

PEC-1 ANÁLISIS DE DATOS ÓMICOS

Jose Manuel Mulero Martínez

Contents

Introducción	1
Métodos	1
Selección y descarga del dataset	2
Clase SummarizedExperiment	2
Resultados	3
Estructura	4
Datos faltantes	4
Heatmap	4
Análisis de componentes principales (PCA)	6
Cluster dendrogram	7
Comparación de la expresión entre grupos	7
Discusión	8
Referencias	9

Introducción

En esta PEC se pondrá en práctica lo aprendido hasta el momento en la asignatura. Se requerirá el uso de GitHub y de distintos paquetes de Bioconductor. Los objetivos de esta práctica son:

- Seleccionar, descargar y realizar un análisis exploratorio de un dataset.
- Conocer la clase SummarizedExperiment.
- Crear un repositorio de GitHub con los archivos indicados en el enunciado de la PEC.

Métodos

A continuación se expone cómo se ha descargado el dataset y el formateo necesario de los datos para crear el objeto de clase SummarizedExperiment, así como la explicación de esta clase.

Selección y descarga del dataset

Se ha procedido a la descarga del dataset `human_cachexia` a partir del repositorio de github aportado por el profesor.

```
url<-"https://raw.githubusercontent.com/nutrimetabolomics/metaboData/refs/heads/main/Datasets/2024-Cachexia"
dataset<-"human_cachexia.csv"
download.file(url,dataset)
datos<-read.csv(dataset)
colnames(datos)
```

```
## [1] "Patient.ID" "Muscle.loss"
## [3] "X1.6.Anhydro.beta.D.glucose" "X1.Methylnicotinamide"
## [5] "X2.Aminobutyrate" "X2.Hydroxyisobutyrate"
## [7] "X2.Oxoglutarate" "X3.Aminoisobutyrate"
## [9] "X3.Hydroxybutyrate" "X3.Hydroxyisovalerate"
## [11] "X3.Indoxylsulfate" "X4.Hydroxyphenylacetate"
## [13] "Acetate" "Acetone"
## [15] "Adipate" "Alanine"
## [17] "Asparagine" "Betaine"
## [19] "Carnitine" "Citrate"
## [21] "Creatine" "Creatinine"
## [23] "Dimethylamine" "Ethanolamine"
## [25] "Formate" "Fucose"
## [27] "Fumarate" "Glucose"
## [29] "Glutamine" "Glycine"
## [31] "Glycolate" "Guanidoacetate"
## [33] "Hippurate" "Histidine"
## [35] "Hypoxanthine" "Isoleucine"
## [37] "Lactate" "Leucine"
## [39] "Lysine" "Methylamine"
## [41] "Methylguanidine" "N.N.Dimethylglycine"
## [43] "O.Acetylcarnitine" "Pantothenate"
## [45] "Pyroglutamate" "Pyruvate"
## [47] "Quinolate" "Serine"
## [49] "Succinate" "Sucrose"
## [51] "Tartrate" "Taurine"
## [53] "Threonine" "Trigonelline"
## [55] "Trimethylamine.N.oxide" "Tryptophan"
## [57] "Tyrosine" "Uracil"
## [59] "Valine" "Xylose"
## [61] "cis.Aconitate" "myo.Inositol"
## [63] "trans.Aconitate" "pi.Methylhistidine"
## [65] "tau.Methylhistidine"
```

Observemos que las dos primeras columnas son `Patient.ID` y `Muscle.loss`, el resto de columnas corresponden al nivel de expresión de distintos metabolitos. En la creación del objeto de clase `SummarizedExperiment` deberemos de formatear estos datos para ajustarlo a los requisitos de la clase.

Clase `SummarizedExperiment`

La clase `SummarizedExperiment` permite guardar matrices rectangulares de resultados experimentales normalmente obtenidos mediante experimentos de secuenciación. La clase garantiza la sincronía entre los `meta-data` y las observaciones ya que coordina ambos a la hora de crear subconjuntos. `SummarizedExperiment`

es un contenedor tipo matriz donde las filas representan características de interés y las columnas son las muestras.

Esta clase es similar en muchos aspectos a la clase ExpressionSet pero, la principal diferencia es que la clase SummarizedExperiment es más flexible en la información de las filas.

