

The inflammatory response and resting energy expenditure in lung cancer

Citation for published version (APA):

Staal-van den Brekel, A. J. (1996). *The inflammatory response and resting energy expenditure in lung cancer*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Universiteit Maastricht. <https://doi.org/10.26481/dis.19961206as>

Document status and date:

Published: 01/01/1996

DOI:

[10.26481/dis.19961206as](https://doi.org/10.26481/dis.19961206as)

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.

Summary

The present thesis describes the metabolic disturbances in lung cancer patients. Weight loss is a frequently occurring problem in patients with lung cancer and is an early sign of disease. Different studies have shown that weight-stable patients have a better prognosis and a better response to treatment than weight-losing patients. In **Chapter 2** the energy balance between resting energy expenditure (REE) and energy intake was assessed and the contributing factors to the elevated REE were analyzed in 100 newly detected lung cancer patients. A substantial number of patients (30%) had a weight loss of 10% or more from their pre-illness stable weight. An elevated REE was even found in 74% of the patients. Stratification by tumor localization revealed that patients with a central tumor had a significantly higher REE and higher level of C-reactive protein (CRP) compared to patients with a peripheral tumor. Dietary intake was significantly lower in the weight-losing group compared to the weight stable group. Tumor localization and inflammation were found to be contributing factors to the elevated REE as demonstrated by multiple regression analysis.

Lung cancer can be subdivided into two groups according to histology: small cell lung carcinoma (SCLC) and non-small cell lung carcinoma (NSCLC). Since both groups have different characteristics, we hypothesized that the influence on energy metabolism and inflammatory mediators might be different. REE was measured in 66 patients with lung cancer -33 SCLC and 33 NSCLC patients- and in 33 healthy controls, matched for age, sex and fat free mass (FFM) (**Chapter 3**). An increased REE adjusted for FFM was found in the lung cancer population compared to controls. Subdivision of the lung cancer population according to histology revealed that patients with SCLC had an increased REE adjusted for FFM compared to patients with NSCLC. FFM explained the greatest part of the elevation in REE in controls and NSCLC respectively, but in SCLC FM was a significant determinant of the variation in REE as well. Increased levels of cortisol were found in the SCLC population compared to the NSCLC population but cortisol levels remained within the normal range. Moreover, sTNF-R75 levels were increased in SCLC compared to NSCLC.

Based on experimental studies, it has been suggested that inflammatory mediators are involved in the metabolic derangements in cancer patients. Key roles have been attributed to the inflammatory cytokines TNF- α , Interleukin (IL)-1 and IL-6. Therefore the presence of inflammatory mediators in plasma was analyzed and related to the presence of the increased REE and weight loss in patients with NSCLC in **Chapter 4**. Biologically active TNF- α is difficult to detect because of its short half-time that makes detection dependent on frequency of sampling. Therefore both soluble TNF-receptors 55 (sTNF-R55) and sTNF-R75 were determined as well. In addition the soluble adhesion molecules Intercellular Adhesion Molecule

(ICAM)-1 and E-selectin, and the acute phase proteins lipopolysaccharide (LPS)-binding protein (LBP) and CRP were determined in plasma of 87 NSCLC patients. Enhanced levels of both sTNF-receptors, sICAM-1 and the acute phase proteins CRP and LBP were detected in NSCLC patients compared to healthy controls. In addition, inflammatory mediators were compared between hypermetabolic (REE/Harris Benedict (HB) equation $\geq 110\%$) versus normometabolic (REE/HB $< 110\%$) patients and between patients who lost weight (more than 10% loss of preillness weight) versus those whose weight remained stable. Hypermetabolic patients were found to have significantly increased levels of sTNF-R55, sE-selectin, LBP and CRP compared with normometabolic patients. Weight loss was related with increased levels of both sTNF-receptors, sICAM-1, IL-6, LBP and CRP. No correlation could be demonstrated between hypermetabolism and the inflammatory mediators.

In order to investigate whether the tumor itself was the origin of the increased levels of cytokines or whether the systemic inflammatory response of the patients was enhanced in response to the presence of the tumor, immunohistochemical studies were performed with antibodies against different inflammatory mediators. Both **Chapter 5** and **Chapter 6** describe the results of these studies. Tissues were collected from resection specimens of patients undergoing thoracotomy for NSCLC. Both paraffin and cryostat sections were investigated. In general, CD68 reactive monocytes were present in tumor stroma as well as lymphocytes, consisting mainly of T-lymphocytes. Lymphoid aggregates were present to a variable extent at the edge of the NSCLC fields or in between the outer fields of carcinoma cells. The aggregates consisted mainly of B-lymphocytes with scattered T-lymphocytes. TNF-receptor expression could be demonstrated on NSCLC cells but not on normal bronchial epithelium. The pro-inflammatory cytokines TNF- α , IL-6 and IL-8 were expressed by NSCLC cells as well as by monocytes in tumor stroma. However, the staining patterns observed indicated an activated status of only a minority of the inflammatory cells in tumor stroma. Furthermore the expression of adhesion molecules was investigated in the lung cancer specimens. The staining patterns observed on endothelial cells indicated an active status of NSCLC vessels. The phenotypic pattern of the vessels looked similar to the vascular component of inflammation. ICAM-1 and vascular cell adhesion molecule (VCAM)-1 were present on NSCLC cells and suggested a functional role in the process of chemotaxis for tumor cells as well.

Further the local inflammatory response in the alveolar compartment was assessed in NSCLC patients (**Chapter 7**). To this end, inflammatory mediators in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and cytokines produced by alveolar macrophages (AM) were investigated. Twenty patients with newly detected NSCLC and 9 control subjects were studied. BAL was performed in the affected lung as well as in the contralateral lung of NSCLC patients and only unilaterally in control subjects. Comparable results were demonstrated for the levels of the inflammatory mediators TNF- α , Interleukin (IL)-6, IL-8, both soluble TNF-receptors and the soluble

adhesion molecules E-selectin and Intercellular Adhesion Molecule (ICAM)-1 between the affected lung and the contralateral lung in the NSCLC population as well as between the NSCLC population and the control subjects. Moreover, no significant differences in cytokine profiles of AM were detected between AM obtained from the affected lung and from the contralateral lung, respectively. These data suggest that the enhanced inflammatory state, as demonstrated in plasma and in the interstitial compartment around the tumor cells in NSCLC, was not reflected in the alveolar compartment in NSCLC.

Most of the studies on energy metabolism in cancer patients are based on cross-sectional studies. Only limited data are available about the effects of treatment on energy metabolism. Therefore the influence of surgical removal of the tumor on energy balance, body weight and body composition was investigated in NSCLC patients in **Chapter 8**. Patients with curative tumor resection showed an increase in body weight over an one year period, in contrast to patients with tumor recurrence who lost weight. The weight gain consisted predominantly of fat mass, while the weight loss consisted for more than half of FFM. Body weight was increased in hypermetabolic as well as in normometabolic patients one year after successful removal of the tumor. However, while EI/REE was significantly increased in hypermetabolic patients, it was not changed in normometabolic patients. These results suggest that hypermetabolic NSCLC patients undergoing curative resection show an improvement in energy balance caused by both a decreased REE and an increased EI. This positive energy balance results in weight gain, which consists predominantly of FM.

The last study (**Chapter 9**) described energy metabolism and systemic levels of inflammatory mediators in SCLC patients before and after treatment with chemotherapy. A significant reduction in REE was found irrespective of therapeutic outcome while body weight and body composition remained stable. The levels of acute phase proteins CRP and LBP reduced significantly after treatment with chemotherapy, while the levels of both sTNF-receptors and sICAM-1 remained enhanced. No correlation, however, existed between the decrease in REE and the decrease of the acute phase proteins.

Het huidige proefschrift beschrijft de metabole veranderingen in patiënten met longkanker. Gewichtsverlies is een veel voorkomend probleem bij patiënten met longkanker en is een van de eerste tekenen van ziekte. In verschillende studies is aangetoond dat patiënten met een stabiel gewicht een betere prognose en een betere reactie op therapie hebben dan patiënten met gewichtsverlies. De energiebalans tussen de ruststofwisseling en de energie inname is bepaald in **hoofdstuk 2** en de bijdragende factoren voor de verhoging van de ruststofwisseling zijn geanalyseerd in 100 patiënten waarbij recent longkanker is vastgesteld. Een aanzienlijk aantal patiënten (30%) had een gewichtsverlies van 10% of meer ten opzichte van het gewicht voor ze ziek werden. Een verhoogde ruststofwisseling kwam zelfs voor bij 74% van de patiënten. Stratificatie door middel van tumor lokalisatie gaf weer dat patiënten met een centrale tumor lokalisatie een significant verhoogde ruststofwisseling en verhoogde concentratie C-reactief eiwit (CRP) hadden vergeleken met patiënten met een perifere tumor lokalisatie. De energie inname was significant lager in de groep met gewichtsverlies vergeleken met de groep die een stabiel gewicht hadden. Tumor lokalisatie en ontsteking bleken bevorderende factoren te zijn voor de verhoogde ruststofwisseling zoals werd vastgesteld door middel van multiple regressie analyse.

Longkanker kan worden onderverdeeld in twee groepen volgens histologie: kleincellig bronchus carcinoom (SCLC) en niet-kleincellig bronchus carcinoom (NSCLC). Aangezien beide groepen verschillende kenmerken hebben, vormden wij de hypothese dat de invloed op energie metabolisme en ontstekingsmediatoren verschillend zou zijn. De ruststofwisseling werd gemeten in 66 patiënten met longkanker (33 SCLC en 33 NSCLC patiënten) en in 33 gezonde controle personen, gematched voor leeftijd, geslacht en vetvrije massa (**Hoofdstuk 3**). Er werd een verhoogde ruststofwisseling aangepast voor de vetvrije massa gevonden in de longkanker groep vergeleken met de groep van controles. Onderverdeling van de longkanker groep naar aanleiding van histologie gaf weer dat patiënten met SCLC een verhoogde ruststofwisseling aangepast voor vetvrije massa hadden vergeleken met de patiënten met NSCLC. De vetvrije massa voorspelde het grootste deel van de verhoging van de ruststofwisseling in de controles en in NSCLC respectievelijk, maar in SCLC was de vetmassa eveneens een significante determinant van de variatie in ruststofwisseling. Verhoogde cortisol concentraties werden aangetoond in de groep met SCLC vergeleken met de groep met NSCLC maar de cortisol concentraties bleven binnen de normale waarden. Bovendien waren de oplosbare TNF-receptor-75 concentraties toegenomen in SCLC vergeleken met NSCLC.

Het is gesuggereerd op basis van dierexperimenten dat ontstekings mediators betrokken zijn in de metabole verstoringen in patiënten met kanker. Daarvoor zijn sleutelposities toegekend aan de inflammatoire cytokinen TNF- α , Interleukine (IL)-1

en IL-6. De aanwezigheid van ontstekingsmediatoren in plasma werd vervolgens geanalyseerd en gerelateerd aan de aanwezigheid van een verhoogde ruststofwisseling en gewichtsverlies in patiënten met NSCLC in **hoofdstuk 4**. Biologisch actief TNF- α is moeilijk te meten in verband met de korte halfwaardetijd die het aantonen van TNF- α afhankelijk maakt van de frequentie van metingen. Daarom werden eveneens de oplosbare TNF-receptor 55 en TNF-receptor 75 bepaald. Bovendien werden de oplosbare adhesie moleculen Intercellulair Adhesie Molecuul (ICAM)-1 en E-selectin en de beide acute fase eiwitten lipopolysaccharide (LPS)-bindend eiwit (LBP) en CRP bepaald. Er werden verhoogde concentraties van de beide oplosbare TNF-receptoren, oplosbaar ICAM-1 en de acute fase eiwitten CRP en LBP gemeten in patiënten met NSCLC vergeleken met gezonde controles. Tevens werden de concentraties van ontstekingsmediatoren vergeleken tussen de patiënten die hypermetabool waren (REE/Harris Benedict (HB) vergelijking $\geq 110\%$) t.o.v. normometabole patiënten (REE/HB $< 110\%$) en tussen patiënten die gewicht verloren (meer dan 10% van hun oorspronkelijke gewicht) t.o.v. patiënten die stabiel bleven in hun gewicht. Hypermetabole patiënten bleken significant verhoogde concentraties te hebben van de oplosbare TNF-receptor 55, oplosbaar E-selectin, LBP en CRP vergeleken met normometabole patiënten. Gewichtsverlies was gerelateerd aan toegenomen concentraties van de beide oplosbare TNF-receptoren, oplosbaar ICAM-1, IL-6, LBP en CRP. Er werd geen correlatie aangetoond tussen de aanwezigheid van hypermetabolisme en de ontstekingsmediatoren.

Vervolgens werden er immunohistochemische studies verricht met antilichamen tegen de verschillende ontstekingsmediatoren om te onderzoeken of de tumor zelf de bron was van de verhoogde concentraties van cytokinen of dat de systemische ontstekingsreactie van de patiënten was toegenomen als reactie op de aanwezigheid van de tumor. Zowel **hoofdstuk 5** als **hoofdstuk 6** beschrijven de resultaten van deze studies. De weefsels werden verzameld uit operatie materiaal van patiënten met NSCLC die een operatie ondergingen. Zowel paraffine als vriescoupes werden onderzocht. CD68 positieve monocyt en lymfocyt, voornamelijk bestaand uit T-lymfocyt, waren in het algemeen aanwezig in het stroma van de tumor. De lymfocyt aggregaten waren aanwezig in verschillende aantallen aan de grenzen van de NSCLC velden of tussen de buitenste velden van de tumor cellen in gelegen. De aggregaten bestonden voornamelijk uit B-lymfocyt met enkele T-lymfocyt er tussen in gelegen. De expressie van TNF-receptoren kon worden aangetoond op de NSCLC cellen, maar niet op normaal bronchusepithel. De cytokinen TNF- α , IL-6 en IL-8 werden geëxprimeerd door de NSCLC cellen maar ook door de monocyt in het tumor stroma. Echter, de geobserveerde kleuringspatronen toonden alleen een geactiveerde status aan van slechts een klein aantal ontstekingscellen in het tumor stroma. Vervolgens werd ook de expressie van adhesiemoleculen onderzocht in de longkanker preparaten. De aankleuringspatronen die werden gezien op de endotheelcellen weerspiegelden een actieve status van de vaten in NSCLC. Het fenotypische patroon van de vaten vertoonde gelijkenissen met de vascularisatie

zoals die wordt gezien in ontsteking. ICAM-1 en het vasculaire cel adhesie molecuul (VCAM)-1 waren aanwezig op NSCLC cellen en dit kan wijzen op een functionele rol voor de tumor cellen in het ontstekingsproces.

Vervolgens werd de ontstekings reactie in het alveolaire compartiment bepaald in patiënten met NSCLC (**hoofdstuk 7**). Daarvoor werden de ontstekingsmediatoren in de bronchoalveolaire vloeistof bepaald en werden de cytokinen, die geproduceerd worden door de alveolaire makrofagen, gemeten. Twintig patiënten met recent ontdekt NSCLC en 9 controle personen werden onderzocht. De bronchoalveolaire lavage werd verricht in de aangedane long en in de contralaterale long van de patiënten met NSCLC en unilateraal in controle personen. Er werden vergelijkbare resultaten gevonden voor de concentraties TNF- α , IL-6, IL-8, de beide oplosbare TNF-receptoren en de oplosbare adhesie moleculen E-selectin en ICAM-1 tussen de aangedane long en de contralaterale long in de NSCLC groep en de controle groep. Bovendien werden er geen significante verschillen aangetoond tussen de cytokinen profielen van de alveolaire makrofagen verkregen uit de aangedane long en uit de contralaterale long respectievelijk. Deze data suggereren dat de verhoogde ontstekings status, zoals die wordt aangetoond in het plasma en in het interstitiële compartiment rond de tumor cellen in NSCLC, niet wordt weergegeven in het alveolaire compartiment.

De meeste studies over energie metabolisme in patiënten met kanker zijn gebaseerd op cross-sectionele studies. Er zijn slechts weinig data beschikbaar over de effecten van behandeling op het energie metabolisme. De invloed van chirurgische verwijdering van de tumor op de energie balans, het lichaamsgewicht en de lichaamssamenstelling werd daarom onderzocht in patiënten met NSCLC in **hoofdstuk 8**. Patiënten met een curatieve resectie van de tumor vertoonden een toename van hun lichaamsgewicht na een jaar, in tegenstelling tot patiënten waarbij er sprake was van een recidief van de tumor, zij verloren gewicht. De gewichtstoename bestond voornamelijk uit vetmassa, terwijl het gewichtsverlies voor meer dan de helft uit vetvrije massa bestond. Na een jaar was het lichaamsgewicht toegenomen bij zowel hypermetabole als normometabole patiënten die een curatieve resectie van hun tumor hadden ondergaan. Echter terwijl de verhouding energie inname t.o.v. de ruststofwisseling significant was toegenomen in hypermetabole patiënten, was deze onveranderd in normometabole patiënten. Deze resultaten suggereren dat hypermetabole patiënten die een curatieve resectie ondergaan, een verbetering van hun energie balans vertonen veroorzaakt door zowel een afgenomen ruststofwisseling als een toegenomen energie inname. Deze positieve energie balans resulteert in een gewichtstoename, welke voornamelijk uit vetmassa bestaat.

De laatste studie (**hoofdstuk 9**) beschrijft het energie metabolisme en de systemische concentraties van ontstekingsmediatoren in SCLC patiënten voor en na behandeling met chemotherapie. Een significante afname in ruststofwisseling werd aangetoond onafhankelijk van het resultaat van de therapie terwijl het lichaamsgewicht en de lichaamssamenstelling stabiel bleven. De concentraties van de acute fase eiwitten

CRP en LBP namen significant af na behandeling met chemotherapie, terwijl de concentraties van de beide oplosbare TNF-receptoren en oplosbaar ICAM-1 verhoogd bleven. Er bestond echter geen correlatie tussen de afname in ruststofwisseling en de afname van de acute fase eiwitten.