Informe PEC1 Análisis de datos ómicos

Mario Them Álvarez

2025-04-01

Contents

Resumen

En el presente trabajo se ha escogido un set de datos del repositorio Metabolomics Workbench (1) que analiza la lipidomica y metabolomica de muestras de plasma EDTA de dos grupos de pacientes con neumonia interesticial y lobar, respectivamente, con igual presencia de sexos. En primer lugar, se ha creado un objeto de tipo SummarizedExperimment, que contiene los datos y metadatos del estudio. Luego, se ha realizado un análisis exploratorio de los datos del estudio, utilizando técnicas estadísticas como PCA, cluster annalysis y distintas visualizaciones gráficas, como boxplots o histogramas, con el objetivo de obtener una visión general del estudio. Los resultados de este análisis exploratorio muestran algunos metabolitos desregulados en ambos grupos, así como una ligera diferencia entre los grupos, lo cual da indicaciones sobre la dirección de los análisis estadísticos a realizar sobre este set de datos, que sirvan para determinar si estas diferencias son significativas. También muestra posibles outliers en los datos.

Objetivos

- Conocer y crear un objeto de tipo SummarizedExperiment de 0.
- Poner en práctica distintas técnicas estadísticas de análisis de datos multivariante sobre un conjunto de datos real.
- Determinar si existen grupos de observaciones en el set de datos elegido, y si corresponden con los grupos del estudio.

Métodos

Los datos del presente trabajo se han obtenido de un set de datos de Metabolomics Workbench (2). Los datos son mediciones de 114 marcadores lipoproteicos y 24 metabolitos de 21 individuos con neumonia lobar y 24 con neumonia intersticial. Se han medido mediante resonancia magnetica nuclear, y se encuentran expresados en unidades arbitrarias(AU).

Los datos se han descargado en forma de un archivo .txt en formato mwtab, que es un formato ampliamente utilizado en análisis metabolomicos, ya que permite agrupar los metadatos y datos del estudio en el mismo archivo. Los datos se han analizado utilizando el programa Rstudio, con versión de R 4.4.3., el código de los análisis se encuentra en un repositorio de github (3).

Para facilitar el procesado de este archivo en R, se ha utilizado la libreria metabolomicsWorkbenchR de Bioconductor, que permite realizar querys a la base de datos Metabolomics Workbench, especificando el tipo de datos a obtener(factores,mwtab...) y un id de estudio.

Para la creación del SummarizedExperiment y el acceso a sus slots, se ha utilizado el constructor SummarizedExperiment() de la libreria del mismo nombre de Bioconductor.

Para el análisis exploratorio de los datos, se han usado funciones de gráficos básicas en R como boxplot o hist, asi como funciones del paquete ggplot2 y del paquete car. En cuanto a las técnicas estadísticas de este análisis, se ha realizado un análisis de componentes principales(PCA) y un cluster jerarquico. La visualizacion de los resultados de estos análisis se ha hecho mediante funciones del paquete factoextra.

Resultados

En primer lugar, se realizan las querys para obtener los datos de Metabolomics Workbench, descargandose por un lado el mwtab entero y por el otro cada uno de las secciones correspondientes, para facilitar el acceso a los datos de interés:

```
# Se descarga el mwtab del estudio seleccionado
mwtab <- do_query(context = "study", input_item = "study_id",
    input_value = "ST003674", output_item = "mwtab")
# Se descargan los datos experimentales del estudio
datos <- as.data.frame(do_query(context = "study", input_item = "study_id",
    input_value = "ST003674", output_item = "data"))
# Se descargan los datos de las muestras
datos_muestras <- as.data.frame(do_query(context = "study", input_item = "study_id",
    input_value = "ST003674", output_item = "factors"))
# Se descargan los datos de los metabolitos
datos_metabolitos <- as.data.frame(do_query(context = "study",
    input_item = "study_id", input_value = "ST003674", output_item = "metabolites"))
```

