

## Detekce biomarkerů z omics experimentů

- Mgr. Eva Budinská, PhD
- RECETOX
- budinska@recetox.muni.cz



# Meta-analýza

# Co je to meta-analýza?

- Statistická analýza která kombinuje výsledky s několika vědeckých studií

# Supertabulka omicsových dat (studie-řádky, omicsové proměnné – sloupce)

|   |         | DNA |          |      | RNA  |       |      | Protein |            | Phenotype |                                   | Environment   |                 |
|---|---------|-----|----------|------|------|-------|------|---------|------------|-----------|-----------------------------------|---------------|-----------------|
|   |         | SNP | CNV, CGH | UHTS | mRNA | miRNA | SAGE | IHC     | proteomics | clinical  | Imaging, metabolomics, physiology | drug, therapy | pathogen, toxin |
| Study design 1<br>human breast cancer patients, retrospective, clinical outcome, drug | Study 1 |     |          |      | ■    |       |      |         |            | ■         |                                   |               |                 |
|   | Study 2 |     |          |      | ■    | ■     |      |         |            | ■         |                                   | ■             |                 |
|   | Study 3 |     |          |      | ■    |       |      |         |            | ■         |                                   | ■             |                 |
|   | Study 4 |     |          |      | ■    |       |      |         |            | ■         |                                   |               |                 |
|   | Study 5 |     |          |      | ■    |       |      |         |            |           |                                   |               |                 |
|   | Study 6 |     | ■        |      | ■    |       |      |         |            | ■         |                                   |               |                 |
|   | ...     |     |          |      | ■    |       |      |         |            | ■         |                                   |               |                 |
| Study design 2<br>experimental, time-series, tissue culture                           | Study a |     |          |      | ■    |       |      |         |            |           |                                   |               |                 |
|   | Study b |     |          |      | ■    |       |      |         |            |           |                                   |               |                 |
| Study design 3<br>cancer cell lines   | Study x | ■   | ■        | ■    | ■    | ■     | ■    | ■       | ■          |           | ■                                 | ■             |                 |
|   | Study y |     |          |      |      |       | ■    |         |            |           |                                   |               |                 |
|   | Study z |     |          |      |      |       | ■    |         |            |           |                                   |               |                 |
|   | ...     |     |          |      |      | ■     |      |         |            |           |                                   |               |                 |

- „Horizontální“ integrace – stejné vzorky, různé typy dat (proměnné)
- „Vertikální“ integrace – stejné proměnné, různé studie (vzorky)

# Motivace

- Nutnost publikovat data umožňuje jejich opětovnou analýzu
- Tato reanalýza dat umožňuje:
  - Kritickou recenzi původních výsledků
  - Potvrzení / validaci výsledků z jiných studií
  - **Robustnější objevy založené na větší velikosti vzorku**
  - **Nové objevy ve větších oblastech / kontextech**

# Jak na to?

## 1. krok: Správa datových souborů

- Připravte si přehled relevantních dostupných datových souborů
  - Prohledávejte literaturu, veřejné databáze a web
- Zajistěte jejich neprůsečnost
  - Reorganizujte soubory dat tak, aby neobsahovaly redundantní vzorky
- Nejednotné názvy a reprezentace proměnných
  - Přejmenujte a překódujte proměnné tak aby byly stejné napříč datovými soubory
- Zajistěte shodnou anotaci molekul
  - Přemapujte sondy (sady sond) napříč platformami, zarovnat k referenční sekvenci; redukovat na jednu sondu na gen (mikročipy)
  - Ujistěte se, že jste použili anotaci na stejný referenční genom
- Zkontrolujte kvalitu kvantitativních proměnných (např. genová exprese)
  - Zajistěte stejnou jednotku / transformaci; v případě potřeby přejmenujte a změňte měřítko

# Jak na to?

## 2. krok: Analýza

- Jak provést kombinovanou analýzu heterogenních datových souborů?
  - Rozdíly v dizajnech studií, populacích a kritériích pro výběr vzorků
  - Nesrovnatelné kvantitativní údaje; systematické chyby měření
- Jak vytvořit celkové výsledky na základě všech datových sad?
- Jak posoudit a začlenit heterogenitu?
- Jak vizualizovat a prezentovat výsledky analýzy?
- Jak analýzu přizpůsobit omics datům?
- Jak přistoupit ke komplexní analýze, jako je například hierarchické shlukování a predikce?

