

Epidemiología y detección de biomarcadores en cáncer

Daniel Redondo Sánchez

Máster Universitario Oficial en Ciencia de Datos
e Ingeniería de Computadores. Curso 2019/20.

Tutores: Daniel Castillo Secilla, Luis Javier Herrera



UNIVERSIDAD
DE GRANADA

Índice

1. Introducción
2. Metodología
3. Resultados
4. Conclusiones
5. Líneas abiertas de trabajo

Índice

1. Introducción
2. Metodología
3. Resultados
4. Conclusiones
5. Líneas abiertas de trabajo

Introducción

El cáncer es una enfermedad que se caracteriza por una **división incontrolada de las células.**

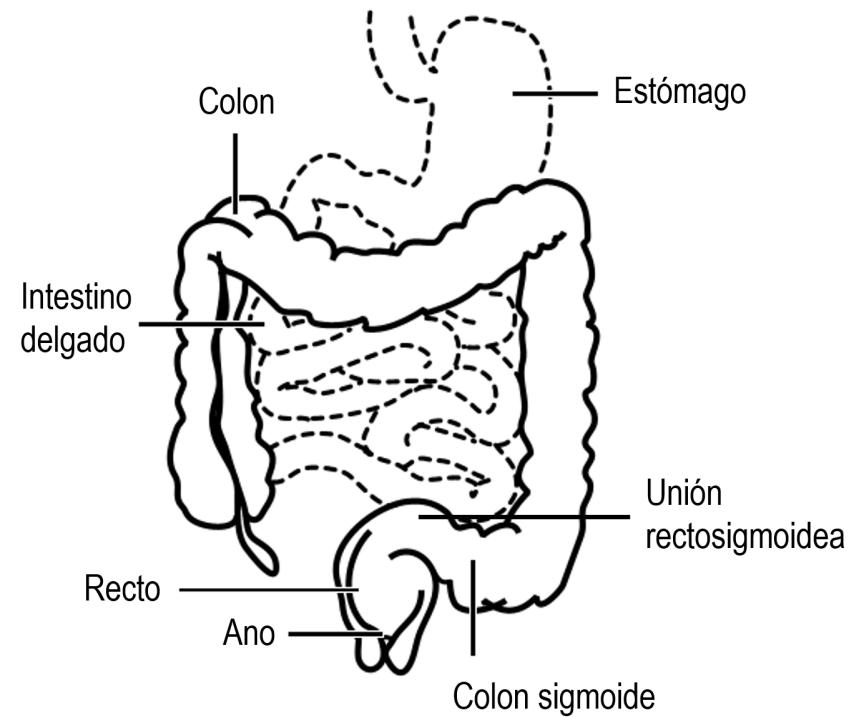
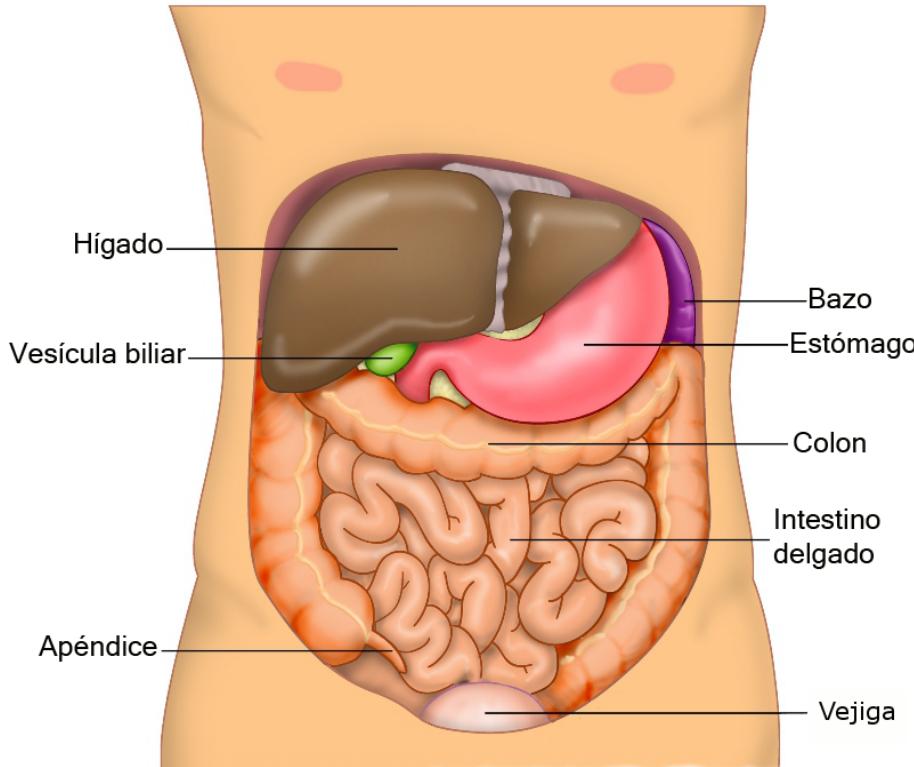
Es uno de los mayores **problemas de salud pública:**

- En el mundo: 17 millones de casos y 9,4 millones de defunciones al año [1].
- En España: 249.000 casos, 108.000 defunciones anuales [2, 3].

Gracias al análisis de los **genes** de los pacientes de cáncer se pueden encontrar **tratamientos más adecuados** a cada persona (*medicina de precisión*).

Introducción

Este trabajo se centra en dos localizaciones anatómicas:
hígado y colon-recto.

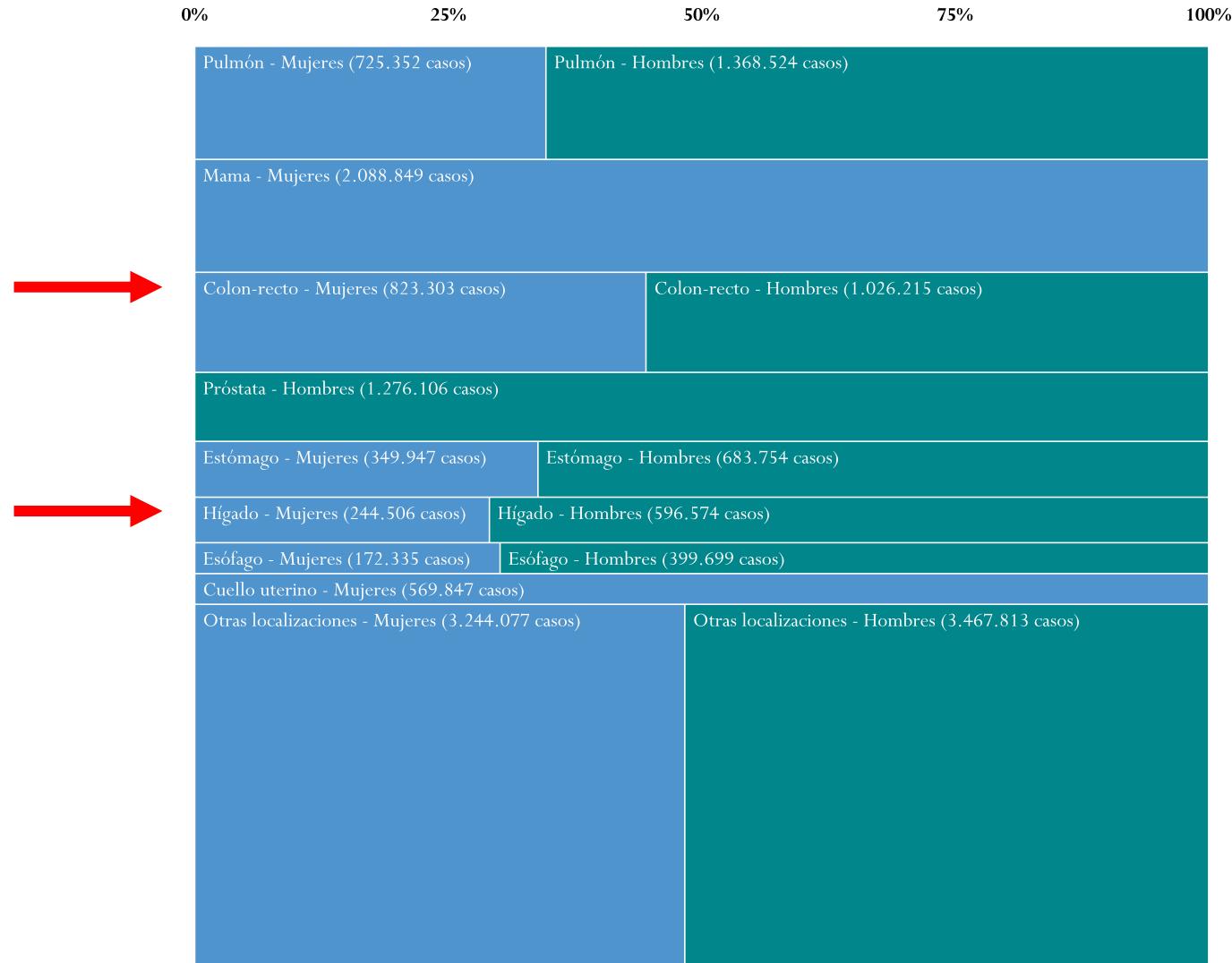


Introducción

Incidencia de cáncer en el mundo, 2018

Distribución de casos por sexo y localización anatómica.

Fuente: Global Cancer Observatory, Organización Mundial de la Salud.



Introducción

Mortalidad por cáncer en el mundo, 2018

Distribución de defunciones por sexo y localización anatómica.

Fuente: Global Cancer Observatory, Organización Mundial de la Salud.



Índice

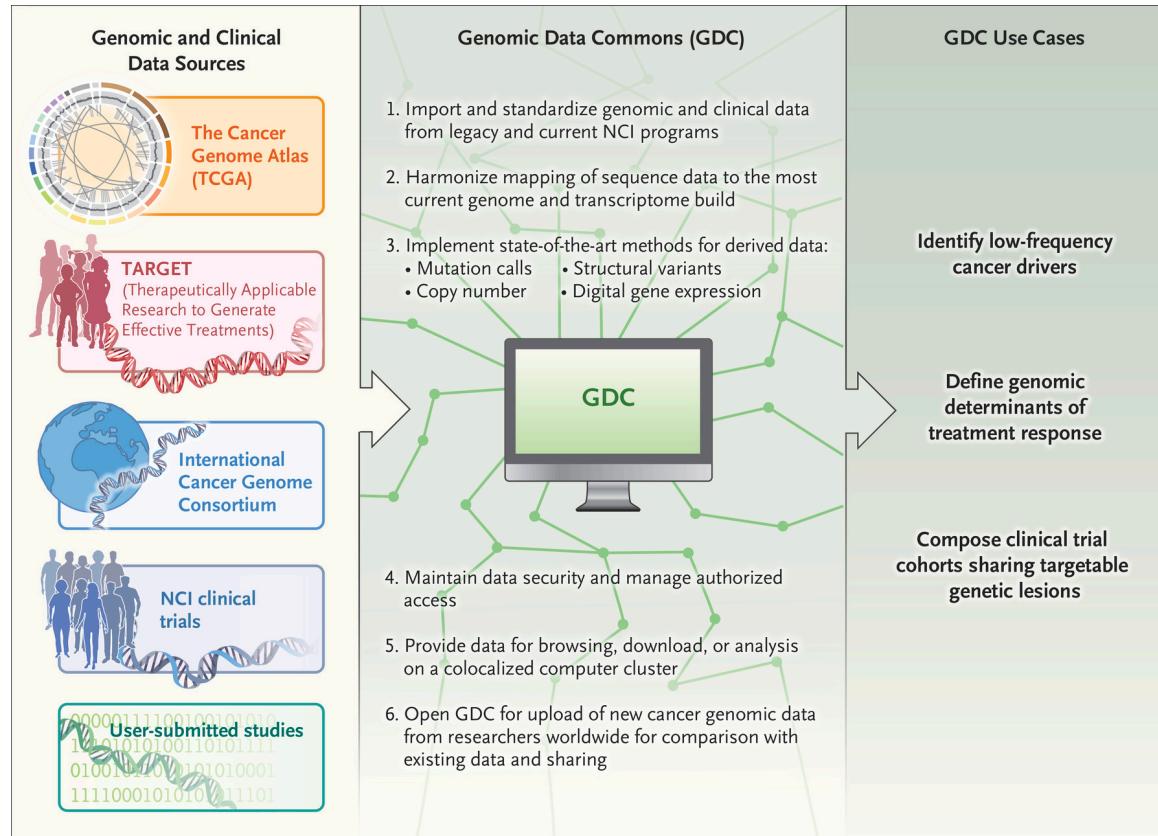
1. Introducción
2. Metodología
3. Resultados
4. Conclusiones
5. Líneas abiertas de trabajo

Metodología

Fuente de información: GDC Portal

Plataforma web que integra fuentes heterogéneas de datos.

