Análisis de datos Ómicos - PEC1

Zaida Munilla

2024-10-31

Contents

ABSTRACT

En la primera PEC de la asignatura Anaísis de Datos Ómicos he comenzado creando una cuenta en github para poder relacionar el Proyecto en R con un repositorio de mi cuenta en dicha aplicación. Posteriormente he realizado la exploración de los datos del dataset human_cachexia.csv creando previamente un contenedor del tipo SummarizedExperiment. Para realizar este contenedor he revisado los siguientes enlaces:

https://bioconductor.org/packages/release/bioc/manuals/SummarizedExperiment/man/SummarizedExperiment.pdf

https://www.uv.es/ayala/docencia/tami/tami13.pdf (Este documento me ha resultado de gran ayuda)

Finalmente, a partir del objeto SEca de clase SummarizedExperiment , he realizado una primera visualización de los datos para tener una idea de los datos contenidos en el dataset y sus posibles problemas a la hora de realizar un análisis estadístico.

OBJETIVOS

A lo largo del desarrollo de la PEC mi objetivo se ha centrado en entender la estructura de los objetos de tipo SummarizedExperiment para poder construir uno a partir del dataset human_cachexia.csv y posteriormente iniciar un análisis de los datos con la intención de detectar la necesidad de realizar una depuración de los datos previamente al inicio de su futuro análisis estadístico.

Por su parte, los objetivos del estudio que dieron lugar a los datos que se van a trabajar fueron los siguientes (fuente: http://darwin.di.uminho.pt/metabolomicspackage/cachexia.html):

La caquexia es un síndrome metabólico complejo asociado con una enfermedad subyacente (como el cáncer) y caracterizado por la pérdida de músculo con o sin pérdida de masa grasa. Mejores enfoques para detectar el inicio y la evolución de la atrofia muscular ayudarían a controlar los síndromes de atrofia y facilitarían la intervención temprana. Como es probable que los metabolitos producidos a partir de la descomposición

del tejido sean un indicador sensible de atrofia muscular, se recolectaron muestras de orina ya que varios productos finales del catabolismo muscular se excretan específicamente en la orina.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los datos empleados han sido los del dataset human_cachexia.csv extraidos del siguiente link:

https://github.com/nutrimetabolomics/metaboData/tree/main/Datasets/2024-Cachexia

Este dataset en formato csv contiene los datos de 77 individuos, en concreto, se recogieron un total de 77 muestras de orina, siendo 47 de ellos pacientes con caquexia y 30 pacientes control. Se adquirieron todos los espectros de RMN unidimensionales de muestras de orina y luego se detectaron y cuantificaron los metabolitos, es decir, para cada metabolito se midió su concentración.

Inicialmente, comencé la PEC creando la cuenta de github (https://github.com/zmunilla). Después siguiendo las instrucciones del siguiente enlace creé un repositorio y lo nombré como "Munilla-Garcia-Zaida-PEC1"

fuente: http://destio.us.es/calvo/asignaturas/ge_esco/tutorialusargitgithubrstudio/UsarGitGithubconRStudio.html

En RStudio creé un nuevo proyecto con control de versiones indicando la url de mi repositorio.

Para ir copiando los nuevos archivos creados en RStudio en el repositorio github, desde la pestaña "Git" selecciono los archivos que quiero volcar en el repositorio, selecciono Commit, incluyo un mensaje en el cuadro de texto y de nuevo Commit y posteriormente "Push".

Para iniciar el ejercicio decargué los archivos del enlace https://github.com/nutrimetabolomics/metaboData/tree/main/Datasets/2024-Cachexia y los copié en la carpeta que había asignado al proyecto de R.

Para crear el contenedor de tipo "SummarizedExperiment" procedo con el siguiente código:

Primero cargo la librería "SummarizedExperiment" mediante el código

library(SummarizedExperiment)

```
library(SummarizedExperiment)
```

Cargo el dataset y veo una parte de los datos para ir haciéndome una idea del formato

```
dfca <- read.csv("human_cachexia.csv", header=TRUE, sep=",")
head(dfca)[1:3,1:3]
```

```
##   Patient.ID Muscle.loss X1.6.Anhydro.beta.D.glucose
## 1    PIF_178    cachexic                       40.85
## 2    PIF_087    cachexic                       62.18
## 3    PIF_090    cachexic                      270.43
```

```
dim(dfca)
```

```
## [1] 77 65
```