Después, se crean los distintos slots del objeto SummarizedExperiment y se construye el objeto:

```
# Se construye el slot assay
assay<-datos[ ,c(4,8:52)]
for(i in seq(1,45)){
  colnames<- c(colnames, mwtab$SUBJECT_SAMPLE_FACTORS[[i]][[2]])
}
colnames(assay)<-colnames[1:46]
rownames(assay)<-assay[ ,1]
assay <- assay[ ,-1]
# Se construye el slot colData
colData <- datos_muestras[ ,c(2:4,8:9)]
colData <- colData[order(colData$ST003674.local_sample_id),]
colData <- colData[ ,-1]
```

```
# Se construye el slot rowData
rowData<-data.frame(datos_metabolitos[ ,1:4])
rowData$metabolite_name<-rownames(assay)
# Se construye el objeto de tipo SummarizedExperiment
st003674<-SummarizedExperiment(
  assay = assay,
  rowData = rowData,
  colData = colData,
  metadata = mwtab$STUDY)
```

Tras la creación del objeto de tipo SummarizedExperiment, podemos proceder con la exploración de los datos.

Exploración general

En primer lugar, se inspeccionan las dimensiones del slot assay, que contiene los datos experimentales:

```
dim(assay(st003674))
```

```
## [1] 139  45
```

Se trata de un data frame de 139 filas y 45 columnas. El siguiente paso sería ver de qué se tratan estas columnas y filas:

```
head(rownames(assay(st003674)))
```

```
## [1] "3-Hydroxybutyric_acid" "Acetic_acid"           "Acetoacetic_acid"
## [4] "Acetone"               "ApoA1(HDL)"            "ApoA1(HDL1)"
```

```
head(colnames(assay(st003674)))
```

```
## [1] "P_762" "P_763" "P_764" "P_765" "P_766" "P_767"
```

Las filas se corresponden a los metabolitos analizados, mientras que las columnas corresponden cada uno a un paciente, codificado como P_+3 números.

En cuanto a los datos, se realiza un resumen numérico de las 5 primeras columnas:

```
summary(assay(st003674)[1:5])
```

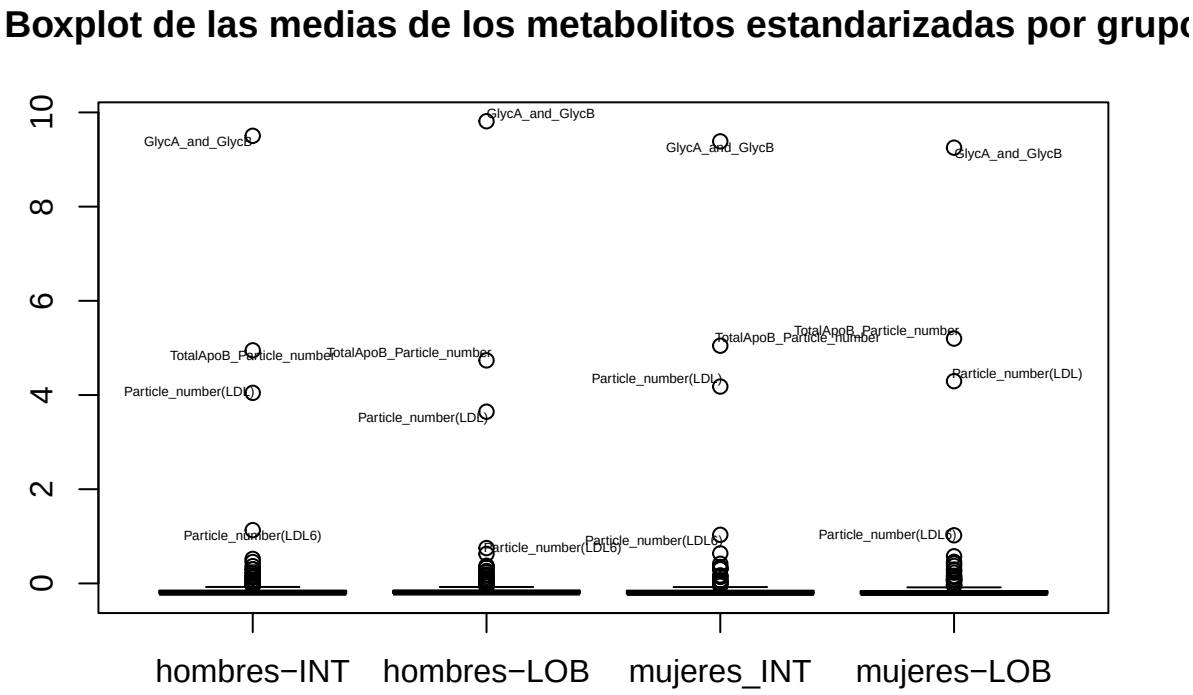
```
##      P_762              P_763              P_764              P_765
##  Min.   :   0.003   Min.   :   0.002   Min.   :   0.008   Min.   :   0.004
##  1st Qu.:   3.340   1st Qu.:   2.952   1st Qu.:   2.480   1st Qu.:   1.168
##  Median :   9.050   Median :   9.900   Median :  10.810   Median :   4.985
##  Mean   :  78.872   Mean   : 108.478   Mean   : 106.737   Mean   :  58.110
##  3rd Qu.:  24.840   3rd Qu.:  25.390   3rd Qu.:  26.137   3rd Qu.:  19.685
##  Max.   :2504.032   Max.   :5088.185   Max.   :4191.484   Max.   :3560.720
##  NA's   :2                             NA's   :1          NA's   :3
##      P_766
##  Min.   :   0.009
##  1st Qu.:   2.485
##  Median :   9.080
##  Mean   :  84.764
##  3rd Qu.:  27.795
##  Max.   :2930.434
##
```

