

Manual de usuario

Introducción

Esta aplicación web interactiva calcula la probabilidad de supervivencia de pacientes con cáncer de mama a través del tiempo en base a los niveles de expresión genética de diferentes conjuntos de genes de interés integrandolo con el análisis de enriquecimiento funcional, que proporciona al usuario información acerca de los procesos biológicos en los cuales estos genes se encuentran implicados.

Requisitos

La aplicación requiere un archivo en formato CSV o de texto con al menos dos nombres de genes en formato gene symbol (símbolo del gen).

Guía paso a paso

1. Cargar el archivo csv o txt.
2. Seguir los siguientes pasos la función al análisis a ser realizado

Análisis	Pasos
Curvas de supervivencia	<ol style="list-style-type: none">1. En el menú desplegable, selecciona el subtipo de cáncer (TNBC, HER2+, ER+ o en su defecto, "Todos").2. Presionar el botón "Generar Curvas de Supervivencia".
Enriquecimiento funcional	<ol style="list-style-type: none">1. En el menú desplegable, seleccionar el subtipo de cáncer (TNBC, HER2+, ER+ o en su defecto, "Todos")2. Presionar el botón "Análisis de Enriquecimiento Funcional"3. Ir a la pestaña "Resultados de Enriquecimiento".4. Para la descarga de resultados, presionar el botón "Descargar Resultados de Enriquecimiento" de descarga de resultados de enriquecimiento

Resultados e interpretación

La aplicación organiza los resultados de análisis de supervivencia y enriquecimiento funcional en dos pestañas:

Análisis	Resultado visual	Descripción
Curvas de supervivencia	Gráficos Kaplan-Meier	Indica la probabilidad de supervivencia por subgrupo de pacientes.
Enriquecimiento funcional	Tabla de enriquecimiento, grafico de barras y grafico de puntos.	Muestran los 10 términos Gene Ontology (GO) más enriquecidos en el subgrupo de pacientes seleccionado.

Análisis de supervivencia – Grafico de Kaplan-Meier.

La curva de supervivencia muestra la probabilidad de que el paciente sobreviva a lo largo del tiempo en base al nivel de expresión génica (alta o baja) de los genes contenidos en el archivo proveído por el usuario.

Los componentes claves de este gráfico son:

- Eje X (Horizontal): Tiempo en días.
- Eje Y (Vertical): Probabilidad acumulada de supervivencia de 0 a 1.
- Curvas de supervivencia: como resultado se obtienen dos curvas de supervivencia, una representada por el grupo de expresión “Baja” y otro representada por el grupo de expresión “Alta”. El grupo con mayor valor probabilidad acumulada de supervivencia (eje Y) posee la mayor probabilidad de supervivencia de la cohorte.
- Prueba Log-Rank (p-valor): Evalúa si hay una diferencia estadísticamente significativa entre las curvas observadas, definida por el valor de **p**.
 - p < 0.05**: la diferencia es estadísticamente significativa.
 - p > 0.05**: la diferencia no es estadísticamente significativa.

Análisis de enriquecimiento funcional

El análisis de enriquecimiento funcional presenta una tabla y dos gráficos como resultados:

1. Una tabla de enriquecimiento que presenta 10 términos Gene Ontology (GO) más enriquecidos asociados a los genes de interés, que consta del identificador GO para el proceso, la descripción del mismo y el valor ajustado de significancia estadística (*p.adjust*). Los resultados de esta tabla se pueden descargar en formato csv.
2. Un gráfico de barras que presenta los 10 términos Gene Ontology (GO) más enriquecidos asociados a los genes de interés, indicando procesos biológicos específicos en los cuales se encuentran implicados.

Componentes del gráfico.

- Eje X (Horizontal): Términos Gene Ontology (GO) asociados a procesos biológicos específicos.
- Eje Y (Vertical): *Counts*. Muestra la cantidad de genes asociados a cada término Gene Ontology (GO).

Interpretación de los elementos visuales.

- Longitud de las barras: Indica la cantidad de genes involucrados en cada término Gene Ontology (GO).
- Color de las barras: Representa el valor ajustado de significancia estadística (*p.adjust*): El color rojo indica una mayor significancia estadística, el color morado indica una significancia estadística moderada y el color azul indica una menor significancia estadística.