Transformo los datos en una matriz y selecciono únicamente los valores de los distintos metabolitos. Para poder crear el SummarizedExperiment hago la traspuesta de la matriz dado que necesitamos que las disintas muestras (en este caso las muestras de orina de cada individuo) se dispongan en las columnas, y los valores de los metabolitos en las filas:

```
mat <- data.matrix(subset.data.frame(dfca[,3:65], row.names=1, col.names=dfca$Patient.ID))
```

```
## Warning: In subset.data.frame(dfca[, 3:65], row.names = 1, col.names = dfca$Patient.ID) :
##  extra arguments 'row.names', 'col.names' will be disregarded
```

```
matt <- t(mat)
colnames(matt) <- dfca$Patient.ID
dim(matt)
```

```
## [1] 63 77
```

Para realizar el otro dataframe que conforma el SummarizedExperiment selecciono las dos primeras columnas del dataset de inicio e indico que la primera columna se trata de los nombre de las filas. Así el único atributo de las muestras será si se trata de muestra control o de individuos con cachexia.

```
colca <- data.frame(dfca[,1:2], row.names=1)
colca$Muscle.loss <- as.factor(colca$Muscle.loss)
head(colca,5)
```

```
##             Muscle.loss
## PIF_178        cachexic
## PIF_087        cachexic
## PIF_090        cachexic
## NETL_005_V1    cachexic
## PIF_115        cachexic
```

```
dim(colca)
```

```
## [1] 77  1
```

```
table(colca)
```

```
## Muscle.loss
## cachexic  control
##       47       30
```

Procedemos a crear la lista con los metadatos del estudio que he extraído de la página: http://darwin.di.uminho.pt/metabolomicspackage/cachexia.html

```
met <- c(name='Eisner et al.',
                lab='Varios',
                contact="chrisbcl@hotmail.com",
                title='Learning to predict cancer-associated skeletal muscle wasting from 1h-nmr profil
                abstract='Cachexia is a complex metabolic syndrome associated with an underlying illnes
                url='https://www.metaboanalyst.ca/resources/data/human_cachexia.csv')
```

Con el siguiente código uno las 3 piezas y creo el contenedor que denomino SEca:

```
SEca <- SummarizedExperiment(assays=list(counts=matt),
                             colData=colca,
                             metadata = met)
```

```
SEca
```

```
## class: SummarizedExperiment
## dim: 63 77
## metadata(6): name lab ... abstract url
## assays(1): counts
## rownames(63): X1.6.Anhydro.beta.D.glucose X1.Methylnicotinamide ...
##   pi.Methylhistidine tau.Methylhistidine
## rowData names(0):
## colnames(77): PIF_178 PIF_087 ... NETL_003_V1 NETL_003_V2
## colData names(1): Muscle.loss
```

Para guardarlo por separado del resto de archivos:

```
save(SEca, file="SEca.RData")
```

RESULTADOS

Procedo a obtener un análisis básico de los datos del contenedor creado:

```
head(colData(SEca))
```

```
## DataFrame with 6 rows and 1 column
##             Muscle.loss
##                <factor>
## PIF_178        cachexic
## PIF_087        cachexic
## PIF_090        cachexic
## NETL_005_V1    cachexic
## PIF_115        cachexic
## PIF_110        cachexic
```

```
dim(colData(SEca))
```

```
## [1] 77  1
```