Esto nos muestra varias cosas:

- Por un lado, que hay valores faltantes (NAs), por lo que sería necesario decidir como se tratan esos valores, si imputarlos o ignorarlos a la hora de realizar los análisis estadisticos.
- Por el otro, que los valores tienen un rango bastante amplio (de apenas superior a 0 hasta poco más de 5000 AU), por lo que sería conveniente estandarizarlos o normalizarlos de alguna forma para facilitar el análisis.

Boxplot

Sabiendo esto último, se realiza un boxplot de los valores medios de los distintos metabolitos por grupo experimental. Se agrupan los datos por grupo experimental para mejorar la visualización de los mismos, ya que son muchos pacientes. Los valores medios se han estandarizado dividiendolos entre la media experimental por grupo, también con el objetivo de facilitar la visualización:



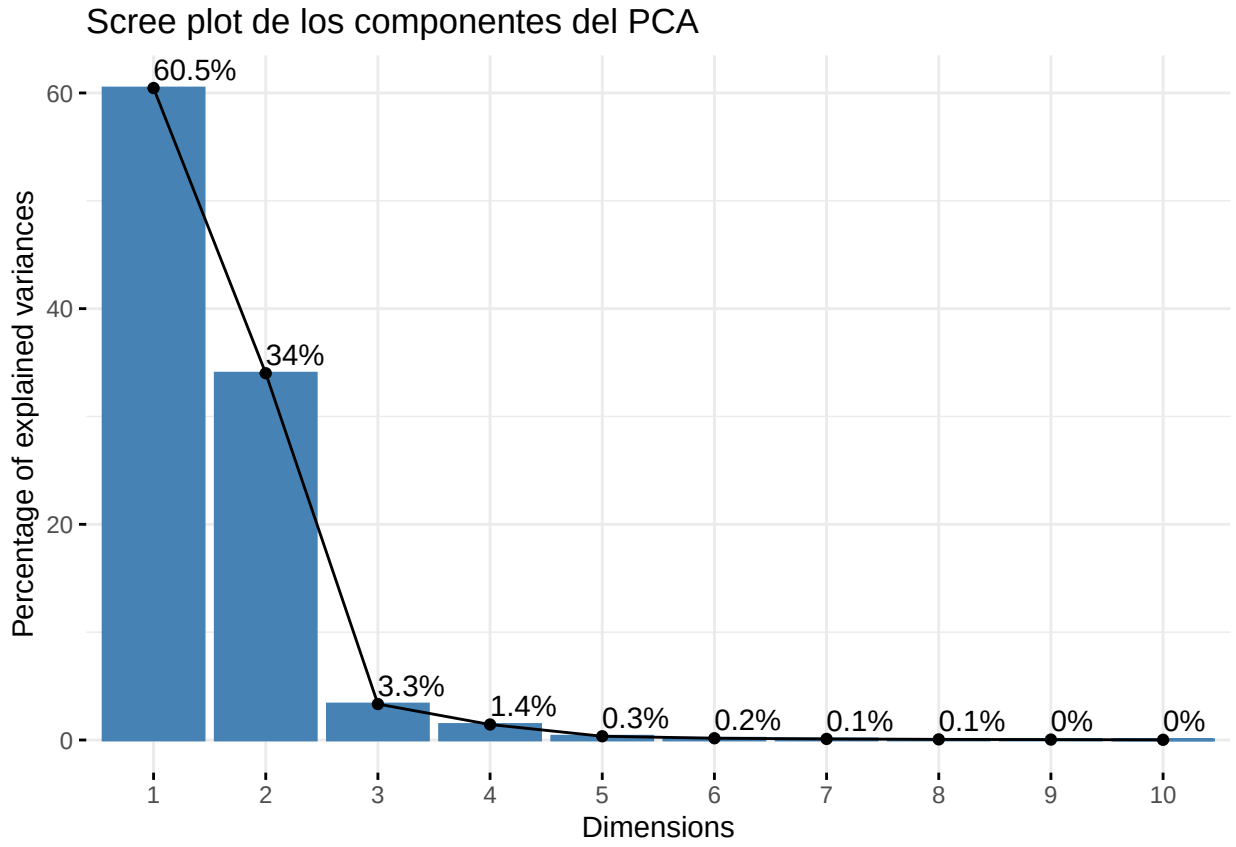

```
##  [1] "GlycA_and_GlycB"          "TotalApoB_Particle_number"
##  [3] "Particle_number(LDL)"     "Particle_number(LDL6)"
##  [5] "GlycA_and_GlycB"          "TotalApoB_Particle_number"
##  [7] "Particle_number(LDL)"     "Particle_number(LDL6)"
##  [9] "GlycA_and_GlycB"          "TotalApoB_Particle_number"
## [11] "Particle_number(LDL)"     "Particle_number(LDL6)"
## [13] "GlycA_and_GlycB"          "TotalApoB_Particle_number"
## [15] "Particle_number(LDL)"     "Particle_number(LDL6)"
```

