

Summary/Samenvatting

SUMMARY

COPD is the most common respiratory disease and a third leading cause of death worldwide. It is a complex disease with overlapping sub-phenotypes and epidemiological studies suggest that COPD is a consequence of the combination of cumulative exposure to external and internal factors and their interactions. Therefore, in order to understand the pathophysiology of COPD, I performed integrative studies to empower the development of preventive, diagnostic and therapeutic tools. The main aim of this thesis is to gain insight in the biological mechanisms by studying the functional role and interaction of multiple omics layers.

In **Chapter 2.1** I describe a genome-wide linkage scan, in search for rare genetic variants which have a role in familial COPD. I show that there is a significant linkage of genomic regions in chromosomes 5, 11 and 15 and identify novel rare variants in chromosome 11 region, shared among the COPD cases of the family (in *SLC22A11* and *MTL5*) which play a role in the disease. This study shows the importance of studying rare variants, which may have large effects, even if they are population specific. In **Chapter 2.2** I present a study, which investigates a functional role of chromosome 15q25 region variants, one of the most replicated COPD GWAS loci. I show that variants in *IREB2*, *HYKK* and *CHRNA3* genes exert effects on DNA methylation in blood, relevant to COPD, and gene expression in lung tissue. Similarly, **Chapter 2.3** I investigate a top variant from novel locus on 19q13 (*EGLN2* gene), identified in COPD GWAS, and show that genetic variations underlying *EGLN2* DNA methylation contribute to the risk of developing COPD, by mediating the genetic effects on *EGLN2* expression. The associations identified in **Chapters 2.2 and 2.3** are independent of smoking, which puts forward a genetic driven pathway of DNA methylation implicated in COPD which may be used as a target for a more personalized and focused treatment approach. In **Chapter 2.4** I describe a study of lung function levels in relation to DNA methylation in never-smokers and show a specific DNA methylation pattern, again independent of smoking.

In **Chapter 3.1** I describe a large meta-analysis of epigenome-wide DNA methylation studies of lung function at birth and show that 59 DMRs associate with lung function at birth of which some also affect lung function, asthma and COPD in later life. This study goes in line with the hypothesis that DNA methylation landscape at birth can predispose a person for COPD in later life. In **Chapter 3.2** I study circulating metabolites in relation with COPD and FEV₁/FVC and show importance of Glycoprotein acetyls (GlycA). The MR results show, for the first time, that higher levels of GlycA are a pre-diagnostic biomarker of COPD. The results suggest that COPD shows a specific metabolomics signature related to systemic inflammation. This

study underlines that metabolomics studies are important to provide a rationale for innovative personalized treatments in patients with COPD. In **Chapter 3.3** I briefly highlight significant genetic overlap between COPD and several comorbid diseases. COPD was not only positively correlated with pulmonary comorbidity, but also to various cardio-metabolic diseases (carotid artery disease, heart attack, hypertension, and diabetes), psychiatric diseases (depression, attention deficit hyperactivity disorder and schizophrenia) and autoimmune intestinal diseases. I further study the epigenetic mechanisms which play a role in the COPD and depression and may explain their co-occurrence. In **Chapter 3.4** I further investigate DNA methylation patterns specific for depression in a largest to date EWAS study in Cohorts for Heart and Aging Research in Genomic Epidemiology (CHARGE) consortium. I identify three DNA methylation sites associated with depressive symptoms, which point towards the axon guidance as the common disrupted pathway in depression. One of the genes differentially methylated in depression (*CDC42BPB*) has also been implicated in COPD.

Finally, in the **Chapter 4** I discuss the main findings of this thesis, challenges, possible clinical implications and future directions. In general, the findings of this thesis identify and improve the understanding of the role of specific risk factors for COPD and hopefully highlight the importance of combining the knowledge on multiple omics layers to investigate such a complex and important disease. I hope that such studies can lead to the development of better and more precise prevention of COPD.

SAMENVATTING

COPD (Chronische Obstructieve Longziekte) is de meest voorkomende longziekte en wereldwijd komt COPD op de derde plaats van ziekten die de hoogste sterfte veroorzaken. Het is een complexe ziekte met overlappende subfenotypen en epidemiologische studies suggereren dat COPD een gevolg is van de combinatie van cumulatieve blootstelling aan externe en interne factoren en hun interacties. Daarom heb ik, om de pathofysiologie van COPD te begrijpen, integratieve studies uitgevoerd om de ontwikkeling van preventieve, diagnostische en therapeutische hulpmiddelen mogelijk te maken. Het belangrijkste doel van dit proefschrift is om inzicht te krijgen in de biologische mechanismen door het bestuderen van de functionele rol en interactie van meerdere omics-lagen.

