliação da composição corporal 38
4.8 Coletas de amostras 39
4.8.1 *Coleta do soro/plasma* 39
4.8.2 *Coleta e obtenção das fezes* 39
4.8.3 *Coleta de fragmentos de intestino (cólon)* 40
4.9 Análises 40
4.9.1 *Análises bioquímicas para classificação dos pacientes* *40*
4.9.2 *Análises bioquímicas para investigar a permeabilidade intestinal* *41*
4.9.3 *Análises bioquímicas para investigar perfil inflamatório* 41
4.9.4 *Análise de conteúdo fecal* 42
4.9.4.1 Extração do DNA das bactérias do conteúdo feca **42**
4.9.4.2 Análise de Pirosequenciamento do DNA fecal 43
4.9.5 *Análise morfológica dos segmentos intestinais* 44
4.9.6 *Análise estatística* 45
5 RESULTADOS 46

5.1 Características gerais dos pacientes 46

5.2 Análise dos parâmetros bioquímicos utilizados para o diagnóstico da caquexia 48

5.3 Características do consumo alimentar (sedentários/ baseline) 49

5.3.1 *Características no consumo de macronutrientes pela população* 49

5.3.2 *Características no consumo de micronutrientes* 50

5.3.3 *Correlações entre o consumo alimentar e os principais parâmetros utilizados para a classificação da caquexia* 51

5.3.4 *Correlações entre a perda de peso encontrada nos pacientes com caquexia e os parâmetros inflamatórios* 52

5.4 Efeito do treinamento físico 52

5.4.1 *Efeito do treinamento físico sobre os principais parâmetros para a classificação da caquexia* 52

5.4.2 *Efeito do treinamento físico sobre a composição corporal (DEXA)* 53

5.4.3 *Efeito do treinamento físico sobre o consumo alimentar* 54

5.4.4 *Efeito do treinamento físico sobre a morfologia do intestino grosso (cólon)* 56

5.4.5 *Efeito do treinamento físico sobre a expressão proteica de citocinas no plasma dos pacientes* 59

5.4.6 *Efeito do treinamento físico sobre a translocação bacteriana (endotoxina)* 60

5.4.7 *Efeito do treinamento físico sobre a microbiota dos pacientes* 61

6 DISCUSSÃO 66

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS 82

REFERÊNCIAS* 83

ANEXO

A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) 101

B – Recordatório alimentar de 24 horas 104

C – Relatório da avaliação corporal emitida pelo DEXA 105

D – Questionário de qualidade de vida - EORTC QLC-C30 106

E – Questionário de qualidade de vida - EORTC QLC-STO2 108

F – Questionário de anorexia – FAACT-ESPEN 109

G – Tabela 8 - expressão proteica das citocinas, quimiocinas e fatores e crescimento 1090

H – Tabela 9 - de Classificação das OTUs da rede microbiana fecal dos pacientes 113

1 INTRODUÇÃO

1.1 A caquexia associada ao câncer

O aumento na prevalência de doenças crônicas não transmissíveis é uma das principais características do processo de transição *epidemiológica*, que vem ocorrendo de maneira rápida desde 1960 (BARRETO et al., 2009). O número de casos de câncer tem aumentado de maneira considerável em todo o mundo, configurando-se, atualmente, como um dos mais importantes problemas de saúde pública mundial (GUERRA et al., 2005). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS, 2017), o câncer é responsável por aproximadamente 1 em cada 6 mortes em todo o mundo; em 2015 foi responsável por 70% dos 56 milhões de mortes registradas (40 milhões).

Estima-se que mais de 14 milhões de pessoas são diagnosticadas todos os anos com a doença e a previsão é de que esse número aumente para além de 20 milhões de casos novos estimados para 2025 e para 24 milhões em 2035. De acordo com o Instituto Nacional do Câncer - INCA (2017), no Brasil, o câncer é a segunda maior causa de morte no Brasil, com uma previsão de atingir 1,2 milhão de casos até 2018 e da doença ocupar a primeira posição de causa de morte até 2020. O INCA chama a atenção para o fato de que 60% dos casos de câncer no Brasil são diagnosticados em estágio avançado.

Aproximadamente 50% dos pacientes com câncer apresentam uma síndrome paraneoplásica denominada caquexia (TISDALE, 1999) e, conforme o tipo de câncer, sua incidência pode variar atingindo até 80% nos casos de câncer gastrintestinal (ARGILES; LOPEZ-SORIANO, 1999; FEARON; MOISES, 2002;. TORDOV et al., 1996),, sendo a mesma responsável por até 40% do total de óbitos no câncer (ARGILES; LOPEZ-SORIANO, 1999; FEARON; MOISÉS, 2002;. TORODOV et al., 1996), A caquexia pode afetar também pacientes com falência cardíaca congestiva, moléstias digestivas, defeitos tubulares renais, queimaduras, sepse e síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA) (ARGILES et al., 2010).

A caquexia é caracterizada especialmente pela intensa perda de peso corporal involuntária, a qual pode estar associada tanto com a depleção dos depósitos de gordura corporal, como também com a espoliação da massa magra (ARGILES et al., 2015; MCMILLAN, 2009).

No contexto clínico, estas condições são confundidas com a má nutrição, que pode ser definida tanto como uma desnutrição decorrente de ingestão inadequada e/ou do aumento das necessidades nutricionais, como também uma decorrência de prejuízo na absorção e/ou transporte de nutrientes ou alterações na biodisponibilização de nutrientes (BECKER et al., 2015). Entretanto, a caquexia é resistente ao suporte nutricional convencional (DONOHOE; RYAN; REYNOLDS, 2011; FEARON et al., 2011; KOICHI et al., 2016). A ingestão reduzida de alimentos em pacientes com câncer é causada por anorexia primária (FEARON; ARENDS; BARACOS, 2013). As causas da anorexia podem incluir uma variedade de alterações nos neurotransmissores centrais, muitas vezes um aumento nas citocinas pró-inflamatórias (EZEOKE; MORLEY, 2015), mudanças na percepção do sabor e aroma dos alimentos, possível obstrução no trato gastrointestinal (induzida por um tumor) e fatores psicológicos (ARGILES et al., 2014).

Além da perda da massa corporal, que acontece de forma involuntária, rápida e progressiva, outros sintomas presentes na caquexia são: inflamação sistêmica, fraqueza, astenia, hipoalbunemia, hipermetabolismo, anemia e alterações no metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas (ARGILES et al., 2014; SAINI; AL-SHANTI; STEWART, 2006). Toda esta lesiva condição, pode ainda ser agravada pela anorexia, afetando diretamente a qualidade de vida dos pacientes (JOHNS; STEPHENS; FEARON, 2013).

A caquexia é considerada uma síndrome multifatorial e a sua etiologia e os seus mecanismos ainda não estão totalmente elucidados, enquanto o seu diagnóstico é incerto e inexistem marcadores definitivos para sua detecção (SEELAENDER et al., 2012). Consequentemente, a síndrome não possuí ainda um tratamento efetivo, que a reverta completamente (ARGILES; LÓPEZ-SORIANO; BUSQUETS, 2008; EVANS et al., 2008; FOX et al., 2009; SPRINGER et al., 2006), provocando uma deterioração progressiva do organismo (MUSCARITOLI et al., 2010).

Devido a toda esta complexidade, o diagnóstico da caquexia em seus estágios iniciais é primordial para o sucesso do tratamento. Assim, um consenso internacional propôs como critério de diagnóstico para a caquexia, a presença de perda de massa corporal (que deve ser superior a 5% nos últimos 12 meses), desordem metabólica e inflamação sistêmica (com aumento das concentrações séricas de proteína C-reativa). Neste sentido, foram consideradas relevantes as alterações bioquímicas relacionadas com a presença marcante de inflamação sistêmica, anemia e hipoalbuminemia

(EVANS et al., 2008), critérios igualmente adotados pelo Consenso Brasileiro de Caquexia e Anorexia (2011).

1.2 Caquexia e inflamação sistêmica

A concepção da síndrome como estado inflamatório crônico tem, desde o início da década passada, tomado impulso (ARGILES et al., 2015; BALDWIN, 2011; FEARON; SUZUKI et al., 2013; FEARON et al., 2015; PETERSON; MOZER, 2017; VAUGHAN; MARTIN; LEWANDOWSKI, 2013).

As complicações associadas ao agravamento da caquexia estão intimamente ligadas ao balanço de fatores anti e pró-caqueticos (ARGILES et al., 2014). Entre estes, destacam-se as citocinas, incluindo o fator de necrose tumoral-α (TNF α), a interleucina-1 (IL-1), a interleucina-6 (IL-6) e o interferon-γ (IFNγ), que alteram o metabolismo de macronutrientes pela indução da redução da síntese proteica, aumento da degradação proteica e da lipólise, e ainda, ao aumento da produção hepática de proteínas de fase aguda (ESPER; HARB, 2005; JEEJEEBHOY, 2012; MORLEY et al., 2011; NICOLINI et al., 2013; PETERSON; MOZER, 2017). O aumento da concentração de TNF-α está associado ao incremento na concentração circulante de hormônio liberador de corticotropina (CRH), contribuindo com a diminuição da ingestão de alimentos (PATEL; PATEL, 2017). Em um estudo prospectivo de Schaap et al. (2006) com cerca de 1000 indivíduos mais velhos (idade média de 74,6 anos), concentrações elevadas de IL-6 e PCR aumentaram o risco de perda de força muscular, ao longo de um período de 3 anos.

Uma vez que a inflamação é fundamental na progressão da caquexia, torna-se interessante estabelecer quais os mecanismos responsáveis por sua indução. Esta inflamação pode ter como origem as próprias células tumorais (FLINT et al., 2016; TISDALE, 2009), como também as células imunológicas do hospedeiro que, ao serem ativadas, liberam citocinas, quimiocinas e outros mediadores inflamatórios; e ainda, provir da interação entre tumor e hospedeiro (DONOHOE; RYAN; REYNOLDS, 2011).

Embora o tumor seja, neste cenário, possivelmente o principal responsável pela ativação das células imunes, o intestino parece ter também um papel nesse processo (CANI; DELZENNE, 2009; GOLDSZMID; TRINCHIERI, 2012; HOGENOVA et al., 2011; KLEIN et al., 2013; NATIVIDAD; VERDU, 2013; WEISS; HENNET, 2016).

1.3 Microbiota e inflamação sistêmica

A modulação da inflamação sistêmica por microrganismos presentes no trato digestório é alvo de bastante interesse atualmente, principalmente em estudos relacionados ao seu papel na obesidade (CANI et al., 2012; EVERARD; CANI, 2013; REMELY et al., 2015; TURNBAUGH et al., 2009). Em um estudo de Roy e Trinchieri (2017), foi comprovada a possibilidade de modular as características da microbiota durante o tratamento anticâncer (quimioterapia e radioterapia), melhorando a eficácia anticancerígena enquanto evita sua toxicidade. Sun e Kato (2016) sugerem que a microbiota humana desempenha papéis inovadores na progressão do câncer de cólon.

Na caquexia, contudo, pouco foi investigado até o momento. Sandek et al. (2008) e Sandek; Anker; Haehling (2009) e 2012 relatam que há relação entre a caquexia cardíaca e a inflamação intestinal, com alteração da microbiota. Acredita-se que a perda da integridade da mucosa intestinal possibilita uma maior interação de bactérias do intestino com o hospedeiro, seguida de inflamação local e sistêmica, podendo agravar os sintomas clínicos de doenças crônicas, como a insuficiência cardíaca congestiva. Contudo, alterações no próprio intestino podem interferir na regulação imposta pela microbiota ao órgão.

A Inflamação intestinal conduz à liberação de citocinas pró-inflamatórias, o que pode agravar a lesão da mucosa e aumentar a permeabilidade do intestino, alterações já descritas em pacientes caquéticos (JIANG et al., 2014). Embora o papel da disfunção da barreira intestinal no contexto de inflamação sistêmica associada à caquexia seja hipotético, estudos em modelos animais indicam que esta possa desempenhar um papel tanto suplementar, como principal no processo (BINDELS et al., 2015; ERNST et al., 2014; GOLDSZMID; TRINCHIERI, 2012; GRONBACH et al., 2014; KLEIN et al., 2013) Para Goldszmid, Dzutsev e Trinchieri (2014), a microbiota exerce uma importante contribuição para a resistência à infecção e à eficácia de terapias anti-câncer.

Um corpo crescente de evidências indica que desequilíbrios em função de alterações na permeabilidade da barreira intestinal, associadas com perturbações ou translocação dos componentes da microbiota, desempenham um papel chave na indução de mecanismos imunes que levam à inflamação, doenças auto-imunes e

neoplásicas (GOLDSZMID; TRINCHIERI, 2012; HOGENOVA et al., 2011; NATIVIDAD; VERDU, 2013; ROY; TRINCHIERI, 2017); além disso, conduzem à caquexia, acompanhadas por um aumento na concentração de endotoxina no plasma (NORMAN; PIRLICH, 2008; PUPPA et al., 2011). Segundo Klein et al. (2013), é plausível que o aumento da translocação de endotoxina bacteriana possa conduzir à inflamação sistêmica em pacientes com caquexia. A passagem de lipopolissacarídeo (LPS) e outras toxinas bacterianas provindas do intestino para a corrente sanguínea ativa a síntese e liberação de citocinas pelas células do sistema imunitário (ARGILES et al., 2014). Em modelos animais, a endotoxemia provoca a liberação de leucócitos e citocinas pró-inflamatórias, que alteram a expressão dos transportadores de membrana das células intestinais, levando à inibição da absorção de água e de eletrólitos (DU et al., 2014; MUSCH et al., 2002).

Apesar da importante função, a barreira da mucosa intestinal normalmente não é tão eficiente no controle de translocação microbiana, em particular quando infecções ou condições inflamatórias alteram a produção local de peptídeos antibacterianos e anticorpos, ou quando afetam as junções celulares do epitélio intestinal, com aumento da permeabilidade da mucosa (TRINCHIERI, 2012).

Atualmente, é amplamente reconhecido que o agrupamento de determinadas bactérias modula funções metabólicas e biológicas importantes que não podem ser realizadas em completo pelo metabolismo humano (CANI et al., 2012). Cani e Delzenne (2009) e Han et al. (2010) demonstraram que a microbiota intestinal participa da regulação do metabolismo, afetando o balanço energético, o destino metabólico da glicose e relacionando-se com a inflamação leve e crônica, associada à obesidade.

A microbiota humana é composta por aproximadamente 100 trilhões de microrganismos, um número pelo menos 10 vezes superior ao de células que compõem o corpo humano. No intestino, esta microbiota é ambientalmente adquirida desde o nascimento e pode ser modificada desde a infância até a fase adulta de acordo com fatores intrínsecos e extrínsecos, tais como: o tipo de parto no nascimento (normal ou cesariana), tipo de aleitamento na infância (materno ou fórmula infantil), idade, nutrição, uso de antibióticos, stress, nutrição, prática de exercícios (CERDÁ et al., 2016); por fatores ambientais (como país de origem) e eventos de vida (incluindo puberdade, ciclo ovariano, gravidez e menopausa) afetam o desenvolvimento da população microbiana e sua atividade (ADLERBERTH; WOLD, 2009; NICHOLSON et

al., 2012). A genética do hospedeiro impulsiona a variação fenotípica e Goodrich, et al. (2014) confirmam que o nosso fenótipo microbiano também é influenciado pelo nosso estado genético. Na microbiota da idade adulta, 90% das bacteriaspertencem aos filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes* (BRADLEY; POLLARD, 2017; HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM, 2012; LEY et al., 2006), enquanto o outro grupo minoritário de bactérias pertencem aos filos *Proteobacteria*, *Actinobacteria*, *Fusobacteria* e *Verrucomicrobia* (HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM, 2012).

A microbiota do intestino desempenha várias funções importantes para a saúde do hospedeiro (MONDA et al., 2017; ROY; TRINCHIERI, 2017). Recentemente, propôs-se que as alterações no desenvolvimento ou na composição da flora intestinal (disbiose) participam no desenvolvimento da obesidade e podem conduzir a doenças auto-imunes crônicas, como doença inflamatória intestinal e distúrbios metabólicos, câncer gastrointestinal, doenças infecciosas (CANI; DELZENNE, 2009; GOLDSZMID; TRINCHIERI, 2012; HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM, 2012; WEISS; HENNET, 2017). Além disso, a administração de estirpes de *Lactobacillus* específicas ou carboidratos não digeríveis, fermentados por micróbios do intestino, pode reduzir a inflamação sistêmica e/ou a progressão do câncer (BINDELS et al., 2012).

O sistema imunológico permite uma relação simbiótica dos seres humanos com a microbiota comensal, mantendo uma homeostase não-inflamatória (KIM; KIM, 2016; WEISS; HENNET, 2017). Considerando a influência da disbiose na inflamação e possivelmente na caquexia, Puppa et al. *(*2011) forneceram evidências experimentais para a associação de disfunção da barreira intestinal e endotoxemia em caquexia utilizando o modelo ApcMin / + camundongo de câncer de cólon. A caquexia progrediu junto com a disfunção da barreira e foi correlacionada com aumento da concentração sistêmica de lipopolissacarídeo e a citocina pró-inflamatória IL-6.

Zhang et al. (2012), estudaram a relação entre a permeabilidade intestinal e a caquexia em pacientes com câncer, tendo relatado que nos pacientes caquéticos houve uma taxa significativamente mais elevada de translocação microbiana (TM), do que naqueles não caquéticos e controles saudáveis. Além disso, os pacientes caquéticos com evidência de TM demonstraram elevado conteúdo plasmático das citocinas IL-1α, IL-6, IL-8, e TNF-α, quando comparados a MT (+) não caquéticos, MT (-) pacientes caquéticos, e controles saudáveis. Tomados em conjunto, estes estudos

proporcionam evidências experimentais de que a disfunção da barreira intestinal pode contribuir para a inflamação sistêmica e para os efeitos metabólicos associados à caquexia (KLEIN et al., 2013).

De acordo com Steves et al. (2016), a identificação de pacientes de alto risco com baixa diversidade em sua microbiota poderia levar plausivelmente a intervenções terapêuticas simples e seguras.

A presença da classe de bactérias do filo *Bacteroidetes* na microbiota intestinal está diretamente relacionada à massa magra do corpo (LEY et al., 2006; LEY, 2010; TURNBAUGH et al., 2009); além disso, Bindels et al. (2012) revelaram que a composição da microbiota intestinal é alterada com a caquexia: adotando um modelo murino de leucemia aguda e caquexia, verificaram que a presença de *Lactobacillus* spp. cecal, um gênero de bactérias conhecida por suas propriedades imunomoduladoras, foi diminuída. As espécies de lactobacilos foram diferencialmente afetadas: *L. reuteri* e *L.gasseri/johnsonii* foram reduzidos, enquanto *L. murinus/animalis* permaneceram inalterados. Da mesma forma, Turnbaugh et al. (2006) e Turnbaugh et al. (2009) relatam que o equilíbrio de *Bacteroides e Firmicutes* (filos de bactérias presentes na microbiota) são alterados com a obesidade, bem como com a proporção de massa corporal magra.

Bindels et al. (2015) demonstram, em dois modelos diferentes de caquexia em animais, que a síndrome altera a microbiota. Além disso, estudos de Varian et al. (2016) constataram que a suplementação dietética com a bacteria, *L. reuteri*, evitou a atrofia muscular em camundongos. Estes trabalhos sugerem que a microbiota intestinal pode influenciar a fisiologia muscular através da alteração da biodisponibilidade de aminoácidos; influenciar metabolitos tais como ácidos biliares; e modular a produção de citocinas pró-inflamatórias.

1.4 Exercício físico, inflamação sistêmica e microbiota

O efeito do exercício regular (treinamento) sobre a redução da concentração de citocinas pró-inflamatórias tem sido continuamente estudado (CHEN et al., 2007; GLEESON et al., 2011; KASAPIS; KASPAR et al., 2016; SLOAN et al., 2007; THOMPSON, 2005), inclusive seu potencial mecanismo na progressão do câncer (BETOF et al., 2013) e da caquexia (CRAWFORD, 2016).

A associação entre os sinais de inflamação sistêmica e da caquexia no câncer é clara, tanto em pacientes, quanto em modelos animais experimentais (TRINCHIERI, 2012). Dados de estudos de intervenção sugerem que o treinamento físico aeróbio pode reduzir a inflamação crônica de baixo grau (NIMMO et al., 2013) e é recomendado tanto na prevenção, como na restauração das alterações crônicas encontradas em diversos tipos de doenças (LIRA et al., 2009; MONDA et al., 2017).

Estudos em animais demostram que o treinamento físico pode modular a inflamação sistêmica e atenuar diversos dos sintomas da caquexia, bem como reduzir as dimensões do tumor (revisão de LIRA; NETO; SEELAENDER, 2014). Uma possível hipótese para este fato seria que o treinamento físico (TF) atuaria através da modulação da microbiota.

Em seu início, o exercício físico aumenta os impulsos dos centros motores no cérebro, bem como de músculos de trabalho, provocam um aumento dependente da carga de trabalho em atividade adrenal e na liberação de hormônios hipofisários. Estas mudanças controlam, em seguida, a secreção de células endócrinas subordinadas, resultando entre vários fatores, em um aumento na secreção de substâncias relacionado com a homeostasia do trato digestório (OLIVEIRA; BURINIA, 2009).

O fato de o exercício físico reduzir o tempo do trânsito intestinal pode afetar indiretamente o risco de câncer de cólon e de doenças inflamatórias intestinais, através diminuição da concentração de ácidos biliares secundários ou do aumento dos ácidos graxos de cadeia curta fecal (PETERS et al., 2001).

O n-butirato é um tipo de ácido graxo de cadeia curta (AGCC), sendo um produto final da fermentação bacteriana nos intestinos e é conhecido por estar relacionado com a motilidade intestinal e com o desenvolvimento de distúrbios intestinais. O tempo de trânsito intestinal está inversamente correlacionado com a concentração de n-butirato das fezes (PEDDLE; AU; COURNEYA, 2008) e este ácido graxo desempenha um papel na modulação de macrófagos intestinais de respostas imunitárias (CHANG, et al., 2014).

Apesar de não terem explorado o efeito como consequência de alterações induzidas pela atividade da microbiota intestinal, Oliveira et al. (2011) sugeriram que o exercício físico atenua a resposta inflamatória induzida por uma alimentação rica em gordura. Para Matsumoto et al. (2008), a alteração na composição da flora cecal e da fermentação cecal, contribuiu presumivelmente, em seu trabalho, para os efeitos

benéficos do exercício em distúrbios gastrointestinais.

De acordo com a literatura, está estabelecido que o exercício físico inicia alterações significativas na microbiota intestinal (caracterização genética da microbiota) em modelos animais (COOK et al., 2016). Recentemente, Allen et al. (2015) verificaram que a microbiota intestinal é sensível tanto para a modalidade de exercício, quanto para o momento na vida em que se inicia o treinamento físico TF. Em um estudo com animais, Liu et al. (2015) verificaram também que a capacidade aeróbica do indivíduo pode influenciar o impacto que o exercício exerce sobre a composição da microbiota intestinal.

Segundo Monda et al. (2017) o exercício pode ser usado como um tratamento para manter o equilíbrio da microbiota ou para reequilibrar sua eventual disbiose, promovendo assim uma melhora do estado de saúde, uma vez que é capaz de melhorar a relação Bacteroidetes-Firmicutes. Este fato pode potencialmente interferir na evolução de doenças associadas a distúrbios gastrointestinais; estimular a proliferação de bactérias que podem modular a imunidade da mucosa e melhorar as funções de barreira, resultando na redução da incidência de doenças metabólicas; e estimular bactérias capazes de produzir substâncias que protegem contra distúrbios gastrointestinais e câncer de cólon.

De acordo com estudos de Bindels e Delzenne (2013), a modulação da microbiota intestinal constitui um futuro alvo terapêutico no tratamento da perda de massa muscular associada à caquexia do câncer e à desnutrição e em conjunto com a estudos de Varian et al. (2016) sobre os efeitos benéficos da suplementação de *L. reuteri* (bactéria simbiótica) sobre a massa muscular de ratos, fornece evidências elementares para a presença de um eixo microbiota intestinal – músculo esquelético em mamíferos, oferecendo possíveis alternativas para a prevenção da caquexia.

Contudo, apesar da importância da microbiota e de sua ligação com a caquexia e o exercício, não há estudos experimentais em humanos na literatura que abordem esta correlação.

2 JUSTIFICATIVA

Sabe-se que: (1) A inflamação sistêmica desempenha um papel fundamental na caquexia; (2) A microbiota pode modular a inflamação; (3) O exercício influencia diretamente o processo inflamatório e a microbiota. Sendo assim, a hipótese do presente estudo é de que o exercício físico pode modular a microbiota dos pacientes com caquexia do câncer, atenuando a inflamação sistêmica e, consequentemente, os sintomas da caquexia.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral: avaliar se o treinamento físico de *endurance* altera a microbiota intestinal de pacientes caquéticos.

3.2 Objetivos específicos

3.2.1 *Analisar em pacientes com câncer sem caquexia e com caquexia*

- O perfil inflamatório (no sangue)
- O perfil de consumo alimentar
- A organização morfológica do cólon (distal ao tumor)
- A identificação da microbiota das fezes por meio de sequenciamento dos genes das cepas presentes

3.2.2 *Avaliar o efeito do treinamento físico nos pacientes com câncer sem caquexia e com caquexia sobre os seguintes parâmetros*

- O perfil inflamatório (no sangue)
- O perfil de consumo alimentar
- A organização morfológica do cólon (distal ao tumor)
- A identificação da microbiota das fezes por meio de sequenciamento dos genes das cepas presentes

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Seleção dos sujeitos da pesquisa

Esta pesquisa contou com a participação de pacientes voluntários de ambos os sexos, com idade superior a 18 anos, sem discernimento da classe social e da raça, portadores de tumor gastrointestinal (caquéticos ou não) e submetidos à cirurgia para a retirada do tumor no Hospital Universitário da Universidade de São Paulo (HU/USP) e no hospital Irmandade Santa Casa de Misericórdia/SP.

O recrutamento dos pacientes foi realizado no ambulatório, por médicos especialistas em oncologia gastrointestinal, de forma que o próprio médico identificou os possíveis casos cirúrgicos e os encaminhou para o projeto, após avaliar as condições gerais de saúde do paciente. Desta forma, sendo constatada a capacidade para a realização do exercício, o paciente foi convidado a participar do protocolo do treinamento físico (PTF) com duração de 6 semanas, anteriores à data de sua cirurgia, no qual, as coletas foram realizadas antes de iniciar o TF (*Baseline*), na semana 6 do TF e, depois, na cirurgia; não sendo possível participar do TF, quando a cirurgia do paciente era agendada para um prazo menor do que as 6 semanas ou no caso de incapacidade, o paciente se enquadrava no grupo dos sedentários, sendo realizadas as coletas entre o período de sua internação no hospital (pré-cirúrgica) e, depois, na cirurgia.

Foram incluídos como critérios de exclusão de pacientes: paciente em tratamento quimioterápico; uso contínuo de anti-inflamatórios ou antibióticos nos últimos 60 dias; falência renal ou hepática, hepatite, Doença de Chagas, SIDA (Síndrome da imunodeficiência adquirida), doenças inflamatórias intestinais ou processos inflamatórios crônicos não relacionados à caquexia, doenças autoimunes, diabetes descompensada e obesidade.

A seleção do paciente para o presente estudo, não promoveu nenhuma modificação na conduta do procedimento cirúrgico ou tratamentos dos voluntários selecionados.

4.2 Aspectos éticos

Para o cumprimento das diretrizes de ética em pesquisa com seres humanos, estabelecidas pela resolução número 466/2012 do Ministério da saúde (Brasil, 2012), os sujeitos interessados assinaram o Termo de consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (ANEXO A), garantindo que todas as informações pessoais e os resultados de exames fornecidos obtidos serão mantidos em sigilo.

Além das amostras obtidas dos voluntários recrutados à época do presente estudo, também foram utilizadas as amostras coletadas e armazenadas no biorrepositório do ICB-I/USP (CEPSH 051/2014). Estas amostras foram obtidas dentro do projeto temático aprovado pelo Comitê de Ética Humana do Instituto de Ciências Biomédicas/Universidade de São Paulo (CEP 788/07); comitê de ética humana do Hospital Universitário/Universidade de São Paulo (CEP 752/07 - SISNEP CAAE: 0031.0.198.019-07) e comitê de ética humana do Hospital Irmandade da Santa Casa de misericórdia de São Paulo (CAAE: 43693915.4.3002.5479/ Número do Parecer: 1.428.344). O presente estudo é um subprojeto do projeto temático FAPESP 2012/50079-0.

Todo material coletado foi utilizado exclusivamente na pesquisa proposta. O recrutamento dos voluntários foi realizado na Clínica Cirúrgica do Hospital Universitário e do Hospital Irmandade da Santa Casa de misericórdia de São Paulo.

4.3 Critérios para diagnosticar a caquexia

Para diagnóstico da caquexia utilizamos uma planilha de Excel® (Office 2013) desenvolvida pelo colega de Doutorado Rodolfo Camargo em 2016 a partir dos critérios descritos por Evans et al. (2008) e Fearon et al. (2011), que seguem abaixo:

1. Variação no peso corporal (determinado com a utilização de uma balança de precisão Filizola Scale model PL 200):

- Diminuição involuntária nos últimos 6 meses - maior ou igual a 5% do peso corporal inicial.

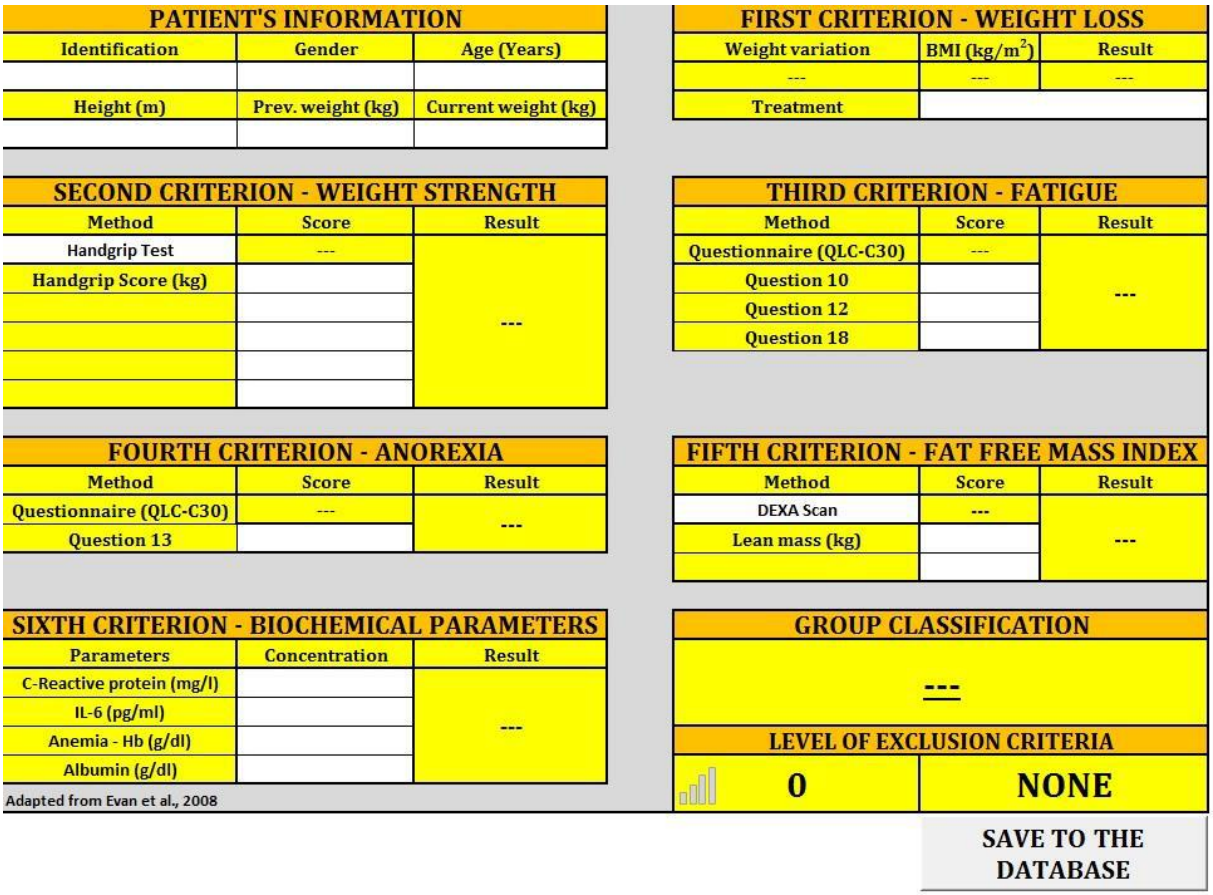
Ou

- IMC menor que 20 kg/m^2 para pacientes com menos de 65 anos e menor que 22 kg/m^2 para pacientes com idade maior ou igual a 65 anos.

