



UNIVERSITAT
POLITÈCNICA
DE VALÈNCIA



Escola Tècnica
Superior d'Enginyeria
Informàtica

Escuela Técnica Superior de Ingeniería Informática
Universidad Politécnica de Valencia

Diseño e implementación de herramientas de análisis de genoma basadas en la Teoría de la Tnformación

Trabajo fin de grado

Grado en Ingeniería Informática

Autor: Cristina Rodríguez Fernández

Tutor: Jose María Sempere Luna

Curso 2024-2025

Resumen

La retinosis pigmentaria (RP), una de las distrofias hereditarias de retina (DHR) más frecuente, es conocida por una degradación progresiva en los fotorreceptores que termina por causar pérdida visual irreversible. Aún con los recientes avances en la secuenciación del genoma humano, el origen de esta condición sigue siendo un desafío debido a la amplia diversidad genética involucrada y la cantidad de genes relacionados con las DHR.

Este Trabajo de Fin de Grado, continuación del Trabajo de Fin de Máster de Andrea Vañó Ribelles y el Trabajo de Fin de Grado de Luis Alberto Martínez Bravo, explora el uso de herramientas de Teoría de la Información y modelos de Fuentes de Markov para analizar el genoma humano, con el objetivo de predecir posibles mutaciones asociadas a la RP. Puesto que la RP es una enfermedad rara y el número de personas afectadas es muy pequeño, las técnicas de Machine Learning no resultan lo suficientemente efectivas debido a la falta de datos para desarrollar modelos robustos.

En vez de ello, este enfoque se centra en el análisis de regiones genómicas con elevada entropía y densidad de mutaciones, ya que estas áreas serían clave para detectar variantes con mayor probabilidad de estar vinculadas a la enfermedad.

Para ello, se han empleado los datos genómicos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) y archivos VCF proporcionados por el Grupo de Investigación del IIS La Fe de Biomedicina Molecular, Celular y Genómica. El propósito del estudio es profundizar en las características del genoma asociadas a la enfermedad y aportar nuevas maneras de optimizar el diagnóstico genético de la retinosis pigmentaria.

Palabras clave: retinosis pigmentaria, datos genómicos, Teoría de la información, cadenas de Markov, predicción de mutaciones, machine learning, entropía

Resum

La retinosi pigmentària (RP) és una de les distròfies hereditàries de retina (DHR) més comunes. Es caracteritza per una degeneració progressiva dels fotoreceptors que provoca una pèrdua de visió irreversible. Malgrat els avanços en la seqüenciació del genoma humà, l'origen d'aquesta malaltia continua sent incert a causa de la gran heterogeneïtat genètica de la patologia i la quantitat de gens associats a les DHR.

En aquest Treball de Fi de Grau, que amplia el Treball de Fi de Màster d'Andrea Vañó Ribelles i Luis, es proposa la utilització d'eines de la Teoria de la Informació i models de Fonts de Markov per a l'anàlisi del genoma humà amb l'objectiu de predir possibles mutacions associades a la RP. Com que la RP és una malaltia rara i el nombre de persones afectades és reduït, les tècniques de machine learning no resulten prou efectives a causa de l'escassetat de dades per a entrenar models robustos. En lloc d'això, aquest enfocament se centra en l'anàlisi de regions genòmiques amb alta entropia i elevada densitat de mutacions, ja que aquestes zones poden ser clau per a identificar variants amb una major probabilitat d'estar relacionades amb la patologia.

Per a dur a terme aquest estudi, s'utilitzaran dades genòmiques disponibles al National Center for Biotechnology Information (NCBI) i arxius VCF proporcionats pel Grup d'Investigació de l'IIS La Fe de Biomedicina Molecular, Cel·lular i Genòmica. L'objectiu d'aquest treball és aprofundir en el coneixement de les característiques del genoma associades a la malaltia i aportar noves estratègies que ajuden a optimitzar el diagnòstic genètic de la retinosi pigmentària.

Paraules clau: retinosis pigmentària, dades genòmiques, Teoria de la informació, cadenes de Markov, predicció de mutacions, machine learning, entropia

Abstract

Retinitis pigmentosa (RP) is one of the most common hereditary retinal dystrophies (HRD). It is characterized by the progressive degeneration of photoreceptors, leading to irreversible vision loss. Despite advances in human genome sequencing, the origin of this condition remains uncertain due to the high genetic heterogeneity of the disease and the large number of genes associated with HRD.

In this Bachelor's Thesis, which expands upon the Master's Thesis by Andrea Vañó Ribelles and Luis, the use of Information Theory tools and Markov Source models is proposed for the analysis of the human genome, with the aim of predicting possible mutations associated with RP. Since RP is a rare disease and the number of affected individuals is limited, machine learning techniques are not sufficiently effective due to the lack of data needed to train robust models. Instead, this approach focuses on the analysis of genomic regions with high entropy and a high density of mutations, as these areas may be key to identifying variants with a higher probability of being related to the pathology.

To achieve this, genomic data available from the National Center for Biotechnology Information (NCBI) and VCF files provided by the Research Group of the IIS La Fe in Molecular, Cellular and Genomic Biomedicine will be used. The purpose of this study is to deepen the understanding of the genomic features associated with the disease and to provide new strategies that help optimize the genetic diagnosis of retinitis pigmentosa.

Key words: retinitis pigmentosa, genomic data, Information Theory, Markov chains, mutation prediction, machine learning, entropy

Índice general

| | |
|-------------------|-----|
| Índice general | V |
| Índice de figuras | VII |
| Índice de tablas | VII |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 1 | Introducción | 1 |
| 1.1 | Contexto | 2 |
| 1.2 | Motivación | 4 |
| 1.2.1 | Motivación personal | 4 |
| 1.2.2 | Motivación profesional | 4 |
| 1.3 | Objetivos | 4 |
| 1.3.1 | Procesamiento de archivos VCF y secuencias genómicas | 5 |
| 1.3.2 | Aplicación de Teoría de la Información y Fuentes de Markov al análisis de secuencias genómicas | 5 |
| 1.3.3 | Desarrollo de una interfaz de usuario para la visualización de resultados | 5 |
| 1.3.4 | Contribución a las aplicaciones de la IA en el campo de la investigación genética | 6 |
| 1.4 | Estructura de la memoria | 6 |
| 2 | Estado del arte | 7 |
| 2.1 | Métodos tradicionales | 7 |
| 2.2 | Inteligencia Artificial | 7 |
| 2.2.1 | Aplicaciones de Machine Learning | 8 |
| 2.2.2 | Aplicaciones de Teoría de la Información y Fuentes de Markov | 8 |
| 2.3 | Otras terapias emergentes | 8 |
| 3 | Fundamentos teóricos | 11 |
| 3.1 | Conceptos básicos de genética y mutaciones | 11 |
| 3.2 | Conceptos básicos de ficheros genéticos | 13 |
| 3.2.1 | FASTA | 13 |
| 3.2.2 | VCF | 13 |
| 3.3 | Teoría de la Información | 14 |
| 3.3.1 | Canal de comunicación | 15 |
| 3.3.2 | Compresión de datos | 15 |
| 3.3.3 | Código | 15 |
| 3.3.4 | Entropía | 15 |
| 3.3.5 | Información | 16 |
| 3.3.6 | Modelos de Fuentes de Markov | 16 |
| 4 | Metodología | 19 |
| 4.1 | Material y herramientas | 19 |
| 4.1.1 | Entorno de Trabajo | 19 |
| 4.1.2 | Archivos necesarios | 19 |
| 4.1.3 | Librerías utilizadas | 20 |
| 4.2 | Hipótesis | 21 |

