

# PEC1 - Análisis de datos Ómicos

Salvador Rizo Muñoz

02-04-2025

## Contents

Resumen . . . . .	1
Objetivos . . . . .	1
Materiales y métodos . . . . .	2
Resultados . . . . .	3
Discusión . . . . .	10
Conclusiones . . . . .	11
Referencias . . . . .	11

## Resumen

Este informe detalla un análisis metabolómico realizado para investigar el efecto del trasplante de intestino delgado en la microbiota intestinal. Se analiza un conjunto de datos metabolómicos del Metabolomics Workbench

(Metabolomics Workbench: Home, s. f.), con muestras de effluent ileal de pacientes antes y después de una intervención quirúrgica (Oh et al., 2012). El análisis se lleva a cabo con varios paquetes del lenguaje R. Los datos se preprocesan mediante normalización por suma y escalado por Pareto. La visualización con PCA y heatmap muestra una separación entre los grupos antes y después de la operación, sin identificar valores atípicos. Mediante análisis estadísticos como el Fold change y el t-test, se identifican metabolitos que discriminan entre los grupos. La fructosa es el metabolito con mayor cambio en su concentración, y el piruvato se destaca como el más significativo estadísticamente. En resumen, se observan diferencias en el perfil metabolómico entre los grupos, con cambios significativos en metabolitos específicos.

## Objetivos

El objetivo principal de esta PEC es realizar un análisis de datos de metabolómica utilizando el lenguaje R. Esto implica llevar a cabo los siguientes pasos:

- Se realiza un preprocesamiento de los datos metabolómicos.
- Se visualiza los datos para detectar posibles muestras anómalas (outliers).
- Se realiza diferentes análisis estadísticos para identificar metabolitos que puedan discriminar entre los dos grupos de estudio (antes y después de intervención quirúrgica). Esto incluye el uso de Fold Change y el t-test.

## Materiales y métodos

La metabolómica ha emergido como una herramienta fundamental para el estudio de la microbiota intestinal, permitiendo el análisis detallado de los cambios bioquímicos asociados a diversas condiciones clínicas. En esta PEC, se emplea datos metabolómicos obtenidos del Metabolomics Workbench (2016) con el objetivo de evaluar cómo el trasplante de intestino delgado influye en la composición microbiana. Se analizan muestras del effluente ileal de 17 pacientes, recolectadas antes y después de la intervención quirúrgica. Para el estudio, se seleccionan 12 muestras, distribuidas en dos grupos: seis pertenecientes al periodo postoperatorio (etiquetadas como ‘D’) y seis correspondientes a la fase previa al trasplante (etiquetadas como ‘A’). La caracterización metabólica se llevó a cabo mediante cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (Nash & Dunn, 2019), técnica que permite la cuantificación de 140 metabolitos presentes en cada muestra.

El análisis se estructura en tres etapas fundamentales:

### Organización de los datos.

Para ilustrar la forma en que se pueden estructurar los datos metabolómicos en bioinformática, se utiliza la clase SummarizedExperiment (Practical Analysis with SummarizedExperiments, 2025) como un ejemplo de organización eficiente de datos y metadatos. Esta clase, derivada de ExpressionSet, es ampliamente utilizada en estudios ómicos debido a su capacidad para almacenar múltiples niveles de información en un solo objeto. No obstante, cabe destacar que el análisis posterior no se realizó con SummarizedExperiment, sino con el paquete R MetaboAnalystR (xia-lab, 2019), el cual proporciona herramientas avanzadas para el procesamiento, normalización y análisis estadístico de datos metabolómicos (Pang et al., 2020).

### Análisis de datos metabolómicos

El análisis exploratorio y estadístico se lleva a cabo exclusivamente con el paquete MetaboAnalystR, una herramienta especializada en la interpretación de datos metabolómicos. Se aplican diversas técnicas analíticas y de visualización para comprender las diferencias entre los grupos:

**Preprocesamiento:** Se realiza una normalización por suma basada en la suposición de estabilidad del nivel total del metaboloma (Cuantificación | Metabolon, 2023), seguida por un escalado por Pareto para minimizar el impacto de metabolitos con concentraciones elevadas (Barbas et al., n.d.).

**Exploración de datos:** Se implementa el Análisis de Componentes Principales (PCA) (Keita, 2024) para identificar patrones de agrupamiento y posibles valores atípicos en los datos. También se genera un mapa de calor (heatmap) (Aransay, 2024) para visualizar diferencias significativas entre los grupos.

**Análisis estadístico univariado:** Se utiliza el Fold change para describir el grado de variación de cada metabolito, estableciendo un umbral de  $\pm 2$ , y se aplica la prueba t-test, con un criterio de  $p < 0.05$  para determinar la significancia estadística de los cambios observados. Los resultados se representan mediante un Volcano Plot, que muestra la magnitud del cambio metabólico en relación con su relevancia estadística (Parcela Volcánica, 2025).

### Comparación: SummarizedExperiment vs. ExpressionSet

Aunque el análisis se realiza íntegramente con MetaboAnalystR, la clase SummarizedExperiment es utilizada como referencia metodológica para ilustrar la organización de los datos. Comparada con su predecesora, ExpressionSet, presenta varias ventajas que la hacen más adecuada para estudios modernos en metabolómica:

Diferencias (ExpressionSet vs SummarizedExperiment vs GRanges, 2024)

#### SummarizedExperiment

Tipo de datos Multi-ómica (NGS, metabolómica) Estructura Múltiples assays (RNA, proteínas) El uso de SummarizedExperiment en estudios ómicos facilita la organización de información compleja, aunque para análisis metabolómicos específicos, herramientas especializadas como MetaboAnalystR siguen siendo la opción más robusta.

