Maastricht University

# Energy balance and colorectal cancer : understanding disease pathways through molecular epidemiology

Citation for published version (APA):

Simons, C. C. J. M. (2013). *Energy balance and colorectal cancer : understanding disease pathways through molecular epidemiology*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. https://doi.org/10.26481/dis.20131216cs

**Document status and date:**
Published: 01/01/2013

**DOI:**
10.26481/dis.20131216cs

**Document Version:**
Publisher's PDF, also known as Version of record

**Please check the document version of this publication:**

• A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
• The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
• The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

Link to publication

**General rights**
Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

• Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
• You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
• You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the “Taverne” license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

**Take down policy**
If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Download date: 18 Apr. 2024

# S

# SUMMARY/SAMENVATTING

Colinda CJM Simons

ENGLISH

# SUMMARY


'No two colorectal cancers are the same.'

The above concept has become clear in recent years and indicates the complexity of colorectal cancer as a disease. Here, the focus is on energy balance-related risk factors for colorectal cancer such as overweight and a low level of physical activity. This thesis shows that energy balance influences colorectal cancer risk via specific disease pathways in men and women, resulting in tumors at specific sublocalizations and with distinct molecular characteristics. Different tumor subtypes were shown to differentially influence prognosis.

An influence of indicators of energy balance, such as overweight and physical activity, on colorectal cancer risk has been shown quite convincingly in the literature. How risk differs between men and women and according to anatomical sublocalization in the colorectum is still relatively unclear, as are the disease pathways through which effects occur. We distinguished between proximal colon, distal colon, and rectal tumors, and set out to clarify associations between indicators of energy balance and the risk of colorectal cancer by anatomical sublocalization in men and women. With respect to disease pathways, we primarily investigated the insulin-like growth factor pathway (IGF) as a pathway through which energy balance potentially influences risk. The IGF pathway is a putative pathway via which energy balance influences colorectal cancer risk, because it regulates growth in the human body, and may also influence malignant growth. Blood levels of factors involved in the IGF axis have been associated with the risk of colorectal cancer and have been shown to be influenced by overweight and physical activity. It has furthermore been reported in literature that diabetics—who have gone through a state of insulin resistance and associated hyperinsulinaemia—are at an increased risk of colorectal cancer, which is likely explained by insulin stimulating the production of insulin-like growth factor-1.

*Method of study.*

All studies described in this thesis were conducted within the Netherlands Cohort Study on diet and cancer. The Netherlands Cohort Study is a large, ongoing cohort study which includes 120,852 men and women who were between 55 and 69 years old in 1986. At baseline, in 1986, all participants completed a questionnaire on dietary and other risk factors for cancer. Participants who reported a history of cancer were excluded in order to ensure all were still at risk of developing a primary cancer. The whole cohort is followed up to identify cancer cases, while a subcohort of 5,000 individuals is followed up to estimate the accumulated person-time at risk. In this thesis, 16.3 years of follow-up were used. Person-years at risk are counted until cancer incidence, death or loss-to-follow-up. The design of the Netherlands Cohort Study allows for the estimation of relative risks associated with a certain exposure.

A unique feature of the Netherlands Cohort Study is that participants were in youth during the Hunger Winter, War Years, and Economic Depression. This enabled the investigation of both ends of the energy balance spectrum by studying indicators of a larger body size in adulthood and at age 20, as well as energy restriction during youth (which may have resulted in temporary weight loss and a temporary stagnation of growth). Information was also available on (non-)occupational physical activity and sports participation.

In this thesis, a molecular epidemiological approach to studying disease pathways was possible because a large group of participants returned toenail clippings, which were originally meant for determining selenium status, but turned out to be a valuable DNA source for the genotyping of germline genetic variants. Next to toenail DNA, tumor DNA was isolated for the colorectal cancer cases that occurred in the period 1989–1993. In this tumor DNA, genetic and epigenetic types of instability were analyzed. The inclusion of molecular markers measured in tumor material in epidemiological studies is sometimes referred to as molecular pathologic epidemiology.