| | | |
|----------|--|-----------|
| 4.2.1 | Caso 1: Cálculo de entropía en ventanas deslizantes | 21 |
| 4.2.2 | Caso 2: Cálculo de densidad de mutaciones | 21 |
| 4.2.3 | Caso 3: Cálculo de entropía basada en probabilidades condicionales (Modelo de Markov) | 22 |
| 4.3 | Arquitectura del sistema | 23 |
| 4.3.1 | Carga de Datos | 23 |
| 4.3.2 | Análisis de Secuencia Genómica | 23 |
| 4.3.3 | Visualización y Exportación de Resultados | 24 |
| 5 | Desarrollo | 25 |
| 5.1 | Importación de librerías y configuración inicial | 25 |
| 5.2 | Lectura de las mutaciones presentes en el archivo VCF | 25 |
| 5.3 | Almacenamiento de las mutaciones en una estructura de datos adecuada . . | 26 |
| 5.4 | Extracción de la secuencia de referencia del cromosoma correspondiente . . | 26 |
| 5.5 | Aplicación de las mutaciones sobre la secuencia de referencia | 26 |
| 5.6 | Cálculo de la entropía mediante ventanas deslizantes | 27 |
| 5.7 | Representación gráfica de la entropía en ambas secuencias | 27 |
| 5.8 | Cálculo de la densidad de mutaciones | 28 |
| 5.9 | Representación gráfica de la densidad de mutaciones | 28 |
| 5.10 | Construcción del autómata para el cálculo de probabilidades de transición . | 28 |
| 5.11 | Representación y guardado del autómata | 29 |
| 5.12 | Cálculo de las probabilidades de transición y de la entropía condicional . . | 29 |
| 5.13 | Interfaz gráfica | 29 |
| 6 | Experimentos | 35 |
| 6.1 | Experimento base | 35 |
| 6.2 | Experimento base | 38 |
| 7 | Conclusiones | 39 |
| | Bibliografía | 41 |
| <hr/> | | |
| | Apéndices | |
| A | Objetivos de Desarrollo Sostenible | 45 |
| B | ??? ?????????????? ???? | 47 |

Índice de figuras

| | | |
|-----|--|----|
| 1.1 | Ejemplo de visión de un paciente con visión normal y un paciente con RP. . . | 1 |
| 1.2 | Esquema de las distintas partes del ojo. | 2 |
| 1.3 | Tipos de fotorreceptores. | 3 |
| 3.1 | Procesos genéticos de la síntesis de proteínas. | 11 |
| 3.2 | Ejemplo de cálculo de entropía condicional. | 16 |
| 3.3 | Ejemplo de cálculo de entropía a partir de una Fuente de Markov en cadenas de ADN. | 17 |
| 4.1 | Diagrama de flujo del sistema. | 24 |
| 5.1 | Menú desplegable de selección de cromosoma en la interfaz de usuario. . . . | 30 |
| 5.2 | Buscador de archivos en el sistema para proporcionar VCF en la interfaz de usuario. | 30 |
| 5.3 | Parámetros configurables para el análisis en la interfaz de usuario. | 31 |
| 5.4 | Imágenes de los gráficos resultantes del análisis en la interfaz de usuario. . . | 32 |
| 5.5 | Archivos para descargar con los autómatas resultantes del análisis en la interfaz de usuario. | 33 |
| 5.6 | Archivo comprimido para descargar con todos los archivos resultantes del análisis en la interfaz de usuario. | 33 |
| 6.1 | Gráficas obtenidas a partir del experimento 1. | 36 |
| 6.2 | Autómata de la secuencia original obtenido a partir del experimento 1. . . . | 37 |
| 6.3 | Autómata de la secuencia mutada obtenido a partir del experimento 1. . . . | 37 |
| 6.4 | Archivo con mutaciones no aplicadas obtenido a partir del experimento 1. . . | 38 |

Índice de tablas

| | | |
|-----|---|----|
| 3.1 | Ejemplo de archivo en formato FASTA | 13 |
| 3.2 | Ejemplo de cabecera de un archivo VCF | 14 |
| 3.3 | Ejemplo de la sección de datos en un archivo VCF | 14 |
| A.1 | Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS). | 45 |

CAPÍTULO 1

Introducción

La retinosis o retinitis pigmentaria (RP), una de las distrofias hereditarias de retina DHR más frecuente, es un grupo de enfermedades conocidas por una degradación progresiva en los fotorreceptores que termina por causar pérdida visual irreversible. Esta patología suele manifestarse en un principio con ceguera nocturna, seguida por una reducción del campo visual periférico y, en fases avanzadas, puede llegar a la pérdida de la visión central[4]. Aún con los recientes avances en la secuenciación del genoma humano, el origen de esta condición sigue siendo un desafío debido a la amplia diversidad genética involucrada y la cantidad de genes relacionados con las DHR.

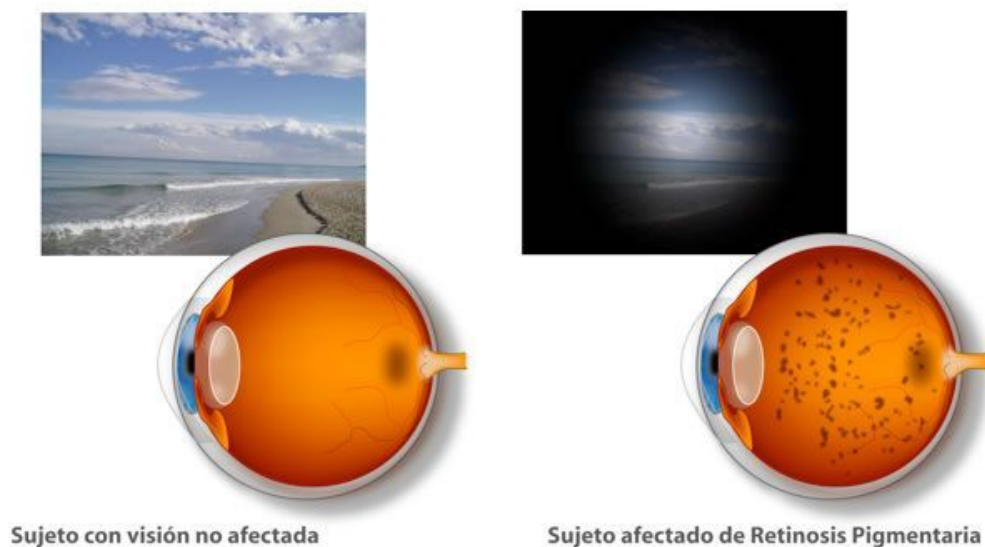


Figura 1.1: Ejemplo de visión de un paciente con visión normal y un paciente con RP.

Este Trabajo de Fin de Grado, continuación del Trabajo de Fin de Máster de Andrea Vañó Ribelles y el Trabajo de Fin de Grado de Luis Alberto Martínez Bravo, explora el uso de herramientas de Teoría de la Información y modelos de Fuentes de Markov para analizar el genoma humano, con el objetivo de predecir posibles mutaciones asociadas a la RP. Puesto que la RP es una enfermedad rara y el número de personas afectadas es muy pequeño, las técnicas de Machine Learning no resultan lo suficientemente efectivas debido a la falta de datos para desarrollar modelos robustos.

En vez de ello, este enfoque se centra en el análisis de regiones genómicas con elevada entropía y densidad de mutaciones, ya que estas áreas serían clave para detectar variantes con mayor probabilidad de estar vinculadas a la enfermedad.

Para ello, se han empleado los datos genómicos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) y archivos VCF proporcionados por el Grupo de Investigación del IIS La Fe de Biomedicina Molecular, Celular y Genómica. El propósito del estudio es profundizar en las características del genoma asociadas a la enfermedad y aportar nuevas maneras de optimizar el diagnóstico genético de la retinosis pigmentaria.