ExpressionSet Una sola matriz de expresión Microarrays

## Resultados

### Visualización de datos mediante PCA

Tras la aplicación de normalización y escalado, el Análisis de Componentes Principales (PCA) permite observar una clara separación entre los dos grupos de estudio (Fig. 1): antes y después de la cirugía. Se identifica que el primer componente fue el que mejor discriminó entre las muestras, explicando aproximadamente el 30% de la variabilidad del conjunto de datos (Fig. 2). No se detecta valores atípicos, lo que sugiere una adecuada homogeneidad dentro de cada grupo. Sin embargo, se observa cuatro muestras de distintos grupos con una gran proximidad entre sí, lo que podría indicar que la microbiota de ciertos pacientes no experimentó cambios sustanciales tras la intervención quirúrgica (Fig. 3).

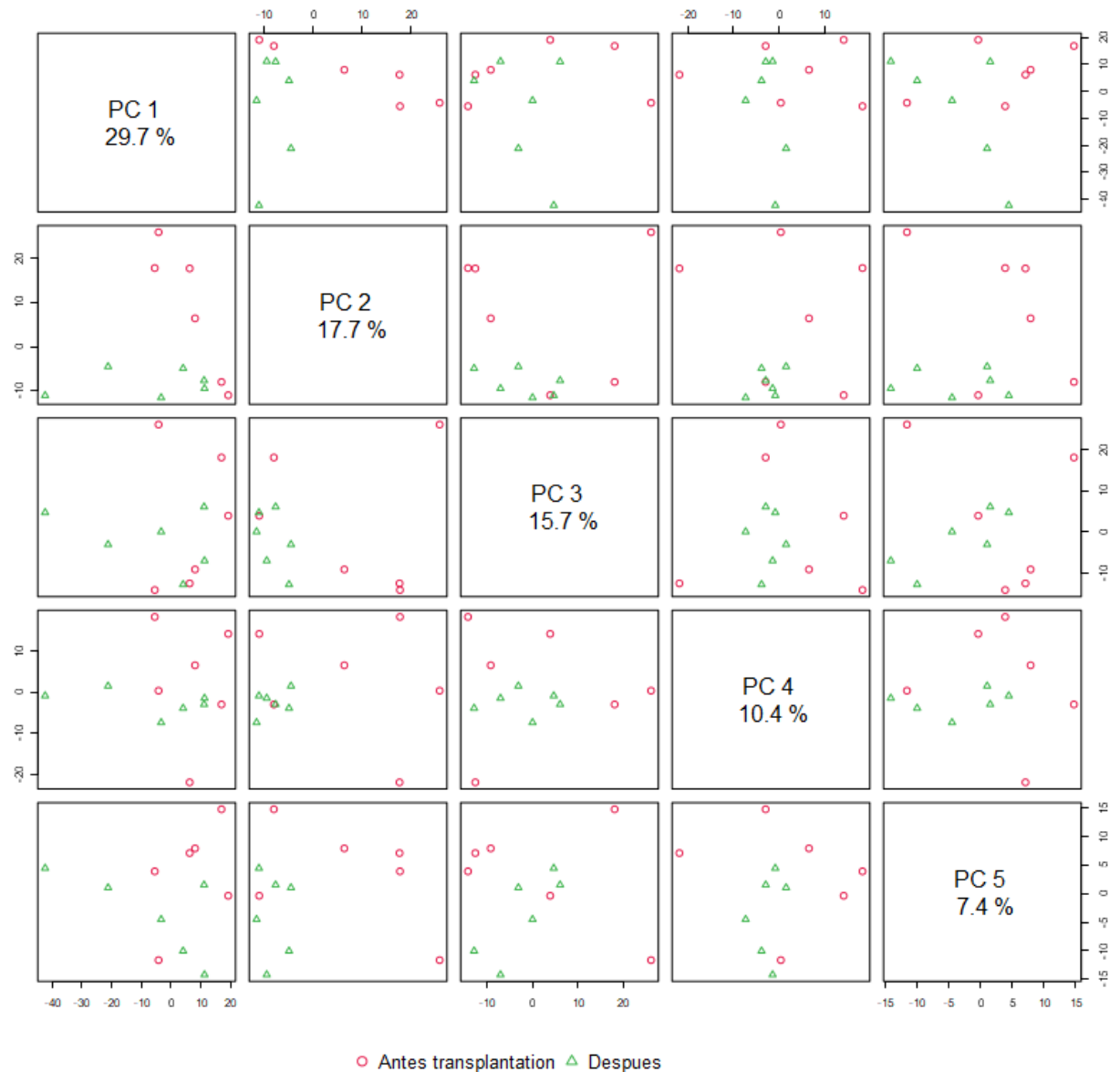


Figura 1

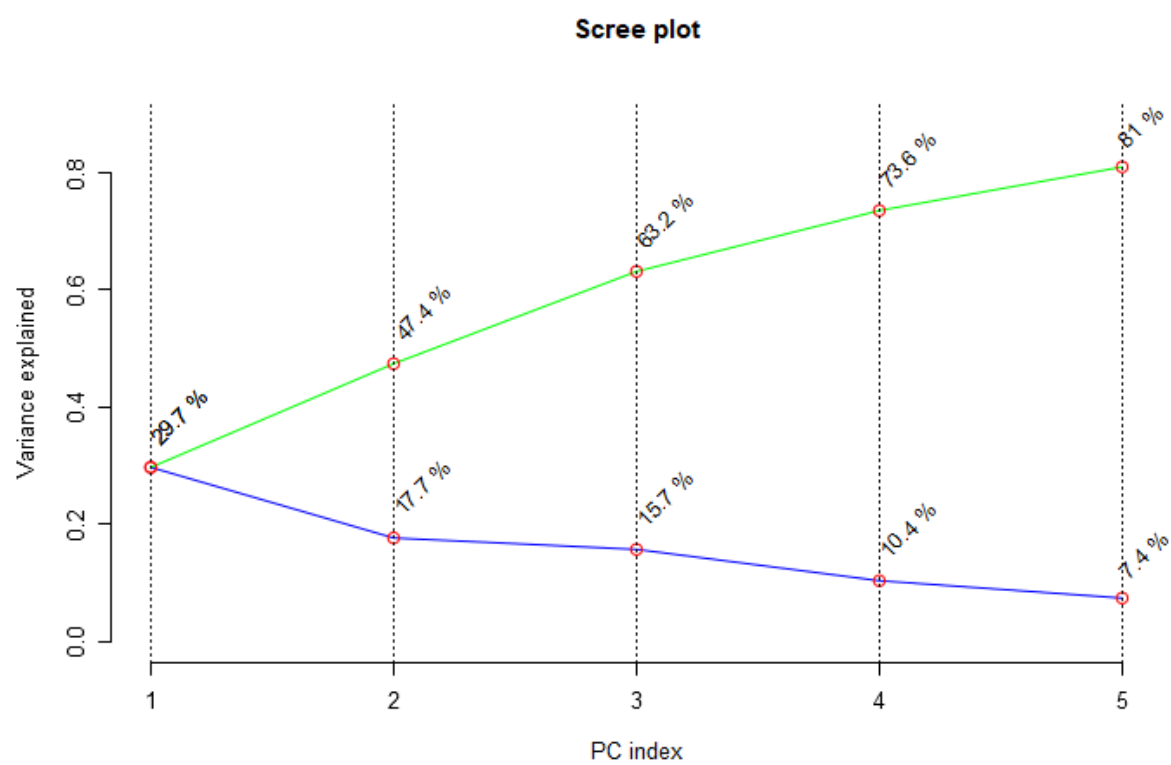


Figura 2

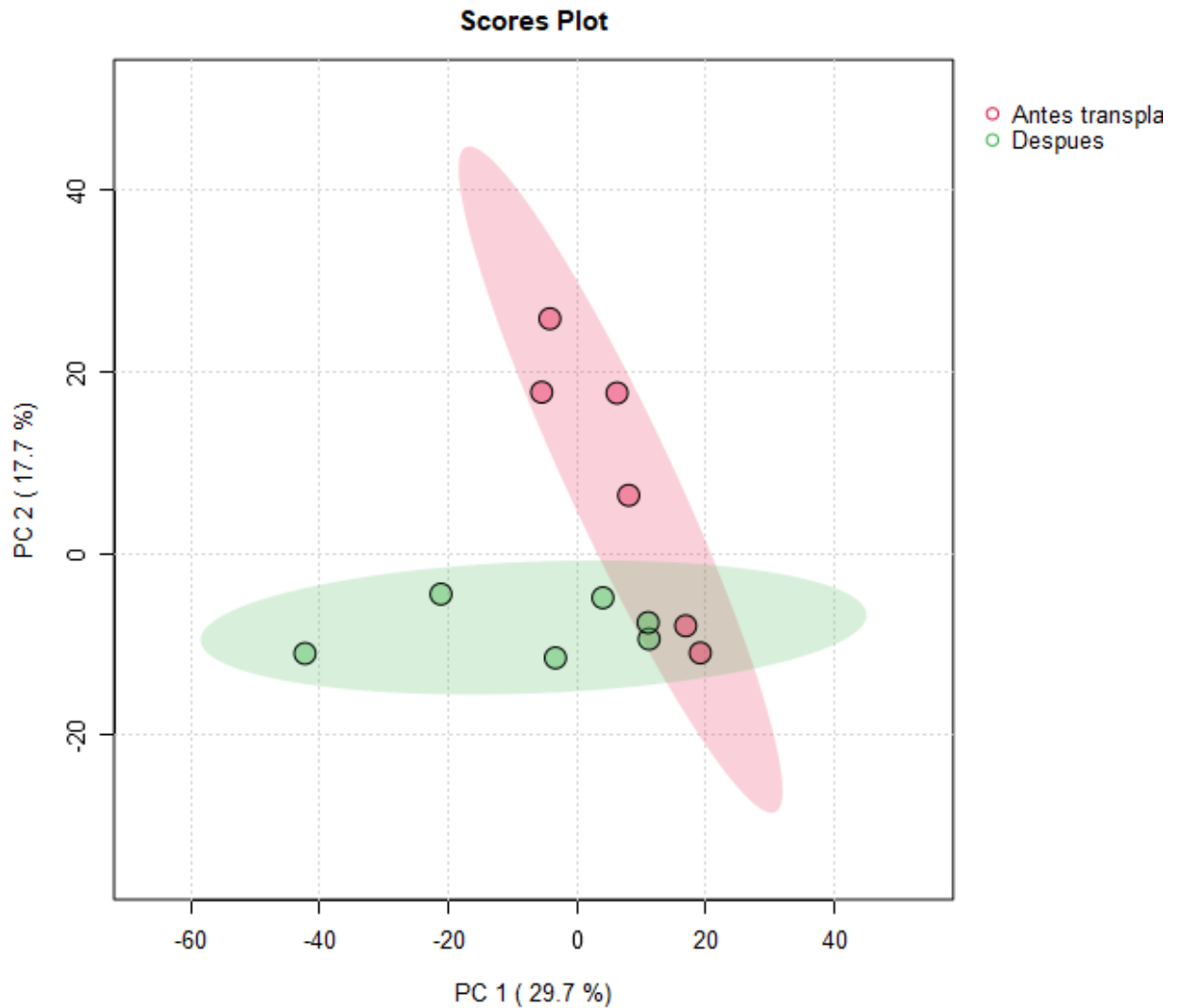


Figura 3

Agrupamiento de muestras mediante mapa de calor

La representación mediante mapa de calor (heatmap) confirma el adecuado agrupamiento de las muestras en función de su perfil metabolómico (Fig. 4). Al visualizar únicamente los 25 metabolitos más relevantes, es decir, aquellos que presentan mayores diferencias entre los grupos, se evidencia que la mayoría de las muestras se organizan correctamente en sus respectivos grupos, con la excepción de una muestra que presenta una disposición atípica. Dentro de estos 25 metabolitos, se identifican varios implicados en el ciclo de Krebs, entre ellos