Se descargan datos transcriptómicos de acceso abierto (RNA-Seq).



Metodología

Partición entrenamiento-test:

75% entrenamiento - 25% test, con balanceo de clases

Métodos de selección de características:

- mRMR (mínima redundancia, máxima relevancia)
- RF (*random forest*)
- DA (asociación de enfermedades)

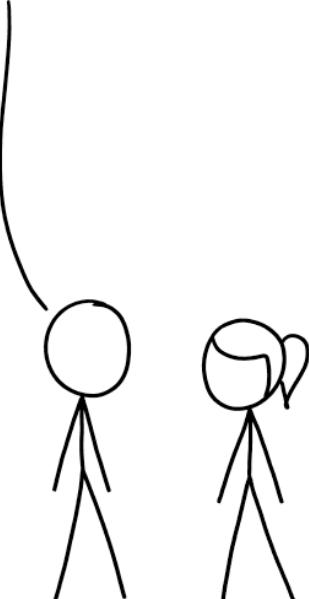
Métodos de clasificación:

- SVM de kernel radial con optimización de coste y gamma
- RF (*random forest*)
- kNN (k vecinos más cercanos) con optimización de k

Validación cruzada: 5-fold

Metodología

WANNA SEE THE CODE?



```
# Extend size of accepted files (40MB instead of the 5MB - default)
options(shiny.maxRequestSize = 40*1024^2)

server <- function(input, output){

  values <- reactiveValues(ranking = NULL, optimalSVM_train = NULL, optimalkNN_train = NULL)

  # Server of tab: Data loading -----
  observeEvent(input$boton_importar, {

    # If files are selected, they are imported
    # Read labels
    labels <- as.vector(t(read.csv2(file = input$file_labels$datapath)))
    # Read DEGsMatrix
    DEGsMatrix <- as.data.frame(read.csv2(file = input$file_DEGsMatrix$datapath, row.names = 1))
    filas <- rownames(DEGsMatrix)
    DEGsMatrix <- apply(DEGsMatrix, 2, as.numeric)
    rownames(DEGsMatrix) <- filas
    # Create DEGsMatrixML (for machine learning purposes)
    DEGsMatrixML <- t(DEGsMatrix)

    # Train-test partition
    set.seed(31415)
    indices <- reactive(createDataPartition(labels, p = input$porcentaje_entrenamiento / 100, list = FALSE))
    particion <- reactive(list(training = DEGsMatrixML[indices(), ], test = DEGsMatrixML[-indices(), ]))

    particion.entrenamiento <- reactive(particion()$training)
    particion.test <- reactive(particion()$test)
```

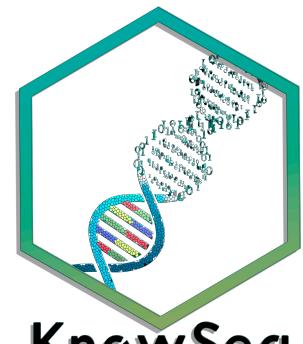
Metodología



+



+

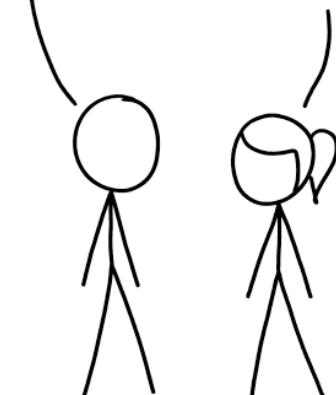


+



WANNA SEE THE CODE?

I WOULD, IF YOU HADN'T
SAID THAT IN THE TONE
OF VOICE OF "WANNA
SEE A DEAD BODY?"



xkcd.com/2138/

https://github.com/danielredondo/TFM_ciencia_de_datos

danielredondo actualizar presentación		
6da3b7f	15 hours ago	⌚ 173 commits
analisis_cr	mejorar documento con comentarios de Luis Javier	2 months ago
analisis_higado	añadir script para exportar datos Shiny	last month
documento	realizar maquetación final	8 days ago
presentacion	actualizar presentación	15 hours ago
shiny	añadir script para crear datos de ejemplo	12 days ago
.gitignore	quitar carpeta de epidemiología	2 days ago
LICENSE	Initial commit	4 months ago
README.md	añadir enlace presentación a README	2 days ago
session_info.txt	actualizar README y session_info	2 months ago

"Epidemiología y detección de biomarcadores en cáncer". Trabajo Fin de Máster del Máster Universitario Oficial en Ciencia de Datos e Ingeniería de Computadores de la Universidad de Granada.

r shiny epidemiology
transcriptomics cancer rna-seq
machine-learning svm
random-forest knn

Readme

MIT License

Índice

1. Introducción
2. Metodología
- 3. Resultados**
4. Conclusiones
5. Líneas abiertas de trabajo

Resultados

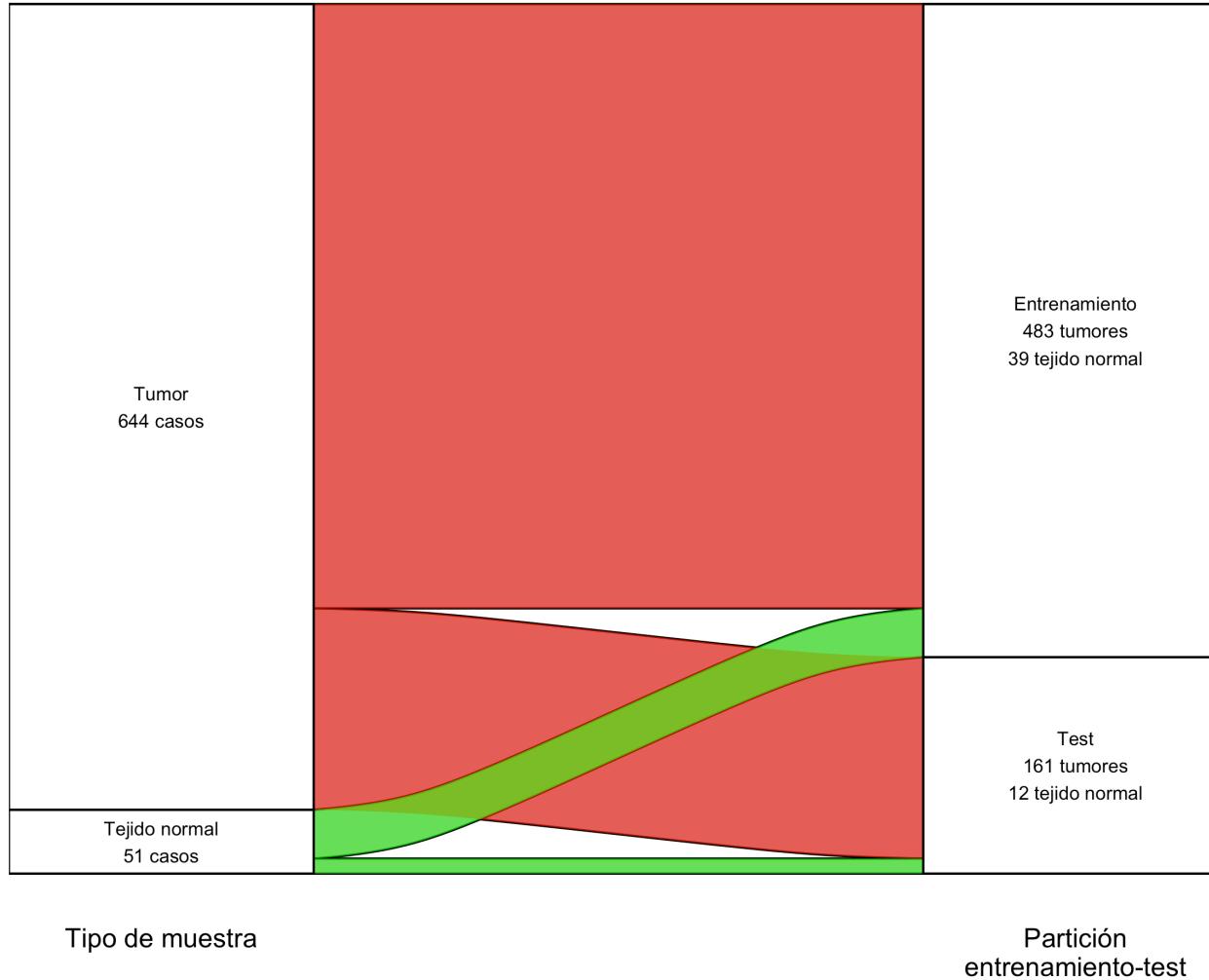
Se han realizado 4 análisis:

- 1. Colon-recto biclase (tumor vs tejido sano)**
- 2. Colon-recto multiclase (adenocarcinoma mucinoso vs adenocarcinoma vs tejido sano).**
- 3. Hígado biclase (tumor vs tejido sano).**
- 4. Hígado multiclase (adenocarcinoma mucinoso vs adenocarcinoma vs tejido sano).**

Resultados - Colon-recto biclase

Partición en conjuntos de entrenamiento y test

Reparto 75% - 25% con balanceo de clases



F1-Score como medida de evaluación, al ser un problema con **desequilibrio de clases**