Para la creación de la clase SummarizedExperiment a partir del dataset human_cachexia.csv se ha formateado el dataset siguiendo los siguientes pasos:

1. Se da formato de matriz a los datos a excepción de la columna 1 y 2 (Patient.ID y Muscle.loss).

```
suppressMessages(library(SummarizedExperiment))
assayData<-as.matrix(datos[, -c(1:2)])
```

2. Se transpone la matriz para que las filas sean los metabolitos y las columnas las muestras.

```
assayData<-t(assayData)
```

3. Se asignan a la matriz los nombres de las filas a los metabolitos.

```
rownames(assayData)<-colnames(datos)[-c(1:2)]
```

4. Se asignan a la matriz los nombres de las columnas a las muestras.

```
colnames(assayData)<-datos$Patient.ID
```

5. Se crea el DataFrame de Bioconductor para almacenar los metadatos de la columna Muscle.loss.

```
columnData<-DataFrame(Muscle.loss=datos$Muscle.loss)
```

6. Se asigna como nombre de las filas del DataFrame la columna Patient.ID.

```
rownames(columnData)<-datos$Patient.ID
```

7. Se crea el objeto SummarizedExperiment (summarized_experiment_cachexia.Rda) siendo el assay la matriz con los datos (datos_cachexia.csv) y colData los metadatos del DataFrame (metadatos_cachexia.csv).

```
se<-SummarizedExperiment(assays=list(counts=assayData), colData=columnData)
```

Resultados

A continuación se exponen los resultados del análisis exploratorio del dataset en base a lo visto en las actividades de la asignatura.

Estructura

El objeto se de la clase SummarizedExperiment presenta la siguiente estructura:

clase	SummarizedExperiment	Objeto de la clase SummarizedExperiment, que es utilizada en Bioconductor para almacenar datos ómicos
dimensión	63 77	63 es el numero de filas en assayData, filas que corresponden a los metabolitos analizados. 77 es el número de columnas de assayData que corresponden a las muestras.
metadata	0	Indica que no hay agregada información general a estos datos.
assays	1 counts	Nos indica que el objeto contiene una matriz de datos llamada counts.
rownames	Glucose ...	Muestras los nombres de las 63 filas, los nombres corresponden a los metabolitos.
rowData	0	Indica que no hay información extra sobre los metabolitos.
colnames	PIF_178 ...	Muestra los nombres de las 77 columnas, corresponden a los ID de los pacientes.
colData	names 1 Muscle.loss	Indica que hay una columna de metadatos en colData(se). Muscle.loss es la unica variable almacenada y nos indica si cada paciente tiene cachexia o no.

Datos faltantes

No se han encontrado valores faltantes entre los datos.