# Úvod do meta-analýzy: příkladová data

- US Berkeley – výsledky přijímacích zkoušek 1973\*

|             | Muž  | Žena | Celkem |
|-------------|------|------|--------|
| Přijat(a)   | 1198 | 557  | 1755   |
| Nepřijat(a) | 1493 | 1278 | 2771   |
| Celkem      | 2691 | 1835 | 4526   |

- Byli při přijímacím řízení favorizováni muži?

$$\text{Poměr šancí nepřijetí: } \frac{1278/557}{1493/1198} = 1.84, 95\% \text{ CI: } [1.62, 2.09 ]$$

$$\text{p-hodnota: } 2.2 \times 10^{-16}$$

\*Bickel, Hammel, O'Connell (1975) Sex bias in graduate admissions: data from berkeley. Science 187:398-403



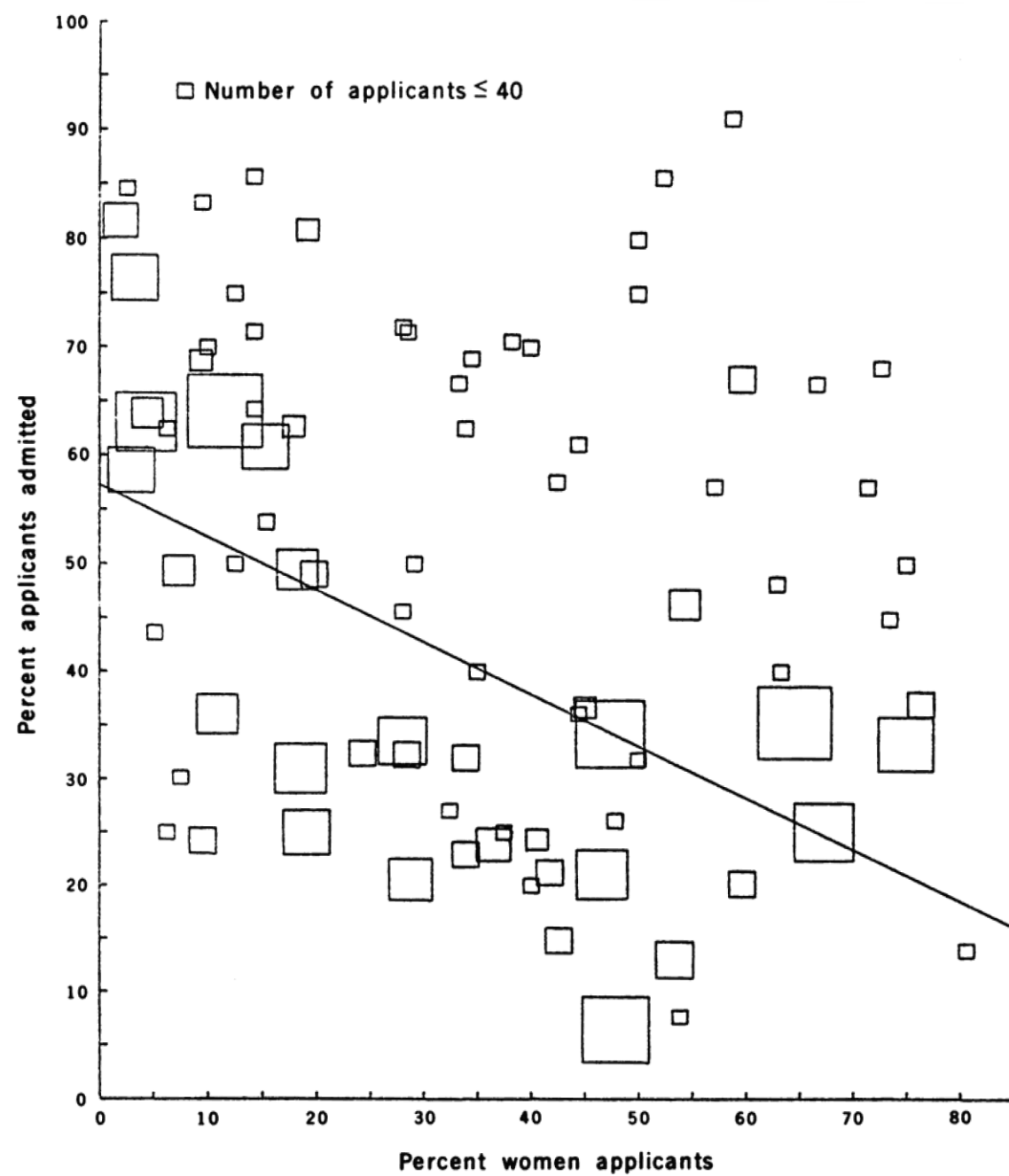
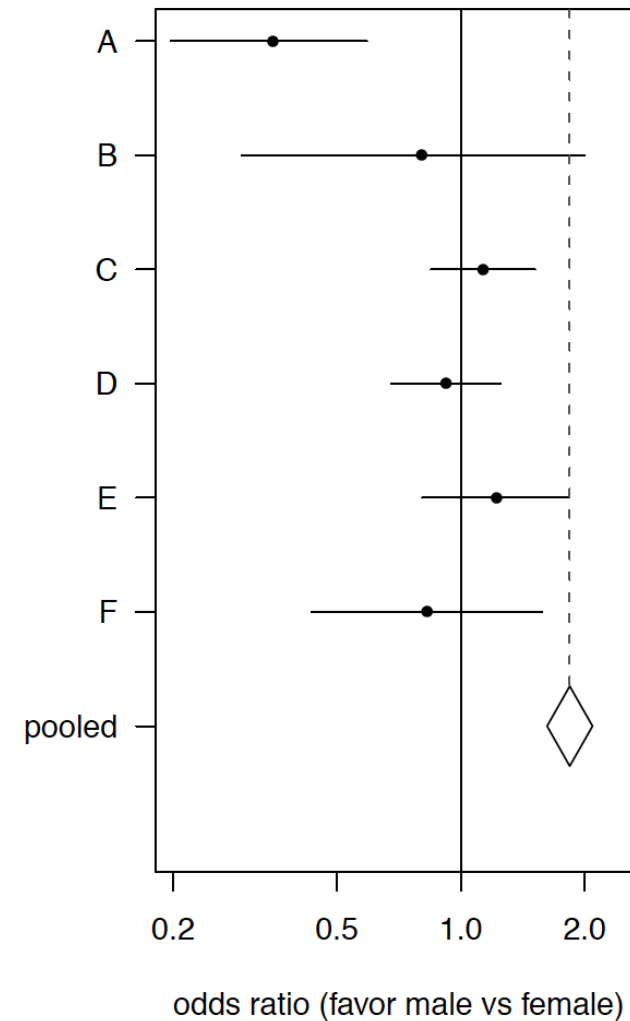