Resultados - Colon-recto biclase

Diez genes más relevantes según método de selección de características

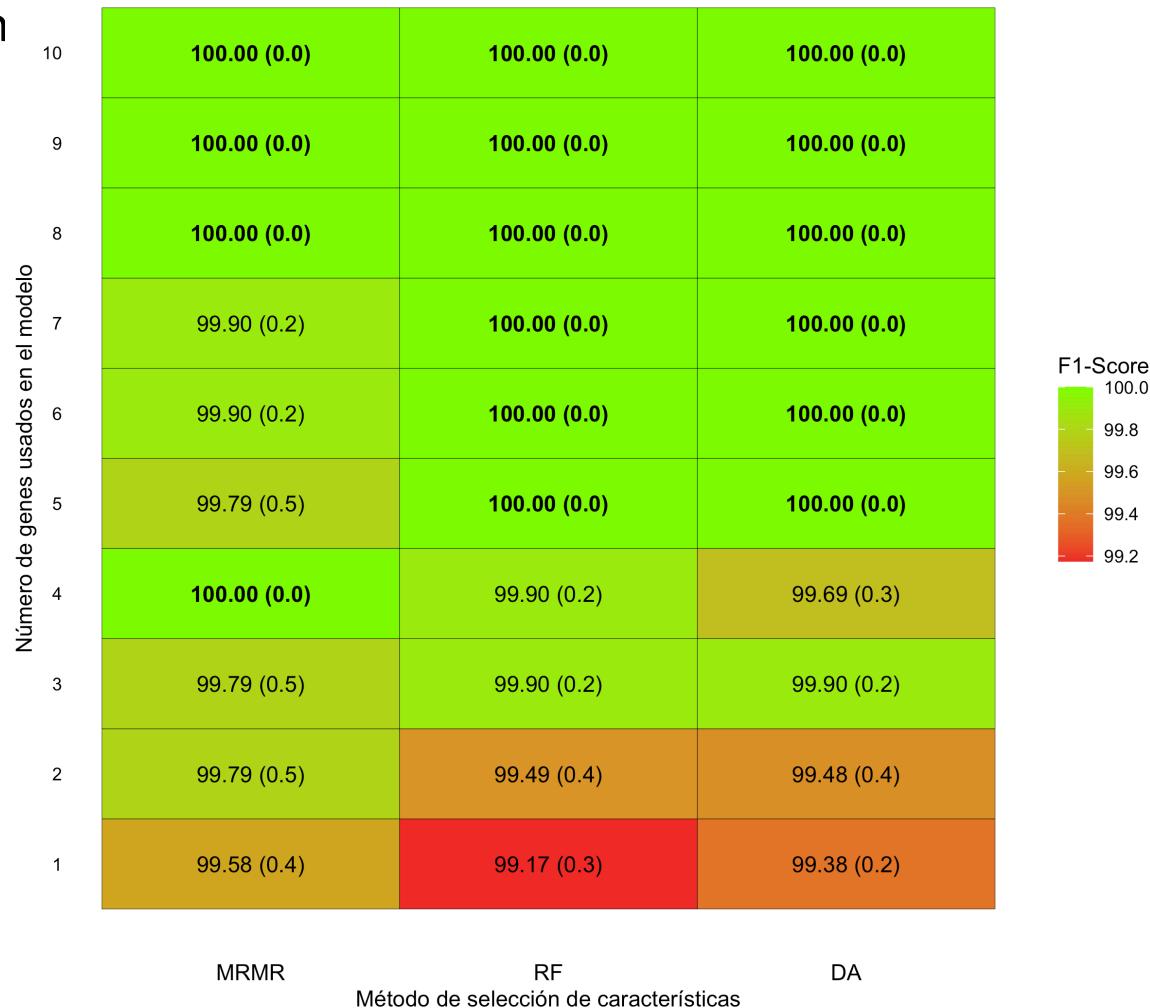
Ranking	mRMR	RF	DA
1	BEST4	VSTM2A	ETV4
2	MET	CA7	SCN7A
3	EPOP	COL11A1	RSPO2
4	RXRG	GLP2R	PHOX2B
5	C5orf34	SLC39A10	SALL4
6	DHRS7C	ENC1	POU5F1B
7	NKX2-3	ESM1	TNFRSF17
8	ESM1	CEMIP	SCN9A
9	SGCG	CA2	TLX1
10	MDFI	KRT80	WT1

Resultados - Colon-recto biclase

F1-Score para RF con 5-fold

El mejor modelo se obtiene con 4 genes elegidos con mRMR.

F1-Score de RF según método de selección de características
y número de genes usados en el modelo
F1-Score medio en los 5 fold (desviación típica)



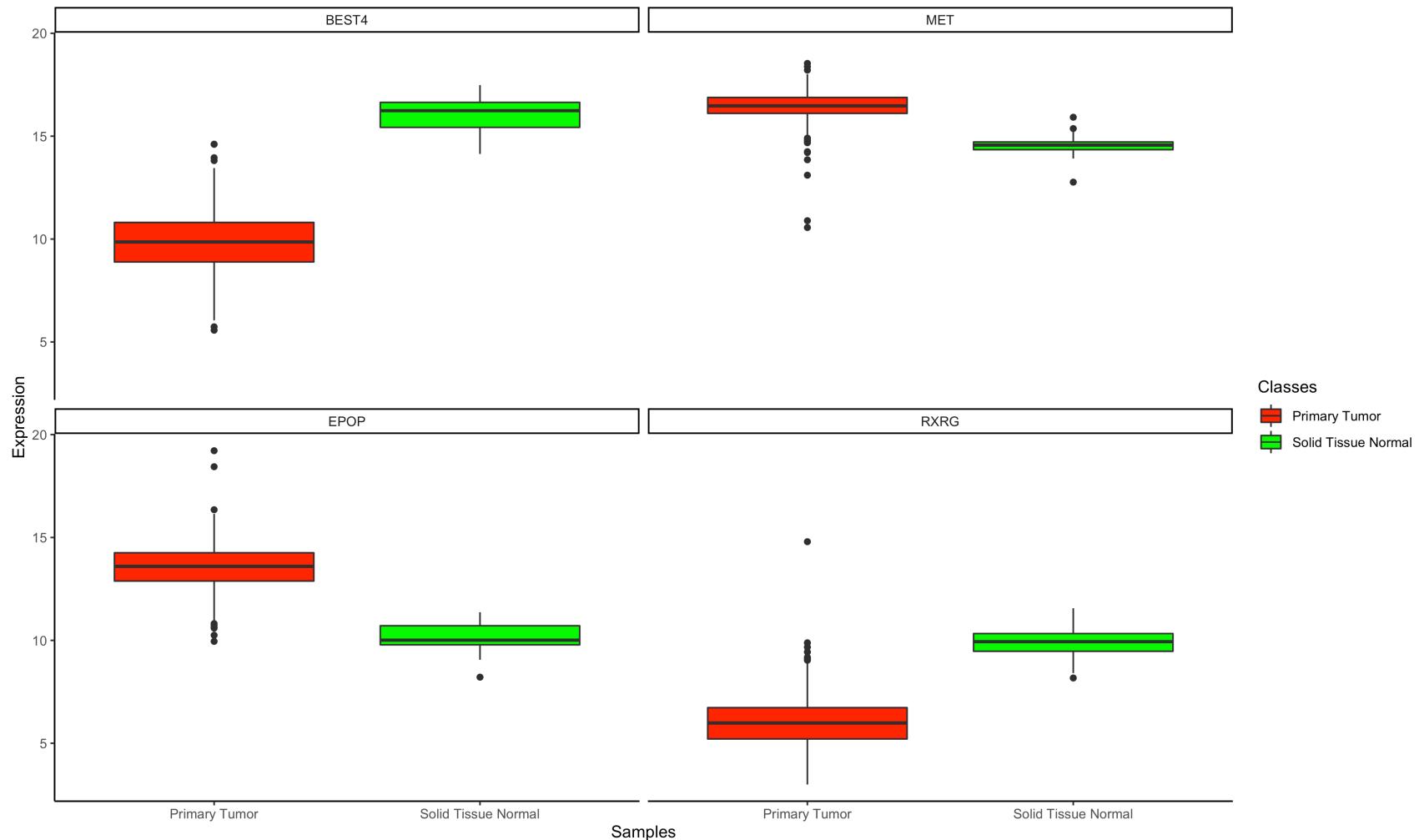
Resultados - Colon-recto biclase

Expresión de genes según tipo de muestra



Resultados - Colon-recto biclase

Expresión de genes según tipo de muestra



Resultados - Colon-recto biclase

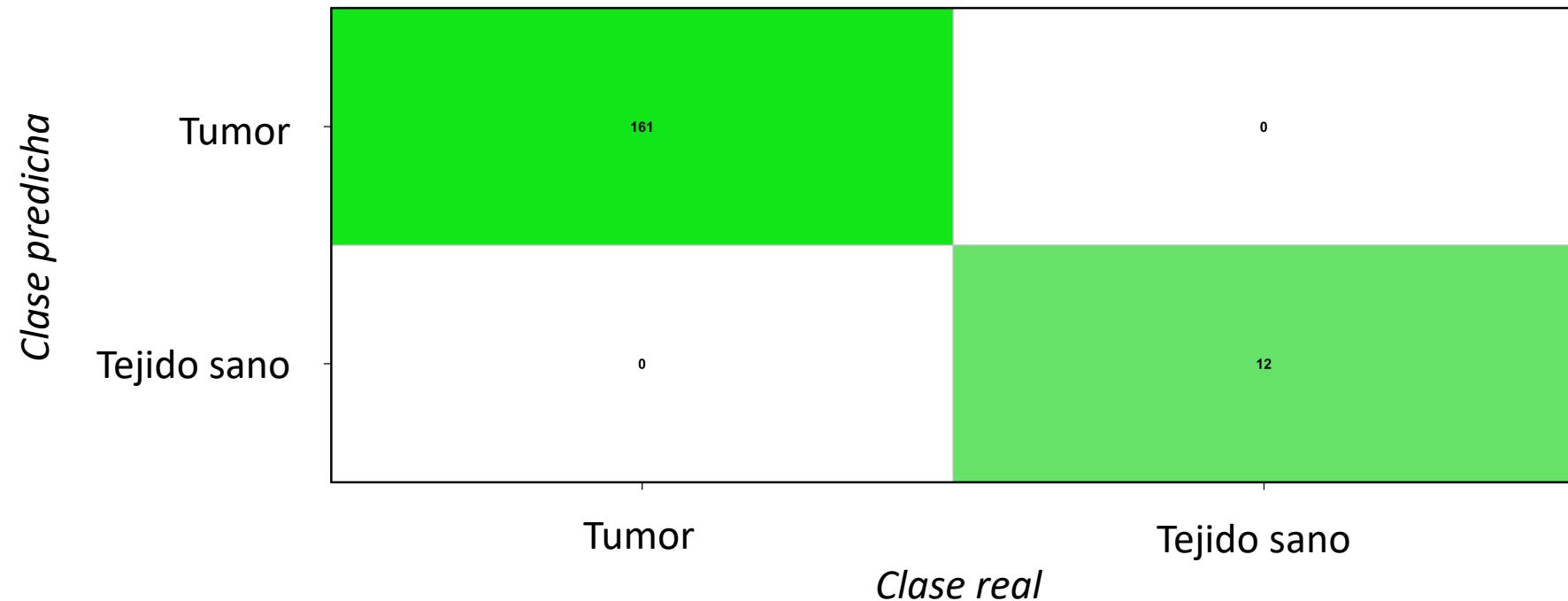
Tabla resumen de los mejores modelos según método de clasificación

		Entrenamiento		Validación		
		←	→			
	Biomarcadores	Parámetros	F1 train	Acc train	F1 test	Acc test
SVM	mRMR 3 genes	coste = 0,05 gamma = 0,06	100	100	100	100
	RF 3 genes	coste = 0,05 gamma = 0,07	100	100	100	100
RF	mRMR 4 genes	--	100	100	100	100
kNN	RF 3 genes	k = 23	100	100	100	100

Clasificación perfecta con 3 ó 4 genes
en todos los métodos de clasificación.