piruvato y ácido glutámico, lo que sugiere una posible alteración en las rutas metabólicas energéticas tras la intervención (Fig. 5.)



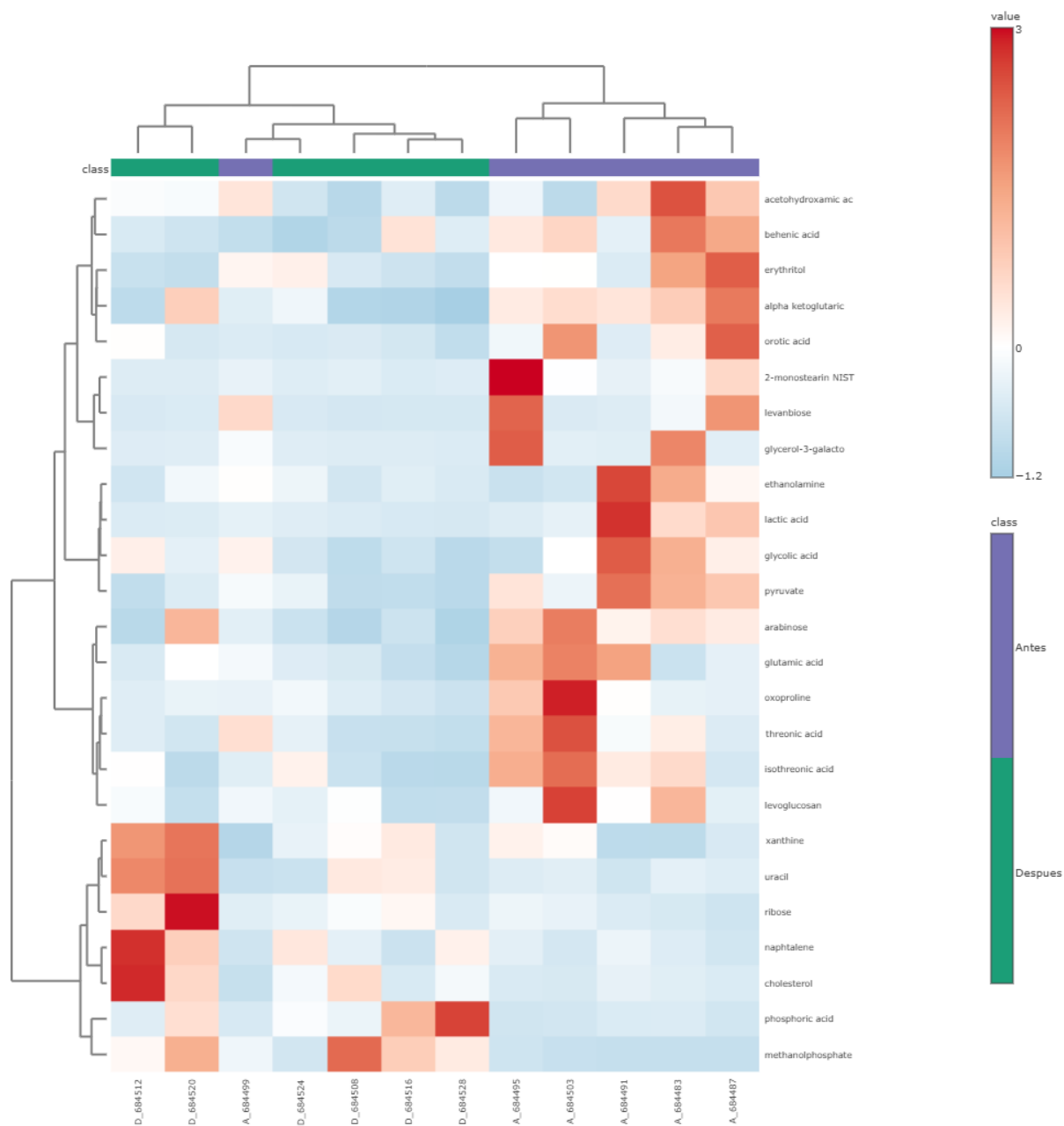


Figura 5

Análisis de variación metabólica mediante Fold Change

El análisis de Fold Change permite identificar los metabolitos que experimentan una variación significativa tras la cirugía. Se estable un umbral de  $\pm 2$ , diferenciando entre aquellos que disminuyen (representados en rojo) y aquellos que aumentan (representados en azul). Entre los metabolitos con concentraciones reducidas, se identifican sacarosa y piruvato, mientras que entre los aumentados destacan ciertos ácidos y taurina. Asimismo, la fructosa (Fig. 7) fue el metabolito que presenta la mayor variabilidad entre ambos grupos.