1.1 Contexto

Se conoce como “enfermedad rara” o “huérfana” a aquellas enfermedades que afectan a un bajo número de personas, es decir, que tienen una baja incidencia. En Europa el rango para considerar a una enfermedad como rara se sitúa en 5 personas afectadas por cada 10.000, mientras que en Estados Unidos se considera rara cuando afecta a menos de 200.000 personas[5].

Sin embargo, son muchas las personas que conviven con ellas, más de 300 millones en el mundo, 3 de ellos en España, ya que se estima que existen más de 7.000 enfermedades raras, de las cuales se han identificado 6.417 según datos recientes[6].

Estas patologías suelen ser crónicas, progresivas, tienen origen genético y, con frecuencia son de carácter invalidante. Además, pueden afectar tanto a las capacidades físicas de las personas como a las mentales, conductuales y sensoriales. Normalmente comienzan a manifestarse de forma temprana, se estima que hasta en dos tercios de los pacientes los síntomas comienzan antes de los 2 años, aunque pueden aparecer a lo largo de toda la vida.

La Retinosis Pigmentaria o Retinitis Pigmentaria (RP) es un conjunto de enfermedades hereditarias degenerativas que afectan a la retina, provocando una pérdida progresiva de la visión. La RP es una de las Distrofias Hereditarias de Retina (DHR) más comunes, pero existen otras como la enfermedad de Stargardt, la distrofia viteliforme de Best, y el síndrome de Usher. Como su nombre indica, esta enfermedad afecta directamente a la retina, es decir, la capa interna y posterior del ojo, sensible a la luz, donde se encuentra la mayor parte de los fotorreceptores. Estos fotorreceptores son células especializadas que convierten la luz en señales eléctricas, que luego se transmiten al cerebro a través del nervio óptico[7].

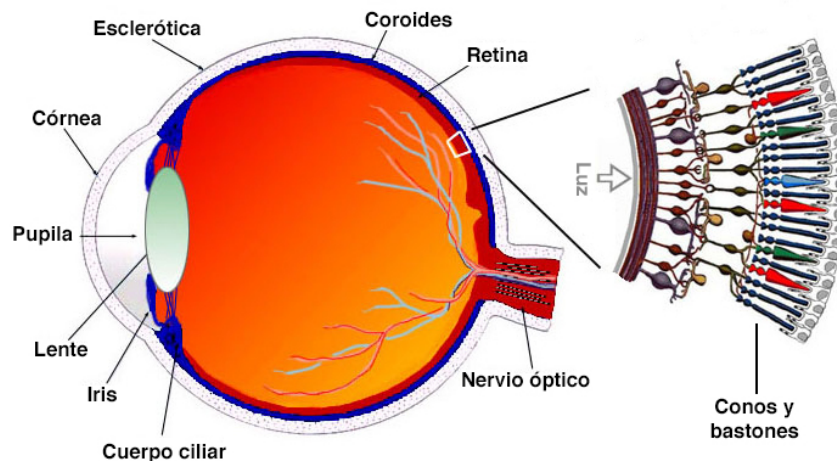


Figura 1.2: Esquema de las distintas partes del ojo.

Existen dos tipos principales de fotorreceptores:

- Bastones, que nos permiten ver en condiciones de poca luz y encargados de la visión nocturna y periférica.
- Conos, los cuales nos permiten distinguir colores y detalles cuando hay luz y responsables de la visión central.

Esquema de los fotorreceptores de la retina

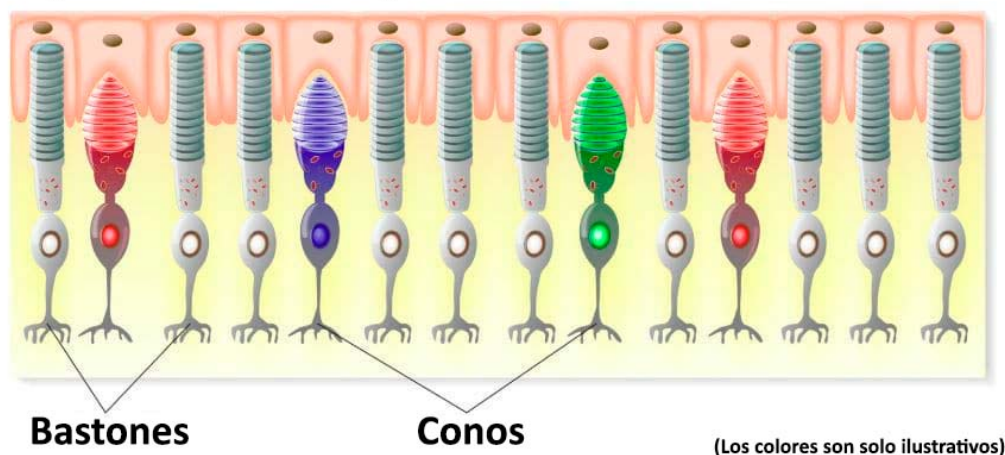


Figura 1.3: Tipos de fotorreceptores.

En las personas con RP, los bastones son los primeros en deteriorarse, lo que explica que uno de los primeros síntomas sea la ceguera nocturna o dificultad para ver en la oscuridad. A medida que estos bastones se van dañando, también se reduce el campo visual o visión periférica. Los pacientes comienzan a experimentar lo que se conoce como “visión en túnel”.

Con el tiempo, la enfermedad también comienza a afectar a los conos. Cuando esto ocurre, la visión central comienza a deteriorarse, haciendo difíciles tareas cotidianas como leer, reconocer rostros o distinguir colores. Finalmente, en las etapas más avanzadas, la persona puede quedar prácticamente ciega.

Este deterioro no ocurre de un día para otro, sino que se desarrolla progresivamente, y tanto su ritmo como los primeros síntomas pueden variar mucho de una persona a otra, aunque suelen empezar en la adolescencia o juventud y empeoran con los años.

Esta enfermedad suele ser bilateral, simétrica y puede tener un patrón de herencia autosómico dominante, recesivo o ligado al cromosoma X, con más de 70 genes identificados hasta la fecha que podrían estar relacionados[10]. El diagnóstico se basa en exámenes oftalmológicos como la oftalmoscopia, angiofluoresceinografía, campimetría, pruebas de agudeza visual, adaptación a la oscuridad y electrórretinograma, además de estudios genéticos[8].

Desde el punto de vista social, las personas con RP deben enfrentar barreras significativas en su vida diaria, ya que muchas veces limita la movilidad, la autonomía en tareas domésticas y la participación en actividades sociales. La investigación revela que estas personas sufren exclusión social agravada por el ocularcentrismo, es decir, la estructura social en torno a la visión como sentido principal. Además, la falta de adaptaciones tecnológicas, el desconocimiento social y la carencia de servicios accesibles intensifican las dificultades emocionales, como el nerviosismo, la dependencia y la frustración[9].

1.2 Motivación

1.2.1. Motivación personal

Desde que comencé mi formación en Ingeniería Informática, siempre he tenido la convicción de que esta no debe limitarse a aspectos técnicos, algoritmos o eficiencia computacional, sino que debe orientarse también hacia herramientas que tengan un impacto positivo en la vida de las personas. Por eso, me interesan especialmente las aplicaciones de la Inteligencia Artificial para mejorar la sociedad, hacer el mundo más justo e inclusivo y resolver problemas reales.

Siguiendo estos objetivos, y gracias al proyecto conjunto del Instituto VRAIN con el Grupo de Investigación del IIS La Fe de Biomedicina Molecular, Celular y Genómica, he tenido la oportunidad de formarme en diversas áreas y aplicar mis conocimientos técnicos a una dimensión ética y social. Por esta razón, considero que mejorar la calidad de vida de pacientes mediante herramientas que ayuden a investigadores y personal sanitario en el diagnóstico es una de las principales motivaciones que me impulsa en la realización de este proyecto.