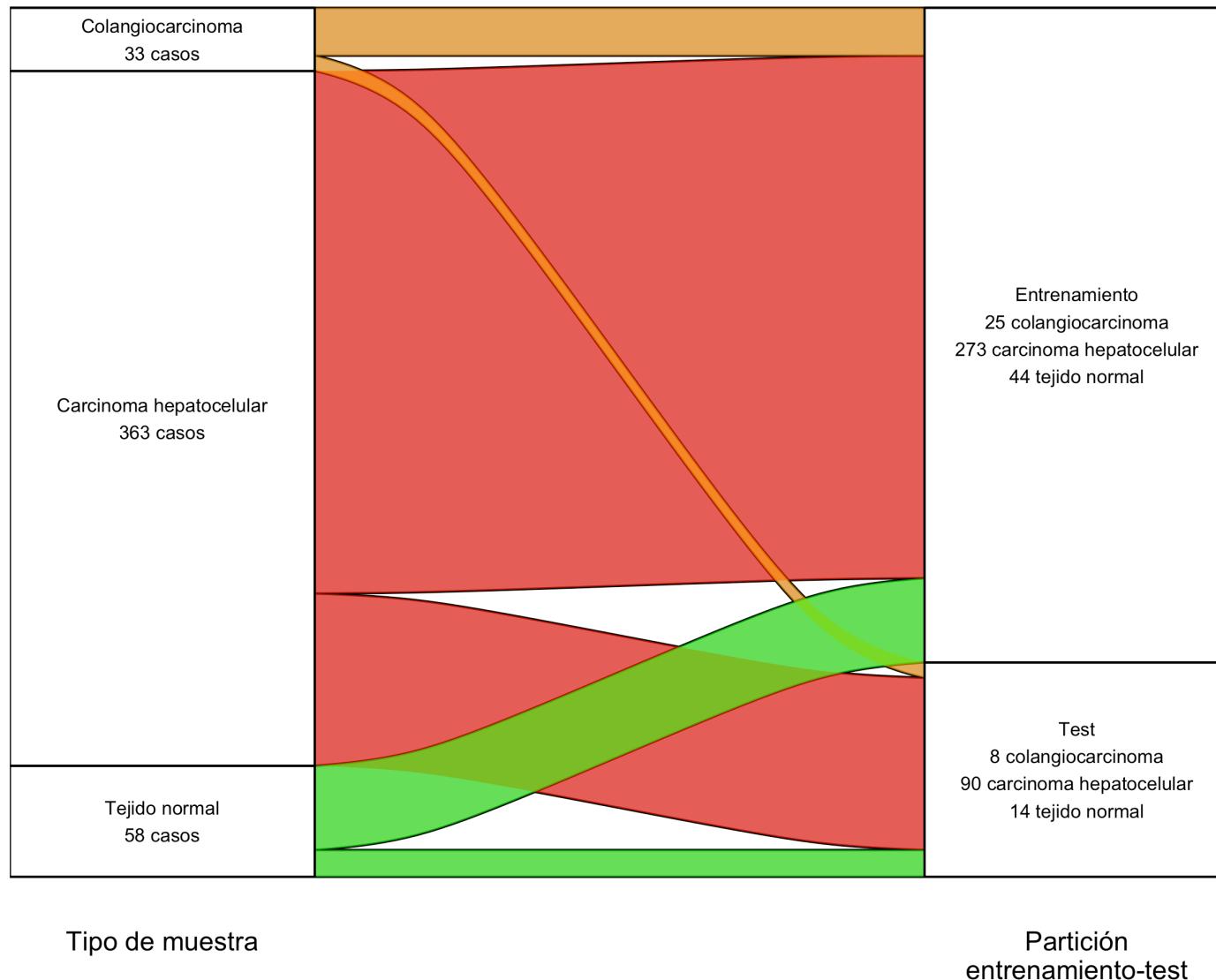
Resultados - Colon-recto biclase

Validación en test



Clasificación perfecta.

Resultados - Hígado multiclase



Resultados - Hígado multiclase

Diez genes más relevantes según método de selección de características

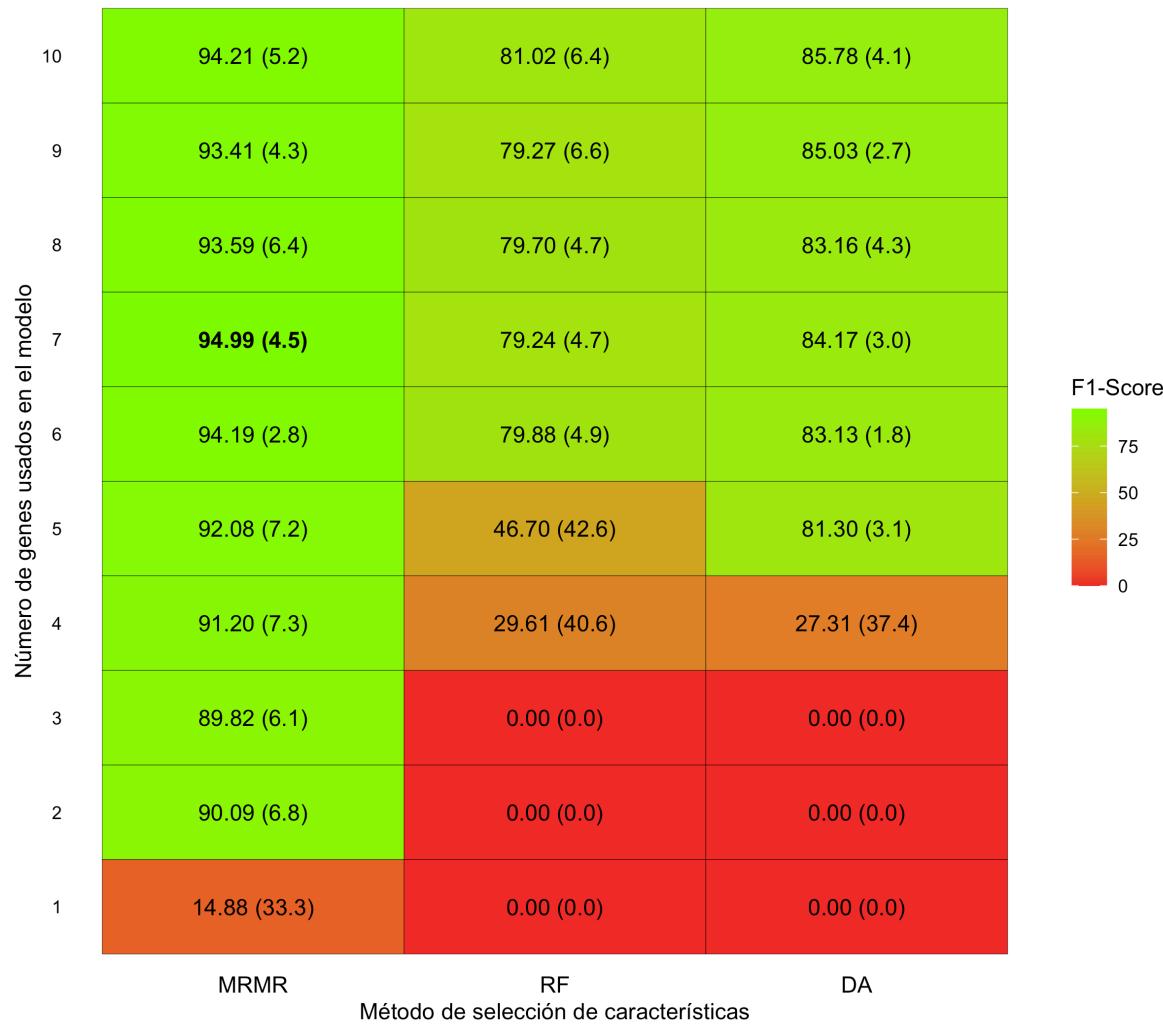
Ranking	mRMR	RF	DA
1	ANGPTL6	ANGPTL6	WWTR1
2	FTLP3	GABRD	BIRC3
3	PLXDC1	CDH13	CDH1
4	RAB25	STAB2	ROS1
5	WDR66	BMPER	POLQ
6	AP2B1	ECM1	FGFR2
7	CDH13	ADAMTS13	KLF6
8	PTPN13	GDF2	CBFB
9	SLC31A1	CLEC4G	FGFR3
10	ADAMTS13	SPDL1	CLTCL1

Resultados - Hígado multiclase

F1-Score para SVM con 5-fold

El mejor modelo se obtiene con 7 genes elegidos con mRMR.

F1-Score de SVM según método de selección de características
y número de genes usados en el modelo
F1-Score medio en los 5 fold (desviación típica)



Resultados - Hígado multiclase

Tabla resumen de los mejores modelos según método de clasificación

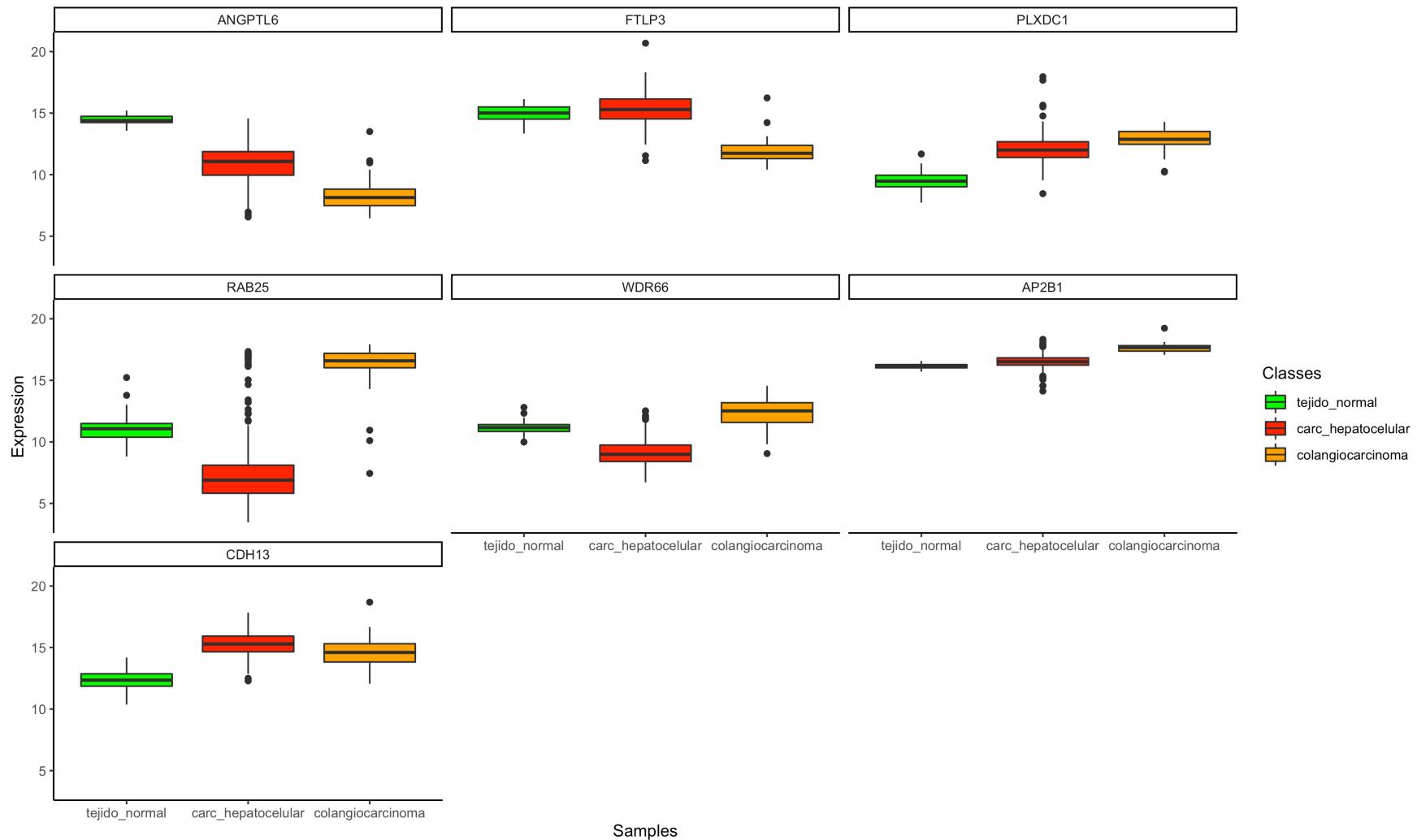
	Biomarcadores	Parámetros	F1 train	Acc train	F1 test	Acc test
SVM	mRMR 7 genes	coste = 1 gamma = 0.025	94,99	97,66	91,84	96,43
RF	mRMR 6 genes	--	94,08	97,08	90,63	95,54
kNN	mRmR 7 genes	k = 7	92,98	96,79	91,84	96,43

mRMR mejor modelo para detectar biomarcadores.

SVM mejor modelo de clasificación.