Otros compuestos vinculados al ciclo de Krebs, como glucosa (Fig. 8) y galactosa, también muestran una alteración marcada, lo que refuerza la hipótesis de una posible disrupción en la dinámica energética celular.

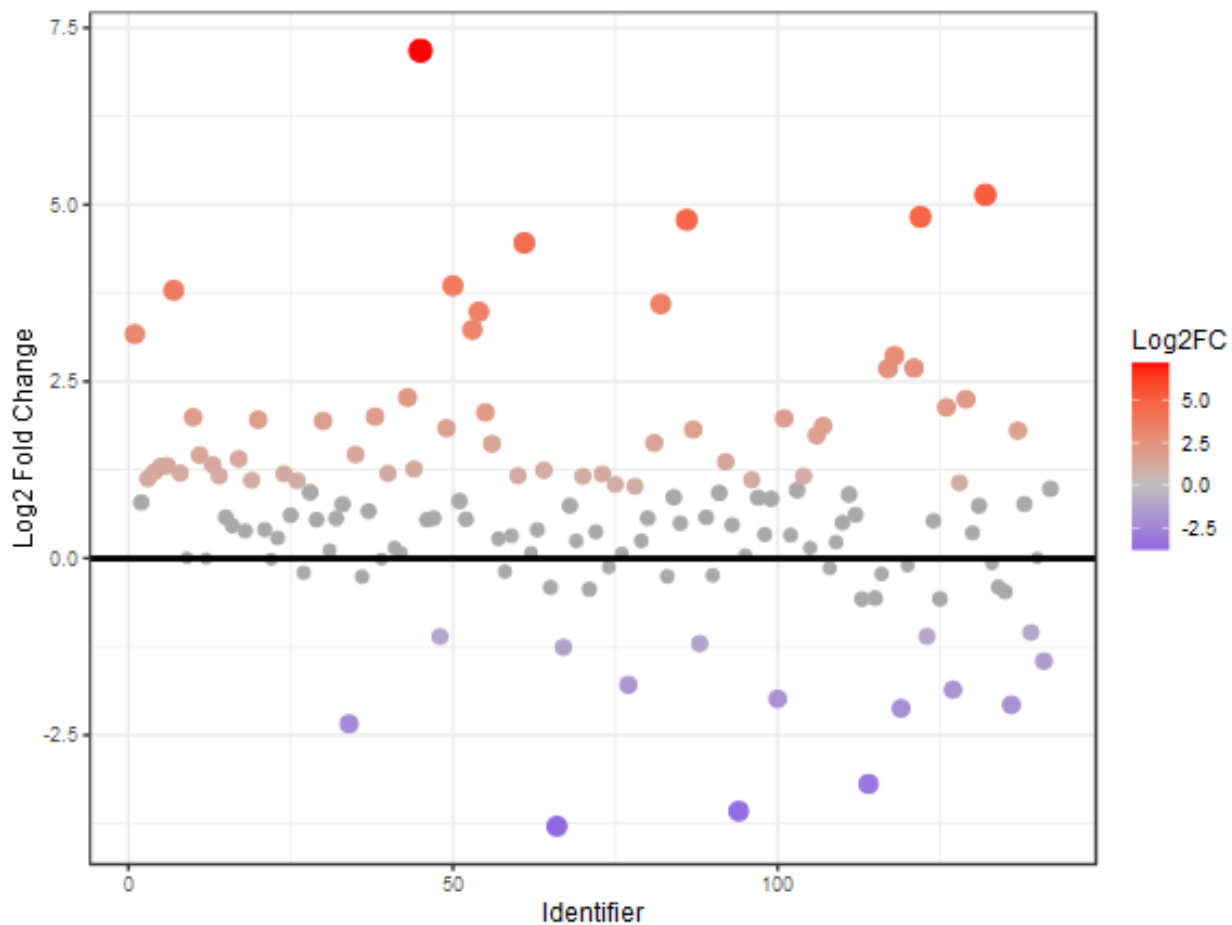


Figura 6



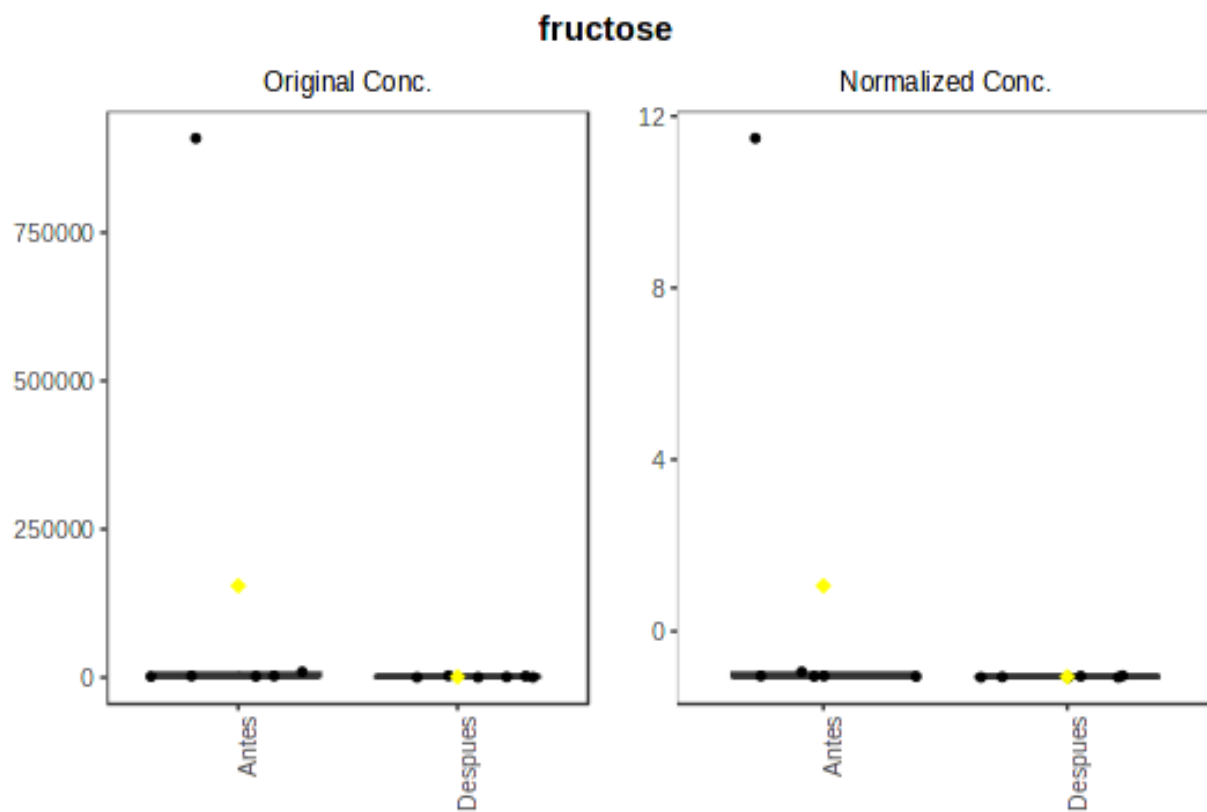


Figura 7

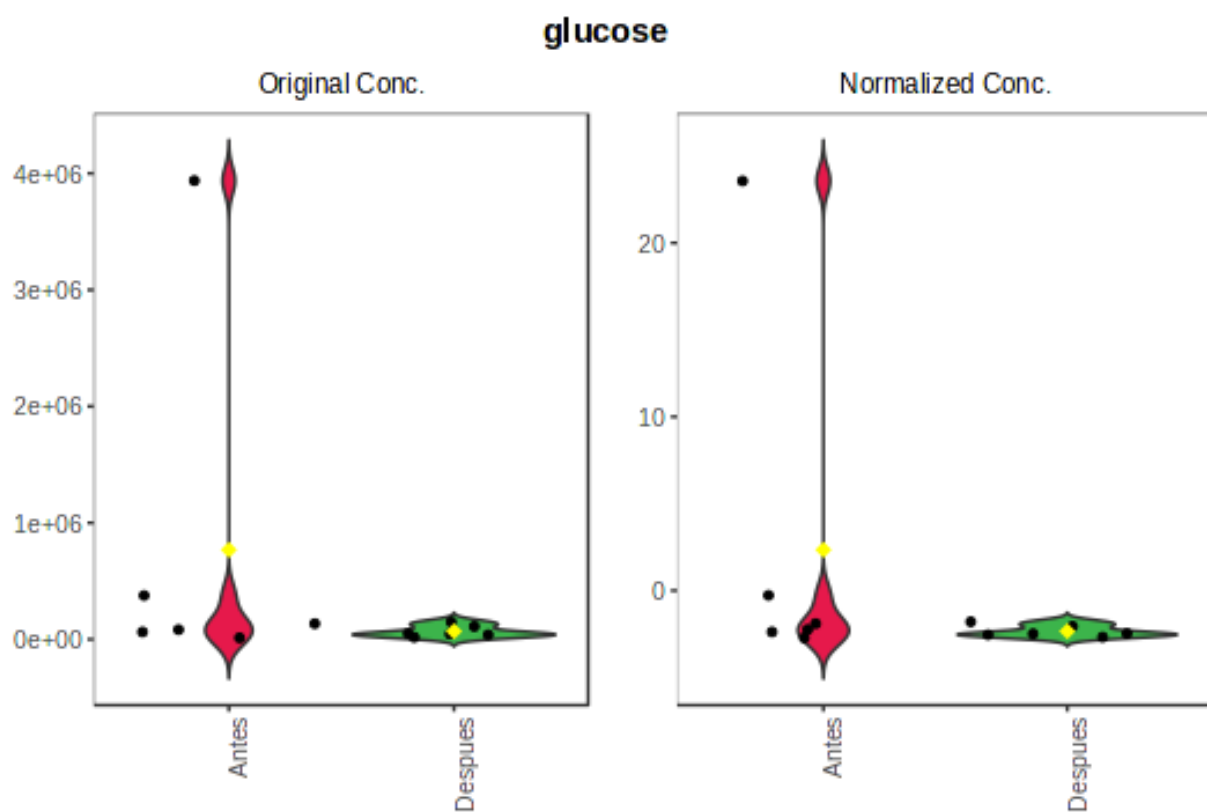


Figura 8

Análisis estadístico mediante t-test

Para determinar la significancia estadística de los cambios observados en la concentración de metabolitos, se aplica la prueba de t-test, con un umbral de  $p = 0.05$ . Se identifican 11 metabolitos con diferencias estadísticamente significativas, destacando el piruvato como el más relevante. La distribución de estos metabolitos se visualizó mediante un VolcanoPlot, donde aquellos con cambios más pronunciados y significativos son resaltados en rojo y azul, lo que reafirma la importancia del piruvato como biomarcador de alteraciones metabólicas postoperatorias.