1.2.2. Motivación profesional

Las distrofias hereditarias de retina (DHR) constituyen un conjunto de enfermedades genéticas que afectan a la estructura y función de la retina, llevando progresivamente a la pérdida de visión, en muchos casos hasta alcanzar la ceguera legal. A pesar de ser consideradas enfermedades raras, su impacto es profundo y duradero, no solo desde el punto de vista funcional, sino también psicológico, afectando significativamente la calidad de vida de quienes las padecen[11].

Actualmente, no existe ningún tratamiento curativo, aunque se están explorando alternativas terapéuticas como las que se describen en la sección 2 de esta memoria, pero aún se encuentran en fase experimental. En este contexto, el diagnóstico genético tiene un papel fundamental en la orientación médica y la inclusión del paciente en ensayos clínicos[12].

Uno de los principales desafíos en el estudio genético de las distrofias hereditarias de retina (DHR) radica en la gestión y análisis de la enorme cantidad de variantes obtenidas a partir de técnicas como la secuenciación del exoma completo (WES). Aunque se aplican filtros por frecuencia poblacional o predictores del impacto funcional, el volumen de información sigue siendo elevado, lo que dificulta alcanzar un diagnóstico genético preciso[13].

En este trabajo se propone un enfoque complementario, basado en el uso de modelos computacionales que aplican principios de la teoría de la información y fuentes de Markov para analizar la secuencia genómica antes y después de la introducción de mutaciones. A través de métricas como la entropía y la densidad mutacional, se busca detectar alteraciones estructurales o funcionales que puedan asociarse con variantes patológicas. Esta estrategia no solo contribuye al desarrollo de nuevas herramientas de apoyo al diagnóstico, sino que también tiene una dimensión humana relevante: mejorar el acceso a un diagnóstico certero, lo que representa un paso fundamental para que los pacientes y sus familias encuentren respuestas, orientación clínica y esperanza de acceso a futuras terapias.

1.3 Objetivos

El objetivo principal de este Trabajo de Fin de Grado es proporcionar herramientas informáticas para el análisis genómico, en concreto aplicado a enfermedades raras como la

Retinosis Pigmentaria (RP). Para ello contamos con archivos que contienen información sobre mutaciones y secuencias completas del genoma, y se implementan modelos basados en Teoría de la Información y Fuentes de Markov, con el fin de identificar regiones genómicas relevantes y predecir mutaciones potencialmente patogénicas.

1.3.1. Procesamiento de archivos VCF y secuencias genómicas

Hacer uso de herramientas y librerías de uso biomédico que permitan la lectura, escritura y análisis de archivos genéticos, y de esta manera, realizar un preproceso y de la información genética y aplicar mutaciones sobre la secuencia de referencia de forma precisa y eficiente.

Preguntas de Investigación:

- ¿Qué formato presentan los archivos VCF y cómo se puede garantizar la compatibilidad con los archivos FASTA con la secuencia genómica?
- ¿Cómo se pueden integrar las transformaciones necesarias en la secuencia de referencia de manera correcta y sin conflictos entre ellas?

1.3.2. Aplicación de Teoría de la Información y Fuentes de Markov al análisis de secuencias genómicas

Utilizar modelos de Teoría de la Información y Fuentes de Markov para predecir el impacto de las mutaciones en la secuencia genómica y así detectar zonas con valores anómalos de entropía, o alta densidad de mutaciones, para su posterior estudio.

Preguntas de Investigación:

- ¿Qué diferencias se observan en los valores de entropía, tanto la simple como la realizada a partir de aplicar Fuentes de Markov, entre la secuencia original y la mutada?
- ¿Hay alguna correlación entre las zonas con alta densidad de mutaciones y los valores de entropía?
- ¿Cómo es la estructura que presenta el autómata de transición generado a partir de Fuentes de Markov de orden k ?
- ¿Cuáles son los valores óptimos de los parámetros para obtener resultados interesantes?

1.3.3. Desarrollo de una interfaz de usuario para la visualización de resultados

Crear una aplicación para facilitar el uso del programa, sin necesidad de tener conocimientos avanzados en informática. Esto es especialmente importante en este contexto, ya que se trata de una herramienta enfocada a un usuario que no es experto en informática. Además, esta interfaz debe permitir la interacción del usuario con la aplicación, modificando distintos parámetros para obtener diferentes resultados en función de lo que se busque, y visualizar gráficamente y de manera unificada los resultados de este análisis.

Preguntas de Investigación:

- ¿Qué diseño debe tener la interfaz para que no sea demasiado compleja, pero permita interactuar ampliamente al usuario?
- ¿Cómo presentar los resultados de manera ordenada, clara y concisa, para hacer accesible la información más complicada?

1.3.4. Contribución a las aplicaciones de la IA en el campo de la investigación genética

Proponer un nuevo enfoque de análisis genómico basado en la Teoría de la Información, el cual no se había estudiado aún, y ofrecer una herramienta efectiva para el estudio de otras enfermedades raras con componente genético.

Preguntas de Investigación:

- ¿Debe poder generalizarse el proyecto para otras patologías?
- ¿Qué técnicas se podrían utilizar sobre los resultados obtenidos, como machine learning, para clasificar o encontrar patrones de mutaciones?

1.4 Estructura de la memoria

La memoria de este TFG está estructurada en 7 secciones, cada una de estas a su vez divididas en subsecciones.

La primera sección se introduce el proyecto, se exponen el contexto y la motivación, y se justifican los objetivos. En la sección 2, se realiza una investigación del conocimiento y tecnologías existentes en la actualidad sobre el tema que se aborda en el proyecto, así como las limitaciones que aún existen, lo que justifica la necesidad de este proyecto. En la sección 3, se realiza una exposición de los conceptos clave necesarios para entender este trabajo, genética y mutaciones, los archivos genómicos utilizados y los principios de la Teoría de la Información. Después, en la sección 4, se describe la metodología seguida y el flujo de información y herramientas usadas a lo largo del proyecto. En la sección 5, se explica detalladamente el funcionamiento del programa. En la sección 6 se exponen y analizan los resultados obtenidos mediante la realización de pruebas cambiando los diferentes parámetros. Por último, en la sección 7, se finaliza el trabajo, explicando las conclusiones obtenidas, seguida por un listado de las referencias bibliográficas utilizadas.

CAPÍTULO 2

Estado del arte

El campo del análisis genómico de la retinosis pigmentaria (RP) está avanzando rápidamente, con desarrollos en la identificación genética, herramientas de predicción y terapias emergentes. Sin embargo, en un contexto de disponibilidad limitada de especialistas en retina, pruebas y asesoramiento genético, sigue existiendo una gran necesidad de métodos diagnósticos precisos y accesibles. Esta situación ha motivado la búsqueda de nuevas técnicas para mejorar la detección de esta enfermedad.

2.1 Métodos tradicionales

Los métodos tradicionales basados en sistemas de codificación médica como el ICD (International Classification of Diseases) y el SNOMED (Systematized Nomenclature of Medicine) han sido ampliamente utilizados en la medicina para clasificar enfermedades y registrar diagnósticos. Sin embargo, en el caso de enfermedades genéticas raras como la retinosis pigmentaria (RP), estos sistemas de codificación presentan importantes limitaciones[15]. Esto es debido a que es una patología altamente heterogénea a nivel genético y clínico: existen numerosas mutaciones responsables y los síntomas pueden evolucionar de formas muy diversas entre pacientes[16].