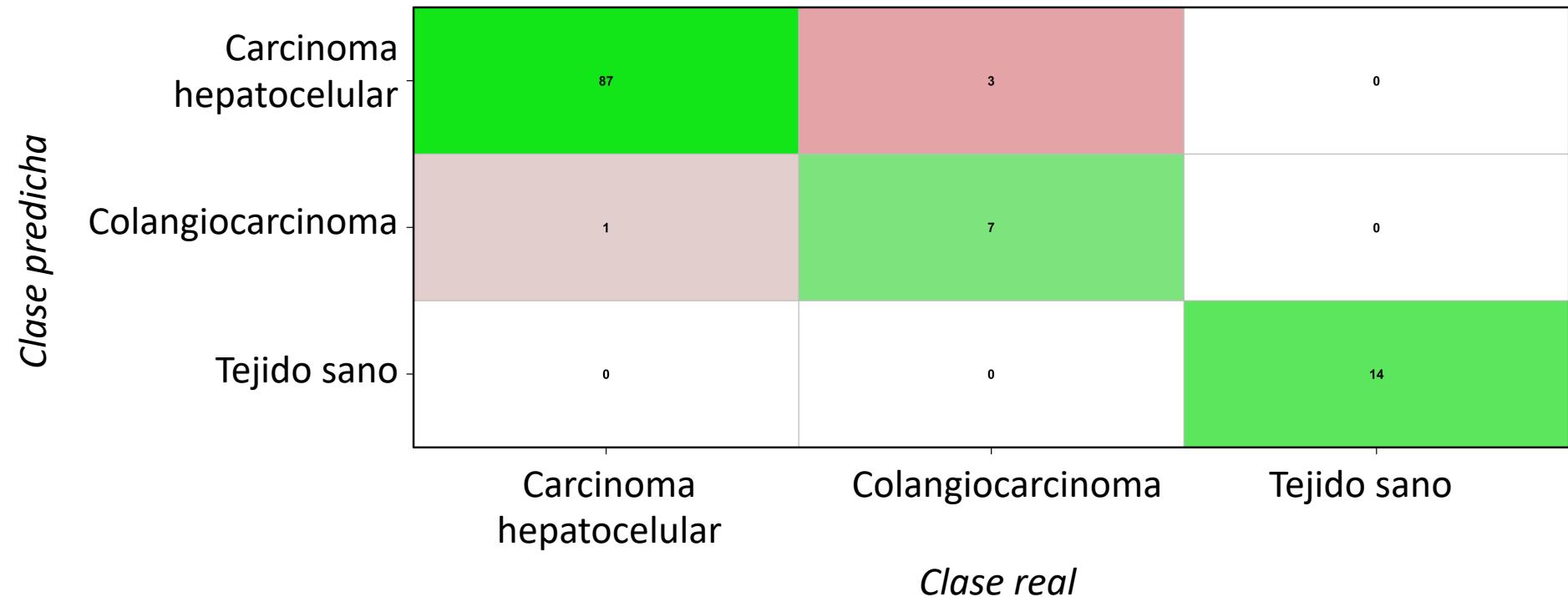
Resultados - Hígado multiclase

Expresión de genes según tipo de muestra



Resultados - Hígado multiclase

Validación en test: SVM con 7 genes elegidos con mRMR



Perfecta discriminación entre tumores y tejidos sanos.

Dificultad en distinguir los dos tipos de tumores.

Resultados

biomarkerS <https://dredondo.shinyapps.io/biomarkerS/>

- Es una **aplicación web** que realiza análisis transcriptómicos basados en machine learning.
- Útil para **usuarios sin conocimientos previos de programación**. En inglés para favorecer su uso.

Aspectos técnicos:

- Basada en {shiny} [5]. Versión web y local.
- Mejorada con CSS.
- Contiene tablas interactivas con {DT}.
- Pantallas de carga con {waiter}.



Resultados

biomarkerS

<https://dredondo.shinyapps.io/biomarkerS/>

biomarkerS

- Introduction
- Data loading
- Genes selection
- Model training
- Model validation**
- Related diseases
- Authors
- Code

Model validation

Feature selection algorithm:

mRMR

Classification algorithm (for SVM and kNN it must be trained first to obtain optimal parameters):

SVM

Select the number of genes to use (must be equal or less than the number of genes selected at 'Genes selection'):

10

Validate model in test

Actual	Primary Tumor	Solid Tissue Normal
Primary Tumor	99	2
Solid Tissue Normal	0	14

biomarkerS

Data loading

Select CSV file with labels (see [here](#) an example)

Browse... higado_200genes_labels.csv

Upload complete

Select CSV file with DEGsMatrix (see [here](#) an example)

Browse... higado_200genes_degsmatrix.csv

Upload complete

Import file

Distribution of classes

Label	Samples
Primary Tumor	404
Solid Tissue Normal	58

< > ↗ ↘

Índice

1. Introducción
2. Metodología
3. Resultados
- 4. Conclusiones**
5. Líneas abiertas de trabajo

Conclusiones

Sobre los métodos de selección de características

En general se han obtenido **buenos resultados de clasificación con pocos genes para mRMR y RF**, lo que tiene muchas ventajas:

- poco **coste computacional**
- abaratamiento de **costes de recolección** de información
- gran **interpretabilidad**, buena **visualización de datos**

Es necesaria una **validación externa e interpretaciones clínicas** para establecer de forma clara una asociación gen-enfermedad.

Conclusiones

Sobre los algoritmos de clasificación

SVM, *random forest* y kNN obtienen **resultados muy similares**, y consiguen distinguir correctamente entre tejidos tumorales y sanos, con algunos problemas para distinguir entre diferentes tipos de cáncer.

La efectividad de los modelos puede favorecer un **diagnóstico temprano**, y por tanto una **mejora significativa en el pronóstico** (mayor efectividad del tratamiento, más supervivencia, mejora de la calidad de vida).

Índice

1. Introducción
2. Metodología
3. Resultados
4. Conclusiones
5. Líneas abiertas de trabajo

Líneas abiertas de trabajo

- Otros **métodos de selección de características** (p. ej. DARED, DA que añade control de redundancia) y de **clasificación** (p. ej. *ensemble*).
- Combinar análisis de expresión de RNA con análisis de **microRNA** o **alteraciones somáticas** para mejorar eficiencia.
- Mejoras en **{KnowSeq}** y **biomarkeRs**: nuevos gráficos, mejora del tuning, redacción de manual de uso, personalización de entrenamiento y test... El **código abierto** favorece la colaboración.
- **Artículo científico** que sintetiza este trabajo.

Referencias

1. Global Cancer Observatory, Cancer Today, Organización Mundial de la Salud.
2. Red Española de Registros de Cáncer (REDECAN). Estimaciones de la incidencia del cáncer en España, 2020.
3. Ministerio de Sanidad, Consumo y Bienestar Social. Estadísticas de defunciones según la causa de muerte.
4. KnowSeq Castillo-Secilla D, Galvez JM, Carrillo-Perez F, Almeida MV, Ortuno FM, Herrera LJ, Rojas. I (2020). KnowSeq: KnowSeq R/Bioc package: Beyond the traditional RNA-seq pipeline.
5. Winston Chang, Joe Cheng, JJ Allaire, Yihui Xie, and Jonathan McPher- son. shiny: Web Application Framework for R.

¡Gracias por la atención!

Daniel Redondo Sánchez



daniel.redondo.easp@juntadeandalucia.es



@dredondosanchez



danielredondo



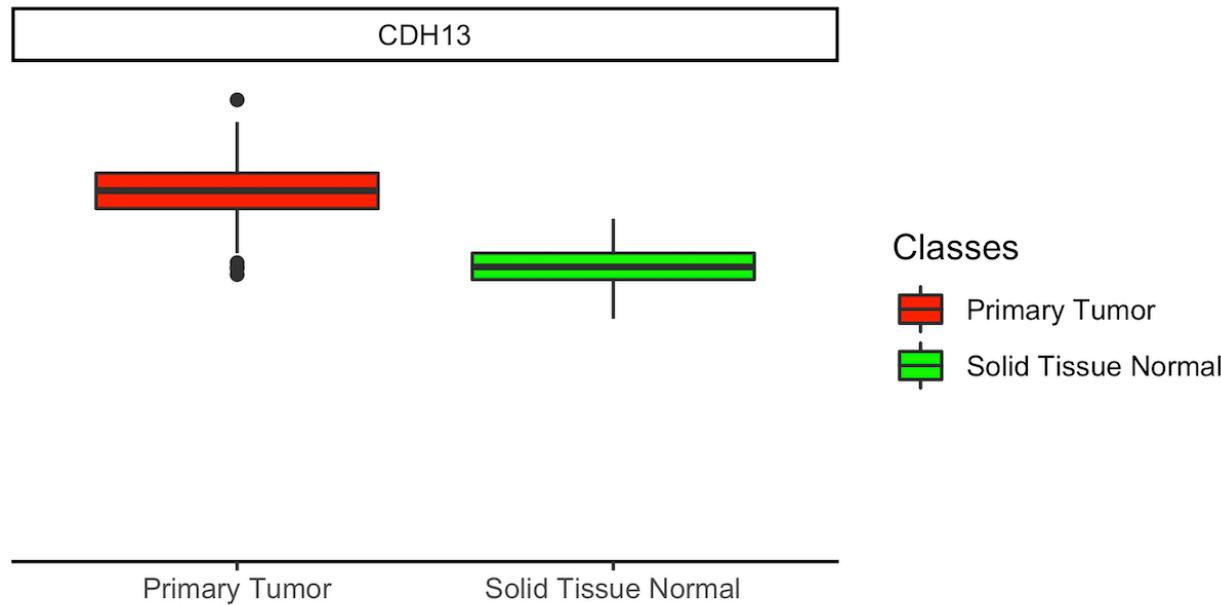
UNIVERSIDAD
DE GRANADA

Diapositivas adicionales

Metodología

Extracción de DEGs (Genes Diferencialmente Expresados):

- p-valor = 0,001
- Controlando por efecto batch con SVA
- Log Fold Change = 1



Metodología

Algoritmo mRMR (mínima redundancia, máxima relevancia)

Etapa inicial:

Variables seleccionadas = $S = \text{Conjunto vacío}$

Paso i:

Se añade a S la variable X que maximiza:

$$I(X, Y) - \frac{1}{|S|} \sum_{W \in S} I(X, W)$$

Donde Y es la variable resultado, e I es la función de información mutua entre dos variables.

Metodología

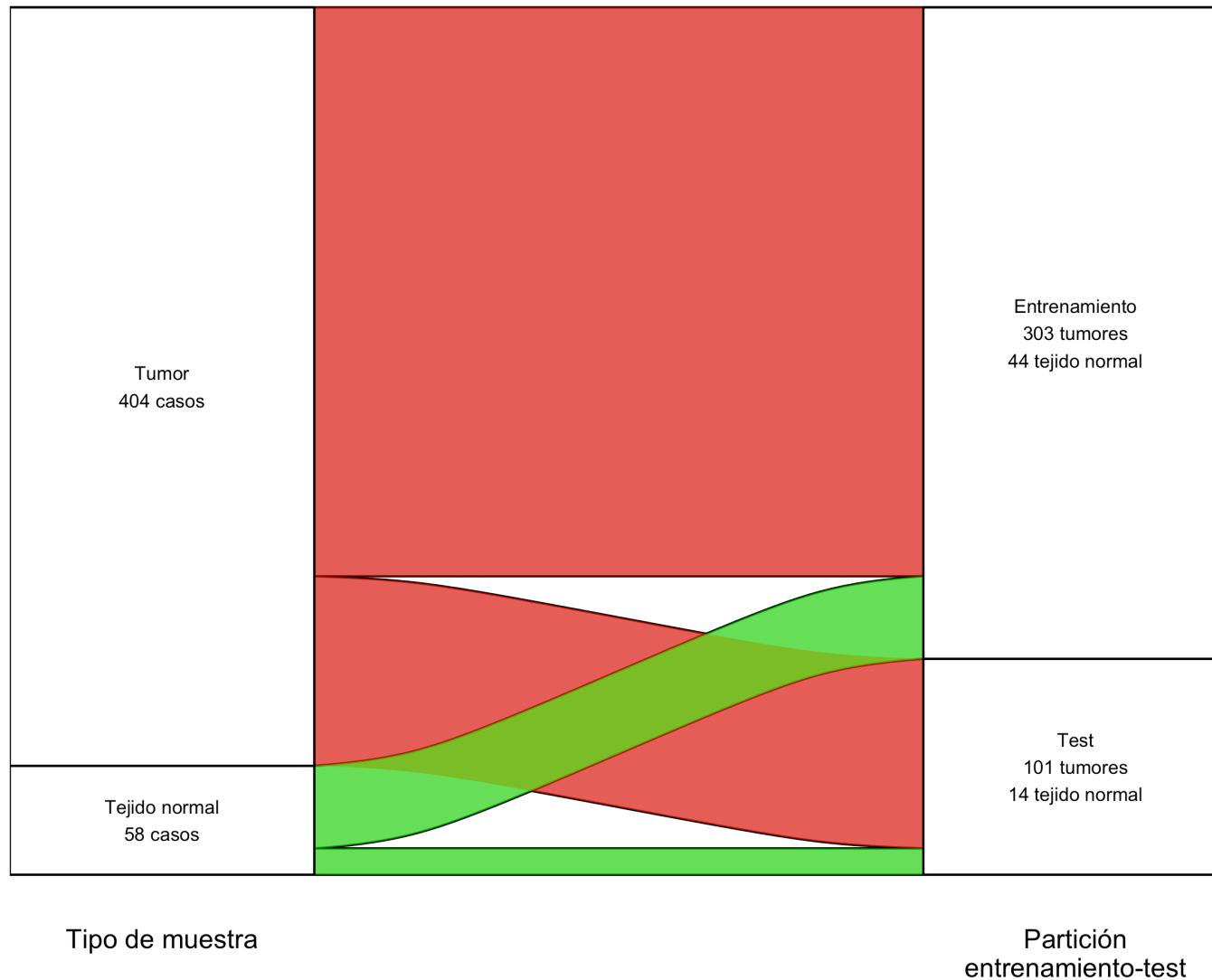
Algoritmo RF como algoritmo de selección de características

La importancia de cada variable se mide como la reducción media en precisión del modelo al aleatorizar los valores de la variable manteniendo su distribución.

Algoritmo DA

Usa una plataforma web (*targetValidation* de *Open Targets*) para conocer las evidencias científicas sobre asociación gen-enfermedad.

Resultados - Hígado biclase



F1-Score como medida de evaluación, al ser un problema con desequilibrio de clases

Resultados - Hígado biclase

Diez genes más relevantes según método de selección de características

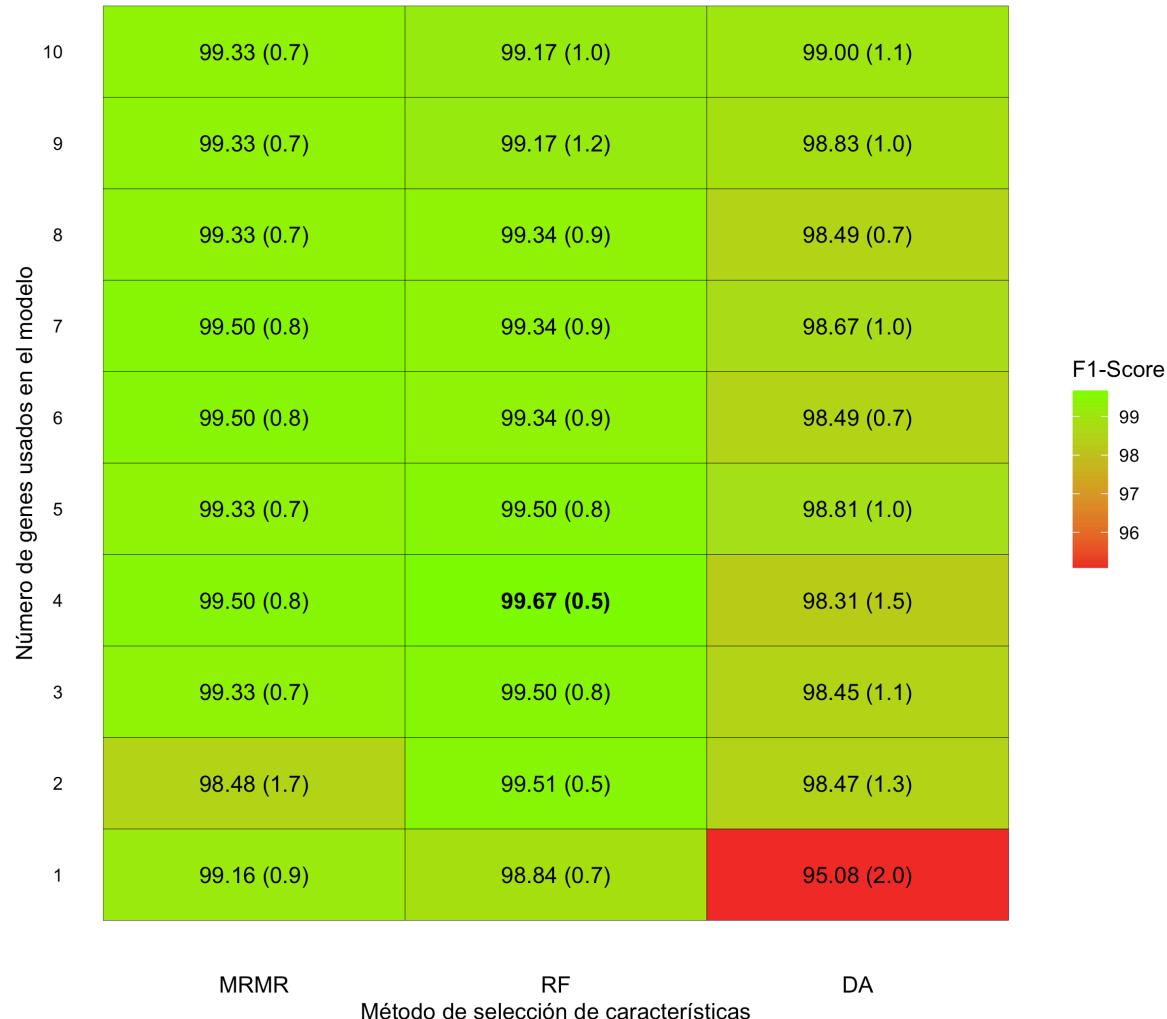
Ranking	mRMR	RF	DA
1	ANGPTL6	ANGPTL6	TERT
2	THY1	PTH1R	RSPO3
3	ADAMTS13	ADAMTS13	HOXA13
4	CELSR3	BMPER	SIX1
5	CCNE1	PRC1	TOP2A
6	CDH13	CLEC4G	GPC3
7	C14orf180	VIPR1	SSX1
8	GABRD	CLEC4M	BUB1B
9	AP000439.2	OIT3	RET
10	CEP152	GABRD	ESR1

Resultados - Hígado biclase

F1-Score para SVM con 5-fold

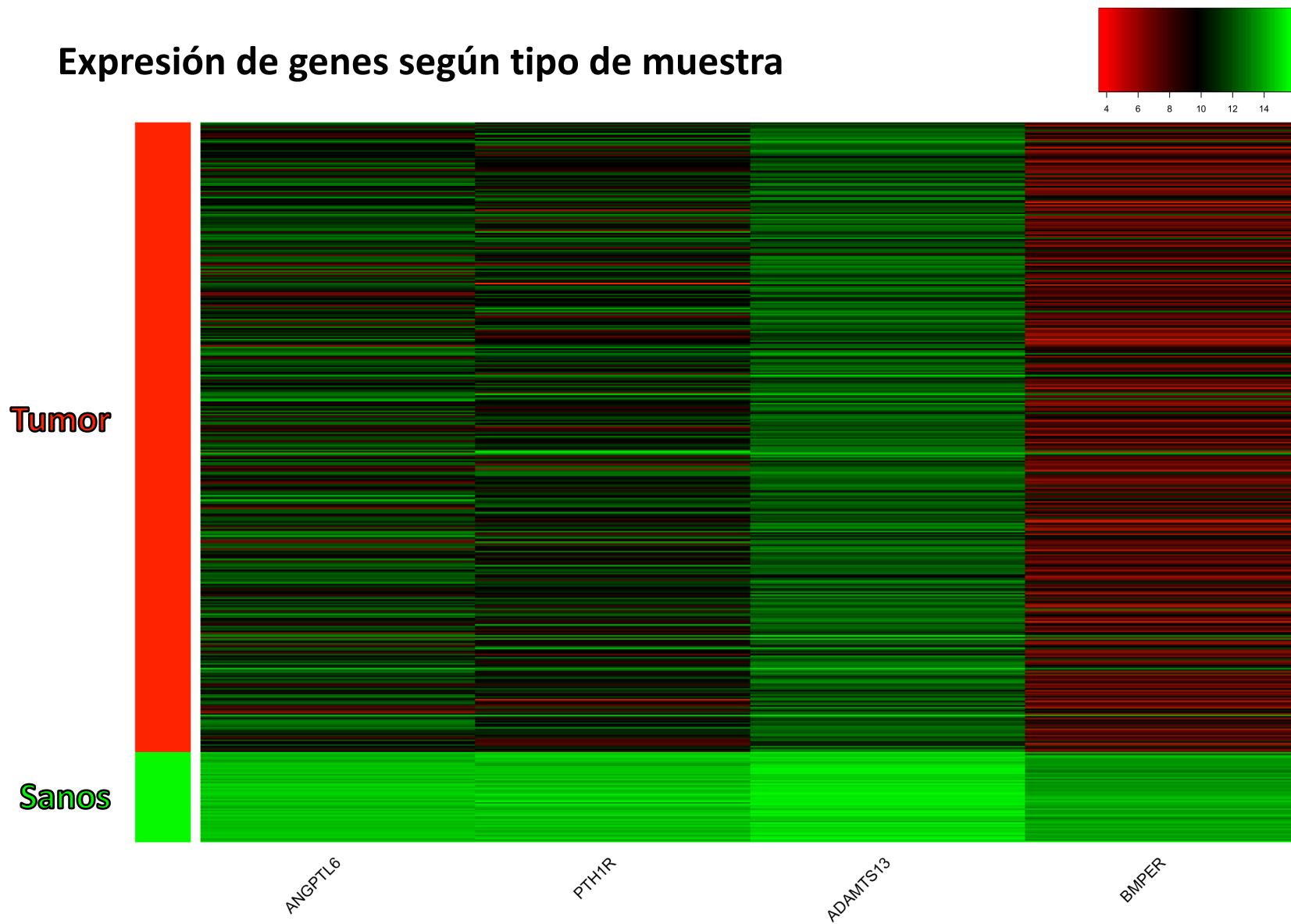
El mejor modelo se obtiene con 4 genes elegidos con RF.