Fig. 1. Proportion of applicants that are women plotted against proportion of applicants admitted, in 85 departments. Size of box indicates relative number of applicants to the department.

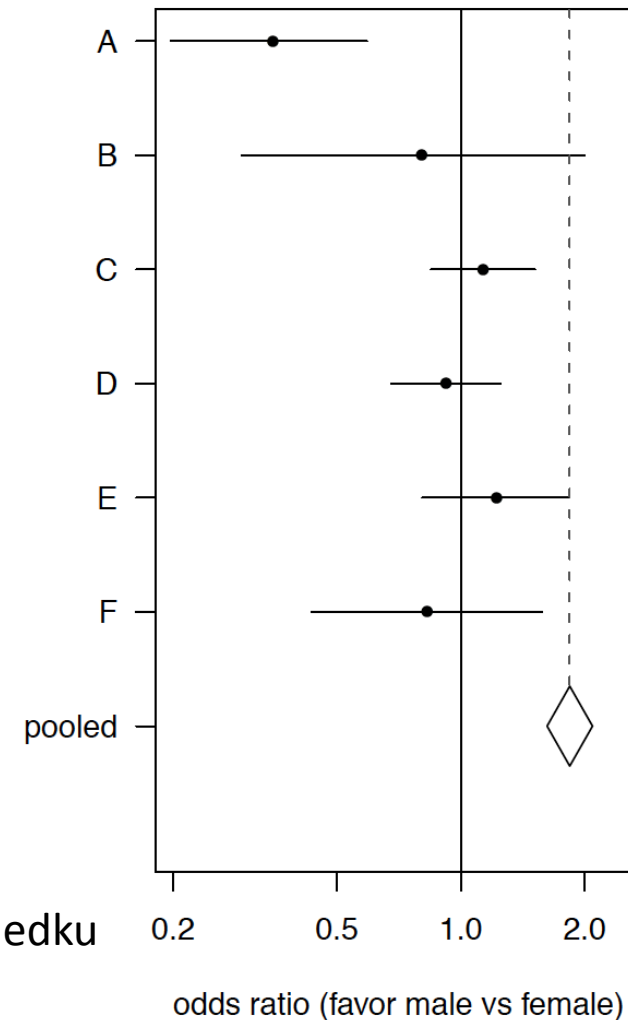
# Stratifikovaná analýza a tzv. forest plot

| Dept.  | data |      | odds ratio | 95% C.I.     | p-value    |
|--------|------|------|------------|--------------|------------|
| A      | 512  | 89   | 0.35       | [0.20, 0.59] | $10^{-5}$  |
|        | 313  | 19   |            |              |            |
| B      | 353  | 17   | 0.80       | [0.30, 0.20] | 0.68       |
|        | 207  | 8    |            |              |            |
| C      | 129  | 202  | 1.13       | [0.84, 1.52] | 0.39       |
|        | 205  | 391  |            |              |            |
| D      | 138  | 131  | 0.92       | [0.68, 1.25] | 0.60       |
|        | 279  | 244  |            |              |            |
| E      | 53   | 94   | 1.22       | [0.80, 1.83] | 0.36       |
|        | 138  | 299  |            |              |            |
| F      | 22   | 24   | 0.83       | [0.43, 1.58] | 0.55       |
|        | 351  | 317  |            |              |            |
| pooled | 1198 | 557  | 1.84       | [1.62, 2.09] | $10^{-16}$ |
|        | 1439 | 1278 |            |              |            |



# Stratifikovaná analýza a tzv. forest plot

| Dept.  | data |      | odds ratio | 95% C.I.     | p-value    |
|--------|------|------|------------|--------------|------------|
| A      | 512  | 89   | 0.35       | [0.20, 0.59] | $10^{-5}$  |
|        | 313  | 19   |            |              |            |
| B      | 353  | 17   | 0.80       | [0.30, 0.20] | 0.68       |
|        | 207  | 8    |            |              |            |
| C      | 129  | 202  | 1.13       | [0.84, 1.52] | 0.39       |
|        | 205  | 391  |            |              |            |
| D      | 138  | 131  | 0.92       | [0.68, 1.25] | 0.60       |
|        | 279  | 244  |            |              |            |
| E      | 53   | 94   | 1.22       | [0.80, 1.83] | 0.36       |
|        | 138  | 299  |            |              |            |
| F      | 22   | 24   | 0.83       | [0.43, 1.58] | 0.55       |
|        | 351  | 317  |            |              |            |
| pooled | 1198 | 557  | 1.84       | [1.62, 2.09] | $10^{-16}$ |
|        | 1439 | 1278 |            |              |            |



Simpsonův paradox: " celek je v rozporu s jeho částmi"  
 nebezpečí shromažďování údajů spočívá v zkreslení v důsledku  
 skrytých faktorů

# Zkreslení

*„Measuring bias is harder than is usually assumed, and the evidence is sometimes contrary to expectation.“*

Bickel, Hammel, O'Connell (1975) Sex bias in graduate admissions: data from berkeley. Science 187:398-403

# Meta-analýza

- Samostatná analýza každé studie (nebo její částí)
- Průměr počítáme s použitím inverze rozptylu jako váhy:

