

# Cachexia in patients with non-small cell lung cancer : mechanistic insights towards optimizing clinical management

## Citation for published version (APA):

Op den Kamp, C. M. H. (2014). Cachexia in patients with non-small cell lung cancer : mechanistic insights towards optimizing clinical management. Maastricht University: Maastricht.

## Document status and date:

Published: 01/01/2014

## 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](http://www.umlib.nl/taverne-license)

## Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

[repository@maastrichtuniversity.nl](mailto:repository@maastrichtuniversity.nl)

providing details and we will investigate your claim.

# Summary

## Summary

Cancer cachexia is a paraneoplastic feature that frequently occurs in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). Progressive body weight loss and disproportionate wasting of skeletal muscle are the most distinct characteristics of the syndrome. The presence of cancer cachexia is associated with major negative consequences, i.e. low tolerance and responsiveness to anti-tumor therapy, decreased muscle performance, declined quality of life and a significant increase in cancer-related mortality. Currently, no effective therapeutic intervention can prevent or reverse these negative consequences of cancer cachexia. Although studies in experimental cancer cachexia have increased our understanding on putative molecular mechanisms that lie at the basis of cancer cachexia, most of these remain to be validated in the different stages of cancer cachexia in the clinical setting. The current dissertation provides a comprehensive characterization of phenotypic aspects and molecular signatures of muscle atrophy, involved in progressive stages of cachexia in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC).

### **Radiation-esophagitis is not the primary trigger for early weight loss in patients treated with concurrent chemoradiotherapy for non-small cell lung cancer**

Concurrent administration of chemotherapy and radiotherapy (CT-RT) is the treatment of choice for many patients with locally advanced non-small cell lung cancer (NSCLC). It has been demonstrated that this intensive multimodal treatment regimen results in significantly longer disease free and overall survival. Concurrent administration of CT-RT is associated with a high incidence of severe esophagitis. Intuitively, the frequently observed body weight loss during concurrent CT-RT may be a result of impaired dietary intake due to esophagitis-related dysphagia. However, clinical observations indicated that body weight loss occurs prior to treatment-induced esophagitis and might therefore not solely depend on a dysphagia-related decline in nutritional intake. In a retrospective and prospective study, it was investigated whether body weight loss during concurrent CT-RT was associated with significant esophagitis, i.e. grade  $\geq 2$  esophagitis. In **chapter 2**, it was revealed that

loss of body weight is a frequent consequence of concurrent CT-RT, starts early following initiation of treatment and is independent of treatment-induced esophagitis in the first weeks of CT-RT. In addition, total caloric intake was not decreased, while muscle function rapidly declined, which may implicate active catabolism. These findings indicate that other treatment-dependent metabolic alterations may contribute to 'early' weight loss and advocate for more supportive and early initiated nutritional intervention, possibly in a multimodal approach to optimize concurrent CT-RT management.

### **Muscle atrophy in cachexia: can dietary protein tip the balance?**

As the identification of therapeutic strategies to reverse or postpone cancer cachexia remains challenging in clinical care, the efficacy of commonly used interventions needs evaluation. In **chapter 3** the literature on (clinical) data regarding the efficacy of dietary protein supplementation in compensation of muscle atrophy during cachexia was reviewed. Based on the currently available data, it can be hypothesized that supplementation of dietary protein (>1.5 g/kg per day) alone or in combination with other anabolic stimuli such as exercise training maintains or even improves muscle mass. Furthermore, the putative molecular mechanisms by which proteins or specific amino acids may attenuate muscle mass loss were evaluated. The literature study presented in **chapter 3** showed that in-vitro studies provide evidence for pro-anabolic and anti-catabolic effects of amino acids but that limited data are available in experimental animal models and in patients suffering from cachexia. In addition, results on muscle function are controversial and no clinical studies have yet directly linked alterations in cellular signaling or metabolic signatures of protein intake-induced muscle anabolism to muscle weight gain. Further randomized clinical trials are needed in adequately phenotyped patients using sensitive measures of muscle mass and function to provide more insight in the efficacy of protein supplementation in (cancer) cachexia.

## **Skeletal muscle alterations during the progression of lung cancer cachexia**

From **chapter 4** on, alterations in skeletal muscle protein and myonuclear turn-over as well as measures of (oxidative) energy metabolism were investigated in muscle biopsies of patients with progressive stages of NSCLC cachexia. The patients in **chapter 4 and 6** were stratified according to the recent international cancer cachexia consensus. Consequently, this dissertation contributes to the validation of this definition as an instrument for standardizing cancer cachexia classification and management.

## **Nuclear transcription factor $\kappa$ B activation and protein turn-over adaptations in skeletal muscle of patients with progressive stage of lung cancer cachexia**

In **chapter 4**, it was verified whether mechanisms in control of muscle atrophy in experimental models of cancer cachexia could be appreciated in patients with NSCLC pre-cachexia and cachexia. The study confirmed that muscle atrophy in cachectic patients with lung cancer is accompanied by increased systemic and local muscle inflammation, whereas pre-cachectic patients show intermediate expression. Moreover, plasma transfer experiments revealed that factors contained within the circulation of both pre-cachectic and cachectic patients with lung cancer induce inflammatory signaling in skeletal muscle. Furthermore, it was shown that the balance between muscle protein synthesis and degradation was disturbed in favor of increased proteolysis by autophagy signaling, without alterations in indices of the anticipated ubiquitin proteasome system (UPS). Protein synthesis signaling was characterized by increased Akt phosphorylation without alterations in downstream Akt phosphosubstrates in cachectic patients. This finding implies impaired anabolic signaling that could, in combination with increased proteolysis, contribute to the net loss of muscle protein in cancer cachexia. These findings of increased proteolytic signaling and impaired anabolic signaling at the level of Akt provide further support for a more targeted nutritional modulation beyond merely macronutrient supplementation.

### **Pre-cachexia in patients with stages I-III non-small cell lung cancer: Systemic inflammation and functional impairment without activation of skeletal muscle ubiquitin proteasome system**

Physical performance is frequently affected in patients with cancer, even in early stages of body weight loss. In **chapter 5**, exercise endurance was assessed as determinant of muscle function in comprehensively phenotyped pre-cachectic patients with NSCLC. The exploratory study showed that pre-cachexia in NSCLC is associated with significantly decreased exercise capacity without changes in body composition, and that despite the presence of systemic inflammation, no inflammatory signaling or increased Ubiquitin Proteasome System (UPS) proteolytic activity appears present in skeletal muscle. As patients in different stages of cachexia could benefit from unique intervention strategies, underlying mechanisms of the decreased exercise capacity was studied in **chapter 6**.

### **Preserved muscle oxidative metabolic phenotype in clinical cancer cachexia**

Experimental evidence suggests altered metabolic signaling in cancer cachexia, which could explain the decreased exercise intolerance in pre-cachectic patients observed in **chapter 5**. Therefore, the study described in **chapter 6**, addressed whether alterations in muscle oxidative metabolism are present in patients with NSCLC pre-cachexia and cachexia. The study demonstrated oxidative metabolism appears mainly preserved in patients with lung cancer cachexia, despite significant increases in systemic pro-inflammatory mediators as putative triggers. This is illustrated by the absence of alterations in fiber type distribution, mRNA transcript levels of regulators of oxidative signaling, protein expression of mitochondrial complexes and oxidative enzyme activity, despite evident systemic inflammation. Accordingly, it is concluded that oxidative phenotype is not affected in patients with lung cancer cachexia.

## Conclusion

In the current dissertation it was revealed that systemic and local (muscle) inflammation can be appreciated in NSCLC cachexia and that factors present in the circulation are capable of inducing the transition to local inflammatory signaling. With respect to muscle protein turnover, NSCLC cachexia proteolytic signaling was characterized by increased autophagy-related signaling, while no indications for sustained elevations in activity of the ubiquitin proteasome system (UPS) were found. The data on protein synthesis signaling showed increased Akt phosphorylation without activation of downstream targets such as mTOR or FOXO and points at a futile compensatory response to a catabolic milieu. Combined, the increased proteolytic signaling and impairment of anabolic signaling at the level of Akt can be the cause for the net loss of muscle mass in NSCLC cachexia.

In addition, exercise endurance was significantly declined in patients with NSCLC pre-cachexia. The decrease in muscle endurance does not correlate with adaptations of muscle oxidative or glycolytic metabolism, as none of these measures was altered in patients with pre-cachexia or cachexia. Furthermore, the current dissertation revealed that pre-cachexia can be considered an early stage of NSCLC cachexia with respect to phenotype, i.e. lean mass atrophy and muscle function and molecular signatures, i.e. systemic and local inflammatory signaling, and muscle protein turnover.

# Samenvatting



## Samenvatting

Kankercachexie is een paraneoplastisch fenomeen dat vaak optreedt bij niet-kleincellige longkanker. Het wordt gekenmerkt door progressief gewichtsverlies en buitenproportioneel spiermassaverlies. De aanwezigheid van kankercachexie heeft grote negatieve gevolgen voor patiënten met kanker. Zo is kankercachexie geassocieerd met een verhoogde toxiciteit van en een verlaagde respons op oncologische behandelingen, een verlaagde spierfunctie, een verminderde kwaliteit van leven en een verhoogde kanker-gerelateerde mortaliteit. Op dit moment zijn er geen effectieve behandelstrategieën die deze negatieve consequenties van kankercachexie kunnen voorkomen of reduceren. Hoewel bevindingen uit experimentele modellen het inzicht in de pathofysiologie van kankercachexie hebben vergroot, is het van essentieel belang om deze bevindingen te valideren in patiënten met verschillende stadia van kankercachexie. In dit proefschrift wordt een uitvoerig overzicht van het fenotype en de moleculaire karakteristieken van de verschillende stadia van kankercachexie beschreven in patiënten met niet-kleincellige longkanker.

### **Oesofagitis is niet de primaire oorzaak voor vroeg gewichtsverlies bij patiënten die behandeld worden met gelijktijdige chemoradiotherapie voor niet-kleincellige longkanker**

Gelijktijdige behandeling met chemotherapie en radiotherapie is de voorkeursbehandeling voor patiënten met stadium III niet-kleincellige longkanker. Deze behandeling gaat gepaard met een hoge incidentie van ernstige ontsteking van de slokdarm (oesofagitis). Er wordt vaak gedacht dat het gewichtsverlies dat optreedt tijdens gelijktijdige chemoradiotherapie een gevolg is van verminderde voedingsinname door oesofagitis. Echter, in de klinische praktijk werd opgemerkt dat het gewichtsverlies tijdens gelijktijdige chemoradiotherapie al lijkt op te treden voordat er sprake is van oesofagitis. Dit impliceert dat ook andere oorzaken bijdragen aan vroeg gewichtsverlies tijdens gelijktijdige chemoradiotherapie. In **hoofdstuk 2**, werd data over gewichtsverlies en oesofagitis verzameld in een retrospectieve en in een prospectieve studie. Er werd gevonden dat gewichtsverlies frequent optreedt tijdens gelijktijdige chemoradiotherapie bij patiënten met niet-

kleincellige longkanker, vroeg begint na start van chemoradiotherapie en onafhankelijk is van (chemo)radiotherapie-oesofagitis in de eerste weken van concurrent chemoradiatie. Daarnaast werd gevonden dat de totale calorische voedingsinname (bestaande uit spontane inname en bijvoeding) niet verminderd was gedurende gelijktijdige chemoradiotherapie, terwijl de spierkracht wel snel afnam na start van de therapie. Dit kan mogelijk het gevolg zijn van actieve afbraak van spierweefsel. De bevindingen uit deze studie wijzen erop dat (chemo)radiotherapie-oesofagitis niet verantwoordelijk is voor 'vroeg' gewichtsverlies tijdens gelijktijdige chemoradiotherapie en impliceren dat een vroeg startende en intensieve voedingsinterventie, mogelijk in een multimodaal behandelplan, gerechtvaardigd zou zijn voor optimale ondersteuning tijdens gelijktijdige chemoradiotherapie.