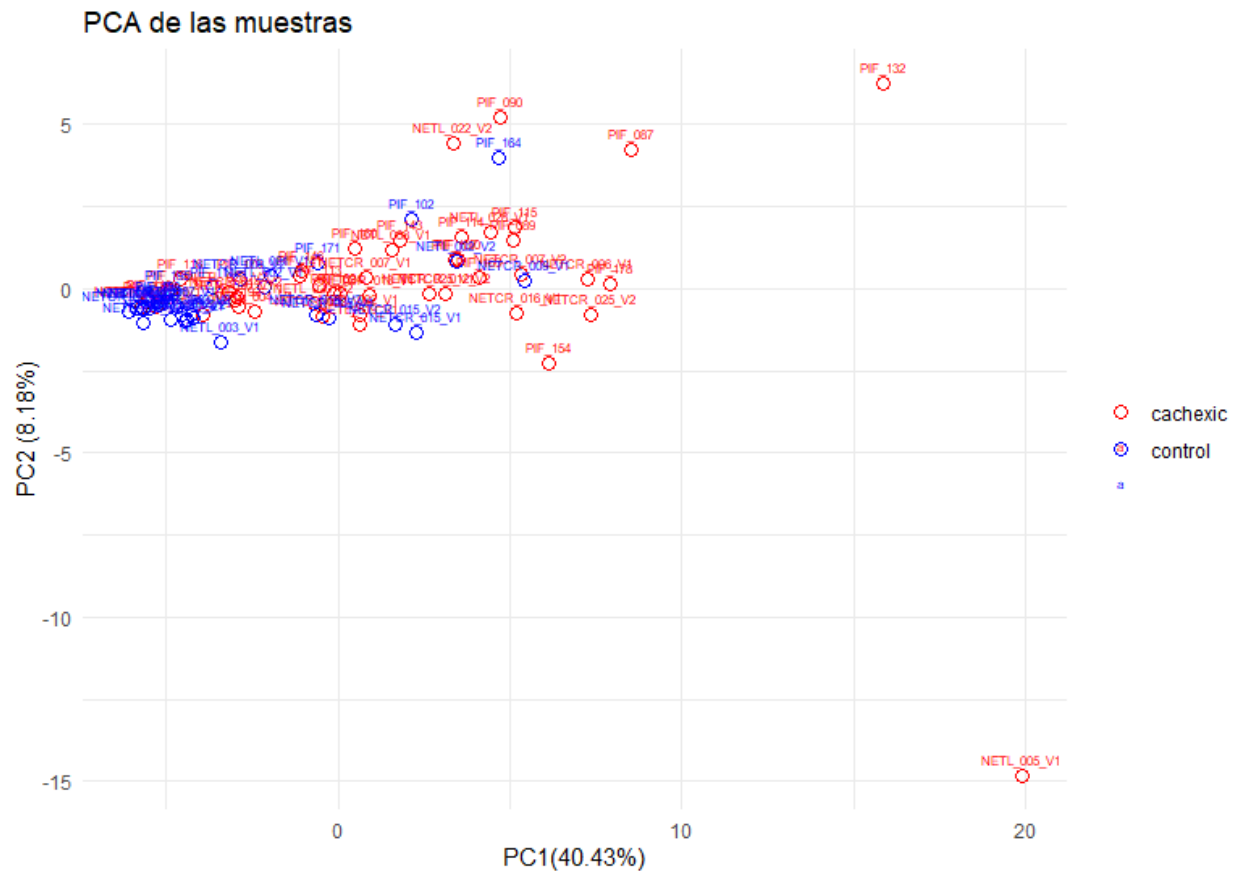
Heatmap

Comparación de muestras de pacientes con cachexia y pacientes control: los datos han sido escalados por filas con la función `scale()` para observar claramente la diferencia de expresión de metabolitos. Con la función `scale` convertimos los valores de cada metabolito para que tengan media 0 y desviación estándar 1, esto hará que los valores que estén por encima de la media se pinten en rojo y los valores por debajo en azul. El usar `scale()` evita que los valores muy grandes o muy pequeños generen ruido con la escala de colores. También, los datos se han dividido en controles y cachexic en función de los metadatos de `colData`. Este heatmap permite ver gráficamente la expresión diferencial de los metabolitos en las muestras del assay.



Observamos diferencias de expresión de metabolitos en controles vs cachexic, así mismo, dentro de cada grupo también tenemos diferentes patrones de expresión: tenemos muestras con altos valores de expresión y muestras con valores más bajos. Se pueden observar estas diferencias gracias a los gradientes de colores y también en los cluster de la parte superior; por ejemplo, podemos ver que aquellas muestras cachexic con menor expresión de metabolitos se agrupan juntas.