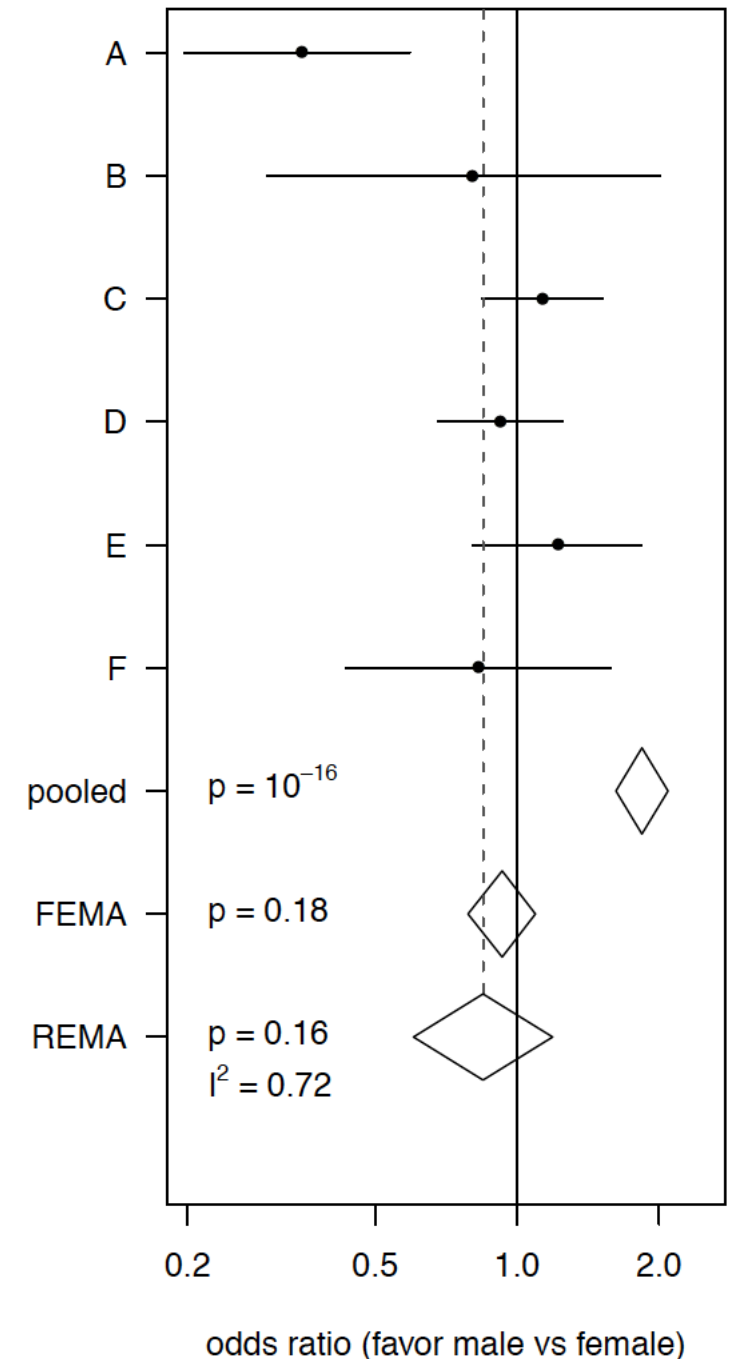
$$\hat{\beta}_0 = \frac{\sum_{i=1}^k \hat{\beta}_i / (\hat{\sigma}_i^2 + \hat{\tau}^2)}{\sum_{i=1}^k 1 / (\hat{\sigma}_i^2 + \hat{\tau}^2)}$$

$\beta_i, \beta_0$ : effect size (per study and total)