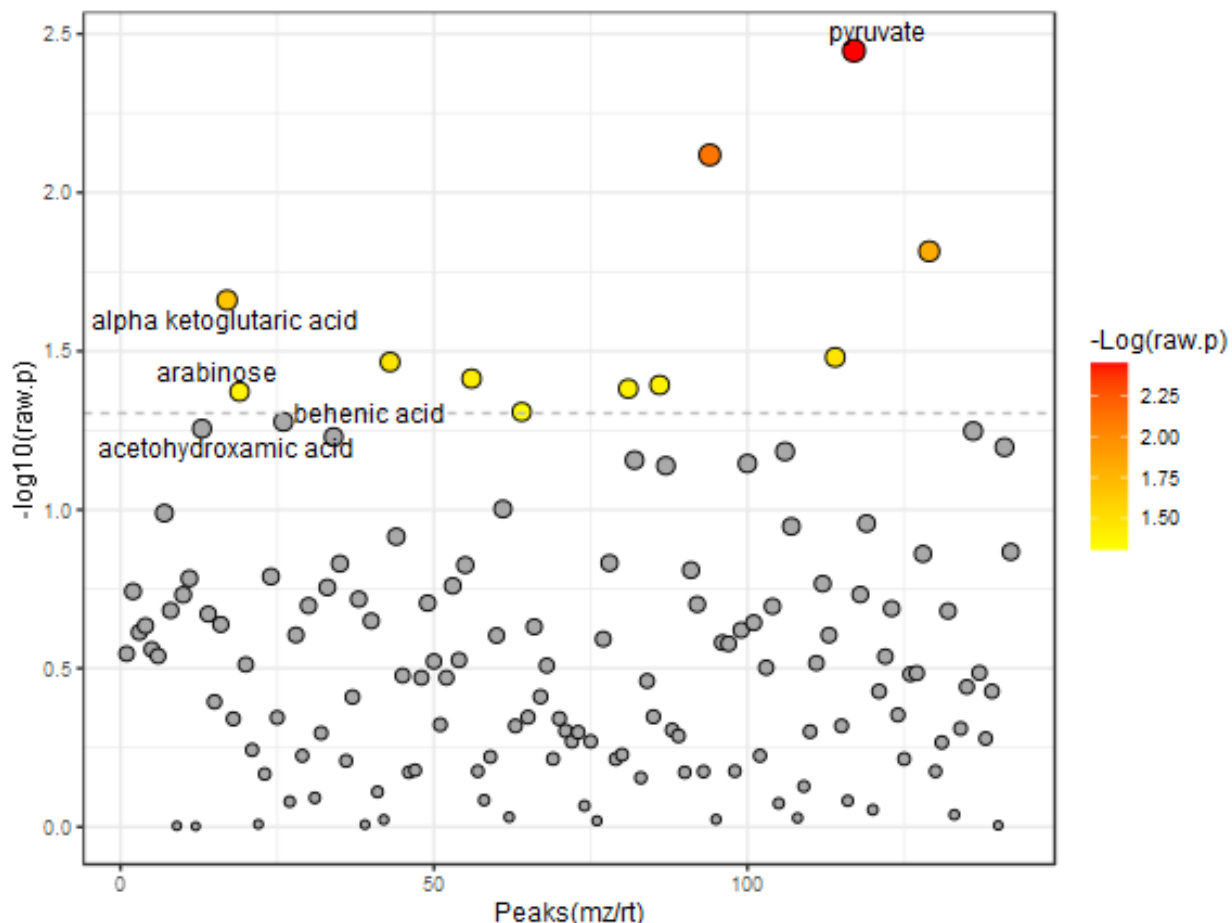


Figura 9

## Discusión

La cercanía observada en el análisis PCA entre ciertas muestras post-intervención y las previas a la misma, sugiere una heterogeneidad en la adaptación de la microbiota al trasplante entre los individuos analizados. Este fenómeno amerita una exploración más profunda. El hallazgo de metabolitos del ciclo de Krebs entre los más modificados, tanto en magnitud de cambio como en relevancia estadística, apunta a una influencia del trasplante en rutas metabólicas fundamentales. Resulta pertinente examinar la trascendencia biológica de estas variaciones en el marco de la adaptación del intestino delgado post-intervención y su vínculo con la microbiota. Este estudio presenta ciertas limitaciones, tales como el número restringido de muestras analizadas ( $n=12$ ), lo que subraya la necesidad de corroborar los resultados en grupos de pacientes más extensos. La evaluación de las vías metabólicas sería indispensable para ofrecer una interpretación biológica más detallada de las modificaciones detectadas en los metabolitos. La discusión podría enfocarse en las posibles rutas metabólicas alteradas y su conexión con la función intestinal y la composición de la microbiota. Los parámetros seleccionados para el preprocesamiento de los datos (normalización por suma y escalado de Pareto), así como los criterios estadísticos empleados (Fold Change  $\pm 2$ ,  $p$ -valor  $= 0.05$ ), podrían haber ejercido influencia en los resultados obtenidos, por lo que su consideración en la discusión resulta necesaria.

## Conclusiones

El presente estudio permite identificar diferencias significativas en el perfil metabolómico del effluente ileal de los pacientes sometidos a trasplante de intestino delgado. El Análisis de Componentes Principales (PCA) evidencia una separación general entre las muestras pre y postoperatorias, lo que sugiere un impacto metabólico derivado de la cirugía.