Debido a esta complejidad, se ha recurrido a técnicas más específicas como los paneles genéticos dirigidos o la secuenciación de exoma completo (WES). Estos enfoques son capaces de examinar una gran cantidad de mutaciones de cada paciente. No obstante, muchos pacientes quedan sin un diagnóstico definitivo debido a la dificultad para interpretar el gran volumen de información relativa a las variantes encontradas tras la secuenciación.

2.2 Inteligencia Artificial

En la actualidad se están utilizando métodos basados en inteligencia artificial (IA) para la detección, diagnóstico y pronóstico de numerosas enfermedades en distintas áreas de la medicina, desde oncología hasta neurología o cardiología. Esto es debido a la capacidad de la IA para trabajar con grandes volúmenes de datos e identificar en estos patrones complejos para generar predicciones con una alta precisión[17]. No obstante, su desarrollo para las distrofias hereditarias de retina (DHR), específicamente la retinosis pigmentaria (RP) todavía está en una fase temprana.

2.2.1. Aplicaciones de Machine Learning

El aprendizaje profundo (deep learning) es una subcategoría de la inteligencia artificial que ha ganado mucha atención en los últimos años, especialmente porque el aprendizaje profundo es muy eficaz en el reconocimiento de patrones y el análisis de imágenes[18].

Inspirado en el cerebro humano, el aprendizaje profundo (Deep Learning) ha sido desarrollado utilizando redes neuronales para aprender a partir de datos, extrayendo y comprendiendo automáticamente características complejas. Un ejemplo común del uso del aprendizaje profundo en imágenes médicas son las redes neuronales convolucionales (CNN, por sus siglas en inglés). Las CNN participan en diversas tareas relacionadas con imágenes, como la detección, el reconocimiento y la segmentación de imágenes, mediante el uso de información espacial, la detección de características locales y la reducción de la complejidad del modelo a través del muestreo, el uso compartido de pesos y los campos receptivos locales[14].

En un estudio reciente, se utilizaron tres modelos preentrenados; Inception-v3, ResNet-50 y VGG-19, para clasificar imágenes retinianas asociadas a diferentes genes relacionados con la retinosis pigmentaria. Tras un preprocesamiento exhaustivo que incluyó técnicas de class balancing y boosting para corregir la variabilidad genética, los modelos obtuvieron precisiones superiores al 80 % en los datos de training[17]. Sin embargo, al aplicar estos modelos a datos de testing, las tasas de precisión cayeron a un 54 %, 56 % y 54 % respectivamente, resultados claramente insuficientes para garantizar un diagnóstico clínico fiable debido a la elevada tasa de error.

Los estudios de IA disponibles, como el mencionado anteriormente, que buscan la detección, clasificación y predicción de DHR, siguen siendo en su mayoría retrospectivos e incluyen un número relativamente limitado de pacientes debido a su escasez[19]. Esto pone de manifiesto la necesidad de continuar optimizando las metodologías empleadas para alcanzar niveles de exactitud que resulten aceptables en el ámbito médico.

2.2.2. Aplicaciones de Teoría de la Información y Fuentes de Markov

Aunque actualmente no existen estudios específicos que utilicen directamente Teoría de la Información y Fuentes de Markov al análisis genómico de la RP, estos enfoques se han consolidado como potenciales herramientas.

Sabemos que la Teoría de la Información es útil para medir la cantidad de información, la incertidumbre y el contenido informativo en sistemas complejos, como es el caso del genoma humano. En genómica, conceptos como la entropía permiten detectar mutaciones en el genoma humano, ya que son capaces de identificar cambios en la información genética, comparar con referencias conocidas o analizar patrones[20].

Por su parte, los modelos de Fuentes de Markov (de orden k) permiten capturar patrones de dependencia entre nucleótidos y por lo tanto identificar regiones del genoma con propiedades estadísticas anómalas[21], indicativas de posibles mutaciones patológicas.

2.3 Otras terapias emergentes

Además de los enfoques basados en el análisis genético, en los últimos años también se está abordando el problema desde la estrategia de la terapia genética, un tipo de terapia curativa que busca tratar la causa subyacente de una enfermedad genética corrigiendo o reemplazando directamente el gen defectuoso. Esta va dirigida al gen RPGR que es uno de los genes del cromosoma X que comúnmente está asociado a la RP (se tiene constancia

de que es el causante de entre el 70 % y el 90 % de los casos ligados al cromosoma X)[22]. Estas terapias consisten en la inyección subretinal de un virus modificado que transporta copias funcionales del gen RPGR, con el objetivo de restaurar la función perdida en las células de la retina afectadas[23]. Este tipo de tratamiento que se encuentra aún en fase de ensayo clínico, representa una posible cura genética para determinados subtipos de la RP, especialmente en pacientes jóvenes donde el daño celular aún no es irreversible.

Sin embargo, para que estas terapias sean verdaderamente efectivas, es esencial identificar de manera precisa las mutaciones responsables. Mediante el uso de herramientas basadas en Teoría de la Información es posible identificar de forma eficiente estas variantes, y así seleccionar a los candidatos adecuados para las terapias génicas y optimizar los ensayos clínicos.

CAPÍTULO 3

Fundamentos teóricos

3.1 Conceptos básicos de genética y mutaciones

En el núcleo de cada célula humana se encuentra el ADN, que contiene toda la información genética necesaria para el funcionamiento y desarrollo del organismo. El ADN está formado por una cadena de nucleótidos, que son las unidades básicas del material genético. Cada nucleótido se compone de tres partes: un grupo fosfato, un azúcar (desoxirribosa en el caso del ADN) y una base nitrogenada.

Las bases nitrogenadas son moléculas orgánicas que contienen nitrógeno y que se agrupan en dos tipos principales: purinas y pirimidinas. En el ADN existen cuatro bases nitrogenadas: adenina (A) y guanina (G), que son purinas; y citosina (C) y timina (T), que son pirimidinas. Estas bases se emparejan de forma complementaria (A con T y C con G), lo que permite la formación de la estructura de doble hélice característica del ADN[31].

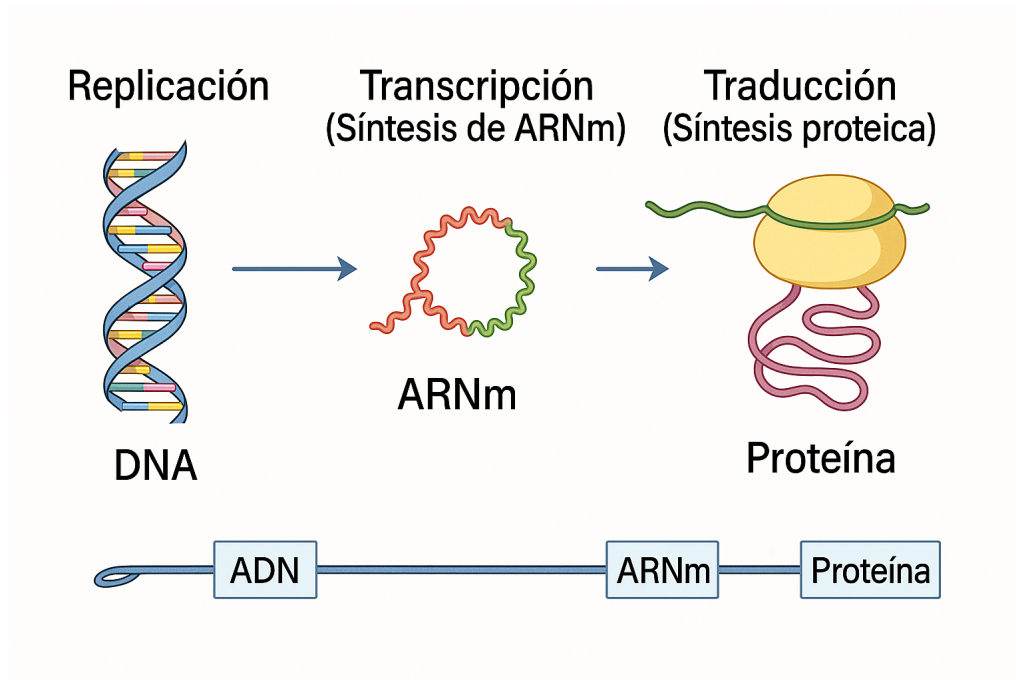


Figura 3.1: Procesos genéticos de la síntesis de proteínas.