Puedo acceder a los metadata con el siguiente comando:

```
metadata(SEca)
```

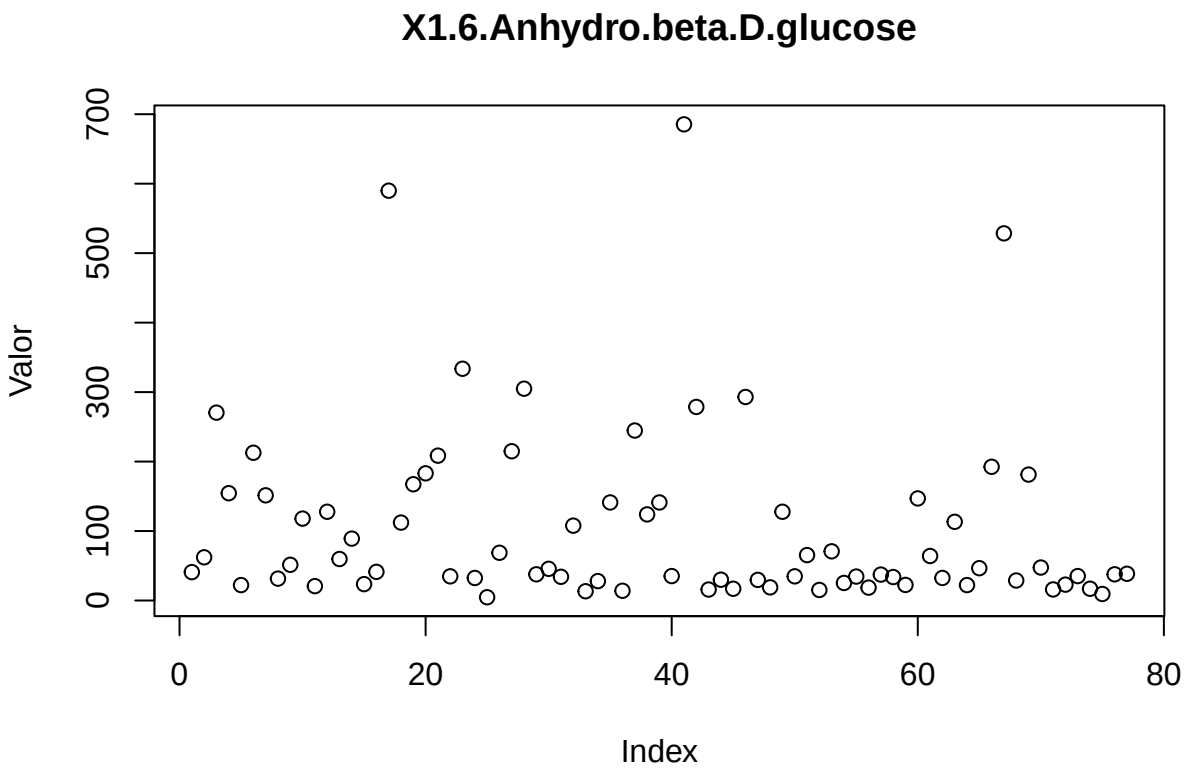
```
## $name
## [1] "Eisner et al."
##
## $lab
## [1] "Varios"
##
## $contact
## [1] "chrisbcl@hotmail.com"
##
## $title
## [1] "Learning to predict cancer-associated skeletal muscle wasting from 1h-nmr profiles of urinary m
34, 2010."
##
## $abstract
## [1] "Cachexia is a complex metabolic syndrome associated with an underlying illness (such as cancer)
##
## $url
## [1] "https://www.metaboanalyst.ca/resources/data/human_cachexia.csv"
```

```
head(assay(SEca))[1:3,1:3]
```

```
##                             PIF_178 PIF_087 PIF_090
## X1.6.Anhydro.beta.D.glucose   40.85   62.18  270.43
## X1.Methylnicotinamide         65.37  340.36   64.72
## X2.Aminobutyrate              18.73   24.29   12.18
```

Podría plasmar un plot de cada uno de los metabolitos con su distribución en un plot de la siguiente manera:

```
plot(assay(SEca)[1,], main=rownames(assay(SEca))[1], ylab="Valor")
```



Esto me permitiría poder hacerme una idea de la presencia de outliers. Además, teniendo en cuenta que las primeras 47 muestras se trata de los individuos que presentaban cachexia y que los 30 últimos los individuos control, con estos gráficos podríamos intuir alguna relación entre la cachexia y los valores de alguno de los metabolitos.

Ahora realizaré un summary de la distribución de cada uno de los metabolitos, de manera que se pueda detectar también la presencia de valores atípicos (valores máximos o mínimos muy alejados de la media, por ejemplo).

```
apply(t(assay(SEca)),2,summary)
```

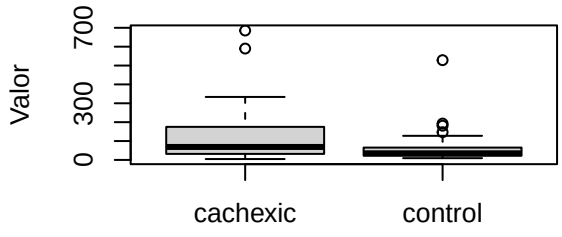
```
##         X1.6.Anhydro.beta.D.glucose X1.Methylnicotinamide X2.Aminobutyrate
## Min.                        4.7100              6.42000          1.28000
## 1st Qu.                    28.7900             15.80000          5.26000
## Median                     45.6000             36.60000         10.49000
## Mean                      105.6304             71.57364         18.15974
## 3rd Qu.                   141.1700             73.70000         19.49000
## Max.                      685.4000           1032.77000        172.43000
##         X2.Hydroxyisobutyrate X2.Oxoglutarate X3.Aminoisobutyrate
## Min.                  4.85000         5.5300             2.61000
## 1st Qu.              15.80000        22.4200            11.70000
## Median               32.46000        55.1500            22.65000
## Mean                 37.25065       145.0871            76.75636
## 3rd Qu.              54.60000        92.7600            56.26000
## Max.                 93.69000      2465.1300          1480.30000
##         X3.Hydroxybutyrate X3.Hydroxyisovalerate X3.Indoxylsulfate
## Min.               1.70000              0.92000           27.6600
## 1st Qu.            5.99000              5.26000           82.2700
```

```
## Median            11.70000              12.55000          144.0300
## Mean              21.71701              21.64779          218.8792
## 3rd Qu.           29.96000              30.27000          333.6200
## Max.             175.91000             164.02000         1043.1500
##         X4.Hydroxyphenylacetate   Acetate   Acetone   Adipate   Alanine
## Min.                     15.490   3.49000   2.29000   1.55000   16.7800
## 1st Qu.                  41.680  16.28000   4.95000   6.11000   78.2600
## Median                   70.110  39.65000   7.10000  10.18000  194.4200
## Mean                    112.021  66.14143  11.42701  24.75636  273.5623
## 3rd Qu.                 145.470  86.49000  10.49000  19.11000  399.4100
## Max.                    796.320 411.58000 206.44000 327.01000 1312.9100
##         Asparagine   Betaine Carnitine   Citrate  Creatine Creatinine
## Min.       6.69000   2.29000   2.18000    59.740    2.7500   1002.250
## 1st Qu.   20.49000  28.79000  14.44000   788.400   17.6400   3498.190
## Median    42.10000  64.72000  23.81000  1790.050   44.2600   7631.200
## Mean      62.28364  90.32468  52.08506  2235.346  126.8319   8733.972
## 3rd Qu.   89.12000 127.74000  60.95000  3071.740  117.9200  12332.580
## Max.     273.14000 391.51000 487.85000 13629.610 1863.1100  33860.350
##         Dimethylamine Ethanolamine  Formate    Fucose Fumarate   Glucose
## Min.          41.2600      16.1200    6.420   5.70000  0.79000   26.8400
## 1st Qu.      142.5900      86.4900   53.520  29.37000  2.23000   80.6400
## Median       304.9000     204.3800   95.580  61.56000  4.10000  210.6100
## Mean         358.1661     276.2604  147.403  88.66883  8.44013  559.8445
## 3rd Qu.      454.8600     407.4800  167.340 123.97000  7.85000  407.4800
## Max.        1556.2000    1436.5500 1480.300 407.48000 96.54000 8690.6200
##         Glutamine   Glycine Glycolate Guanidoacetate Hippurate Histidine
## Min.      23.3400   38.0900    5.4200         7.03000    92.760   14.1500
## 1st Qu.  113.3000  262.4300   50.9100        33.78000   492.750   66.6900
## Median   225.8800  528.4800  130.3200        64.72000  1224.150  174.1600
## Mean     306.8716  880.7174  187.9894        86.37052  2286.838  292.6375
## 3rd Qu.  445.8600 1096.6300  267.7400       108.85000  2921.930  419.8900
## Max.    1685.8100 5064.4500  720.5400       561.16000 19341.340 1863.1100
##         Hypoxanthine Isoleucine   Lactate   Leucine   Lysine Methylamine
## Min.         3.78000   1.790000    7.3200   2.51000  10.4900     1.51000
## 1st Qu.     20.70000   3.900000   35.5200   9.12000  30.2700     5.26000
## Median      40.04000   7.170000   81.4500  19.11000  69.4100    14.73000
## Mean        61.09766   8.709091  158.4565  24.36364 108.7942    17.37623
## 3rd Qu.     83.93000  11.250000  139.7700  31.19000 121.5100    24.05000
## Max.       265.07000  40.040000 3640.9500 103.54000 788.4000    52.46000
##         Methylguanidine N.N.Dimethylglycine O.Acetylcarnitine Pantothenate
## Min.            1.70000             0.79000           1.23000      2.59000
## 1st Qu.         4.26000             7.03000           3.94000     11.13000
## Median          7.85000            21.98000          11.47000     22.65000
## Mean           15.32455            26.34961          19.73338     44.88377
## 3rd Qu.        19.30000            40.04000          20.91000     41.26000
## Max.          141.17000           120.30000         254.68000    692.29000
##         Pyroglutamate  Pyruvate Quinolinate    Serine Succinate   Sucrose
## Min.          21.3300   0.90000     5.21000   16.1200   1.72000    6.4900
## 1st Qu.       68.7200   4.85000    26.58000   83.1000   8.58000   19.3000
## Median       157.5900  13.46000    51.42000  142.5900  30.88000   40.8500
## Mean         211.4478  21.29442    66.43948  197.6869  60.22909  113.2278
## 3rd Qu.      301.8700  29.08000    87.36000  270.4300  74.44000   94.6300
## Max.        1064.2200 184.93000   259.82000 1248.8800 589.93000 2079.7400
##          Tartrate   Taurine Threonine Trigonelline Trimethylamine.N.oxide
```

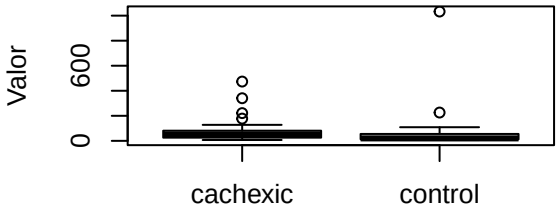
```
## Min.      2.20000   17.8100    8.2500      10.0700               55.7000
## 1st Qu.   6.89000   99.4800   31.8200      53.5200              175.9100
## Median   12.94000  249.6400   64.0700     114.4300              383.7500
## Mean     40.00403  525.1235   95.3574     270.4361              652.1569
## 3rd Qu.  25.79000  665.1400  137.0000     340.3600              735.1000
## Max.    837.15000 4272.6900  450.3400    2252.9600             5486.2500
##          Tryptophan  Tyrosine    Uracil    Valine    Xylose cis.Aconitate
## Min.        8.67000   4.22000   3.10000   4.10000   10.0700       12.9400
## 1st Qu.    21.33000  23.57000  11.94000  12.18000   29.9600       36.2300
## Median     46.99000  60.34000  27.39000  33.12000   50.4000      129.0200
## Mean       66.24312  81.75727  35.55766  35.66701  100.9334      204.2197
## 3rd Qu.    96.54000 113.30000  44.26000  50.40000   89.1200      254.6800
## Max.      259.82000 539.15000 179.47000 160.77000 2164.6200     1863.1100
##          myo.Inositol trans.Aconitate pi.Methylhistidine tau.Methylhistidine
## Min.          11.5900         4.90000             11.3600              8.00000
## 1st Qu.       30.2700        12.43000             67.3600             27.39000
## Median        78.2600        26.84000            162.3900             68.72000
## Mean         135.3975        40.63039            370.2883             89.68688
## 3rd Qu.      167.3400        57.40000            387.6100            130.32000
## Max.         854.0600       217.02000           2697.2800            317.35000
```

Otro ejemplo de gráfico sería aplicar a todos los metabolitos un boxplot diferenciando los dos grupos "cachexia" y "control". En el siguiente código sólo se muestran los 4 primeros metabolitos como ejemplo.

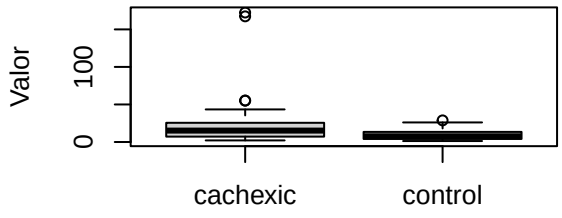
```
par(mfrow=c(2,2))
for (i in 1:4)
     boxplot(assay(SEca)[i,] ~ colca$Muscle.loss, ylab="Valor",xlab=rownames(assay(SEca))[i])
```



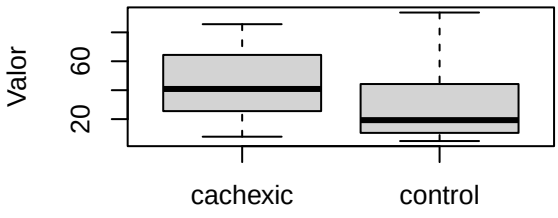
X1.6.Anhydro.beta.D.glucose



X1.Methylnicotinamide



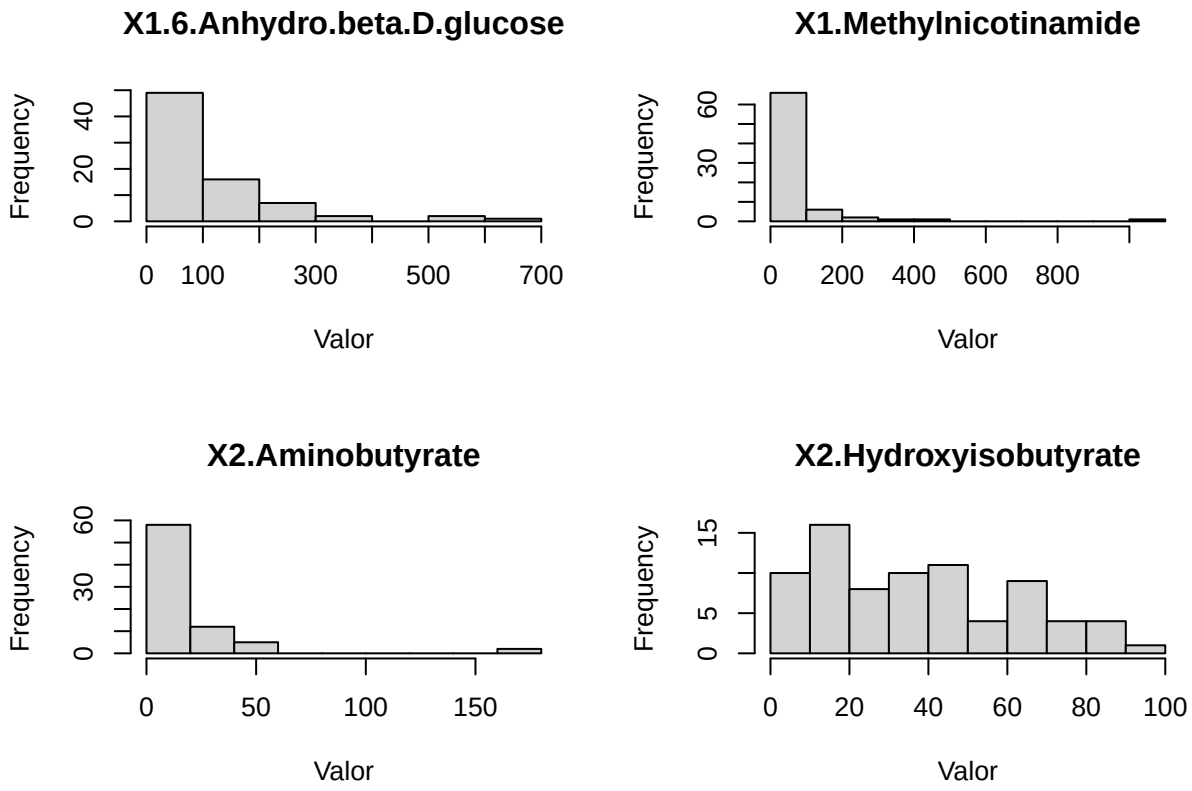
X2.Aminobutyrate



X2.Hydroxyisobutyrate

Y del mismo modo se podrían realizar histogramas con la distribución de frecuencias de los valores de los distintos metabolitos. Se muestran los primeros 4 metabolitos.

```
par(mfrow=c(2,2))
for (i in 1:4)
     hist(assay(SEca)[i,], xlab= "Valor", main=rownames(assay(SEca))[i])
```



Para crear el archivo con los metadatos en un archivo .md he creado un nuevo archivo desde File>New file>Markdown file y he copiado los metadatos y los he pegado en el archivo creando el archivo metadatos_PEC1.md

Para crear el archivo de los datos en formato texto:

```
write.table(dfca, file="human_cachexia.txt", row.names=FALSE, sep=",")
```

DISCUSIÓN Y LIMITACIONES. CONCLUSIONES DEL ESTUDIO

La creación del contendor en formato SummarizedExperiment me ha llevado un tiempo, dado que no lo había trabajado antes, pero una vez realizado el primero ya resulta más sencillo poder aplicarlo en futuras ocasiones.

La extracción básica de datos me ha permitido ver que existen muchos valores atípicos que deberían estudiarse de cara a plantear eliminar ciertos registros del estudio.

Según algunos de los boxplots sí que parece haber relación entre los valores de ciertos metabolitos en orina y la presencia de cachexia en los individuos, por lo que parece interesante su estudio en profundidad (mediante

análisis estadísticos) para valorar la utilidad de ciertos marcadores a la hora de determinar una cachexia incipiente en individuos que aún no presentan signos físicos de la misma.

ENLACE A REPOSITORIO GITHUB

https://github.com/zmunilla/Munilla-Garcia-Zaida-PEC1/tree/main