Como se puede observar, hay algunos metabolitos con unos niveles más altos que el resto en todos los grupos. Serían candidatos para su comparación con los niveles en personas sin neumonía.

PCA

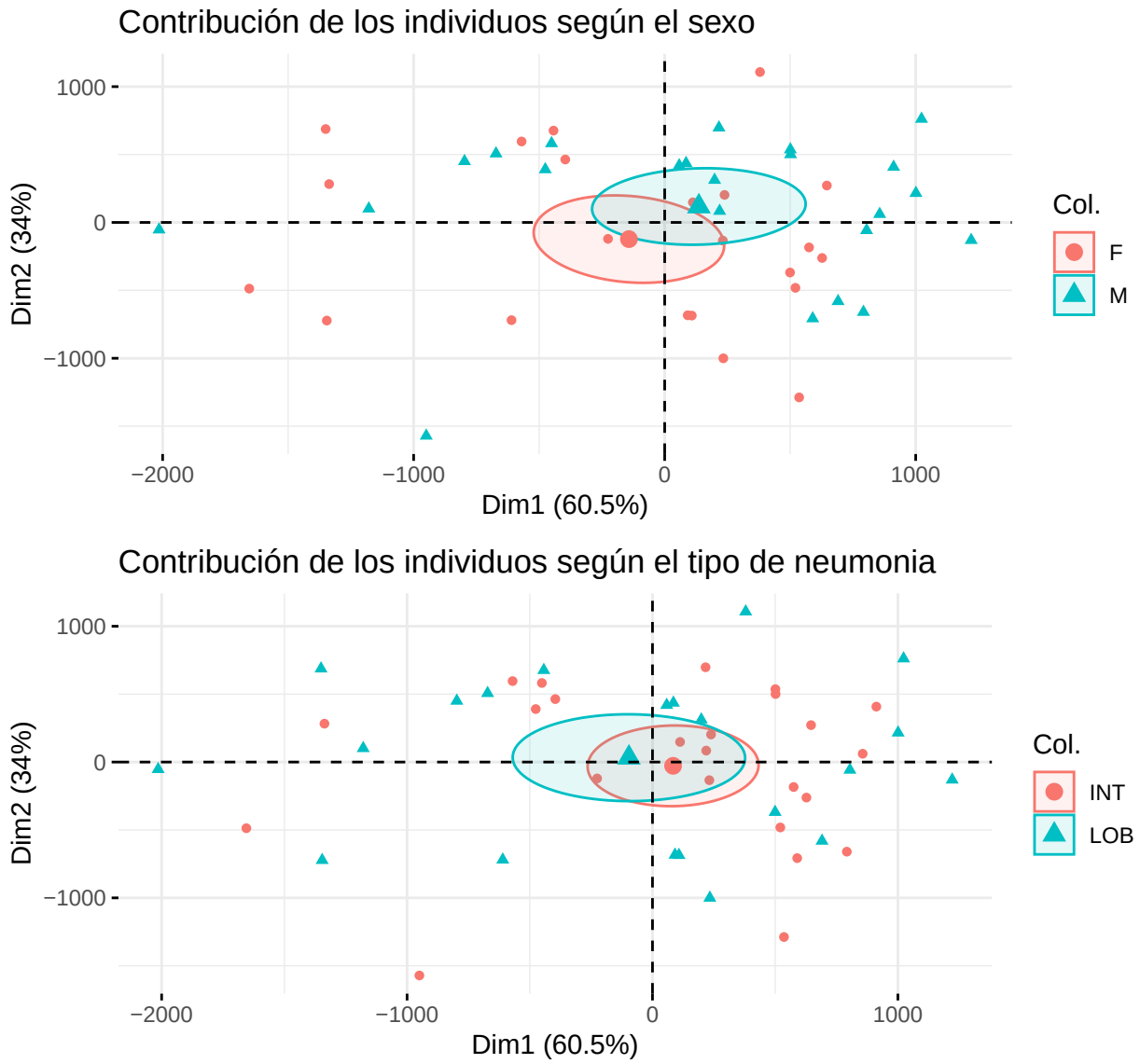
Para continuar, se realiza un análisis de componentes principales para poder determinar posibles grupos, y si estos coinciden con los grupos experimentales. A la hora de realizar el análisis de componentes principales, se han omitido las variables con algún valor NA y se han estandarizado los datos, teniendo en cuenta lo observado en el resumen numérico del set de datos.