In **Hoofdstuk 2.1** beschrijf ik een genomwijde linkage scan, waarbij ik op zoek ging naar zeldzame genetische varianten die een rol spelen bij familiale COPD. Ik laat zien dat er een significante koppeling van genomische gebieden op chromosomen 5, 11 en 15 is. Daarnaast heb ik aangetoond dat nieuwe zeldzame varianten op chromosoom 11 (in *SLC22A11* en *MTL5*) een rol spelen in de ziekte. Deze zeldzame varianten komen voor bij alle COPD patiënten van de familie die ik heb onderzocht. Deze studie toont hiermee het belang aan van het bestuderen van zeldzame varianten die grote effecten kunnen hebben, zelfs als ze populatiespecifiek zijn. In **Hoofdstuk 2.2** laat ik een studie zien waarin ik een functionele rol onderzoek van varianten op chromosoom 15q25, een van de meest gerepliceerde COPD genomwijde associatie studies (GWAS) loci. Ik laat zien dat varianten in *IREB2*, *HYKK* en *CHRNA3* genen effect hebben op de DNA-methylatie in het bloed, wat relevant is voor COPD en genexpressie in longweefsel. Evenzo onderzoek ik in **Hoofdstuk 2.3** een topvariant van een nieuw gevonden locus op 19q13 (*EGLN2* gen) in een COPD GWAS, en laat zien dat genetische variaties die ten grondslag liggen aan DNA-methylatie in *EGLN2* bijdragen aan het risico op het ontwikkelen van COPD, door hun rol als mediators op de genetische effecten op *EGLN2*-expressie. Vervolgens laat ik in **Hoofdstukken 2.2 en 2.3** zien dat de gevonden associaties onafhankelijk zijn van roken, wat duidt op een pathway gedreven door genetische varianten die belangrijk zijn bij DNA methylatie in COPD. Deze bevinding kan mogelijk gebruikt worden voor een meer gepersonaliseerde en gerichte behandeling. In **Hoofdstuk 2.4** beschrijf ik een studie van longfunctieniveaus in relatie tot DNA-methylatie bij niet-rokers en laat ik een specifiek DNA-methylatiepatroon zien, wederom onafhankelijk van roken.

In **Hoofdstuk 3.1** beschrijf ik een grote meta-analyse van epigenomwijde DNA-methylatiestudies van de longfunctie bij de geboorte. Ik laat zien dat er 59 gebieden zijn met verschillen in DNA methylatie die associëren met de longfunctie

bij de geboorte. Hiervan beïnvloeden sommige ook de longfunctie, astma en COPD op latere leeftijd. Deze studie sluit aan bij de hypothese dat het DNA-methylatie landschap bij de geboorte een persoon vatbaarder kan maken voor het ontwikkelen van COPD op latere leeftijd. In **Hoofdstuk 3.2** onderzoek ik de relatie tussen circulerende metabolieten in het bloed en COPD en FEV₁/FVC en toon ik het belang aan van Glycoproteïne acetyls (GlycA). De resultaten van de Mendeliaanse randomisatie studie laten voor het eerst zien dat hogere GlycA concentraties een pre-diagnostische biomarker van COPD zijn. De resultaten suggereren dat COPD een specifieke metabolomische signatuur vertoont die samenhangt met systemische ontsteking. Deze studie benadrukt dat metabolomische onderzoeken belangrijk zijn voor innovatieve gepersonaliseerde behandelingen bij patiënten met COPD. In **Hoofdstuk 3.3** belicht ik kort een significante genetische overlap tussen COPD en verschillende comorbide aandoeningen. COPD was niet alleen positief gecorreleerd met pulmonale comorbiditeit, maar ook met verschillende cardio-metabole ziekten (halsslagaderziekte, hartaanval, hypertensie en diabetes), psychiatrische ziekten (depressie, attention deficit hyperactivity disorder en schizofrenia) en auto-immuunziekten van het gastro-intestinale stelsel. Verder bestudeer ik in dit hoofdstuk de epigenetische mechanismen die een rol spelen bij COPD en depressie en die mogelijk hun gelijktijdig voorkomen verklaren. In **Hoofdstuk 3.4** onderzoek ik DNA-methylatiepatronen specifiek voor depressie in de tot nu toe grootste epigenoom-wijde associatie studie in het CHARGE (Cohorten voor Hart- en Verouderingsonderzoek in Genomische Epidemiologie) consortium. In deze studie identificeer ik drie DNA-methylatie posities die geassocieerd zijn met depressieve symptomen. Dit wijst erop dat de geleiding van axonen vaak verstoord is bij depressie. Daarnaast is één van de genen met verschillen in DNA methylatie status in depressie (*CDC42BPB*) ook betrokken bij COPD.

Tot slot bespreek ik in **Hoofdstuk 4** de belangrijkste bevindingen van dit proefschrift, de uitdagingen, de mogelijke klinische implicaties en de toekomstige richtingen. In het algemeen vergroten en verbeteren de bevindingen van dit proefschrift ons begrip in de rol van specifieke risicofactoren voor COPD. Hopelijk benadrukt dit het belang van het combineren van de kennis verkregen via meerdere omics-lagen bij het onderzoeken van deze complexe en belangrijke ziekte. Ik hoop dat zulke studies tot de ontwikkeling van een betere en preciezere preventie van COPD kunnen leiden.