### **Spiermassaverlies in cachexie: kan eiwitrijke voeding de balans herstellen?**

Aangezien het een uitdaging is om kankercachexie te voorkomen of reduceren, is het belangrijk om de effectiviteit van interventies die op dit moment beschikbaar zijn te evalueren. In **hoofdstuk 3** wordt een literatuurstudie beschreven die de effectiviteit van eiwitrijke voeding op het reduceren van spieratrofie tijdens cachexie evalueert. Op basis van de beschikbare literatuur kan geconcludeerd worden dat eiwitrijke voeding (>1.5 g/kg per dag), eventueel in combinatie met anabole strategieën zoals fysieke training, spiermassa zou kunnen behouden of zelfs doen toenemen tijdens cachexie. Daarnaast werd geëvalueerd welk mechanisme mogelijk verantwoordelijk zou zijn voor een positief effect van eiwit of specifieke aminozuren op spiermassa. De literatuurstudie liet zien dat *in vitro* studies bewijs hebben gevonden voor een toename van spiereiwitaanmaak en afname van spiereiwitafbraak door (vertakte-keten) aminozuren in spiercellen. Echter, er zijn weinig gerandomiseerde studies zijn die het effect van een eiwitrijke voeding bij patiënten met cachexie hebben onderzocht.

De studies die het effect van eiwitrijke voeding op spierfunctie onderzochten lieten verschillende resultaten zien en er zijn tot nu toe geen studies die onderliggende moleculaire veranderingen in relatie tot spierfunctie hebben onderzocht. Om een definitieve conclusie te trekken over het effect van eiwitrijke voeding op spiermassa

en -functie tijdens (kanker) cachexie zijn aanvullende studies nodig in adequaat gekarakteriseerde patiëntengroepen.

### **Veranderingen in de spier tijdens de progressie van kankercachexie**

Vanaf **hoofdstuk 4** is een overzicht gegeven van (moleculaire) veranderingen met betrekking tot de aanmaak, afbraak en stofwisseling van de spier bij patiënten met verschillende stadia van kankercachexie bij niet-kleincellige longkanker. De patiënten in **hoofdstuk 4 en 6** werden gestratificeerd volgens de recente, internationale kankercachexie consensus. Hierdoor draagt dit proefschrift bij als een instrument voor standaardisering van deze kankercachexie classificatie.

### **Nuclear transcription factor $\kappa$ B activatie en veranderingen in eiwitmetabolisme in skeletspieren van patiënten met verschillende stadia van cachexie bij niet-kleincellige longkanker**

In **hoofdstuk 4** werd onderzocht of moleculaire veranderingen in eiwitstofwisseling die gevonden werden in experimentele modellen van kankercachexie ook geobjectiveerd konden worden in patiënten met (pre-) cachexie bij niet-kleincellige longkanker. De studie in **hoofdstuk 4** toonde dat spieratrofie in cachectische patiënten met longkanker geassocieerd is met een verhoogde systemische en lokale ontstekingsrespons, terwijl in patiënten met pre-cachexie intermediaire expressie van ontstekingsmarkers werd gevonden. Ook werd gevonden dat factoren aanwezig in het plasma van patiënten met zowel longkanker pre-cachexie als cachexie op spierniveau inflammatoire signalering kunnen stimuleren. Daarnaast werd gevonden dat de balans tussen spiereiwtaanmaak en -afbraak verstoord is, waarbij eiwitafbraak vergroot was als gevolg van verhoogde autofagie signalering, zonder veranderingen in het geanticipeerde proteolytische ubiquitine proteasoom systeem. Veranderingen in eiwtaanmaak werden gekarakteriseerd door een verhoogde fosforylering van het belangrijke anabole signaleringsmolecuul Akt. Er waren echter geen aanwijzingen voor een verhoogde fosforylering van fosfo-substraten van Akt, hetgeen wijst op een verstoorde respons in de spiereiwtaanmaak. Deze verstoorde respons in de spiereiwtaanmaak zou, in combinatie met de verhoogde

proteolytische activiteit, verantwoordelijk kunnen zijn voor een netto verlies aan spiermassa.

### **Pre-cachexie bij patiënten met stadium I–III niet-kleincellige longkanker: Systemische inflammatie en functieverlies zonder tekenen van activatie van het ubiquitine proteasoom systeem in de spier**

De fysieke conditie van patiënten met kanker is vaak verminderd. In **hoofdstuk 5** werd middels een fietsergometrie test de inspanningscapaciteit bij patiënten met pre-cachexie bij niet-kleincellige longkanker onderzocht. Deze studie toonde dat de inspanningscapaciteit significant verlaagd is bij patiënten met pre-cachexie bij niet-kleincellige longkanker, zonder dat er veranderingen waren in lichaamssamenstelling. Daarnaast werd een verhoogde systemische inflammatoire respons gevonden zonder tekenen van activatie van het ubiquitine proteasoom systeem in de spier. In **hoofdstuk 6** werd onderzocht of een verandering in de energie stofwisseling ten grondslag ligt aan de verminderde inspanningstolerantie in patiënten met pre-cachexie.

### **Het oxidatieve metabole fenotype is niet veranderd in de skeletspier van patiënten met kanker(pre-)cachexie bij niet-kleincellige longkanker**

In **hoofdstuk 6** werd onderzocht of de afname van oxidatief energie metabolisme dat werd gevonden in experimentele modellen van kankercachexie ook aanwezig is in patiënten met kanker(pre-)cachexie, en mogelijk verantwoordelijk is voor de verminderde inspanningscapaciteit die gevonden werd bij patiënten met pre-cachexie in **hoofdstuk 5**. In tegenstelling tot de bevindingen in experimentele studies werd in **hoofdstuk 6** gevonden dat er geen veranderingen zijn in het oxidatieve fenotype in patiënten met (pre-)cachexie bij niet-kleincellige longkanker, ondanks een duidelijk verhoogde inflammatoire respons. Zo werden er geen verschillen gevonden in zuurstofafhankelijke en niet-zuurstofafhankelijke vezelverdeling, de hoeveelheid mRNA transcripten van regulatoren van oxidatieve signalering, eiwitexpressie van mitochondriële complexen en activiteit van oxidatieve enzymen.

## Conclusie

In het huidige proefschrift zijn karakteristieken en moleculaire mechanismen van (pre-) cachexie in patiënten met niet-kleincellig longkanker onderzocht. Er werd aangetoond dat systemische en lokale inflammatie verhoogd is in patiënten met cachexie als gevolg van niet-kleincellige longkanker en dat factoren aanwezig in het plasma van patiënten met (pre-) cachexie lokale inflammatoire signalering in de spier kan induceren.

Met betrekking tot eiwitmetabolisme in de spier zijn er aanwijzingen gevonden voor verhoogde eiwitafbraak via autofagie signalering, zonder bewijs voor activatie van het ubiquitine proteasoom systeem. De data met betrekking tot eiwitaanmaak toonde een verhoogde fosforylering van Akt zonder activatie van de geassocieerde fosfo-substraten, hetgeen zou kunnen wijzen op een verstoorde respons in de eiwitaanmaak. De verhoogde eiwitafbraak en verstoring van eiwitaanmaak kunnen verantwoordelijk zijn voor het netto verlies van spierweefsel in patiënten met niet-kleincellige longkanker.

De spierfunctie, bestaande uit spierkracht en inspanningscapaciteit, was verlaagd in patiënten met (pre-) cachexie. Het verlies van inspanningscapaciteit lijkt niet te berusten op een verandering in oxidatief metabolisme van de spier bij patiënten met (pre-)cachexie als gevolg van niet-kleincellige longkanker.

Het huidige proefschrift toont verder dat pre-cachexie beschouwd kan worden als een vroeg stadium van cachexie met betrekking tot fenotype (spieratrofie en spierfunctie) en moleculaire veranderingen die betrekking hebben op systemische en lokale inflammatie alsook eiwitmetabolisme.