F1-Score de SVM según método de selección de características
y número de genes usados en el modelo
F1-Score medio en los 5 fold (desviación típica)



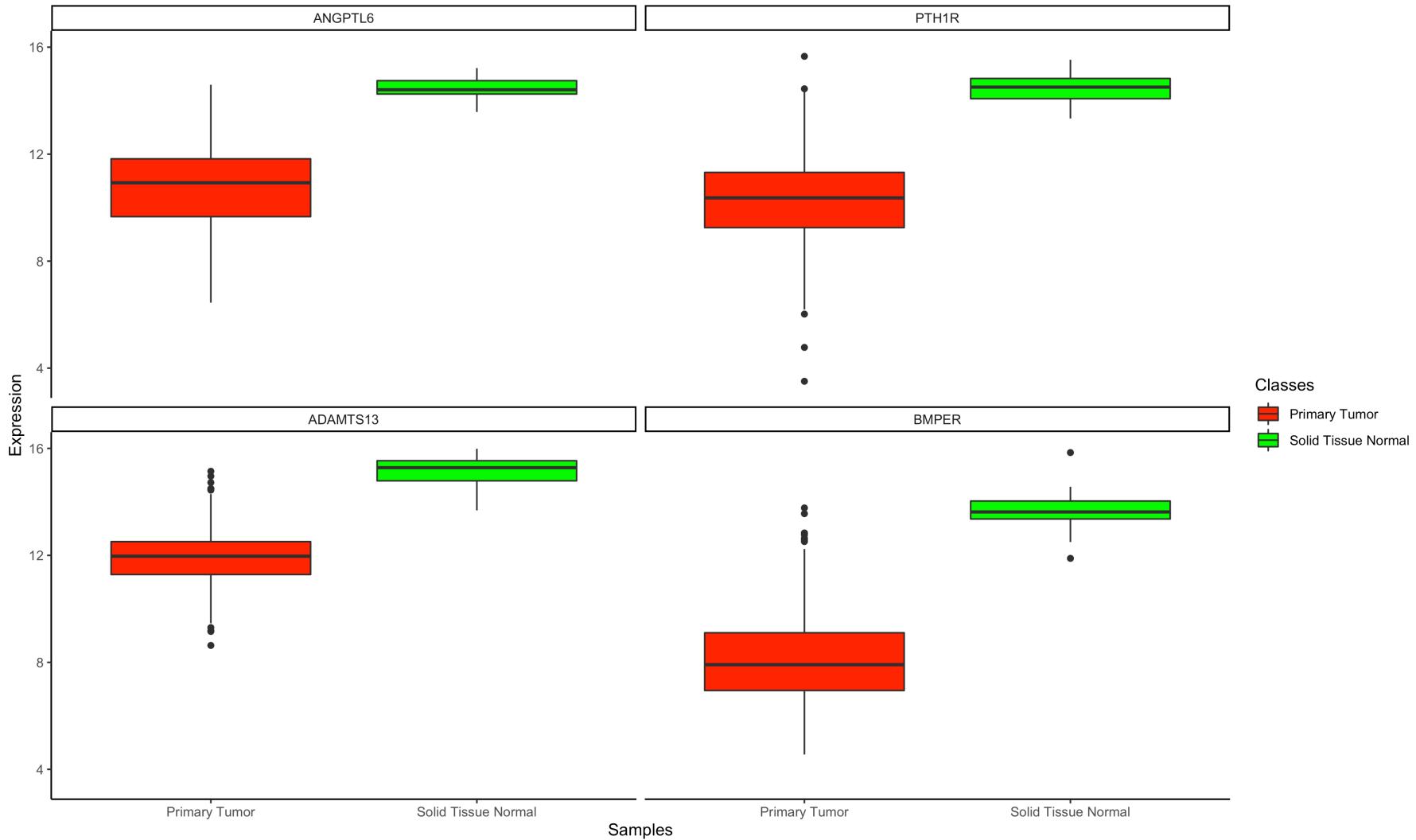
Resultados - Hígado biclase

Expresión de genes según tipo de muestra



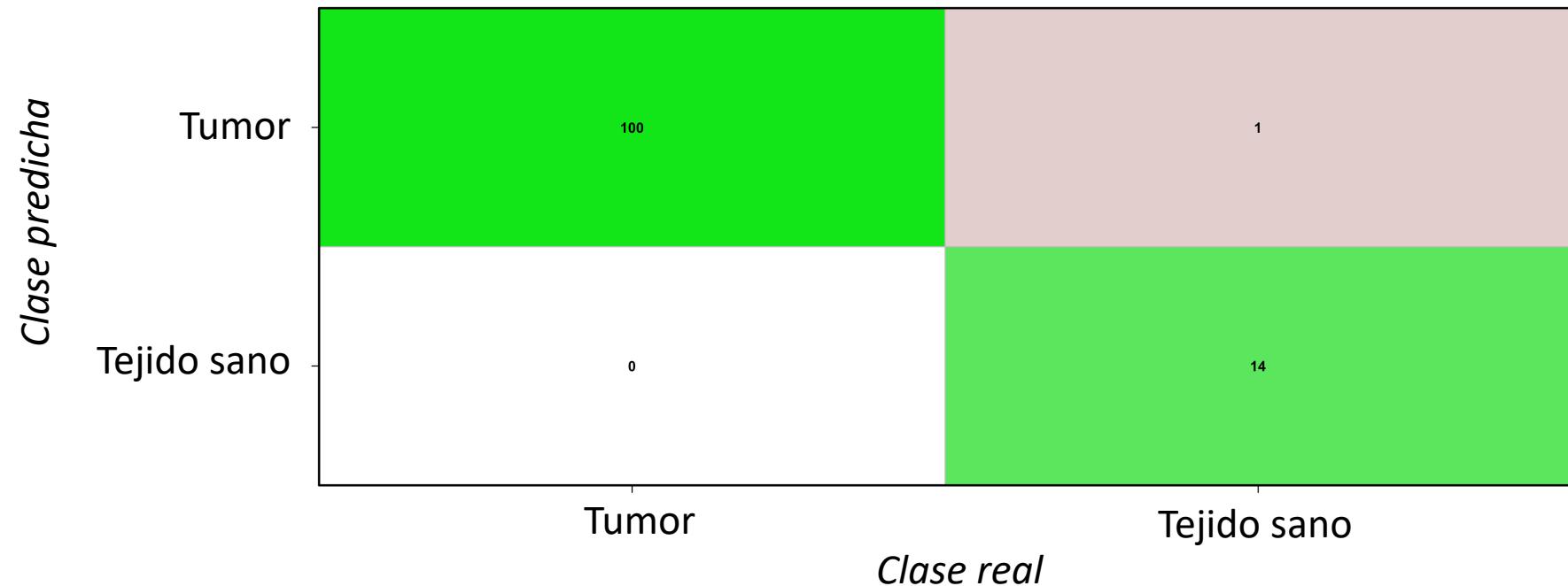
Resultados - Hígado biclase

Expresión de genes según tipo de muestra



Resultados - Hígado biclase

Validación en test: SVM con 4 genes elegidos con RF



Clasificación perfecta salvo 1 falso positivo.

Resultados - Hígado biclase

Tabla resumen de los mejores modelos según método de clasificación

	Biomarcadores	Parámetros	F1 train	Acc train	F1 test	Acc test
SVM	RF 4 genes	coste = 0.75 gamma = 0.1	99,67	99,42	99,5	99,13
RF	mRMR 7 genes	--	99,68	99,43	99,5	99,13
kNN	RF 2 genes	k = 5	99,67	99,42	99,5	99,13

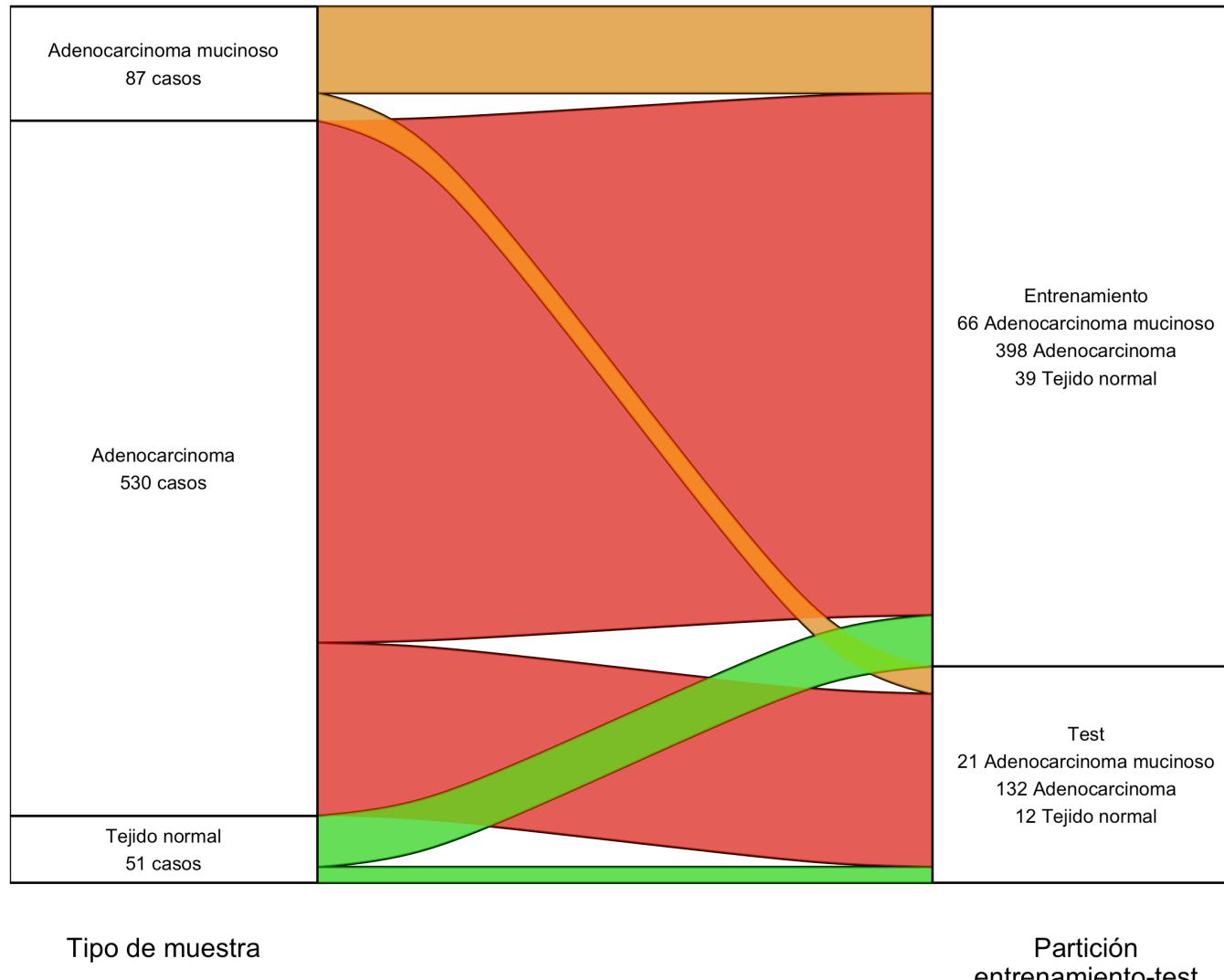
Modelos muy similares, alto poder discriminatorio.

Misma matriz de confusión en test.