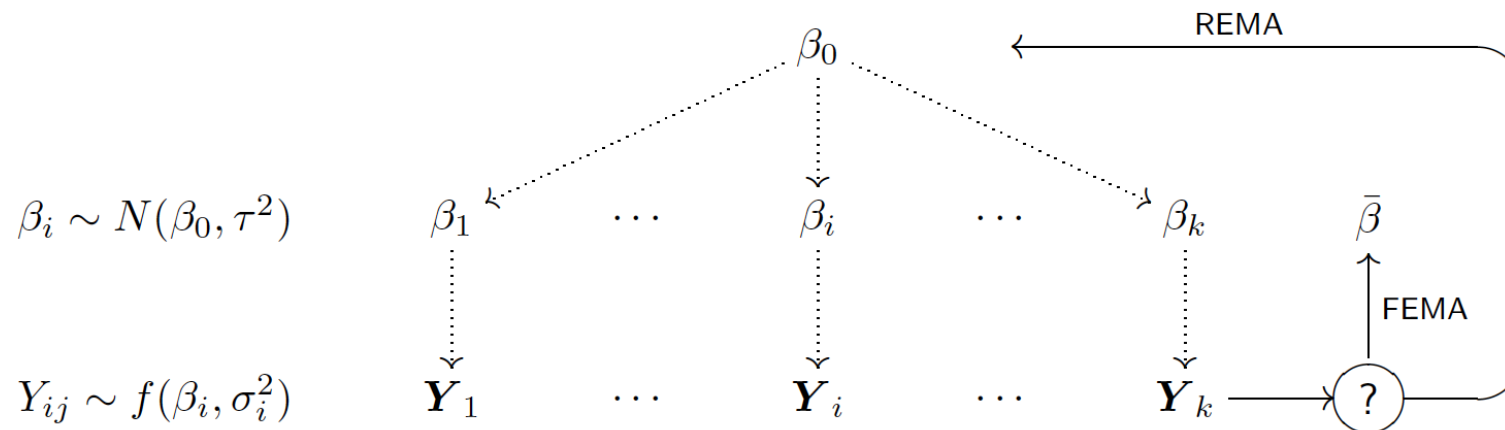
$\sigma_i^2$ : within-study variance of  $\beta_i$ , i.e.  $[\text{SE}(\beta_i)]^2$

$\hat{\tau}^2$ : between-study variance

- Je-li  $\tau^2$  nula (nemusí být realistické!) - jedná se o meta analýzu pevných efektů (FEMA)
- V opačném případě je  $\tau^2$  odhadnutá z dat, a jedná se o analýzu náhodných efektů (REMA)
- $I^2$ : podíl variability způsobený heterogenitou mezi studiemi

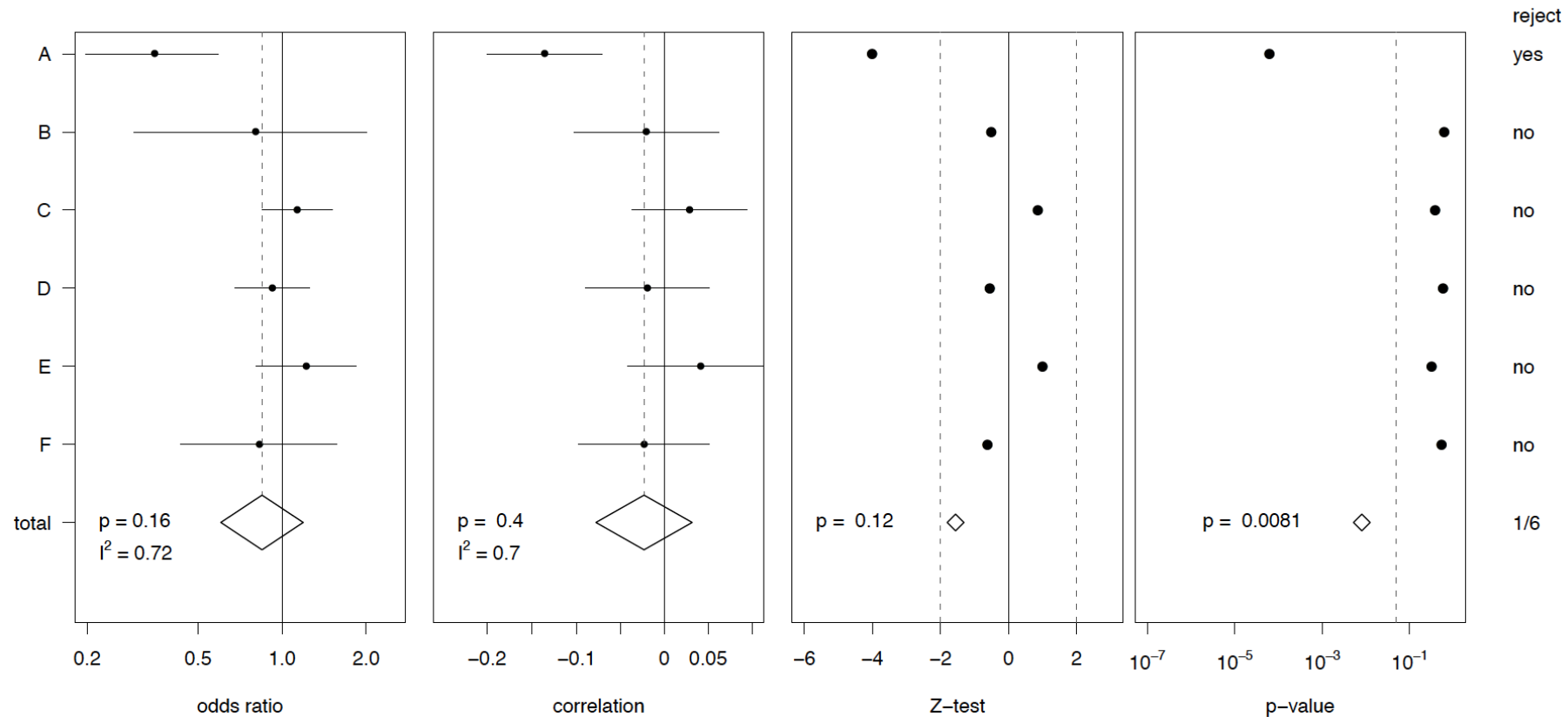


# Hierarchické modely vzorkování



- **Jedna studie:**
  - Inference o  $\beta_i$  ( $\beta_0$  + zkreslení studie: technické, designové, populace, ...)
- **Modely s pevným efektem:**
  - Inference o  $\bar{\beta} = \sum_i \beta_i / k$  (průměr konkrétních datových souborů k dispozici)
  - Interval spolehlivosti není ovlivňován variabilitou mezi studii ( $\tau^2$ )
- **Náhodné efekty / hierarchické modely:**
  - Inference o  $\beta_0$  (pravda; očekávání budoucích studií)
  - Interval spolehlivosti je úzký, je-li variabilita mezi studii  $\tau^2$  malá (a naopak)

# Které metriky porovnávat?



- Odds ratio (poměr šancí): regresní koeficient (jeho průměr při použití REMA)
- Korelace: míra závislosti nebo vzájemné informace (její průměr u REMA)
- Z-statistika: významnost (se znaménkem) => Stouerova metoda *akumulace*:  $\sum Z / \sqrt{k}$
- p-hodnoty: významnost (bez znaménka) => Fisherova metoda *akumulace*:  $-2 \sum \log p$
- Metoda součtu hlasů: počet zamítnutých hypotéz

# Jak kombinovat analýzy (data)

## 1. Kombinovat **nezpracovaná data**

(+) snadno použitelné (-) potenciální zkreslení, žádné posouzení heterogenity

## 2. Kombinovat **koeficienty** (změna násobku, riziko a poměry šancí, ...)

(+) fyzická interpretovatelnost (-) ovlivněná jednotkou měření

## 3. Kombinovat **korelaci** / závislost ( $R^2$ , $\tanh^{-1}(r)$ , ...).

(+) bez jednotky (-) ovlivněná vzorkováním / dizajnem

## 4. Kombinovat **významná měření** (t-test, Z-test, p-hodnota atd.)

(-) silný efekt + nízká síla = slabý efekt + vysoká síla

## 5. Kombinovat **rozhodnutí** (odmítnutí / přijetí hypotézy, seznamy genů)

(+) snadno použitelné (-) postrádá sílu



# Příklad – genová exprese

P. Wirapati, SIB

# Závěrem

- Více omicsových datových souborů lze společně analyzovat v rámci „standardních“ statistických metod (např. zobecněné lineární modely, metaanalýzy, hierarchické vzorkovací modely).
- Rozšíření na komplexní analýzu (např. predikce, shluková analýza) je možné začleněním REMA pro kombinování sumárních statistik ve vhodné fázi analýzy.