*Marginal associations.*

How the influence of energy balance-related factors on colorectal cancer risk differs in men and women and by anatomical sublocalization was studied in chapters 2 and 3. In **chapter 2**, it was shown that body fatness as indicated by a higher adult body mass index (weight in kilograms divided by height in metres squared), a larger trouser size, and a higher body mass index at age 20 were associated with an increased risk of distal colon cancer in men. Body fatness in women did not increase colorectal cancer risk, unless considered simultaneously with physical activity. Tallness, which may be considered a proxy for exposure to growth factors in youth, was associated with an increased risk of distal colon tumors in women but not men. Exposure to energy restriction in youth was investigated outside the chapters of this thesis, but was shown to be associated with a decrease in proximal colon cancer risk in men and rectal cancer risk in men and women (Hughes *et al.*, 2010). In **chapter 3**, physical activity was shown protective of cancer in the distal colon in men and across all tumor subsites in women. Interestingly, occupational physical activity predicted risk best in men and non-occupational physical activity predicted risk best in women. It was discussed that this is likely explained by that these particular measures reflected regular, long-term physical activity in men and women best.

*Combined effects of genes and environment.*

From the above observations, it appeared that there were differences in risk between men and women and according to anatomical sublocalization of the tumor. In **chapter 4**, in which combined effects were studied between indicators of energy balance and genetic variants in growth-regulating genes related to the IGF pathway, sex differences persisted. In this chapter, it was shown that a larger trouser size, an increased height, and the absence of energy restriction in youth in combination with carrying more unfavorable alleles was associated with an increased risk of tumors in the proximal colon (not for height) and distal colon in men but not women. The fact that associations were repeatedly in the direction as hypothesized suggested the involvement of the IGF pathway in men. In women, it was hypothesized that female reproductive hormones may counteract insulin resistance, as based on recent literature findings, rendering the IGF pathway less important. With respect to differences in risk according to sublocalization, findings of increased proximal colon cancer risks in men were noteworthy, seeing that marginal associations did not reveal these. The general absence of associations with rectal tumors might be explained by that other pathways are important with respect to developing rectal tumors. Rectal tumors, for example, are more often characterized by chromosomal instability than more proximally located colorectal cancers (see chapter 7). Possibly, this pathway is less influenced by indicators of energy balance.

In the above analyses of combined effects of energy balance and genetic variants on colo-

rectal cancer risk, the number of unfavorable alleles, as based on literature, with respect to 18 different single nucleotide polymorphisms (SNPs) in 9 genes related to the IGF pathway were summed into a sum score and divided into tertiles. This approach provided optimal power and integrated information across genes in a pathway. The latter is important considering that most single SNPs have been shown to confer only minor risks and because functional compensation between genes exists. Our selection of SNPs was based on a minimum of two different studies in which the SNP was found associated with colorectal cancer risk, indicators of energy balance, or other relevant variables. In this way, it was unlikely that our sum score was based on false-positive results and it became more likely that we selected SNPs interacting with energy balance. It was discussed in chapter 8—the general discussion of this thesis—that genome-wide association studies (GWAS) studies might turn out interesting repositories for a hypothesis-based selection of SNPs in the future. On the basis of the results in these GWAS, a decision can be made with respect to which is the unfavorable allele. Alternatively, in future studies, machine learning algorithms may be used to analyze higher-order combinations of SNPs and dietary or lifestyle factors. These techniques do not require any hypothesis about which is the unfavorable allele.

*Tumor heterogeneity.*

The results in **chapter 5** reiterated the role of the IGF pathway. In this chapter, adult body mass index and energy restriction in youth were shown to be associated with the risk of having a colorectal cancer with two or three methylated insulin-like growth factor binding protein genes in men and women combined. Sex-specific analyses revealed similar associations for height in women, which were not evident in analyses for men and women combined. No associations were observed with colorectal cancers with none or one methylated insulin-like growth factor binding protein gene(s). Methylation—*i.e.* the potential silencing—of genes is thought to be unfavorable if it affects insulin-like growth factor binding protein genes because the encoded proteins inhibit growth by binding to insulin-like growth factors and making the complex too large to reach target tissues. Thus, it was hypothesized that methylation of these genes may render individuals particularly susceptible to the influence of energy balance-related colorectal cancer risk factors on colorectal cancer development. Our findings supported this hypothesis.