2. Evidência de desnutrição - Concentração plasmática de albumina inferior a 3,2 g/dL.
3. Evidência de anemia - Concentração sérica de Hemoglobina abaixo de 12 g/dL.
4. Evidência de inflamação – concentração plasmática elevada de biomarcadores de inflamação (proteína C reativa acima de 5 g/dL e IL-6 acima de 4 pg/mL).
5. Evidência de Fadiga e anorexia – através do questionário CLC-Q30
6. Evidência de composição de massa muscular – através do exame DEXA ()

Após classificação, foram selecionados os pacientes caquéticos sedentários e treinados para compor o grupo de estudos.

Figura 1 - Modelo da planilha em Excel desenvolvida para auxiliar na caracterização do paciente com e sem caquexia.



PATIENT'S INFORMATION		
Identification	Gender	Age (Years)
Height (m)	Prev. weight (kg)	Current weight (kg)

FIRST CRITERION - WEIGHT LOSS		
Weight variation	BMI (kg/m^2)	Result
---	---	---
Treatment		

SECOND CRITERION - WEIGHT STRENGTH		
Method	Score	Result
Handgrip Test	---	---
Handgrip Score (kg)		

THIRD CRITERION - FATIGUE		
Method	Score	Result
Questionnaire (QLC-C30)	---	---
Question 10		
Question 12		
Question 18		

FOURTH CRITERION - ANOREXIA		
Method	Score	Result
Questionnaire (QLC-C30)	---	---
Question 13		

FIFTH CRITERION - FAT FREE MASS INDEX		
Method	Score	Result
DEXA Scan	---	---
Lean mass (kg)		

SIXTH CRITERION - BIOCHEMICAL PARAMETERS		
Parameters	Concentration	Result
C-Reactive protein (mg/l)		---
IL-6 (pg/ml)		
Anemia - Hb (g/dl)		
Albumin (g/dl)		

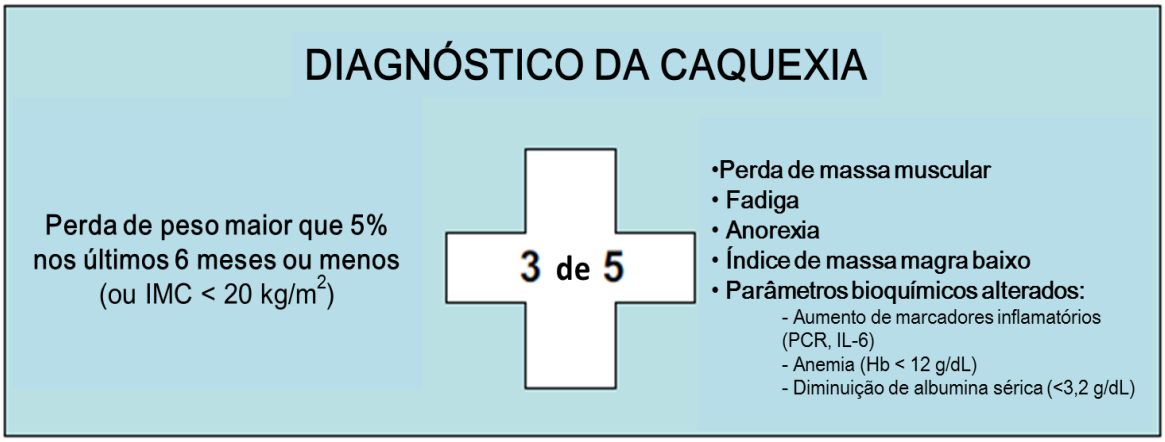
Adapted from Evan et al., 2008

GROUP CLASSIFICATION	

LEVEL OF EXCLUSION CRITERIA	
0	NONE

SAVE TO THE DATABASE

Figura 2 - Critérios utilizados para o diagnóstico da caquexia



Adaptado de Evans et al. (2008). IMC: Índice de Massa Corporal; PCR: Proteína C-Reativa; IL-6: Interleucina 6; Hb: Hemoglobina

4.4 Grupos experimentais

1. CC SED – Grupo de voluntários caquéticos portadores de tumor gastrointestinal sedentários.
2. CC TR – grupo de voluntários caquéticos portadores de tumor gastrointestinal submetidos ao treinamento físico.
3. WSC SED – grupo de voluntários portadores de tumor gastrointestinal sem perda de peso e sedentários.
4. WSC TR – grupo de voluntários portadores de tumor gastrointestinal sem perda de peso, submetidos ao treinamento físico.

4.5 Protocolo de treinamento físico

O treinamento físico (Clinical Trial Register nº: U1111-1140-7773), consistiu por 6 semanas de caminhada em esteira ergométrica programável com volume crescente e intensidade individualizada a partir de um teste submáximo (*Rockport One Mile Walk*; KLINE et al., 1987) para estimar o $VO_{2máx}$ dos voluntários. O protocolo de Treinamento Fisico (TF) foi adaptado por Matos-Neto (2016) a partir daquele proposto por Dimeo et al. (1997) para pacientes com câncer.

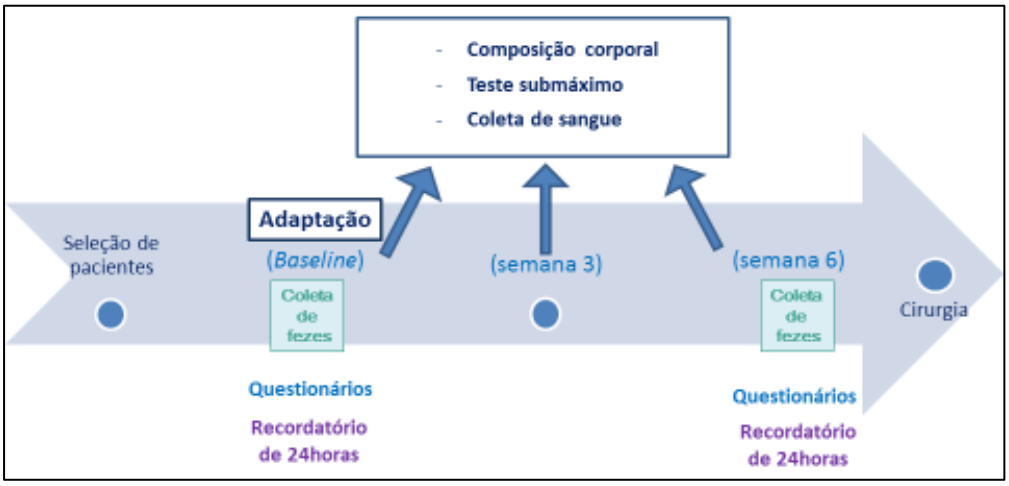
O TF dos pacientes selecionados constituiu-se de:

Semanas 0, 3 e 6: adaptação (somente na semana 0 = *Baseline*) e aplicação do teste de esforço submáximo, que consistiu de uma caminhada de 1 milha (sem trote ou corrida) sob o monitoramento da frequência cardíaca e supervisão de um profissional habilitado. Este teste foi reaplicado na semana 3 e 6 com o objetivo de avaliar as adaptações promovidas pelo TF (MATOS-NETO, 2016).

Semanas: 1 a 6: Aplicação do protocolo de treinamento físico (PTF)

Semana 1: 5 sessões de 3 minutos + intervalo de 1 minuto entre as sessões
Semana 2: 4 sessões de 5 minutos + intervalo de 1 minuto entre as sessões
Semana 3: 3 sessões de 8 minutos + intervalo de 1 minuto entre as sessões
Semana 4: 3 sessões de 10 minutos + intervalo de 1 minuto entre as sessões
Semana 5: 2 sessões de 15 minutos + intervalo de 1 minuto entre as sessões
Semana 6: 1 sessão de 30 minutos sem intervalos

Figura 3 - Desenho experimental do Protocolo de Treinamento Físico (PFT)



4.6 Avaliação nutricional

Todos os pacientes foram avaliados nutricionalmente por um profissional capacitado, através da aplicação de um recordatório alimentar de vinte e quatro horas (R24 h) e avaliação antropométrica - peso, altura e composição corporal através do exame DEXA (Dual Energy X-Ray Absorptiometry). O peso corporal, em quilogramas

(kg), e a estatura, em metros (m), foram aferidos por meio de balança digital (marca Toledo®), que possuí um estadiômetro acoplado a ela. Foram obtidos assim, os valores do Índice de Massa Corporal (IMC), em kg/m², dos pacientes, e a sua classificação foi realizada com base nas referências da Organização Mundial da Saúde (OMS, 2000), que considera um IMC eutrófico, para adulto entre 18,5 e 24,99 kg/m², e, para idoso entre 22,00 e 27,00 kg/m².

O recordatório de 24 h (R24 h) (ANEXO B) foi realizado em duas etapas, na semana inicial (*Baseline*) e na semana final (semana 6) do TF. Em cada etapa houve a aplicação em dois momentos diferentes de cada semana. Uma realizada de forma presencial (no momento do recrutamento), sendo referente aos relatos de consumo alimentar de dia de semana; e a outra realizada por telefone, sendo referente ao final de semana. Todos os profissionais capacitados para a aplicação do recordatório receberam um treinamento com base no Manual de avaliação do consumo alimentar em estudos populacionais (FISBERG; MARCHIONI, 2012).

Todos os R24 h passaram por um processo de crítica (método *multiple pass*), na qual foi realizada a conversão do consumo alimentar relatada pelo individuo (e anotada) de medidas caseiras para gramas ou mililitros. O método *multiple pass*, permitiu assim, a identificação e a quantificação dos dados alimentares que foram consumidos nas últimas 24 h dos pacientes.

Os dados de energia e nutrientes foram calculados usando o *software* The Food Processor®, versão 10.11.0. Este programa utiliza dados de nutrientes do *United States Department of Agriculture* (USDA), das tabelas nutricionais brasileiras (PHILIPPI, 2002 e TACO, 2006), e também, de alimentos industrializados, os quais puderam ser cadastrados no *software*, com base nos dados provenientes em seus rótulos bem como receitas.

Para analisar quais foram as necessidades nutricionais dos pacientes, bem como o percentual (%) de adequação energética e proteica (equivale ao percentual que ele consumiu em relação à sua necessidade), foi adotado, para os pacientes com câncer sem perda de peso, a recomendação de calorias para adultos sedentários para manutenção do peso de 30 kcal/ kg/ dia e, para os pacientes com caquexia associada ao câncer, a recomendação para pacientes com má absorção ou com alto fator de injúria e alto índice de depleção, que equivale a 35 kcal/ kg/ dia.

Em relação às proteínas, foi considerada a recomendação, para pacientes não estressados (1,0 g/ kg/ dia) no caso dos pacientes com câncer sem perda de peso, e

a recomendação para pacientes hipermetabólicos (ou com perda aumentada de peso) de 1,5g / kg/ dia no caso dos pacientes com caquexia.

Todos estes dados e valores nutricionais, foram definidos com base nas referências encontradas para câncer, câncer avançado, cuidados paliativos (ARENDSA et al., 2006; DEUZT et al., 2014; INCA (2011).

A análise nutricional dos R24 h, foi realizada, em parceria com a Professora do Departamento de Saúde Pública, Dra. Nágila Raquel Teixeira Damasceno e sua equipe do Hospital Universitário da Universidade de São Paulo, local onde tivemos acesso ao o *software* The Food Processor® para a realização destas análises.

4.7 Avaliação da composição corporal

A determinação da composição corporal dos pacientes foi realizada na semana zero (*Baseline*) e semana 6 do TF, com a utilização do equipamento DEXA (Dual Energy X-Ray Absorptiometry), que é considerado o padrão-ouro para avaliação da densitometria óssea (conteúdo mineral ósseo) e também é utilizada para analisar a composição corporal (massa gorda e massa magra) (ANEXO C).

Esta técnica baseia-se no princípio da atenuação da radiação (a perda da intensidade dos raios X, por absorção ou dispersão). Essa perda está relacionada com a espessura, densidade e composição química do corpo/objeto em questão; e a diferença de atenuação é específica para cada tipo de tecido. O equipamento que utilizamos é o Lunar DPX GE (General Electric do Brasil Ltda). Antes de cada medição foi feita calibração, seguindo as especificações do fabricante. O *scanner* utiliza a tecnologia pencil-beam (feixe lápis), que realiza a varredura do corpo inteiro. O paciente é deitado sobre a mesa em posição supina e o feixe realiza a varredura no sentido crânio-caudal.

As medições pelo DEXA estão suscetíveis a problemas, como erros técnicos (posicionamento e imprecisões na análise) e variações biológicas (estado de hidratação). Ao paciente, é pedido que não use roupas com fechos, botões, fivelas e outros objetos metálicos e, caso tenha ingerido/injetado radionuclídeos nos últimos 3-5 dias, esperar 72 h para medir.

Figura 4 - Equipamento DEXA da Lunar DPX GE (General Electric do Brasil Ltda), utilizado no trabalho.

4.8 Coletas de amostras

4.8.1 *Coleta do soro/plasma*

As coletas de sangue dos pacientes foram realizadas na semana zero (*Baseline*) e na semana 6 do TF. Aproximadamente 20 ml de sangue foram coletados por profissional de saúde capacitado, em dois tubos separados: um tubo com anticoagulante (tubo BD Vacutainer® EDTA) para a separação de plasma sanguíneo; e um tubo seco (tubo Gel BD SST® II Advance®) para a obtenção de soro. O sangue coletado foi centrifugado a 3000 rpm (rotações por minuto), por 15 minutos, em temperatura de 4 ºC., em seguidas alíquotas de soro e plasma foram armazenadas à – 80 ºC para posteriores análises. Foi registrado o horário da última refeição do paciente, não sendo necessário o jejum.

4.8.2 *Coleta e obtenção das fezes*

As coletas de fezes dos pacientes foram realizadas na semana zero (*Baseline*) e semana 6 do TF. Os pacientes que entraram no PTF foram esclarecidos quanto ao método de coleta das fezes e receberam um “Kit de coleta das fezes”, composto por um isopor com *gelox* e um kit estéril (ColOff®) contendo: um revestimento para assento sanitário, um coletor estéril universal (70 ml), uma espátula, uma pipeta

Pasteur, um par de luvas e um saco plástico para armazenamento do material, com etiqueta de identificação, além disso, receberam as orientações necessárias. Este método possibilitou que o paciente levasse o kit completo para coletar as fezes em sua residência, facilitando sua adesão ao estudo. Os pacientes congelaram os potes com as fezes em suas casas e transportaram dentro do isopor refrigerado pelo gelox. No momento da entrega das coletas, as amostras que chegaram descongeladas foram descartadas. As amostras fecais foram mantidas a temperatura de -80 °C até o momento de serem processadas para a extração do DNA bacteriano.

O material não foi coletado em casos de fezes líquidas ou quando a eliminação não for espontânea (uso de laxativos para evacuação). Fezes armazenadas por muito tempo em temperatura ambiente não foram analisadas, o mesmo ocorreu nos casos de participantes que fizeram ouso de antibióticos há pelo menos 15 dias do dia da coleta.

As coletas realizadas no dia da internação foram feitas sempre antes do procedimento de limpeza intestinal para a cirurgia.

4.8.3 *Coleta de fragmentos de intestino (cólon)*

Após a realização da cirurgia para a retirada de tumor da região do cólon (intestino grosso), foi retirada, pelo médico, parte do intestino contendo o tumor com a margem de segurança por ele estabelecida. Esta parte do intestino foi levada para o centro de patologia do hospital. As coletas dos fragmentos de cólon (1 cm ou menos) foram realizadas no centro de patologia do hospital, sob a supervisão do médico patologista responsável. O segmento de intestino (cólon distal ao tumor) foi retirado a uma distância de 20 cm do tumor e fixado em paraformaldeído (4%).

4.9 Análises

4.9.1 *Análises bioquímicas para classificação dos pacientes*

A concentração sérica de proteína C reativa, albumina e hemoglobina nos

pacientes foi quantificada utilizando-se kits comerciais (PCR Turbiquest plus, cat. 331; albumina, cat. 19, Labtest Diagnóstica SA, Lagoa Santa, MG, Brasil) no equipamento Labmax (Labtest) do departamento de Alimentos e Nutrição Experimental da Faculdade de Ciências Farmacêuticas (FCF/USP).

4.9.2 *Análises bioquímicas para investigar a permeabilidade intestinal*

A concentração sérica de endotoxina lipopolissacarídeo (LPS) nas amostras dos pacientes foi avaliada utilizando-se o Kit cromogênico Limulus Amebocyte Lysate (LAL) QCL-1000® (Lonza, Inc., Walkersville, EUA).

Inicialmente, as soluções da curva-padão foram preparadas, de acordo com as concentrações padrões de endotoxina (0,1; 0,25; e 1,0 UE /mL). Pipetou-se 50 µl de amostras de soro (em duplicata) em microplaca de 96 poços. A seguir, adicionou-se 50 µl de LAL (lisado do amebócito Limulus) em cada poço da microplaca e incubou-se por 10 minutos, sob leve agitação. Depois foi adicionado 100 µl de solução de substrato cromogênico (pré-aquecido a 37 °C) e incubou-se por 6 minutos, sob leve agitação. Em seguida, pipetou-se 100 µl do reagente de parada (ácido acético a 25%), agitou-se levemente a placa e realizou-se a leitura de absorbância (405 nm) por meio do leitor de microplaca Synergy™ H1(BioTek Instruments, Inc., Winooski, EUA). Os procedimentos do ensaio e o cálculo da concentração de endotoxina foram realizados de acordo com as instruções do fabricante.

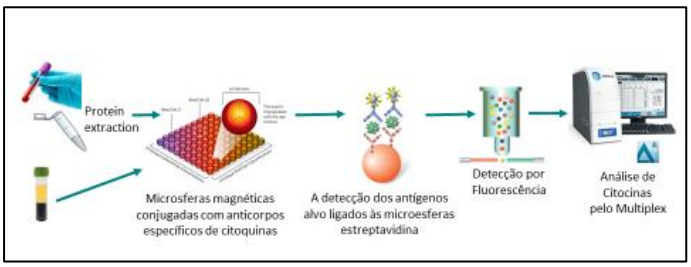
4.9.3 *Análises bioquímicas para investigar perfil inflamatório*

Para a determinação da concentração de proteínas no plasma dos pacientes foi utilizada a tecnologia Xmap Luminex®, com o painel de citocinas e quimiocinas plasmáticas Merckmillipore (IL-1b, IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-7, IL-8, IP-10, IL-12p40, IL-12p70, IL-13, IL-15, IL-17A, TNF-a, TNF-b, EGF, VEGF, Eotaxin, G-CSF, GM-CSF, IFNa2, IFNy), para aferição da expressão proteica no plasma.

As amostras de plasma foram incubadas com a mistura de microesferas Magplex® e cobertas com os anticorpos específicos por 2 h. A detecção dos antígenos alvo ligados às microesferas foi realizada com uma mistura de anticorpos de captura biotinilados após incubação durante 1 h, seguida por incubação com estreptavidina -

ficoeritrina conjugada durante 30 minutos. O instrumento Magpix® (Life Technologies, Grand Island, NY, EUA) detectou a intensidade de um sinal para cada microesfera adicionada às amostras de proteína. Cada valor de citosina foi corrigido de acordo com a concentração de proteínas da amostra.

Figura 5 – Esquema ilustrativo das etapas para determinar a concentração de proteínas pelo Magpix®.



4.9.4 *Análise de conteúdo fecal*

4.9.4.1 Extração do DNA das bactérias do conteúdo fecal

O DNA genômico foi extraído a partir das amostras de fezes obtidas e armazenadas. As amostras foram pesadas (aproximadamente 200 mg) dentro do *eppendorf* sem que ocorresse o descongelamento; logo após, as amostras foram retornadas para o gelo para as próximas etapas utilizando o QIAamp DNA Stool Mini Kit (Qiagen, Hilden, Germany).

As amostras foram pesadas congeladas dentro do *eppendorf* (200 mg), sem permitir que descongelassem. Foi adicionado o tampão ASL Buffer (1,4 ml para 200 mg de amostra). A amostra foi descongelada dentro do tampão, de forma a ser totalmente homogeneizada, e enquanto não estivava ainda homogeneizada permaneceu no gelo. Todas as amostras foram levadas ao banho seco por 5 minutos a 95 °C. Nesta temperatura as barreiras das bactérias Gram+ são quebradas; na sequência, foram agitadas por 20 segundos (no vórtex) e centrifugada por 2 minutos à 1400 rpm. O sobrenadante (1,2 ml) foi pipetado para um novo *eppendorf* de 2 ml, adicionado da pílula Inibex (tablete branco) e agitada bem com o Vórtex. Depois de manter em temperatura ambiente por 1 minuto, foi centrifugada a 1400 rpm por 3 minutos e, na sequência, retirado todo o sobrenadante e colocado em novo *eppendor*f

de 1,5 ml. Novamente foi centrifugar a 1400 rpm por 3 minutos e retirado o sobrenadante. Nesta etapa verificamos o volume final para poder calcular a quantidade de proteinase K (15 ml de Proteinase K para cada 200 ml de sobrenadante) e transferimos para um novo eppendorf de 1,5 ml. Adicionarmos o Buffer Al (200 ml para cada 200 ml de amostra – 1:1) e agitamos no vórtex por 15 segundos. As amostras foram mantidas em banho seco a 65-70 °C por 10 minutos. Depois, foi adicionada a mesma quantidade de etanol (96-100%) em relação ao sobrenadante (1:1). Transferimos para o filtro do KIT e centrifugamos a 1400 rpm por 2 minutos, sendo repetido este processo mais duas vezes. Adicionamos 500ml de Aw1 (preparado com álcool conforme instruções do kit) e centrifugar a 1400 rpm por 2 minutos. Transferimos o filtro para outro *eppenford*, pipetamos 500ml de Aw2 e centrifugamos a 1400 rpm por 2 minutos. Ao final, centrifugamos sem adicionar nada, para secar todo o álcool, a 1400 rpm por 1 minuto. Adicionamos 200 ml do tampão de eluição (AE Elution). Deixamos por 2 minutos em temperatura ambiente (pode ser na centrifuga parada à 25°C), centrifugamos a 1400 rpm por 2 minutos. E então, obtivemos a concentração final de DNA, que foi medida pelo nanodrop. E armazenada a -80 °C.

Os resultados obtidos a partir do pirosequenciamento deste DNA obtido das amostras de fezes dos pacientes foram analisados no Laboratório de Imunologia Experimental - em parceria com o Prof. Dr. Giorgio Trinchieri e Dra. Romina Goldsmid (NCI/NIH, USA), bem como toda a sua equipe do programa *Microbiome and Genetics Core of the câncer inflammation*.

4.9.4.2 Análise de Pirosequenciamento do DNA fecal

Para a análise da composição de microbiota a partir das fezes de pacientes com câncer, foi realizada a sequência do gene RNA ribossômico 16S. A extração e amplificação do DNA foram realizadas usando robôs que realizam o envasamento de líquidos no *Eppendorf*. A região V4 do gene do rDNA 16S (515F-806R) foi sequenciada gerando leituras emparelhadas e sobrepostas na plataforma Illumina® MiSeq1.

Após filtragem de controle de qualidade os arquivos FASTQ demultiplexados contendo as sequências de genes 16S rRNA foram filtrados para

sequências quiméricas usando a implementação UCHIME3 do utilitário USEARCH (versão 8.1.1831) 2 e o banco de dados '*gold*' (versão microbiomeutil-r20110519). As leituras foram então agrupadas em unidades taxonômicas operacionais (OTUs) com 97% de similaridade usando o comando cluster_otus da USEARCH.

As OTUs assim obtidas foram classificadas e alinhadas usando o *script* QIIME (1.9.1) 4. O *script assign_taxonomy.py* foi usado para atribuir taxonomia usando o método RDP padrão5 e o banco de dados *GreenGenes* padrão6. Isso forneceu informações sobre as tendências maiores em níveis taxonômicos mais altos. Para identificar melhor a taxonomia ao nível da espécie, foi utilizado um banco de dados personalizado construído a partir da informação taxonômica NCBI 16S (composto de dados atualizado até 03/06/2017) com o método "*blast*" 7 do mesmo script. As medidas de beta diversidade foram calculadas usando UniFrac8 e plotadas em tramas tridimensionais de PCoA usando Emperor9. O resultado foi uma classificação de leituras em vários níveis taxonômicos: reino, filo, classe, ordem, família, gênero e espécie.

4.9.5 *Análise histológica dos segmentos intestinais*

Para a realização da análise em microscópio de luz: após a excisão, o segmento de intestino (cólon 20 cm distante ao tumor) foi lavado com soro fisiológico (0.9%) e fixado em paraformaldeído (4%) em tampão fosfato (p.H. 7.4). Depois de aproximadamente 24 h, o tecido foi desidratado em concentrações crescentes de álcool etanol (70%, 95% e 100%), sendo posteriormente diafanizadas em solução de xilol, e embebido em parafina (Paraplast X-TRA, SIGMA-ALDRICH). Cortes de 5 µm de tecidos dispostos, realizados no micrótomo rotatório (R Jung-Heidelberg, Leica Microsystems Holding, Alemanha), foram posicionados em lâminas com polilisina (Sigma) e corados com hematoxilina e eosina (HE).

Para a obtenção de imagens digitais e análise histomorfométrica foi utilizado microscópio óptico Olympus com câmera digital acoplada (Zeiss, Alemanhã) para captura de imagens por meio do Software ImagePro®Plus 5.2 (Média Cybernetics, Betheda, Estados Unidos) nos aumentos 100 x e 400 x. Foram realizadas as alterações na quantidade e tipos celulares (eosinófilos, plasmócitos e fibroblastos). As contagens das células, presentes na lâmina própria (LP) do intestino, foram realizadas em duplicatas e por campo, obtendo-se uma média entre 10 campos

contados aleatoriamente (no aumento de 1000 x e com o uso de uma grade de contagem ocular integradora). Estes dados foram comparados entre os pacientes WSC e CC, treinados e sedentários.

4.9.6 *Análise estatística*

Os dados foram organizados em plataforma e analisados por meio do software estatístico GraphPad Prism versão 5.0 (GraphPad Software, Inc). Os resultados foram apresentados como médias e erro-padrão.

A análise da microbiota foi realizada por um Bioinformata. A partir do sequenciamento do DNA das bactérias das fezes foi possível identificar diversas OTUs (Unidades Taxonômicas Operacionais), separadas de acordo com o filo, ordem, classe, gênero e espécie. As médias dos valores e os desvios-padrão foram avaliados para cada tipo de bactéria identificado.

Nas análises bioquímicas em questão, as médias das concentrações plasmáticas de LPS e citosinas pró-inflamatórias também foram computadas.

A análise comparativa das médias nos dois grupos de pacientes, tanto na composição da microbiota, quanto nos parâmetros plasmáticos, foi realizada por meio do teste T de *Student.* Para todos os dados, valores do $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significantes. Para as análises do efeito do exercício nos dois grupos, correlacionando com a semana zero (*Baseline*) e a semana 6 do exercício, foi realizado teste Anova two-way com medidas repetidas.

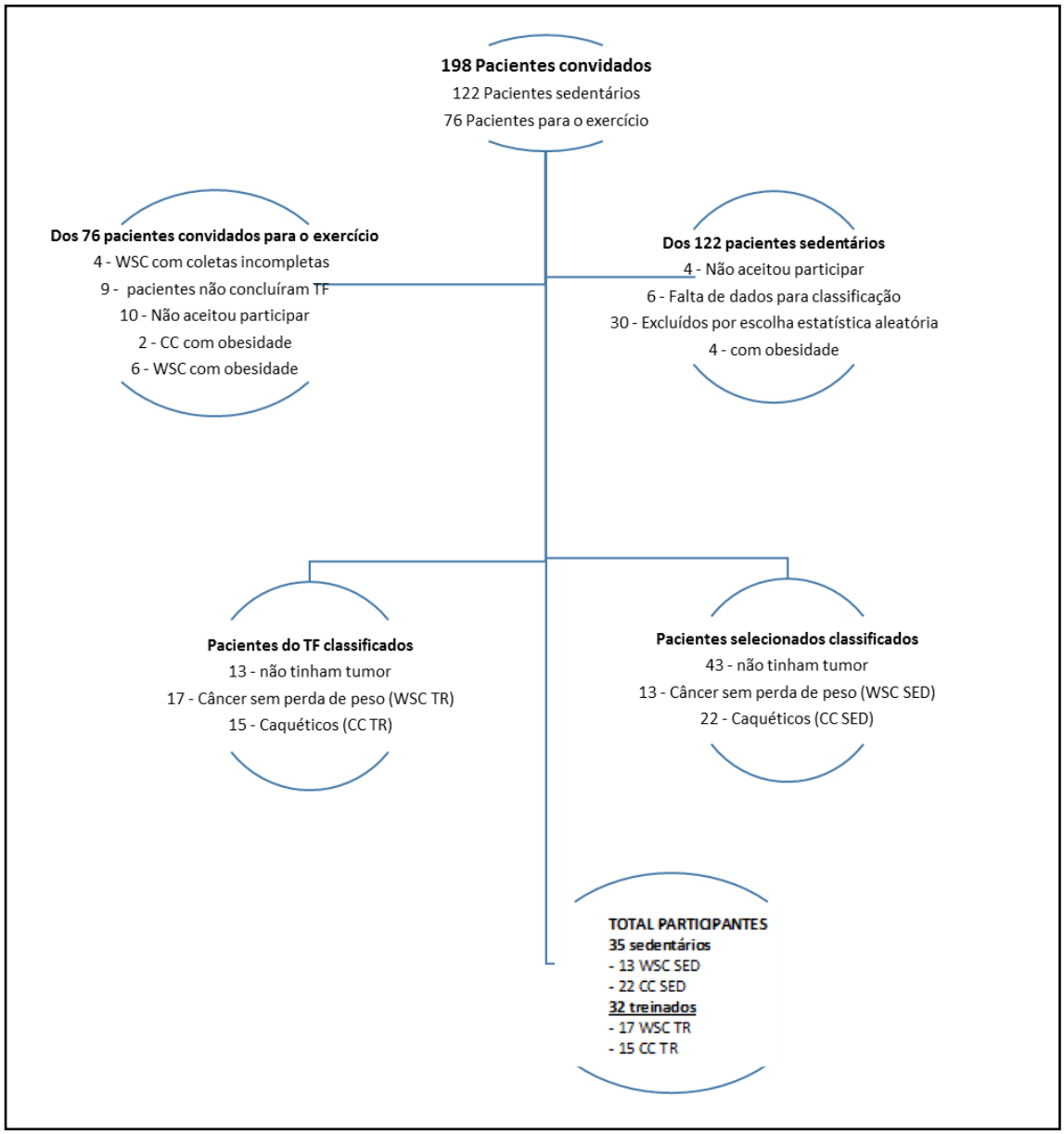
Todos os procedimentos estatísticos foram realizados com o auxílio do Setor de Estatística do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, sob a supervisão da Sra. Rosana Duarte Prisco.

5 RESULTADOS

5.1 Características gerais dos pacientes

Após concordarem em participar do estudo, conforme os sessenta e sete pacientes foram classificados e separados em 4 grupos iniciais: WSC SED (n = 13), WSC TR (n = 17), CC SED (n = 22) e CC TR (n = 15). Desta forma foram avaliadas as características gerais (Tabela 1) destes grupos antes que os pacientes selecionados para o protocolo do TF iniciassem o exercício (todos na *Baseline*).

Figura 6 - Representação esquemática das etapas de seleção dos voluntários



Conforme pode-se observar na Tabela 1, os grupos apresentaram-se homogêneos nos critérios sexo, idade e estatura. Ao comparar a variação da massa corporal, considerando-se que ela representa a diferença entre a massa corporal anterior (a massa corporal relatada dos 6 meses anteriores ao recrutamento) e a atual, verificamos que conforme o esperado, a perda média foi de 5,875% para o grupo CC SED [Para Evans et al., (2008) perda de peso > 5% é imprescindível para a classificação da caquexia] enquanto que o grupo WSC SED não apresentou qualquer perda de peso nos últimos 6 meses. Apesar disso observou-se que a massa corporal anterior não apresentou-se diferente entre os grupos ($p = 0,5954$).

Para a massa corporal atual e o Índice de massa corporal (IMC), foi encontrada diferença estatística ao comparar o grupo WSC TR ao CC SED e CC TR ($p = 0,0006$ e 0,0013, respectivamente).

A análise dos questionários permitiu a percepção da qualidade de vida de forma global (através do QLQ-C30), e daquela relacionada com a ingestão alimentar (através do QLQ-STO22), além da presença da anorexia (através do FAACT-ESPEN). Verificou-se que o *score* do QLQ-C30 do CC SED foi diferente de todos os outros grupos, sendo significativamente menor do que WSC SED, WSC TR e CC TR ($p < 0,0001$) ; entretanto não houve diferença significativa entre os grupos ao avaliar o *score* do QLQ-STO22 ($p = 0,4574$). A presença de anorexia foi verificada nos grupos CC SED e CC TR quando comparados ao grupo WSC TR ($p = 0,0012$).

Os dados do estadiamento tumoral mostraram que não houve diferença entre os grupos, revelando que a caquexia pode se manifestar em qualquer estágio do câncer.

Tabela 1 - Características gerais dos pacientes na *Baseline.*

	WSC SED	WSC TR	CC SED	CC TR	p
N	13	17	22	15	
Sexo (F / M)	5 / 8	7 / 10	10 / 12	7 / 8	
Idade (anos)	68,54 ± 2,574	60,25 ± 3,21	61,91 ± 3,187	63,8 ± 3,111	0,3501
Estatura (m)	1,628 ± 0,02042	1,656 ± 0,02008	1,642 ± 0,02103	1,604 ± 0,02108	0,3989
Massa Corporal Atual (kg)	68,87 ± 2,191	75,81 ± 3,039	61,88 ± 2,707	61,29 ± 2,195	0,0006***
Massa Corporal anterior (kg)	70,87 ± 2,604	75,79 ± 3,404	70,98 ± 3,049	70,33 ± 3,016	0,5954
Δ da Massa Corporal (kg)	2,00 ± 1,536	-0,3529 ± 0,2959	-5,875 ± 4,105	-4,359 ± 5,101	P<0.0001***
IMC (kg/ m²)	26,25 ± 1,281	27,66 ± 0,9918	22,79 ± 0,7197	23,85 ± 0,7881	0,0013**
QLQ-C30 *Score*	61,21 ± 5,760	62,19 ± 2,554	40,48 ± 5,506	54,66 ± 11,34	P<0.0001***
FAACT-ESPEN *score*	35,67 ± 0,7914	36,83 ± 3,424	32,20 ± 1,337	29,36 ± 2,289	0,0012**
QLQ-STO22 *Score*	8,927 ± 0,9900	9,465 ± 1,089	15,71 ± 2,651	18,89 ± 7,730	0,4574
Estadiamento tumoral (n)	-	-	-	-	
I-II	6	7	10	9	
III-IV	7	10	12	6	

Dados expressos em média ±erro padrão, p=nível de significância. WSC SED: paciente com câncer sem perda de peso e sedentário; WSC TR *baseline*: paciente com câncer sem perda de peso antes de iniciar o PTF; CC SED: paciente com câncer e caquexia; CC TR *baseline*: paciente com câncer e caquexia antes de iniciar o PTF. Δ: variação entre a massa corporal anterior informada e a massa corporal atual. IMC: Índice de massa corporal. QLQ-C30: questionário de qualidade de vida. QLQ-STO: questionário que avalia a qualidade de vida de pacientes com tumor gástrico (mais específico para qualidade de ingestão alimentar). FAACT-ESPEN: questionário para avaliar anorexia. p=nível de significância do teste Mann-Whitney. n: número de amostras. (F/M) = feminino ou masculino. *Diferença estatística entre os grupos (p<0,05)

5.2 Análise dos parâmetros bioquímicos utilizados para o diagnóstico da caquexia

A análise dos parâmetros bioquímicos mostrou que as concentrações séricas indicativas de inflamação sistêmica, como a proteína C-reativa e a Interleucina 6 (IL-6) estavam aumentadas, respectivamente, no grupo CC SED em relação aos grupos WSC SED e WSC TR (p = 0,0122) e no grupo CC TR, em relação aos grupos WSC SED e WSC TR (p = 0,0256). As concentrações de hemoglobina apresentaram-se estatisticamente maiores no grupo WSC SED em relação aos grupos CC SED e CC TR (p = 0,0004), diferente da concentração albumina, que não apresentou diferença estatística (p = 0,1646) entre os grupos pelo ANOVA one-way.

Tabela 2 - Parâmetros bioquímicos para o diagnóstico da caquexia (*baseline*)

	WSC SED	WSC TR	CC SED	CC TR	p
Proteína C-reativa (mg/L)	2,090 ± 0,4669	1,443 ± 0,2742	6,974 ± 1,446	5,125 ± 1,828	0,0122
Albumina (g/dL)	4,059 ± 0,1359	4,074 ± 0,09427	3,465 ± 0,2419	3,628 ± 0,1989	0,1646
Hemoglobina (g/dL)	13,58 ± 0,6586	12,88 ± 0,4234	10,59 ± 0,5028	10,50 ± 0,6416	0,0004
IL-6	4,439 ± 1,602	2,698 ± 1,021	13,12 ± 3,764	60,47 ± 58,83	0,0256

Dados expressos em média ± erro padrão, p=nível de significância. p=nível de significância do teste Mann-Whitney.
* Diferença estatística *vs* WSC (p<0,05).

5.3 Características do consumo alimentar (sedentários/ baseline)

O perfil do consumo alimentar da população alvo foi traçado com base nas características do consumo alimentar dos WSC SED e CC SED e avaliado por meio de inquéritos alimentares (recordatório alimentar de 24 h), sendo obtido o consumo tanto de macronutrientes, como de micronutrientes.

5.3.1 *Características no consumo de macronutrientes pela população*

Os resultados obtidos sobre o consumo de macronutrientes (Tabela 3) mostram que houve diferença significativa entre os grupos WSC SED e CC SED apenas no percentual de adequação proteica (que foi o percentual consumido em relação à necessidade), mostrando-se menor no grupo CC (p = 0,0315).

Não houve diferença no consumo de carboidratos totais (g) entre os grupos (p = 0,1168), entretanto observou-se tendência em maior consumo de açúcar pelo grupo CC em relação ao WSC (p = 0,0630).

O consumo de gorduras totais, saturada, poli-insaturada e monoinsaturada não se apresentou diferente entre os grupos (p = 0,5045; 0,2981; 0,1662, respectivamente).

Tabela 3 - Caracterização do consumo de macronutrientes pelos pacientes sedentários.

	WSC SED	CC SED	*P*
n	11	12	
Adequação energética (%)	75,84 ± 6,726	75,21 ± 9,385	0,9572
Adequação Proteica (%)	103,1 ± 7,499	76,17 ± 8,517	0,0315
Gordura Total (g)	57,21 ± 9,068	44,42 ± 7,317	0,4061
Carboidrato total (g)	195,0 ± 24,71	228,3 ± 26,19	0,1168
Açúcar (sacarose) (g)	54,95 ± 10,27	90,72 ± 14,92	0,0630
Ácidos Graxos Saturados (g)	21,18 ± 4,786	17,16 ± 3,441	0,5045
Ácidos Graxos Monoinsaturada (g)	15,08 ± 3,596	9,311 ± 1,541	0,1662
Ácidos Graxos Poliinsaturados (g)	4.66 ± 0.679	6.74 ± 1.81	0,2981

Dados expressos em média ± erro padrão, p=nível de significância. n: número de amostras * Diferença estatística CC *vs* WSC (p<0,05). WSC: Câncer sem perda de peso; CC:Câncer com caquexia

5.3.2 *Características no consumo de micronutrientes*

A tabela 4 representa o consumo de micronutrientes de WSC SED e CC SED, sendo possível observar que não houve diferença significativa para o consumo de Ferro (mg) (p = 0,3975), ômega 3 (n-3) (p = 0,3765), ômega 6 (n-6) (p = 0,8774), relação n-6/n-3 (p = 0,6997), Selênio (p = 0,7818), Vitamina E (p = 0,7414) e vitamina D (p = 0,3401) entre os grupos.

Tabela 4 - Caracterização do consumo de micronutrientes pelos pacientes sedentários.

	WSC SED	CC SED	p
n	11	12	
Ferro (mg)	10,95 ± 1,09	9,54 ± 1,21	0,3975
n-3 (mg)	0,5783 ± 0,1021	1,709 ± 1,231	0,3765
n-6 (mg)	3,827 ± 0,6315	3,738 ± 0,5347	0,8774
n-6/ n-3	7,664 ± 1,075	7,725 ± 0,7956	0,6997
Selênio (mcg)	77,59 ± 25,03	60,49 ± 9,797	0,7818
Vitamina E (mg)	2,608 ± 0,4806	2,828 ± 0,4496	0,7414
Vitamina D (UI)	28,58 ± 16,04	34,02 ± 11,74	0,3401
Vitamina C (mg)	74,44 ± 26,14	161,3 ± 68,37	0,2627

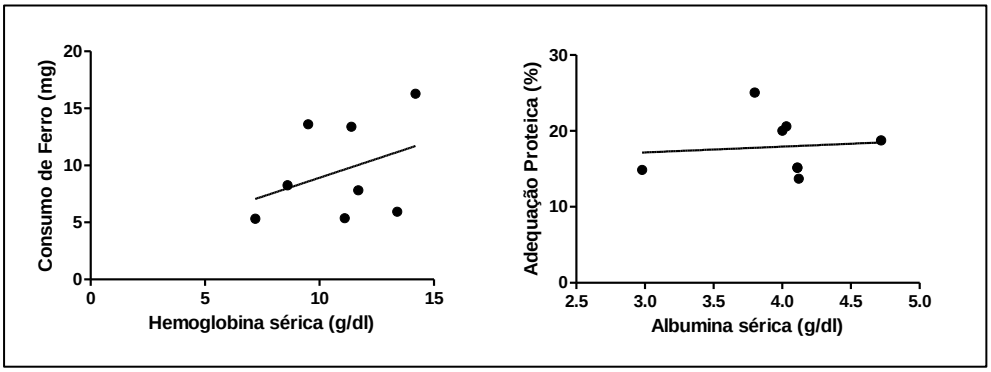
Dados expressos em média ± erro padrão, p=nível de significância. n: número de amostras * Diferença estatística CC *vs* WSC (p<0,05). WSC: Câncer sem perda de peso; CC: Câncer com caquexia. N-3: ômega 3; n-6: ômega 6.

5.3.3 *Correlações entre o consumo alimentar e os principais parâmetros utilizados para a classificação da caquexia*

Podemos observar na Figura 7 que, no CC SED, não houve correlação significativa entre o consumo alimentar do Ferro (mg) e as concentrações séricas da Hemoglobina (p = 0,4048; *Spearman's* r = 0,3268), tampouco entre o consumo de proteína (% de adequação proteica) e a concentração sérica de albumina (g/ dL) (p = 0,8232; *Spearman's* r = 0,0949).

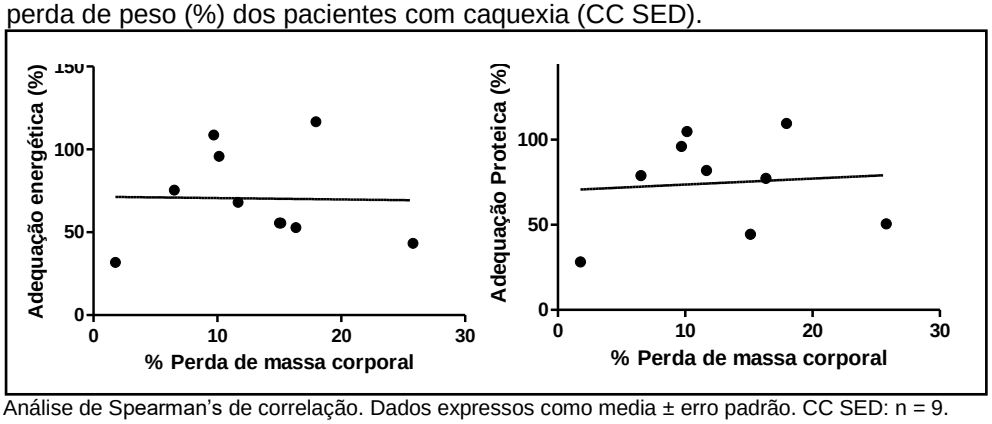
Também não foi encontrada nenhuma correlação positiva, no CC SED, entre o consumo alimentar energético (% de adequação energética) ou proteico (% de adequação proteica) com o percentual de perda da Massa Corporal (Correlação Pearson's; p = 0,9575 and p = 0,8228, respectivamente), conforme pode ser observado na Figura 8.

Figura 7: Correlação entre o consumo alimentar de Ferro (mg) e proteína (% de adequação proteica) com os parâmetros bioquímicos hemoglobina (g/dL) e albumina (g/dL) nos pacientes com caquexia (CC SED).



Análise de Spearman's de correlação. Dados expressos como media ± erro padrão. CC SED: n = 8.

Figura 8 - Correlação entre o consumo alimentar energético-proteico (% de adequação) com a perda de peso (%) dos pacientes com caquexia (CC SED).

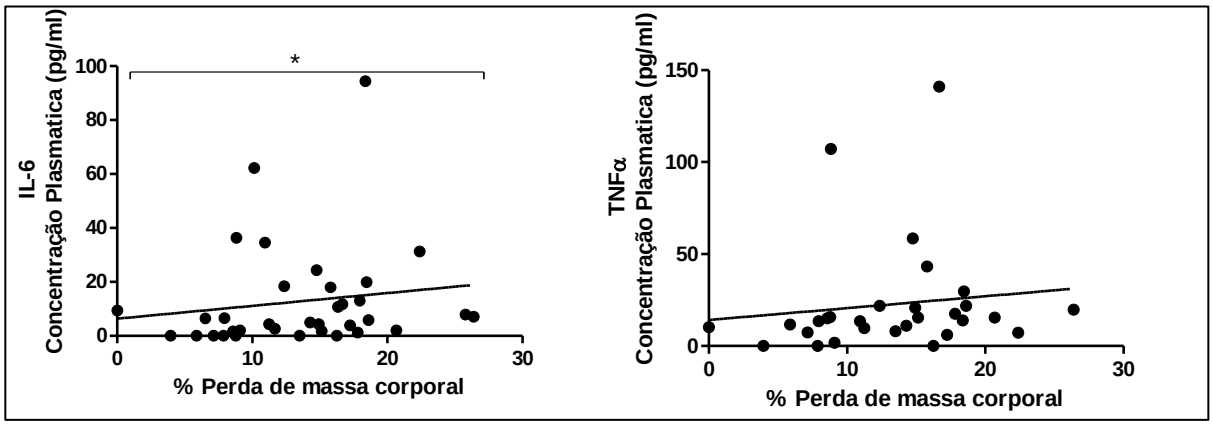


Análise de Spearman's de correlação. Dados expressos como media ± erro padrão. CC SED: n = 9.

5.3.4 *Correlações entre a perda de peso encontrada nos pacientes com caquexia e os parâmetros inflamatórios*

Ao correlacionar a perda de peso com a concentração das citocinas utilizadas para avaliar inflamação sistêmica (Figura 9), foi possível verificar correlação positiva entre o percentual de perda de massa corporal e a citocina inflamatória interleucina 6 (IL-6) dos pacientes com caquexia (CC SED) (p = 0,0449; Pearson r = 0,3411) e uma tendência positiva entre o percentual de perda de massa corporal e a citocina inflamatória TNF-α (p = 0,0594; Pearson r = 0,3542).

Figura 9 - Correlação entre a perda de peso (%) dos pacientes com caquexia (CC SED) com os parâmetros inflamatórios



Análise de *Spearman* de correlação. Dados expressos como media ± erro padrão. CC (SED e TR na *Baseline*): n = 30.
* Diferença estatística (p<0,05).

5.4 Efeito do treinamento físico

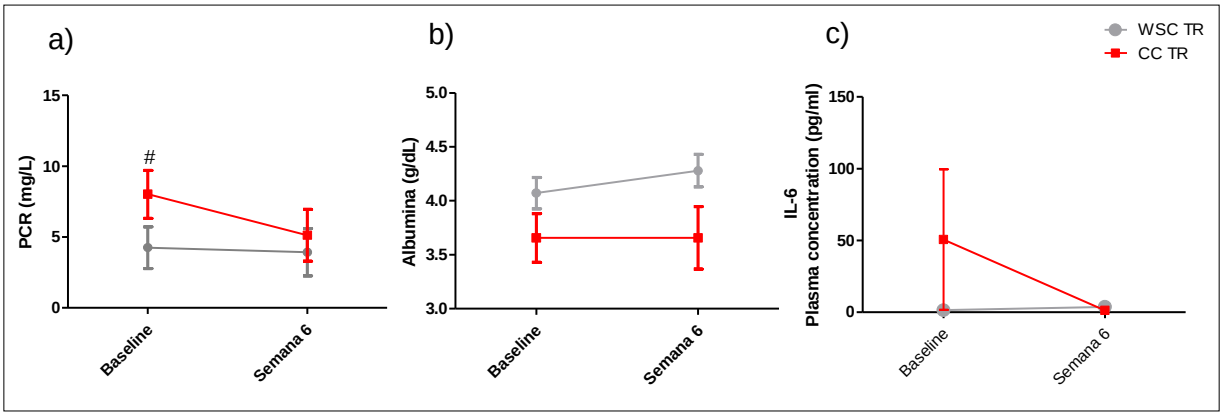
5.4.1 *Efeito do treinamento físico sobre os principais parâmetros para a classificação da caquexia*

Observou-se que a inflamação sistêmica, representada pela elevação das concentrações de PCR (Figura 10a), estava aumentada no grupo CC TR em relação ao WSC TR na baseline (p = 0,0269); e que apesar de não ter apresentado diferença estatística pelo tempo de treinamento (p = 0,6296), verificou-se que na semana 6, as concentrações de PCR do CC TR atingiram valores mais próximos ao grupo WSC TR. Já as concentrações de IL-6 (Figura 10c) não se mostraram estatisticamente diferente entre os grupos (p = 0,3609) e tampouco em relação ao tempo (p = 0,3621) de TF;

entretanto suas concentrações no grupo CC TR atingem na semana 6 do TF, valores similares às do grupo do grupo WSC.

A concentração sérica de albumina (Figura 10b) apresentou tendência (p = 0,0632) de diferença significativa entre os grupos, mas nenhuma diferença em função do tempo (p = 0,5124).

Figura 10 - Parâmetros bioquímicos e inflamatórios utilizados para o diagnóstico da caquexia, no início e término do TF.

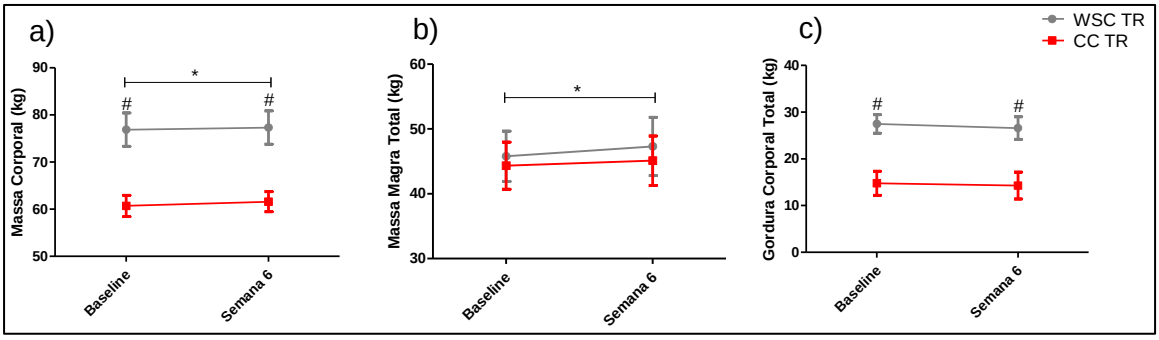


Dados expressos como média ± erro-padrão. a) WSC TR (n=9); CC TR (n=8); b) WSC TR (n=10); CC TR (n=11); c) WSC TR (n=10); CC TR (n=5). * indica diferença significativa entre a semana 6 e o *baseline*. # indica diferença significativa entre os grupos.

5.4.2 *Efeito do treinamento físico sobre a composição corporal (DEXA)*

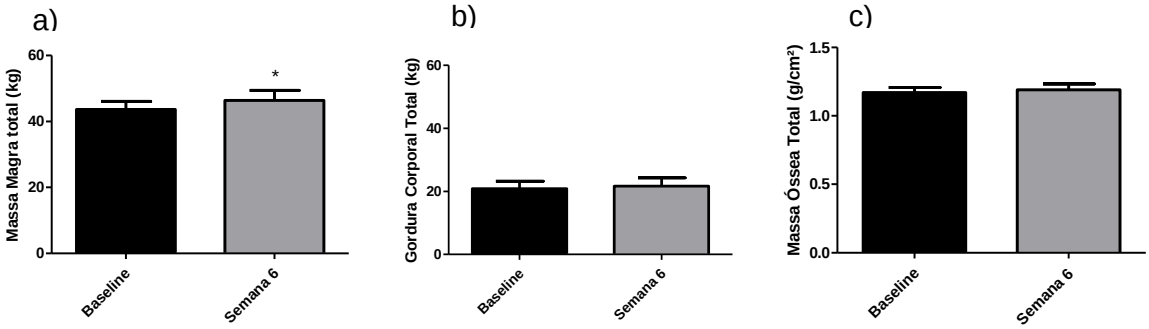
A composição corporal (aferida por DEXA) foi avaliada para verificar se houve alteração de acordo tanto com o tempo de treinamento como entre os grupos (Figura 11), sendo possível observar para a massa corporal (kg), que tanto o tempo de treinamento aplicado, como o grupo, influenciam significativamente esse valor (p = 0,0257 e p = 0,0005, respectivamente), sendo observado menor valor no grupo CC TR em relação ao WSC TR e valor aumentado em ambos os grupos ao longo das 6 semanas (Figura 11a). Já a massa magra total (kg) não apresentou diferença significativa entre os grupos (p = 0,7687), mas teve aumento significativo após as 6 semanas de treinamento em ambos (p = 0,0451) (Figura 11b). A gordura corporal total (kg) não teve alteração significativa ao longo das 6 semanas de exercício (p = 0,3113), mas apresentou valor estatisticamente menor no grupo CC (p = 0,0066) (Figura 11c).

Figura 11 - Efeito do treinamento físico na composição corporal pelo DEXA entre os grupos e ao longo de 6 semanas.



Dados expressos como média ± erro-padrão. a) WSC TR (n=11); CC TR (n=14); b e c) WSC TR (n=6); CC TR (n=4). * indica diferença significativa entre a semana 6 e o *baseline*. # indica diferença significativa entre os grupos.

Figura 12 - Efeito do treinamento físico na composição corporal pelo DEXA entre baseline e semana 6



Dados expressos como média ± erro-padrão. *Baseline* (n=12); semana 6 (n=10); * indica diferença significativa entre a semana 6 e o *baseline*.

Foi avaliado também o impacto do TF na composição corporal, independente do grupo (Figura 12). Observou-se que o treinamento teve impacto significativo somente na composição da Massa Magra total (kg), tendo promovido aumento na composição da Massa Muscular total (kg) ($p = 0,0270$) (Figura 12a) e não promovendo alterações na composição da Gordura Corporal total (kg) ($p = 0,2515$) (Figura 12b), bem como na Massa óssea total (kg) ($p = 0,6392$) (Figura 12c).

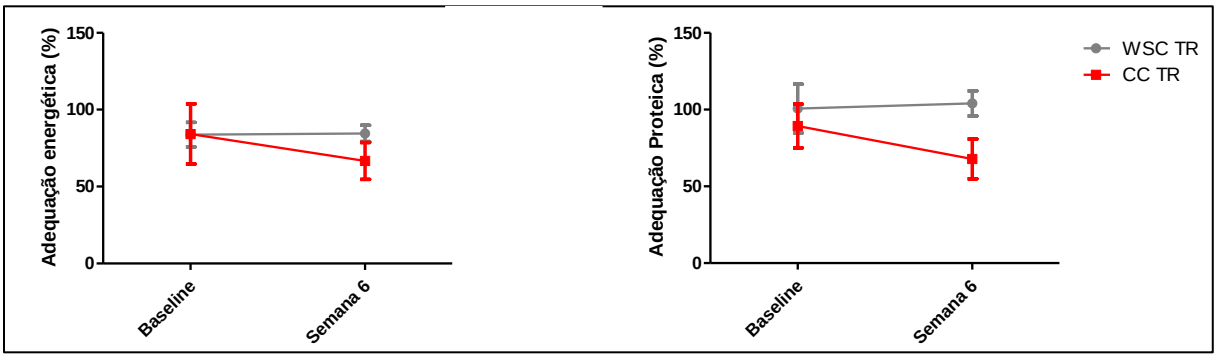
5.4.3 *Efeito do treinamento físico sobre o consumo alimentar*

Ao avaliar o efeito do TF sobre o consumo alimentar, não foi observada diferença estatística significativa tanto entre os grupos bem como pelo tempo do TF (baseline e semana 6), no que diz respeito ao percentual de adequação do consumo

energético (p = 0,5595 e 0,3170, respectivamente) e proteico (p = 0,1832 e 0,3196, respectivamente) (Figura 13), bem como no consumo de macronutrientes (Figura 14), micronutrientes (Figura 15), ácidos graxos do tipo n-6 (p = 0,2918 e 0,3921, respectivamente) e n-3 (p = 0,1874 e 0,6084, respectivamente), bem como a relação n-6: n-3 (p = 0,9351 e 0,3413, respectivamente) (Figura 16).

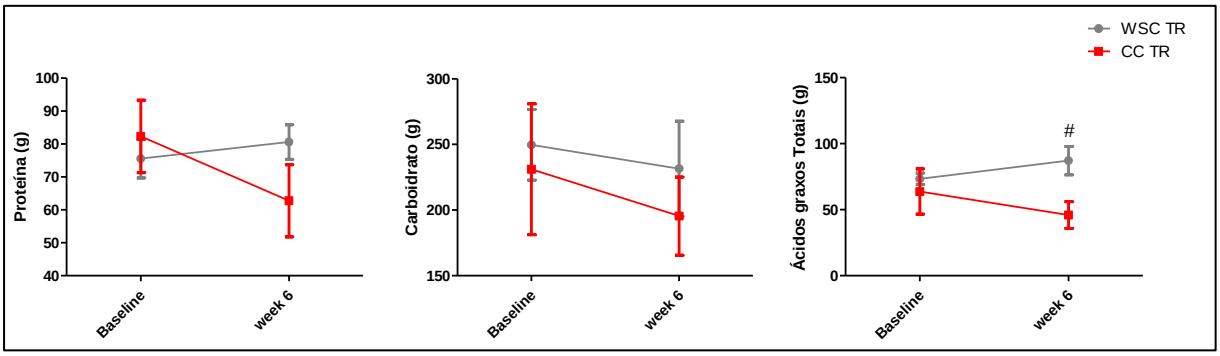
Em relação aos ácidos graxos totais verificou-se diferença no consumo entre os grupos na semana 6 do exercício após aplicação do pós-teste *Bonferroni* (P < 0,05); enquanto os ácidos graxos saturados não apresentaram diferença significativa, apenas mostrou ter reduzido 36% dos ácidos graxos do tipo saturados no grupo CC TR.

Figura 13 - Efeito do treinamento físico no consumo energético proteico dos pacientes.



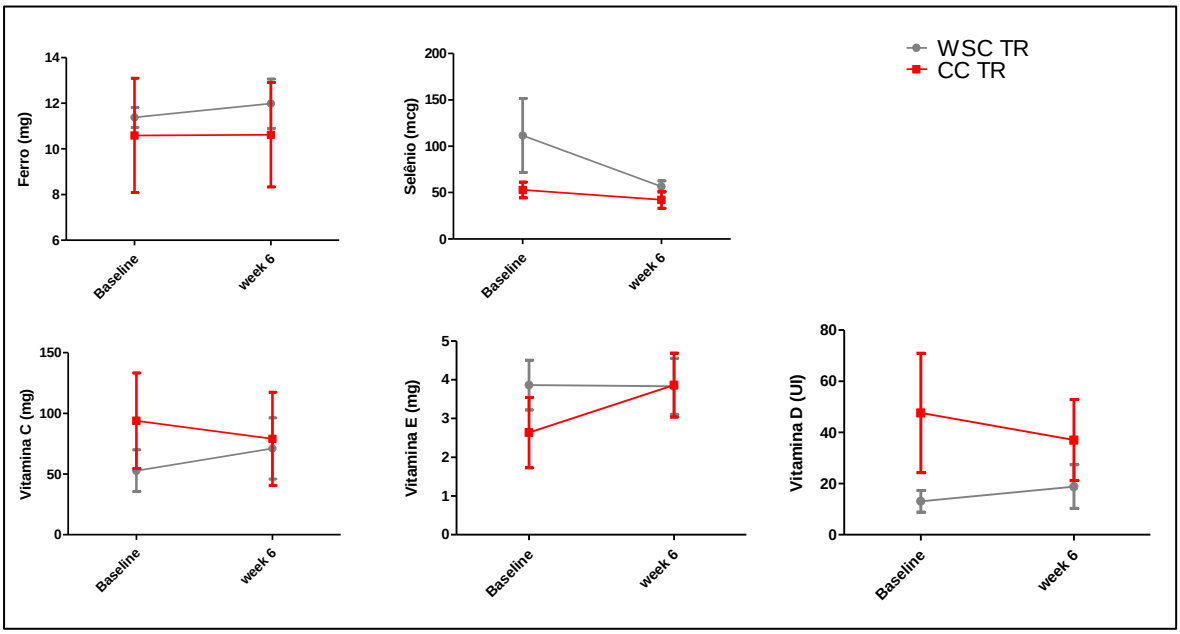
Dados expressos como média ± erro-padrão. WSC TR (n=11); CC TR (n=12). * indica diferença significativa entre a semana 6 e o *baseline*. # indica diferença significativa entre os grupos.

Figura 14 - Efeito do treinamento físico no consumo de macronutrientes pelos pacientes.



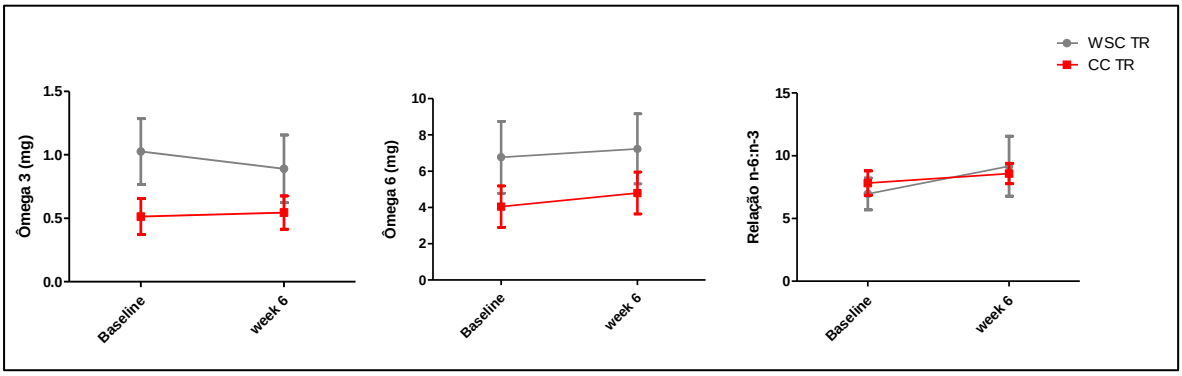
Dados expressos como média ± erro-padrão. WSC TR (n=11); CC TR (n=12). * indica diferença significativa entre a semana 6 e o *baseline*. # indica diferença significativa entre os grupos.

Figura 15 - Efeito do treinamento físico no consumo de micronutrientes pelos pacientes.



Dados expressos como média ± erro-padrão. WSC TR (n=11); CC TR (n=12). * indica diferença significativa entre a semana 6 e o *baseline*. # indica diferença significativa entre os grupos.

Figura 16 - Efeito do treinamento físico no consumo de ácidos graxos do tipo n-3 e n-6 pelos pacientes



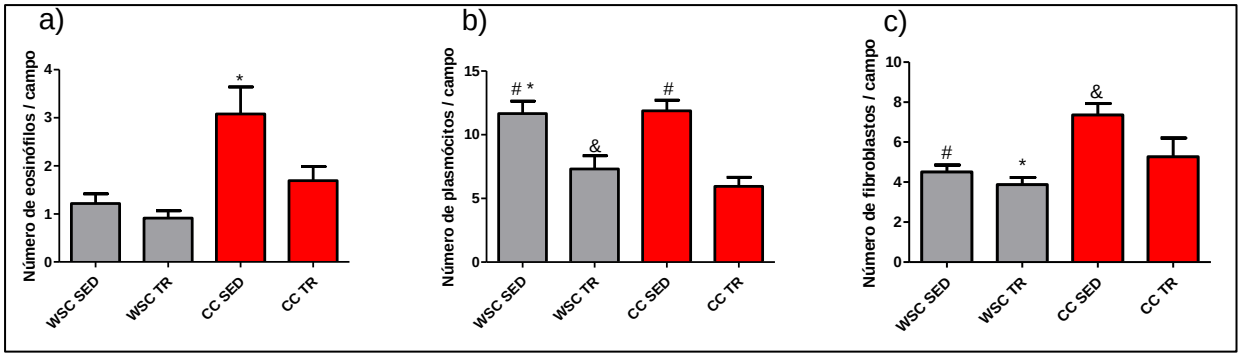
Dados expressos como média ± erro-padrão. WSC TR (n=11); CC TR (n=12). * indica diferença significativa entre a semana 6 e o *baseline*. # indica diferença significativa entre os grupos

5.4.4 *Efeito do treinamento físico sobre a morfologia do intestino grosso (cólon)*

A análise morfológica dos cortes histológicos do cólon, realizada através da contagem das células e seus diferentes tipos presentes na lâmina própria do cólon (Figuras 17 e 18) mostrou que o grupo CC SED apresenta celularidade maior em relação ao WSC SED e CC TR (Figura 18); o grupo CC SED apresentou número maior de eosinófilos em relação aos grupos CC TR, WSC TR e WSC SED (Figura 17a); em relação aos plasmócitos houve diferença entre os grupos WSC SED, CC SED e WSC

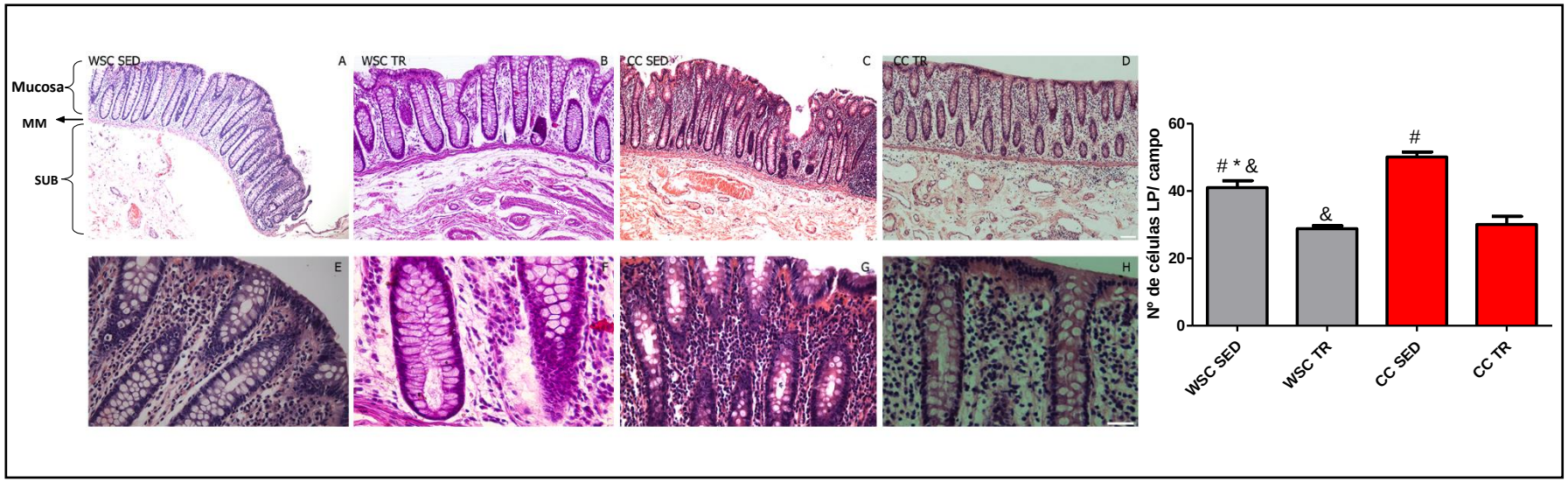
TR, CC TR (Figura 17b); o número de fibroblastos para o grupo CC SED foi maior em relação aos grupos WSC SED, WSC TR e CC TR (Figura 17c).

Figura 17 - Número de eosinófilos, plasmócitos e eosinófilos na lâmina própria da mucosa do cólon retossigmóide de pacientes sedentários e treinados.



Dados expressos em média ±erro padrão, p=nível de significância. WSC SED (n=5), WSC TR (n=4), CC SED (n=5); CC TR (n=4). * indica diferença significativa entre os grupos. a) * diferença significativa entre CC SED e CC TR, WSC SED, WSC TR; b) # diferença significativa com o treinamento WSC SED vs WSC TR e CC SED vs CC TR; * diferença significativa entre WSC SED e CC SED; & diferença significativa entre WSC TR vs CC SED. Diferença estatística entre os grupos = $p<0,05$.

Figura 18 - Celularidade na lâmina própria da mucosa do cólon retossigmóide de pacientes com câncer sem perda de peso e caquétcos *sedentários e treinados).

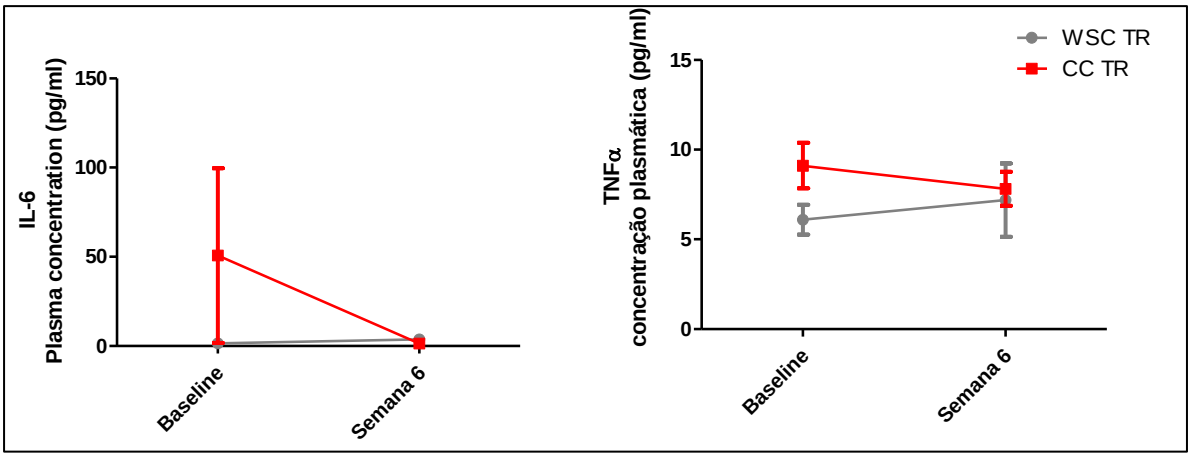


WSC SED (n=5), WSC TR (n=4), CC SED (n=5); CC TR (n=4). (A, E) cólon de paciente com câncer sem perda de peso sedentário (WSC SED) – 10 x; 40 x; (B, F) cólon de paciente com câncer sem perda de peso treinado (WSC TR) – 10 x; 40 x. (C,G) cólon de paciente caquético sedentário (CC SED) – 10 x; 40 x; (D, H) cólon de paciente caquético treinado (CC TR) – 10 x; 40 x. Os tecidos foram corados com hematoxilina; número de células na LP em 10 campos de cada amostra. Dados espressos em média ± erro-padrão. (I) Gráfico representativo do número de células por grupo (ANOVA one-way). * indica diferença significativa entre os grupos ($p<0,05$). Gráfico representativo do número de células por grupo (ANOVA one-way). # diferença significativa com o treinamento WSC SED vs WSC TR e CC SED vs CC TR; * diferença significativa entre WSC SED e CC SED; & diferença significativa entre WSC SED vs CC TR e WSC TR vs CC SED. WSC SED (n=5), WSC TR (n=4), CC SED (n=5); CC TR (n=4).

5.4.5 *Efeito do treinamento físico sobre a expressão proteica de citocinas no plasma dos pacientes*

Ao avaliar na expressão proteica de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento nos pacientes treinados (ANEXO G – Tabela 8), não se encontrou diferença significativa entre os grupos, tampouco entre a *baseline* e semana 6 do TF.

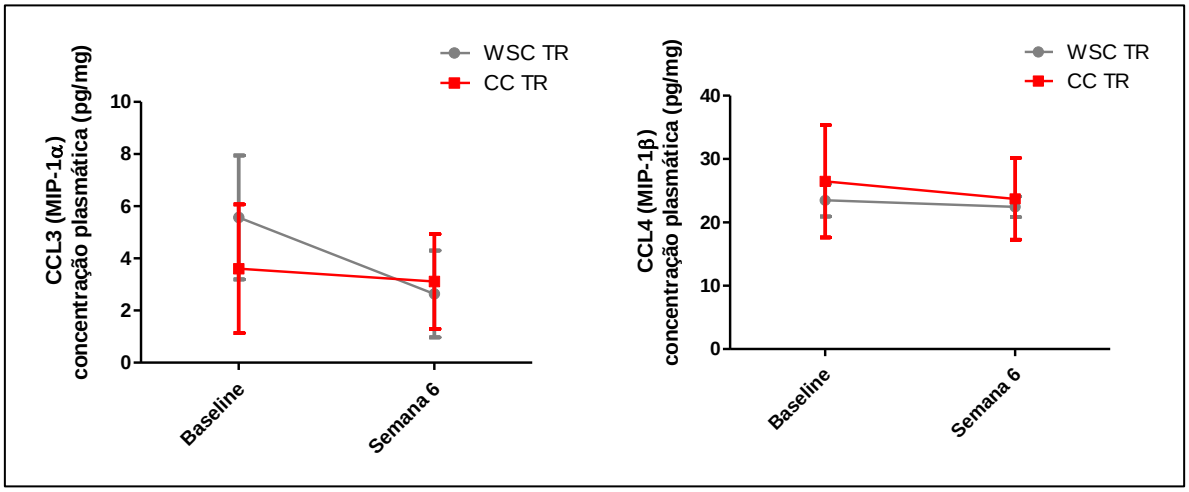
Figura 17 - Expressão proteica de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF-α) no plasma dos pacientes treinados.



Dados espressos em média ± erro-padrão. WSC TR (n=6) e CC TR (n=6). * indica diferença significativa entre os grupos.

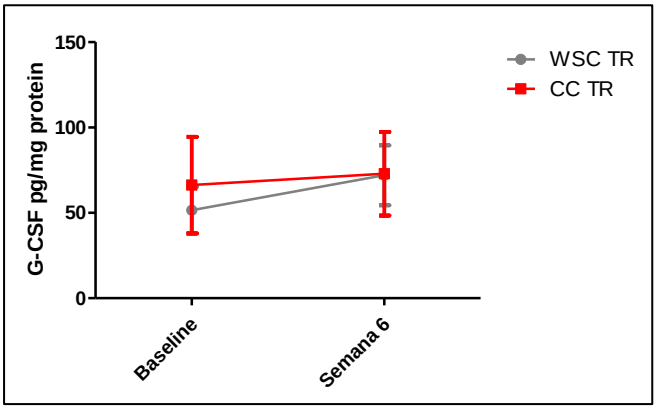
Apesar da diferença não ser significativa, observou-se que ao final das 6 semanas do TF as citocinas inflamatórias IL-6 e TNFα mostram concentrações semelhantes em ambos grupos (Figura 19); o mesmo pode ser observado com as quimiocinas CCL3 e CCL4 (Figura 20) e ao fator de crescimento G-CSF (Figura 21).

Figura 18 - Expressão proteica das quimiocinas CCL3 e CCL4 no plasma dos pacientes treinados.



Dados espressos em média ± erro-padrão. WSC TR (n=6) e CC TR (n=6). * indica diferença significativa entre os grupos.

Figura 19 - Expressão proteica do Fator de crescimento G-CSF no plasma dos pacientes treinados.

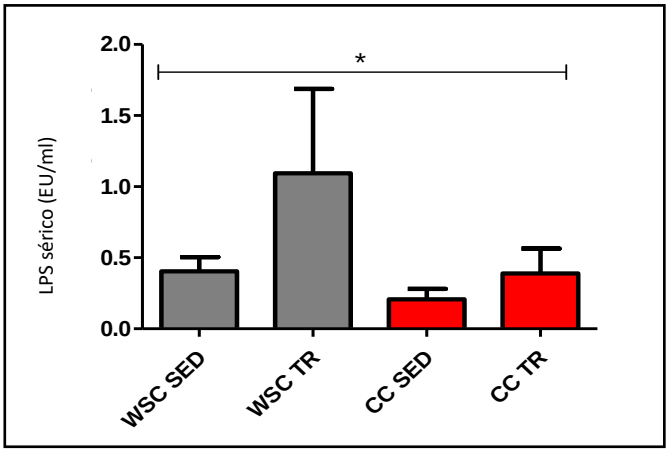


Dados espressos em média ± erro-padrão. WSC TR (n=6) e CC TR (n=6). * indica diferença significativa entre os grupos.

5.4.6 *Efeito do treinamento físico sobre a translocação bacteriana (endotoxina)*

Ao analisar todos os grupos na *Baseline* (Figura 22) pelo ANOVA one-way encontramos diferença significativa nas concentrações da endotoxina lipopolissacarídeo (LPS) entre os grupos (p = 0,0413), entretanto, o pós-teste aplicado "*Dunn's Multiple Comparison Test*" não detectou entre quais grupos essa diferença ocorre.

Figura 22 - Distribuição da concentração sanguínea de LPS entre os grupos sedentários e Baseline.

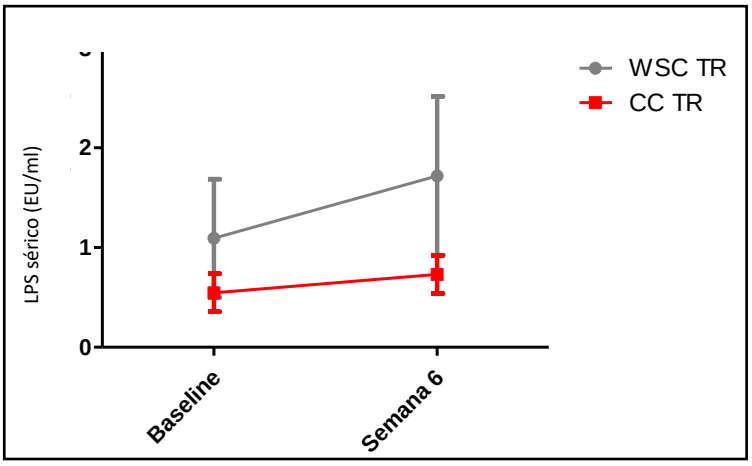


Dados expressos em média ±erro padrão, p=nível de significância. *Diferença estatística entre os grupos (p<0,05)
WSC SED (n=12), WSC TR (n=10), CC SED (n=16); CC TR (n=9). * indica diferença significativa entre os grupos.

Conforme observado na Figura 23, ao aplicar o teste ANOVA two-way, não foi possível detectar diferença estatística nas concentrações de LPS medidas pelo tempo

do TF (p = 0,4839), tampouco entre os grupos WSC TR e CC TR, tanto na baseline como na semana 6 do TF.

Figura 23 - Efeito do treinamento físico na concentração sanguínea de LPS



Dados expressos em média ±erro padrão, p=nível de significância.
WSC SED (n=12), WSC TR (n=10), CC SED (n=16); CC TR (n=9).

5.4.7 *Efeito do treinamento físico sobre a microbiota dos pacientes*

Inicialmente foi verificado o efeito do TF, com a análise do sequenciamento das bactérias da microbiota fecal dos pacientes com câncer (independente da presença da caquexia) submetidos ao PTF. Desta forma verificamos a presença de 13 filos diferentes (Tabela 5), bem como sua abundância relativa (Figura 24) de acordo com o tempo do TF (*Baseline* e Semana 6).

Os filos dominantes entre os pacientes foram *Firmicutes* (47,5%), *Bacteroidetes* (42%), *Proteobactéria* (3,6%), *Actinobacteria* (2,2%), *Fusobactéria* (2,0%), *Verrucomicrobia* (0,8%), *Lentisphaerae* (0,6%), *Cyanobacteria* (0,3%), *Synergistetes* (0,3%), *Tenericutes* (0,3%), *Euryarchaeota* (0,1%), *Elusimicrobia* (0,1%). Foi possível observar que o TF parece aumentar a abundância relativa de *Bacteroidetes*, *Euryarchaeota*, *Actinobacteria*, *Cyanobacteria*, *Lentisphaerae*, *Synergistetes*, *Tenericutes* e *Verrucomicrobia*; bem como diminuir a abundância relativa de *Firmicutes*, *Elusimicrobia*, *Fusobacteria* e *Proteobacteria.*

Após verificar que o TF exerceu alterações significativas na microbiota dos pacientes, independente do grupo, analisamos qual o seu impacto de acordo com a presença ou a ausência da caquexia.

Tabela 5 - Abundância relativa (%) dos filos da microbiota fecal dos pacientes com câncer pelo tempo de treinamento físico

	Baseline	Semana 6	total
	%	%	%
Euryarchaeota	0,1	0,2	0,1
Actinobacteria	1,4	3	2,2
Bacteroidetes	39,7	44,4	42
Cyanobacteria	0,1	0,6	0,3
Elusimicrobia	0,2	0	0,1
Firmicutes	50	45	47,5
Fusobacteria	2,2	1,8	2
Lentisphaerae	0,6	0,7	0,6
Proteobacteria	4	3,2	3,6
Synergistetes	0,3	0,4	0,3
TM7	0	0	0
Tenericutes	0,2	0,3	0,3
Verrucomicrobia	1,2	0,4	0,8

Figura 24 - Prevalência e abundância relativa dos filos da microbiota fecal pelo tempo de treinamento físico (Baseline e Semana 6).

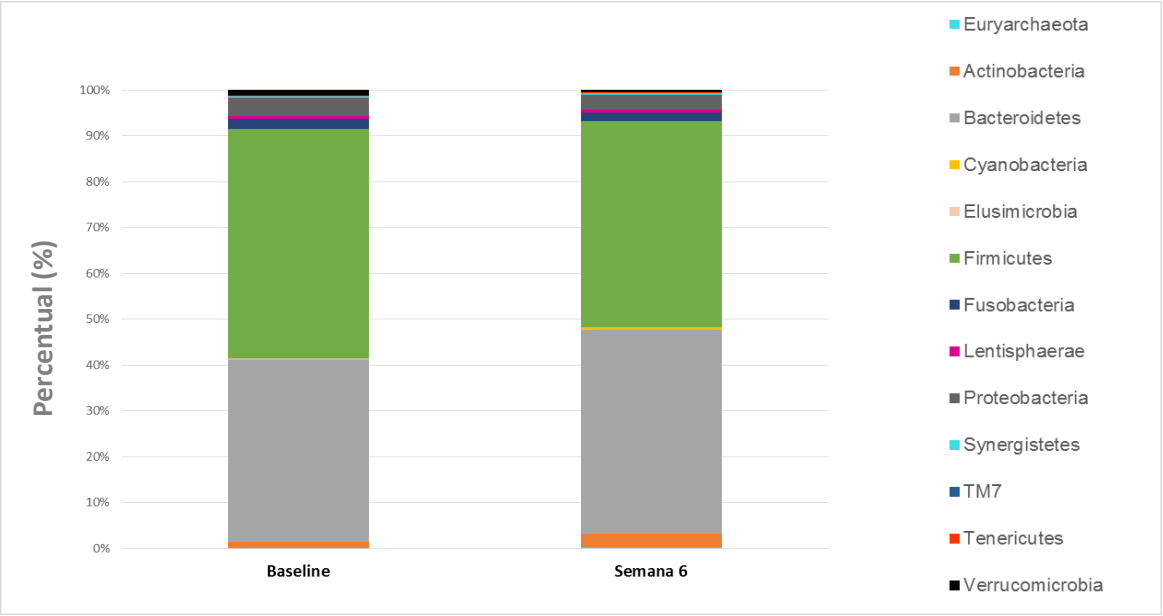
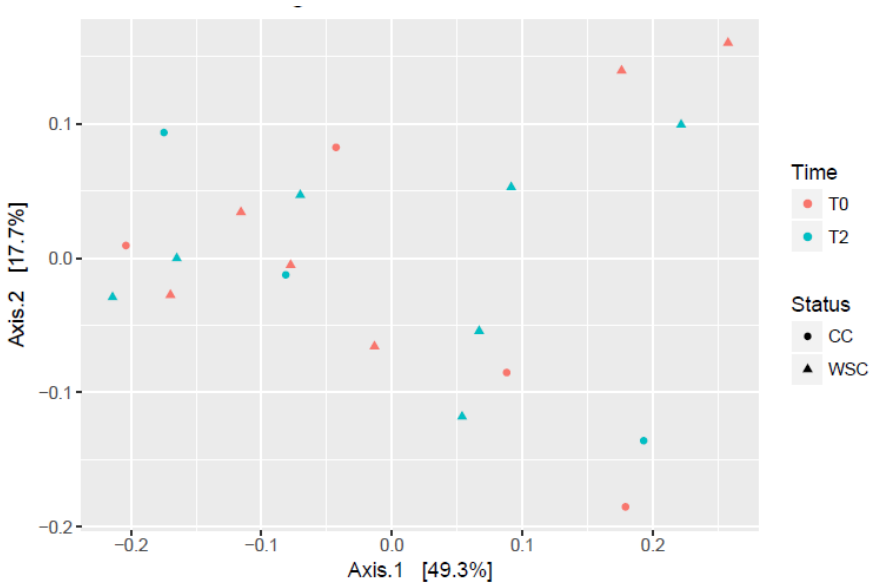


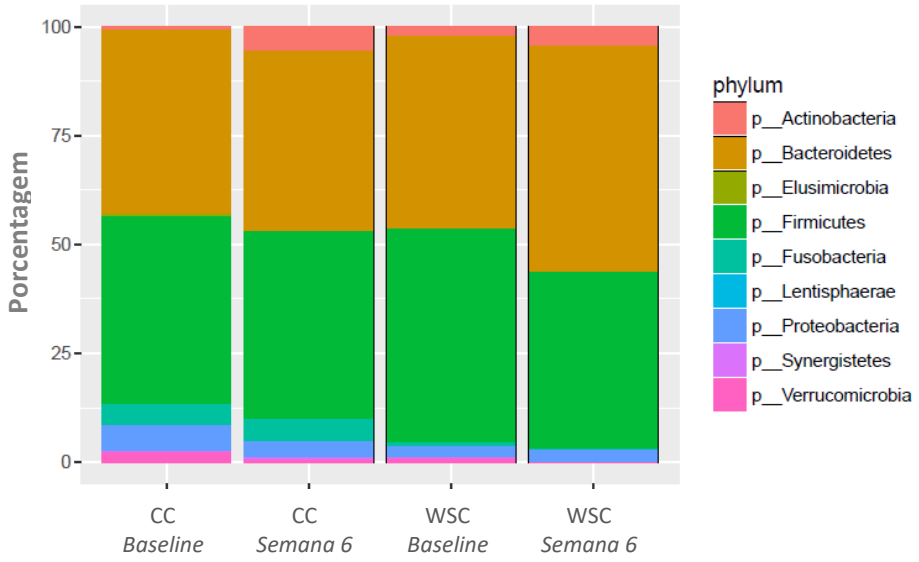
Figura 25 - Análise Unifrac para avaliar as diferenças na estrutura das comunidades bacterianas entre os grupos e o tempo do treinamento físico.



A análise de Unifrac (Figura 25), que avalia estatisticamente as diferenças na estrutura das comunidades bacterianas entre os grupos e o tempo do TF, infelizmente, não separa os grupos claramente. Contudo, ainda há diferenças significativas entre os grupos que podem ser observadas conforme mostrado nas outras análises realizadas a seguir.

Conforme a análise de Vishal (Figura 26), que separa os filos de bactérias encontradas nos pacientes CC e WSC tanto na Baseline como na semana 6, verificamos que WSC parecem mostrar maior presença de *Bacteriodetes* (representado em amarelo) do que CC em ambos os pontos de tempo (*Baseline* e Semana 6), embora ambos os grupos estejam ganhando *Bacteriodetes* na semana 6 do TF. Os pacientes CC também parecem ter mais *Verrucomicrobia, Proteobacteria* e *Fusobacteria* do que os WSC, embora estes filos sejam encontrados em uma porcentagem baixa mesmo nos CC.

Figura 20 - Análise Vishal – Avalaição da abundância relativa dos filos entre os grupos e os tempos do treinamento físico.



A partir do sequenciamento do DNA das bactérias das fezes dos pacientes foi possível constatar a presença de diversas OTUs (Unidades Taxonômicas Operacionais) (em nexo G) significativamente abundantes conforme os grupos CC e WSC e o tempo do TF (*Baseline* e semana 6), conforme mostrado na tabela 6 e 7 com os seus respectivos *Fold-change* (alterações em abundância relativa). A maioria delas são mais comuns nos pacientes com caquexia.

Ao analisar as diferenças entre os grupos no tempo *Baseline* do TF (Figura 26), identificamos que a maioria das OTUs encontradas são mais comuns nos indivíduos com caquexia. Entre as OTUs mais significativamente abundantes encontramos *Succinivibrio dextrinosolvens, Prevotella copri*. Nos indivíduos com peso estável, apenas a *Coprococcus eutactus* é encontrada em maior abundância em relação ao CC.

Ao analisar as diferenças entre os grupos na semana 6 do TF, identificamos que entre as OTUs mais abundantes no CC e com diferenças significativas em relação aos pacientes WSC temos *Fusobacterium mortiferum* (p = 0,0002), *Cloacibacillus porcorum* (p = 0,0030), *Porphyromona endodontalis* (0,0030), *Anaerocella delicata* (p = 0,0030), *Collinsella tanakaei* (p = 0,0033), *Fusobacterium nucleatum* (p = 0,0040), *Eubacterium coprostanoligenes* (p = 0,0041).

Tabela 6 - Valores de *Fold change* (em log de base 2) de cada gene que foi diferentemente expresso em pelo menos um dos grupos na Baseline do treinamento físico.

	***Fold Change* (log2)**	**Direção**	**Espécies**	**p**
OTU_56	-10.584.048	CC	s__Succinivibrio_dextrinosolvens	0.0003534684
OTU_122	-10.116.491	CC	s__Prevotella_copri	0.0003690508
OTU_130	-9.229.362	CC	s__Clostridium_leptum	0.0003690508
OTU_59	-9.774.393	CC	s__Alloprevotella_rava	0.0004182076
OTU_154	-9.716.623	CC	s__Prevotella_oulorum	0.0004182076
OTU_117	-9.471.676	CC	s__Alloprevotella_rava	0.0005215311
OTU_167	-9.391.156	CC	s__Elusimicrobium_minutum	0.0007190888
OTU_355	-9.199.607	CC	s__Alloprevotella_rava	0.0009208243
OTU_35	-9.050.457	CC	s__Fusobacterium_mortiferum	0.0010910522
OTU_187	-8.439.634	CC	s__Prevotella_oris	0.0013673037
OTU_127	-8.163.974	CC	s__Owenweeksia_hongkongensis	0.0037470005
OTU_233	-7.923.578	CC	s__Indibacter_alkaliphilus	0.0044626715
OTU_248	-8.004.716	CC	s__Barnesiella_intestinihominis	0.0045323954
OTU_87	7.103.056	WSC	s__Coprococcus_eutactus	0.0053223343
OTU_238	-7.824.567	CC	s__Intestinimonas_butyriciproducens	0.0053223343
OTU_180	-7.742.486	CC	s__Faecalitalea_cylindroides	0.0053633059
OTU_175	-7.656.175	CC	s__Ruminococcus_champanellensis	0.0053633059
OTU_120	-6.777.186	CC	s__Eubacterium_coprostanoligenes	0.0059826033

Tabela 7 - Valores de *Fold change* (em log de base 2) de cada gene que foi diferentemente expresso em pelo menos um dos grupos na semana 6 do treinamento físico.

	***Fold Change* (log2)**	**Direção**	**Espécies**	**p**
OTU_35	-9.725.662	CC	s__Fusobacterium_mortiferum	0.0001948495
OTU_101	-8.200.027	CC	s__Cloacibacillus_porcorum	0.0030347547
OTU_55	-8.114.068	CC	s__Fusobacterium_mortiferum	0.0030347547
OTU_228	-8.525.746	CC	s__Porphyromonas_endodontalis	0.0030347547
OTU_90	-8.145.730	CC	s__Anaerocella_delicata	0.0030347547
OTU_159	-8.008.560	CC	s__Collinsella_tanakaei	0.0033157523
OTU_170	-7.045.783	CC	s__Fusobacterium_nucleatum	0.0040190924
OTU_161	-7.743.392	CC	s__Eubacterium_coprostanoligenes	0.0041272986

6 DISCUSSÃO

Aproximadamente 50% dos pacientes com câncer apresentam caquexia, que afeta sobremaneira a sobrevida e a qualidade de vida (FEARON; MOSES, 2002). Apesar de descrita há séculos, e de todos os esforços na pesquisa básica e clínica, os mecanismos que deflagram a caquexia não estão completamente elucidados (FEARON et al., 2011) permanecendo como um problema de saúde pública mundial, imprecisamente diagnosticado e, em consequência, raramente tratado (SEELAENDER et al., 2012). Muito se especula sobre quais mecanismos deflagram a caquexia (ARGILES et al., 2010; TISDALE et al., 2009).

Atualmente, a caquexia é concebida como uma síndrome que atinge diversos órgãos (tecido muscular, tecido adiposo, fígado, coração, sistema nervoso e trato digestório), mantendo o organismo em um estado inflamatório sistêmico e crônico, e promove um aumento de citocinas inflamatórias (ARGILES et al., 2014).

Diante dos resultados prévios do nosso grupo, que demonstram a ação anti-inflamatória do exercício em pacientes com caquexia associada ao câncer, tivemos como propósito analisar tanto as alterações que a caquexia promove no organismo, como também aquelas que o exercício pode promover no intestino (cólon) e na microbiota dos pacientes, uma vez que a literatura mostra que o intestino é um órgão com participação ativa no sistema imunológico (GOLDSZMID; TRINCHIERI, 2012; HOGENOVA et al., 2011; NATIVIDAD; VERDU, 2013).

As células epiteliais do intestino e suas junções formam uma barreira física contra as bactérias locais (ARTIS, 2008). A inflamação intestinal conduz à permeabilidade intestinal (disfunção da barreira epitelial do intestino) e à liberação de citocinas pró-inflamatórias, o que pode agravar a lesão da mucosa e exacerbar a inflamação sistêmica na presença de outras fontes de inflamação, além de contribuir para a anorexia, perda de massa muscular e outras alterações metabólicas observadas na caquexia (JIANG et al., 2014; NATIVIDAD; VERDU, 2013). Abaixo do epitélio, a mucosa intestinal é constituída por várias linhagens de células, incluindo células do sistema imunitário inato e adaptativo, que também colaboram para estabelecer um sistema simbiótico com a microbiota (ARTIS, 2008). Por isso, um tratamento que apresente uma ação anti-inflamatória no organismo de forma sistêmica e que permita manter a integridade da barreira intestinal e o equilíbrio da microbiota pode ajudar a minimizar os sintomas da caquexia associada ao câncer

(CERDÁ et al., 2016; COOK et al., 2016; NATIVIDAD; VERDU, 2013; VARIAN et al., 2016).

Diversos autores (CRAWFORD, 2016; LAVIANO et al., 2011; MAURICIO et al., 2013; UTECH et al., 2012) evidenciam a magnitude em descrever a real redução da ingestão alimentar experimentada pelos pacientes caquéticos, sendo imprescindível para isto uma avaliação eficaz da ingestão alimentar bem como da anorexia. Neste sentido, a investigação do padrão nutricional dos pacientes com caquexia foi efetuada, com o intuito de investigar tanto se a presença da caquexia, bem como o tratamento com o TF, altera o consumo alimentar destes pacientes.

A associação entre o baixo peso corporal e a mortalidade é substancial e confirmada por quase todos os estudos disponíveis sobre este tema (MARTIN et al., 2015). O índice de massa corporal (IMC) é uma importante ferramenta avaliadora do estado nutricional do paciente e, além disso, está entre os diversos marcadores propostos para o diagnóstico da caquexia (EVANS et al., 2008; FEARON et al., 2011). Contudo, apesar dos pacientes com caquexia apresentarem o valor de IMC menor dos demais grupos, tais valores não estão abaixo do valor de referência (CC SED = 22,79 ± 0,72 kg/m² e CC TR = 23,85 ± 0,78 kg/m²), que segundo Evans et al. (2008) deve estar abaixo de 20 kg/m² e ainda, segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), considera-se classificação de baixo-peso para a população adulta quando o IMC está abaixo de 20 kg/m², e para população idosa quando está abaixo de 22 kg/m²). No grupo WSC, verificamos pela média do IMC (WSC SED = 26,25 ± 1,28 kg/m² e WSC TR = 27,66 ± 0,99 kg/m²) que os pacientes se classificam em sobrepeso (segundo a OMS). Isso nos conduz à reflexão sobre o impacto da classificação nutricional destes pacientes baseando-se apenas no IMC, uma vez que a prevalência de sobrepeso e obesidade na população vem aumentando a cada dia. Todos os indivíduos com IMC superior a 30 kg/m² foram excluídos do grupo pelo fator obesidade (OMS), uma vez que sua condição induz inflamação sistêmica e outras morbidades associadas que representariam viés no estudo, posto que seria impossível atribuir à caquexia isoladamente a indução da inflamação.

O fato do paciente apresentar um IMC eutrófico e saudável no momento do recrutamento não anula a relevância da perda de peso por ele apresentada dos últimos 6 meses, uma vez que os nossos pacientes com caquexia mostram redução superior a 5% de peso em 6 meses, de forma abrupta e involuntária. Segundo Blum

et al. (2011), apenas a perda de massa corporal e o IMC não são insuficientes para identificar pacientes em estágio de pré-caquexia, sugerindo que seriam necessários fatores adicionais, como a medida da concentração de PCR e presença de perda de apetite, por exemplo, para uma classificação mais exata dos diferentes graus de caquexia. Para Evans et al. (2008) e Fearon et al. (2011), é necessário que o paciente tenha perda de peso superior a 5% de seu peso corporal nos últimos 12 meses ou IMC indicativo de baixo peso; porém estes fatores devem ser acompanhados de pelo menos mais três critérios alterados, entre fatores bioquímicos, perda de massa livre de gordura, fadiga, anorexia; não devendo ser o IMC um fator único, exclusivo e determinante para o diagnóstico da síndrome.

O estado nutricional tem um efeito importante na qualidade de vida e na sensação de bem-estar em pacientes com câncer (HUHMANN; CUNNINGHAM, 2005). Por isso a perda de peso involuntária presente na caquexia, muitas vezes afeta a qualidade de vida (BOZZETTI, 2009; ESCAMILLA; JARRETT, 2016). Nossos achados corroboram estes dados da literatura, posto que a pontuação obtida no questionário referente à qualidade de vida (EORTC QLQC-C30) apresentou-se menor no grupo com caquexia, quando comparada com o grupo não caquético, indicando que a qualidade de vida é afetada negativamente nesses pacientes.

Para Laviano et al. (2011), em seres humanos, a regulação do comportamento alimentar é determinada pelo envolvimento extensivo de fatores sensoriais e cognitivos. Pérez-Jiménez et al. (2011) acreditam que pacientes com câncer podem desenvolver aversão alimentar com frequência (influência cognitiva sobre o comportamento alimentar), o que contribui para a desregulação do apetite e para falha de sinais que desencadeiam respostas anorexígenas e até mesmo para a desnutrição. O potencial de influência da ingestão de alimentos na anorexia foi observado nos resultados obtidos pela análise da pontuação anoréxica (FAACT - anorexia), que apresentou valores no grupo caquético, comparados aos não caquéticos. A anorexia pode decorrer da incapacidade do hipotálamo em responder apropriadamente a sinais periféricos, indicativos de um déficit de energia (LAVIANO et al., 2011).

Nossos achados confirmam que a caquexia do câncer é caracterizada por anorexia (perda espontânea e não intencional de apetite), fadiga e perda de peso corporal. De acordo com Koichi et al. (2016), esses fatores são considerados fatores-

chave na caquexia. Além disso, tais fatores também foram fortemente associados à redução na qualidade de vida.

Segundo Liedman et al. (2001), a identificação correta e, o consequente controle dos sintomas de pacientes com caquexia associada ao câncer, pode melhorar a qualidade de vida, a composição corporal e a ingestão de alimentos em pacientes com câncer gástrico. O questionário EORTC QLQC-STO22 avalia justamente a qualidade de vida em relação à ingestão alimentar de pacientes com câncer gástrico, não tendo apresentado diferença de pontuação entre os grupos, provavelmente pelo fato da maioria da amostra de pacientes deste trabalho possuir localização tumoral intestinal (apenas 15% dos pacientes participaram do nosso estudo possuem câncer gástrico). As exceções foram concedidas para os pacientes que aderiram ao grupo do PTF, composto por 46,87% de pacientes com câncer gástrico. Contudo, mesmo dentro deste grupo, o questionário EORTC QLQC-STO22 não apresentou diferença significativa entre os grupos de câncer com caquexia e sem caquexia.

É importante enfatizar que a anorexia no câncer tem diversas causas; Segundo Ezeoke e Morley (2015), as causas centrais da anorexia podem incluir uma variedade de alterações nos neurotransmissores centrais e a causa primária é muitas vezes um aumento das citocinas pró-inflamatórias ou um aumento do lactato sérico. Embora nossos dados não tenham fornecido informações sobre a concentração de lactato, houve em relação às citocinas, um aumento significativo na concentração plasmática de IL-6 no grupo com caquexia.

Ensaios bioquímicos sugerem que a inflamação sistêmica é um cofator vultuoso neste processo de perda de peso involuntária em conjunto com outros fatores como a desnutrição e a anemia (KONISHI et al., 2016). Corroborando esta observação, os pacientes do presente trabalho classificados com caquexia que, além de apresentarem perda de peso involuntária nos últimos 6 meses abaixo de 5% (perda média = 5,875%), também apresentaram indicadores de inflamação (PCR acima de 5,0 mg/L), anemia (hemoglobina abaixo de 12 g/dl), dados de classificação em conformidade a definição no consenso de caquexia (EVANS et al., 2008). Podemos considerar ainda que, apesar de não haver diferença significativa na concentração de albumina sérica entre os grupos, 41% dos CC SED e 38,46% dos CC TR podem apresentar desnutrição pela identificação da baixa concentração de albumina (Para

Evans et al. (2008) albumina abaixo de 3,2 g/dl já é considerada um dos fatores de inclusão na classificação da caquexia). A desnutrição energético-proteica é muito prevalente no paciente oncológico, e acarreta diminuição da qualidade de vida, da sobrevida e da tolerância ao tratamento (BALDWIN, 2011; MUSCARITOLI et al., 2010). Segundo Kowata et al. (2009), o paciente com caquexia não desprende potencial para manter ou reduzir o catabolismo dos músculos em resposta à reduzida ingesta de nitrogênio (balanço nitrogenado alimentar) levando a depleção de proteína e, como consequência, atrofia muscular e hipoalbuminemia (KOWATA et al., 2009).

Vale ressaltar que a albumina é uma proteína de fase aguda negativa, sua diminuição no plasma parece ocorrer devido a uma inibição hepática mediada por outras proteínas relacionadas à inflamação ou devido à necessidade do fígado em aumentar a síntese das proteínas de fase aguda positivas, desprendendo de uma maior disponibilidade de aminoácidos, gerando degradação da própria albumina (DON; KAYSEN, 2004; KASPAR et al., 2016; MARGARSON; SONI, 1998; YAMADA et al., 2016).

Em conformidade com nossos achados, estudos anteriores relataram aumento da concentração de PCR e IL-6 no paciente caquético; Blum et al. (2011) discutem que marcadores clínicos são sinais-chave para lipólise e proteólise. Proteínas hepáticas de fase aguda (proteína C reativa) têm sido utilizadas tradicionalmente como marcador clínico para a avaliar inflamação sistêmica, apesar de também ser sensível às infecções casuais (FEARON et al., 2011). O uso de PCR como marcador genérico para inflamação sistêmica no presente estudo não exclui o teste de marcadores alternativos (EVANS et al., 2008; FEARON; MOSES, 2002; HU et al., 2016).

Ao fazer a correlação entre a perda de massa corporal presente no paciente com caquexia e seu consumo alimentar energético e proteico (identificados como % de adequação energética e % de adequação proteica a partir das análises do recordatório alimentar de 24 h), verificamos que o consumo energético não teve correlação significativa com a perda de massa corporal e o mesmo padrão foi encontrado ao correlacionar esse parâmetro com o consumo proteico. Em contrapartida, ao avaliar a correlação existente entre a perda de massa corporal presente no paciente com caquexia e inflamação sistêmica, verificamos uma correlação positiva entre a perda de massa corporal e a citocina inflamatória IL-6 e uma tendência positiva na correlação entre esta perda massa corporal e a citocina

TNF-α. Estes resultados corroboram os achados na literatura (KOICHI et al., 2016; MARTIN, 2016; MARTIN et al., 2015; PETERSON; MOZER, 2017) que afirmam a importância do impacto da inflamação na perda de peso dos pacientes com caquexia. Segundo Patel e Patel (2017), o TNF-α é um gatilho para mecanismos que conduzem à caquexia, desde a perda de massa muscular até as alterações no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos.

Diversos pesquisadores (CARO; LAVIANO; PICHARD, 2007; EVANS et al., 2008; HUHMANN; CUNNINGHAM, 2005; KONISHI et al, 2016; LAVIANO et al., 2011; MARTIN, 2016) demonstram que no câncer, o metabolismo do hospedeiro é alterado: há intensificação da proteólise e lipólise, enquanto a síntese de proteínas musculares é deprimida, resultando em perda de massa corporal magra e tecido adiposo e contribuindo para deflagrar a energia. Ao mesmo tempo, a ingestão de alimentos dos pacientes geralmente não é aumentada, promovendo assim mais desprendimento energético (HUHMANN; CUNNINGHAM, 2005; LAVIANO et al., 2011). A desnutrição relacionada ao câncer pode evoluir para a caquexia do câncer por complexas interações entre citocinas pró-inflamatórias e o metabolismo do hospedeiro; quando os efeitos prejudiciais da proteólise, lipólise e ingestão alimentar sensibilizam o estado nutricional, se tornam clinicamente aparentes e, desta forma caquexia começa a ser estabelecida (CARO; LAVIANO; PICHARD, 2007).

Apesar da importância da recomendação e da avaliação da dieta, não há ainda um consenso quanto à forma de mensuração da ingestão alimentar e tampouco critérios diagnósticos associados a parâmetros específicos para a caquexia de forma a mensurar sua real e total necessidade energética (FEARON et al., 2011). Do ponto de vista clínico (KONISHI et al., 2016), a eficácia limitada do suporte nutricional na caquexia pode ser explicada pela natureza multifatorial desta condição. É bem conhecido que a desnutrição é uma questão mais comum e importante no câncer colorretal do que em muitos outros tipos comuns de câncer, e representa um importante fator de risco pré-operatório. Maurício et al. (2013) relataram que não há evidência suficiente para concluir se, ou de que forma, a deficiência nutricional pode causar ou predispor indivíduos ao câncer.

Em relação ao consumo energético, observamos que, apesar de não haver diferença significativa de consumo entre os grupos com e sem caquexia, ambos os grupos apresentaram um consumo energético abaixo do recomendado para suas

necessidades (em torno de 75% da adequação energética em ambos grupos). Em paralelo, observamos que mesmo com o consumo energético baixo, somente o grupo com caquexia apresentou a perda de peso, estando em concordância com Porporato (2016) que relata ser necessária uma abordagem sistêmica, sem eliminar a contribuição de cada órgão ou tecido na patogênese da caquexia, uma vez que ela apresenta múltiplas alterações moleculares e metabólicas.

Quanto ao consumo proteico, o grupo com caquexia apresentou um consumo significativamente menor do que o grupo câncer sem perda de peso. Em contrapartida, não houve nenhuma correlação, conforme mencionado anteriormente, entre este consumo proteico e a perda de massa corporal nos pacientes com caquexia, de forma a figurar que nos pacientes caquéticos este consumo de proteínas (mesmo baixo) não está afetando diretamente a perda de peso.

Nossos dados de correlação entre o consumo de proteína (% de adequação proteica) e as concentrações de albumina no sangue dos pacientes com caquexia, demonstraram ausência de correlação positiva entre estas variáveis, ou seja, o consumo de proteínas pelos pacientes com caquexia não tem influência sobre a concentração de albumina. Em conformidade com estes dados, alguns autores relatam que a caquexia difere da desnutrição, uma vez que a síndrome não pode ser revertida por apoio nutricional adequado e/ou pela superação de problemas de absorção ou utilização de nutrientes (BLUM et al., 2011; PETERSON; MOZER, 2017). O mesmo padrão foi encontrado na correlação entre o consumo de Ferro e a hemoglobina sérica, que também demonstrou ausência de correlação positiva. Esses dados sugerem a possibilidade de má absorção intestinal, conforme Cozon (2014), que menciona que microrganismos patogênicos ou disbiose intestinal podem comprometer a absorção de ferro.

Em relação ao consumo de carboidratos, não houve diferença significativa no consumo de carboidratos totais entre os grupos, apesar disso, considerando que a OMS sugere que os carboidratos componham 55-75% do consumo energético diário, verificamos que o consumo dos pacientes com câncer sem perda de peso estava abaixo das recomendações (48,13 ± 3,45% do consumo energético), enquanto os pacientes com caquexia mostraram o consumo adequado (55,84 ± 2,962% do consumo energético). Apesar disso, o consumo de carboidratos simples (açúcar) apresentou tendência ($p = 0,0630$) em estar aumentado nos pacientes com caquexia.

Uma dieta com maior consumo de carboidrato refinado (açúcar) e pobre em grãos integrais, frutas e vegetais tem sido referida como como fator de risco para o desenvolvimento do câncer de cólon (CHATENOUD et al., 1999; FERNANDÉZ; GALLUS; LA VECCHIA, 2006). Estudos mais recentes relatam ainda a associação do metabolismo dos carboidratos da dieta com a microbiota, envolvendo aumento da produção de gases e ácidos graxos de cadeia curta; as bactérias no intestino grosso dependem principalmente de substratos dietéticos que não são digeridos no trato digestivo superior para sobrevivência; a fermentação das fibras (provindas de carboidratos complexos) pelas bactérias produz metabolitos geralmente benéficos (ROWLAND et al., 2017).

Não foi apresentada diferença significativa no consumo de gorduras entre os dois grupos (tanto totais, bem como das saturadas, mono e poli-insaturadas), e as proporções de consumo em ambos os grupos estava de acordo com as recomendações da OMS, sendo representada por lipídios entre 15% e 30% do total calórico da dieta, os ácidos graxos saturados devem estar entre 0% e 10% e os poli-insaturados entre 3% e 7%. Para os ácidos graxos monoinsaturados não há limites definidos pela OMS.

Considerando Trumbo et al., (2002), para o consumo dietético de referência (DRIs) para os micronutrientes, foi possível observar que o Ferro está abaixo da necessidade diária para população feminina (que representa 50% em ambos os grupos); o Selênio apresentou seu valor médio abaixo do valor de referência de 65mcg no grupo com caquexia (60,49 ± 9,797mcg); o de vitamina D, influente em aumentar a incidência de neoplasias (GARLAND; GARLAND; GORHAM, 1999) apresentou-se abaixo do valor de referência de 200 UI em ambos os grupos. Para a relação n-6/n-3 que, segundo Trumbo et al. (2002) determina um efeito anti-inflamatório no organismo quando abaixo de 5:1, encontramos em ambos os grupos esta relação acima destes valores de referência, sendo que 85% dos CC apresentavam esta relação acima de 7, um valor de referência pró-inflamatório.

O diagnóstico da caquexia em seus estágios iniciais é primordial para o sucesso do tratamento, pois uma vez já instalada, ela reduz a efetividade dos medicamentos (q UImioterápicos e radioterápicos) e é resistente ao suporte nutricional. Nesse sentido, a atividade física tem sido proposta como um tratamento para atenuar a caquexia, uma vez que a condição está associada a uma redução significativa na força muscular e resistência (PETERSON; MOZER, 2017). Em acordo

com esse pressuposto, nossos resultados apresentam o efeito do treinamento físico na composição corporal (aferida pelo DEXA) mostrando sua promoção no aumento da composição da Massa Muscular total (Figura 6a) sem, contudo, alterar a composição da Gordura Corporal total, bem como na Massa óssea total (Figura 6c).

A associação entre a composição corporal e o efeito do treinamento físico nos grupos mostrou que, em divergência dos trabalhos que apresentam a caquexia como uma síndrome caracterizada pela perda de massa muscular (ARGILES et al., 2010; BRUGGEMAN et al., 2016; EVANS et al., 2008; GRAUL, STYRIDER; SORBERA, 2016), não houve diferença na composição de massa magra (muscular) total entre os grupos com caquexia daqueles com câncer sem perda de peso. Além disso, houve um aumento significativo na composição da massa magra (muscular) após as 6 semanas de treinamento em ambos os grupos (Figura 5b). A composição da gordura corporal apresentou-se menor no grupo com caquexia, confirmando sua inclusão dentro dos critérios adotados para o diagnóstico da caquexia (EVANS et al., 2008; FEARON et al., 2011), e não resultou em alterações com a aplicação do treinamento físico. Portanto, o treinamento físico pode estar contribuindo não apenas com o aumento da massa muscular, como também com a descontinuação da redução de gordura corporal provocada pela caquexia.

Evidencias consolidadas em nosso grupo (DONATTO et al., 2013; LIRA et al., 2009; MATOS-NETO, 2016), tanto em animais como em humanos, bem como na literatura (BILSK et al., 2016; NIMMO et al., 2013; PETERSEN; PEDERSEN, 2005) explanam a ação benéfica do treinamento físico na inflamação sistêmica, modulando as citocinas bem como as proteínas de fase aguda positivas (PCR) e negativas (albumina).

A este respeito, verificamos que com o TF, a PCR no grupo com caquexia atingiu na semana 6 um valor aproximado ao dos pacientes com câncer sem perda de peso, apesar da diferença não ter sido estatística. E o mesmo pode ser observado com a IL-6 (Figura 4c), que não sofreu alteração significativa, mas atingiu na semana 6 uma concentração mais parecida com a dos pacientes com câncer sem perda de peso. Evidenciamos, assim, a supremacia do exercício em alterar o percurso da inflamação sistêmica e crônica do paciente com caquexia, restabelecendo seu perfil inflamatório de forma a tornar mais semelhante ao do paciente com câncer sem perda de peso.

Adicionalmente, verificamos que o TF favoreceu uma redução de 9,1% de indivíduos caquéticos com concentrações de albumina abaixo de 3,2 g/dL, valor de referência para inclusão na classificação da caquexia (EVANS et al., 2008); promovendo um aumento médio em suas concentrações séricas de 18,9% no grupo com caquexia, e 19,5% no grupo câncer sem caquexia. Enfatizamos que estes valores apresentam o treinamento físico como sendo elementar para a melhora do quadro clínico dos pacientes de ambos os grupos. Contudo, essas mudanças não foram estatisticamente significativas.

Posteriormente, verificamos através do consumo alimentar dos pacientes que o TF não promoveu mudanças no consumo de energia, proteína e carboidrato, bem como de alguns micronutrientes.

Por outro lado, a diferença no consumo de lipídeos totais entre os grupos na semana 6 do TF mostra que houve redução neste consumo nos CC TR e aumento nos WSC TR. Além disso, verificamos que os pacientes com caquexia reduziram o consumo médio dos ácidos graxos do tipo saturados em 35,8%. De acordo com Lipina e Hundal (2016) os ácidos graxos dos tipos saturados e insaturados possuem funções diferentes na regulação da massa muscular esquelética; sendo os saturados promissores da atrofia pelo aumento e ativação de citocinas e vias metabólicas pró-inflamatórias, enquanto os do tipo insaturados previnem a atrofia muscular. Da mesma forma, a quantidade e o tipo de ácidos graxos pode influenciar também na eubiose (equilíbrio da microbiota) do intestino (WEISS; HANNET, 2017). Podemos considerar que, o efeito do treinamento físico, tanto sistemicamente, como melhorando o perfil de consumo lipídico, pode estar contribuindo na melhora da composição corporal dos pacientes com caquexia.

Vale destacar ainda que, apesar do treinamento físico não ter induzido alterações significativas em relação ao consumo de micronutrientes constatamos que os pacientes caquéticos atingiram na semana 6 do treinamento físico um consumo médio de vitamina E agrupado ao grupo câncer sem perda de peso. Contudo, a quantidade de vitamina E atingida também não atende as recomendações, conforme Trumbo et al. (2002), para as DRIs (*Dietary Reference Intakes* - Referencia de Ingestão Diária).

As alterações dos parâmetros antropométricos promovida pelo treinamento físico, nos pacientes com caquexia, bem como a identificação de alterações bioquímicas e de comportamento alimentar desta população, podem estar

contribuindo com a melhora do quadro geral da caquexia e, nos impulsiona a investigar o impacto que ele pode estar exercendo em outros órgãos que, de alguma forma, façam parte da etiologia da caquexia.

Entre vários outros efeitos, o exercício físico resulta em um aumento na secreção de substâncias relacionadas com a homeostasia do trato digestório (OLIVEIRA; BURINIA, 2009). Estes efeitos são provavelmente mediados por alterações no fluxo sanguíneo gastrointestinal e motilidade, mas fatores mecânicos puros e alterações neuroendócrinas também podem estar envolvidos (SIMRÉN, 2002).

O trato gastrointestinal é revestido com muco segregado por células caliciformes que, além de construir uma barreira física, é uma fonte de nutrientes para bactérias intestinais (WEISS; HANNET, 2017).

O sistema imunológico permite uma relação simbiótica com a microbiota comensal, mantendo uma homeostase não-inflamatória. Os esforços para preservar a integridade da barreira epitelial intestinal e / ou limitar a inflamação intestinal em pacientes com câncer podem ajudar a evitar as alterações metabólicas graves associadas à caquexia (SUN; KATO, 2016).

As células imunes que residem abaixo do epitélio na lâmina própria (LP) se ativam quando a barreira epitelial for rompida por patógenos potenciais (OLSZAK et al., 2012). Assim, o sistema imune intestinal deve manter constantemente um delicado equilíbrio entre a tolerância a comensais e imunidade contra bactérias patogênicas. Um desequilíbrio nesta regulação resulta em condições inflamatórias do intestino (CHENG et al., 2014).

Desta forma foi possível detectar em nossos resultados que o grupo CC SED apresentou um desequilíbrio neste controle, como demonstra a presença de infiltrados celulares encontrados na LP do intestino em número significativamente maior do que nos grupos WSC SED, WSC TR e CC TR.

Além disso, a diferença apresentada da celularidade na LP entre os grupos WSC SED vs. WSC TR e CC SED vs. TR em paralelo à ausência de diferença nesse parâmetro entre CC TR e WSC TR, nos mostra que o treinamento físico promoveu redução no número de infiltrados celulares na LP do intestino dos pacientes, presentes em maior número nos pacientes caquéticos; e também restabeleceu o número de células na LP dos CC TR tornando-o mais semelhante à dos WSC TR.

A associação entre aumento do número de eosinófilos na mucosa do cólon com doenças inflamatórias do intestino foi destacada nos trabalhos de Carvalho et al. (2003) e Rothenberg (2004). Corroborando esta observação, o número de eosinófilos e de fibroblastos na LP dos pacientes mostrou estar mais elevado no grupo CC SED em relação a todos os outros grupos (CC TR, WSC SED WSC TR) e que o CC TR em relação aos grupos WSC TR e SED não apresentou diferença. Esse resultado permite mostrar que tanto o treinamento físico, quanto a ausência da caquexia, podem ser fatores contribuintes para um menor número de eosinófilos e de fibroblastos na lâmina própria do intestino.

O aumento de eosinófilos no cólon pode ocorrer por diversos motivos, como por infecções helmínticas, doença inflamatória do intestino, doença autoimune, doença celíaca, reações medicamentosas, esofagite de refluxo, doenças do tecido conectivo e malignidade; e pode vir a causar perda de peso, vômitos, dor abdominal e diarreia (ALFADDA; STORR; SHAFFER, 2010). Para Masterson et al. (2015), o aumento da presença de eosinófilos nos estágios iniciais da inflamação da mucosa pode não ser necessariamente um indicador da doença, mas sim uma resposta do hospedeiro, promovendo a cicatrização da mucosa e um caminho para retornar à homeostase.

Roulis e Flavell (2016) enfatizam o papel dos fibroblastos intestinais sobre a lesão epitelial aguda ou crônica, no contexto da fibrose, em condições inflamatórias crônicas, como doenças Inflamatórias Intestinais (IBD) e câncer. Em resposta à lesão, os fibroblastos migram para a ferida e reorganizam a MEC, estimulando a produção de colágeno e o desenvolvimento de fibras de estresse em fibroblastos. Portanto, podemos considerar que uma maior migração de fibroblastos no tecido intestinal é indicativa de alguma necessidade local de reparação tecidual.

Em relação ao número de plasmócitos na LP do cólon dos pacientes, verificamos que WSC TR mostram um número menor em relação ao WSC SED, da mesma forma que CC TR em relação ao CC SED, indicando a possibilidade do treinamento físico estar promovendo esta redução de plasmócitos na LP do cólon de pacientes com e sem caquexia. No nosso organismo, cerca de 80% dos plasmócitos se localizam na lâmina própria do intestino e, de acordo com achados na literatura (BANERJEE; GERONDAKIS, 2007; HVAS et al., 2007; SARTOR, 2008), em indivíduos saudáveis, a microbiota ativa uma sequência de respostas homeostáticas através das células epiteliais, macrófagos, células dendríticas, linfócitos T e

B/plasmócitos, permitindo, dessa forma, a coexistência com microrganismos e produtos bacterianos potencialmente tóxicos; além de resposta imune que produzem tolerância imunológica em hospedeiros saudáveis, levando à secreção de IgA pelos plasmócitos. Uma das mais importantes funções da IgA é de neutralização dos microrganismos, ligando-se a receptores na sua superfície e impedindo a interação com as células do hospedeiro (SARTOR, 2008).

Conforme foi mencionado, o treinamento físico exerce um papel chave na redução da inflamação sistêmica do organismo. Sendo assim, ele contribui com a redução da inflamação de diversos tecidos. Levando em consideração que o TF está contribuindo com a redução da inflamação no intestino, não há recrutamento de plasmócitos (para produção de IgA) para o local, mostrando consistência em nossos achados.

Neste contexto, é importante considerar que a resposta imune nos tecidos depende não apenas das células inflamatórias ou adaptativas do sistema imunitário, mas também de outras células nesse tecido ou microambiente, incluindo células epiteliais especializadas, fibroblastos, células endoteliais e adipócitos; e que a interação entre os receptores das células epiteliais ou mucosa intestinal com as bactérias ou endotoxinas bacterianas revela o impacto que a população bacteriana comensal (microbiota) exerce na imunidade e inflamação local (GOLDSZMID; TRINCHIERI, 2012; ROY; TRINCHIERI, 2017).

Pode-se inclusive aumentar a endotoxemia, através da translocação de lipopolissacarídeo (LPS) encontrados na membrana celular externa de bactérias intestinais *gram* negativas (CANI et al., 2007), devido à permeabilidade intestinal. Este LPS circulante pode se ligar aos receptores TLR-4 (Toll-like receptor 4) dando o gatilho para a inflamação sistêmica pela ativação da via NF-kB e indução da secreção de citocinas pró-inflamatórias (NAKAMURA; OMAYE, 2012; SHI et al., 2006). No entanto, nossos resultados encontrados sobre o impacto do treinamento físico nas concentrações de LPS, não revelaram dados significativos e consistentes que comprovem que o treinamento físico possa ter contribuído com melhora da inflamação através da redução da permeabilidade intestinal.

Diversos experimentos em modelo de caquexia animal do nosso laboratório têm revelado consistentemente uma ação anti-inflamatória sistêmica e local do treinamento físico (DONATTO et al., 2013; LIRA et al., 2010, 2012) e mais

recentemente, foi verificada esta ação também em pacientes com caquexia (MATOS-NETO, 2016). Além de contribuir com a redução da inflamação sistêmica (MELO et al., 2017), o exercício pode aumentar o número de espécies benéficas microbianas, enriquecer a diversidade de microflora e melhorar o desenvolvimento de bactérias comensais (MONDA et al., 2017).

Em relação a este aspecto, verificamos que o exercício físico promoveu alterações da microbiota dos pacientes com câncer submetidos ao treinamento físico, de forma a aumentar a abundância relativa dos *Bacteroidetes* e reduzir a de *Firmicutes*, que antes de iniciar o TF apresentavam-se em uma relação considerada pró-inflamatória segundo a literatura (CANDELA et al., 2014; WEXLER, 2007), que após o TF, alterou-se de forma a atingir um percentual de *Bacteroidetes* maior do que dos *Firmicutes*. Evans et al. (2014), mostram que o exercício aumentou a porcentagem de *Bacteroidetes* e diminuiu a de *Firmicutes*, independentemente da dieta, além disso, a razão *Bacteroidetes*: *Firmicutes* correlacionou-se inversamente com o volume de exercício realizado.

Por outro lado, e diferente de nossos resultados encontrados nos pacientes com câncer, Lambert et al. (2015) mostram que o exercício aplicado a camundongos saudáveis e diabéticos, provocou alterações em cepas de *Bacteroides/ Prevotella spp.*, *Methanobrevibacter spp*. e *Clostridium* em ambos os grupos, enquanto que uma maior densidade de *Bacteroides* só foi observado em camundongos não diabéticos exercitados, indicando que a presença de diabetes anulou esse efeito.

Corroborando esses dados, ao analisar o efeito do TF em cada grupo, verificamos que WSC revelou uma maior densidade de *Bacteriodetes* do que os caquéticos em ambos os pontos de tempo (*Baseline* e semana 6). Contudo, em ambos os grupos o treinamento físico ocasionou maior densidade de *Bacteriodetes*.

Os indivíduos CC também apresentaram uma maior densidade de *Verrucomicrobia, Proteobacteria* e *Fusobacteria* do que aqueles com peso estável. Contudo, mesmo nos indivíduos com caquexia, estes filos exibem uma porcentagem muito baixa.

Segundo Sun e Kato (2016), a microbiota humana possui quatro filos dominantes: *Firmicutes*, *Bacteroidetes*, *Actinobacteria* e *Proteobacteria*. Enquanto a diversidade filogenética é alta no nível de espécie, a maioria das bactérias endógenas em adultos saudáveis pertence a apenas dois filos, *Firmicutes* e *Bacteroidetes*, que

representam mais de 90% das categorias filogenéticas conhecidas do intestino humano (HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM, 2012).

Pacientes com câncer colorretal foram caracterizados por uma redução de *Faecalibacterium* e maior abundância relativa de *Fusobacterium*, *Bacilli* e *Phascolarctobacterium*. Estes microorganismos pró-inflamatórios podem modular o microambiente tumoral, afetando o curso da progressão do câncer colorretal (CANDELA et al., 2014). Também merece ser comentado que o *Fusobacterium* referido com maior abundância relativa no câncer colorretal, foi encontrado em nossos resultados com maior abundância relativa nos pacientes com câncer e caquexia do que nos pacientes com câncer e que não apresentaram perda de peso.

Ao analisar as diferenças na composição da microbiota entre os grupos na *Baseline* do treinamento físico, as cepas mais abundantes no paciente caquético foram a *Succinivibrio dextrinosolvens*, uma espécie pertencente ao filo *Proteobacteria* e pouco relatada na literatura que, embora normalmente associada a animais, demontrou estar associada a bacteremia humana (SOUTHERN, 1975) e ao alto consumo de glicose (HERRIN; KENEALY, 1993); a *Prevotella copri*, pertencente ao filo *Bacteroidetes*, que segundo Ley (2016) é um componente conhecido do microbioma humano que está ligada a condições inflamatórias crônicas, sendo uma facilitadora da progressão da artrite reumatoide (KIM; KIM, 2016) e considerada pró-carcinogênica (CANDELA et al., 2014); a *Clostridium leptum*, pertencente ao filo *Firmicutes* e, de acordo com Kabeerdoss et al. (2013) e Vrakas et al. (2017) apresenta-se reduzida em pacientes com doença inflamatória intestinal.

No grupo WSC, a cepa com maior abundância relativa foi a *Coprococcus eutactus*, conhecida como sinal de um microbioma saudável, e cuja presença é reduzida em indivíduos com autismo (DE ANGELIS, 2013).

Em relação às diferenças entre os grupos na semana 6 do treinamento físico, identificamos que apenas a espécie *Fusobacterium mortiferum* estava presente tanto na *Baseline* como na Semana 6 do TF. As outras espécies que foram encontradas (*Cloacibacillus porcorum*, *Porphyromona endodontalis*, *Anaerocella delicata*, *Collinsella tanakaei*, *Fusobacterium nucleatum, Eubacterium coprostanoligenes) apresentaram* abundância relativa significativamente maior no CC em relação aos pacientes sem perda de peso. A bacteremia causada por *Cloacibacillus porcorum* é pouco descrita na literatura, sendo descrita como promotora da degradação da mucina do trato intestinal (LOOFT; LEVINE; STANTON, 2013). *Porphyromona endodontalis,*

Anaerocella delicata fazem parte do Filo *Bacteroidetes*; *Collinsella tanakaei* do filo Coriobacteriaceae; *Fusobacterium nucleatum* do Filo *Fusobacteria* e *Eubacterium coprostanoligenes,* do Filo *Firmicutes*.

É fundamental destacar que as mudanças promovidas na relação entre os filos *Bacteroidetes* e *Firmicutes* foram positivas, tornando o microambiente menos pró-inflamatório conforme trabalhos já mencionados.

Vale ainda destacar que pode haver contribuição para um melhor prognóstico do paciente, o fato de não terem sido encontradas as espécies *Prevotella copri* e *Clostridium leptum,* que são espécies correlacionadas com câncer e doenças inflamatórias do intestino, na semana 6 do TF; os achados na literatura sobre a espécie *Succinivibrio dextrinosolvens*, nos permitem correlacionar a sua presença na *Baseline* com o fato dos pacientes com caquexia possuírem um consumo elevado de açúcar neste momento no qual, na semana 6 do TF se agrupou àquele dos pacientes sem perda de peso. Portanto, podemos confirmar que houve alterações significativas na microbiota dos pacientes ao comparar na Baseline e semana 6.

Evidenciamos, então, que a caquexia é uma sídrome inflamatória e que apresenta um tecido intestinal inflamado e uma microbiota alterada. Pudemos confirmar que o treinamento físico foi efetivo na promoção da redução dos principais sintomas relacionados com a caquexia, bem como redução da inflamação no intestino e alteração na composição da microbiota intestinal.

Contudo, não podemos afirmar se foi o TF que provocou esta modulação, o consumo alimentar, a melhora na qualidade de vida dos pacientes ou todos os fatores juntos. Possivelmente, a alteração da microbiota intestinal pelo TF contribuiu com a modulação da resposta imune do organismo, alterando o perfil de células infiltradas na LP, promovendo a homeostase epitelial, bem como melhorando a composição corporal (melhora da massa muscular).

Não está ainda bem definido se o exercício modula a microbiota, que promove reequilíbrio do epitélio intestinal, e se esta redução da inflamação local contribui para a redução da inflamação sistêmica, ou se o exercício modula apenas a inflamação sistêmica; ou ainda, se o exercício modula apenas de forma a reduzir a inflamação do intestino e consequentemente, induzir alterações da microbiota.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Nosso estudo assim indica uma complexa interação entre fatores humorais, metabólicos e imunitários na caquexia, que pode ser favoravelmente modulada pelo treinamento físico aeróbio.