Se visualiza la contribución de cada una de las 10 componentes del análisis mediante un scree plot, lo que nos muestra la varianza explicada por cada una de las componentes.



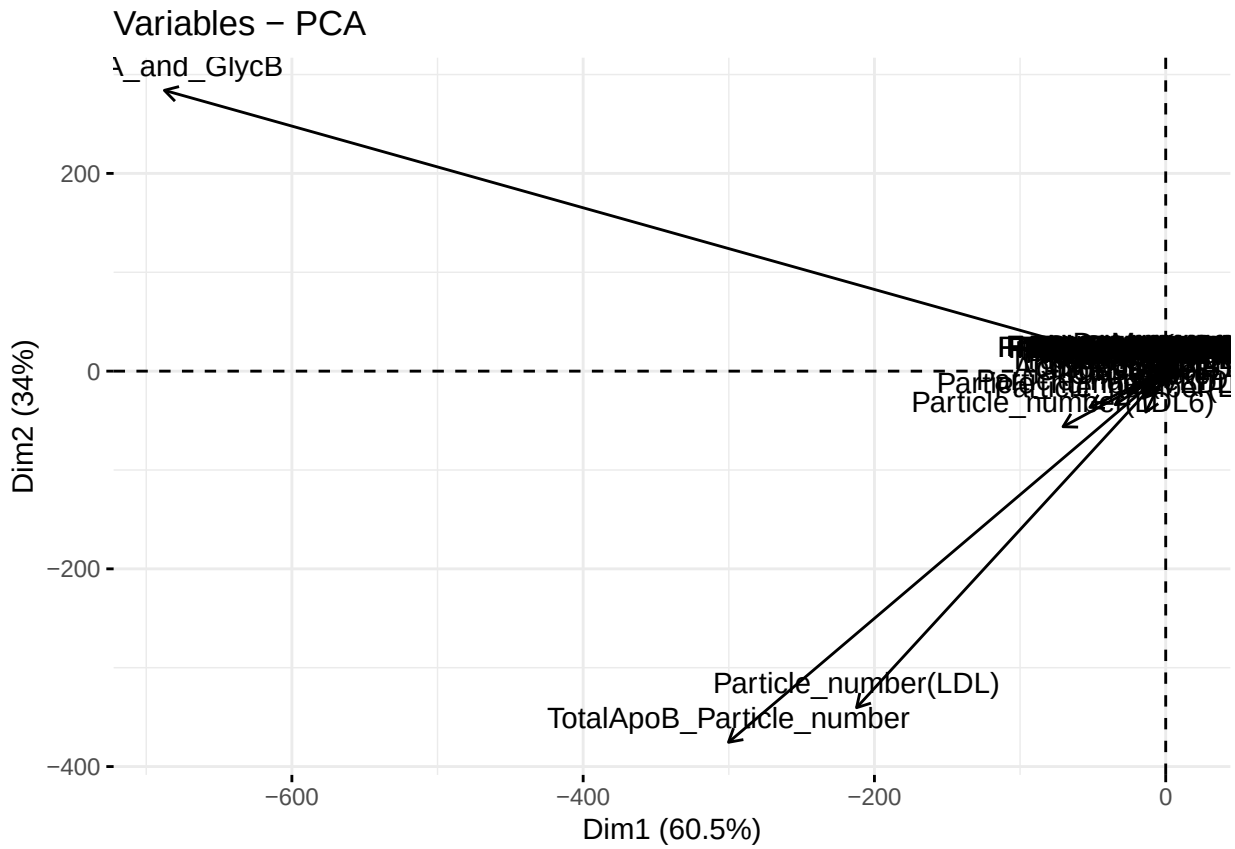
El scree plot nos muestra que entre las primeras 2 componentes se explica la mayor parte de la variabilidad, especialmente en la primera componente, por lo que se representarán las 2 primeras componentes en los gráficos, para que se traten de graficos en 2D.