Resultados - Colon-recto multiclas

Partición en conjuntos de entrenamiento y test

Reparto 75% - 25% con balanceo de clases



Resultados - Colon-recto multiclasificación

Diez genes más relevantes según método de selección de características

Ranking	mRMR	RF	DA
1	GTF2IRD1	COL11A1	CD79B
2	ESM1	GTF2IRD1	SCN4A
3	MUC2	MUC2	BTK
4	CLEC3B	CSE1L	BRCA1
5	KRT80	SCGN	FAS
6	SLC11A1	CA7	ROS1
7	OSBPL3	PVT1	TNFRSF17
8	SLC39A10	ESM1	POLQ
9	GDPD5	CPNE7	FGFR2
10	CDH3	MDFI	ATP2B3

Resultados - Colon-recto multiclas

F1-Score para RF con 5-fold

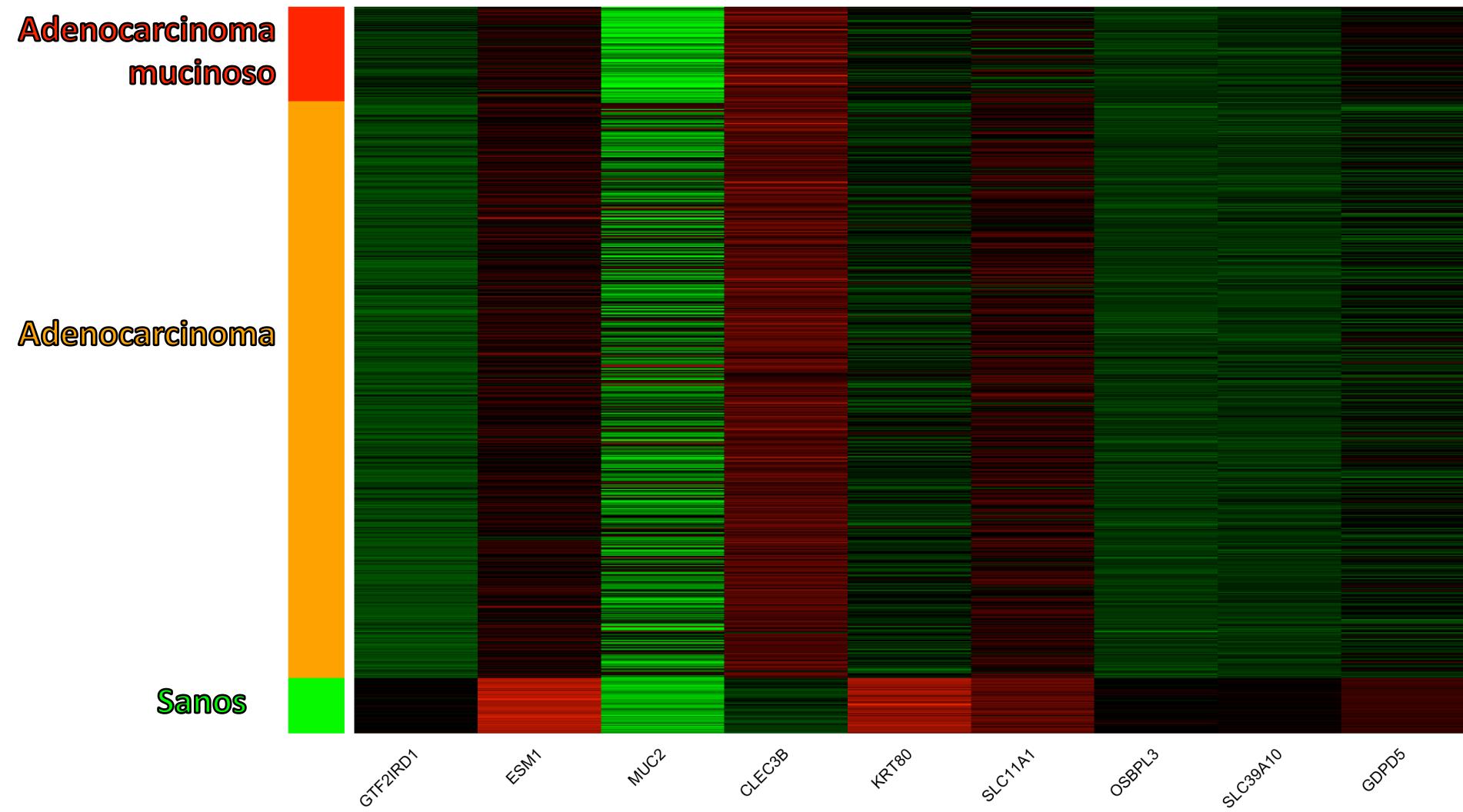
El mejor modelo se obtiene con 9 genes elegidos con mRMR.

F1-Score de RF según método de selección de características
y número de genes usados en el modelo
F1-Score medio en los 5 fold (desviación típica)



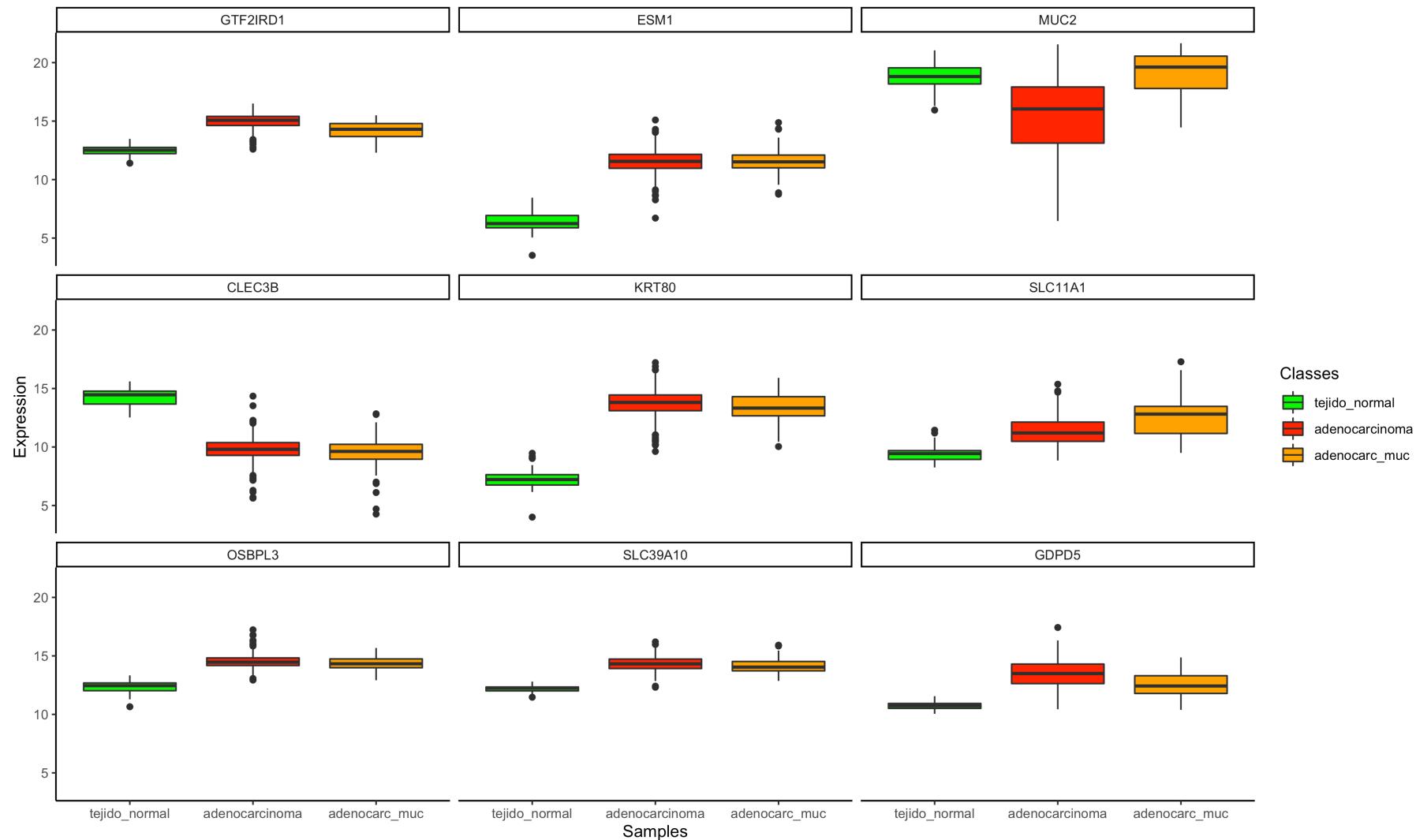
Resultados - Colon-recto multiclase

Expresión de genes según tipo de muestra



Resultados - Colon-recto multiclas

Expresión de genes según tipo de muestra



Resultados - Colon-recto multiclas

Tabla resumen de los mejores modelos según método de clasificación

	Biomarcadores	Parámetros	F1 train	Acc train	Entrenamiento	Validación
					←	→
SVM	RF 3 genes	c = 5 gamma = 0,07	81,61	90,25	80,29	87,27
RF	mRMR 9 genes	--	83,38	90,66	79,28	84,24
kNN	RF 3 genes	k = 7	82,46	90,86	78,06	84,85

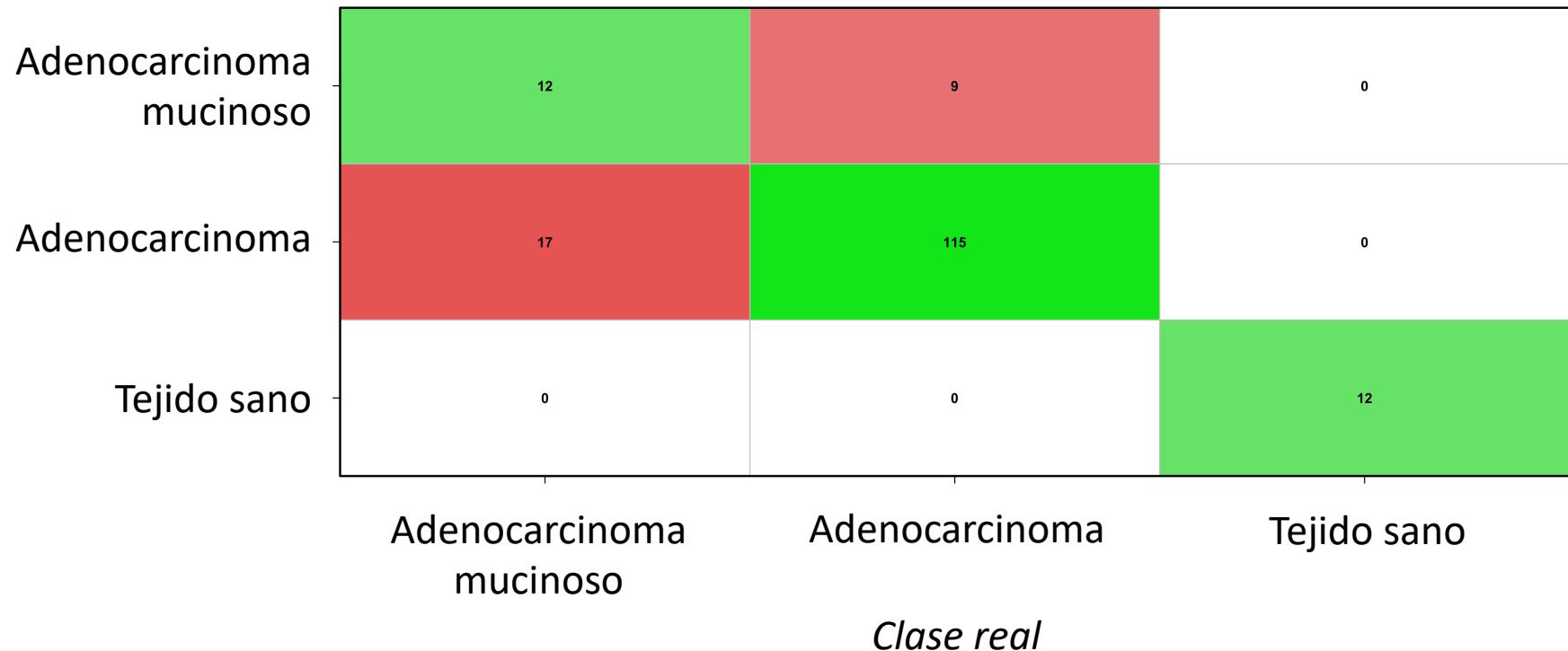
RF mejor modelo de clasificación en base a resultados en entrenamiento.

Poco poder discriminatorio.

Resultados - Colon-recto multiclasificación

Validación en test: RF con 9 genes elegidos con mRMR

Clase predicha



Perfecta discriminación entre tumores y tejidos sanos.

Dificultad en distinguir entre los dos tipos de tumores.