Promoter CpG island methylation of multiple tumor suppressor- and DNA repair genes as a generic phenotype in colorectal cancer is referred to as the CpG island methylator phenotype (CIMP). In **chapter 6**, it was shown that adult body size, body size at age 20, and physical activity were associated with both CIMP and non-CIMP tumors in the direction as hypothesized. Only body mass index at age 20 appeared significantly more strongly associated with CIMP tumors than non-CIMP tumors. Outside the chapters of this thesis, energy restriction in youth was investigated in relation to CIMP status in colorectal tumors, and was found to decrease the risk of CIMP tumors but not non-CIMP tumors (Hughes *et al.*, 2009). These findings together led to the hypothesis that timing of exposure to indicators of energy balance may be of importance in relation to CIMP in colorectal tumors.

Findings with respect to CIMP should be viewed in light of that there exist different definitions of CIMP (Hughes et al., 2012, 2013). We used the well-accepted *Weisenberger* gene panel to define CIMP, but until the causes of CIMP become clear, proper comparison of findings between studies is hampered. Previously, it has been postulated that in-

flammation may lead to methylation, and—because obesity has been associated with a chronic state of low-grade inflammation—CIMP could be mediating associations between body size and colorectal cancer risk. This would fit with our findings of early life indicators of energy balance being more strongly associated with CIMP-tumors than non-CIMP tumors. On the other hand, once the mechanism of CIMP has been turned on, it may render individuals susceptible to colorectal cancer risk factors.

Much of the interest in CIMP is due to the fact that tumors solely characterized by CIMP are known to spiral into a trajectory of poor prognostic outcome. Therefore, in **chapter 7** of this thesis, CIMP, its correlated phenotype microsatellite instability (MSI), and chromosomal instability (CIN) were studied in relation to colorectal cancer-related deaths. The results in chapter 7 indicated increased risks of colorectal cancer-related deaths to be associated with having a 'CIMP-only', 'CIMP + CIN', and 'triple negative' tumor as compared with having a 'CIN-only' tumor. Thus, the relative contribution of MSI, CIMP, and CIN differentially influenced prognosis. Associations were confined to the first two years of follow-up, suggesting possible interactions between tumor instability types and therapy response. After late follow-up, MSI tumors were borderline significantly associated with a decreased risk of colorectal cancer-related deaths. This was in accordance with the literature, and since most MSI tumors are also characterized by CIMP, it suggests that MSI may override CIMP. With respect to the group of triple negative tumors found in this study, it remains to be seen whether this group includes covert CIMP or CIN tumors (the majority of tumors are chromosomally unstable), or whether it constitutes a truly novel group.

*Conclusion.*

To conclude, this thesis shows that a larger body size increases the risk of colorectal cancer, whereas physical activity decreases risk. Associations were evident in relation to proximal and distal colon cancer risk, but less clear in relation to rectal cancer risk. The influence of indicators of energy balance on colorectal cancer risk may run via the IGF pathway, particularly in men. This pathway may be of importance against a background of general disease pathways such as CIMP. CIMP and the associated phenotypes MSI and CIN in turn influence prognosis. Increasing our understanding of the interplay between energy balance, timing of exposure, and disease pathways linking energy balance to colorectal cancer in men and women is important because this may lead to improvements in preventive and therapeutic strategies.

NEDERLANDSE
# SAMENVATTING

'Geen twee colorectaalkankers zijn hetzelfde.'

Dit concept is de laatste jaren duidelijk geworden en geeft aan dat colorectaalkanker een complexe ziekte is. In dit proefschrift gaat de aandacht uit naar risicofactoren voor colorectaalkanker gerelateerd aan energiebalans, zoals overgewicht en weinig beweging. Dit proefschrift laat zien dat energiebalans het risico op colorectaalkanker via specifieke routes beïnvloedt in mannen en vrouwen en dat dit resulteert in tumoren op specifieke plekken in het colorectum met verschillende moleculaire kenmerken. Het tumorsubtype beïnvloedt de prognose.

Dat indicatoren van energiebalans het risico op colorectaalkanker beïnvloeden, komt overtuigend naar voren uit de literatuur. Het is nog onduidelijk of verbanden verschillen tussen mannen en vrouwen en waar in het colorectum tumoren veelal ontstaan. Tevens is onduidelijk langs welke routes energiebalans het risico op colorectaalkanker beïnvloedt. Wij maakten onderscheid tussen het proximale deel van de dikke darm, het distale deel van de dikke darm en de endeldarm (samen colorectaalkanker) en hebben getracht verbanden tussen indicatoren van energiebalans en het risico op colorectaalkanker bij manen en vrouwen en naar anatomische sublocalisatie te verduidelijken. We onderzochten het insulinegelijkende groeifactorsysteem (IGF-systeem) als mogelijke route waarlangs energiebalans het risico op colorectaalkanker beinvloedt. Het IGF-systeem is een aannemelijke route omdat dit systeem groei reguleert en mogelijk ook kwaadaardige groei beïnvloedt. Aangetoond is dat hoeveelheden van factoren betrokken bij het IGF-systeem, wanneer gemeten in bloed, verband houden met het risico op colorectaalkanker en beïnvloedt worden door de mate van overgewicht en beweging. Verder is voor diabeten—welke in een staat van insulineresistentie en hyperinsulinemie hebben verkeerd—een verhoogd risico op colorectaalkanker gevonden, wat mogelijk verklaard wordt doordat insuline de productie van insulinegelijkende groeifactor 1 stimuleert.

*Studiemethode.*

De studies beschreven in dit proefschrift zijn uitgevoerd binnen de Nederlandse Cohort Studie naar voeding en kanker. De Nederlandse Cohort Studie is een grote cohortstudie waarin 120,852 mannen en vrouwen deelnemen die tussen de 55 en 69 jaar oud waren in 1986. Aan het begin van de studie, in 1986, hebben alle deelnemers een vragenlijst ingevuld over voeding en andere risicofactoren voor kanker. Deelnemers die rapporteerden kanker te hebben (gehad) werden geëxcludeerd, zodat alle deelnemers die in de loop der tijd kanker kregen een primaire (eerste) tumor hadden. Het hele cohort werd opgevolgd om nieuwe kankerpatiënten te identificeren. Tegelijkertijd werd een subcohort van 5,000 deelnemers gevolgd voor een schatting van de opgebouwde persoonstijd. In dit proefschrift is gebruik gemaakt van 16,3 jaar 'follow-up'. Persoonsjaren werden geteld tot het optreden van kanker, overlijden of 'loss-to-follow-up'. De studieopzet maakt het mogelijk relatieve risico's voor colorectaalkanker te berekenen voor het al dan niet hebben van een bepaalde blootstelling.

Een uniek kenmerk van de Nederlandse Cohort Studie is dat deelnemers in hun jeugd waren ten tijde van de Honger Winter, Oorlogsjaren en Economische Depressie. Dit stelde ons ertoe in staat beide kanten van het spectrum van energiebalans te onderzoeken door te kijken naar overgewicht op volwassen

en op 20-jarige leeftijd en door te kijken naar blootstelling aan energierestrictie tijdens de jeugd (wat mogelijk tijdelijk gewichtsverlies en een tijdelijke stagnatie van groei tot gevolg had). Daarnaast was informatie beschikbaar over beweging in en buiten het beroep en over sportdeelname van deelnemers.

In dit proefschrift onderzochten we mogelijke routes waarlangs energiebalans colorectaalkanker beïnvloedt door middel van een moleculair epidemiologische aanpak. We maakten gebruik van ingestuurd teennagelmateriaal dat oorspronkelijk bedoeld was voor het bepalen van seleniuminname, maar ook een goede bron van DNA bleek te zijn voor het bepalen van erfelijke genetische varianten. Naast dit type DNA, is DNA geïsoleerd uit de tumor van colorectaalkankerpatiënten die tussen 1989 en 1993 werden gediagnosticeerd. In dit tumor DNA, zijn genetische en epigenetische vormen van instabiliteit bepaald. Het meenemen van moleculaire markers gemeten in de tumor in epidemiologisch onderzoek wordt ook wel moleculair pathologisch epidemiologisch onderzoek genoemd.

*Marginale verbanden.*

Of de invloed van factoren gerelateerd aan energiebalans op de kans op het krijgen van colorectaalkanker verschilt tussen mannen en vrouwen en tussen anatomische sublocalisaties, werd onderzocht in hoofdstuk 2 en 3. In **hoofdstuk 2** kwam naar voren dat meer lichaamsvet—zoals aangegeven door een hogere body mass index op volwassen leeftijd (gewicht in kilo's gedeeld door lichaamslengte in meters in het kwadraat), een grotere broekmaat en een hogere body mass index op 20-jarige leeftijd—verband hield met een verhoogd risico op kanker in het distale deel van de dikke darm bij mannen. Lichaamsvet hield geen verband met het risico op colorectaalkanker bij vrouwen, tenzij bekeken in combinatie met de mate van beweging. Lichaamslengte was gerelateerd aan een verhoogd risico op kanker in het distale deel van de dikke darm bij vrouwen en mag gezien worden als een proxymaat voor blootstelling aan groeifactoren in de jeugd. Blootstelling aan energierestrictie tijdens de jeugd werd buiten dit proefschrift om onderzocht en hield verband met een verlaagd risico op kanker in het proximale deel van de dikke darm bij mannen en met een verlaagd risico op endeldarmkanker bij mannen en vrouwen (Hughes *et al.*, 2010). **Hoofdstuk 3** toonde verder dat beweging een beschermende factor is voor kanker in het distale deel van de dikke darm bij mannen en voor kanker in alle sublocalisaties in het colorectum bij vrouwen. Beweging in het beroep vormde de beste voorspeller van een verlaagd risico bij mannen, terwijl beweging buiten het beroep de beste voorspeller was van een verlaagd risico bij vrouwen. Mogelijk weerspiegelden deze vormen van beweging bij mannen en vrouwen regelmatige beweging gedurende langere tijd het beste.

*Gen-omgevings effecten.*

Bovenstaande observaties duidden op risicoverschillen tussen mannen en vrouwen en tussen anatomische sublocalisaties. In **hoofdstuk 4**, waarin gecombineerde effecten van indicatoren van energiebalans en genetische varianten in genen gerelateerd aan het IGF-systeem werden onderzocht, hielden de geslachtsverschillen aan. Het hebben van een grotere broekmaat, een grotere lichaamslengte en niet blootgesteld zijn aan energierestrictie tijdens de jeugd in combinatie met het dragen van meer ongunstige allelen verhoogde het risico op tumoren in het proximale deel van de dikke darm (niet met betrekking tot lengte) en in het distale deel van de dikke darm bij mannen, maar niet bij vrouwen. De richting van de verbanden was zoals verwacht en wees op de betrokkenheid van het IGF-systeem als route waarlangs energiebalans colorectaalkanker beïnvloedt bij mannen.

Deze route is bij vrouwen mogelijk minder belangrijk, omdat vrouwelijke hormonen insulineresistentie kunnen tegengaan. Wat betreft risicoverschillen tussen sublocalisaties was de bevinding van een verhoogd risico op kanker in het proximale deel van de dikke darm opmerkelijk, aangezien er geen marginale verbanden met kanker in deze sublocalisatie te zien waren. Het niet vinden van verbanden met endeldarmkanker kan erop duiden dat deze tumoren zich langs andere routes ontwikkelen. Tumoren in de endeldarm worden bijvoorbeeld vaker gekenmerkt door chromosomale instabiliteit dan meer proximaal gesitueerde tumoren (zie hoofdstuk 7) en mogelijk wordt deze route minder sterk beïnvloed door indicatoren van energiebalans.

In bovenstaande analyses naar gecombineerde effecten van energiebalans en genetische varianten hebben we het aantal (volgens de literatuur) ongunstige allelen met betrekking tot 18 'single nucleotide polymophisms' (SNPs) in 9 genen gerelateerd aan het IGF-systeem opgeteld. De resulterende somscore werd opgedeeld in tertielen. Deze aanpak gaf een optimale power en stond toe informatie uit diverse genen op dezelfde route te integreren. Integratie van informatie is belangrijk, omdat SNPs op zichzelf slechts kleine veranderingen in risico's met zich meebrengen en er binnen een systeem ook compensatie in functie tussen genen kan plaatsvinden. Onze SNP-selectie was gebaseerd op minstens twee verschillende studies waarin de SNP verband hield met het risico op colorectaalkanker, indicatoren van energiebalans of andere relevante variabelen. Als zodanig was het minder waarschijnlijk dat onze somscore was gebaseerd op fout-positieve bevindingen en werd het waarschijnlijker dat de geselecteerde SNPs ook daadwerkelijk in samenwerking met factoren gerelateerd aan energiebalans een invloed uitoefenden. In de toekomst—zoals beschreven in hoofdstuk 8—zijn de resultaten van genoomwijde associatiestudies (GWAS) mogelijk bruikbaar voor de selectie van SNPs in studies met een duidelijke hypothese over betrokken routes. Op basis van de resultaten in deze GWAS kan worden besloten welk allel ongunstig is. Als alternatief kan gebruik gemaakt worden van 'machine learning' algoritmes om hogere-orde combinaties van SNPs en voedings- en leefstijlfactoren te analyseren. Deze technieken vereisen geen aanname over welk allel het ongunstige allel is.

*Tumor heterogeniteit.*

De resultaten in **hoofdstuk 5** benadrukten de rol van het IGF-systeem. Body mass index op volwassen leeftijd en energierestrictie tijdens de jeugd hielden in dit hoofdstuk (waarin mannen en vrouwen samen werden onderzocht) verband met het risico op colorectaalkankers gekenmerkt door twee of drie gemethyleerde genen die coderen voor eiwitten die binden aan insulinegelijkende groeifactoren. Geslachtsspecifieke analyses lieten eenzelfde soort verbanden zien voor lengte bij vrouwen; deze verbanden waren verkapt in gecombineerde analyses. Er waren geen verbanden in relatie tot colorectaalkankers met geen of één gemethyleerd(e) gen(en) coderend voor eiwitten die binden aan insulinegelijkende groeifactoren. Methylering—dat wil zeggen mogelijke stillegging—van genen die coderen voor eiwitten die binden aan insulinegelijkende groeifactoren is ongunstig, omdat deze eiwitten groei remmen, doordat ze samen met insulinegelijkende groeifactoren een te groot geheel vormen om weefsels in organen te bereiken. Onze hypothese was daarom dat methylering van deze genen individuen extra vatbaar maakt voor de invloed van indicatoren van energiebalans op het krijgen van colorectaalkanker. Onze bevindingen ondersteunen deze hypothese.