REFERÊNCIAS*[1]

AARONSON, N.; AHMEDZAI, S.; BERGMAN, B.; BULLINGER, M.; CULL, A.; DUEZ, N. The European Organization for Research and Treatment of Cancer QLQ-C30: a quality-of-life instrument for use in international clinical trials in oncology. **The Journal of the National Cancer Institute**, v. 85, p. 365–376, 1993.

ADLERBERTH, I.; WOLD, A. E. Establishment of the gut microbiota in Western infants. **Acta Paediatrica**, v. 98, n. 2, p. 229-238, 2009.

AHLUWALIA, N.; ANDREEVA, V.A.; KESSE-GUYOT, E.; HERCBERG, S. Dietary patterns, inflammation and the metabolic syndrome. **Diabetes & Metabolism**, v. 39, p. 99-110, 2013.

ALLEN JM, BERG MILLER ME, PENCE BD, WHITLOCK K, NEHRA V, GASKINS HR. Voluntary and forced exercise differentially alters the gut microbiome in C57BL/6J mice. **Journal of Applied Physiology**, v. 118, p. 1059–1066, 2015.

ALFADDA, A. A,; STORR, M. A.; SHAFFER, E. A. Eosinophilic colitis: epidemiology, clinical features, and current management. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, v. 4, n. 5, p. 301-309, 2010.

DE ANGELIS, M.; PICCOLO, M.; VANNINI, L.; SIRAGUSA, S.; DE GIACOMO, A.; SERRAZZANETTI, D.; CRISTOFORI, F.; GUERZONI, M. E.; GOBBETTI, M; FRANCAVILLA, R. Fecal microbiota and metabolome of children with autism and pervasive developmental disorder not otherwise specified. **PLoS One**., v. 8, n. 10, p. e76993, 2013.

ARENDSA, J.; BODOKY, G.; BOZZETTI, F.; FEARON, K.; MUSCARITOLI, M.; SELGAF, G.; VAN BOKHORST, M. A. E.; VAN DER SCHUERENG, D. E.; VON MEYENFELDTH, M.; ZURCHER, G.; FIETKAU, R. AULBERT, E.; FRICK, B.; HOLM, M.; KNEBA, M.; MESTROM, H. J.; ZANDER, A. ESPEN Guidelines on Enteral Nutrition: Non-surgical oncology. **Clinical Nutrition**, v. 25, p. 245–259, 2006.

ARGILES, J. M.; ALVAREZ, B.; LÓPEZ-SORIANO, F. J. The metabolic basis of cancer cachexia. **Medicinal Research Reviews**, v. 17, n. 5, p. 477-498, 1997.

ARGILES, J. M.; LÓPEZ-SORIANO, F. J.; BUSQUETS, S. Novel approaches to the treatment of cachexia. **Drug Discovery Today**, v. 13, n. 1, p. 73 – 78, 2008.

ARGILES, J. M.; OLIVAN, M.; BUSQUETS, S.; LÓPEZ-SORIANO, F. J. Optimal management of cancer anorexia-cachexia syndrome. **Cancer Management and Research**, v. 2, p. 27-38, 2010.

ARGILES, J. M.; BUSQUETS, S.; STEMMLER, B.; LÓPEZ-SORIANO, F. J. Cancer cachexia: understanding the molecular basis. **Nature Reviews Cancer**, v. 14, p. 754-762, 2014.

---

*[1]De acordo com:
ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR6023:** informação e documentação: referências: elaboração. Rio de Janeiro, 2002.

ARGILES, J. M.; STEMMLER, B.; LÓPEZ-SORIANO, F. J.; BUSQUETS, S. Nonmuscle tissues contribution to cancer cachexia. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, p. 1-9, 2015.

ARTIS, D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. nature reviews. **Immunology,** v 8, p. 411-420, 2008.

BALDWIN, C. Nutritional support for malnourished patients with cancer. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 5, n. 1, p. 29-36, 2011.

BANERJEE, A.; GERONDAKIS, S. Coordinating TLR-activated signaling pathways in cells of the immune system. **Immunology & Cell Biology**, v. 85, n. 6, p. 420-424, 2007.

BARRETO, M. L.; TEIXEIRA, M. G.; MORAIS NETO, O. L.; DUARTE, E. C. **O nascimento, a vida, o adoecimento, a morte e a atenção à saúde da população brasileira durante 20 anos de Sistema Único de Saúde: uma síntese**. 1ª edição. Brasília: Ministério da Saúde, 2009, 416 p.

BETOF, A. S.; DEWHIRST, M. W.; JONES, L. W. Effects and potential mechanisms of exercise training on cancer progression: a translational perspective. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 30, p.75-87, 2013.

BINDELS, L. B.; BECK, R. L.; SCHAKMAN, O.; MARTIN, J. C.; BACKER, F.; SOHET, F. M.; DEWULF, E. M.; PACHIKIAN, B. D.; NEYRINCK, A. M.; THISSEN, J. P.; VERRAX, J.; CALDERON, P. D.; POT, B.; GRANGETTE, C.; CANI, P. D.; SCOTT, K. P.; DELZENNE, N. M. Restoring specific lactobacilli levels decreases inflammation and muscle atrophy markersin an acute leukemia mouse model. **PLoS One**, v. 7, n. 6, p. e37971, 2012.

BINDELS, L. B.; DELZENNE, N. M. Muscle wasting: The gut microbiota as a new therapeutic target? **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 45, p. 2186-2190, 2013.

BINDELS, L. B.; NEYRINCK, A. M.; CLAUS, S. P.; ROY, C. L.; GRANGETTE, C.; POT, B.; MARTINEZ, I.; WALTER, J.; CANI, P. D.; DELZENNE, N. M. Synbiotic approach restores intestinal homeostasis and prolongs survival in leukaemic mice with cachexia. **The ISME Journal**, v. 10, p. 1456-1470, 2015.

BLUM, D.; OMLIN, A.; BARACOS, V. E.; SOLHEIM, T. S.; TAN, B.H.L.; STONE, P.; KAASA, S.; FEARON, K.; STRASSER, F. Cancer cachexia: A systematic literature review of items and domains associated with involuntary weight loss in cancer. **Critical Reviews in Oncology/Hematology**, v. 80, p. 114-144, 2011.

BOZZETTI, F. Screening the nutritional status in oncology: a preliminary report on 1,000 outpatients. **Support Care Cancer**, v. 17, p. 279-84, 2009.

BRADLEY, P. H.; POLLARD, K. S. Proteobacteria explain significant functional variability in the human gut microbiome. **Microbiome**, v. 5, n. 36, p. 1-23, 2017.

BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE - CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE, COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA. **Resolução Nº466/2012**, 12 de dezembro de 2012, 2012.

BECKER P, CARNEY LN, CORKINS MR, MONCZKA, J.; SMITH, E.; SMITH, S. E.; SPEAR, B. A.; WHITE, J. V. Academy of Nutrition and Dietetics; American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. Consensus statement of the Academy of Nutrition and Dietetics/ American Society for Parenteral and Enteral Nutrition: indicators recommended for the identification and documentation of pediatric malnutrition (undernutrition). **Nutrition in Clinical Practice**, v. 30, n. 1, p. 147-161, 2015.

BILSKI, J.; MAZUR-BIALY, A.; BRZOZOWSKI, B.; MAGIEROWSKI, M.; ZAHRADNIK-BILSKA, J.; WOJCIK, D.; MAGIEROWSKA, K.; KWIECIEN, S.; MACH, T.; BRZOZOWSKI, T. Can exercise affect the course of inflammatory bowel disease? Experimental and clinical evidence. **Pharmacological Reports**, v. 68, n. 4, p. 827-836, 2016.

BRESTOFF, JR.; ARTIS, D. Commensal bacteria at the interface of host metabolism and the immune system. **Nature Immunology**, v. 14, p. 676-684, 2013.

BRUGGEMAN, A. R.; KAMAL, A. H.; LEBLANC, T. W.; MA, J. D.; BARACOS, V. E.; ROELAND, E. J. Cancer Cachexia: Beyond Weight Loss. **Journal of Oncology Practice**, v. 12, n. 11, p. 1163-1171, 2016.

CANDELA, M.; TURRONI, S.; BIAGI, E.; CARBONERO, F.; RAMPELLI, S.; FIORENTINI, C.; BRIGIDI, P. Inflammation and colorectal cancer, when microbiota-host mutualism breaks. **World Journal of Gastroenterology**, v. 20, n. 4, p. 908-922, 2014.

CANI, P.D.; NEYRINCK, A.M; FAVA, F.; KNAUF, C.; BURCELIN, R. G.; TUOHY, K. M.; GIBSON, G. R.; DELZENNE, N. M. Selective increases of bifidobacteria in gut microflora improve high-fat-diet-induced diabetes in mice through a mechanism associated with endotoxaemia. **Diabetologia**, v. 50, n. 11, p. 2374-2383, 2007.

CANI, P. D.; DELZENNE, N. M. Interplay between obesity and associated metabolic disorders: new insights into the gut microbiota. **Current Opinion in Pharmacology**, v. 9, p. 737–743, 2009.

CANI, P. D.; OSTO, M.; GEURTS, L.; EVERARD, A. Involvement of gut microbiota in the development of low-grade inflammation. **Gut Microbes**, v. 3, n. 4, p. 279-288, 2012.

CARO, M. M. M.; LAVIANO, A.; PICHARD, C. Nutritional intervention and quality of life in adult oncology patients. **Clinical Nutrition**, v. 26, p. 289–301, 2007.

CARVALHO, A. T. P.; ELIA, C. C. S.; DE SOUZA, H. S. P.; ELIAS, P. R. P.; PONTES, E. L.; LUKASHOK, H. P.; DE FREITAS, F. C. D.; LAPA E SILVA, J. R.

Immunohistochemical study of intestinal eosinophils in inflammatory bowel disease**.** **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 36, n. 2, p. 120-125, 2003.

CERDÁ, B.; PÉREZ, M.; PÉREZ-SANTIAGO, J. D., TORNERO-AGUILERA, J. F.; GONZÁLEZ-SOLTERO, R. AND MAR LARROSA. Gut Microbiota Modification: Another Piece in the Puzzle of the Benefitsof Physical Exercisein Health? REVIEW published. **Frontiers in Physiology**, v. 2016 doi: 10.3389/fphys.2016.00051.

CHANG, P. V.; HAO, L.; OFFERMANNS, S.; MEDZHITOV, R. The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States**, v. 111, n. 6, p. 2247-2252, 2014.

CHATENOUD, L.; LA VECCHIA, C.; FRANCESCHI, S.; TAVANI, A.; JACOBS, D.R.; PARPINEL, M.; SOLER, M.; NEGRI, E. Refined-cereal Intake and risk of selected cancers in Italy. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 70, p. 1107-1110, 1999.

CHEN, H. I.; HSIEH, S. Y.; YANG, F. L.; HSU, Y. H.;LIN, C. C. Exercise training attenuates septic responses in conscious rats. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 39, n. 3, p. 435-442, 2007.

CHENG, M.; QIAN, L.; SHEN, G.; BIAN, G.; XU, T.; XU, W.; SHEN, G.; HU, S. Microbiota modulate tumoral immune surveillance in lung through a gdT17 Immune Cell-Dependent Mechanism. **Cancer Research,** v. 74, n. 15, p. 4030, 4041, 2014.

COZON, G.J. Iron deficiency and digestive disorders. **Transfusion Clinique et Biologique**, v. 21, n. 4-5, p. 189-192, 2014.

COMMITTEE ON MEDICAL ASPECTS OF FOOD AND NUTRITION POLICY. **Nutritional Aspects of the Development of Cancer. Report of the Working Group on Diet and Cancer of the Committee on Medical Aspects of Food and Nutrition Policy**. London: The Stationery Office; 1998.

COOK, M. D.; ALLEN, J. M.; PENCE, B. D.; WALLIG, M. A.; GASKINS, H. R.; WHITE, B. A.; WOODS, J. A. Exercise and gut immune function: evidence of alterations in colon immune cell homeostasis and microbiome characteristics with exercise training. **Immunology and Cell Biology**, v. 94**,** p. 158-163, 2016.

CRAWFORD, J. Clinical results in cachexia therapeutics. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care,** v. 19, n. 3, p. 199-204, 2016.

DEWYS, W. D. Anorexia in Cancer Patients. **Cancer Research**, v. 37, p. 2354-2358, 1977.

DEUTZ, N. E. P.; BAUER, J. M.; BARAZZONI, R.; BIOLO, G.; BOIRIE, Y.; BOSY-WESTPHAL, A.; CEDERHOLM T.; CRUZ-JENTOFT, A.; KRZNARIÇI, Z.; NAIR, K. S.; SINGER, P.; TETA, D.; TIPTONM, K.; CALDER, P. C. Protein intake and exercise for optimal muscle function with aging: Recommendations from the ESPEN Expert Group. **Clinical Nutrition**, 33, p. 929-936, 2014.

DIMEO, F. C.; TILMANN, M. H. M.; BERTZ, H.; KANZ, L.; MERTELSMANN, R.; KEUL, J. Aerobic exercise in the rehabilitation of cancer patients after high dose chemotherapy and autologous peripheral stem cell transplantation. **Cancer**, v. 79, n. 9, p. 1717-1722, 1997.

DON, B. R.; KAYSEN, G. Serum albumin: relationship to inflammation and nutrition. **Seminars in Dialysis,** v. 17, n. 6, p. 432-437, 2004.

DONATTO, F. F.; NEVES, R. X.; ROSA, F. O.; CAMARGO, R. G.; RIBEIRO, H.; MATOS-NETO, E. M.; SEELAENDER, M. Resistance exercise modulates lipid plasma profile and cytokine content in the adipose tissue of tumour-bearing rats. **Cytokine,** v. 61, n. 2, p. 426-432, 2013.

DONOHOE, C. L.; RYAN, A. M.; REYNOLDS, J. V. Cancer cachexia: mechanisms and clinical implications. **Gastroenterology Research and Practice**, v. 2011, p. 1-13, 2011.

DU, Y.; MENG, Y.; LV, X.; GUO, L.; WANG, X.; SU, Z.; LI, L.; LI, N.; ZHAO, N.; ZHAO, L.; ZHAO, X. Dexamethasone attenuates LPS-induced changes in expression of urea transporter and aquaporin proteins, ameliorating brain endotoxemia in mice. **International Journal of Clinical and Experimental Pathology**, v. 7, n. 12, p. 8443-8452, 2014.

DZUTSEV, A.; BADGER, J. H.; PEREZ-CHANONA, E.; ROY, S.; SALCEDO, R.; SMITH, C. K.; TRINCHIERI, G. Microbes and Cancer. **Annual Review of Immunology**, v. 35, p. 199-228, 2017.

ESCAMILLA, D.M.; JARRETT, P. The impact of weight loss on patients with cancer. **Nursing Times**, v. 112, n. 11, p. 20-22, 2016.

ESPER, D. H.; HARB, W.A. The cancer cachexia syndrome: a review of metabolic and clinical manifestations. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 20, n. 4, p. 369-376, 2005.

ERNST, M. THIEM, S.; NGUYEN, P. M.; EISSMANN, M.; PUTOCZKI, T. L. Epithelial gp 130/Stat3 functions: An in test in al signaling node in health and disease. **Seminars in Immunology**, v. 26, n. 1, p. 29-37, 2014.

EVANS, W. J; MORLEY, E. J.; ARGILÉS, J.; BALES, C.; BARACOS, V.; GUTTRIDGE, D.; JATOI, A.; KALANTAR-ZADEH, K.; LOCHS, H.; MANTOVANI, G.; MARKS, D.; MITCH, W. E.; MUSCARITOLI, M.; NAJAND, A.; PONIKOWSKI, P.; FANELLI, F. R.; SCHAMBELAN, M.; SCHOLS, A.; SCHUSTER, M.; THOMAS, D.; WOLFE, R.; ANKER, S. D. Cachexia: a new definition. **Clinical Nutrition**, v. 27, n. 6, p. 793-799, 2008.

EVANS, C. C.; LEPARD, K. J.; KWAK, J. W.; STANCUKAS, M. C.; LASKOWSKI, S.; DOUGHERTY, J.; MOULTON, L.; GLAWE, A.; WANG, Y.; LEONE, V.; ANTONOPOULOS, D. A.; SMITH, D.; CHANG, E. B.; CIANCIO, M. J.. Exercise prevents weight gain and alters the gut microbiota in a mouse model of high fat diet-induced obesity. **PLoS ONE**, v. 9, n. 3. p. e92193, 2014.

EVERARD, A.; CANI, P. D. Diabetes, obesity and gut microbiota. **Best Practice & Research Clinical Gastroenterology**, v. 27 p. 73-83, 2013.

EZEOKE, C. C.; MORLEY, J. E. Pathophysiology of anorexia in the cancer cachexia syndrome. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 6, p. 287-302, 2015.

FAYERS P. M.; AARONSON, N. K.; BJORDAL, K.; GRØNVOLD, M.; ORCID L.; CURRAN, D.; BOTTOMLEY, A. **EORTC QLQC30 Scoring Manual**, 3rd ed. Belgium, 2001.

FAYERS, P.; BOTTOMLEY, A. Quality of life research within the EORTC: the EORTC QLQ-C30. **European Journal of Cancer**, v. 38, n. 4, p. 125-133, 2002.

FEARON, K.C.; MOSES, A.G. Cancer cachexia**. International Journal of Cardiology**, v. 85, n. 1, p. 73-81, 2002.

FEARON, K.; STRASSER, F.; ANKER, S.; BOSAEUS, I.; BRUERA, E.; FAINSINGER, R. L.; JATOI, A.; LOPRINZI, C.; MACDONALD, N.; MANTOVANI, G.; DAVIS, M.; MUSCARITOLI, M.; OTTERY, F.; RADBRUCH, L.; RAVASCO, P.; WALSH, D.; WILCOCK, A.; KAASA, S.; BARACOS, V. E. Definition and classification of cancer cachexia: an international consensus. **Lancet Oncology**, v. 12, n. 5, p. 489-95, 2011.

FEARON, K. C. H.; GLASS, D. J.; GUTTRIDGE, D. C. Cancer cachexia: mediators, signaling, and metabolic pathways. **Cell Metabolism**, v. 16, n. 2, p. 153-66, 2012.

FEARON, K.; ARENDS, J.; BARACOS, V. Understanding the mechanisms and treatment options in cancer cachexia. **Nature Reviews Clinical Oncology**, v. 10, n. 2, p. 90-99, 2013.

FEARON, K. C. H.; ARGILES, J. M.; BARACOS, V. E.; BERNABEI, R.; COATS, A. J. S.; CRAWFORD, J.; DEUTZ, N. E.; DOEHNER, W.; EVANS, W. J.; FERRUCCI, L.; GARCIA, J. M.; GRALLA, R. J.; JATOI, A.; KALANTAR-ZADEH, K.; LAINSCAK, M.; MORLEY, J. E.; MUSCARITOLI, M.; POLKEY, M. I.; ROSANO, G.; ROSSI-FANELLI, F.; SCHOLS, A. M.; STRASSER, F.; VELLAS, B.; VON HAEHLING, S.; ANKER, S. D. Request for regulatory guidance for cancer cachexia intervention trials. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 6, p. 272–274, 2015.

FERNÁNDEZ, E.; GALLUS, S.; LA VECCHIA, C. Nutrition and cancer risk: an overview. **The journal of the British Menopause Society**, v. 12, n. 4, p. 139-142, 2006.

FISBERG, R. M.; MARCHIONI, D. M. L. **Manual de avaliação do consumo alimentar em estudos populacionais: a experiência do inquérito de saúde em São Paulo (ISA).** São Paulo. Editora da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo, 2012, 197 p.

FLINT, T.R.;JANOWITZ, T.;CONNELL, C. M.;ROBERTS, E. W.;DENTON, A. E.;COLL, A. P.; JODRELL, D. I.; FEARON, D. T. Tumor-Induced IL-6 Reprograms Host metabolism to Suppress Anti-tumor Immunity. **Cell Metabolism**, v. 24, n. 5, p. 672-68, 2016.

FOX, K. M.; BROOKS, J. M.; GANDRA, S. R.; MARKUS, R.; CHIOU, C. F. Estimation of cachexia among cancer patients based on four definitions. **Journal of Oncology**, v. 2009, p. 1-9, 2009.

FREIER, T. A.; BEITZ, D. C.; LI, L.; HARTMAN, P. A. Characterization of *Eubacterium coprostanoligenes sp. nov*., a cholesterol-reducing anaerobe. **International Journal of Systematic Bacteriology**, v. 44, n. 1, p. 137-142, 1994.

FULSTER, S.; TACKE, M.; SANDEK, A.; EBNER, N.; DOEHNER, C. T. W.; ANKER, S. D.; VON HAEHLING, S. Muscle wasting in patients with chronic heart failure: results from the studies investigating comorbidities aggravating heart failure (SICA-HF). **European Heart Journal**, v. 34, p. 512-519, 2013.

GARLAND, C. F.; GARLAND, F. C.; GORHAM, E. D. Calcium and vitamin D. Their potential roles in colon and breast cancer prevention. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 899, p. 107-119, 1999.

GLEESON, M.; BISHOP, N.C.; STENSEL, D. J.; LINDLEY, M. R.; MASTANA, S. S.; NIMMO, M. A. The anti-inflammatory effects of exercise: mechanisms and implications for the prevention and treatment of disease. **Nature Reviews Immunology**, v. 11, n. 9, p. 607-615, 2011.

GOLDSZMID, R. S.; TRINCHIERI, G. The price of immunity. **Nature Immunology**, v. 13, p. 932–938, 2012.

GOLDSZMID, R. S.; DZUTSEV, A.; TRINCHIERI, G. Host Immune Response to Infection and cancer: Unexpected Commonalities. **Cell Host & Microbe**, v. 15, n. 3, p. 295-305, 2014.

GOODRICH, J. K.; WATERS, J. L.; POOLE, A. C.; SUTTER, J. L.; KOREN, O.; BLEKHMAN, R.; BEAUMONT, M.; TREUREN, W. V.; KNIGHT, R.; BELL, J. T.; SPECTOR, T. D.; CLARK, A. G.; LEY, R. E. Human Genetics Shape the Gut Microbiome. **Cell**, v. 159, p. 789–799, 2014.

GRONBACH, K.; FLADE, I.; HOLST, O.; LINDNER, B.; RUSCHEWEYH, H. J.; WITTMANN, A.; MENZ, S.; SCHWIERTZ, A.; ADAM, P.; STECHER, B.; JOSENHANS, C.; SUERBAUM, S.; GRUBER, A. D.; KULIK, A.; HUSON, D.; AUTENRIETH, I. B.; FRICK, J. S. Endotoxicity of lipopolysaccharide as a determinant of T-CellL - mediated colitis induction in mice. **Gastroenterology,** v. 146, n. 3, p. 765-775, 2014.

GUERRA, M. R.; GALLO, C. V. M.; AZEVEDO, G.; MENDONÇA, S. The risk of cancer in Brazil: tendencies and recent epidemiologic studies. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 51, n. 3, p. 227-234, 2005.

GRAUL, A. I.; STRIGER, M.; SORBERA, L. Cachexia. **Drugs of Today**, v, 52, n. 9, p. 519-529, 2016.

HAN, J.; ANTUNES, L. C. M.; FINLAY, B. B.; BORCHERS, C. H. Metabolomics: towards understanding host–microbe interactions. **Future Microbiology**, v. 5, n. 2, p. 153-161, 2010.

HOFFMANN, R. Pobreza, insegurança alimentar e desnutrição no Brasil. **Estudos Avançados**, v. 9, n. 24, p. 159-172, 1995.

HOGENOVÁ, H. T.; STĚPÁNKOVÁ, R.; KOZÁKOVÁ, H.; HUDCOVIC, T.; VANNUCCI, L.; TUCKOVÁ, L.; ROSSMANN, P.; HRNCÍR, T.; KVERKA, M.; ZÁKOSTELSKÁ, Z.; KLIMESOVÁ, K.; PRIBYLOVÁ, J.; BÁRTOVÁ, J.; SANCHEZ, D.; FUNDOVÁ, P.; BOROVSKÁ, D.; SRUTKOVÁ, D.; ZÍDEK, Z.; SCHWARZER,, M.; DRASTICH, P.; FUNDA, D. P. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 8, n. 2, p. 110-120, 2011.

HOOPER, L. V.; LITTMAN, D. R.; MACPHERSON, A. J. Interactions between the microbiota and the immune system. **Science**, v. 336, n. 6086, p. 1268-1273, 2012.

HU, W. H.; CHEN, H. H.; LEE, K. C.; LIU, L.; EISENSTEIN, S.; PARRY, L.; COSMAN, B.; RAMAMOORTHY, S. Assessment of the addition of hypoalbuminemia to ACS-NSQIP surgical risk calculator in colorectal cancer. **Medicine**, v. 95, n. 10, p. e2999, 2016.

HUHMANN, M. B.; CUNNINGHAM, R. S. Importance of nutritional screening in treatment of CA weight loss. **Lancet Oncology**, v. 6, p. 334-343, 2005.

HUMAN MICROBIOME PROJECT CONSORTIUM. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. **Nature**, v. 486, p. 207-214, 2012.

HVAS, C. L.; KELSEN, J.; AGNHOLT, J.; HOLLSBERG, P.; TVEDE, M.; MOLLER, J. K.; DAHLERUP, J. F. Crohn's disease intestinal CD4+ T cells have impaired interleukin-10 production which is not restored by probiotic bacteria. **Scandinavian Journal of Gastroenterology**, v. 42, n. 5, p. 592-601, 2007.

INSTITUTE OF MEDICINE. **Dietary reference intakes; the essential guide to nutriente requirements**. Washington (DC), National Academy Press, 2006.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Coordenação de Prevenção e Vigilância. **Estimativa 2016 Incidência de Câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, 2015.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (BRASIL). Coordenação Geral de Gestão Assistencial. Hospital do Câncer I. Serviço de Nutrição e Dietética. **Consenso Nacional de Nutrição Oncológica**. Rio de Janeiro, 2011.

JEEJEEBHOY, K. N. Malnutrition, fatigue, frailty, vulnerability, sarcopenia and cachexia: overlap of clinical features. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 15, p. 213-219, 2012.

JIANG, Y.; YINGJIAN; LIN, J.; ZHANG, D.; YU, Z.; LI, Q.; JIANG, J.; LI, J. Bacterial Translocation Contributes to Cachexia and Its Possible Pathway in Patients With Colon Cancer. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 48, n. 2, p. 131-137, 2014.

JOHNS, N.; STEPHENS, N. A.; FEARON, K. C. H. Muscle wasting in cancer. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 45, p. 2215-2229, 2013.

JORGE, M. L. M. P.; OLIVEIRA, V. N.; RESENDE N. M.; PARAISO, L. F.; CALIXTO, A.; DINIZ, A. L. D.; RESENDE, E. S.; ROPELLE, E. R.; CARVALHEIRA, J. B.; ESPINDOLA, F. S.; JORGE, P. T.; GELONEZE, B. The effects of aerobic, resistance, and combined exercise on metabolic control, inflammatory markers, adipocytokines, and muscle insulin signaling in patients with type 2 diabetes mellitus. **Metabolism: Clinical and Experimental**, v. 60, n. 9, p. 1244-1252, 2011.

KABEERDOSS, J.; SANKARAN, V.; PUGAZHENDHI, S.; RAMAKRISHNA, B. S. *Clostridium leptum* group bacteria abundance and diversity in the fecal microbiota of patients with inflammatory bowel disease: a case-control study in India. **BMC Gastroenterology**, v. 13, n. 20, p. 1-8, 2013.

KASAPIS, C.; THOMPSON, P. D. The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: a systematic review. **Journal of the American College of Cardiology**; v. 45, p. 1563-1569, 2005.

KASPAR, F.; JELINEK, H. F.; PERKINS, S.; AL-AUBAIDY, H. A.; DEJONG, B.; BUTKOWSKI, E. Acute-PhaseInflammatory response to single-bout hIIT and endurance training: a comparative study. **Mediators of Inflammation**, v. 2016, p. 1-6, 2016.

KILLGORE, W. D. S.; YURGELUN-TODD, D. A. Developmental changes in the functional brain responses of adolescents to images of high and low calorie foods. **Developmental Psychobiology**, v. 47, n. 4, p. 377-397, 2005.

KIM, D.; KIM, W. U. Can *Prevotella copri* be a causative pathobiont in rheumatoid arthritis? **Arthritis Rheumatology**, v. 68, n. 11, p. 2565-2567, 2016.

KLINE, G. M.; PORCARI, J. P.; HINTERMEISTER, R.; FREEDSON, P. S.; WARD, A.; MACCARRON, R. F.; ROSS, J.; RIPPE, J. M. Estimation of VO2max from a one-mile track walk, gender, age, and body weight. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 19, n. 3, p. 253-259, 1987.

KLEIN, G. L.; PETSCHOW, B. W.; SHAW, A. L.; WEAVER, E. Gut barrier dysfunction and microbial translocation in cancer cachexia: a new therapeutic target. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, v. 7, n. 4, p. 361-367, 2013.

KOICHI, T.; SHINJI, A.; FUMIO, I.; HIROSHI, T.; KOICHI, M.; TOSHIYUKI, H.; NOBUYUKI, K.; TAKUMA, Y.; KOZO, Y.; YUICHI, T.; OSAMU, H.; YUICHIRO, T.; KEISUKE, A.; YOUNG, H. K.; SOICHIRO, Y.; HIROSHI, T.; KEISUKE, T.; YASUO, O.; KENJI, E.; KOSHIRO, W. Quality of life and survival survey of cancer cachexia in advanced non-small cell lung cancer patients-Japan nutrition and QOL survey in

patients with advanced non-small cell lung cancer study. **Support Care Cancer**, v. 24, p. 3473-3480, 2016.

KONISHI, M.; ISHIDA, J.; VON HAEHLING, S.; ANKER, S. D.; SPRINGER, J. Nutrition in cachexia: from bench to bedside. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 7, n. 2, p. 107-109, 2016.

KOWATA, C. H.; BENEDETTI, G. V.; TRAVAGLIA, T.; ARAÚJO, E. J. A. Fisiopatologia da caquexia no câncer: uma revisão. **Arquivos de Ciências da Saúde da UNIPAR**, v.13, n.3, p.267-272, 2009.

KRÜGER, K.; MOOREN, F. C.; PILAT, C. The immunomodulatory effects of physical activity. **Current Pharmaceutical Design**, v. 22, n. 24, p. 3730- 3748, 2016.

LAMBERT, J. E.; MYSLICKI, J. P.; BOMHOF, M. R.; BELKE, D. D. SHEARER, J.; REIMER, R. A. Exercise training modifies gut microbiota in normal and diabetic mice. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 40, n. 7, p. 749-752, 2015.

LAVIANO, A.; SEELAENDER, M.; LARA, K. S.; GIOULBASANIS, I.; MOLFINO, A.; FANELLI, F. R. Beyond anorexia-cachexia. Nutrition and modulation of cancer patients' metabolism: Supplementary, complementary or alternative anti-neoplastic therapy? **European Journal of Pharmacology**, v. 668, n. 1, p. S87-S90, 2011.

LEEB, S. N.; VOGL, D.; GUNCKEL, M.; KIESSLING, S.; FALK, W.; KE, M. G.; SCHOLMERICH, J.; GELBMANN, C. M.; ROGLER, G. Reduced migration of fibroblasts in inflammatory bowel disease: Role of inflammatory mediators and focal adhesion kinase. **Gastroenterology**, v. 125, p. 1341-1354, 2003.

LEY, R. E.; TURNBAUGH, P. J.; KLEIN, S.; GORDON, J. I. Microbial ecology. Human gut microbes associated with obesity. **Nature**, v. 444, p. 1022-1023, 2006.

LEY, R. E. Obesity and the human microbiome. **Current opinion in gastroenterology**, v. 26, n. 1 p. 5-11, 2010.

LEY, R.E. Gut microbiota in 2015: Prevotella in the gut: choose carefully. **Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology**, v. 13, n, 2, p. 69-70, 2016.

LIEDMAN, B.; SVEDLUND, J.; SULLIVAN, M.; LARSSON, L.; LUNDELL, L. Symptom control may improve food intake, body composition, and aspects of quality of life after gastrectomy in cancer patients. **Digestive Diseases and Sciences**, v. 46, n. 12, p.2673-2680, 2001.

LIPINA, C.; HUNDAL, H, S. Lipid modulation of skeletal muscle mass and function. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 8, n. 2, p. 190–201, 2016.

LIRA, F.S.; ROSA, J.C.; YAMASHITA, A.S.; KOYAMA, C.H.; BATISTA JR., M.L.; SEELAENDER, M. Endurance training induces changes in il-10 and tnf-alpha levels in rat adipose tissue. **Cytokine**, v. 45, n. 2, p. 80-85, 2009.

LIRA, F. S.; YAMASHITA, A. S.; CARNEVALI JR., L. C.; GONÇALVES, D. C.; LIMA, W. P.; ROSA, C.; CAPERUTO, E. C.; ROSA, L. F. C.; SEELAENDER, M. Exercise Training Reduces PGE(2) Levels and Induces Recovery from Steatosis in Tumor-bearing Rats. **Hormone and Metabolic Research,** v. 42, n. 13, p. 944-949, DEC 2010.