A continuación, se visualizan las contribuciones de los individuos del experimento a las dos primeras componentes, por un lado separados por sexo,y por el otro por el tipo de neumonia.



Según los gráficos anteriores, parece ser que los pacientes con neumonía tipo LOB tienden a situarse más hacia la izquierda y hacia arriba en el gráfico de las 2 primeras PCs,en general, ya que existe algo de solapamiento entre ambos grupos. Además, el componente 2 parece codificar la variabilidad entre sexos, ya que los hombres tienden a situarse más hacia arriba y hacia la derecha en el gráfico que las mujeres. Esta interpretación es subjetiva, y tiene que corroborarse con análisis estadísticos que muestren la significación de las diferencias entre los grupos en cuestión.

Por último, en el siguiente gráfico se observan las contribuciones de las variables a las dos primeras componentes y la dirección de la contribución de las mismas.



Como se puede observar, la dirección hacia arriba y hacia la izquierda está en su mayoría codificada por el marcador Glyc_A_and_Glyc_B, que representa los niveles de glicoproteinas de fase aguda en plasma. Este marcador se asocia con estados inflamatorios en neumonía (3), y, según el gráfico visto antes, puede estar indicando que los individuos con neumonía lobular tienen un estado inflamatorio más severo en general. Esto tiene que corroborarse con tests estadísticos.

En cuanto a los marcadores LDL y número de particulas totales de tipo ApoB, estos indican que, en general, los niveles de estas particulas se asocian con individuos de sexo femenino en este set de datos, quizás porque se encuentren en edades post-menopausicas, en las cuales suele haber un aumento en los niveles de colesterol en sangre.

Conclusiones

- Se ha creado un objeto de tipo SummarizedExperiment que contiene los datos del experimento.
- El boxplot revela metabolitos con niveles más altos en todos los grupos del experimento.
- El análisis por PCA revela que podrían existir diferencias entre los grupos del experimento, destacando algunos metabolitos que podrían ser los responsables de esta variabilidad.

Referencias

1. https://www.metabolomicsworkbench.org
2. https://www.metabolomicsworkbench.org/data/DRCCMetadata.php?Mode=Study&StudyID=ST003674
3. https://github.com/MarioThem/Them-Alvarez-Mario-PEC1

4. Mireia Saballs, Sandra Parra, Neus Martínez, Nuria Amigo, Lydia Cabau, Simona Iftimie, Raul Pavon, Xavi Gabaldó, Xavier Correig, Silvia Paredes, Josep Maria Vallvé, Antoni Castro, Lipidomic and metabolomic changes in community-acquired and COVID-19 pneumonia,Journal of Lipid Research,Volume 65, Issue 9, 2024,100622,ISSN 0022-2275,https://doi.org/10.1016/j.jlr.2024.100622.