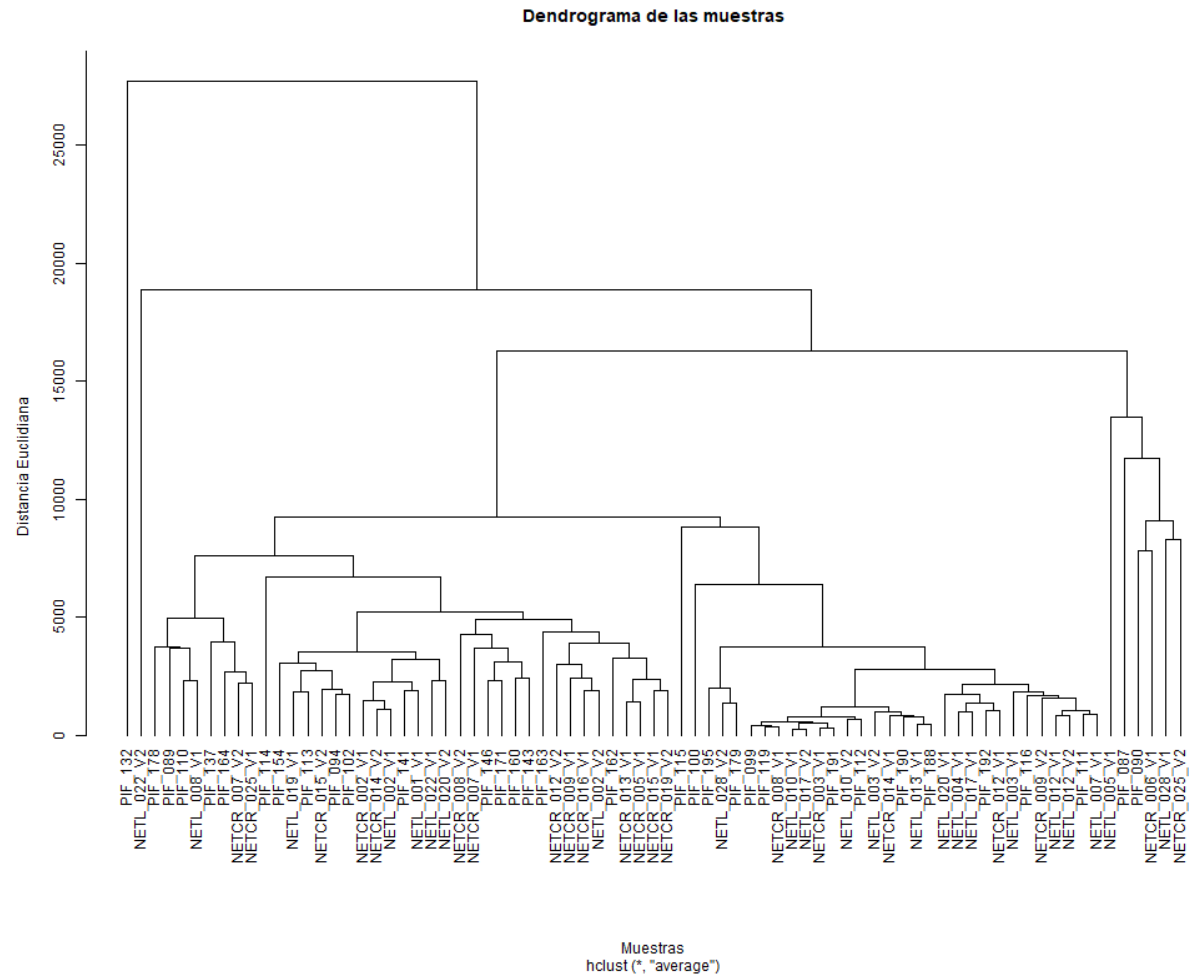
Análisis de componentes principales (PCA)



Observamos que las dos primeras componentes tan solo explican un 49% de la variabilidad de los datos. También podemos ver que hay cierta agrupacion de las muestras control y cachexic, aunque estas ultimas se dispersan más.

La creatinina, la glutamina, la etanolamina, la asparagina y la treonina son los 5 metabolitos que más contribuyen a la PC1 (un 85% en total).