Sin embargo, el ADN no actúa directamente para realizar funciones celulares. En su lugar, esa información debe ser primero transcrita en moléculas de ARN (en este la timina se sustituye por uracilo, otra pirimidina), las cuales desempeñan roles clave en la expresión

génica. Este proceso, conocido como transcripción, da lugar a diferentes tipos de ARN, que luego participan en distintos mecanismos celulares.

Existen dos tipos principales de transcritos que resultan de este proceso: el ARN mensajero (ARNm), que lleva la información del ADN a los ribosomas para la síntesis de proteínas, y el ARN no codificante (ARNnc), que, aunque no se traduce en proteínas, cumple funciones esenciales como la regulación génica, la modificación del ARN, la estructura de los ribosomas y otras tareas fundamentales para el control celular[2, p. 254-300].

El ARN mensajero (ARNm) actúa como intermediario entre el ADN y las proteínas de la siguiente manera: mediante el proceso de traducción, los ribosomas convierten cada molécula de ARNm en una proteína, es decir, en una secuencia de aminoácidos. Cada proteína adopta una estructura tridimensional compleja y funciones específicas. Gracias a la interacción entre el ADN, ARN y proteínas, el genoma es capaz de regular qué células deben crecer, morir y cómo se estructuran, entre otras funciones[32].

Por esta razón, cada individuo presenta un genoma ligeramente distinto al resto. Estas diferencias son conocidas como variaciones o mutaciones genómicas, y pueden suponer variaciones de un único nucleótido o múltiples nucleótidos. Estos cambios influyen en el fenotipo del individuo y también pueden ser responsables de ciertas enfermedades.

- SNV: sustitución de una sola base del ADN por otra. Es el tipo más común de variación genética en el genoma humano.
 - Sinónima: La sustitución no cambia el aminoácido codificado por el codón, debido a la degeneración del código genético. No suele tener efecto funcional, aunque puede afectar la eficiencia de traducción o el splicing.
 - No sinónima: Cambia el aminoácido codificado. Esta a su vez se subdivide en Missense (se sustituye un aminoácido por otro, por lo que puede alterar la función o estructura de la proteína) y Nonsense (introduce un codón de parada prematuro, truncando la proteína, y esta normalmente acaba inactiva o no funcional).
- Indels (Inserciones y deleciones): Variaciones que implican la inserción o eliminación de un pequeño número de nucleótidos. Son el segundo tipo más común de variación.
 - In-frame indel: El número de nucleótidos es múltiplo de 3. Esto afecta uno o más codones completos, pero no altera el marco de lectura. Puede tener o no efecto funcional.
 - Frameshift indel: El número de nucleótidos no es múltiplo de 3, por lo que altera el marco de lectura de todo el gen a partir del punto del indel, generando proteínas aberrantes y normalmente no funcionales.
- Copy Number Variation (CNV): Amplificaciones o deleciones de segmentos largos del ADN. Pueden incluir genes completos o regiones reguladoras. Pueden estar relacionadas con la variabilidad fenotípica, trastornos del desarrollo y enfermedades neuropsiquiátricas[24].
- Structural Variation (SV): Alteraciones grandes en la estructura del genoma que incluyen inversiones, translocaciones, inserciones o deleciones mayores.
 - Inversiones: Un segmento se invierte dentro del mismo cromosoma.
 - Translocaciones: Fragmentos de ADN se trasladan a otras posiciones o cromosomas.
 - Grandes deleciones/duplicaciones: afectan múltiples genes/regiones.

3.2 Conceptos básicos de ficheros genéticos

Las tecnologías de secuenciación de nueva generación (NGS) son muy utilizadas hoy en día en investigación genómica y biomédica. Para facilitar el análisis y transferencia de datos, se han definido diferentes formatos de archivos estándar.

Cuando se secuencia una muestra biológica mediante un sistema de NGS, se generan pequeños fragmentos de ADN o ARN que representan secuencias del genoma, conocidos como lecturas. Estas lecturas se almacenan en archivos de lectura cruda (raw read files). Los formatos más comunes son: fasta, fastq y fasta.gz.

Después, esas lecturas deben ser alineadas con el genoma de referencia (como el genoma humano), y el resultado de este alineamiento se guarda en archivos SAM (Sequence Alignment Map) o BAM (Binary Alignment Map).

Por último, a partir de los archivos de alineamiento anteriores, se pueden realizar análisis posteriores para entender la muestra:

- Si el objetivo es identificar mutaciones (como los SNV), esta información se guarda en un archivo con formato VCF (Variant Call Format) o BCF (Binary Call Format).
- Si se desea medir la densidad de lecturas en diferentes zonas del genoma, se obtienen archivos con formato Wiggle, BedGraph, BigWig o cWig.
- Si se busca definir regiones que estén cubiertas por lecturas (por ejemplo, para identificar exones), los resultados se almacenan en formato bed o bigBed.

En este proyecto, nos enfocaremos principalmente en dos de estos formatos:

3.2.1. FASTA

El formato FASTA es un formato de texto estándar para representar secuencias biológicas como ADN, ARN y proteínas mediante letras. Permite incluir nombres y comentarios de las secuencias. Es simple y permite la manipulación de secuencias usando herramientas de procesamiento de texto[25]. Un archivo FASTA consta de una o varias secuencias estructuradas de la siguiente manera: una línea de encabezado que debe comenzar con el carácter ‘>’ seguido de un identificador único de secuencia (SeqID), y la secuencia de nucleótidos que puede estar compuesta por una o varias líneas [26].

Tabla 3.1: Ejemplo de archivo en formato FASTA

| |
|------------------------------------|
| >chr1_example_sequence |
| AGCTGATCGATCGATCGTACGTAGCTAGCTGACT |
| GCTAGCTAGCATCGATCGTAGCTAGCTAGCTGAC |
| TAGCTAGCTAGCATCGATCGATCGATCGATCGTA |

Gracias a su estructura sencilla y la compatibilidad con la mayoría de las herramientas bioinformáticas, se ha convertido en un formato estándar por su eficiencia para manipular secuencias biológicas[31]

3.2.2. VCF

VCF es un formato de archivo de texto utilizado en bioinformática específicamente diseñado para almacenar información sobre variantes genómicas, detectadas mediante

procesos de secuenciación del ADN. Se trata de un estándar utilizado en múltiples proyectos genómicos a gran escala, como es el 1000 Genome Project[27]. Esto es debido a que se trata de un archivo muy estructurado y con capacidad de representar de manera clara y eficaz las variaciones observadas en una o varias muestras, y su fácil escalabilidad[29].

Dado que los archivos VCF están diseñados para albergar una gran cantidad de información, existe un formato binario alternativo llamado BCF (Binary Call Format) para facilitar su almacenamiento, transferencia y análisis computacional, ya que es una versión comprimida del anterior.

Un archivo VCF consta de una cabecera y una sección de datos:

- La cabecera incluye un número arbitrario de líneas de metainformación, las cuales van precedidas de **##**. Estas definen el contenido, las convenciones utilizadas, los tipos de anotaciones y los nombres de las columnas de la sección de datos[30].