Promotor CpG eiland methylering van meerdere tumorsuppressor- en DNA-herstelgenen komt voor in een subgroep van colorectaal-

tumoren, welke bekend staan als CIMP-tumoren (tumoren met het "CpG island methylator phenotype"). In **hoofdstuk 6** vonden we dat volwassen body mass index, body mass index op 20-jarige leeftijd en beweging verband hielden met zowel CIMP- als niet-CIMP-tumoren, waarbij de richting van de verbanden was zoals verwacht. Enkel body mass index op 20-jarige leeftijd hield significant sterker verband met CIMP-tumoren dan met niet-CIMP-tumoren. Buiten dit proefschrift om werd energierestrictie tijdens de jeugd in verband gebracht met een verlaagd risico op CIMP-tumoren, maar niet met niet-CIMP-tumoren (Hughes *et al.*, 2009). Samen leidden deze resultaten tot de hypothese dat de levensperiode waarin blootstelling aan indicatoren van energiebalans plaatsvindt, mogelijk van belang is in relatie tot CIMP in colorectaaltumoren.

Bevindingen in relatie tot CIMP moeten gezien worden in het licht van dat er verschillende definities van CIMP bestaan (Hughes et al., 2012, 2013). Wij gebruikten het alom gebruikte *Weisenberger* genpanel om CIMP te bepalen, echter totdat de oorzaken van CIMP duidelijk worden, zal vergelijking van resultaten tussen studies lastig blijven (Hughes et al., 2012, 2013). Het is gesuggereerd dat ontstekingsreacties leiden tot methylering en—omdat obesitas verband houdt met een milde, maar chronische vorm van ontsteking—zou CIMP verbanden tussen lichaamsomvang en het risico op colorectaalkanker kunnen mediëren. Dit past bij onze bevindingen dat vroege indicatoren van energiebalans sterker geassocieerd waren met CIMP-tumoren dan met niet-CIMP-tumoren. Aan de andere kant, zodra CIMP als mechanisme is aangezet, kan het individuen vatbaar maken voor risicofactoren voor colorectaalkanker.

Veel van de aandacht voor CIMP als fenotype is te wijten aan het feit dat CIMP-tumoren een slechte prognose kennen. Met dit in gedachte onderzochten we in **hoofdstuk 7** CIMP, het eraan gecorreleerde fenotype microsatelliet instabiliteit (MSI) en chromosomale instabiliteit (CIN) in relatie tot aan colorectaalkanker-gerelateerde sterfte. De resultaten lieten een verhoogd risico op sterfte zien na diagnose met een 'CIMP-only', 'CIMP + CIN' of 'triple negatieve' tumor in vergelijking met een 'CIN-only'-tumor. Specifieke combinaties van MSI, CIMP en CIN leidden dus tot een verschillende prognose. Verbanden bestonden alleen na de eerste twee jaar van follow-up. Vermoedelijk speelden interacties tussen tumorsubtypes en therapierespons een rol. Na lange follow-up hield het hebben van een MSI-tumor verband met een vrijwel significant verlaagd risico op aan colorectaalkanker-gerelateerde sterfte. Deze bevinding is in overeenstemming met de literatuur en doet vermoeden dat MSI CIMP overstemt, omdat de meeste MSI-tumoren ook gekenmerkt worden door CIMP. Wat betreft de 'triple negatieve' groep moet verder onderzoek uitwijzen of dit een nieuwe tumorgroep betreft of dat het verkapte CIMP- of CIN-tumoren zijn (CIN-tumoren vormen de grootste groep).

*Conclusie.*

Dit proefschrift laat zien dat een grotere lichaamsomvang het risico op colorectaalkanker verhoogt, terwijl beweging dit risico verlaagt. Dit gold in relatie tot kankers in het proximale en distale deel van de dikke darm, maar minder in relatie tot endeldarmkanker. De invloed van factoren gerelateerd aan energiebalans op colorectaalkanker loopt waarschijnlijk via het IGF-systeem, vooral bij mannen. Deze route speelt mogelijk een rol tegen een achtergrond van algemenere ziektemechanismen zoals CIMP. CIMP en de fenotypes MSI en CIN beïnvloeden op hun beurt de prognose. Een beter begrip van het samenspel tussen energiebalans, het tijdstip van blootstelling en de routes waarlangs energiebalans het risico op colorectaalkanker bij mannen en

vrouwen beïnvloedt, is van belang voor verbeteringen in preventieve en therapeutische strategieën.