Entre los metabolitos con cambios significativos en su concentración, se identifica el piruvato, junto con otros participantes en el ciclo de Krebs, lo que señala una modificación en rutas metabólicas fundamentales. Estos hallazgos sugieren que el trasplante afecta el metabolismo intestinal, posiblemente debido a la adaptación fisiológica del órgano tras la intervención quirúrgica.

Los resultados que se obtienen mediante Fold Change y la prueba estadística de t-test son consistentes en la identificación de varios metabolitos clave capaces de discriminar entre el estado pre y post-trasplante. La concordancia entre estos métodos refuerza la relevancia de los compuestos identificados como posibles marcadores metabólicos asociados a la cirugía.

Sin embargo, la variabilidad que se observa en el agrupamiento de algunas muestras postoperatorias indica que la respuesta metabólica al trasplante podría no ser homogénea en todos los pacientes. Factores individuales, como la composición basal de la microbiota, la capacidad de adaptación del tejido injertado y el estado clínico previo a la cirugía, pueden influir en estos resultados, lo que requiere una evaluación más profunda.

Finalmente, para comprender completamente las implicaciones biológicas de los cambios metabolómicos observados, es necesario realizar un análisis más detallado de rutas metabólicas. Este enfoque permitiría definir qué vías bioquímicas están más afectadas, facilitando la interpretación funcional de los resultados y su posible aplicación en el diseño de estrategias terapéuticas orientadas a la recuperación postoperatoria (Wishart et al., 2007, 2009).

## Referencias

Dirección github [https://github.com/srm78d/PEC1\\_ADO](https://github.com/srm78d/PEC1_ADO)

ExpressionSet vs SummarizedExperiment vs GRanges. (s. f.). Bioinformatics Daily. Recuperado 30 de marzo de 2025, de <https://bioinformaticsdaily.com/omics/15-bioconductor/66-expressionset-vs-summarizedexperiment-vs-granges/>

Aransay, D. A. (2024, January 31). Cómo crear mapas de calor o heatmaps en R. MappingGIS. <https://mappinggis.com/2024/01/como-crear-mapas-de-calor-o-heatmaps-en-r/>

Bioconductor—Home. (s. f.). Recuperado 27 de marzo de 2025, de <https://www.bioconductor.org/>  
Metabolomics Workbench: Home. (s. f.). Recuperado 1 de abril de 2025, de <https://www.metabolomicsworkbench.org/>

Barbas, C., Dudzik, D., Fernanda, M., Francisco, R.-S., Rupérez, J., & García, A. (n.d.). METABOLÓMICA. [https://www.umb.edu.pl/photo/pliki/projekty\\_umb/aac/spanish/aacifesci\\_module\\_ii\\_metabolomics\\_es.pdf](https://www.umb.edu.pl/photo/pliki/projekty_umb/aac/spanish/aacifesci_module_ii_metabolomics_es.pdf)

Keita, Z. (2024, March). Tutorial de análisis de componentes principales en R. Datacamp.com; DataCamp. <https://www.datacamp.com/es/tutorial/pca-analysis-r>

MetaboAnalyst. (s.f.). MetaboAnalyst. <https://www.metaboanalyst.ca/docs/Format.xhtml>

Nash, W. J., & Dunn, W. B. (2019). From mass to metabolite in human untargeted metabolomics: Recent advances in annotation of metabolites applying liquid chromatography-mass spectrometry data. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 120, 115324. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.022>  
Oh, P. L., Martínez, I., Sun, Y., Walter, J., Peterson, D. A., & Mercer, D. F. (2012). Characterization of the Ileal Microbiota in Rejecting and Nonrejecting Recipients of Small Bowel Transplants. *American Journal of Transplantation*, 12(3), 753-762. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2011.03860.x>

- Pang, Z., Chong, J., Li, S., & Xia, J. (2020). MetaboAnalystR 3.0: Toward an Optimized Workflow for Global Metabolomics. *Metabolites*, 10(5), 186. <https://doi.org/10.3390/metabo10050186>
- Parcela volcánica. (2025, January 29). Metabolon. <https://www.metabolon.com/es/bioinformatics/volcano-plot/Practical-analysis-with-SummarizedExperiments>. (s. f.). Recuperado 27 de marzo de 2025, de <https://coriell-research.github.io/coriell/articles/Practical-analysis-with-SummarizedExperiments.html>
- Phillips RJ, Powley TL: Innervation of the gastrointestinal tract: patterns of aging, *Auton Neurosci* 136:1, 2007
- Sud, M., Fahy, E., Cotter, D., Azam, K., Vadivelu, I., Burant, C., Edison, A., Fiehn, O., Higashi, R., Nair, K. S., Sumner, S., & Subramaniam, S. (2016). Metabolomics Workbench: An international repository for metabolomics data and metadata, metabolite standards, protocols, tutorials and training, and analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 44(D1), D463-D470. <https://doi.org/10.1093/nar/gkv1042>
- xia-lab. (2019, March 6). GitHub - xia-lab/MetaboAnalystR: R package for MetaboAnalyst. GitHub. <https://github.com/xia-lab/MetaboAnalystR/>
- Wishart, D.S., Tzur, D., Knox, C., Eisner, R., Guo, A.C., Young, N., et al. (2007) HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Research* 35 (database issue), D521–526.
- Wishart, D.S., Knox, C., Guo, A.C., Eisner, R., Young, N., Gautam, B., et al. (2009) HMDB: a knowledge base for the human metabolome. *Nucleic Acids Research* 37 (database issue), D603–610