LIRA, F. S.; YAMASHITA, A. S.; ROSA, C; KOYAMA, C. H.; CAPERUTO, E. C.; BATISTA JR., M. L.; SEELAENDER, M. Exercise training decreases adipose tissue inflammation in cachectic rats. **Hormone and Metabolic Research**, v. 44, n. 2, p. 91-108, 2012.

LIRA, F. S.; NETO, J. C. R; SEELAENDER, M. Exercise training as treatment in cancer cachexia. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism,** v. 39, n. 6, p. 679-86, 2014.

LISA, M. Diagnostic criteria for cancer cachexia data versus dogma. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care,** v. 19, n. 3, p. 188-198, 2016.

LIU, W; PARK, YM; HOLSCHER, HD; PADILLA, J; SCROGGINS, RJ; WELLY, R; BRITTON, SL; KOCH, LG; VIEIRA-POTTER, VJ; SWANSON, KS. Physical Activity Differentially Affects the Cecal Microbiota of Ovariectomized Female Rats Selectively Bred for High and Low Aerobic Capacity. **PLoS One**, v. 10, n. 8, 2015.

LIU, W.; HU, D.; HUO, H.;, ZHANG, W.; ADILIAGHDAM, F.; MORRISON, S.; RAMIREZ, J. M.; GUL, S. S.; HAMARNEH, S. R.; HODIN, R. A. Intestinal alkaline phosphatase regulates tight junction protein levels. **American College of Surgeons**, v 222, n. 6, p. 1009-1017, 2016.

LOOFT, T.; LEVINE, U. Y.; STANTON, T. B. *Cloacibacillus porcorum sp. nov*., a mucin-degrading bacterium from the swine intestinal tract and emended description of the genus Cloacibacillus. **International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology**, v. 63, n. 6, p; 1960-1966, 2013..

MARGARSON MP, SONI N. Serum albumin: touchstone or totem? **Anaesthesia**, v. 53, p. 789-803, 1998.

MARTIN, L. Diagnostic criteria for cancer cachexia: data versus dogma. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care,** v. 19, n 0, 2016

MARTIN, L.; SENESSE, P.; GIOULBASANIS, I.; ANTOUN, S.; BOZZETTI, F.; DEANS, C.; STRASSER, F.; THORESEN, L.; JAGOE, R. T.; CHASEN, M.; LUNDHOLM, K.; BOSAEUS, I.; FEARON, K. H.; BARACOS, V. E. Diagnostic criteria for the classification of cancer-associated weight loss. **Journal of Clinical Oncology**, v. 33, n. 1, p. 90-109, Jan 2015

MASTERSON, J. C.; MCNAMEE, E. N.; FILLON, S. A.; HOSFORD, L.; HARRIS, E.; FERNANDO, S. D.; JEDLICKA, P.; IWAMOTO, R.; JACOBSEN, E.; PROTHEROE, C.; ELTZSCHIG, H. K.; COLGAN, S. P.; ARITA, M.; LEE, J. J.; FURUTA, G. T. Eosinophil-mediated signalling attenuates inflammatory responses in experimental colitis. **Gut**, v. 64, n. 8, p. 1236-1247, 2015

MATSUMOTO, M.; INOUE, R.; TSUKAHARA, T.; USHIDA, K.; CHIJI, H.; MATSUBARA, N.; HARA , H. Voluntary running exercise alters microbiota composition and increases n-Butyrate concentration in the rat cecum. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 72, n. 2, p. 572-576, 2008.

MATOS NETO, E. M. **Treinamento físico: estratégia eficaz e segura de redução da inflamação em pacientes com caquexia associada ao câncer**. 2016. 190 f. Tese (Doutorado em Ciências) - Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016.

MAURICIO, S. F.; SILVA J. B.; BERING, T.; CORREIA, M. I. T. D. Relationship between nutritional status and the Glasgow Prognostic Score in patients with colorectal cancer. **Nutrition**, v. 29, p. 625-629, 2013.

MCMILLAN, D. C. Systemic inflammation, nutritional status and survival in patients with cancer. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 12, n. 3, p. 223-226, 2009.

MELO, L. C.; DATIVO-MEDEIROS, J.; MENEZES-SILVA, C. E.; BARBOSA, F. T.; SOUSA-RODRIGUES, C. F.; RABELO, L. A. Physical Exercise on Inflammatory Markers in Type 2 Diabetes Patients: A Systematic Review of Randomized Controlled Trials. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1-10, 2017.

MONDA, V.; VILLANO, I.; MESSINA, A.; VALENZANO, A.; ESPOSITO, T.; MOSCATELLI, F.; VIGGIANO, A.; CIBELLI, G.; CHIEFFI, S.; MONDA, M.; MESSINA, G. Exercise modifies the gut microbiota with positive health effects**. Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1-8, 2017.

MORLEY, J .E.; ABBATECOLA, A. M.; ARGILES, J. M.; BARACOS, V.; BAUER, J.; BHASIN, S.; CEDERHOLM, T.; COATS, A. J. S.; CUMMINGS, S. R.; EVANS, W. J.; FEARON, K.; FERRUCCI, L.; FIELDING, R. A.; GURALNIK, J. M.; HARRIS, T. B.; INUI, A.; KALANTAR-ZADEH, K.; KIRWAN, B. A.; MANTOVANI, G.; MUSCARITOLI, M.; NEWMAN, A. B.; ROSSI-FANELLI,F.; ROSANO, G. M. C.; ROUBENOFF, R.; SCHAMBELAN, M.; SOKOL, G. H.; STORER, T. W.; VELLAS, B.; VON HAEHLING, S.; YEH, S. S.; ANKER, A. D. Sarcopenia with limited mobility: an international consensus. **Journal of the American Medical Directors Association**, v. 12, N. 6, p. 403-409, 2011.

MUSCARITOLI, M. Targeting cancer cachexia: we're on the way. **Lancet Oncology,** v. 17, n. 4, p. 414–415, 2016.

MUSCARITOLI, M.; ANKER, S. D.; ARGILÉS, J.; AVERSA, Z.; BAUER, J. M.;BIOLO, G.; BOIRIE, Y.; BOSAEUS, I; CEDERHOLM, T.; COSTELLI, P.; FEARON, K. C.; LAVIANO, A.; MAGGIO, M.; FANELLIA, ; SCHNEIDER, F. R.; SCHOLS, A.; SIEBER, C. C. Cachexia and sarcopenia-Definition and staging. **Clinical Nutrition**, v. 29, n. 2, p. 154-159, 2010.

MUSCH, M. W.; CLARKE, L. L.; MAMAH, D.; GAWENIS, L. R.; ZHANG, Z.; ELLSWORTH, W.; SHALOWITZ, D.; MITTAL, N.; EFTHIMIOU, P.; ALNADJIM, Z.; HURST, S. D.; CHANG, E. B.; BARRETT, T. A. T cell activation causes diarrhea by

increasing intestinal permeability and inhibiting epithelial Na^+/K^+-ATPase. **Journal of Clinical Investigation**, v. 110, n. 11, p. 1739–1747, 2002.

NAKAMURA, Y. K.; OMAYE, S. T. Metabolic diseases and pro- and prebiotics: mechanistic insights. **Nutrition and Metabolism**, v. 9, n. 1, p.1-9, 2012.

NATIVIDAD, J. M. M.; VERDU, E. F. Modulation of intestinal barrier by intestinal microbiota: pathological and therapeutic implications. **Pharmacological Research**, v. 69, p. 42–51, 2013.

NICHOLSON, J. K.; HOLMES, E.; KINROSS, J., BURCELIN, R.; GIBSON, G.; JIA, W.; PETTERSSON, S. Host-gut microbiota metabolic interaction. **Science**, v. 336, n. 6086, p. 1262-1267, 2012.

NICOLINI A, FERRARI P, MASONI MC, FINIC, M.; PAGANIC, S.; GIAMPIETROB, O.; CARPID, A. Malnutrition, anorexia, and cachexia, in cancer patients: a mini-review on pathogenesis and treatment. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 67, p. 807-817, 2013.

NIEMELÄ, M.; KANGASTUPA, P.; NIEMELÄ, O.; BLOIGU, R.; JUVONEN, T. Acute changes in inflammatory biomarker levels in recreational runners participating in a marathon or half-marathon. **Sports Medicine – Open,** v. 2, n; 21, p. 1-8, 2016.

NIMMO, M. A.; LEGGATE, M.; VIANA, J. L.; KING. J. A. The effect of physical activity on mediators of inflammation. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 15, n. 3, p. 51-60, 2013.

NORMAN, K.; PIRLICH, M. Gastrointestinal tract in liver disease: which organ is sick? **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 11, n. 5, p. 613-619, 2008.

OBERBACH, A.; LEHMANN, S.; KIRSCH, K.; KRIST, J.; SONNABEND, M.; LINKE, A.; TÖNJES, A.; STUMVOLL, M.; BLÜHER, M.; KOVACS, P. Long-term exercise training decreases interleukin-6 (IL-6) serum levels in subjects with impaired glucose tolerance: effect of the -174G/C variant in IL-6 gene. **European Journal of Endocrinology**, v. 159, n. 2, p. 129-136, 2008.

O'HERRIN, S. M.; KENEALY, W. R. Glucose and Carbon Dioxide Metabolism by Succinivibrio dextrinosolvens. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 748-755, 1993.

OLIVEIRA, E. P.; BURINIA, R. C. The impact of physical exercise on the gastrointestinal tract. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 12, p. 533-538, 2009.

OLIVEIRA, A. G.; CARVALHO, B. M.; TOBAR, N.; ROPELLE, E. R.; PAULI, J. R.; BAGAROLLI, R. A.; GUADAGNINI, D.; CARVALHEIRA, J. B. C.; SAAD, M. J. A. Physical exercise reduces circulating lipopolysaccharide and TLR4 activation and improves insulin signaling in tissues of DIO rats. **Diabetes**, v. 60, n. 3, p. 784-796, 2011.

OLSZAK, T.; DINGDING, A. N.; ZEISSIG, S.; VERA, M. P.; RICHTER, J.; FRANKE, A.; GLICKMAN, J. N.; SIEBERT, R.; BARON, R. M.; KASPER, D. L.; BLUMBERG, R. S. Microbial exposure during early life has persistent effects on natural killer T cell function. **Science**, v. 336, n. 6080, p. 489-493, 2012.

O'HERRIN', S. M.; KENEALY, W. R. Glucose and carbon dioxide metabolism by *Succinivibrio dextrinosolvens*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 748-755, 1993.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). Disponível em: http://www.who.int/cancer/en/. Acesso em: 20 abr. 2017.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE (OMS). **Obesity: preventing and managing the global epidemic**. Geneva; 2000. 252 p.

PATEL, H. J.; PATEL, A. H. TNF-α and cancer cachexia: Molecular insights and clinical implications. **Life Sciences**, v. 170, p. 56–63, 2017.

PEDDLE, C. J.; AU, H. J.; COURNEYA, K. S. Associations between exercise, quality of life, and fatigue in colorectal cancer survivors. **Diseases of the Colon & Rectum,** v. 51, n. 8, p. 1242-1248, 2008.

PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; FEZEU, L.; TOUVIER, M.; ARNAULT, N.; MANACH, C.; HERCBERG, S.; GALAN, P.; SCALBERT, A. Dietary intake of 337 polyphenols in French adults. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 93, n. 6, p. 1220-1228, 2011.

PETERS, P. F.; VRIES, W. R.; VANBERGE-HENEGOUWEN, G. P.; AKKERMANS, L. M. A. Potential benefits and hazards of physical activity and exercise on the gastrointestinal tract. **Gut,** v. 48, p. 435-439, 2001.

PETERSEN, A. M. W.; PEDERSEN, B. K. The anti-inflammatory effect of exercise. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, n. 4, p. 1154-1162, 2005.

PETERSON, S. J.; MOZER, M. Differentiating Sarcopenia and Cachexia Among Patients With Cancer. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 32, n.1, p. 30-39, fev., 2017.

PHILIPPI, S. T. **Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional**. São Paulo: Gráfica Coronário; 2002.

PORPORATO, P. E. Understanding cachexia as a cancer metabolism syndrome. ONCOGENESIS, V. 5, P. E200, 2016.

PUPPA, M. J.; WHITE, J. P.; SATO, S.; CAIRNS, M.; BAYNES, J. W.; CARSON, J. A. Gut barrier dysfunction in the Apc(Min/+) mouse model of colon cancer cachexia. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1812, n. 12, p. 1601-1606, 2011.

REMELY, M.; TESAR, I.; HIPPE, B.; GNAUER, S.; RUST, P.; HASLBERGER, A. G. Gut microbiota composition correlates with changes in body fat content due to weight loss. **Beneficial Microbes**, v. 6, n. 4, p. 431-439, 2015.

ROSSI, A.; GARBER, C. E.; KAUR, G.; XUE, X.; GOLDBERG, G. L.; NEVADUNSKY, N. S. Physical activity-related differences in body mass index and patient-reported quality of life in socioculturally diverse endometrial cancer survivors. **Support Care Cancer,** v. 25, n. 7, p. 2169-2177, 2017.

ROTHENBERG, M. E. Eosinophilic gastrointestinal disorders (EGID). **Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 113, n. 1, p. 11-28, 2004.

ROULIS, M.; FLAVELL, R. A. Fibroblasts and myofibroblasts of the intestinal lamina propria in physiology and disease. **Differentiation**, v. 92, n. 3, p.116-131, 2016.

ROWLAND, I.; GIBSON, G.; HEINKEN, A.; SCOTT, K.; SWANN, J.; THIELE, I.; TUOHY, K. Gut microbiota functions: metabolism of nutrients and other food components. **European Journal of Nutrition,** v. 2017, p. 1-24, 2017.

ROY, S.; TRINCHIERI, G. Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 17, n. 5, p. 271-285, 2017.

SCHAAP, L. A.; PLUIJM, S. M.; DEEG, D. J.; VISSER, M. Inflammatory markers and loss of muscle mass (sarcopenia) and strength. **American Journal of Medicine**, v. 119, p. 526, e9–17, 2006.

SAINI, A.; AL-SHANTI, N.; STEWART, C. E. Waste management - cytokines, growth factors and cachexia. **Cytokine & Growth Factor Reviews**, v. 17, n. 6, p. 475-486, 2006.

SANDEK, A.; RAUCHHAUS, M.; ANKER, S. VON HAEHLING, S. The emerging role of the gut in chronic heart failure. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 11, n. 5, p. 632- 639, 2008.

SANDEK, A.; ANKER, S. D.; HAEHLING, S. V. The gut and intestinal bacteria in chronic heart failure. **Current Drug Metabolism**, v. 10, n. 1, p. 22-28, 2009.

SARTOR, R. B. Microbial influences in inflammatory bowel diseases. **Gastroenterology**, v. 134, n. 2, p. 577-594, 2008.

HERRIN, S. M. O; KENEALY, W. R. Glucose and Carbon Dioxide Metabolism by *Succinivibrio dextrinosolvens*. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 59, n. 3, p. 748-755, 1993,

SEELAENDER, M.; BATISTA JUNIOR, M.; LIRA, F.; SILVERIO, R.; ROSSI-FANELLI, F. Inflammation in cancer cachexia: to resolve or not to resolve (is that the question?). **Clinical Nutrition**, v. 31, n. 4, p. 562-576, 2012.

SEIFI, K.; TORSHIZI, M. A. K.; RAHIMI, S.; KAZEMIFARD, M. Efficiency of early, single-dose probiotic administration methods on performance, small intestinal

morphology, blood biochemistry, and immune response of Japanese quail. **Poultry Science**, 2017 May 17. doi: 10.3382/ps/pew446.

SHI, H.; KOKOEVA, M. V.; INOUYE, K.; TZAMELI, I.; YIN, H.; FLIER. J. S. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 11, p.3015-3025,2006.

SILVA, A. C.; ALVES, R. C.; PINHEIRO, L. S. The implications of cachexia in cancer. **e-Scientia**, v. 5, n. 2, p. 49-56, 2012.

SIMRÉN, M. Physical activity and the gastrointestinal tract. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 14, n. 10, p. 1191-1321, 2002.

SLOAN, R. P.; SHAPIRO, P. A.; DEMEERSMAN, R. A.; MCKINLEY, P. S.; TRACEY, K. J.; SLAVOV, I.; FANG, Y.; FLOOD, P. D. Aerobic exercise attenuates inducible TNF production in humans. **Journal of Applied Physiology**, v.103, n.3, p.1007-11, 2007.

SHIVAPPA, N.; HÉBERT, J. R.; RASHVAND, S.; RASHIDKHANI, B.; HEKMATDOOST, A. Inflammatory potential of diet and risk of ulcerative colitis in a case–control study from Iran. **Nutrition and Cancer**, v. 68, n. 3, p. 404-409, 2016.

SOLHEIM, T. S.; FAYERS, P. M.; FLADVAD, T.; TAN, B.; SKORPEN, F.; FEARON, K.; BARACOS, V. E.; KLEPSTAD, P.; STRASSER, FD.; KAASA, S. Is there a genetic cause of appetite loss?—an explorative study in 1,853 cancer patients. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 3, p. 191-198, 2012.

SOUTHERN, E. M. Detection of specific sequences among DNA fragments separated by gel electrophoresis. **Journal of Molecular Biology**, v. 98, n. 3, p. 503-517, 1975.

SPRINGER, J.; FILIPPATOS, G.; AKASHI, Y. J.; ANKER, S. D. Prognosis and therapy approaches of cardiac cachexia. **Current Opinion in Cardiology**, v. 21, p. 229-233, 2006.

STEVES, C. J.; BIRD, S.; WILLIAMS; F. M.; SPECTOR, T. D. The microbiome and musculoskeletal conditions of aging: A review of evidence for impact and potential therapeutics. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 31, n. 2, p. 261-269, 2016.

SUK, H.; KWON, O. K.; YU, W. Preoperative quality of life in patients with gastric cancer. **Journal of Gastric Cancer**, v. 15, n. 2, p. 121-126, 2015.

SUN, J.; KATO, I. Gut microbiota, inflammation and colorectal cancer. **Genes & Diseases**, v. 3, n. 2, p. 130-143, 2016.

SUZUKI, H.; ASAKAWA, A.; AMITANI, H.; NAKAMURA, N.; INUI, A. Câncer cachexia—pathophysiologyand management. **Journal of Gastroenterology**, v. 48, n. 5, p 574-594, 2013.

UNICAMP - NEPA. **TACO - Tabela Brasileira de Composição de Alimentos**. Versão II. 2ª Ed. Disponível em: http://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_versao2.pdf.>. Acesso em: mai. 2016.

TISDALE, M. J. Mechanisms of cancer cachexia. **Physiological Reviews**, v. 89, n. 2, p. 381-410, 2009.

TISDALE, M. J. Wasting in cancer. **Journal of Nutrition**, v. 129, n. 1, p. 243S-246S, 1999.

TODOROV, P.; CARIUK, P.; MCDEVITT, T.; COLES, B.; FEARON, K.; TISDALE, M. Characterization of a cancer cachectic factor. **Nature**, v. 379, n. 6567, p. 739-742, 1996.

TRIFILETTI, A. A.; MISINO, P.; GIANNANTONI, P.; GIANNANTONI, B.; CASCINO, A.; FAZI, L.; FANELLI, F.R.; LAVIANO, A. Comparison of the performance of four different tools in diagnosing disease-associated anorexia and their relationship with nutritional, functional and clinical outcome measures in hospitalized patients. **Clinical Nutrition**, v. 32, n. 4, p. 527-532, 2012.

TRINCHIERI, G. Cancer and inflammation: an old intuition with rapidly evolving new concepts**. Annual Review of Immunology**, v. 30, p. 677-706, 2012.

TRUMBO, P.; SCHLICKER, S.; YATES, A. A.; POOS, M. Dietary reference intakes for energy, carbohydrate, fiber, fat, fatty acids, cholesterol, protein and amino acids. **Journal of the American Dietetic Association**, v. 102, n. 11, p. 1621-1630, 2002.

TURNBAUGH, P. J.; LEY, R. E.; MAHOWALD, M. A.; MAGRINI, V.; MARDIS, E. R.; GORDON, J. I. An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, v. 444, n. 7122, p.1027-1031, 2006.

TURNBAUGH, P. J.; RIDAURA, V. K.; FAITH, J. J.; REY, F. E.; KNIGHT, R.; GORDO, J. I. The effect of diet on the human gut microbiome: A metagenomic analysis in humanized gnotobiotic mice. **Science Translational Medicine**, v. 1, n. 6, p. 1-6, 2009.

UTECH, A. E.; TADROS, E. M.; HAYES T. G.; GARCIA, J. M. Predicting survival in cancer patients: the role of cachexia and hormonal, nutritional and inflammatory markers. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 3, n. 4, p. 245-251, 2012.

VARIAN, B. J.; GOURESHETTI, S.; POUTAHIDIS, T.; LAKRITZ, J. R.; LEVKOVICH, T.; KWOK, C.; TELIOUSIS, K.; IBRAHIM, Y. M.; MIRABAL, S.; ERDMAN, S. E. Beneficial bacteria inhibit cachexia. **Oncotarget**, v. 7, n. 11, p. 11803-11816, 2016.

VAUGHAN, V. C.; MARTIN, P.; LEWANDOWSKI, P. A. Cancer cachexia: impact, mechan- isms and emerging treatments. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 4, p. 95-109, 2013.

VON HAEHLING, S.; EBNER, N.; SANTOS M. R.; SPRINGER, J.; ANKER, S. D. Muscle wasting and cachexia in heart failure: mechanisms and therapies. **Nature Reviews Cardiology**, v. 14, n. 6, p. 323-341, 2017.

VRAKAS, S.; MOUNTZOURIS, K. C.; MICHALOPOULOS, G.; KARAMANOLIS, G.; PAPATHEODORIDIS, G.; TZATHAS, C.; GAZOULI, M. Intestinal bacteria composition

and translocation of bacteria in inflammatory bowel disease. **PLoS One**, v. 12, n. 1, p. e0170034, 2017.

YAMADA, S.; TOKUMOTO, M.; TATSUMOTO, N.; TSURUYA, K.; KITAZONO, T. OOBOSHI, H. Very low protein diet enhances inflammation, malnutrition, and vascular calcification in uremic rats. **Life Sciences,** v. 146, p. 117-123, Feb 2016.

ZHANG, J.; MI, L.; WANG, Y.; ZHANG, D. Detection of bacterial DNA in serum from colon cancer patients: association with cytokine levels and cachexia. **Journal of Cancer Therapeutics & Research**, v. 2012, p. 1-19, 2012.

WALL, B. A.; GALVÃO, D. A.; FATEHEE, N.; TAAFFE, D. R.; SPRY, N.; JOSEPH, D.; HEBERT, J. J.; NEWTON, R. U. Exercise Improves V [Combining Dot Above] O 2max and Body Composition in ADT-treated Prostate Cancer Patients. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 2017 Disponíel em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28319589. Acesso em: mai. 2017

WEISS, G. A.; HENNET, T. Mechanisms and consequences of intestinal dysbiosis. **Cellular and Molecular Life Sciences,** v. 2017, p. 1-19. Disponíel em: <https://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00018-017-2509-x>. Acesso em: mai. 2017.

WEXLER, H. M. Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. **Clinical Microbiology Reviews**, v. 20, n. 4, p. 593-621, 2007.

WORLD CANCER RESEARCH FUND, AMERICAN INSTITUTE FOR CANCER RESEARCH. **Food, Nutrition and the Global Prevention of Cancer: A Global Perspective**. Washington: American Institute for Cancer Research; 1997.

ANEXO

A – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

ESTUDO: Heterogeneidade do tecido adiposo na caquexia: perfil lipídico dos depósitos subcutâneo e visceral em pacientes com câncer.

Você está sendo convidado (a) a participar do Projeto de Pesquisa acima citado. O documento abaixo contém todas as informações necessárias sobre a pesquisa que estamos fazendo. Sua colaboração neste estudo será de muita importância para nós, e caso queira desistir a qualquer momento, isso não causará nenhum prejuízo a você.

Eu, _____, sexo _____, profissão_____, residente e domiciliado na_____, telefone_____, portador da Cédula de identidade, RG_____ e inscrito no CPF/MF_____, nascido (a) em ___/___/____, abaixo assinado (a), concordo de livre e espontânea vontade em participar como voluntário (a) do estudo ***"Heterogeneidade do tecido adiposo na caquexia: perfil lipídico dos depósitos subcutâneo e visceral em pacientes com câncer"***. Declaro que obtive todas as informações necessárias, bem como todos os eventuais esclarecimentos quanto às dúvidas por mim apresentadas e que irei receber uma via idêntica deste Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

Estou ciente que:

O estudo se faz necessário para que possamos investigar as possíveis causas da caquexia, caracterizada pela grande perda de peso, atrofia muscular, fadiga, fraqueza e diminuição do apetite; temos como objetivo verificar se a caquexia afeta as microestruturas do fígado e também a verificação do metabolismo hepático;

Caso o paciente aceite participar desta pesquisa e **dependendo de cada procedimento cirúrgico** efetuado, poderá ser retirados fragmentos de aproximadamente um grama por tecido **(sendo ele: adiposo subcutâneo e visceral),** com tempo total de coleta de aproximadamente 5 minutos. Esse procedimento possui grau de risco mínimo e não interfere nos procedimentos padrões da cirurgia. Mas se houver intercorrência com o (a) participante da pesquisa, decorrente da pesquisa, este será atendido no HU/USP, segundo o critério do mesmo (Hospital de atendimento secundário). Esse material coletado será importante para o entendimento da etiologia do processo da caquexia;

Concordo que serão realizadas coletas de **20 mLdesangue** em pacientes com câncer (exceto hepático), mas sem caquexia e pacientes com câncer (exceto hepático) e caquexia, para que os parâmetros plasmáticos e séricos possam ser aferidos. A coleta será realizada por um profissional da saúde devidamente habilitado e ocorrerá durante a sessão do treino. Nos pacientes controles será realizada previamente à cirurgia uma coleta de sangue (**20 ml**), sem interferir no procedimento cirúrgico, por um profissional da saúde devidamente habilitado;

( ) Sim ou ( ) Não

Essas coletas (sangue e tecido) serão realizadas apenas para este estudo e ou em outros projetos (pesquisas futuras) desde que autorizada pela Comissão de Ética deste Instituto, em nada influenciará o tratamento e não modificará o procedimento anestésico e cirúrgico;

Não vai me curar, não vai me causar nenhum problema, não haverá nenhum incômodo de dor no momento da coleta;

A participação neste projeto não tem objetivo de me submeter a um tratamento, bem como não me acarretará qualquer despesa financeira com relação aos procedimentos médicos, clínicos e terapêuticos efetuados com o estudo;

Tenho a liberdade de desistir ou de interromper a colaboração neste estudo no momento em que desejar, sem necessidade de qualquer explicação;

A desistência não causará nenhum prejuízo à minha saúde ou bem estar físico. Não virá a interferir no atendimento ou tratamento médico;

Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo, mas concordo que sejam divulgados em publicações científicas, desde que meus dados pessoais não sejam mencionados;

Concordo que o material e os dados coletados, por mim autorizados, e os resultados de análises obtidos pelos pesquisadores poderão ser utilizados em outros projetos (pesquisas futuras);

( ) Sim ou ( ) Não

Concordo que após os materiais serem coletados e armazenados em soluções específicas para cada técnica, serão acondicionados em freezer -80º para manter a integridade do tecido, e posteriormente serem utilizados;

( ) Sim ou ( ) Não

Concordo que após os materiais serem utilizados para fins de pesquisa e os objetivos serem alcançados, o restante será incinerado em local para descarte de material biológico humano, conforme preconizado nas resoluções do Conselho Nacional de Saúde (CNS);

( ) Sim ou ( ) Não

Caso eu desejar, poderei pessoalmente tomar conhecimento dos resultados ao final desta pesquisa que terá uma duração prevista de 12 a 18 meses;

( ) Desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

( ) Não desejo conhecer os resultados desta pesquisa.

"DECLARO QUE, APÓS CONVENIENTEMENTE ESCLARECIDO PELO PESQUISADOR E TER ENTENDIDO O QUE ME FOI EXPLICADO, CONSINTO EM PARTICIPAR DA PRESENTE PESQUISA".

São Paulo, _____ de_____de 20____

( ) Paciente / ( ) Responsável.....

Testemunha 1: _____

Nome / RG / Telefone:

Testemunha 2: _____

Nome / RG / Telefone:

Responsável pelo Projeto: _____

Profª Dra. Marília Cerqueira Leite Seelaender

Instituto de Ciências Biomédicas I

Telefone para contato: 3091-7225

Identificação do CEP-HU: Endereço: Av. Prof. Lineu Preste, 2565 – Cidade Universitária

CEP: 05508-000 - São Paulo – SP

Telefones: 3091-9457 – Fax: 3091-9479 - E-mail: cep@hu.usp.br

B – Recordatório alimentar de 24 horas

ID:_____ Nome:_____
Peso Inicial:_____ Estatura:_____ Idade: _____
Peso Final: _____
Telefone:
Momento: ( )T0 ( ) T1 ( )T2
Dia da semana: ( ) dom ( ) seg ( ) ter ( ) qua ( )qui ( )sex ( ) sáb

Data da entrevista: ____/____/____ Entrevistador:_____

RECORDATÓRIO ALIMENTAR DE 24 HORAS

HORÁRIO	ALIMENTO	QUANTIDADE	Marcas/ Formas de preparo	Observação
Local: Horário:				
Local: Horário:				
Local: Horário:				
Local: Horário:				
Local: Horário:				
Local: Horário:				

C – Relatório da avaliação corporal emitida pelo DEXA

LABORATÓRIO DE METABOLISMO E CÂNCER
UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO

Paciente:	[redacted]	**ID Estabelecimento:**			
Data de Nascimento:		**Médico que encaminhou:**			
Altura / Peso:		**Medido:**	19/09/2016	09:00:51	(14,10)
Sexo / Etnia:	Feminino	**Analisado:**	19/09/2016	09:06:42	(14,10)

Corpo Inteiro Custom Results

Densitometria personalizada (Análise básica)

Região [8]	BMD (g/cm²)	BMC (g)	Área (cm²)
1	1,969	370	188
2	1,018	747	734
3	0,916	139	152
4	0,875	144	164
5	1,092	439	401
6	1,124	434	386
7	1,122	2.276	2.028

Composição personalizada (Análise básica)

Região [8]	Tecido (% Gordura)	Tecido (g)	Gordo (g)	Magro (g)
1	35,8	3.819	1.368	2.450
2	45,4	40.557	18.405	22.152
3	36,4	3.137	1.142	1.995
4	37,5	3.301	1.237	2.064
5	42,4	11.768	4.987	6.781
6	41,2	12.069	4.971	7.097
7	42,4	74.707	31.712	42.995

COMENTÁRIOS:

Imagem não destinada a diagnóstico

8 -Resultados personalizados apenas para fins de pesquisa, não para aplicação clínica.

Impresso: 19/09/2016 09:06:53 (14,10)76:0,10:15,1,04:31,4 0,00-1,00 4,81x9,61
16,2:%Gordura=44,2%
0,00:0,00 0,00:0,00
Nome de arquivo: mw1rdo39oh.ntb
Modo de varredura: Padrão 0,2 µGy

GE Healthcare

Lunar DPX
NT+152513

D – Questionário de qualidade de vida - EORTC QLC-C30

EORTC QLQ-C30 (version3)

Gostaríamos de conhecer alguns pormenores sobre si e sua saúde. Responda você mesmo/a, por favor, a todas as perguntas fazendo um círculo à volta do número que melhor se aplica ao seu caso. Não há respostas certas ou erradas. A informação fornecida é estritamente confidencial.