Tabla 3.2: Ejemplo de cabecera de un archivo VCF

```
##fileformat=VCFv4.2
##FILTER=<ID=PASS,Description=.^ll filters passed>
##INFO=<ID=AF,Number=A,Type=Float,Description=.^llele Frequency>
##FORMAT=<ID=GT,Number=1,Type=String,Description="Genotype">
#CHROM POS ID REF ALT QUAL FILTER INFO FORMAT SAMPLE1 SAMPLE2
```

- En la sección de datos, cada fila corresponde a una variante identificada, de la cual se incluye la siguiente información estructurada en diferentes columnas: CHROM y POS describen el cromosoma y la posición de inicio en el genoma donde se encuentra la variante, ID es el identificador único de la variante, REF guarda cual debe ser el alelo de referencia según la base genómica establecida, ALT es la lista de alelos alternativos observados (separados por punto y coma si hubiera más de uno), QUAL es la puntuación de calidad de la variante (la confianza en esta), FILTER define el resultado del proceso de filtrado (si la variante pasa los controles de calidad), y por último INFO contiene anotaciones adicionales sobre la variante[29]. Además, cuando el archivo VCF incluye información de varias muestras, se agregan diferentes siguientes campos entre los que destaca FORMAT, lista la cual define qué tipo de información se añade para cada muestra.

Tabla 3.3: Ejemplo de la sección de datos en un archivo VCF

| CHROM | POS | ID | REF | ALT | QUAL | FILTER | INFO | FORMAT | SAMPLE1 | SAMPLE2 |
|-------|--------|-------|-----|-----|------|--------|---------------|--------|---------|---------|
| 3 | 879317 | rs112 | G | A | 99.0 | PASS | AF=0.5;DP=100 | GT:DP | 0/1:48 | 1/1:52 |
| 3 | 879445 | . | T | CTT | 72.5 | PASS | AF=0.25;DP=80 | GT:DP | 0/0:42 | 0/1:38 |
| 3 | 879587 | rs119 | C | T | 85.2 | PASS | AF=0.33;DP=90 | GT:DP | 1/1:45 | 0/1:45 |

3.3 Teoría de la Información

La teoría de la información es una disciplina que estudia la cuantificación, almacenamiento y comunicación de datos, especialmente enfocada en la transmisión de información a través de canales. Fue desarrollada por Claude Shannon y Warren Weaver en los años 40. Sin embargo, su aplicación se ha extendido a otros campos como la informática, la lingüística, o la biología[1].

“Una fuente de información se define como un par (S, P) donde S es un alfabeto predefinido y P es una distribución de probabilidad sobre S. Dado que la fuente de información

introduce una incertidumbre en la variable aleatoria definida por el alfabeto predefinido, la entropía mide el grado de incertidumbre de dicha variable. También el grado de aleatoriedad en la fuente de información y, en consecuencia, permite estimar las unidades de información necesarias en promedio para codificar todos los valores posibles que puedan darse en la fuente de información.”[3, p. 3]

Para entender mejor esta idea, definiremos unos conceptos clave:

3.3.1. Canal de comunicación

Un canal de comunicación es el medio físico o digital a través del cual se transmite la información.

3.3.2. Compresión de datos

La compresión hace referencia a la reducción del tamaño de los datos sin perder información.

3.3.3. Código

El código es el sistema de símbolos o señales utilizado para representar la información.

3.3.4. Entropía

El concepto de entropía se introdujo en el siglo XIX en la termodinámica como una magnitud física que media el grado de desorden en un sistema. En la etapa de 1940, Shannon trasladó este concepto al ámbito de las comunicaciones, ya que definió la entropía como una medida de incertidumbre o sorpresa asociada a un conjunto de mensajes[3, p. 4]. Esta idea fundó lo que se conoce hoy en día como Teoría de la Información. Dada una variable aleatoria X con distribución de probabilidad P , la entropía se define como:

$$H(X) = - \sum_{i=1}^n p(x_i) \log_2 p(x_i)$$

La entropía se interpreta como el número promedio de bits necesarios para codificar los resultados de una variable aleatoria.

- Entropía máxima: si una variable aleatoria tiene n resultados igualmente probables, es decir, todos tienen la misma probabilidad de ocurrencia, su entropía vale $\log_2 n$.
- Entropía mínima: si hay certeza de ocurrencia de un evento, es decir, tiene probabilidad 1 y por lo tanto el resto 0, la entropía vale 0.

En el contexto de este Trabajo de Fin de Grado, esta idea se aplica a secuencias de ADN, donde cada símbolo representa una base nitrogenada (Adenina, Citosina, Timina y Guanina) y la probabilidad de ocurrencia de cada una se mide mediante la frecuencia relativa en una región determinada del genoma. Por ejemplo, calcular la entropía de un conjunto de k -mers en una secuencia de ADN podría ayudar a identificar regiones altamente conservadas o variables. Estas regiones pueden correlacionarse con funciones biológicas importantes, como promotores, regiones reguladoras, o sitios de mutación frecuentes.

3.3.5. Información

Los conceptos de entropía e información están relacionados, pero es importante saber distinguirlos. La información es la diferencia entre la máxima entropía (por ejemplo, en una situación de incertidumbre total) y la entropía actual (con cierta cantidad de conocimiento). La información por tanto representa la reducción de incertidumbre:

$$I(X : Y) = H(X) - H(X | Y)$$

Esta relación se conoce como información mutua y cuantifica la cantidad de información que se obtiene de la variable X al conocer la variable Y. Es fundamental en muchos contextos como el análisis de datos o el análisis genómico, ya que ayuda a conocer las correlaciones entre una base y su contexto, o con otras entidades como proteínas, regiones funcionales o mutaciones.

3.3.6. Modelos de Fuentes de Markov

“Una fuente de información con memoria nula se define como un par (S,P) donde la emisión de cada símbolo s_i sólo depende de su probabilidad $p(s_i)$. Una fuente de información con memoria (de orden m) se define como un par (S,P) de forma que la emisión de cada símbolo s_i depende de los m símbolos emitidos con anterioridad, con una probabilidad condicional $p(s_i | s_{i1}, s_{i2}, \dots, s_{im})$.” [3, p. 19]

Las fuentes de información básicas no tienen memoria, es decir, en el cálculo de la probabilidad de una determinada base no se tienen en cuenta las bases anteriores. Sin embargo, en genómica, el ADN no es del todo aleatorio, ciertas bases tienden a seguir a otras con mayor probabilidad, lo que sugiere que un modelo de Fuente de Markov puede ser más realista.

Ejemplo

Tomemos la fuente de Markov de orden 2 definido por el siguiente diagrama de transiciones

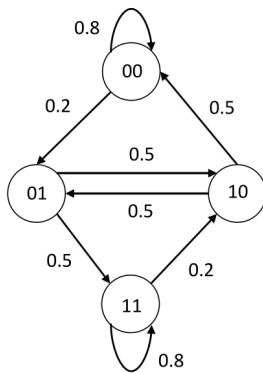


Tabla de probabilidades

| $s_j s_k s_i$ | $p(s_i s_j s_k)$ | $p(s_j s_k)$ | $p(s_i, s_j, s_k)$ |
|---------------|--------------------|--------------|--------------------|
| 000 | 0,8 | 5/14 | 4/14 |
| 001 | 0,2 | 5/14 | 1/14 |
| 010 | 0,5 | 2/14 | 1/14 |
| 011 | 0,5 | 2/14 | 1/14 |
| 100 | 0,5 | 2/14 | 1/14 |
| 101 | 0,5 | 2/14 | 1/14 |
| 110 | 0,2 | 5/14 | 1/14 |
| 111 | 0,8 | 5/14 | 4/14 |

$$H(S) = - \sum_{s^{m+1}} p(s_{i_1}, s_{i_2}, \dots, s_{i_m}, s_i) \cdot \log p(s_i | s_{i_1}, s_{i_2}, \dots, s_{i_m})$$

$$H(S) = - 2 \cdot 4/14 \cdot \log 0,8 - 2 \cdot 1/14 \cdot \log 0,2 - 4 \cdot 1/14 \cdot \log 0,5 = 0,81$$

Figura 3.2: Ejemplo de cálculo de entropía condicional.