Cluster dendrogram

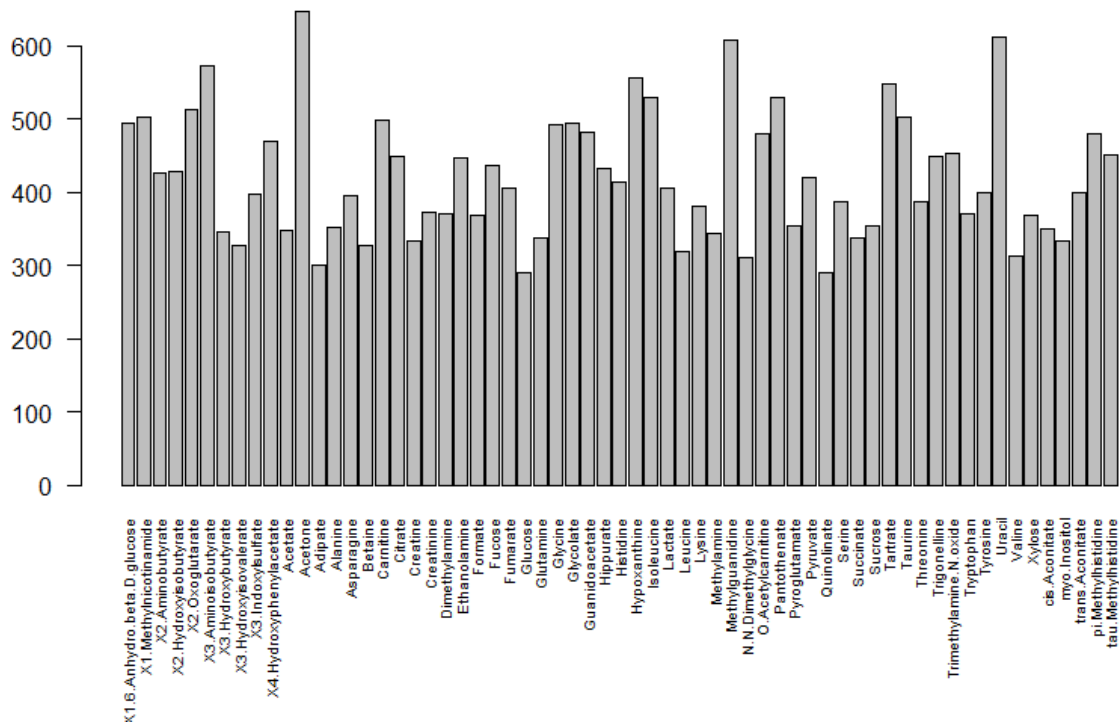


Se observa que las muestras se agrupan por similitud de perfiles de expresión metabólicos.

Comparación de la expresión entre grupos

A continuación, vamos a estudiar si hay expresión diferencial de metabolitos entre los dos grupos. Se realiza un test de Wilcoxon y se representa la distribución de los valores del estadístico de Wilcoxon obtenidos en un histograma.

Estadístico de Wilcoxon por metabolito entre control y cachexia



Observamos las diferencias de expresión de cada metabolito en los grupos. Los picos representan metabolitos con gran diferencia entre los grupos. Los picos positivos indican que el metabolito es más abundante en el grupo control y los picos negativos abundancia en el grupo cachexia. Los valores cercanos a 0 indica que no hay diferencia significativa entre los grupos.

Discusión

- Estructura de los datos: el dataset elegido carecía de metadata. Los únicos metadatos que se han asignado han sido la columna Muscle.loss a su correspondiente Patient.ID. En general, se podía haber completado más el objeto añadiendo más metadatos a colData como por ejemplo la edad del paciente. Los valores del assay estaban ya bastante depurados por lo que no había valores faltantes.
- Heatmap: se observan diferentes perfiles de expresión entre metabolitos de los controles y los enfermos. Así mismo, también se observan diferencias entre las muestras dentro de cada grupo, hay cierta heterogeneidad ya que vemos que dentro de los cachexic hay perfiles con mayor y con menor expresión.
- PCA: las dos primeras componentes principales no llegan a explicar ni el 50% de la varianza. Cada punto representa una muestra. La agrupación de los puntos indica similitud entre muestras y la separación sugiere distintos perfiles metabólicos. Como se ha observado en el heatmap, puede ser que la heterogeneidad dentro de los grupos se observe en este gráfico ya que aunque se observa separación entre los dos grupos, hay muestras de ambos grupos que se aproximan. También puede ser que las dos componentes principales no sean suficientes para separar debidamente las muestras y por eso vemos ciertas muestras agrupadas.
- Cluster dendrogram: en general, observamos un patrón como en el PCA, las muestras se agrupan pero no dejan de tener perfiles metabólicos diferentes. La agrupación divide las muestras en controles y cachexia entorno a la distancia 1000. El resto de agrupaciones se puede deber a la disparidad de perfiles metabólicos entre muestras y dentro de los mismos grupos.

- Comparación de la expresión entre grupos: se realiza la prueba no paramétrica de Wilcoxon para obtener los estadísticos ya que el grupo control y el grupo cachexia no tienen el mismo tamaño. Los picos en el histograma representan metabolitos con un mayor estadístico lo que sugiere diferencias de expresión entre los grupos. Por ejemplo, aquellos metabolitos con una diferencia significativa entre grupos podrían usarse de marcadores para diferencias controles de enfermos. Algunos metabolitos como acetona, uracilo y metilguanidinio, entre otros, presentan picos en el histograma. Que la expresión de estos metabolitos sea significativa o no requiere realizar otros test estadísticos.
- Repositorio de GitHub (1): en el repositorio se encontrarán los siguientes documentos:
 - Codigo.R: código usado para el realizar esta PEC.
 - Informe_PEC1: en formato .Rmd y .pdf.
 - datos_cachexia.csv: datos formateados para crear el SE.
 - Descripción de los metadatos.Rmd: breve descripción de los metadatos (colData)
 - metadatos_cachexia.csv: columna con metadatos.
 - summarized_experiment_cachexia.Rda: objeto de clase SE creado.
 - Imágenes de los gráficos: heatmap.pdf, pcaplot.png y dendrograma_muestras.png

Referencias

1. Repositorio de GitHub
2. Morgan M, Obenchain V, Hester J, Pagès H. SummarizedExperiment for coordinating experimental assays, samples, and regions of interest [Internet]. Bioconductor.org. [cited 2025 Mar 22]. Available from: