

Informe

Ana Medina García

20 de septiembre de 2014

Capítulo 1

Introducción

1.1. Estudio de la recidiva en pacientes con cáncer de mama

El cáncer de mama incluye un grupo de enfermedades heterogéneas que pueden ser clasificadas en base tanto a características moleculares como clínico-patológicas. La mejora en la detección temprana de tumores primarios y el desarrollo de terapias dirigidas (medicación que bloquea el crecimiento y diseminación del cáncer interfiriendo con determinadas moléculas responsables del crecimiento del tumor y la progresión de la enfermedad), junto con el uso sistemático de quimioterapia adyuvante (quimioterapia que se aplica después de un tratamiento principal, como la intervención quirúrgica), ha reducido drásticamente los índices de mortalidad e incrementado la supervivencia libre de enfermedad en cáncer de mama. No obstante, los datos reflejan que un tercio de las pacientes operadas de un tumor mamario aún terminan desarrollando metástasis, lo que seriamente merma las expectativas sobre un desenlace positivo de la enfermedad.

Por otro lado, el riesgo de recidiva tras la resección de un tumor no es constante a lo largo del tiempo. Un análisis del patrón de recidiva, en datos con seguimiento de paciente durante un período largo de tiempo, revela una función bimodal con dos picos claramente diferenciados a los 1.5 años (recidiva temprana) y a los 5 años (recidiva tardía) seguido por períodos de tiempo en los cuales el riesgo de recidiva tiende a cero. Algunos investigadores han establecido una relación causal entre el acto quirúrgico y el patrón de recidiva bimodal, de tal forma que la resección del tumor primario podría acelerar el crecimiento del foco metastásico latente mediante la alteración del balance entre factores pro- y anti-angiogénicos (sustancias que potencian o inhiben el crecimiento de vasos sanguíneos - angiogénesis). Esta hipótesis está avalada por el hecho de que los dos picos de recidiva aparecen con independencia de otros factores distintos a la cirugía, como la presencia de ganglios axilares afectados, el tipo de cirugía o la administración de quimioterapia adyuvante (es decir, analizando las funciones de riesgo en base a estas variables, igualmente aparecen los picos en la función de riesgo). Otros estudios también demuestran que la distribución bimodal aparece incluso independientemente del estado de los receptores hormonales, cuando la evidencia demuestra que los tumores ER-negativos están comúnmente asociados con un alto riesgo de recidiva. Otros estudios sugieren que la dinámica de la recidiva del tumor puede ser una consecuencia del procedimiento quirúrgico para eliminar el tumor primario, debido a la alteración de los niveles circulantes en sangre de VEGF, TNF α y otras citoquinas inflamatorias. No obstante, todavía es necesario mayor evidencia empírica que demuestre una relación a nivel molecular entre la cirugía de un tumor primario de mama y el patrón de recurrencia bimodal.

Capítulo 2

Análisis y limpieza de datos

2.1. Análisis de datos

2.1.1. Datos de pacientes

Vamos a realizar un estudio de la recidiva en un grupo de pacientes de cáncer de mama. Los 75 pacientes incluídos en el estudio fueron operados de un tumor primario de mama en el Hospital Universitario Virgen de la Victoria (HUVV, Málaga, España) entre los años 1998 y 2005. Todos los pacientes proporcionaron el consentimiento informado para su participación en el estudio. Los pacientes fueron tratados y su evolución controlada de acuerdo a los protocolos establecidos en el Servicio de Oncología Clínica, en base a la evidencia científica y a las recomendaciones internacionales. Toda la investigación clínica se desarrolló de acuerdo a los principios expresados en la declaración de Helsinki. Ninguno de los pacientes recibió terapia neo-adyuvante, y los datos clínico-patológicos fueron obtenidos por revisión de historias clínicas.

2.1.2. Datos inmunohistoquímicos

Las muestras de tumor se clasificaron de acuerdo al subtipo intrínseco determinado por coloración inmunohistoquímica de la preparación de tejido, en base a la expresión de anticuerpos específicos contra los receptores de estrógeno (ER), receptores de progesterona (PR), la proteína Ki67, asociada con la proliferación celular, el receptor 1 de factor de crecimiento epidermal (EGFR1), el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y la citoqueratina CK5/6. El nivel de expresión del proto-oncogen HER2 se determinó mediante la prueba del HercepTest. La interpretación de los datos inmunohistoquímicos se realizó por dos patólogos en un estudio ciego a las características clínico-patológicas y de evolución de los pacientes.

2.1.3. Análisis

En primer lugar, cargamos los datos del estudio uniendo los datos clínicos con los datos de marcadores. Utilizando la función 'summary()' podemos obtener un resumen de los campos y sus valores en el conjunto de datos.

```
> workingDir <- "C:/Users/usuario/Desktop/Curso13-14/02Semestre/DataMining"
> dataDir <- file.path(workingDir, "Datos")
> resultsDir <- file.path(workingDir, "Resultados")
> setwd(workingDir)
> misDatos <- read.csv("DatosClinicos.csv")
```

```
> markers <- read.csv2(file=paste("Markers.csv"))
> misDatos <- cbind(misDatos, markers[,2:5])
> summary(misDatos)
```

IdPac		fenotipo	grupo	estadog	sgd
M01	: 1	: 2	Grupo A:36	Min. :0.0000	Min. : 118.0
M02	: 1	Basal like :19	Grupo B:27	1st Qu.:0.0000	1st Qu.: 952.5
M03	: 1	HER2 enriched:16	Grupo C:12	Median :0.0000	Median :1927.0
M04	: 1	Luminal-HER2 : 1		Mean :0.2267	Mean :2060.4
M05	: 1	Luminal A :19		3rd Qu.:0.0000	3rd Qu.:2759.0
M06	: 1	Luminal B :18		Max. :2.0000	Max. :5360.0
(Other):69					

sgm		sga	iled	ilem
Min. : 3.90	Min. : 0.300	Min. : 118	Min. : 3.90	
1st Qu.: 31.75	1st Qu.: 2.600	1st Qu.: 631	1st Qu.: 21.00	
Median : 64.20	Median : 5.300	Median :1658	Median : 55.30	
Mean : 68.68	Mean : 5.644	Mean :1684	Mean : 56.14	
3rd Qu.: 91.95	3rd Qu.: 7.550	3rd Qu.:2280	3rd Qu.: 76.00	
Max. :178.70	Max. :14.700	Max. :5043	Max. :168.10	

ilea		recid	tam	ngang
Min. : 0.300	Min. :0.00	2.5	: 8	Min. : 0.00
1st Qu.: 1.750	1st Qu.:0.00	3.5	: 7	1st Qu.: 0.00
Median : 4.500	Median :1.00	2	: 5	Median : 1.00
Mean : 4.613	Mean :0.52	3	: 5	Mean : 3.16
3rd Qu.: 6.250	3rd Qu.:1.00	DESCONOCIDO: 5		3rd Qu.: 4.00
Max. :13.800	Max. :1.00	1	: 4	Max. :34.00
(Other) :41				

edad		VEGF	RE	Ki67	iL.8
Min. :30.00	1 :12	Min. :0.0000	Min. :1.00	Min. :1.000	
1st Qu.:42.00	2 :28	1st Qu.:0.0000	1st Qu.:1.00	1st Qu.:2.000	
Median :53.00	3 :29	Median :0.0000	Median :2.00	Median :3.000	
Mean :53.73	NO: 6	Mean :0.4667	Mean :1.64	Mean :2.507	
3rd Qu.:64.50		3rd Qu.:1.0000	3rd Qu.:2.00	3rd Qu.:3.000	
Max. :87.00		Max. :1.0000	Max. :2.00	Max. :3.000	

Es muy importante conocer el significado de los datos que se van a analizar. Resumimos a continuación la información más relevante de los campos y sus posibles valores:

- Fenotipo (fenotipo)
 - Basal like:
 - Luminal A:
 - Luminal B:
 - HER2 enriched
 - Luminal-HER2
- Grupo (grupo):
 - grupo A: no recidiva
 - grupo B: recidva temprana
 - grupo C: recidiva tardia
- Estado glogal (estadog): supervivencia global (SG)

- 0: vivo
- 1: muerto
- 2: muerto por causas ajenas al cáncer
- Tiempo de seguimiento: (o de último control - en caso de muerte)
 - sgd: en días
 - sgm: en meses
 - sga: en años
- Recidiva (recid):
 - 1: sí
 - 2: no
- Tiempo de recidiva: supervivencia libre de enfermedad (SLE)
 - iled: en días
 - ilem: en meses
 - ilea: en años
- Tamaño del tumor (tam)
- Número de ganglios afectados (ngang)
- Edad (edad)

2.2. Limpieza de datos

Para realizar la limpieza de datos debemos, en primer lugar, estudiar cómo se han guardado los datos. Para ello, utilizamos las funciones `'class()'` y `'str()'` que nos indican, respectivamente, el tipo o clase del conjunto de datos y los tipos de datos de cada campo.

```
> class(misDatos)
```

```
[1] "data.frame"
```

```
> str(misDatos)
```

```
'data.frame':      75 obs. of  18 variables:
 $ IdPac   : Factor w/ 75 levels "M01","M02","M03",...: 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 ...
 $ fenotipo: Factor w/ 6 levels "", "Basal like",...: 2 5 2 5 5 6 5 5 5 6 ...
 $ grupo   : Factor w/ 3 levels "Grupo A","Grupo B",...: 2 1 2 1 3 2 1 3 2 1 ...
 $ estadog : int  1 0 0 0 0 0 0 1 0 0 ...
 $ sgd     : int  566 2122 1194 2883 2304 904 1888 3235 1364 1678 ...
 $ sgm     : num  18.9 70.7 39.8 96.1 76.8 ...
 $ sga     : num  1.6 5.8 3.3 7.9 6.3 2.5 5.2 8.9 3.7 4.6 ...
 $ iled    : int  566 2122 554 2883 1886 342 1888 1601 602 1678 ...
 $ ilem    : num  18.9 70.7 18.5 96.1 62.9 11.4 62.9 53.4 20.1 55.9 ...
 $ ilea    : num  1.6 5.8 1.5 7.9 5.2 0.9 5.2 4.4 1.6 4.6 ...
 $ recid   : num  1 0 1 0 1 1 0 1 1 0 ...
 $ tam     : Factor w/ 32 levels "1","1.3","1.5",...: 24 20 22 14 26 19 1 12 15 15 ...
```

```
$ ngang    : int  7 0 7 0 3 4 1 0 0 0 ...
$ edad     : int  45 34 43 44 64 51 49 31 74 82 ...
$ VEGF     : Factor w/ 4 levels "1","2","3","NO": 3 1 1 3 3 3 1 3 3 3 ...
$ RE       : int  0 1 0 1 1 1 1 1 1 1 ...
$ Ki67     : int  2 1 2 1 1 2 1 1 1 2 ...
$ iL.8     : int  3 2 2 3 3 3 2 2 1 2 ...
```

En este caso, observamos que nuestra tabla de datos se ha guardado como un objeto de tipo 'data.frame'. Además, podemos encontrar que algunos de los campos de la tabla se han guardado de forma que no nos interesa. Por ejemplo, la variable tamaño (tam) se ha guardado como Factor cuando debería ser numérico continuo. Para hayar la causa de esto, podemos utilizar la función 'levels()' sobre la variable 'tam' de forma que obtengamos todos los valores posibles que toma esta variable.

```
> levels(misDatos$tam)
```

```
[1] "1"          "1.3"        "1.5"        "1.7"        "1.8"
[6] "1.9"        "10"         "2"          "2.2"        "2.3"
[11] "2.4"        "2.5"        "2.6"        "2.7"        "2.8"
[16] "2.9"        "3"          "3.4"        "3.5"        "3.6"
[21] "3.7"        "4"          "4.5"        "5"          "5.8"
[26] "5.9"        "6"          "6.5"        "6.8"        "7.8"
[31] "8"          "DESCONOCIDO"
```

Podemos observar de esta forma que, probablemente, la presencia del valor 'DESCONOCIDO' en el campo tam es el que provoca que se hayan guardado los datos como Factor. Para evitar esto, los valores perdidos en R se etiquetan como 'NA', permitiendo así guardarlos como numéricos. Una de las opciones que se pueden llevar a cabo para resolver la ausencia de datos de tamaño, intentando no perder valor estadístico en los datos, es la imputación. En este caso hemos decidido utilizar la media para imputar los datos perdidos. Para ello buscamos los registros que contengan el valor 'DESCONOCIDO' en el campo tam y lo sustituimos por el valor 'NA', lo cual nos permite cambiar el tipo de la variable de Factor a Numérico y luego sustituir los valores NA por el tamaño medio de los datos.

```
> tamAux<-misDatos$tam
> tamAux<-as.numeric(as.character(tamAux))
> meanTam<-summary(tamAux)[4]
> misDatos$tam[misDatos$tam=="DESCONOCIDO"] <- NA
> misDatos$tam <- as.numeric(as.character(misDatos$tam))
> misDatos$tam[is.na(misDatos$tam)] <- meanTam
```

Del mismo modo, los posibles valores del campo fenotipo y el número de veces que aparecen deben modificarse para no perder valor estadístico en los datos.

```
> summary(misDatos$fenotipo)
```

```

          Basal like HER2 enriched Luminal-HER2 Luminal A
          2          19          16          1          19
Luminal B
          18
```

Ya que sólo tenemos un caso de fenotipo Luminal-HER2 y éste es un subtipo de Luminal B, lo sustituimos por el tipo Luminal B:

```
> misDatos$fenotipo[misDatos$fenotipo=="Luminal-HER2"] <- "Luminal B"
```

Para obtener resultados estadísticamente significativos necesitamos eliminar los casos en los que no hay fenotipo registrado. Como solución provisional a los casos sin fenotipo, los incluimos en el tipo Luminal B, ya que es el más común:

```
> misDatos$fenotipo[misDatos$fenotipo==""] <- "Luminal B"
> summary(misDatos$fenotipo)
```

	Basal like	HER2 enriched	Luminal-HER2	Luminal A
0	19	16	0	19
Luminal B				
21				

Capítulo 3

Modelos predictivos

3.1. Regresión logística

Utilizamos un modelo de regresión logística para estimar un modelo predictivo de recidiva de pacientes en base a diferentes factores pronóstico de la enfermedad: tamaño del tumor, número de ganglios afectados, edad del paciente y fenotipo. Establecemos un umbral de 0.5 para asignar los valores de la predicción. Finalmente, calculamos la matriz de confusión o tabla de contingencia del modelo y obtenemos valores de precisión del modelo como la `.accuracy`, la sensibilidad y la especificidad. Para esto utilizamos la librería `'caret'` (Classification and Regression Training), con la cual podemos obtener mediante un única función, `confusionMatrix()`, la tabla de contingencia, la accuracy, la sensibilidad y otros valores de interés.

```
> library(caret)
> regLog <- glm(recid~tam+ngang+edad+fenotipo, data=misDatos, family=binomial)
> summary(regLog)
```

Call:

```
glm(formula = recid ~ tam + ngang + edad + fenotipo, family = binomial,
     data = misDatos)
```

Deviance Residuals:

Min	1Q	Median	3Q	Max
-1.8720	-1.1265	0.4501	1.1998	1.3643

Coefficients:

	Estimate	Std. Error	z value	Pr(> z)
(Intercept)	-0.689700	1.124424	-0.613	0.5396
tam	0.020485	0.140978	0.145	0.8845
ngang	0.127949	0.069529	1.840	0.0657 .
edad	0.006447	0.017624	0.366	0.7145
fenotipoHER2 enriched	-0.047921	0.734663	-0.065	0.9480
fenotipoLuminal A	0.027077	0.683631	0.040	0.9684
fenotipoLuminal B	0.025916	0.669134	0.039	0.9691

Signif. codes: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1

(Dispersion parameter for binomial family taken to be 1)


```
Null deviance: 103.852 on 74 degrees of freedom
Residual deviance: 98.559 on 68 degrees of freedom
AIC: 112.56
```

```
Number of Fisher Scoring iterations: 4
```

```
> pred <- predict(regLog, misDatos, type="response")
> # utilizamos el umbral 0.5 para asignar los valores 0 o 1 a la predicción
> pred.th <- pred
> pred.th[pred.th<0.5]<-0
> pred.th[pred.th>=0.5]<-1
> #calculamos la matriz de confusión y obtenemos la accuracy, la sensibilidad y la especificidad
> confMatrix <- confusionMatrix(pred.th,misDatos$recid)
> confMatrix$table
```

```
      Reference
Prediction 0  1
      0 26 22
      1 10 17
```

```
> confMatrix$overall[1]
```

```
Accuracy
0.5733333
```

```
> confMatrix$byClass[1]
```

```
Sensitivity
0.7222222
```

```
> confMatrix$byClass[2]
```

```
Specificity
0.4358974
```

3.1.1. Cálculo del área bajo la curva ROC:

El cálculo del área bajo la curva ROC, se basa en que no se aplica un umbral para la predicción, sino que se cogen todos los valores obtenidos al hacer la predicción, se ordenan, y se van utilizando como umbral cada uno de ellos. Para cada predicción con cada uno de estos valores de umbral se obtiene una sensibilidad y una especificidad y se construye una gráfica donde cada punto representa sensibilidad frente a (1-especificidad) en la predicción con un umbral concreto. Estos puntos se unen en una curva, dejando un área bajo la misma que indica la eficacia del modelo. El valor del área será de entre 0 y 1, siendo el modelo más eficaz cuanto más se acerque a 1 este valor.

Para mostrarlo, calculamos el área bajo la curva ROC de la regresión logística anterior y generamos la gráfica de la curva:

```
> library(pROC)
> obj.roc <- roc(misDatos$recid, pred, smooth=FALSE, auc=TRUE)
> auc(obj.roc)
```

Area under the curve: 0.594

```
> auc
```

```
function (...)  
{  
  UseMethod("auc")  
}  
<environment: namespace:pROC>
```

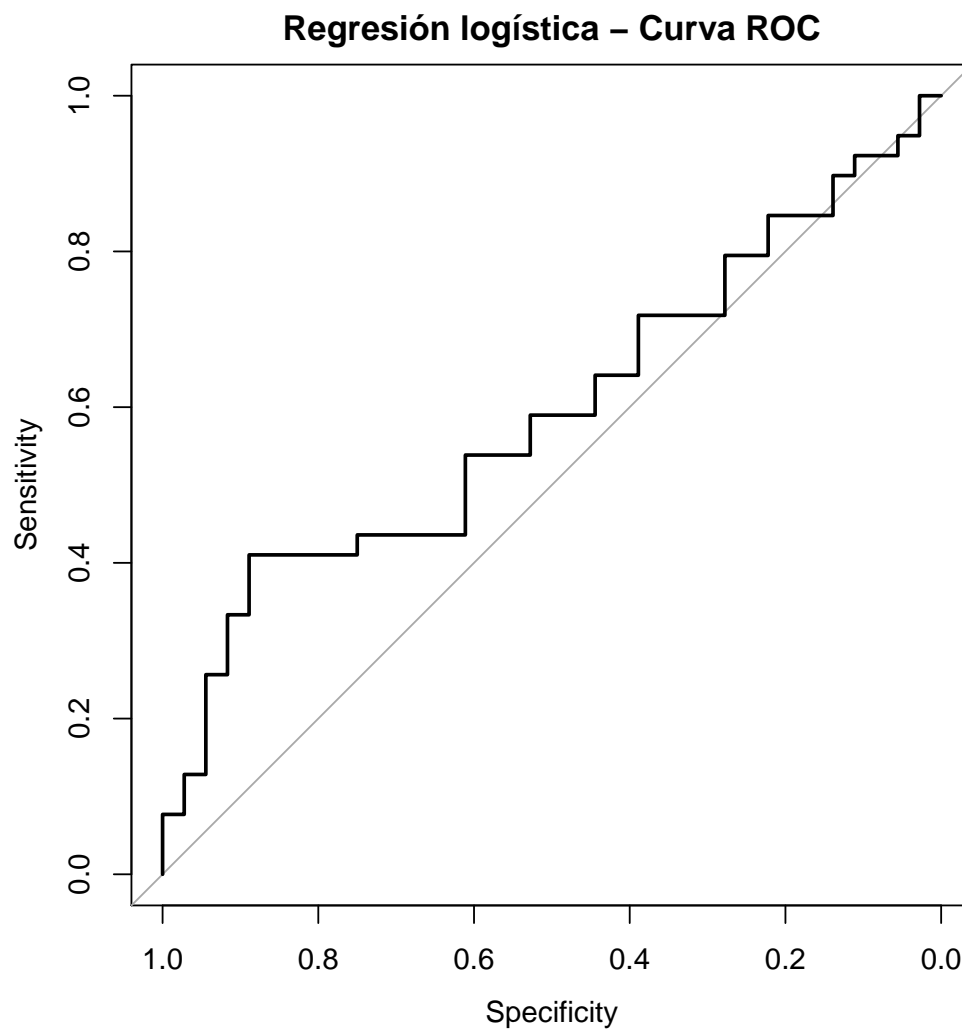
```
> plot(obj.roc, main="Regresión logística - Curva ROC")
```

Call:

```
roc.default(response = misDatos$recid, predictor = pred, smooth = FALSE, auc = TRUE)
```

Data: pred in 36 controls (misDatos\$recid 0) < 39 cases (misDatos\$recid 1).

Area under the curve: 0.594



Implementamos ahora un esquema de validación hold-out (60 % training, 40 % test) para calcular el porcentaje

de clasificación correcta (ACC, accuracy) promedio en training y test (generalización). Estudiamos, además, cómo varía el ACC para test en función del número de repeticiones del hold-out:

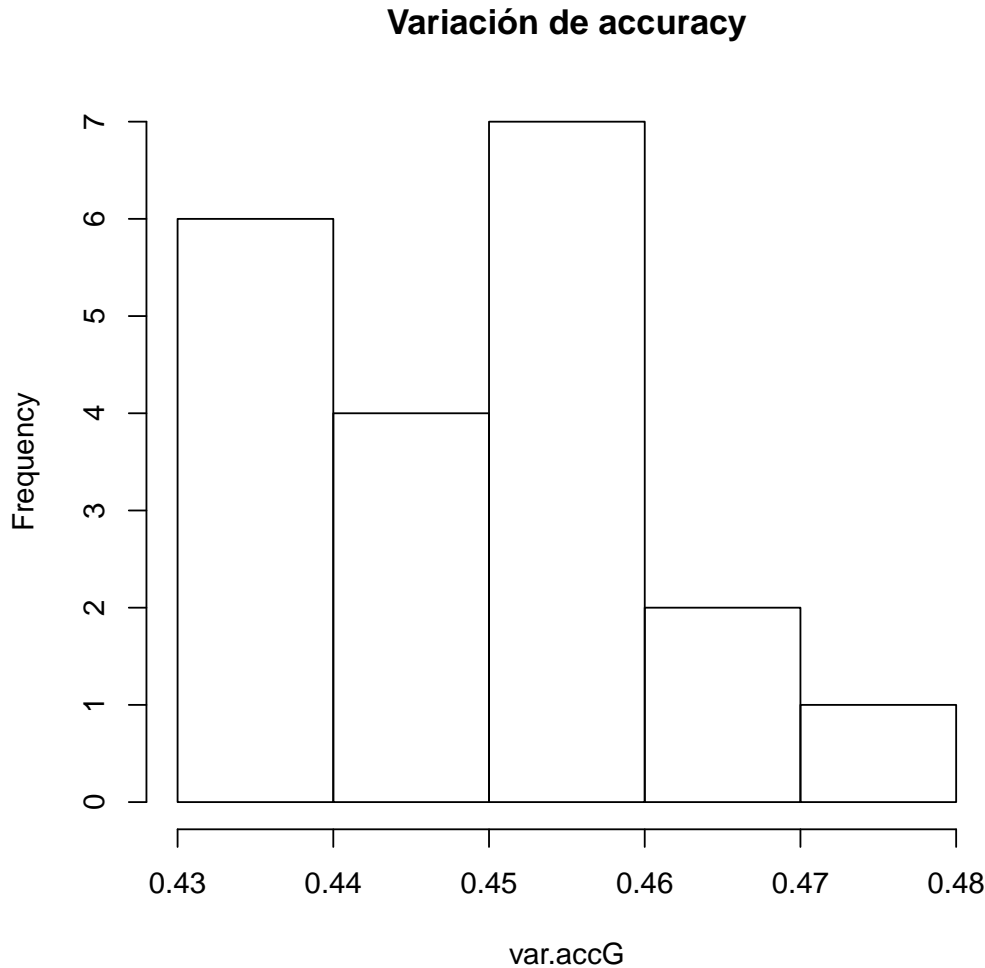
```
> library(caret)
> holdOut <- function(prc.train, repNum) {
+   holdOut.acc<-NULL
+   for(i in 1:repNum) {
+
+     indt <- sample(length(misDatos$recid), length(misDatos$recid)*prc.train/100)
+     dat.train <- misDatos[indt,] #conjunto de training
+     dat.test <- misDatos[-indt,] #conjunto de test
+
+     rl.train <- glm(recid~tam+ngang+edad+fenotipo,data=dat.train,family=binomial)
+     rl.train$xlevels[["fenotipo"]] <- union(rl.train$xlevels[["fenotipo"]], levels(dat.test$fenotipo))
+     pred.test <- predict(rl.train, dat.test, type="response")
+
+     # utilizamos el umbral 0.5 para asignar los valores 0 o 1 a la prediccion
+     pred.test[pred.test<0.5]<-0
+     pred.test[pred.test>=0.5]<-1
+     pred.test<-factor(pred.test, levels= c("0","1"))
+
+     #calculamos la matriz de confusion y la accuracy
+     confusionMatrix <- confusionMatrix(pred.test, dat.test$recid)
+     accuracy <- confusionMatrix$overall[1]
+     holdOut.acc<-c(holdOut.acc,accuracy)
+   }
+
+   #calculamos la accuracy promedio (generalización)
+   accG<-mean(holdOut.acc,na.rm=TRUE)
+   return (accG)
+ }
```

Para estudiar la variación del ACC en función del número de repeticiones llamamos a la función holdOut en bucle (de 5 a 100 repeticiones aumentando de 5 en 5):

```
> var.accG<-NULL
> for(i in seq(5,100,by=5)){
+   var.accG <- c(var.accG,holdOut(60,i))
+ }
> var.accG
```

```
[1] 0.4800000 0.4333333 0.4555556 0.4333333 0.4373333 0.4422222 0.4400000
[8] 0.4700000 0.4548148 0.4380000 0.4357576 0.4405556 0.4502564 0.4552381
[15] 0.4586667 0.4437500 0.4513725 0.4581481 0.4663158 0.4426667
```

```
> hist(var.accG, main="Variación de accuracy")
```



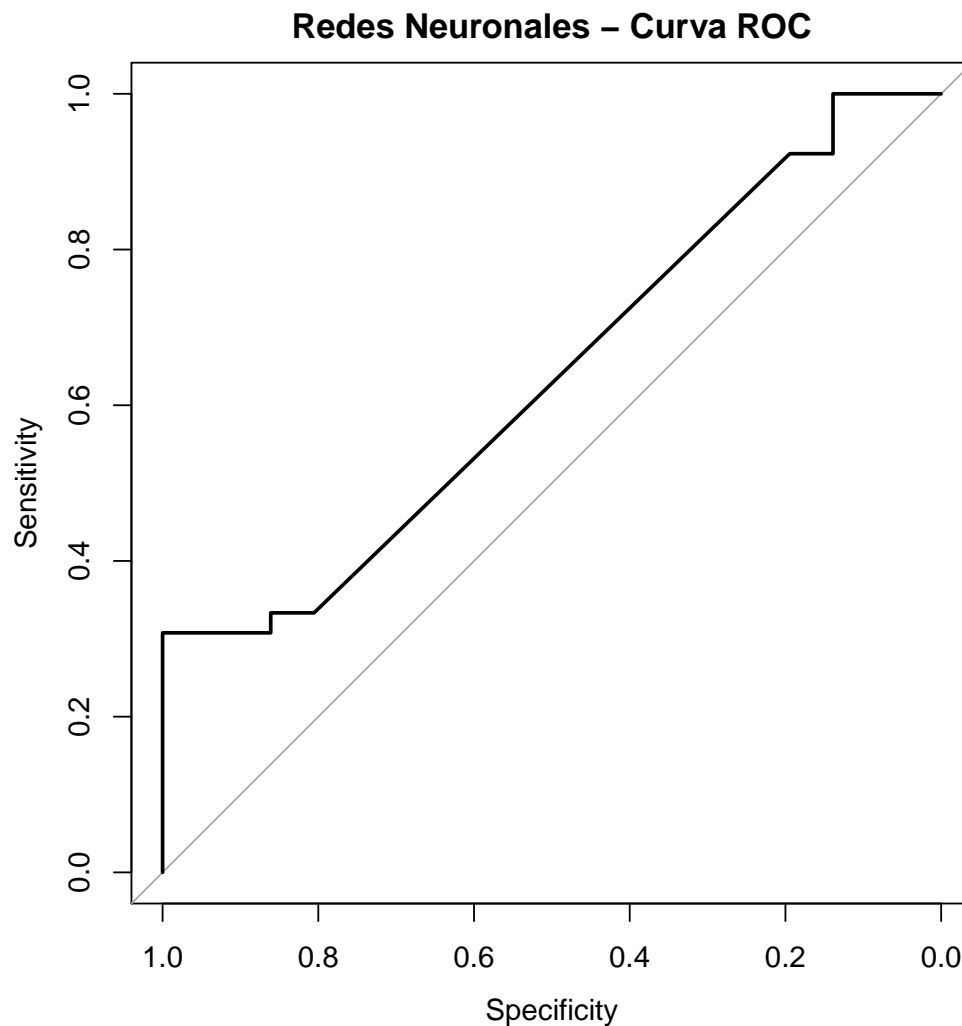
3.2. Aprendizaje supervisado

3.2.1. Redes neuronales: (MLP)

La función de cada neurona sería el sumatorio de los impulsos que le llegan a través de las dendritas multiplicada cada una por el grado de importancia de esa conexión. Las conexiones entre neuronas se refuerzan o se debilitan dependiendo de la experiencia. Algunos datos a tener en cuenta: LTD: depresión sináptica. LTP: potenciación sináptica. La salida final sería un logaritmo (entre 0 y 1). Las funciones de las neuronas intermedias son tangentes hiperbólicas (entre -1 y 1). Algoritmo de retropropagación de errores: si la salida no es la deseada se vuelve hacia atrás modificando las conexiones para que la próxima vez, esa misma entrada genere una más parecida a la deseada. Es importante ajustar bien la constante de aprendizaje para que no oscile demasiado pero tampoco tarde demasiado en aprender.

```
> library(nnet)
> nn.fit<-nnet(recid~tam+ngang+edad+fenotipo,data=misDatos,size=5,entropy= TRUE,maxit=1000,decay=5e-4)
> nn.pred <- predict(nn.fit, misDatos, type="raw")
> nn.roc <- roc(misDatos$recid, nn.pred, smooth=FALSE, auc=TRUE)
> plot(nn.roc, main="Redes Neuronales - Curva ROC")
```

```
> auc(nn.roc)
```



3.2.2. Máquinas de soporte vectorial: (SVM)

Se trata de encontrar los vectores de soporte, es decir, los patrones de cada tipo más cercanos al plano de separación, y maximizar la distancia de éstos al plano. Cuando la separación no puede ser lineal se utiliza una función kernel no lineal.

```
> library(e1071)
> svm.fit <- svm(recid~tam+ngang+edad+fenotipo,data=misDatos,cost=1000,gamma=1,probability=TRUE)
> svm.pred <- predict(svm.fit, misDatos, probability=TRUE)
> svm.roc <- roc(misDatos$recid, svm.pred, smooth=FALSE, auc=TRUE)
> plot(svm.roc, main="Máquinas de Soporte Vectorial - Curva ROC")
```

Call:

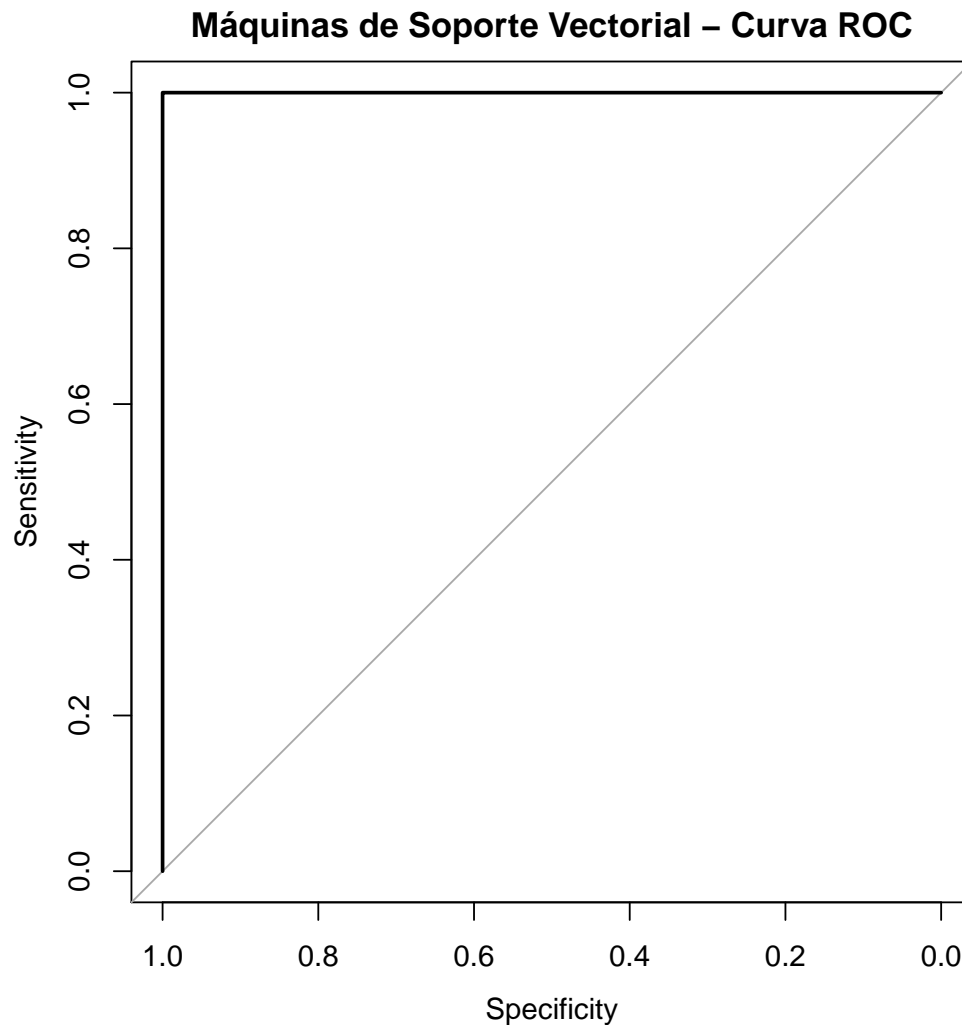
```
roc.default(response = misDatos$recid, predictor = svm.pred, smooth = FALSE, auc = TRUE)
```

Data: svm.pred in 36 controls (misDatos\$recid 0) < 39 cases (misDatos\$recid 1).

Area under the curve: 1

```
> auc(svm.roc)
```

Area under the curve: 1



3.3. Evaluación de modelos

Vamos a analizar cómo influye la inclusión o no de variables en el modelo. Es decir, fijaremos un esquema de validación Hold-Out y probaremos a estimar modelos incluyendo diferentes combinaciones y número de variables. Para ello construimos una función 'holdOutG' generalizada, que implementa el método de validación conocido como Hold-Out y que toma como entrada los siguientes parámetros: la fórmula, los datos de ajuste del modelo y el número de simulaciones. De esta forma se puede utilizar esta función para aplicar la validación con cualquier modelo y conjunto de datos. Al tener la fórmula (y) como parámetro, también se pueden elegir las variables que se utilizan. Además, podremos estudiar la variación en la varianza del AUC promedio dependiendo del número de repeticiones de la simulación, ya que la función devolverá como resultado una lista que contendrá:

- Vector de AUC generalizadas (AUCg)
- Promedio de AUC generalizadas (AUCg.mean)

- Vector de AUC de training (AUCt)
- Promedio de AUC de training (AUCt.mean)
- Vector de ACC generalizadas (ACCg)
- Promedio de ACC generalizadas (ACCg.mean)
- Vector de ACC de training (ACCt)
- Promedio de ACC de training (ACCt.mean)

```
> holdOutG <- function(formula, datos, nSim, prc.train) {
+   AUCg <- NULL
+   #AUCt <- NULL
+   ACCg <- NULL
+   #ACCt <- NULL
+   for(i in 1:nSim) {
+
+     indt <- sample(length(misDatos$recid), length(misDatos$recid)*prc.train/100)
+     dat.train <- datos[indt,] #conjunto de training
+     dat.test <- datos[-indt,] #conjunto de test
+
+     rl.train <- glm(formula, data=dat.train, family=binomial)
+     pred.test <- predict(rl.train, dat.test, type="response")
+
+     #calculamos la AUC (area bajo la curva ROC)
+     obj.auc <- auc(dat.test$recid, pred.test)
+     AUCg <- c(AUCg,obj.auc)
+
+     # utilizamos el umbral 0.5 para asignar los valores 0 o 1 a la prediccion
+     pred.test[pred.test<0.5]<-0
+     pred.test[pred.test>=0.5]<-1
+
+     pred.test<-factor(pred.test, levels=c("0","1"))
+
+     #calculamos la matriz de confusion y la accuracy
+     confMatrix<-confusionMatrix(pred.test, dat.test$recid)
+     accuracy <- confMatrix$overall[1]
+     ACCg <- c(ACCg,accuracy)
+
+   }
+   #calculamos la auc promedio (generalización)
+   aucG <- mean(AUCg)
+   #calculamos la accuracy promedio (generalización)
+   accG<-mean(ACCg,na.rm=TRUE)
+
+   obj.list <- list(AUCg=AUCg, AUCg.mean=aucG, ACCg=ACCg, ACCg.mean=accG)
+   return (obj.list)
+ }
```

Utilizaremos esta función Hold-Out generalizada para ajustar modelos de regresión logística probando con diferentes combinaciones posibles de variables del conjunto de datos. Observando las gráficas obtenidas tras variar el número de repeticiones de la función, podemos ver que cuánto mayor es el número de repeticiones del holdOut, menor es la varianza o desviación estándar de la AUC promedio. Es decir, más se ajusta la distribución de AUC a una NORMAL. La desviación estándar de la media muestral es el error estándar de la media: $sd(AUCg\text{-promedio}) = \sqrt{var(AUCg)/n}$ donde n es el tamaño de la muestra, en este caso el número de reps del holdOut.

3.3.1. Estimación de modelos de una sola variable

Como ejemplo y a modo de control, realizamos un ajuste del modelo para la variable 'grupo', del que, obviamente, esperamos obtener que esta variable es totalmente discriminativa, ya que representa los tres grupos correspondientes a la aparición o ausencia de recidiva:

```
> lr.grupo <- holdOutG(recid~grupo, misDatos, 10, 60)
> lr.grupo

$AUCg
[1] 1 1 1 1 1 1 1 1 1 1

$AUCg.mean
[1] 1

$ACCG
Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy
      1         1         1         1         1         1         1         1
Accuracy Accuracy
      1         1

$ACCG.mean
[1] 1
```

Como podemos observar en los resultados, la variable 'grupo' es totalmente discriminativa, ya que realiza la predicción con un 100 % de precisión, por lo que $AUC = 1$.

Otra forma de probar esta dependencia es mediante la utilización de test estadísticos. Construimos ahora una tabla de contingencia entre la variable 'grupo' y la variable 'recidiva' para luego aplicarle un test de fisher y averiguar si las variables son dependientes:

```
> tablaGrupo <- table(misDatos$grupo, misDatos$recid)
> chi2.tablaGrupo <- fisher.test(tablaGrupo)
> chi2.tablaGrupo
```

Fisher's Exact Test for Count Data

```
data:  tablaGrupo
p-value < 2.2e-16
alternative hypothesis: two.sided
```

Hipótesis nula del test: las variables son independientes. Por lo tanto, al obtener como resultado un valor muy bajo de p-value, se rechaza la hipótesis nula. Es decir, podemos decir que las variables son dependientes.

Realizaremos la estimación de modelos de una sola variable para el esquema de validación HoldOut y evaluamos su rendimiento utilizando el área bajo la curva ROC:

Ajuste del modelo para la variable 'edad':

```
> lr.edad <- holdOutG(recid~edad, misDatos, 10, 60)
> lr.edad
```



```

$AUCg
[1] 0.5972851 0.6155556 0.5200000 0.4760766 0.5533333 0.5155556 0.5158371
[8] 0.4397321 0.6777778 0.5902778

$AUCg.mean
[1] 0.5501431

$ACCG
Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy
0.4333333 0.5333333 0.5000000 0.3666667 0.5000000 0.5000000 0.4666667 0.5333333
Accuracy Accuracy
0.3333333 0.4333333

$ACCG.mean
[1] 0.46

> var(lr.edad$AUCg)

[1] 0.005041219

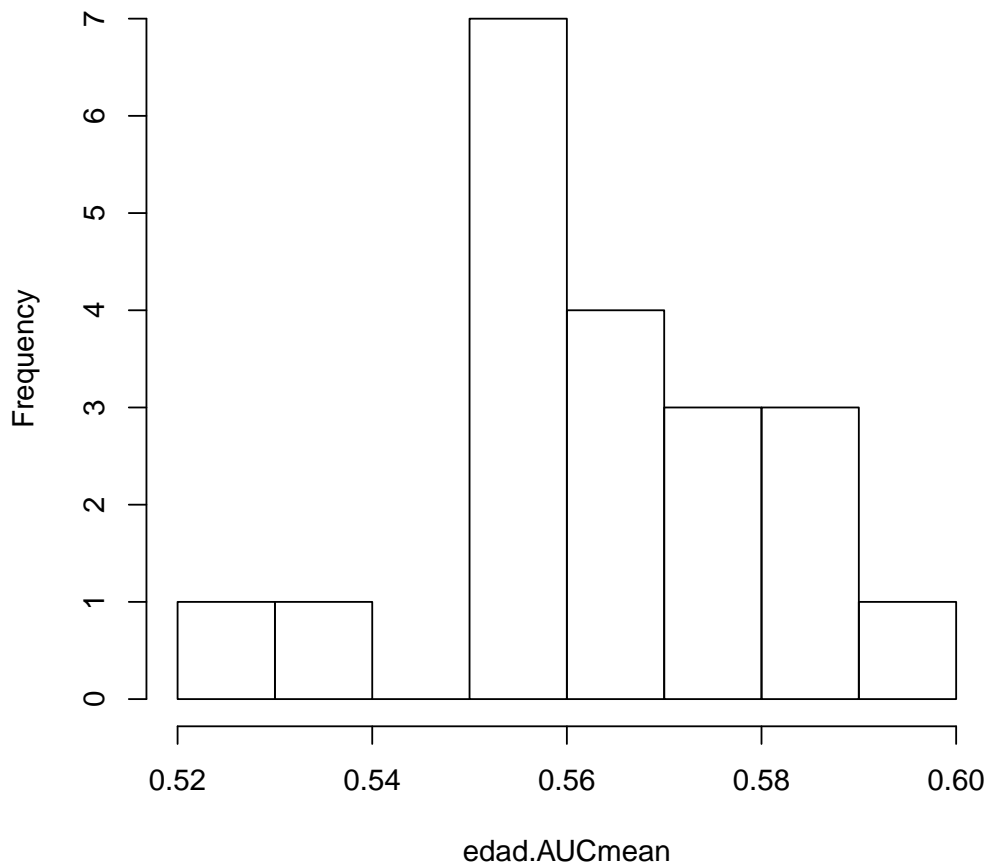
> # Estudio de la variación del AUC promedio en función del número de repeticiones:
> edad.AUCmean<-NULL
> for(i in seq(5,100,by=5)){
+ edad.AUCmean <- c(edad.AUCmean,holdOutG(recid~edad, misDatos, 10, 60)$AUCg.mean)
+ }
> edad.AUCmean

[1] 0.5683277 0.5552232 0.5520843 0.5675822 0.5717379 0.5559086 0.5982624
[8] 0.5620090 0.5521099 0.5353310 0.5200961 0.5565789 0.5702517 0.5802092
[15] 0.5854467 0.5575660 0.5747621 0.5526709 0.5867250 0.5668972

> hist(edad.AUCmean, main="Variación de AUC - Edad")

```

Variación de AUC – Edad



Ajuste del modelo para la variable 'tamaño':

```
> lr.tam <- holdOutG(recid~tam, misDatos, 10, 60)
> lr.tam
```

```
$AUCg
[1] 0.5837104 0.6339286 0.5959821 0.5393519 0.5475113 0.4888889 0.5533333
[8] 0.6116071 0.5355556 0.5550239
```

```
$AUCg.mean
[1] 0.5644893
```

```
$ACCg
Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy
0.4666667 0.4000000 0.4333333 0.3666667 0.4333333 0.4666667 0.4666667 0.4000000
Accuracy Accuracy
0.5333333 0.4000000
```

```
$ACCg.mean
[1] 0.4366667
```

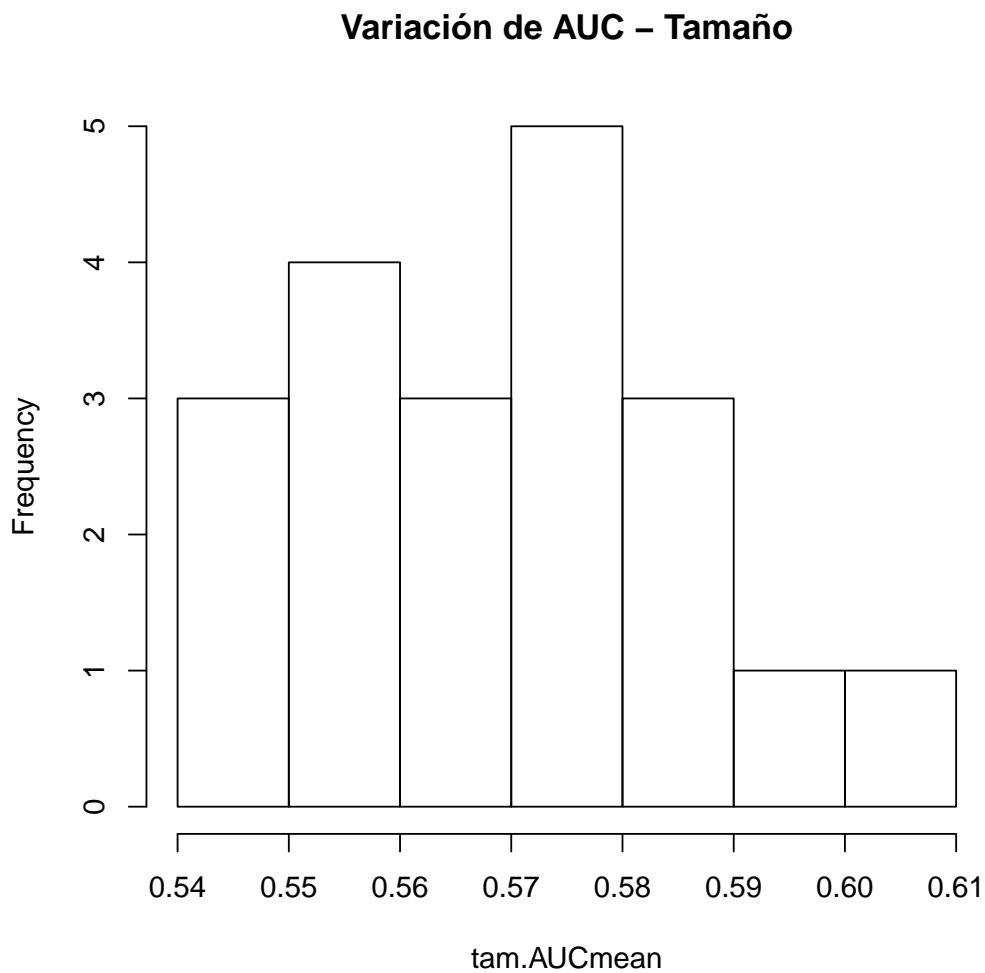
```
> var(lr.tam$AUCg)
```

```
[1] 0.00178777
```

```
> # Estudio de la variación del AUC promedio en función del número de repeticiones:  
> tam.AUCmean<-NULL  
> for(i in seq(5,100,by=5)){  
+ tam.AUCmean <- c(tam.AUCmean,holdOutG(recid~tam, misDatos, 10, 60)$AUCg.mean)  
+ }  
> tam.AUCmean
```

```
[1] 0.5829652 0.5557431 0.5771482 0.5458652 0.5745071 0.5637423 0.5844935  
[8] 0.5874057 0.5597699 0.5516142 0.5722571 0.5473329 0.5592832 0.5743126  
[15] 0.5705490 0.6010487 0.5946120 0.5683086 0.5653503 0.5486550
```

```
> hist(tam.AUCmean, main="Variación de AUC - Tamaño")
```



Ajuste del modelo para la variable 'número de ganglios':

```
> lr.ngang <- holdOutG(recid~ngang, misDatos, 10, 60)
> lr.ngang
```

```
$AUCg
```

```
[1] 0.5678733 0.6481481 0.5837104 0.5882353 0.6583710 0.7000000 0.6764706
[8] 0.6026786 0.7611607 0.6450893
```

```
$AUCg.mean
```

```
[1] 0.6431737
```

```
$ACCg
```

```
Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy
0.5666667 0.6000000 0.5333333 0.5333333 0.6333333 0.6000000 0.4333333 0.6000000
Accuracy Accuracy
0.7000000 0.6666667
```

```
$ACCg.mean
```

```
[1] 0.5866667
```

```
> var(lr.ngang$AUCg)
```

```
[1] 0.003598037
```

```
> # Estudio de la variación del AUC promedio en función del número de repeticiones:
```

```
> ng.AUCmean<-NULL
```

```
> for(i in seq(5,100,by=5)){
```

```
+ ng.AUCmean <- c(ng.AUCmean,holdOutG(recid~ngang, misDatos, 10, 60)$AUCg.mean)
```

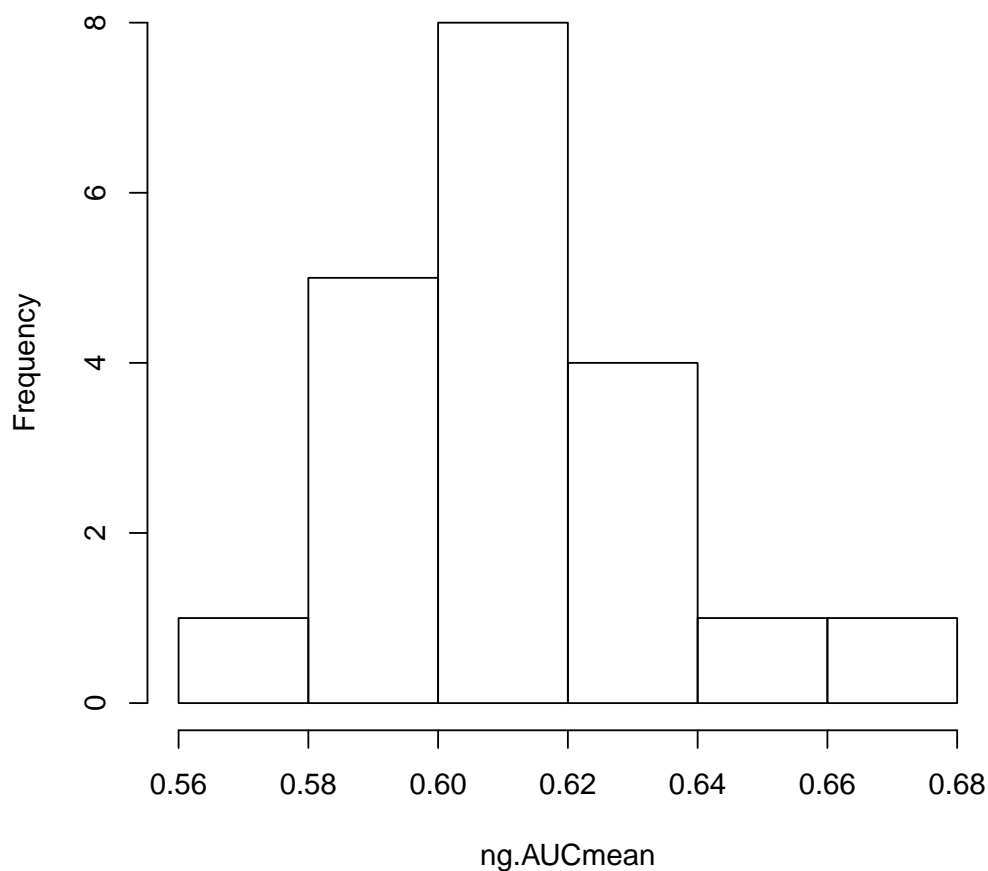
```
+ }
```

```
> ng.AUCmean
```

```
[1] 0.6407831 0.6016029 0.6673010 0.6170317 0.6049728 0.5985364 0.6067020
[8] 0.5603983 0.6010700 0.6349417 0.5895617 0.6386552 0.6054701 0.6172136
[15] 0.6199646 0.6287973 0.5918105 0.6258553 0.5939173 0.5859897
```

```
> hist(ng.AUCmean, main="Variación de AUC - Nž ganglios")
```

Variación de AUC – N° ganglios



Ajuste del modelo para la variable 'fenotipo':

```
> lr.fenotipo <- holdOutG(recid~fenotipo, misDatos, 10, 60)
> lr.fenotipo
```

\$AUCg

```
[1] 0.6160714 0.5462963 0.5995475 0.4241071 0.6450893 0.6674641 0.4977679
[8] 0.4533333 0.5982143 0.5787037
```

\$AUCg.mean

```
[1] 0.5626595
```

\$ACCg

```
Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy Accuracy
0.4000000 0.4333333 0.4333333 0.4000000 0.3333333 0.3000000 0.5000000 0.4333333
Accuracy Accuracy
0.4333333 0.4000000
```

\$ACCg.mean

```
[1] 0.4066667
```

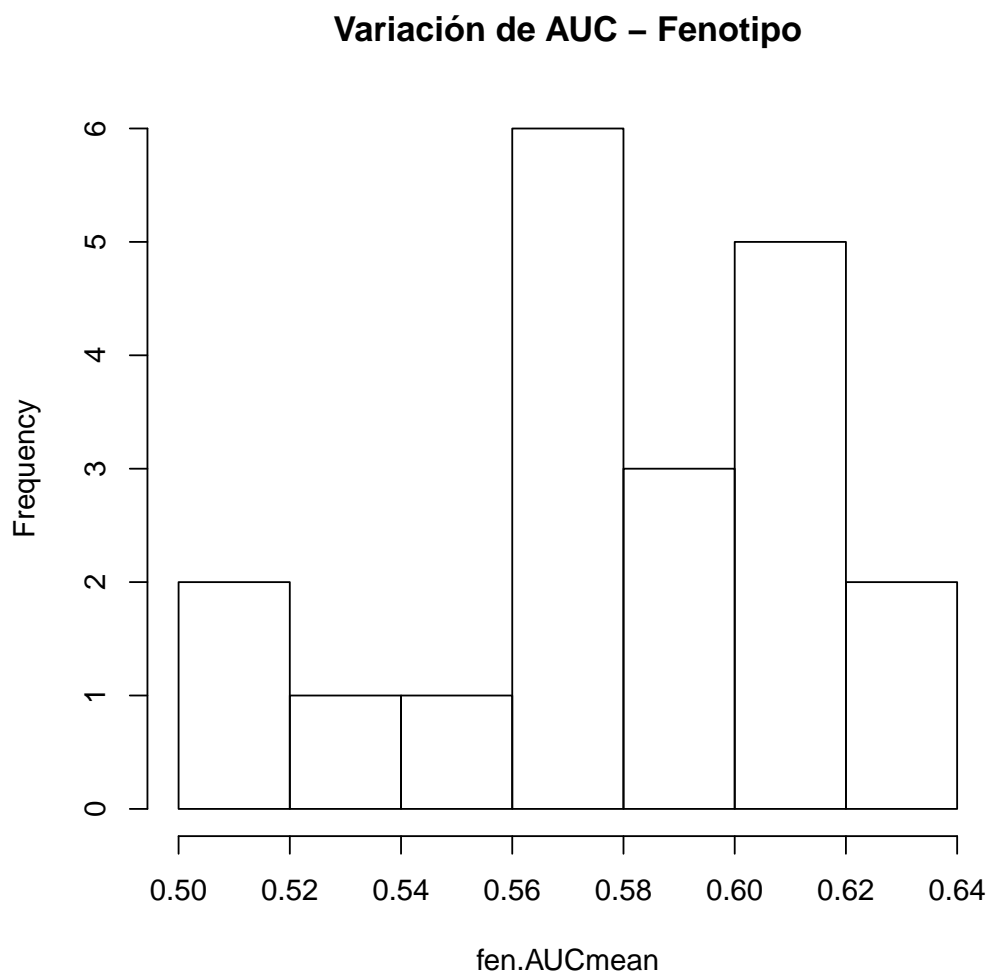
```
> var(lr.fenotipo$AUCg)
```

```
[1] 0.006571271
```

```
> # Estudio de la variación del AUC promedio en función del número de repeticiones:  
> fen.AUCmean<-NULL  
> for(i in seq(5,100,by=5)){  
+ fen.AUCmean <- c(fen.AUCmean,holdOutG(recid~fenotipo, misDatos, 10, 60)$AUCg.mean)  
+ }  
> fen.AUCmean
```

```
[1] 0.6136787 0.5479042 0.6070883 0.5739718 0.6269298 0.5677033 0.5898483  
[8] 0.6125255 0.5718642 0.5607995 0.5186127 0.6055860 0.6087924 0.5190348  
[15] 0.5821863 0.5371009 0.5788292 0.6283818 0.5869662 0.5734297
```

```
> hist(fen.AUCmean, main="Variación de AUC - Fenotipo")
```



Capítulo 4

Análisis de microarrays

Los microarrays son plataformas experimentales que permiten medir la presencia y/o expresión de genes. Se trata de un formato experimental basado en la síntesis de sondas, que representan los genes (o proteínas, o metabolitos), sobre un sustrato sólido (cristal, plástico, sílice, ...), y expuestos a las moléculas diana (la muestra). El funcionamiento de los microarrays se basa en convertir niveles de hibridación entre sondas y moléculas a niveles de expresión del gen correspondiente a la sonda. El nivel de hibridación entre la sonda específica (probe) y la molécula diana (target) se indica generalmente mediante fluorescencia y se mide por análisis de imagen, e indica el nivel de expresión del gen correspondiente a la sonda muestra. Existen diferentes tipos de microarrays:

- De proteínas.
- De tejidos.
- De DNA:
 - Arrays de CGH.
 - SNPs.
- De expresión:
 - De cDNA.
 - De oligonucleótidos: GeneChip Affymetrix y otras marcas.

4.1. Aplicaciones de los microarrays

Entre las numerosas aplicaciones que tienen los experimentos con microarrays podemos destacar algunas como:

- Estudio de genes que se expresan diferencialmente entre varias condiciones (sanos/enfermos, tratados/no tratados, etc.).
- Clasificación molecular en enfermedades complejas.
- Identificación de genes característicos de una patología (firma o "signature").
- Predicción de respuesta a un tratamiento.
- Detección de mutaciones y polimorfismos de un único gen (SNP).

4.2. Microarrays de 1-Color

Son microarrays de oligonucleótidos sintetizados in situ, con un diseño más avanzado que los de dos colores. Utilizan tecnologías desarrolladas en el entorno de la microelectrónica. Algunos rasgos distintivos de este tipo de microarrays son:

- No se basan en hibridación competitiva: cada chip contiene muestras de un solo tipo.
- Las sondas se sintetizan directamente sobre el chip, en lugar de sintetizarlas in vitro y adherirlas después.
- Cada gen está representado por un grupo de sondas cortas (25 bases), en vez de por una sola sonda.

4.2.1. Chips de Affymetrix

Affymetrix es la compañía líder en la fabricación de chips de un color; se denominan genéricamente GeneChips. Algunos de ellos contienen genomas enteros con más de 50.000 grupos de sondas o "probesets". Un grupo de sondas mide niveles de mRNA de un único gen. Cada grupo consta de múltiples pares de celdillas. Tras la síntesis de los "oligos", se realiza la hibridación, depositando el mRNA marcado del tejido sobre cada chip.

4.3. Proceso de análisis de microarrays

Tras el diseño experimental y la obtención del Chip-Affy hibridado, se obtienen imágenes del mismo que deben ser analizadas y deben pasar unos test de calidad para poder procesarlas y obtener información significativa de ellas. Podemos dividir el proceso de análisis en dos grandes bloques: el pre-procesamiento o análisis de bajo nivel, y el análisis de alto nivel. Tras este último debe contarse siempre con una interpretación y una verificación biológica de los resultados, que determinará si los resultados son coherentes y significativos o debe volver a realizarse el diseño del experimento. Para llevar a cabo todo este proceso de análisis de microarrays utilizaremos el software del proyecto Bioconductor. Bioconductor es un proyecto de software libre (código y desarrollo abiertos) basado en el lenguaje de programación R, que proporciona herramientas para el análisis de datos genómicos de alto rendimiento. El proyecto se inició en el año 2001 e incluye a muchos desarrolladores de diferentes continentes. Incluye una gran cantidad de paquetes que presentan diferentes funcionalidades como análisis de microarrays, secuenciación y detección de SNPs, entre muchas otras. Los objetivos del proyecto Bioconductor son:

- Proporcionar acceso a potentes métodos estadísticos y gráficos para el análisis de datos genómicos.
- Facilitar la integración de metadatos biológicos en el análisis de datos experimentales.
- Permitir el desarrollo rápido de software extensible, interoperable y escalable.
- Promover la documentación de alta calidad y la investigación reproducible.
- Proporcionar formación en métodos de cálculo y estadística.

La instalación de bioconductor se basa en dos instrucciones:

- `>source("http://www.bioconductor.org/biocLite.R")`
- `>biocLite()`

Para instalar cualquiera de los paquetes pertenecientes a Bioconductor utilizamos los comandos:

- `>source("http://www.bioconductor.org/biocLite.R")`
- `>biocLite("nombrepaquete")`

4.3.1. Lectura de datos de expresión

Los ficheros CEL contienen el resultado del análisis de imagen sobre el proceso de hibridación de los microarrays. Cada fichero CEL contiene la información correspondiente a un individuo. Mediante un proceso de lectura de estos ficheros se construye una estructura que tendrá como columnas los individuos y como filas la expresión de cada gen. Toda esta "matriz" de información se guarda en un fichero RData.

El paquete affy del proyecto Bioconductor proporciona métodos para el análisis y la exploración de datos a nivel de sonda en chips de Affymetrix.

Utilizando el paquete affy cargamos los datos del fichero RData y los guardamos en un objeto de la clase affy. A este objeto podemos añadirle tanto información fenotípica como meta-información, gracias al paquete mirna20cdf. Al hacer esto tenemos un objeto de la clase affy (mirna) el cual contendrá un objeto que será la matriz de expresión (con id de pacientes por columnas y genes por filas) y otro objeto con una submatriz de los datos fenotípicos con las columnas que se hayan elegido (entre ellos el id de paciente), en este caso id, fenotipo y grupo. Para luego relacionar estos dos objetos utilizaremos los id de los pacientes.

```
> library(affy)
> load("C:/Users/usuario/Desktop/Curso13-14/02Semestre/DataMining/DatExp.RData")
> library(mirna20cdf)
> vmd<-data.frame(labelDescription=c("id","fenotipo", "grupo"))
> phenoData(mirna)<-new("AnnotatedDataFrame", data=misDatos[,1:3], varMetadata=vmd)
> show(mirna)
```

```
AffyBatch object
size of arrays=478x478 features (47 kb)
cdf=miRNA-2_0 (20706 affyids)
number of samples=75
number of genes=20706
annotation=mirna20
notes=

>
```

Como podemos observar, mediante el comando 'show' obtenemos información sobre nuestro objeto de clase AffyBatch. El tamaño de los arrays es de 478x478 posiciones y, en nuestro experimento, disponemos de 75 arrays miRNA-2-0 de Affymetrix en los que se interrogan 20706 miRNAs.

4.4. Pre-procesamiento (Low-level analysis)

Los métodos gráficos permiten testar la calidad de los datos para decidir su exclusión o no del proceso de análisis. Este proceso está formado por:

1. Control de calidad. En los chips de Affymetrix basado en:
 - Análisis de las distribuciones de los datos (density plots)
 - Estudio de la degradación del RNA (digestion plots)
 - Estudio de los cuartiles de la distribución (box plots)
 - Ajuste de modelos a nivel de sonda (gráficos de RLE y NUSE)

2. Normalización

- Algoritmo RMA para los chips Affymetrix

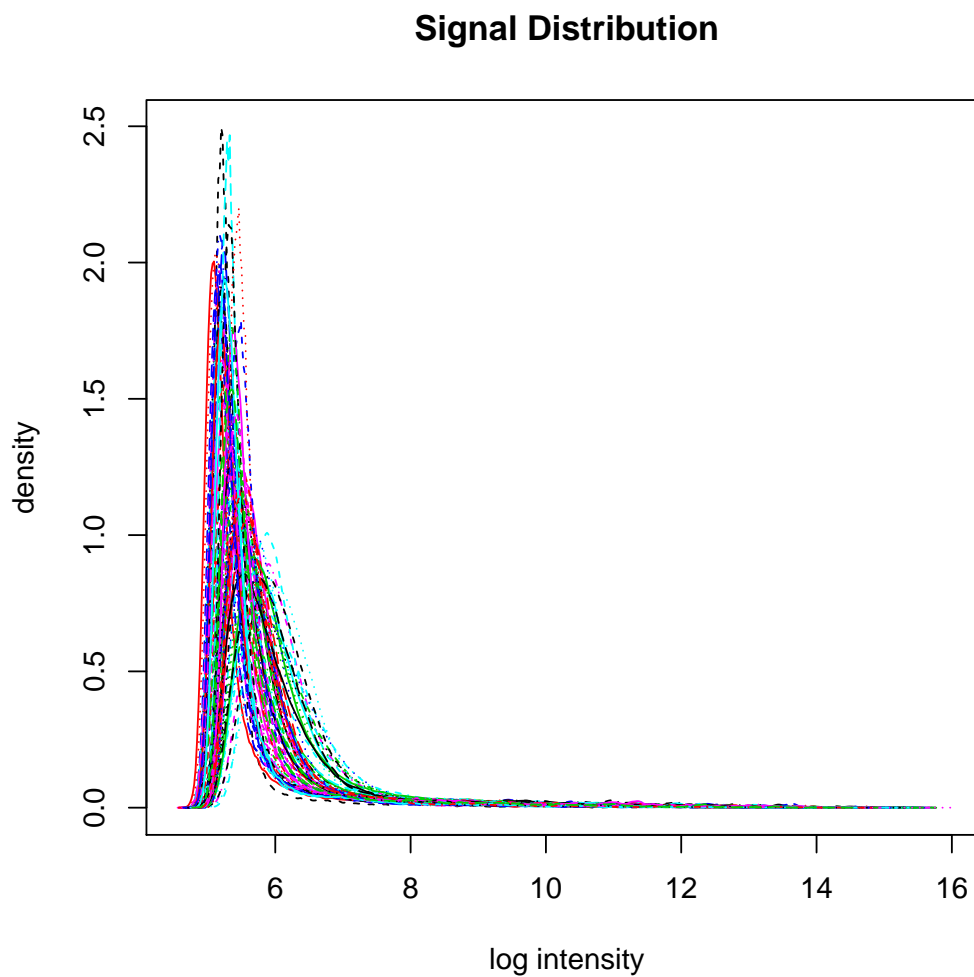
3. Filtrado de genes

4.4.1. Control de calidad

1. Density plots

El análisis de las distribuciones de los datos permite identificar niveles de expresión diferentes entre los arrays.

```
> #PRE-PROCESAMIENTO (LOW-LEVEL ANALYSIS)
> #control de calidad - density plots
>
> hist(mirna, main="Signal Distribution")
```

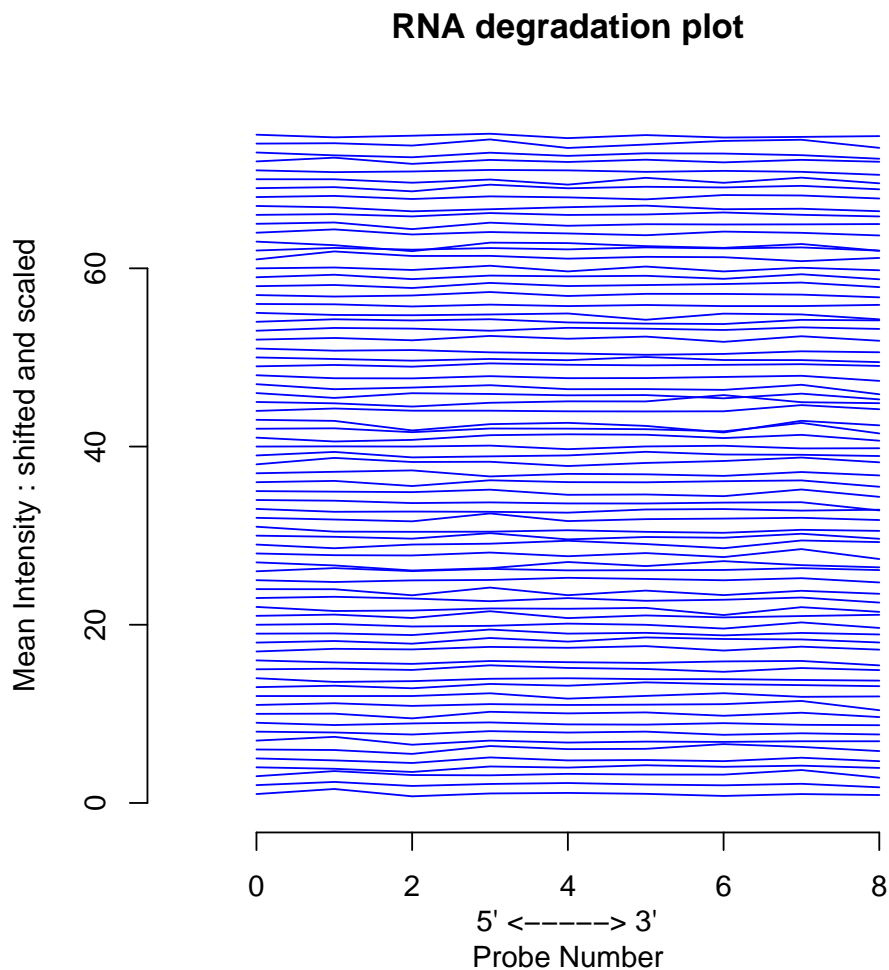


Si alguna de las curvas estuviera claramente desplazada, indicaría que, por algún motivo, la lectura de intensidad del microarray no está bien y conviene eliminar la información de ese microarray del experimento.

2. Digestion plots

Los gráficos de degradación de RNA permiten evaluar la calidad de las muestras usadas en todos los arrays.

```
> #control de calidad- digestion plots
>
> deg<-AffyRNAdeg(mirna)
> plotAffyRNAdeg(deg)
>
```



Si alguna de las curvas cayera notablemente hacia abajo (o no se mantuviera prácticamente horizontal) indicaría que la muestra de ese microarray no ha hibridado de forma correcta. Convendría eliminar la información de ese microarray del experimento.

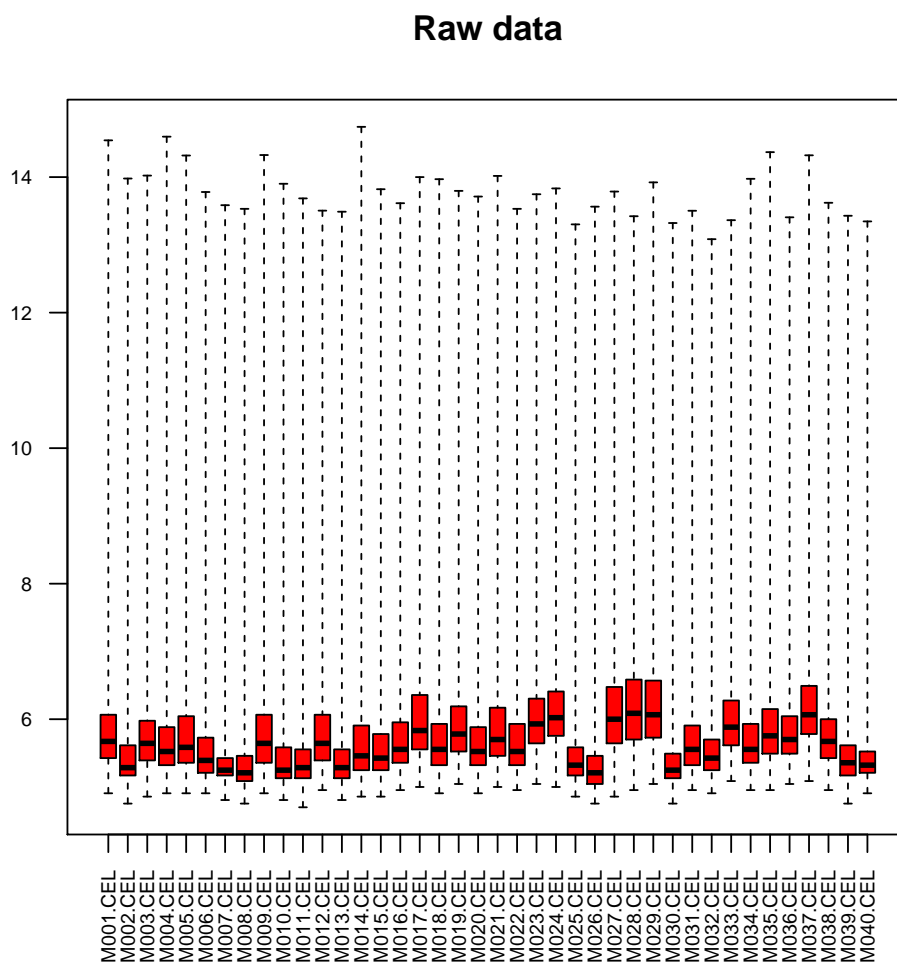
3. Box plots

Los diagramas de cajas permiten estudiar los cuartiles de las distribuciones de los valores de expresión en cada array. Se esperan valores similares para las medianas si no existe anomalía en la distribución de los datos. Para tener una mejor visualización de los datos, se ha dividido en dos diagramas de cajas el conjunto:

```

> #control de calidad- box plots
>
> #par: sirve para ajustar la visibilidad de las etiquetas
> #las: sirve para poner las etiquetas verticalmente
> opt<-par(las=2,cex.axis=0.7)
> boxplot(mirna[1:40,], las=2, col="red",main= "Raw data")
> par(opt)
>

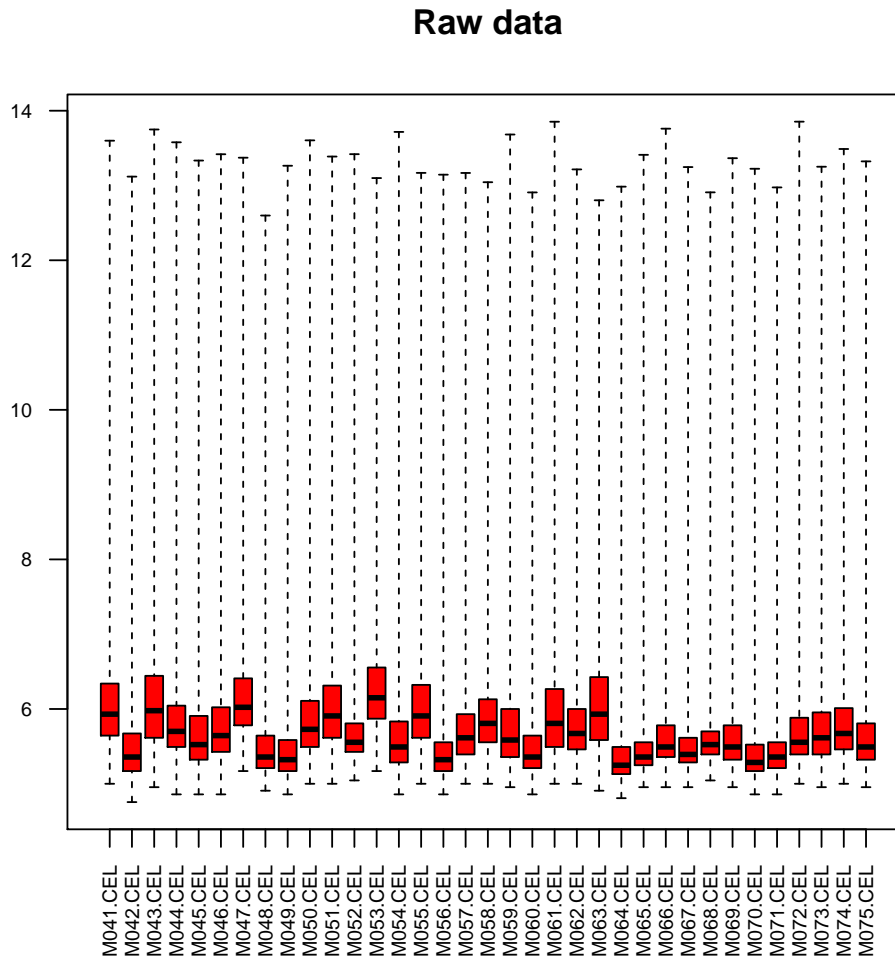
```



```

> opt<- par(las=2, cex.axis=0.7)
> boxplot(mirna[41:75,], las=2, col="red",main="Raw data")
> par(opt)

```



El posterior proceso de normalización permite eliminar las anomalías y preparar los datos para su comparación mediante el análisis de expresión diferencial.

4. RLE

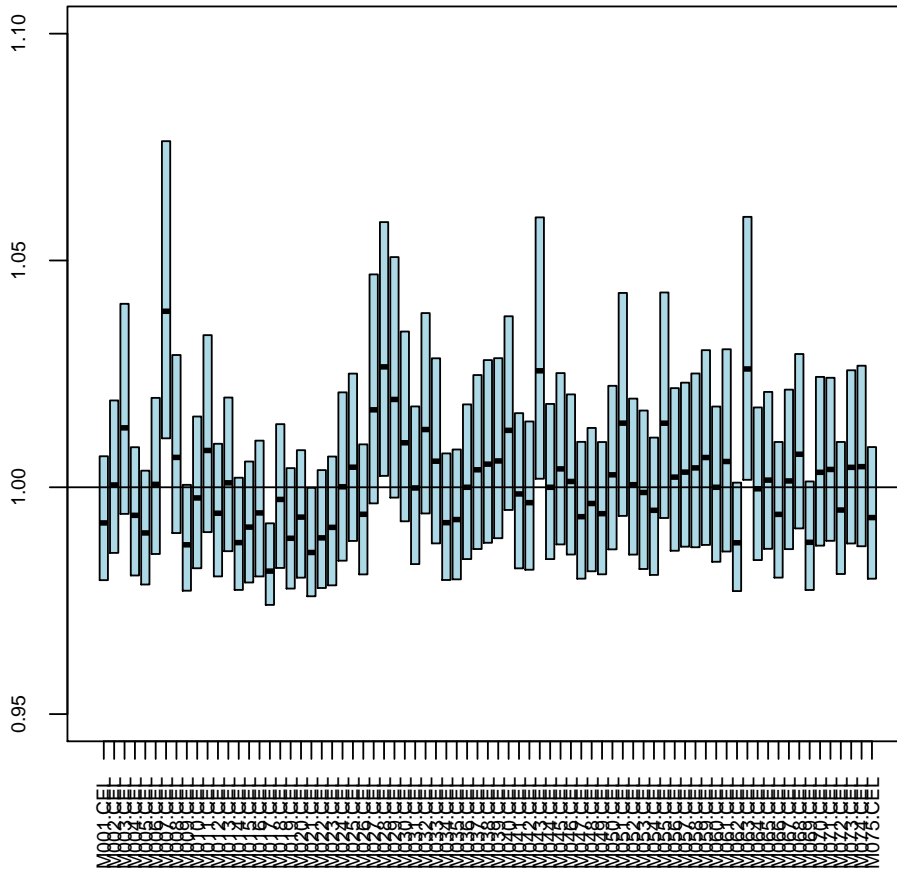
Un modelo lineal de datos a nivel de sonda permite analizar las distribuciones de los RLE (valores de expresión log-relativa). Los RLE se calculan para cada conjunto de sondas comparando el valor de expresión en cada array respecto la mediana del valor de expresión para ese conjunto de sondas a lo largo de todos los arrays. El análisis de la distribución de los RLE permite comprobar si los genes están variando sus valores de expresión para los diferentes arrays.

```
> #control de calidad- RLE
> library(affyPLM)
> Pset<-fitPLM(mirna)
> RLE(Pset, main= "Relative Log Expression", las=3, cex.axis=0.7, ylim=c(-0.5,0.5), outline=FALSE, col="mi
>
```

Los errores estándares desescalados y normalizados (NUSE) derivados del ajuste se usan también como medida de calidad. Arrays con distribuciones desplazadas y dispersión mayor que el resto podrían alterar el posterior análisis de expresión diferencial.

>

Normalized Unscaled Standard Errors



Las cajas del "boxplot" que estén significativamente desplazadas de la línea media probablemente generan ruido y normalmente conviene eliminar estos casos del experimento. En nuestro caso, podemos afirmar que se encuentran significativamente desplazadas las cajas de las muestras 7, 28, 43 y 63.

4.4.2. Normalización de los datos

La normalización se refiere a los métodos utilizados para eliminar variaciones sistemáticas en los datos de microarrays. En chips de Affymetrix, el método comúnmente usado en la literatura es el algoritmo RMA (promedio de multiarray robusto), el cual se basa en:

1. Corrección de fondo, que ajusta las lecturas de intensidad para señales no específicas.
2. Normalización entre arrays, para controlar la variabilidad técnica del gen experimento.
3. Resumen de expresión, que calcula el nivel de expresión del gen a partir de todas las sondas que hacen diana en el transcrito.

En nuestro experimento, eliminaremos los casos conflictivos mencionados anteriormente en el control de calidad NUSE. La visualización posterior mediante un diagrama de cajas permite comprobar los resultados del proceso de normalización.

```

> #normalización de datos
>
> idrem<-c(-7,-28,-43,-63)
> mirna<-mirna[,idrem]
> samples<-sampleNames(protocolData(mirna))
> sampleNames(phenoData(mirna))<-samples
> eset_rma<-rma(mirna)

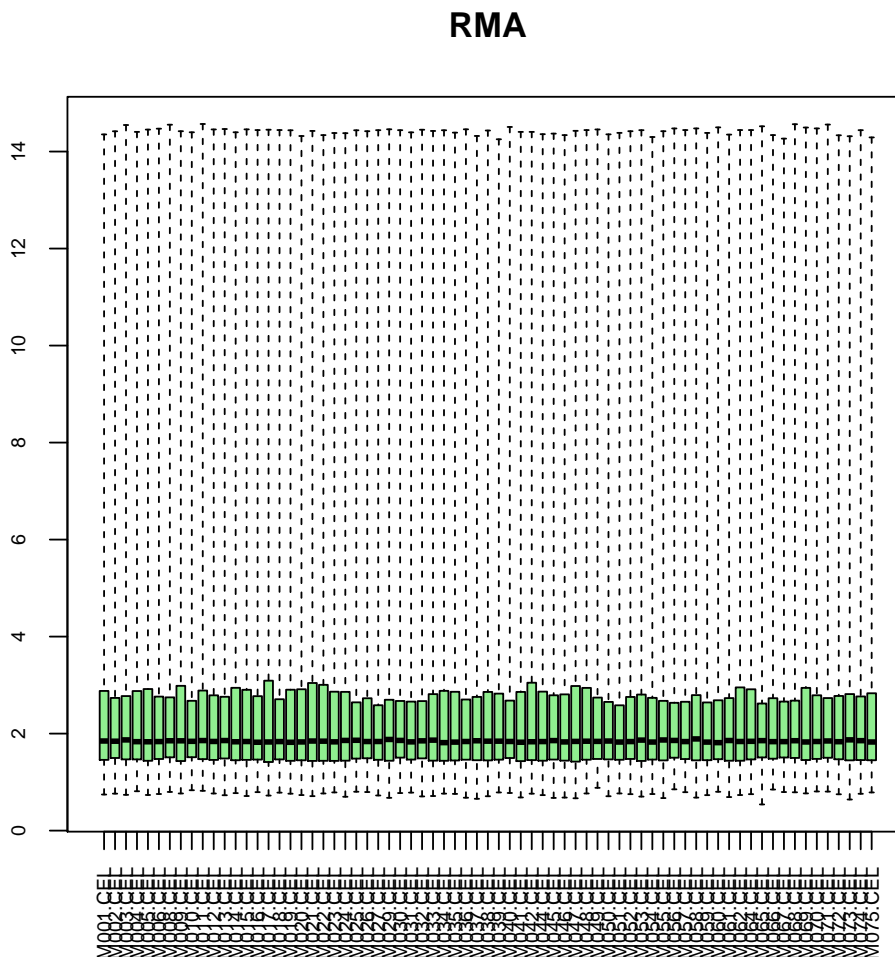
```

Background correcting
 Normalizing
 Calculating Expression

```

> boxplot(eset_rma,main="RMA",names=sampleNames(eset_rma),cex.axis=0.65,las=3,col="lightgreen")

```



Para poder realizar la normalización de datos mediante el algoritmo RMA debemos asegurarnos de que los nombres de las muestras entre los datos de expresión (protocolData) y los datos fenotípicos (phenoData), coinciden. Como esto no era así en un principio, los hemos igualado utilizando una variable (samples).

4.4.3. Filtrado de datos

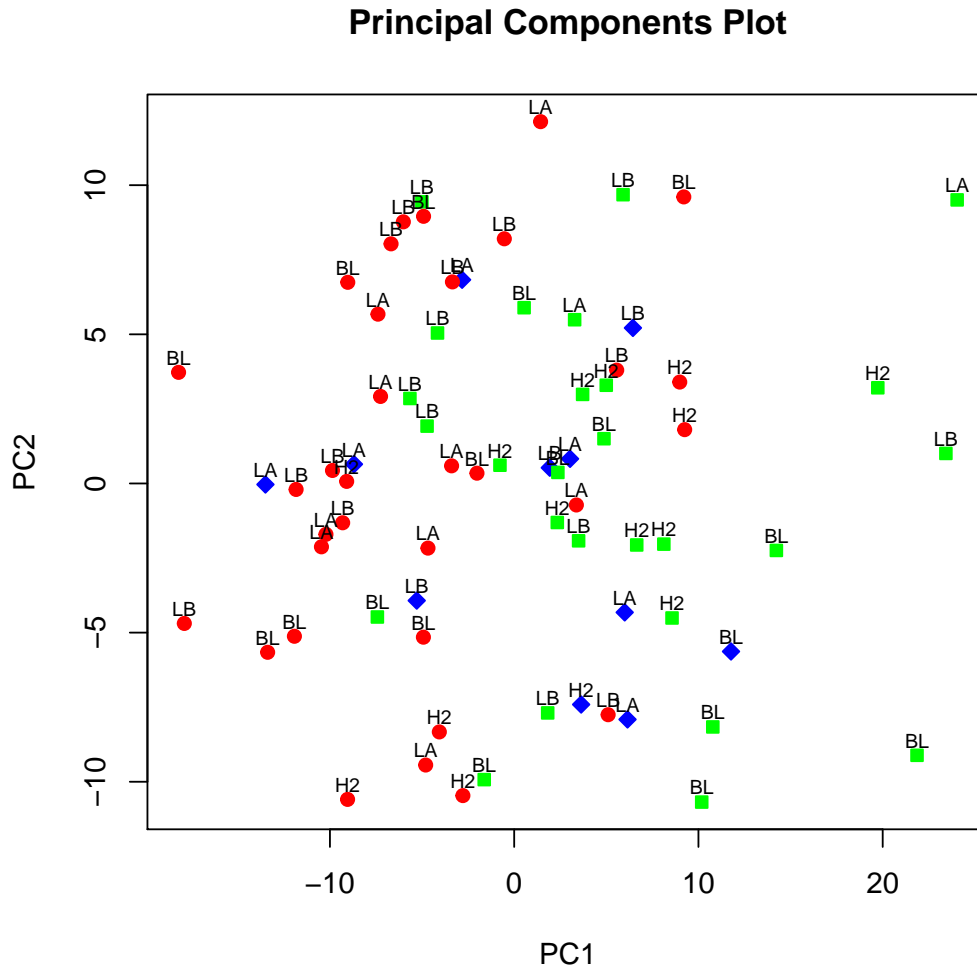
El objetivo del filtrado de datos es eliminar del estudio aquellos genes que no interesan para el posterior análisis de alto nivel. Existen filtrados de tipo específico y no-específico. Los del segundo tipo son típicos para excluir genes cuyos valores de expresión no cambian durante el experimento. En nuestro caso filtraremos sólo los genes hibridados con sonda de humanos, a lo cual hace referencia 'hsa'.

```
> #filtrado de datos
> library(genefilter)
> eset_rma<-eset_rma[grepl("(^hsa|^v11_hsa)",rownames(exprs(eset_rma))),]
> eset_rma_filtered<-nsFilter(eset_rma,remove.dupEntrez=FALSE,require.entrez=FALSE,var.cutoff=0.66)$eset
>
```

Análisis del agrupamiento mediante PCA

Se trata de realizar una agrupación de las muestras en base a los datos que capturan la máxima variabilidad de los datos. Una visualización de los dos primeros componentes del análisis PCA muestra la estructura general de los datos y la agrupación de los experimentos. En nuestro gráfico podremos ver, diferenciados por colores, los grupos a los que pertenece cada individuo y, mediante etiquetas, el fenotipo de cada uno.

```
> #análisis del agrupamiento mediante PCA
> library(affycoretools)
> etq<-pData(eset_rma_filtered)[,2]
> levels(etq)<-c(" ", "BL", "H2", "LH", "LA", "LB")
> plotPCA(eset_rma_filtered, groups=pData(eset_rma_filtered)[,3],groupnames=levels(pData(eset_rma_filtered)
>
```



Podemos observar que el PCA ha conseguido agrupar las variables en dos grandes grupos(PC1 y PC2), que discriminan algo entre los pacientes de grupo A (rojos) y los pacientes del grupo B (verdes). El mayor problema que se observa es que los pacientes del grupo C (azules) están mezclados con todos. Esto tiene un importante significado, ya que este grupo representa a los pacientes que sufren recidiva tardía.

4.5. Análisis de alto nivel

Podemos clasificar el análisis de alto nivel en:

1. Class comparison

- Selección de genes diferencialmente expresados entre diferentes condiciones.
- Métodos basados en modelos (ANOVA) y tests globales (SAM y limma - modelos lineales y Bayes empírico).
- Diagramas tipo "volcanos" diagramas Venn.

2. Class discovery (Clustering)

- No supervisado: HC, SOM, K-means.

- Reducción dimensionalidad: PCA, MDS.

3. Class prediction (modelos predictivos)

- Estadística: regresión logística, regresión de Cox.
- Machine Learning: RRNN (redes neuronales), SVM (máquinas de soporte vectorial), DT (árboles de decisión), etc.

4.5.1. Class comparison

La selección de genes se realiza en base a estadísticos y tests de comparaciones múltiples. Cuando el número de muestras es pequeño se utiliza el estadístico-t modificado para el análisis de expresión diferencial. El resultado del análisis de expresión diferencial es una lista ordenada por el p-valor y el q-valor (p-valor ajustado).

```
> #class comparison
> library(limma)
> my.eset<-eset_rma_filtered
> npac<-length(sampleNames(my.eset))
> p.value.cutoff<-0.05
> design<-as.matrix(data.frame(A=rep(0,npac), B=rep(0,npac), C=rep(0,npac)))
> design[pData(my.eset)$grupo=="Grupo A", "A"]<-1
> design[pData(my.eset)$grupo=="Grupo B", "B"]<-1
> design[pData(my.eset)$grupo=="Grupo C", "C"]<-1
> fit1<-lmFit(my.eset, design)
> cont.matrix<-makeContrasts(AvsB=B-A, AvsC=C-A, BvsC=C-B, AvsBC=(B*0.7103+C*0.28947)-A, ACvsB=B-(A*0.75+C*0.25))
> fit1.main<-contrasts.fit(fit1, cont.matrix)
> fit1.main<-eBayes(fit1.main)
> t4<-topTable(fit1.main, number=nrow(fit1.main), coef="AvsBC", adjust="fdr")
> t4
```

	logFC	AveExpr	t	P.Value
hsa-miR-1202_st	0.932235317	6.930249	5.14644051	1.993575e-06
hsa-miR-3197_st	0.840765540	8.079849	4.89521285	5.328601e-06
hsa-miR-3185_st	0.913225618	9.241427	4.83320366	6.768987e-06
hsa-miR-1225-5p_st	0.880507690	7.297826	4.73883423	9.715772e-06
hsa-miR-939_st	0.853831365	7.087687	4.72210880	1.035482e-05
hsa-miR-1909_st	0.864744185	7.690435	4.57977835	1.772776e-05
hsa-miR-1224-5p_st	0.852408613	7.081658	4.57031318	1.836787e-05
hsa-miR-1268_st	0.815626739	10.028438	4.55088524	1.975281e-05
hsa-miR-660_st	-0.906838372	4.227086	-4.54630822	2.009356e-05
hsa-miR-3180-3p_st	0.824751749	6.219487	4.44408341	2.937480e-05
hsa-miR-150-star_st	0.780121169	6.743032	4.43440320	3.044342e-05
hsa-miR-625_st	-1.194166974	3.940068	-4.40754071	3.360984e-05
hsa-miR-92b-star_st	0.795969151	7.453412	4.38318637	3.675456e-05
hsa-miR-3188_st	0.779604952	6.411627	4.38158977	3.697038e-05
hsa-miR-1908_st	0.727087824	11.016968	4.36848925	3.878815e-05
hsa-miR-663_st	0.787267245	9.972565	4.34611781	4.209409e-05
hsa-miR-652_st	-1.040068179	6.154408	-4.32107242	4.611860e-05
hsa-miR-92a_st	-0.724454069	8.600097	-4.18906495	7.428133e-05
hsa-miR-423-3p_st	-0.863128981	6.093552	-4.15425837	8.411758e-05
hsa-miR-572_st	1.015253874	8.558562	4.13142985	9.123797e-05
hsa-miR-3141_st	0.735164379	8.801415	4.11962376	9.514461e-05
hsa-miR-3162_st	0.794011051	8.499922	4.11142376	9.795224e-05
hsa-miR-1275_st	0.629459446	7.598373	4.09756869	1.028783e-04

hsa-miR-4281_st	0.704044560	11.018851	4.06739774	1.144432e-04
hsa-miR-373-star_st	0.678250966	3.857493	4.04944453	1.219078e-04
hsa-miR-1228-star_st	0.664444091	11.036847	3.99758201	1.461923e-04
hsa-miR-200a-star_st	-0.843688069	3.555439	-3.98652734	1.519383e-04
hsa-miR-671-5p_st	0.624796407	6.518685	3.88471827	2.160884e-04
hsa-miR-762_st	0.513459732	12.004606	3.87100811	2.264950e-04
hsa-miR-4322_st	0.660405234	5.095996	3.85995232	2.352345e-04
hsa-miR-665_st	0.728144445	5.591042	3.84715467	2.457537e-04
hsa-miR-149-star_st	0.499675360	11.938711	3.84438347	2.480901e-04
hsa-miR-371-5p_st	0.718206135	5.951377	3.77945541	3.093137e-04
hsa-miR-532-5p_st	-0.796622617	5.795092	-3.75109885	3.403588e-04
hsa-miR-1469_st	0.599939295	11.454754	3.74981134	3.418366e-04
hsa-miR-1207-5p_st	0.606672612	10.024774	3.71371956	3.858445e-04
hsa-miR-1281_st	0.687503176	7.532603	3.69700341	4.080095e-04
hsa-miR-149_st	-1.285637523	4.271160	-3.66471681	4.542981e-04
hsa-miR-3178_st	0.628552572	9.224269	3.66284124	4.571352e-04
hsa-miR-1307_st	0.560038922	7.044641	3.66139892	4.593284e-04
hsa-miR-663b_st	0.840828139	6.054956	3.61341109	5.382753e-04
hsa-miR-30c_st	-0.900214419	6.711727	-3.61102295	5.425231e-04
hsa-miR-940_st	0.574818385	5.061815	3.60630657	5.510058e-04
hsa-miR-345_st	-0.876492921	5.844740	-3.60011788	5.623279e-04
hsa-miR-125a-5p_st	-0.774679527	7.036146	-3.58893414	5.833507e-04
hsa-miR-28-3p_st	-0.842276612	5.082358	-3.57934715	6.019637e-04
hsa-miR-1308_st	0.635658243	11.622680	3.57321446	6.141644e-04
hsa-miR-4298_st	0.582148232	8.235986	3.57131262	6.179954e-04
hsa-miR-3187_st	0.742411530	4.723341	3.53585120	6.937167e-04
hsa-miR-1231_st	0.692004442	5.681367	3.53469890	6.963189e-04
hsa-miR-3195_st	0.625584872	6.554828	3.51445853	7.435636e-04
hsa-miR-20b_st	-1.051069730	5.664892	-3.47507991	8.443085e-04
hsa-miR-4327_st	0.567038146	5.568882	3.46364412	8.759027e-04
hsa-miR-330-3p_st	-0.710972753	3.736001	-3.45157688	9.104515e-04
hsa-miR-1471_st	0.699527183	3.952442	3.44494123	9.299942e-04
hsa-miR-17-star_st	-0.806667228	3.419755	-3.44449543	9.313212e-04
hsa-miR-574-3p_st	-0.735568750	5.697789	-3.42436611	9.931395e-04
hsa-miR-659_st	0.558076902	4.213460	3.40681818	1.050171e-03
hsa-miR-4299_st	0.507275531	7.014329	3.39410004	1.093422e-03
hsa-miR-339-5p_st	-0.776803443	3.884259	-3.39041040	1.106280e-03
hsa-miR-3154_st	0.570799326	6.171460	3.35918971	1.220934e-03
hsa-miR-18b_st	-0.612197419	2.079037	-3.33094931	1.334197e-03
hsa-miR-99b_st	-0.520129478	8.585121	-3.31571255	1.399341e-03
hsa-miR-15a_st	-0.989427711	4.894535	-3.31373596	1.408008e-03
hsa-miR-500-star_st	-0.654619062	4.469500	-3.31187634	1.416208e-03
hsa-miR-99b-star_st	-0.736621838	4.366322	-3.29212309	1.506123e-03
hsa-miR-498_st	0.589600982	4.012144	3.28023287	1.562803e-03
hsa-miR-339-3p_st	-0.530164880	4.920080	-3.26721447	1.627155e-03
hsa-miR-4257_st	0.543079155	5.433858	3.25428790	1.693507e-03
hsa-miR-622_st	0.601611300	3.261697	3.23274365	1.809762e-03
hsa-miR-106b-star_st	-0.652719914	4.941356	-3.21742036	1.896954e-03
hsa-miR-98_st	-0.655698013	3.832042	-3.20248143	1.985733e-03
hsa-miR-30a-star_st	-1.259956855	4.173884	-3.18751221	2.078580e-03
hsa-miR-885-3p_st	0.586189013	5.790355	3.18525311	2.092940e-03
hsa-miR-28-5p_st	-0.662321494	6.016216	-3.17431078	2.163817e-03
hsa-miR-1228_st	0.575230752	5.077796	3.13896596	2.408378e-03
hsa-miR-497_st	-0.822565803	5.736773	-3.13490263	2.438091e-03
hsa-miR-30d_st	-0.689130820	6.130703	-3.13157043	2.462712e-03
hsa-miR-602_st	0.537055493	5.134675	3.13133461	2.464463e-03

hsa-miR-224_st	-0.938694576	2.210481	-3.11123187	2.618089e-03
hsa-miR-612_st	0.758746263	3.685274	3.09918013	2.714421e-03
hsa-miR-637_st	0.539340590	3.662619	3.09008353	2.789308e-03
hsa-miR-1226-star_st	0.504320029	4.449881	3.08531340	2.829342e-03
hsa-miR-346_st	0.635640780	3.806931	3.07140719	2.949127e-03
hsa-miR-151-3p_st	-0.634511512	6.537350	-3.06377967	3.016815e-03
hsa-miR-532-3p_st	-0.540690594	3.757268	-3.06364547	3.018019e-03
hsa-miR-4286_st	-0.880529378	6.384456	-3.04430678	3.196231e-03
hsa-miR-4270_st	0.528657005	11.360205	3.03206972	3.314000e-03
hsa-miR-181a-2-star_st	-0.689532425	3.016109	-3.03134919	3.321058e-03
hsa-miR-17_st	-0.605776122	8.901756	-3.00705736	3.567355e-03
hsa-miR-1910_st	0.569593167	5.348801	2.99752597	3.668542e-03
hsa-miR-1246_st	0.556987906	6.693242	2.97792134	3.885084e-03
hsa-miR-30b_st	-0.888167722	5.816103	-2.97450693	3.923987e-03
hsa-miR-106a_st	-0.604817978	8.631071	-2.94299697	4.300413e-03
hsa-miR-629_st	-0.615708391	4.035458	-2.93709910	4.374477e-03
hsa-let-7b_st	-0.459153777	12.992278	-2.93050521	4.458676e-03
hsa-miR-2277_st	0.482599247	2.942276	2.92010093	4.594581e-03
hsa-miR-129-5p_st	0.541311566	3.151014	2.91691724	4.636926e-03
hsa-miR-362-5p_st	-0.760654223	4.454610	-2.90640977	4.779252e-03
hsa-miR-34a_st	-0.582200481	6.998778	-2.88178238	5.128771e-03
hsa-miR-30e_st	-0.656242964	3.076832	-2.85834849	5.483076e-03
hsa-miR-198_st	0.473017550	5.321552	2.82814589	5.972941e-03
hsa-miR-3137_st	0.496426238	5.277517	2.82718285	5.989202e-03
hsa-miR-26b_st	-0.595290199	3.314080	-2.82647167	6.001238e-03
hsa-miR-20a_st	-0.627169401	8.190138	-2.82201796	6.077112e-03
hsa-miR-1914-star_st	0.456320606	4.497447	2.82008081	6.110388e-03
hsa-miR-331-3p_st	-0.521056386	3.775428	-2.81484490	6.201169e-03
hsa-miR-1825_st	0.473019677	4.529808	2.80967295	6.292055e-03
hsa-miR-1180_st	-0.602231889	4.262023	-2.80629166	6.352133e-03
hsa-miR-509-3-5p_st	-0.419299597	2.696054	-2.79381370	6.578422e-03
hsa-miR-1909-star_st	0.574624101	3.641303	2.76247917	7.179638e-03
hsa-miR-513a-5p_st	0.529124565	5.794572	2.75846742	7.260141e-03
hsa-miR-3177_st	0.398153681	4.350381	2.75587655	7.312570e-03
hsa-miR-1271_st	-0.490556690	3.131611	-2.75094017	7.413421e-03
hsa-miR-557_st	0.508547824	3.880103	2.73738815	7.696868e-03
hsa-miR-3147_st	0.454534285	5.848674	2.73659135	7.713837e-03
hsa-miR-1260b_st	-0.602351754	6.375968	-2.73295075	7.791808e-03
hsa-miR-30e-star_st	-0.473820702	2.472581	-2.73014450	7.852400e-03
hsa-miR-1208_st	0.451403776	2.977001	2.70113732	8.504415e-03
hsa-miR-3175_st	0.436133998	6.635197	2.69890915	8.556486e-03
hsa-miR-3192_st	0.430978863	3.134801	2.69734554	8.593199e-03
hsa-miR-505-star_st	-0.629589862	3.602267	-2.69175215	8.725712e-03
hsa-miR-1913_st	0.414751744	3.713797	2.69028651	8.760741e-03
hsa-miR-128_st	-0.690654535	3.010315	-2.68666858	8.847759e-03
hsa-miR-3122_st	0.397179953	3.858650	2.68416247	8.908497e-03
hsa-miR-141_st	-0.843260100	4.987415	-2.67912755	9.031671e-03
hsa-miR-324-3p_st	-0.501917602	4.351050	-2.64388775	9.938089e-03
hsa-miR-132_st	-0.588956164	4.351752	-2.64365366	9.944377e-03
hsa-miR-4253_st	0.404474997	4.818914	2.63809151	1.009485e-02
hsa-miR-1238_st	0.395041058	3.584736	2.63579977	1.015745e-02
hsa-miR-564_st	0.366842268	3.793605	2.62719662	1.039560e-02
hsa-miR-1273d_st	0.548446166	4.161022	2.62337639	1.050297e-02
hsa-miR-3194_st	0.435233695	3.624532	2.62300337	1.051351e-02
hsa-miR-19b_st	-0.706347297	5.669139	-2.60861664	1.092730e-02
hsa-miR-1972_st	0.432934217	5.822272	2.59043553	1.147132e-02

hsa-miR-623_st	0.485106535	3.563029	2.58959908	1.149693e-02
hsa-miR-4321_st	0.407263759	2.653370	2.58149395	1.174776e-02
hsa-miR-148a_st	-0.669786103	3.131138	-2.54830093	1.282744e-02
hsa-miR-1973_st	0.411729261	6.113818	2.53616837	1.324391e-02
hsa-miR-3181_st	0.386900443	2.430240	2.51576928	1.397168e-02
hsa-miR-29c_st	-0.515559989	2.368294	-2.50122675	1.451227e-02
hsa-miR-200b-star_st	-0.495927558	5.783179	-2.49968862	1.457054e-02
hsa-let-7c_st	-0.391744304	11.860964	-2.48834297	1.500684e-02
hsa-miR-100_st	-0.671042784	6.951314	-2.48788096	1.502485e-02
hsa-miR-130a_st	-0.475946573	6.158702	-2.48783120	1.502679e-02
hsa-miR-296-3p_st	0.453834160	5.016344	2.48287819	1.522115e-02
hsa-miR-195_st	-0.512665835	8.168979	-2.44452459	1.680415e-02
hsa-miR-1263_st	0.424519716	4.572852	2.43142179	1.737781e-02
hsa-miR-1254_st	0.525359107	4.092209	2.42518026	1.765718e-02
hsa-miR-143-star_st	-0.510173289	2.690512	-2.42015283	1.788512e-02
hsa-miR-135a-star_st	0.486487160	5.504564	2.41709212	1.802517e-02
hsa-miR-370_st	0.354503556	4.576929	2.41302962	1.821258e-02
hsa-miR-92b_st	-0.479743226	4.350698	-2.41088765	1.831209e-02
hsa-miR-1182_st	0.426612532	5.114693	2.40514884	1.858110e-02
hsa-miR-1183_st	0.419700998	5.616690	2.39740825	1.894952e-02
hsa-miR-379_st	-0.495528379	3.156184	-2.39190583	1.921536e-02
hsa-miR-421_st	-0.492684644	3.843971	-2.36328637	2.065236e-02
hsa-miR-943_st	0.422884033	2.803484	2.36123630	2.075887e-02
hsa-miR-200a_st	-0.825602571	5.230449	-2.34677403	2.152424e-02
hsa-miR-760_st	0.355687614	3.843908	2.33412017	2.221434e-02
hsa-miR-31_st	-0.813913092	5.767650	-2.32644829	2.264223e-02
hsa-miR-148b_st	-0.427167393	2.259046	-2.28758660	2.492379e-02
hsa-miR-483-5p_st	0.419988643	6.754342	2.28116132	2.531997e-02
hsa-miR-491-5p_st	-0.421959008	3.094171	-2.27473128	2.572200e-02
hsa-miR-10a_st	-0.905019171	4.551435	-2.27143919	2.593001e-02
hsa-miR-30a_st	-0.756271396	6.998109	-2.26062875	2.662351e-02
hsa-miR-3172_st	-0.539603609	5.859417	-2.26028319	2.664594e-02
hsa-miR-363_st	-0.546452702	2.462044	-2.25488579	2.699853e-02
hsa-miR-192_st	-0.502129046	2.882181	-2.25129372	2.723545e-02
hsa-miR-23b_st	-0.424296592	9.858689	-2.25061458	2.728045e-02
hsa-let-7g_st	-0.460180807	7.363802	-2.23954321	2.802331e-02
hsa-miR-183_st	-0.659142127	3.885845	-2.22118576	2.929426e-02
hsa-miR-18a_st	-0.768753438	4.318153	-2.20647399	3.034903e-02
hsa-miR-27b_st	-0.609231750	6.639526	-2.20494918	3.046023e-02
hsa-miR-378c_st	-0.510041459	4.820986	-2.20232583	3.065238e-02
hsa-miR-630_st	0.339925397	2.725743	2.19398438	3.127044e-02
hsa-miR-500_st	-0.498493045	3.843534	-2.19314517	3.133322e-02
hsa-miR-22_st	-0.457905726	7.796383	-2.19080746	3.150868e-02
hsa-miR-885-5p_st	0.404803125	3.411767	2.17782953	3.249849e-02
hsa-miR-29b-2-star_st	-0.670209462	3.920035	-2.17771705	3.250719e-02
hsa-miR-4287_st	0.347591229	2.895091	2.17443366	3.276193e-02
hsa-miR-452_st	-0.432100911	2.508647	-2.16868270	3.321232e-02
hsa-miR-425_st	-0.460249993	7.778400	-2.16326388	3.364164e-02
hsa-miR-127-3p_st	-0.659666322	4.532172	-2.15772817	3.408520e-02
hsa-miR-542-5p_st	-0.439252413	2.719302	-2.13880745	3.563998e-02
hsa-let-7b-star_st	0.309574425	3.149788	2.13870445	3.564861e-02
hsa-miR-615-3p_st	-0.396621307	2.631838	-2.13743296	3.575530e-02
hsa-miR-106b_st	-0.460430945	7.936890	-2.11900091	3.733328e-02
hsa-miR-4271_st	0.450111483	6.394737	2.11747213	3.746684e-02
hsa-miR-1292_st	0.346942654	3.767323	2.10134142	3.890148e-02
hsa-miR-378_st	-0.455657917	6.040757	-2.07719856	4.113753e-02

hsa-miR-487b_st	-0.382582753	2.954034	-2.05421782	4.336823e-02
v11_hsa-miR-1300_st	0.430165352	4.345351	2.04057743	4.474095e-02
hsa-miR-15b_st	-0.408339343	6.728997	-2.03282398	4.553777e-02
hsa-miR-4290_st	0.330457189	3.101505	2.01666100	4.723811e-02
hsa-miR-1237_st	0.315585839	2.866583	1.99461150	4.964529e-02
hsa-miR-3191_st	0.286528323	2.663196	1.95508227	5.422371e-02
hsa-miR-3152_st	0.437056730	4.847723	1.94664893	5.524569e-02
hsa-miR-769-5p_st	-0.379941652	2.624733	-1.93877368	5.621477e-02
hsa-miR-187_st	-0.742860604	2.655824	-1.92097104	5.845875e-02
hsa-miR-3189_st	0.304702053	2.628638	1.91315814	5.946724e-02
hsa-miR-1260_st	-0.329414822	4.158965	-1.91287535	5.950402e-02
hsa-miR-1296_st	0.298828968	2.639729	1.91232884	5.957515e-02
hsa-miR-4314_st	0.318835353	4.285484	1.89857670	6.138881e-02
hsa-miR-320e_st	-0.371349551	5.324616	-1.89743178	6.154188e-02
hsa-miR-675_st	0.357941196	4.973022	1.86505727	6.600554e-02
hsa-miR-152_st	-0.416977864	5.950521	-1.84319376	6.917142e-02
hsa-miR-365-star_st	0.297251319	4.280299	1.83471179	7.043341e-02
hsa-miR-224-star_st	-0.539367097	2.726338	-1.83201659	7.083842e-02
hsa-miR-181d_st	-0.439559071	3.864899	-1.82092358	7.252596e-02
hsa-miR-510_st	0.328186252	4.092855	1.80684375	7.471606e-02
hsa-miR-191-star_st	0.332828769	4.179676	1.79406718	7.675085e-02
hsa-miR-181c_st	-0.353748805	2.862132	-1.78751922	7.781140e-02
hsa-miR-608_st	0.243082423	2.420862	1.77729361	7.949192e-02
hsa-miR-1274b_st	-0.500790999	7.671364	-1.76945913	8.079974e-02
hsa-miR-1301_st	-0.361935079	4.761211	-1.75319138	8.357227e-02
hsa-miR-424-star_st	-0.393411015	3.142623	-1.74955701	8.420230e-02
hsa-miR-378-star_st	-0.330966861	2.749617	-1.74039291	8.580834e-02
hsa-miR-432_st	-0.340553217	3.804069	-1.73925348	8.600978e-02
hsa-miR-30c-2-star_st	-0.441364078	3.906156	-1.73557892	8.666207e-02
hsa-miR-193b_st	-0.465516017	6.796543	-1.73420085	8.690775e-02
hsa-miR-29a_st	-0.343577172	7.238096	-1.72368297	8.880176e-02
hsa-miR-145_st	-0.385174077	9.328077	-1.72152948	8.919370e-02
hsa-miR-3153_st	0.357850320	4.201765	1.71395583	9.058344e-02
hsa-miR-382_st	-0.363160921	3.343070	-1.70897542	9.150697e-02
hsa-miR-30b-star_st	-0.314022575	3.290890	-1.69254278	9.460899e-02
hsa-miR-1272_st	0.353221518	3.738894	1.66941039	9.912082e-02
hsa-miR-615-5p_st	0.226991661	2.778758	1.65791055	1.014281e-01
hsa-miR-720_st	-0.344128508	11.007340	-1.64882231	1.032822e-01
hsa-miR-3190-5p_st	0.297345771	3.290383	1.63722763	1.056875e-01
hsa-miR-214-star_st	-0.386853561	2.661868	-1.63258250	1.066637e-01
hsa-miR-197_st	-0.276685933	3.334765	-1.61544724	1.103281e-01
hsa-miR-125b_st	-0.348917055	8.799159	-1.61500159	1.104248e-01
hsa-miR-24-2-star_st	-0.293573877	3.312454	-1.61280692	1.109017e-01
hsa-miR-194_st	-0.462396737	4.145139	-1.57649112	1.190365e-01
hsa-miR-3138_st	0.274564206	5.718193	1.57420991	1.195630e-01
hsa-miR-513c_st	0.243650639	2.552157	1.56772855	1.210691e-01
hsa-miR-886-3p_st	-0.443406939	4.965755	-1.55858309	1.232199e-01
hsa-miR-205_st	-0.765376739	8.311663	-1.55376047	1.243663e-01
hsa-miR-483-3p_st	0.200673266	2.346219	1.54391603	1.267327e-01
hsa-miR-3121_st	0.438564492	4.395945	1.51957194	1.327382e-01
hsa-miR-1270_st	-0.227072450	2.522222	-1.49068226	1.401541e-01
hsa-miR-3131_st	0.259543755	5.271695	1.46957426	1.457750e-01
hsa-miR-574-5p_st	-0.287264005	4.754149	-1.46301824	1.475562e-01
hsa-miR-422a_st	-0.275572203	4.481345	-1.45898013	1.486617e-01
hsa-miR-29c-star_st	-0.273823119	2.028483	-1.45448207	1.499008e-01
hsa-miR-718_st	0.215648873	3.039484	1.44692618	1.520001e-01

hsa-miR-1538_st	0.183719694	2.155977	1.43016193	1.567395e-01
hsa-miR-143_st	-0.262188830	8.494490	-1.42982656	1.568355e-01
hsa-miR-3163_st	0.342587765	4.788537	1.42078044	1.594411e-01
hsa-miR-146a_st	-0.497480463	6.284087	-1.41683202	1.605888e-01
hsa-miR-409-3p_st	-0.276292904	3.351382	-1.36359808	1.766907e-01
hsa-miR-513b_st	0.240773697	3.199290	1.35490723	1.794321e-01
hsa-miR-206_st	0.348660746	2.646943	1.33603161	1.854971e-01
hsa-miR-99a_st	-0.380067479	7.734500	-1.33301844	1.864794e-01
hsa-miR-4274_st	0.267496989	3.438232	1.32685222	1.885019e-01
hsa-miR-125b-1-star_st	0.265622479	3.165238	1.31892491	1.911261e-01
hsa-miR-342-5p_st	-0.470776613	5.402545	-1.31853421	1.912561e-01
hsa-miR-3116_st	0.204633357	2.761779	1.30415950	1.960869e-01
hsa-miR-202_st	0.311866514	5.227327	1.29911385	1.978040e-01
hsa-miR-181a-star_st	-0.214838449	2.538024	-1.28839662	2.014884e-01
hsa-miR-200b_st	-0.396895317	6.093115	-1.28473383	2.027592e-01
hsa-miR-1255b_st	0.254387001	2.882274	1.28328187	2.032646e-01
hsa-miR-3144-5p_st	0.188150218	2.125252	1.27232844	2.071076e-01
hsa-miR-188-5p_st	0.240746802	4.399559	1.27010067	2.078957e-01
hsa-miR-3132_st	0.234840083	3.255447	1.26034574	2.113729e-01
hsa-miR-1291_st	0.220124639	3.432948	1.24232888	2.179075e-01
hsa-miR-184_st	0.529181098	4.728840	1.23521837	2.205268e-01
hsa-miR-548x_st	0.209012413	3.467370	1.21316740	2.287960e-01
hsa-miR-182_st	-0.238869460	8.352252	-1.20576214	2.316228e-01
hsa-miR-199a-5p_st	-0.334767117	7.306215	-1.20379524	2.323779e-01
hsa-miR-342-3p_st	-0.326216561	9.141917	-1.19699572	2.350019e-01
hsa-miR-146b-5p_st	-0.339240954	5.267063	-1.18990813	2.377598e-01
hsa-miR-125b-2-star_st	-0.248927391	3.245585	-1.18789672	2.385466e-01
hsa-miR-708_st	-0.362831957	5.284322	-1.16817892	2.463599e-01
hsa-miR-203_st	-0.472342666	4.287367	-1.15402290	2.520809e-01
hsa-miR-449b-star_st	0.161395291	2.926450	1.13723147	2.589887e-01
hsa-miR-221-star_st	-0.151599717	2.371498	-1.13188290	2.612168e-01
hsa-miR-548q_st	0.254884719	3.260011	1.09816238	2.755756e-01
hsa-miR-2276_st	0.176686068	4.682082	1.09685794	2.761419e-01
hsa-miR-765_st	0.273098511	4.987142	1.07741136	2.846800e-01
hsa-miR-34c-3p_st	0.164720690	2.791799	1.06992426	2.880153e-01
hsa-miR-196a_st	-0.470980771	6.200270	-1.06239974	2.913943e-01
hsa-miR-298_st	0.167358948	3.670773	1.05356856	2.953946e-01
hsa-miR-635_st	-0.191622444	2.759103	-1.03779607	3.026320e-01
hsa-miR-541_st	0.176073204	2.655956	1.03155390	3.055292e-01
hsa-miR-10b_st	-0.263155656	4.818538	-0.99047647	3.250617e-01
hsa-miR-1321_st	0.180741266	3.157240	0.97452673	3.328645e-01
hsa-miR-4291_st	-0.137497740	2.846167	-0.97231145	3.339579e-01
hsa-miR-503_st	-0.253803258	4.161258	-0.95805152	3.410528e-01
hsa-let-7f_st	-0.201471599	7.687976	-0.94135628	3.494835e-01
hsa-miR-2116_st	0.188193902	2.431556	0.92927579	3.556672e-01
hsa-miR-1323_st	0.174165819	4.666209	0.91668609	3.621860e-01
hsa-miR-451_st	-0.190567405	3.586473	-0.87723982	3.831011e-01
hsa-miR-193a-3p_st	-0.188610432	4.183508	-0.87065026	3.866672e-01
hsa-miR-193b-star_st	0.130479158	5.637495	0.86778329	3.882252e-01
hsa-miR-3173_st	0.192742737	4.082339	0.85274012	3.964636e-01
hsa-miR-155_st	-0.199015515	8.063387	-0.84757213	3.993185e-01
hsa-miR-383_st	0.130753295	2.382766	0.84254615	4.021070e-01
hsa-miR-576-3p_st	-0.118984980	1.958706	-0.81992711	4.148033e-01
hsa-miR-650_st	0.166257582	2.858514	0.80950686	4.207327e-01
hsa-miR-187-star_st	0.131925363	3.613599	0.79111192	4.313229e-01
hsa-miR-4310_st	0.121614134	3.336749	0.78814277	4.330470e-01

hsa-miR-583_st	-0.139969154	2.383392	-0.78326251	4.358895e-01
hsa-miR-934_st	-0.209853437	2.505538	-0.75749111	4.510811e-01
hsa-miR-221_st	-0.186337526	8.002619	-0.74788127	4.568231e-01
hsa-miR-629-star_st	-0.109104661	2.728364	-0.74178686	4.604863e-01
hsa-miR-3164_st	0.188229935	3.548223	0.73257196	4.660567e-01
hsa-miR-4251_st	0.110863202	2.340732	0.72516199	4.705636e-01
hsa-miR-216a_st	0.104221555	2.116559	0.72437253	4.710452e-01
hsa-miR-210_st	-0.188931666	7.360260	-0.72233404	4.722900e-01
hsa-miR-524-5p_st	0.091588757	1.930458	0.70721097	4.815827e-01
hsa-miR-3127_st	0.141367787	4.228911	0.70173293	4.849737e-01
hsa-miR-21_st	-0.179845316	6.417825	-0.68272700	4.968403e-01
hsa-miR-3125_st	0.126602941	2.585467	0.67867574	4.993900e-01
hsa-miR-3176_st	-0.104542408	4.064089	-0.61668021	5.392754e-01
hsa-miR-181a_st	0.100435138	8.741654	0.60965181	5.438978e-01
hsa-miR-216b_st	-0.096504037	2.988871	-0.59596665	5.529556e-01
hsa-miR-214_st	0.111282889	9.365002	0.59037809	5.566761e-01
hsa-miR-375_st	0.368545821	6.072561	0.58670373	5.591289e-01
hsa-miR-3151_st	0.113763243	4.661176	0.58185847	5.623716e-01
hsa-miR-150_st	-0.199909355	7.075565	-0.57934078	5.640603e-01
hsa-miR-202-star_st	-0.080165326	2.157988	-0.57889886	5.643569e-01
hsa-miR-877-star_st	0.086219999	2.679869	0.56532884	5.735033e-01
hsa-miR-4284_st	0.094727849	8.527902	0.56102636	5.764181e-01
hsa-miR-1274a_st	-0.191069000	3.917252	-0.56043429	5.768198e-01
hsa-miR-1244_st	0.115250363	2.792349	0.54989399	5.839929e-01
hsa-miR-601_st	0.098766678	2.768967	0.54653320	5.862890e-01
hsa-miR-1827_st	-0.124703162	2.837602	-0.53164833	5.965090e-01
hsa-miR-3202_st	0.086773273	2.752950	0.46076536	6.462733e-01
hsa-miR-3128_st	0.089471222	3.353459	0.42926877	6.689334e-01
hsa-miR-3146_st	-0.088078696	2.554458	-0.42912525	6.690374e-01
hsa-miR-138-1-star_st	-0.059588164	2.625781	-0.42358018	6.730598e-01
hsa-miR-616_st	0.071569421	2.888943	0.42070815	6.751469e-01
hsa-miR-890_st	0.093750633	3.359277	0.39719944	6.923257e-01
hsa-miR-1258_st	-0.055416624	1.987479	-0.39467191	6.941825e-01
hsa-miR-1262_st	-0.087344901	2.266069	-0.37438918	7.091499e-01
hsa-miR-548u_st	0.059904860	2.552381	0.34710293	7.294664e-01
hsa-miR-3190-3p_st	0.056018672	3.673020	0.34376945	7.319621e-01
hsa-miR-3201_st	0.077173613	4.807499	0.33744754	7.367031e-01
hsa-miR-628-3p_st	-0.057905081	3.585431	-0.32635140	7.450490e-01
hsa-miR-570_st	0.060372762	3.038204	0.32017510	7.497079e-01
hsa-miR-1249_st	0.063939827	3.737262	0.31230984	7.556542e-01
hsa-miR-32_st	0.048375843	2.551934	0.30509115	7.611247e-01
hsa-miR-4306_st	0.070004186	4.937160	0.26950085	7.882694e-01
hsa-miR-550-star_st	-0.043852217	3.068072	-0.26795013	7.894584e-01
hsa-miR-489_st	0.041497433	3.506772	0.26608460	7.908894e-01
hsa-miR-4289_st	0.040444116	2.411895	0.26527383	7.915116e-01
hsa-miR-9-star_st	-0.041468831	2.186390	-0.23677228	8.134659e-01
hsa-miR-486-5p_st	-0.051947715	2.532105	-0.23381487	8.157529e-01
hsa-miR-1255a_st	0.038338550	2.318133	0.21966325	8.267181e-01
hsa-miR-20b-star_st	-0.031399505	2.366715	-0.21956464	8.267946e-01
hsa-miR-183-star_st	0.039091763	3.999189	0.21317846	8.317545e-01
hsa-miR-21-star_st	0.044310560	4.102473	0.21150075	8.330586e-01
hsa-miR-4300_st	-0.030727385	2.276595	-0.21033470	8.339653e-01
hsa-miR-181b_st	0.041339760	7.650582	0.20770423	8.360115e-01
hsa-miR-335_st	0.043161362	3.495728	0.20358840	8.392154e-01
hsa-miR-886-5p_st	0.049905524	5.840515	0.18975724	8.500016e-01
hsa-miR-3136_st	-0.031029120	2.379328	-0.18281691	8.554250e-01

hsa-miR-449b_st	0.052349252	2.319066	0.16625649	8.683934e-01
hsa-miR-449c_st	-0.057758946	2.411109	-0.16085290	8.726330e-01
hsa-miR-450b-5p_st	-0.023947387	2.423306	-0.15835167	8.745967e-01
hsa-miR-4267_st	-0.021726092	2.490830	-0.14898371	8.819583e-01
hsa-miR-331-5p_st	-0.025334766	3.019962	-0.14874873	8.821431e-01
hsa-miR-199b-3p_st	-0.028378848	8.401737	-0.13795592	8.906375e-01
hsa-miR-628-5p_st	0.023056109	3.731068	0.12046786	9.044282e-01
hsa-miR-4294_st	0.017491476	3.294624	0.11402494	9.095165e-01
hsa-miR-486-3p_st	0.016351937	2.965509	0.10671573	9.152937e-01
hsa-miR-4261_st	0.015706153	3.877331	0.10296243	9.182620e-01
hsa-miR-199a-3p_st	0.020135788	8.371934	0.09620893	9.236061e-01
hsa-miR-222_st	0.016709815	8.087229	0.07245164	9.424315e-01
hsa-miR-16-2-star_st	0.011269699	2.308035	0.06789335	9.460476e-01
hsa-miR-337-5p_st	0.007722140	2.143677	0.05544763	9.559263e-01
hsa-miR-155-star_st	-0.002355536	2.472034	-0.01549308	9.876791e-01
hsa-miR-617_st	-0.002468573	2.816116	-0.01474730	9.882721e-01
hsa-miR-1290_st	-0.002837208	2.729168	-0.01169322	9.907008e-01
	adj.P.Val		B	
hsa-miR-1202_st	0.0007495844	4.77717673		
hsa-miR-3197_st	0.0007786823	3.87232482		
hsa-miR-3185_st	0.0007786823	3.65239043		
hsa-miR-1225-5p_st	0.0007786823	3.32042115		
hsa-miR-939_st	0.0007786823	3.26193842		
hsa-miR-1909_st	0.0008394642	2.76871585		
hsa-miR-1224-5p_st	0.0008394642	2.73620497		
hsa-miR-1268_st	0.0008394642	2.66958958		
hsa-miR-660_st	0.0008394642	2.65391840		
hsa-miR-3180-3p_st	0.0009722896	2.30620532		
hsa-miR-150-star_st	0.0009722896	2.27350939		
hsa-miR-625_st	0.0009722896	2.18299139		
hsa-miR-92b-star_st	0.0009722896	2.10119757		
hsa-miR-3188_st	0.0009722896	2.09584451		
hsa-miR-1908_st	0.0009722896	2.05196385		
hsa-miR-663_st	0.0009892110	1.97720602		
hsa-miR-652_st	0.0010200349	1.89377837		
hsa-miR-92a_st	0.0015516544	1.45879097		
hsa-miR-423-3p_st	0.0016646425	1.34545444		
hsa-miR-572_st	0.0016740929	1.27143506		
hsa-miR-3141_st	0.0016740929	1.23325336		
hsa-miR-3162_st	0.0016740929	1.20677373		
hsa-miR-1275_st	0.0016818359	1.16210684		
hsa-miR-4281_st	0.0017929439	1.06516436		
hsa-miR-373-star_st	0.0018334934	1.00769145		
hsa-miR-1228-star_st	0.0021141650	0.84256721		
hsa-miR-200a-star_st	0.0021158818	0.80754510		
hsa-miR-671-5p_st	0.0029017591	0.48794389		
hsa-miR-762_st	0.0029150582	0.44531523		
hsa-miR-4322_st	0.0029150582	0.41101169		
hsa-miR-665_st	0.0029150582	0.37138411		
hsa-miR-149-star_st	0.0029150582	0.36281459		
hsa-miR-371-5p_st	0.0035243010	0.16320679		
hsa-miR-532-5p_st	0.0036723023	0.07674336		
hsa-miR-1469_st	0.0036723023	0.07282792		
hsa-miR-1207-5p_st	0.0040299313	-0.03656059		
hsa-miR-1281_st	0.0041462587	-0.08698142		
hsa-miR-149_st	0.0043176871	-0.18392765		

hsa-miR-3178_st	0.0043176871	-0.18954149
hsa-miR-1307_st	0.0043176871	-0.19385722
hsa-miR-663b_st	0.0048053473	-0.33677835
hsa-miR-30c_st	0.0048053473	-0.34385685
hsa-miR-940_st	0.0048053473	-0.35782670
hsa-miR-345_st	0.0048053473	-0.37613831
hsa-miR-125a-5p_st	0.0048409639	-0.40917414
hsa-miR-28-3p_st	0.0048409639	-0.43743626
hsa-miR-1308_st	0.0048409639	-0.45548756
hsa-miR-4298_st	0.0048409639	-0.46108114
hsa-miR-3187_st	0.0052363181	-0.56499527
hsa-miR-1231_st	0.0052363181	-0.56835964
hsa-miR-3195_st	0.0054819589	-0.62732969
hsa-miR-20b_st	0.0061050002	-0.74137007
hsa-miR-4327_st	0.0062139514	-0.77431648
hsa-miR-330-3p_st	0.0062531567	-0.80899783
hsa-miR-1471_st	0.0062531567	-0.82803177
hsa-miR-17-star_st	0.0062531567	-0.82930959
hsa-miR-574-3p_st	0.0065512362	-0.88688280
hsa-miR-659_st	0.0068080052	-0.93687431
hsa-miR-4299_st	0.0069326869	-0.97299029
hsa-miR-339-5p_st	0.0069326869	-0.98344952
hsa-miR-3154_st	0.0075257548	-1.07162129
hsa-miR-18b_st	0.0080912599	-1.15086291
hsa-miR-99b_st	0.0081922164	-1.19341285
hsa-miR-15a_st	0.0081922164	-1.19892212
hsa-miR-500-star_st	0.0081922164	-1.20410317
hsa-miR-99b-star_st	0.0085803371	-1.25900476
hsa-miR-498_st	0.0087703594	-1.29193499
hsa-miR-339-3p_st	0.0089972126	-1.32788842
hsa-miR-4257_st	0.0092283879	-1.36348310
hsa-miR-622_st	0.0097210068	-1.42257370
hsa-miR-106b-star_st	0.0100458396	-1.46442310
hsa-miR-98_st	0.0103699371	-1.50507918
hsa-miR-30a-star_st	0.0106343972	-1.54567493
hsa-miR-885-3p_st	0.0106343972	-1.55178903
hsa-miR-28-5p_st	0.0108479335	-1.58135749
hsa-miR-1228_st	0.0117295955	-1.67633988
hsa-miR-497_st	0.0117295955	-1.68720753
hsa-miR-30d_st	0.0117295955	-1.69611174
hsa-miR-602_st	0.0117295955	-1.69674161
hsa-miR-224_st	0.0123050166	-1.75030321
hsa-miR-612_st	0.0126002747	-1.78228738
hsa-miR-637_st	0.0127899968	-1.80636590
hsa-miR-1226-star_st	0.0128172605	-1.81897063
hsa-miR-346_st	0.0131950595	-1.85563146
hsa-miR-151-3p_st	0.0131950595	-1.87568567
hsa-miR-532-3p_st	0.0131950595	-1.87603817
hsa-miR-4286_st	0.0138135967	-1.92670919
hsa-miR-4270_st	0.0140305392	-1.95864440
hsa-miR-181a-2-star_st	0.0140305392	-1.96052168
hsa-miR-17_st	0.0149036164	-2.02360897
hsa-miR-1910_st	0.0151579300	-2.04825466
hsa-miR-1246_st	0.0158647232	-2.09875519
hsa-miR-30b_st	0.0158647232	-2.10752407
hsa-miR-106a_st	0.0172016508	-2.18807532

hsa-miR-629_st	0.0173137182	-2.20307755
hsa-let-7b_st	0.0174631477	-2.21982220
hsa-miR-2277_st	0.0177906556	-2.24618263
hsa-miR-129-5p_st	0.0177906556	-2.25423409
hsa-miR-362-5p_st	0.0181515020	-2.28075790
hsa-miR-34a_st	0.0192841785	-2.34262703
hsa-miR-30e_st	0.0204122451	-2.40110911
hsa-miR-198_st	0.0216745855	-2.47592079
hsa-miR-3137_st	0.0216745855	-2.47829576
hsa-miR-26b_st	0.0216745855	-2.48004921
hsa-miR-20a_st	0.0216745855	-2.49102197
hsa-miR-1914-star_st	0.0216745855	-2.49579027
hsa-miR-331-3p_st	0.0217910243	-2.50866530
hsa-miR-1825_st	0.0219056722	-2.52136418
hsa-miR-1180_st	0.0219119442	-2.52965624
hsa-miR-509-3-5p_st	0.0224862410	-2.56018683
hsa-miR-1909-star_st	0.0243202144	-2.63637070
hsa-miR-513a-5p_st	0.0243320898	-2.64607432
hsa-miR-3177_st	0.0243320898	-2.65233502
hsa-miR-1271_st	0.0244512842	-2.66425032
hsa-miR-557_st	0.0250034728	-2.69687268
hsa-miR-3147_st	0.0250034728	-2.69878667
hsa-miR-1260b_st	0.0250212082	-2.70752593
hsa-miR-30e-star_st	0.0250212082	-2.71425585
hsa-miR-1208_st	0.0267028346	-2.78349041
hsa-miR-3175_st	0.0267028346	-2.78878364
hsa-miR-3192_st	0.0267028346	-2.79249601
hsa-miR-505-star_st	0.0267808021	-2.80576162
hsa-miR-1913_st	0.0267808021	-2.80923387
hsa-miR-128_st	0.0267967578	-2.81779852
hsa-miR-3122_st	0.0267967578	-2.82372566
hsa-miR-141_st	0.0269516523	-2.83561990
hsa-miR-324-3p_st	0.0292116066	-2.91835468
hsa-miR-132_st	0.0292116066	-2.91890125
hsa-miR-4253_st	0.0293784740	-2.93187646
hsa-miR-1238_st	0.0293784740	-2.93721601
hsa-miR-564_st	0.0297223930	-2.95722636
hsa-miR-1273d_st	0.0297223930	-2.96609462
hsa-miR-3194_st	0.0297223930	-2.96695996
hsa-miR-19b_st	0.0306616807	-3.00025746
hsa-miR-1972_st	0.0317856216	-3.04211962
hsa-miR-623_st	0.0317856216	-3.04403971
hsa-miR-4321_st	0.0322420305	-3.06261844
hsa-miR-148a_st	0.0349501377	-3.13819746
hsa-miR-1973_st	0.0358252530	-3.16561878
hsa-miR-3181_st	0.0375239325	-3.21147633
hsa-miR-29c_st	0.0385811398	-3.24397826
hsa-miR-200b-star_st	0.0385811398	-3.24740663
hsa-let-7c_st	0.0389660333	-3.27264042
hsa-miR-100_st	0.0389660333	-3.27366593
hsa-miR-130a_st	0.0389660333	-3.27377637
hsa-miR-296-3p_st	0.0391996740	-3.28476008
hsa-miR-195_st	0.0429820381	-3.36918556
hsa-miR-1263_st	0.0441490272	-3.39777262
hsa-miR-1254_st	0.0445577163	-3.41134418
hsa-miR-143-star_st	0.0448320331	-3.42225422

hsa-miR-135a-star_st	0.0448838756	-3.42888685
hsa-miR-370_st	0.0450022612	-3.43767935
hsa-miR-92b_st	0.0450022612	-3.44231015
hsa-miR-1182_st	0.0453668301	-3.45469982
hsa-miR-1183_st	0.0459678579	-3.47137128
hsa-miR-379_st	0.0463139340	-3.48319436
hsa-miR-421_st	0.0494008601	-3.54431416
hsa-miR-943_st	0.0494008601	-3.54866809
hsa-miR-200a_st	0.0509000819	-3.57929093
hsa-miR-760_st	0.0522036929	-3.60595192
hsa-miR-31_st	0.0528787409	-3.62205573
hsa-miR-148b_st	0.0578478118	-3.70292583
hsa-miR-483-5p_st	0.0584068115	-3.71618312
hsa-miR-491-5p_st	0.0589723981	-3.72941788
hsa-miR-10a_st	0.0590889860	-3.73618133
hsa-miR-30a_st	0.0599932648	-3.75833113
hsa-miR-3172_st	0.0599932648	-3.75903765
hsa-miR-363_st	0.0603379401	-3.77006069
hsa-miR-192_st	0.0603379401	-3.77738403
hsa-miR-23b_st	0.0603379401	-3.77876749
hsa-let-7g_st	0.0616185035	-3.80126941
hsa-miR-183_st	0.0640386078	-3.83836668
hsa-miR-18a_st	0.0658221029	-3.86790414
hsa-miR-27b_st	0.0658221029	-3.87095575
hsa-miR-378c_st	0.0658588300	-3.87620155
hsa-miR-630_st	0.0665576666	-3.89284530
hsa-miR-500_st	0.0665576666	-3.89451671
hsa-miR-22_st	0.0665576666	-3.89916965
hsa-miR-885-5p_st	0.0679039021	-3.92492167
hsa-miR-29b-2-star_st	0.0679039021	-3.92514428
hsa-miR-4287_st	0.0680579328	-3.93163790
hsa-miR-452_st	0.0686144690	-3.94299095
hsa-miR-425_st	0.0691216158	-3.95366414
hsa-miR-127-3p_st	0.0696523702	-3.96454332
hsa-miR-542-5p_st	0.0718930034	-4.00154230
hsa-let-7b-star_st	0.0718930034	-4.00174294
hsa-miR-615-3p_st	0.0718930034	-4.00421889
hsa-miR-106b_st	0.0745372056	-4.03996544
hsa-miR-4271_st	0.0745372056	-4.04291803
hsa-miR-1292_st	0.0769839763	-4.07395690
hsa-miR-378_st	0.0809827824	-4.12001964
hsa-miR-487b_st	0.0849294422	-4.16342569
v11_hsa-miR-1300_st	0.0871637208	-4.18898626
hsa-miR-15b_st	0.0882587719	-4.20344765
hsa-miR-4290_st	0.0910847567	-4.23343600
hsa-miR-1237_st	0.0952379054	-4.27400052
hsa-miR-3191_st	0.1034929756	-4.34572012
hsa-miR-3152_st	0.1049110034	-4.36085389
hsa-miR-769-5p_st	0.1062148377	-4.37493291
hsa-miR-187_st	0.1099024416	-4.40656984
hsa-miR-3189_st	0.1103460818	-4.42037081
hsa-miR-1260_st	0.1103460818	-4.42086939
hsa-miR-1296_st	0.1103460818	-4.42183274
hsa-miR-4314_st	0.1128768193	-4.44599182
hsa-miR-320e_st	0.1128768193	-4.44799604
hsa-miR-675_st	0.1204761305	-4.50421455

hsa-miR-152_st	0.1256447067	-4.54168303
hsa-miR-365-star_st	0.1273219327	-4.55611062
hsa-miR-224-star_st	0.1274413751	-4.56068236
hsa-miR-181d_st	0.1298559974	-4.57943439
hsa-miR-510_st	0.1331433051	-4.60308562
hsa-miR-191-star_st	0.1361241437	-4.62440233
hsa-miR-181c_st	0.1373572086	-4.63527341
hsa-miR-608_st	0.1396680515	-4.65217734
hsa-miR-1274b_st	0.1413055976	-4.66506833
hsa-miR-1301_st	0.1454776586	-4.69166852
hsa-miR-424-star_st	0.1458989152	-4.69758039
hsa-miR-378-star_st	0.1476697623	-4.71243716
hsa-miR-432_st	0.1476697623	-4.71427938
hsa-miR-30c-2-star_st	0.1478611411	-4.72021280
hsa-miR-193b_st	0.1478611411	-4.72243503
hsa-miR-29a_st	0.1503893848	-4.73934223
hsa-miR-145_st	0.1503893848	-4.74279222
hsa-miR-3153_st	0.1520507792	-4.75489395
hsa-miR-382_st	0.1529183203	-4.76282517
hsa-miR-30b-star_st	0.1574025734	-4.78884269
hsa-miR-1272_st	0.1641825082	-4.82507367
hsa-miR-615-5p_st	0.1672674189	-4.84291335
hsa-miR-720_st	0.1695813238	-4.85693098
hsa-miR-3190-5p_st	0.1727760943	-4.87471067
hsa-miR-214-star_st	0.1736171707	-4.88180097
hsa-miR-197_st	0.1781961875	-4.90779407
hsa-miR-125b_st	0.1781961875	-4.90846669
hsa-miR-24-2-star_st	0.1782009812	-4.91177658
hsa-miR-194_st	0.1904583313	-4.96593664
hsa-miR-3138_st	0.1904901581	-4.96930033
hsa-miR-513c_st	0.1920757976	-4.97883234
hsa-miR-886-3p_st	0.1946667295	-4.99221985
hsa-miR-205_st	0.1956557386	-4.99924989
hsa-miR-483-3p_st	0.1985479309	-5.01353702
hsa-miR-3121_st	0.2070936015	-5.04850177
hsa-miR-1270_st	0.2177600231	-5.08931790
hsa-miR-3131_st	0.2255613269	-5.11867365
hsa-miR-574-5p_st	0.2273816923	-5.12771107
hsa-miR-422a_st	0.2281502450	-5.13325861
hsa-miR-29c-star_st	0.2291165985	-5.13942098
hsa-miR-718_st	0.2313848326	-5.14973219
hsa-miR-1538_st	0.2368278482	-5.17242849
hsa-miR-143_st	0.2368278482	-5.17287998
hsa-miR-3163_st	0.2397994445	-5.18502047
hsa-miR-146a_st	0.2405633706	-5.19029667
hsa-miR-409-3p_st	0.2636336990	-5.26007253
hsa-miR-513b_st	0.2666658866	-5.27122301
hsa-miR-206_st	0.2745941144	-5.29520703
hsa-miR-99a_st	0.2749657130	-5.29900602
hsa-miR-4274_st	0.2768620929	-5.30675488
hsa-miR-125b-1-star_st	0.2787298732	-5.31666652
hsa-miR-342-5p_st	0.2787298732	-5.31715357
hsa-miR-3116_st	0.2846667469	-5.33497692
hsa-miR-202_st	0.2860550615	-5.34118887
hsa-miR-181a-star_st	0.2902668262	-5.35430705
hsa-miR-200b_st	0.2905988841	-5.35876659

hsa-miR-1255b_st	0.2905988841	-5.36053103
hsa-miR-3144-5p_st	0.2949714113	-5.37378030
hsa-miR-188-5p_st	0.2949765727	-5.37646171
hsa-miR-3132_st	0.2987827884	-5.38815009
hsa-miR-1291_st	0.3068660424	-5.40951098
hsa-miR-184_st	0.3093958487	-5.41786011
hsa-miR-548x_st	0.3198040530	-5.44345975
hsa-miR-182_st	0.3224136500	-5.45195741
hsa-miR-199a-5p_st	0.3224136500	-5.45420606
hsa-miR-342-3p_st	0.3248555776	-5.46195237
hsa-miR-146b-5p_st	0.3273486867	-5.46998195
hsa-miR-125b-2-star_st	0.3273486867	-5.47225234
hsa-miR-708_st	0.3368411228	-5.49431306
hsa-miR-203_st	0.3434145336	-5.50993174
hsa-miR-449b-star_st	0.3515513808	-5.52821999
hsa-miR-221-star_st	0.3533004373	-5.53399101
hsa-miR-548q_st	0.3708191219	-5.56976945
hsa-miR-2276_st	0.3708191219	-5.57113248
hsa-miR-765_st	0.3809241622	-5.59126646
hsa-miR-34c-3p_st	0.3840204533	-5.59892520
hsa-miR-196a_st	0.3871528504	-5.60657005
hsa-miR-298_st	0.3910857656	-5.61547573
hsa-miR-635_st	0.3992618280	-5.63120179
hsa-miR-541_st	0.4016747689	-5.63736198
hsa-miR-10b_st	0.4258648125	-5.67699853
hsa-miR-1321_st	0.4344919685	-5.69196628
hsa-miR-4291_st	0.4344919685	-5.69402645
hsa-miR-503_st	0.4421925885	-5.70717852
hsa-let-7f_st	0.4515662642	-5.72233582
hsa-miR-2116_st	0.4579824412	-5.73314127
hsa-miR-1323_st	0.4647848119	-5.74425712
hsa-miR-451_st	0.4899524879	-5.77812522
hsa-miR-193a-3p_st	0.4928368766	-5.78364081
hsa-miR-193b-star_st	0.4931509019	-5.78602780
hsa-miR-3173_st	0.5019202248	-5.79842607
hsa-miR-155_st	0.5038380952	-5.80263636
hsa-miR-383_st	0.5056596639	-5.80670690
hsa-miR-576-3p_st	0.5198867995	-5.82473200
hsa-miR-650_st	0.5255664366	-5.83287387
hsa-miR-187-star_st	0.5370113456	-5.84699703
hsa-miR-4310_st	0.5373784307	-5.84924676
hsa-miR-583_st	0.5391265135	-5.85292647
hsa-miR-934_st	0.5560868519	-5.87198515
hsa-miR-221_st	0.5613251698	-5.87893125
hsa-miR-629-star_st	0.5639831783	-5.88329111
hsa-miR-3164_st	0.5689523056	-5.88981656
hsa-miR-4251_st	0.5710001404	-5.89500556
hsa-miR-216a_st	0.5710001404	-5.89555533
hsa-miR-210_st	0.5710001404	-5.89697218
hsa-miR-524-5p_st	0.5803689517	-5.90736053
hsa-miR-3127_st	0.5825882487	-5.91107001
hsa-miR-21_st	0.5949424728	-5.92371926
hsa-miR-3125_st	0.5960972171	-5.92637121
hsa-miR-3176_st	0.6416694254	-5.96500713
hsa-miR-181a_st	0.6451280160	-5.96915637
hsa-miR-216b_st	0.6538091230	-5.97710035

hsa-miR-214_st	0.6561448124	-5.98029304
hsa-miR-375_st	0.6569603528	-5.98237594
hsa-miR-3151_st	0.6569603528	-5.98510288
hsa-miR-150_st	0.6569603528	-5.98651101
hsa-miR-202-star_st	0.6569603528	-5.98675755
hsa-miR-877-star_st	0.6652890785	-5.99423725
hsa-miR-4284_st	0.6652890785	-5.99657202
hsa-miR-1274a_st	0.6652890785	-5.99689193
hsa-miR-1244_st	0.6715025674	-6.00253101
hsa-miR-601_st	0.6720873459	-6.00430671
hsa-miR-1827_st	0.6817245963	-6.01204143
hsa-miR-3202_st	0.7363598655	-6.04596467
hsa-miR-3128_st	0.7577049532	-6.05949236
hsa-miR-3146_st	0.7577049532	-6.05955182
hsa-miR-138-1-star_st	0.7599713973	-6.06183404
hsa-miR-616_st	0.7600456411	-6.06300449
hsa-miR-890_st	0.7768232582	-6.07228708
hsa-miR-1258_st	0.7768232582	-6.07325346
hsa-miR-1262_st	0.7912176483	-6.08078595
hsa-miR-548u_st	0.8114774326	-6.09029486
hsa-miR-3190-3p_st	0.8118517670	-6.09140740
hsa-miR-3201_st	0.8147069337	-6.09348793
hsa-miR-628-3p_st	0.8215203416	-6.09704656
hsa-miR-570_st	0.8242402332	-6.09897597
hsa-miR-1249_st	0.8283556034	-6.10137976
hsa-miR-32_st	0.8319270048	-6.10353348
hsa-miR-4306_st	0.8551963904	-6.11341736
hsa-miR-550-star_st	0.8551963904	-6.11382024
hsa-miR-489_st	0.8551963904	-6.11430183
hsa-miR-4289_st	0.8551963904	-6.11451008
hsa-miR-9-star_st	0.8763516381	-6.12142783
hsa-miR-486-5p_st	0.8763516381	-6.12210073
hsa-miR-1255a_st	0.8829784159	-6.12520375
hsa-miR-20b-star_st	0.8829784159	-6.12522470
hsa-miR-183-star_st	0.8829784159	-6.12656105
hsa-miR-21-star_st	0.8829784159	-6.12690559
hsa-miR-4300_st	0.8829784159	-6.12714345
hsa-miR-181b_st	0.8829784159	-6.12767521
hsa-miR-335_st	0.8838795023	-6.12849384
hsa-miR-886-5p_st	0.8927391302	-6.13112490
hsa-miR-3136_st	0.8959325731	-6.13237549
hsa-miR-449b_st	0.9069887037	-6.13517147
hsa-miR-449c_st	0.9084208573	-6.13602643
hsa-miR-450b-5p_st	0.9084208573	-6.13641261
hsa-miR-4267_st	0.9112246962	-6.13780527
hsa-miR-331-5p_st	0.9112246962	-6.13783911
hsa-miR-199b-3p_st	0.9174786121	-6.13933595
hsa-miR-628-5p_st	0.9291393106	-6.14152221
hsa-miR-4294_st	0.9318207696	-6.14225311
hsa-miR-486-3p_st	0.9351913592	-6.14303367
hsa-miR-4261_st	0.9356816409	-6.14341441
hsa-miR-199a-3p_st	0.9385834562	-6.14406518
hsa-miR-222_st	0.9551326868	-6.14600381
hsa-miR-16-2-star_st	0.9562201053	-6.14631333
hsa-miR-337-5p_st	0.9636147234	-6.14705607
hsa-miR-155-star_st	0.9907007950	-6.14842751

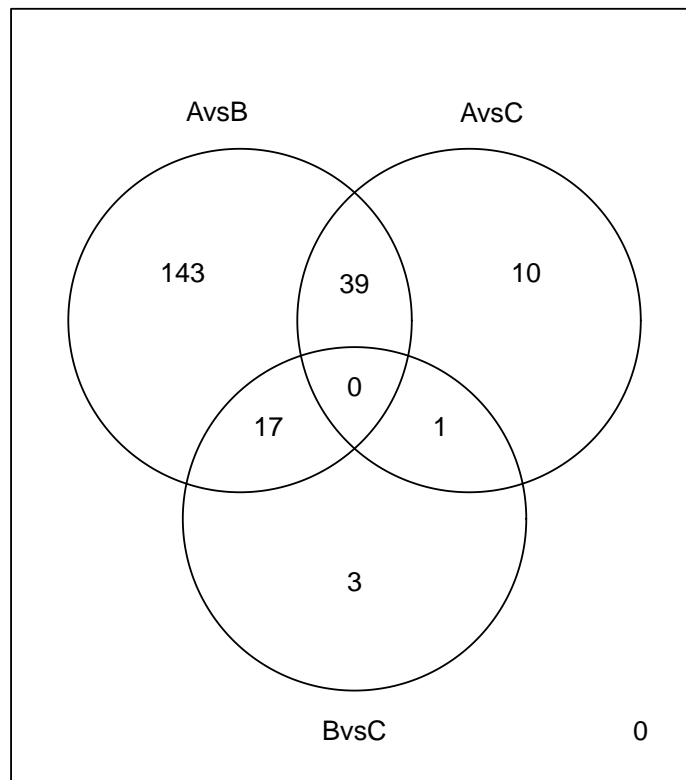
hsa-miR-617_st	0.9907007950	-6.14843843
hsa-miR-1290_st	0.9907007950	-6.14847750

Para interpretar la información de la lista debemos tener en cuenta que el valor de logFC representa la diferencia de expresión, y cuanto más alto mayor será ésta. Por ejemplo, el primer gen de la lista (hsa-miR-1202-st) se expresa de manera diferencial en los pacientes de grupo A frente a los pacientes de grupo B y C, y, al ser positivo su valor de logFC, indica que se sobreexpresa en B y C (es decir, en pacientes que recidivan).

El diagrama de Venn muestra los genes en común para los diferentes contrastes de diseño experimental:

```
> p<-as.matrix(fit1.main$p.value[,1:3])
> s<-sign(as.matrix(fit1.main$coefficients[,1:3]))
> res1<-new("TestResults", s*(p<p.value.cutoff))
> probeNames<-rownames(res1)
> sum.res1.rows<-apply(abs(res1),1,sum)
> res1.selected<-res1[sum.res1.rows!=0,]
> probeNames.selected<-probeNames[sum.res1.rows!=0]
> vennDiagram(res1.selected[,1:3], main="miRNA in common", cex=0.9)
```

miRNA in common



4.5.2. Class discovery (Clustering)

El clustering agrupa e identifica genes expresados de forma similar y después trata de correlacionar resultados con la biología. La idea inicial es que los genes funcionalmente relacionados y co-regulados probablemente se expresarán simultáneamente, por lo que pueden ser agrupados en un cluster. Esto puede aplicarse para identificar grupos de genes co-regulados, identificar patrones de expresión temporal y reducir redundancia en modelos predictivos. Los algoritmos utilizados para clustering son: jerárquico, SOM, K-means, HOPA (específico para datos de microarrays) y PCA. El 'heatmap' es una matriz rectangular de bloques con colores representando el nivel de expresión de cada gen en cada array.

```
> my.colorFct <- function(n=50,low.col=0.45,high.col=1,saturation=1) {
+   if(n<2)stop("n must be greater than 2")
+   n1<-n%%2
+   n2<-n-n1
+   c(hsv(low.col,saturation,seq(1,0,length=n1)),hsv(high.col,saturation,seq(0,1,length=n2)))
+ }
> exprs2cluster<-exprs(my.eset)[probeNames.selected,]
> colnames(exprs2cluster)<-pData(my.eset)$ID
> misdatoss<-t(scale(t(exprs2cluster)))
> hr<-hclust(as.dist(1-cor(t(misdatoss),method="pearson")),method="complete")
> hc<-hclust(as.dist(1-cor(misdatoss,method="spearman")),method="complete")
> mycl<-cutree(hr,h=max(hr$height)/1.5,k=5)
> mycolhc<-sample(rainbow(256))
> mycolhc<-mycolhc[as.vector(mycl)]
> heatmap(exprs2cluster,Rowv=as.dendrogram(hr),Colv=as.dendrogram(hc),col=my.colorFct(low.col=0.6,high.col=1))

layout: widths = 1 0.2 4 , heights = 1 4 ; lmat=
      [,1] [,2] [,3]
[1,]    0    0    4
[2,]    3    1    2

>
```