3. Un **gráfico de puntos** que muestra los 10 términos Gene Ontology (GO) más enriquecidos asociados a los genes de interés, indicando procesos biológicos específicos en los cuales se encuentran implicados.

Componentes de este gráfico.

- Eje X (Horizontal): Representa la proporción de genes involucrados en cada término respecto al total de genes analizados. Valores más altos indican una mayor proporción de genes asociados a ese proceso.
- Eje Y (Vertical): Términos Gene Ontology (GO) asociados a procesos biológicos específicos.

Interpretación de los elementos visuales del grafico:

- Tamaño de los puntos (*Count*): Indica la cantidad de genes que están asociados a cada término GO.
- Color de los puntos: Representa el valor ajustado de significancia estadística (*p.adjust*). El color rojo indica mayor significancia estadística, el color morado indica una significancia estadística moderada y el color azul representa menor significancia estadística.

Ejemplo práctico.

En este ejemplo, utilizaremos los genes de buen pronóstico disponible en el repositorio de Github.

Análisis de supervivencia.

Análisis de Supervivencia y Enriquecimiento Funcional en Cáncer de Mama

Subir Lista de Genes (CSV o TXT)

Browse... genes_buen_pronostico.csv

Upload complete

Seleccionar Grupo Clínico

Todos

Seleccionar Subtipo para Enriquecimiento

Todos

Generar Curvas de Supervivencia

Análisis de Enriquecimiento Funcional

Seleccione un archivo CSV o TXT con una lista de genes, el grupo clínico de interés y realice un análisis específico por subtipo de cáncer.

Descargar Resultados de Enriquecimiento

Curvas de Supervivencia

Resultados de Enriquecimiento

Gráfico de Curvas de Supervivencia

1. Carga del archivo CSV o TXT

El gráfico muestra la comparación de supervivencia entre los diferentes niveles de expresión genética.

Análisis de Supervivencia y Enriquecimiento Funcional en Cáncer de Mama

Subir Lista de Genes (CSV o TXT)

Browse... genes_buen_pronostico.csv

Upload complete

Seleccionar Grupo Clínico

Todos

Todos

TNBC

HER2 positivo

ER positivo

Generar Curvas de Supervivencia

Análisis de Enriquecimiento Funcional

Seleccione un archivo CSV o TXT con una lista de genes, el grupo clínico de interés y realice un análisis específico por subtipo de cáncer.

Descargar Resultados de Enriquecimiento

Curvas de Supervivencia

Resultados de Enriquecimiento

Gráfico de Curvas de Supervivencia

2. Selección del subgrupo.

El gráfico muestra la comparación de supervivencia entre los diferentes niveles de expresión genética.

Análisis de Supervivencia y Enriquecimiento Funcional en Cáncer de Mama

Subir Lista de Genes (CSV o TXT)

Browse... genes_buen_pronostico.csv

Upload complete

Seleccionar Grupo Clínico

Todos

Seleccionar Subtipo para Enriquecimiento

Todos

Generar Curvas de Supervivencia

Analisis de Enriquecimiento Funcional

Seleccione un archivo CSV o TXT con una lista de genes, el grupo clínico de interés y realice un análisis específico por subtipo de cáncer.

Descargar Resultados de Enriquecimiento

Curvas de Supervivencia

Resultados de Enriquecimiento

Gráfico de Curvas de Supervivencia

El gráfico muestra la comparación de supervivencia entre los diferentes niveles de expresión genética.

3. Presionar el botón para la generación de curvas de supervivencia.

Análisis de Supervivencia y Enriquecimiento Funcional en Cáncer de Mama

Subir Lista de Genes (CSV o TXT)

Browse... genes_buen_pronostico.csv

Upload complete

Seleccionar Grupo Clínico

Todos

Seleccionar Subtipo para Enriquecimiento

Todos

Generar Curvas de Supervivencia

Analisis de Enriquecimiento Funcional

Seleccione un archivo CSV o TXT con una lista de genes, el grupo clínico de interés y realice un análisis específico por subtipo de cáncer.

Descargar Resultados de Enriquecimiento

Curvas de Supervivencia

Resultados de Enriquecimiento

Gráfico de Curvas de Supervivencia

Supervivencia para Todos

Strata

expression_group=Alta

expression_group=Baja

Survival probability

1.00

0.75

0.50

0.25

0.00

0

1000

2000

3000

4000

Time

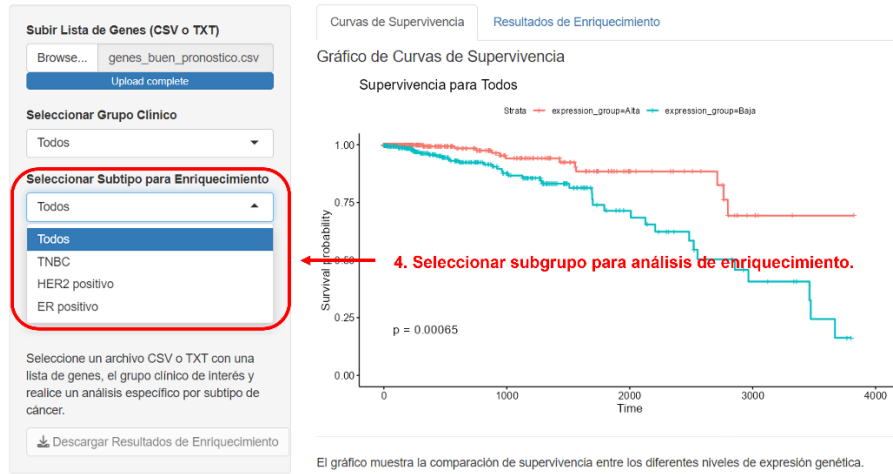
p = 0.00065

Resultado: Curva de Kaplan-Meier de supervivencia y pvalue.

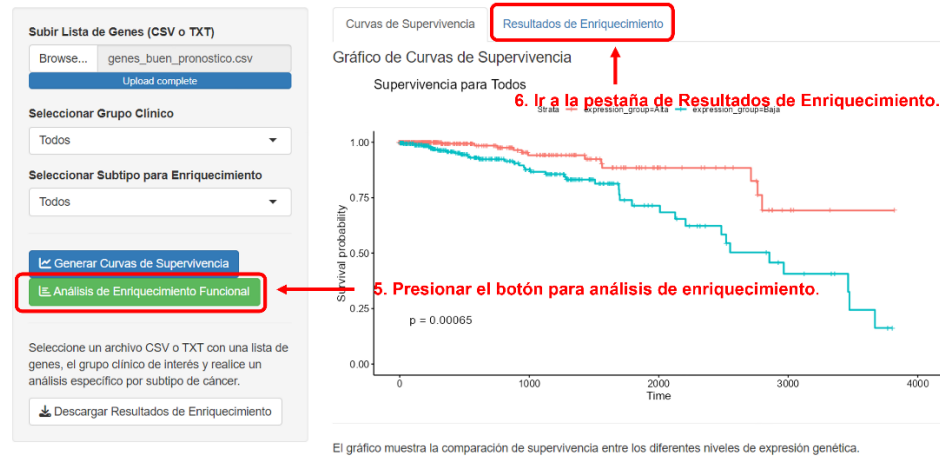
El gráfico muestra la comparación de supervivencia entre los diferentes niveles de expresión genética.

Análisis de enriquecimiento funcional.

Análisis de Supervivencia y Enriquecimiento Funcional en Cáncer de Mama



Análisis de Supervivencia y Enriquecimiento Funcional en Cáncer de Mama



Análisis de Supervivencia y Enriquecimiento Funcional en Cáncer de Mama

Subir Lista de Genes (CSV o TXT)

Browse...

genes_buen_pronostico.csv

Upload complete

Seleccionar Grupo Clínico

Todos

Seleccionar Subtipo para Enriquecimiento

Todos

Generar Curvas de Supervivencia

Análisis de Enriquecimiento Funcional

Seleccione un archivo CSV o TXT con una lista de genes, el grupo clínico de interés y realice un análisis específico por subtipo de cáncer.

Descargar Resultados de Enriquecimiento

Curvas de Supervivencia

Resultados de Enriquecimiento

Tabla de Resultados de Enriquecimiento

Resultado 1: Tabla de enriquecimiento con los términos GO mas relevantes

ID	Description	p.adjust
GO:0010717	regulation of epithelial to mesenchymal transition	0.00
GO:0002824	positive regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	0.00
GO:0002708	positive regulation of lymphocyte mediated immunity	0.00
GO:0002821	positive regulation of adaptive immune response	0.00
GO:0002705	positive regulation of leukocyte mediated immunity	0.00
GO:0016331	morphogenesis of embryonic epithelium	0.00
GO:0002706	regulation of lymphocyte mediated immunity	0.00
GO:0001837	epithelial to mesenchymal transition	0.00
GO:0002822	regulation of adaptive immune response based on somatic recombination of immune receptors built from immunoglobulin superfamily domains	0.00
GO:0002819	regulation of adaptive immune response	0.00

7. Descarga de Resultados del análisis de enriquecimiento.

Gráfico de Barras de Enriquecimiento Funcional

Gráfico de Barras de Enriquecimiento Funcional

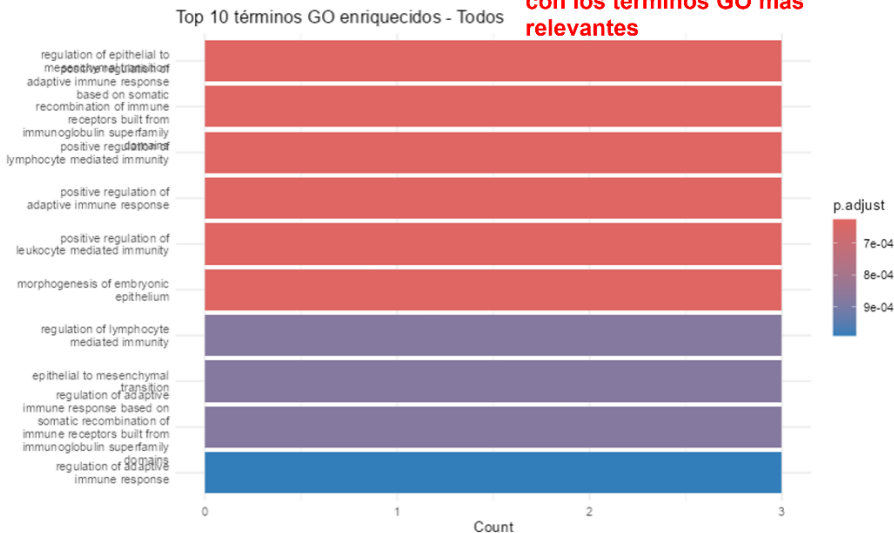


Gráfico de Puntos de Enriquecimiento Funcional



Los gráficos muestran los términos GO más enriquecidos para los genes seleccionados.

Recursos

- Instalación de R

Navegar a <http://cran.r-project.org/bin/windows/base/> y descargar el paquete que corresponda al sistema operativo.

- Instalación de Rstudio:

Navegar a <http://www.rstudio.com/products/rstudio/download/> y descargar el paquete que corresponda a nuestro sistema operativo.

- Instalación de *BiocManager*

```
if (!requireNamespace("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")
```

- Instalación de Bioconductor

```
if (!require("BiocManager", quietly = TRUE))
  install.packages("BiocManager")
BiocManager::install(version = "3.20")
```

- Instalación de *Shiny*

```
install.packages("shiny")
```

- Instalación de SummarizedExperiment

```
BiocManager::install(version='devel')
BiocManager::install("SummarizedExperiment")
```


- Instalación de *survival*

```
install.packages("survival")
```

- Instalación de *survminer*

```
install.packages("survminer")
```

- Instalación de *org.Hs.eg.db*

```
if (!require("BiocManager", quietly = TRUE))  
  install.packages("BiocManager")
```

```
BiocManager::install("org.Hs.eg.db")
```

Documentación disponible en:

<https://bioconductor.org/packages/release/data/annotation/html/org.Hs.eg.db.html>

- Instalación de *clusterProfiler*

```
if (!require("BiocManager", quietly = TRUE))  
  install.packages("BiocManager")
```

```
BiocManager::install("clusterProfiler")
```

Documentación disponible en:

<https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/clusterProfiler.html>

- Instalación de *limma*

```
if (!require("BiocManager", quietly = TRUE))  
  install.packages("BiocManager")
```

```
BiocManager::install("limma")
```

Documentación disponible en:

<https://bioconductor.org/packages/release/bioc/html/limma.html>