Escreva as iniciais do seu nome: _____

A data de nascimento (dia/mês/ano): ___/___/___

A data de hoje (dia/mês/ano): ___/___/___

		Não	Um pouco	Bastante	Muito
1.	Custa-lhe fazer esforços mais violentos, por exemplo, carregar um saco de compras pesado ou uma mala?	1	2	3	4
2.	Custa-lhe percorrer uma grande distância a pé?	1	2	3	4
3.	Custa-lhe dar um pequeno passeio a pé, fora de casa?	1	2	3	4
4.	Precisa de ficar na cama ou numa cadeira durante o dia?	1	2	3	4
5.	Precisa que o ajudem a comer, a vestir-se, a lavar-se ou a ir à casa de banho?	1	2	3	4

Durante a última semana:		**Não**	**Um pouco**	**Bastante**	**Muito**
6.	Sentiu-se limitado/a no seu emprego ou no desempenho de suas atividades diárias?	1	2	3	4
7.	Sentiu-se limitado/a na ocupação habitual dos seus tempos livres ou noutras atividades de lazer	1	2	3	4
8.	Teve falta de ar?	1	2	3	4
9.	Teve dores?	1	2	3	4
10.	Precisou descansar?	1	2	3	4
11.	Teve dificuldade em dormir?	1	2	3	4
12.	Sentiu-se fraco?	1	2	3	4
13.	Teve falta de apetite?	1	2	3	4
14.	Teve enjoos?	1	2	3	4
15.	Vomitou?	1	2	3	4

Durante a última semana:		**Não**	**Um pouco**	**Bastante**	**Muito**
16.	Teve prisão de ventre?	1	2	3	4
17.	Teve diarréia?	1	2	3	4
18.	Sentiu-se cansado?	1	2	3	4
19.	As dores perturbaram suas atividades diárias?	1	2	3	4
20.	Teve dificuldade em concentrar-se, por exemplo, para ler o jornal ou ver televisão?	1	2	3	4
21.	Sentiu-se tenso(a)?	1	2	3	4
22.	Teve preocupações?	1	2	3	4
23.	Sentiu-se irritável?	1	2	3	4
24.	Sentiu-se deprimido?	1	2	3	4
25.	Teve dificuldade em lembrar-se das coisas?	1	2	3	4

26.	O seu estado físico ou tratamento médico interferiram na sua vida familiar?	1	2	3	4
27.	O seu estado físico ou tratamento médico interferiram na sua atividade social?	1	2	3	4
28.	O seu estado físico ou tratamento médico causaram-lhe problemas de ordem finaceira?	1	2	3	4

Nas perguntas que se seguem faça um círculo à volta do número, entre 1 e 7, que melhor se aplica ao seu caso

29. Como classificaria a sua saúde em geral durante a última semana?

1	2	3	4	5	6	7
péssima						ótima

30. Como classificaria a sua qualidade de vida global durante a última semana?

1	2	3	4	5	6	7
péssima						ótima

E – Questionário de qualidade de vida - EORTC QLC-STO22

EORTC QLQ-STO22

Às vezes os doentes relatam que têm os seguintes sintomas ou problemas. Por favor, indique em que medida sentiu estes sintomas ou problemas durante a semana passada. Por favor, envolva com um círculo a situação mais adequada ao seu caso.

		Não	Um pouco	Bastante	Muito
31.	Tem tido problemas ao ingerir alimentos sólidos?	1	2	3	4
32.	Tem tido problemas ao ingerir alimentos liquidificados ou moles?	1	2	3	4
33.	Tem tido problemas ao beber líquidos?	1	2	3	4
34.	Tem sentido mal-estar ao comer?	1	2	3	4
35.	Tem tido dores na região do estômago?	1	2	3	4
36.	Tem sentido mal-estar na região do estômago?	1	2	3	4
37.	Teve a sensação de barriga inchada?	1	2	3	4
38.	Tem tido problemas de acidez ou bílis que vem à boca?	1	2	3	4
39.	Tem tido indigestão ácida ou pirose?	1	2	3	4
40.	Tem tido problemas em arrotar?	1	2	3	4
41.	Sente enfartamento logo depois de começar a comer?	1	2	3	4
42.	Teve dificuldade em ter prazer nas refeições?	1	2	3	4
43.	Leva muito tempo a terminar as refeições?	1	2	3	4
44.	Sentiu a boca seca?	1	2	3	4
45.	Os alimentos e as bebidas têm tido um sabor diferente?	1	2	3	4
46.	Tem tido problemas em comer na presença de outras pessoas?	1	2	3	4
47.	Tem pensado na sua doença?	1	2	3	4
48.	Tem se preocupado com o peso demasiadamente baixo?	1	2	3	4
49.	Sentiu-se menos atraente fisicamente devido à doença e ao tratamento?	1	2	3	4
50.	Tem se preocupado com a saúde no futuro?	1	2	3	4
51.	Caiu-lhe algum cabelo	1	2	3	4
Só responda a esta pergunta se teve quedas de cabelos					
52.	Ficou preocupada com as quedas de cabelos?	1	2	3	4

F – Questionário de anorexia – FAACT-ESPEN

Nome e sobrenome:

Sexo: Data de nascimento:

Tipo de neoplasia:

Estadiamento: Terapia precedente:

Comorbidade: Primeira visita:

Perda de peso(S/N): Tamanho da perda de peso (% nos últimos 3 meses):

Peso (na hospitalização): Altura: IMC:

Como está seu apetite no último mês? Aumentado Normal Diminuído

Quantidade ingerida no almoço do dia anterior? 100% 75% 50% 25% 0%

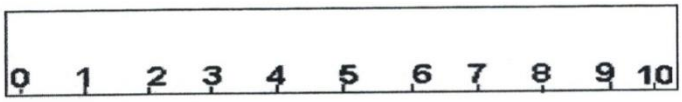
Pontuação anoréxica

	Nada	Um pouco	Moderadamente	Bastante	Muito
Meu apetite é bom?	0	1	2	3	4
A quantidade que eu como me satisfaz?	0	1	2	3	4
Me preocupo com meu peso?	0	1	2	3	4
Os alimentos têm gosto ruim?	4	3	2	1	0
Estou preocupado por parecer magro?	4	3	2	1	0
Meu apetite acaba no início das refeições?	4	3	2	1	0
Há dificuldade de comer alimentos pesados ou elaborados?	4	3	2	1	0
Minha família me induz a comer?	4	3	2	1	0
Vômitos?	4	3	2	1	0
Me sinto satisfeito após algumas mordidas?	4	3	2	1	0
Dores no estômago?	4	3	2	1	0
Minha saúde está melhorando?	0	1	2	3	4

Questionário anorexia

Saciedade precoce? Carnofobia? Alterações de gosto/odor? Náusea/vômito?

Escala analógica visual



Faminto **Saciado**

Cm:

Visita de controle (3 meses): Peso: IMC:

Terapia realizada (cirurgia/ radio/ quimio): Complicações:

G - Tabela 8 (citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento)

Tabela 8 - Expressão proteica de citocinas, quimiocinas e fatores de crescimento no plasma dos pacientes treinados.

	WSC TR	CC TR		ANOVA Valor de p	F	Variação total (%)
Citocinas						
IFNα2 (pg/ml)						
Baseline	19,01 ± 7,87	35,76 ± 18,65	**Interação**	0,667	0,1979	0,19
Semana 6	19,93 ± 6,32	31,51 ± 13,69	**Tempo**	0,7807	0,0823	0,08
			Grupo	0,4588	0,5989	5,68
IFNγ (pg/ml)						
Baseline	4,81 ± 1,06	10,09 ± 4,86	**Interação**	0,9576	0,002978	0
Semana 6	3,88 ± 061	9,03 ± 4,10	**Tempo**	0,4304	0,6751	0,42
			Grupo	0,264	1,401	11,47
IL-10 (pg/ml)						
Baseline	1,94 ± 083	2,10 ± 0,44	**Interação**	0,3892	0,8102	3,15
Semana 6	1,25 ± 0,31	2,44 ± 0,73	**Tempo**	0,7649	0,09441	0,37
			Grupo	0,3299	1,049	5,47
IL-12p40 (pg/ml)						
Baseline	12,14 ± 7,55	32,26 ± 26,04	**Interação**	0,8105	0,06059	0,02
Semana 6	12,09 ± 6,26	29,94 ± 21,48	**Tempo**	0,8018	0,06643	0,02
			Grupo	0,455	0,604	5,51
IL-12p70 (pg/ml)						
Baseline	1,99 ± 0,78	6,61 ± 4,72	**Interação**	0,6528	0,215	0,04
Semana 6	1,73 ± 0,32	5,77 ± 4,15	**Tempo**	0,3874	0,8166	0,14
			Grupo	0,3533	0,9474	8,49
IL-13 (pg/ml)						
Baseline	1,18 ± 0,64	7,62 ± 7,45	**Interação**	0,6345	0,2404	0,05
Semana 6	0,88 ± 0,44	6,31 ± 5,56	**Tempo**	0,4481	0,6234	0,14
			Grupo	0,384	0,8289	7,47
IL-15 (pg/ml)						
Baseline	0,86 ± 0,45	2,20 ± 1,26	**Interação**	0,5133	0,4594	1,56
Semana 6	0,91 ± 0,39	1,31 ± 0,77	**Tempo**	0,552	0,3789	1,29
			Grupo	0,3515	0,9548	5,51
IL-17A (pg/ml)						
Baseline	5,02 ± 4,16	1,92 ± 0,99	**Interação**	0,3932	0,7961	0,14
Semana 6	6,16 ± 5,25	1,89 ± 0,83	**Tempo**	0,4171	0,7165	0,12
			Grupo	0,4588	0,5937	5,49
IL-1ra (pg/ml)						
Baseline	8,28 ± 1,27	20,31 ± 11,49	**Interação**	0,5851	0,3182	0,13
Semana 6	8,96 ± 1,79	18,50 ± 9,09	**Tempo**	0,8019	0,06637	0,03
			Grupo	0,3174	1,107	9,56
IL-1α (pg/ml)						

Baseline	15,72 ± 7,71	29,25 ± 12,97	**Interação**	0,3967	0,7842	3,6
Semana 6	14,83 ± 4,24	120,01 ± 99,44	**Tempo**	0,4056	0,7538	3,46
			Grupo	0,2526	1,474	6,04
IL-1β (pg/ml)						
Baseline	0,82 ± 0,44	0,96 ± 0,54	**Interação**	0,7698	0,09042	0,03
Semana 6	0,72 ± 0,26	0,93 ± 0,55	**Tempo**	0,6228	0,2576	0,09
			Grupo	0,7932	0,07253	0,69
IL-2 (pg/ml)						
Baseline	1,23 ± 0,70	2,04 ± 1,68	**Interação**	0,8772	0,02515	0,01
Semana 6	1,00 ± 0,47	1,89 ± 1,30	**Tempo**	0,5134	0,4591	0,13
			Grupo	0,6058	0,284	2,68
IL-3 (pg/ml)						
Baseline	0,29 ± 0,12	0,23 ± 0,13	**Interação**	0,9082	0,01398	0,07
Semana 6	0,32 ± 0,12	0,29 ± 0,13	**Tempo**	0,7202	0,1357	0,65
IL-5 (pg/ml)						
Baseline	0,58 ± 0,13	1,93 ± 1,55	**Interação**	0,4398	0,6473	0,6
Semana 6	0,49 ± 0,08	1,21 ± 0,79	**Tempo**	0,324	1,076	1
			Grupo	0,3967	0,7839	6,48
IL-6 (pg/ml)						
Baseline	1,47 ± 0,52	50,66 ± 49,03	**Interação**	0,3061	1,103	4,81
Semana 6	3,72 ± 2,24	1,16 ± 0,37	**Tempo**	0,3515	0,9099	3,97
			Grupo	0,3493	0,9187	4,01
IL-7 (pg/ml)						
Baseline	0,61 ± 0,27	1,84 ± 1,09	**Interação**	0,8359	0,04519	0,09
Semana 6	0,41 ± 0,18	1,45 ± 0,65	**Tempo**	0,5348	0,4133	0,85
			Grupo	0,1925	1,953	12,83
IL-8 (pg/ml)						
Baseline	16,39 ± 4,43	33,45 ± 15,16	**Interação**	0,3142	1,123	6,31
Semana 6	23,89 ± 6,52	20,33 ± 3,64	**Tempo**	0,7787	0,08336	0,47
			Grupo	0,3958	0,7873	2,7
IP-10 (pg/ml)						
Baseline	1085,37 ± 194,96	1331,23 ± 261,11	**Interação**	0,3318	1,04	5,02
Semana 6	2145,73 ± 1107,03	1151,63 ± 233,92	**Tempo**	0,4854	0,5248	2,54
			Grupo	0,5256	0,4325	1,83
TNF-α (pg/ml)						
Baseline	6,09 ± 0,83	9,11 ± 1,27	**Interação**	0,3302	1,047	3,42
Semana 6	7,19 ± 2,05	7,82 ± 0,95	**Tempo**	0,9332	0,007392	0,02
			Grupo	0,2608	1,421	7,96
TNF-β (pg/ml)						
Baseline	3,41 ± 2,44	29,88 ± 28,16	**Interação**	0,3589	0,964	0,18
Semana 6	5,03 ± 2,97	24,77 ± 22,28	**Tempo**	0,6261	0,2595	0,05
			Grupo	0,4473	0,648	8,34
Quimiocinas						
IP-10 (pg/ml)						

Baseline	1085,37 ± 194,96	1331,23 ± 261,11	**Interação**	0,3318	1,04	5,02
Semana 6	2145,73 ± 1107,03	1151,63 ± 233,92	**Tempo**	0,4854	0,5248	2,54
			Grupo	0,5256	0,4325	1,83
MCP-1 (pg/ml)						
Baseline	480,60 ± 32,33	663,43 ± 160,87	**Interação**	0,6284	0,2492	0,83
Semana 6	544,67 ± 90,51	636,63 ± 101,33	**Tempo**	0,8419	0,04192	0,14
			Grupo	0,279	1,31	7,61
MIP-1α (pg/ml)						
Baseline	5,57 ± 2,37	3,60 ± 2,47	**Interação**	0,4851	0,5256	1,59
Semana 6	2,64 ± 1,67	3,11 ± 1,82	**Tempo**	0,3339	1,031	3,12
			Grupo	0,768	0,09193	0,59
MIP-1β (pg/ml)						
Baseline	23,49 ± 2,59	26,49 ± 8,89	**Interação**	0,7623	0,09662	0,11
Semana 6	22,46 ± 1,61	23,73 ± 6,46	**Tempo**	0,5113	0,4639	0,55
			Grupo	0,7837	0,07949	0,69
RANTES (pg/ml)						
Baseline	902,54 ± 269,17	1216,30 ± 415,89	**Interação**	0,8989	0,01697	0,11
Semana 6	470,29 ± 267,87	882,34 ± 274,69	**Tempo**	0,3338	1,031	6,54
			Grupo	0,1494	2,439	5,87
Fatores de crescimento						
EGF (pg/ml)						
Baseline	39,68 ± 20,11	25,74 ± 11,86	**Interação**	0,2229	1,582	7,24
Semana 6	18,83 ± 4,77	51,69 ± 28,59	**Tempo**	0,6168	0,2584	1,18
			Grupo	0,8925	0,01875	0,09
EOTAXIN (pg/ml)						
Baseline	270,88 ± 107,54	417,86 ± 129,32	**Interação**	0,9173	0,01134	0,04
Semana 6	186,13 ± 34,13	351,83 ± 95,92	**Tempo**	0,4115	0,7346	2,54
			Grupo	0,1771	2,109	10,94
G-CSF (pg/ml)						
Baseline	51,54 ± 13,58	66,26 ± 28,36	**Interação**	0,3946	0,7914	0,48
Semana 6	72,01 ± 17,58	72,96 ± 24,51	**Tempo**	0,1098	3,08	1,89
			Grupo	0,7981	0,06902	0,63
GM-CSF (pg/ml)						
Baseline	7,14 ± 1,69	15,13 ± 7,43	**Interação**	0,8	0,06771	0,07
Semana 6	7,25 ± 1,95	14,02 ± 5,59	**Tempo**	0,8354	0,04548	0,05
			Grupo	0,2761	1,327	10,45
			Grupo	0,3958	0,7873	2,7
VEGF (pg/ml)						
Baseline	263,67 ± 215,11	141,05 ± 95,47	**Interação**	0,8454	0,04007	0,2
Semana 6	293, 16 ± 244,84	100,69 ± 60,42	**Tempo**	0,9758	0,00097	0
			Grupo	0,3771	0,8545	4

Dados espressos em média ± erro-padrão. WSC TR (n=6): paciente com câncer sem perda de peso treinado e CC TR (n=6): paciente com câncer e caquexia treinado.

H – Tabela 9 (Classificação das OTUs)

Tabela 9 - Tabela de Classificação das OTUs da rede microbiana fecal dos pacientes CC TR e WSC TR.

OTU	Classificação pela taxonomia
OTU_001	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_002	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella; .copri
OTU_003	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_004	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_005	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium .prausnitzii
OTU_006	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_007	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella .stercorea
OTU_008	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales;Enterobacteriaceae
OTU_009	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides .plebeius
OTU_010	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides .uniformis
OTU_011	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_012	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_013	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_014	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Parabacteroides
OTU_015	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides .fragilis
OTU_016	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Phascolarctobacterium
OTU_017	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Phascolarctobacterium
OTU_018	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_019	Bacteria;Verrucomicrobia;Verrucomicrobiae;Verrucomicrobiales;Verrucomicrobiaceae;Akkermansia .muciniphila
OTU_020	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_021	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Acidaminococcus
OTU_022	Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Bifidobacteriales;Bifidobacteriaceae;Bifidobacterium .adolescentis
OTU_023	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_024	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia
OTU_025	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_026	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella
OTU_027	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_028	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Odoribacteraceae];Odoribacter
OTU_029	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_030	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Dialister
OTU_031	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_032	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_033	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospira
OTU_034	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae;Collinsella.aerofaciens
OTU_035	Bacteria;Fusobacteria;Fusobacteriia;Fusobacteriales;Fusobacteriaceae;Fusobacterium

OTU_036	Bacteria;Proteobacteria;Betaproteobacteria;Burkholderiales;Alcaligenaceae;Sutterella
OTU_037	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_038	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_039	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Parabacteroides
OTU_040	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_041	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Parabacteroides
OTU_042	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_043	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae
OTU_044	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_045	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_046	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_047	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_048	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_049	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella.copri
OTU_050	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_051	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;S24-7
OTU_052	Bacteria;Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae;Desulfovibrio.
OTU_053	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Porphyromonas
OTU_054	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella.stercorea
OTU_055	Bacteria;Fusobacteria;Fusobacteriia;Fusobacteriales;Fusobacteriaceae;Fusobacterium
OTU_056	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Aeromonadales;Succinivibrionaceae;Succinivibrio
OTU_057	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_058	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_059	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae];[Prevotella]
OTU_060	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_061	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_062	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_063	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_064	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pasteurellales;Pasteurellaceae;Haemophilus.parainfluenzae
OTU_065	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnobacterium
OTU_066	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_067	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospira
OTU_068	Bacteria;Cyanobacteria;4C0d-2;YS2
OTU_069	Bacteria;Proteobacteria;Betaproteobacteria;Burkholderiales;Alcaligenaceae;Sutterella
OTU_070	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales
OTU_071	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_072	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Barnesiellaceae]
OTU_073	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae
OTU_074	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_075	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_076	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_077	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia
OTU_078	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae

OTU_079	Bacteria;Proteobacteria;Betaproteobacteria;Burkholderiales;Alcaligenaceae;Sutterella
OTU_080	Bacteria;Proteobacteria;Betaproteobacteria;Burkholderiales;Alcaligenaceae;Sutterella
OTU_081	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus
OTU_082	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_083	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_084	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Veillonella.dispar
OTU_085	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Porphyromonas
OTU_086	Bacteria;Proteobacteria;Betaproteobacteria;Burkholderiales;Alcaligenaceae;Sutterella
OTU_087	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus eutactus
OTU_088	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;[Eubacterium].biforme
OTU_089	Bacteria;Fusobacteria;Fusobacteriia;Fusobacteriales;Fusobacteriaceae;Fusobacterium.
OTU_090	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;S24-7
OTU_091	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Parabacteroides distasonis
OTU_092	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella.copri
OTU_093	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_094	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_095	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;[Ruminococcus].torques
OTU_096	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_097	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Megasphaera
OTU_098	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_099	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_100	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_101	Bacteria;Synergistetes;Synergistia;Synergistales;Synergistaceae
OTU_102	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae
OTU_103	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Odoribacteraceae];Butyricimonas
OTU_104	Bacteria;Lentisphaerae;[Lentisphaeria];Victivallales;Victivallaceae
OTU_105	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Catenibacterium
OTU_106	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_107	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales;Enterobacteriaceae
OTU_108	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Odoribacteraceae];Butyricimonas
OTU_109	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;[Eubacterium].biforme
OTU_110	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Lachnospira
OTU_111	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_112	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_113	Bacteria;Fusobacteria;Fusobacteriia;Fusobacteriales;Fusobacteriaceae;Fusobacterium
OTU_114	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae
OTU_115	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_116	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides.eggerthii
OTU_117	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae];[Prevotella].
OTU_118	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus
OTU_119	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_120	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_121	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae

OTU_122	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella.copri
OTU_123	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae];Paraprevotella
OTU_124	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_125	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_126	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_127	Bacteria;Lentisphaerae;[Lentisphaeria];Z20;R4-45B
OTU_128	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Dialister
OTU_129	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_130	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_131	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;S24-7
OTU_132	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_134	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_135	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae
OTU_136	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus
OTU_137	k__Archaea;Euryarchaeota;Methanobacteria;Methanobacteriales;Methanobacteriaceae;Methanobrevibacter
OTU_138	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_139	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus
OTU_140	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_141	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_142	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea
OTU_143	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_144	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_145	Bacteria;Synergistetes;Synergistia;Synergistales;Dethiosulfovibrionaceae;Pyramidobacter.piscolens
OTU_146	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_147	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_148	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39
OTU_149	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_150	Bacteria;Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae
OTU_151	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_152	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_153	Bacteria;Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae;Bilophila
OTU_154	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae];CF231
OTU_155	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_156	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella.copri
OTU_157	Bacteria;Verrucomicrobia;Opitutae;[Cerasicoccales];[Cerasicoccaceae]
OTU_158	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae
OTU_159	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae;Collinsella
OTU_160	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea
OTU_161	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_162	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella
OTU_163	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_164	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus
OTU_165	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira

OTU_166	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Megamonas
OTU_167	Bacteria;Elusimicrobia;Elusimicrobia;Elusimicrobiales;Elusimicrobiaceae
OTU_169	Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria;RF32;
OTU_170	Bacteria;Fusobacteria;Fusobacteriia;Fusobacteriales;Fusobacteriaceae;Fusobacterium
OTU_171	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae
OTU_172	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae];Paraprevotella
OTU_173	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39;
OTU_174	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus
OTU_175	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_176	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_177	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_178	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Streptococcus
OTU_179	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales
OTU_180	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;[Eubacterium].cylindroides
OTU_181	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus
OTU_182	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Odoribacteraceae];Odoribacter
OTU_183	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea
OTU_184	Bacteria;Cyanobacteria;4C0d-2;YS2;
OTU_185	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_186	Bacteria;Synergistetes;Synergistia;Synergistales;Synergistaceae
OTU_187	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella
OTU_188	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_189	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_190	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_191	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Parabacteroides
OTU_192	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae
OTU_193	Bacteria;Lentisphaerae;[Lentisphaeria];Victivallales;Victivallaceae
OTU_194	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_195	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_196	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_197	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_198	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_199	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39;
OTU_200	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_201	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_202	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Streptococcus
OTU_203	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_204	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_205	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_206	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_207	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_209	Bacteria;Tenericutes;RF3;ML615J-28;
OTU_210	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium.prausnitzii

OTU_211	Bacteria;Cyanobacteria;4C0d-2;YS2;
OTU_212	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_213	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae
OTU_214	Bacteria;Proteobacteria;Betaproteobacteria;Burkholderiales;Alcaligenaceae;Sutterella
OTU_215	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;[Tissierellaceae];Parvimonas
OTU_216	k__Archaea;Euryarchaeota;Thermoplasmata;E2;[Methanomassiliicoccaceae];vadinCA11.
OTU_217	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Barnesiellaceae]
OTU_218	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Mitsuokella
OTU_219	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales
OTU_220	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_221	Bacteria;Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae;Desulfovibrio.D168
OTU_222	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_223	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Mitsuokella.multacida
OTU_224	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_225	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_226	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_227	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_228	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Porphyromonas.endodontalis
OTU_229	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_230	Bacteria;Lentisphaerae;[Lentisphaeria];Victivallales;Victivallaceae
OTU_231	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_232	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_233	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales
OTU_234	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_235	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_236	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae]
OTU_237	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_238	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_239	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_240	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_241	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_242	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus.mucosae
OTU_243	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_244	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_245	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_246	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_247	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Anaerostipes
OTU_248	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;S24-7
OTU_249	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_250	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae
OTU_251	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_252	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_253	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae

OTU_254	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus
OTU_255	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia
OTU_256	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_257	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39;
OTU_258	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_259	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Gemellales;Gemellaceae
OTU_260	Bacteria;Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae
OTU_261	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae
OTU_262	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_263	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae
OTU_264	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae
OTU_266	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Veillonella.parvula
OTU_267	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_268	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_269	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae;Slackia
OTU_270	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_271	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_272	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Barnesiellaceae]
OTU_273	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_274	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_275	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39;
OTU_277	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39;
OTU_278	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Dialister
OTU_279	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_281	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_282	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_283	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_285	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_286	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_287	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;cc_115
OTU_288	Bacteria;Lentisphaerae;[Lentisphaeria];Victivallales;Victivallaceae
OTU_289	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_291	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pasteurellales;Pasteurellaceae;Haemophilus.influenzae
OTU_292	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_293	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_294	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_295	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_296	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_297	Bacteria;Firmicutes;Clostridia
OTU_298	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_299	Unassigned
OTU_300	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_301	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella

OTU_302	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_303	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_304	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia
OTU_305	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_306	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_307	Unassigned
OTU_308	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_309	Bacteria;Cyanobacteria;4C0d-2;YS2;
OTU_310	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_311	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_312	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae;Clostridium
OTU_313	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales;Enterobacteriaceae
OTU_314	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_315	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_316	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_317	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_318	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_319	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_320	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;[Ruminococcus].
OTU_321	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus.flavefaciens
OTU_322	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_323	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Faecalibacterium.prausnitzii
OTU_325	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Rikenellaceae
OTU_326	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae;Adlercreutzia
OTU_327	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_328	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus
OTU_329	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Odoribacteraceae];Odoribacter
OTU_330	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_331	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_332	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_333	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_334	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Aeromonadales;Succinivibrionaceae
OTU_335	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_336	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_337	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_338	Bacteria;Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae;Desulfovibrio.
OTU_339	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_340	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Dysgonomonas.gadei
OTU_341	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_342	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Parabacteroides
OTU_343	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_344	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Anaerotruncus
OTU_346	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae

OTU_347	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_348	Bacteria;Proteobacteria;Epsilonproteobacteria;Campylobacterales;Campylobacteraceae;Campylobacter
OTU_349	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_350	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_351	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39
OTU_352	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_353	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_354	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_355	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae];[Prevotella]
OTU_356	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_357	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_358	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_359	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus
OTU_360	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Streptococcus
OTU_361	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_363	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pasteurellales;Pasteurellaceae;Aggregatibacter
OTU_364	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Bulleidia.p-1630-c5
OTU_365	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;[Mogibacteriaceae]
OTU_366	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_367	Bacteria;Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae;Desulfovibrio
OTU_368	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_369	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Odoribacteraceae];Odoribacter
OTU_370	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_371	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Dehalobacteriaceae;Dehalobacterium
OTU_372	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_373	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;[Mogibacteriaceae]
OTU_374	Bacteria;Proteobacteria;Alphaproteobacteria;RF32
OTU_375	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39
OTU_376	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_377	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_378	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_380	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_381	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_382	Bacteria;Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae;Desulfovibrio
OTU_383	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_384	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_385	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_386	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_387	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae;Eggerthella.lenta
OTU_388	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_389	Bacteria;Synergistetes;Synergistia;Synergistales;Synergistaceae
OTU_390	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus
OTU_391	Bacteria;Verrucomicrobia;Opitutae;[Cerasicoccales];[Cerasicoccaceae]

OTU_392	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Parabacteroides.distasonis
OTU_393	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Parabacteroides.distasonis
OTU_394	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_395	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_396	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae]
OTU_397	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Barnesiellaceae]
OTU_398	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Enterococcaceae
OTU_399	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Leuconostocaceae
OTU_400	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Bacteroidaceae;Bacteroides
OTU_402	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_403	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_404	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella.stercorea
OTU_406	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_407	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;[Mogibacteriaceae]
OTU_408	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_409	Bacteria;Proteobacteria;Betaproteobacteria;Burkholderiales;Oxalobacteraceae;Oxalobacter
OTU_410	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39;
OTU_412	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_413	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea
OTU_415	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_416	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_417	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;S24-7
OTU_418	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_419	Bacteria;Proteobacteria;Epsilonproteobacteria;Campylobacterales;Campylobacteraceae;Campylobacter
OTU_420	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_421	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_422	Bacteria;Lentisphaerae;[Lentisphaeria];Victivallales;Victivallaceae
OTU_424	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_425	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_426	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Barnesiellaceae]
OTU_427	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_428	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_429	Bacteria;Proteobacteria;Deltaproteobacteria;Desulfovibrionales;Desulfovibrionaceae;Bilophila
OTU_430	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Streptococcus
OTU_431	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_432	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae
OTU_433	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;[Eubacterium].dolichum
OTU_434	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_435	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_436	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae];[Prevotella]
OTU_438	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_439	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus
OTU_441	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae

OTU_442	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_444	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_445	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_446	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_447	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_448	Bacteria;Actinobacteria;Actinobacteria;Actinomycetales;Actinomycetaceae;Actinomyces
OTU_449	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Pseudomonadales;Pseudomonadaceae
OTU_450	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus
OTU_452	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_453	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptostreptococcaceae;Peptostreptococcus
OTU_455	Bacteria;Verrucomicrobia;Opitutae;[Cerasicoccales];[Cerasicoccaceae]
OTU_457	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Streptococcus
OTU_458	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_459	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptococcaceae;Peptococcus
OTU_461	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_462	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_464	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_465	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptococcaceae
OTU_466	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_467	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_468	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_469	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales
OTU_470	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_471	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae
OTU_472	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_473	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_474	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_475	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_477	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_478	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_479	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Holdemania
OTU_480	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Veillonella
OTU_481	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Odoribacteraceae];Butyricimonas
OTU_483	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_484	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_485	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae
OTU_486	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae
OTU_487	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales
OTU_488	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae;Collinsella.aerofaciens
OTU_489	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Porphyromonadaceae;Parabacteroides
OTU_490	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_491	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;[Mogibacteriaceae]
OTU_492	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea

OTU_493	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_494	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Dorea
OTU_495	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Paraprevotellaceae];[Prevotella].
OTU_496	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_498	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_499	Bacteria;Proteobacteria;Gammaproteobacteria;Enterobacteriales;Enterobacteriaceae;Proteus
OTU_500	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Streptococcaceae;Streptococcus.anginosus
OTU_501	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_502	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus.zeae
OTU_503	Bacteria;Firmicutes;Bacilli;Lactobacillales;Lactobacillaceae;Lactobacillus
OTU_504	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptococcaceae
OTU_505	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_506	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae
OTU_507	Bacteria;Actinobacteria;Coriobacteriia;Coriobacteriales;Coriobacteriaceae
OTU_508	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Blautia.producta
OTU_509	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae;Clostridium
OTU_510	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_511	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_512	Bacteria;Tenericutes;RF3;ML615J-28
OTU_513	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_514	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_515	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_516	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_517	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_518	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales
OTU_519	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;[Tissierellaceae];Anaerococcus
OTU_520	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Oscillospira
OTU_521	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_522	Bacteria;Cyanobacteria;4C0d-2;YS2
OTU_523	Bacteria;Tenericutes;Mollicutes;RF39
OTU_524	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_525	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;Bulleidia
OTU_527	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Odoribacteraceae];Butyricimonas
OTU_528	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Barnesiellaceae]
OTU_529	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_530	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;cc_115
OTU_532	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae;RFN20
OTU_533	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_534	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Megasphaera
OTU_535	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Coprococcus
OTU_536	Bacteria;Lentisphaerae;[Lentisphaeria];Victivallales;Victivallaceae
OTU_537	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_538	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus

OTU_539	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_540	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_541	Bacteria;Fusobacteria;Fusobacteriia;Fusobacteriales;Leptotrichiaceae;Leptotrichia
OTU_542	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_543	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_544	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;Anaerostipes
OTU_545	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;Prevotellaceae;Prevotella.intermedia
OTU_546	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_547	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Veillonellaceae;Megasphaera
OTU_550	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_551	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_552	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_553	Bacteria;TM7;TM7-3;;
OTU_555	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;[Mogibacteriaceae]
OTU_556	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_557	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus
OTU_558	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Anaerotruncus
OTU_559	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_560	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae;Ruminococcus.flavefaciens
OTU_562	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_563	Bacteria;Proteobacteria;Betaproteobacteria;Neisseriales;Neisseriaceae;Neisseria
OTU_565	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_566	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_567	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_568	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae
OTU_570	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae
OTU_571	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_572	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_573	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_576	k__Archaea;Euryarchaeota;Methanobacteria;Methanobacteriales;Methanobacteriaceae;Methanosphaera
OTU_578	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Christensenellaceae;Christensenella
OTU_579	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Clostridiaceae
OTU_580	Bacteria;Bacteroidetes;Bacteroidia;Bacteroidales;[Odoribacteraceae];Butyricimonas
OTU_581	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_582	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_583	Bacteria;Proteobacteria;Betaproteobacteria;Burkholderiales;Comamonadaceae
OTU_584	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales
OTU_585	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_586	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_588	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_589	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Ruminococcaceae
OTU_590	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Lachnospiraceae;[Ruminococcus].gnavus
OTU_591	Bacteria;Firmicutes;Erysipelotrichi;Erysipelotrichales;Erysipelotrichaceae

OTU_592	Bacteria;Firmicutes;Clostridia;Clostridiales;Peptococcaceae;rc4-4