Una Fuente de Markov (o fuente de información con memoria) se define como un sistema donde la probabilidad de que ocurra cada símbolo depende de los símbolos que le preceden. Estas nuevas probabilidades se consiguen gracias a la matriz de probabilidades de transición entre estados (los estados de una fuente de Markov de orden m serán todas

las posibles combinaciones de m símbolos, es decir, n^m). Además, dada una fuente de Markov de orden m , se puede establecer su diagrama de estados, que muestra los estados y las probabilidades condicionales entre ellos[3, p. 20].

- Una fuente de Markov diremos que es ergódica si todos los estados son alcanzables (observables) desde cualquier estado.
- Una fuente de Markov es homogénea si las probabilidades de transición entre estados no cambian a lo largo del tiempo.
- Una fuente de Markov está en estado estacionario si la probabilidad de observación de sus estados no cambia a lo largo del tiempo. Las probabilidades se pueden obtener mediante la ecuación $\pi = \pi \times \Pi$, donde π es el vector de probabilidad de los estados y Π es la matriz de probabilidades condicionales (estocástica).

Cálculo de Entropía sobre Fuente de Markov

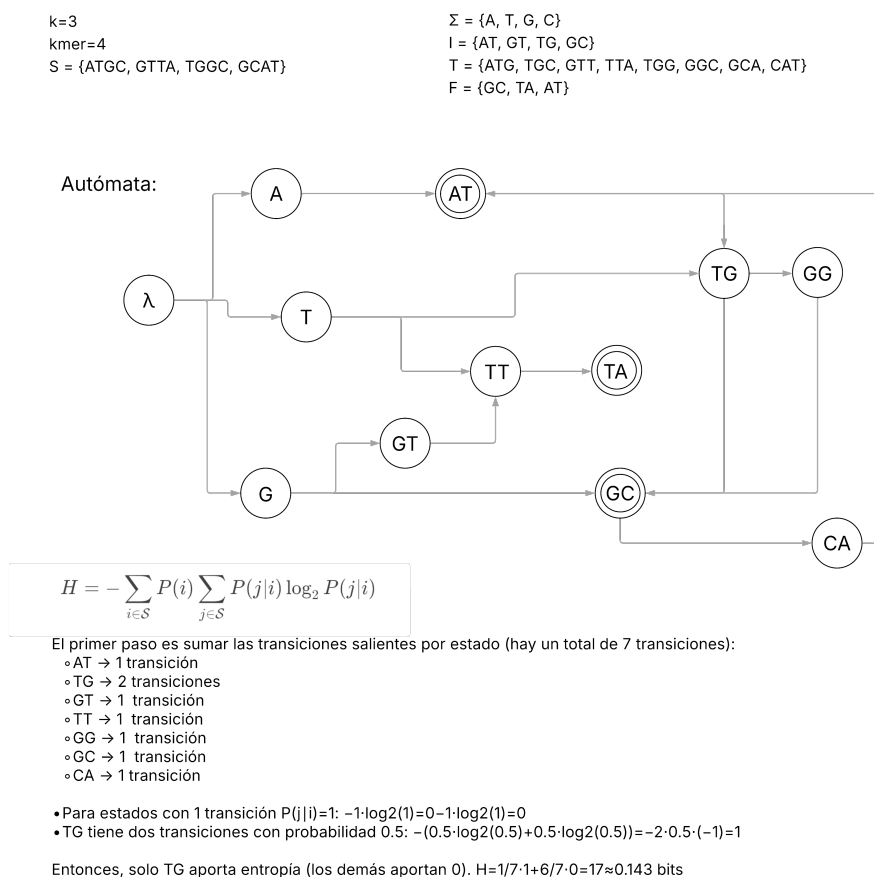


Figura 3.3: Ejemplo de cálculo de entropía a partir de una Fuente de Markov en cadenas de ADN.

Por lo tanto, en una fuente de Markov de orden m , la probabilidad de ocurrencia de un símbolo, depende de los $(m-1)$ símbolos anteriores. Cuanto mayor sea el orden (m), más información del contexto de incluye, y, en consecuencia, menores valores de entropía. Esto significa que modificar los valores de m , puede revelar patrones o regiones funcionales dentro de la secuencia dada.

CAPÍTULO 4

Metodología

4.1 Material y herramientas

4.1.1. Entorno de Trabajo

El entorno de desarrollo se basa en el sistema operativo Linux, ya que muchas de las bibliotecas necesarias para el análisis de archivos VCF, como `vcfpy`, no tienen soporte en Windows. Para ello, se utiliza:

- WSL (Windows Subsystem for Linux) en máquinas con sistema Windows.
- Ubuntu directamente instalado en el equipo de trabajo de la oficina.

Como gestor de entornos y dependencias se emplea Anaconda, una distribución de Python orientada a ciencia de datos, bioinformática y aprendizaje automático. Anaconda incluye numerosas librerías útiles como `numpy`, `pandas`, `matplotlib`, `scikit-learn`, entre otras, y permite la creación de entornos virtuales aislados.

4.1.2. Archivos necesarios

Archivos FASTA

El archivo FASTA es un formato estándar utilizado para almacenar secuencias de ADN, ARN o proteínas. Este formato de texto simple presenta las secuencias de interés precedidas por una línea de cabecera que comienza con el carácter `>` seguido de un identificador o descripción de la secuencia.

En el presente trabajo, los archivos FASTA utilizados deben corresponder al ensamblaje genómico GRCh37.p13, disponible en la base de datos NCBI (National Center for Biotechnology Information). Cada archivo FASTA corresponde a un cromosoma específico de los 46 cromosomas principales del genoma humano.

Se ha realizado mediante descarga local de estos archivos, ya que el acceso directo a las secuencias mediante peticiones a NCBI puede generar errores por limitaciones de memoria RAM en la ejecución del programa.

Archivos VCF

El formato VCF (Variant Call Format) es un tipo de archivo utilizado para almacenar variantes genómicas identificadas. De aquí nos interesan especialmente:

- Líneas de metainformación.
- Una línea de encabezado.
- Líneas de datos, donde cada línea describe una variante concreta.

Cada variante contiene información sobre la posición en el genoma, el cromosoma, la base de referencia, la base alternativa, así como otros datos asociados a la calidad y características de la variante. De los tipos de variantes estudiados en la sección de fundamentos, los presentes en el archivo VCF con el que trabajamos son los siguientes:

- SNPs (Single Nucleotide Polymorphisms).
- Inserciones.
- Deleciones.

Por último, de los archivos VCF extraeremos la siguiente información esencial:

- Cromosoma en el que se encuentra la variante.
- Posición de la variante dentro del cromosoma.
- Base de la secuencia de referencia.
- Base correspondiente a la secuencia mutada.

4.1.3. Librerías utilizadas

Durante el desarrollo de este TFG, ha sido necesario apoyarse en algunas herramientas que requerían la instalación de ciertas librerías presentes para Python, tanto para el procesamiento y análisis del genoma como para la visualización de los distintos gráficos y el desarrollo de la interfaz de usuario. A continuación, se describen las principales librerías utilizadas y su aportación al proyecto:

- Bio (biopython) es la librería por excelencia para la bioinformática, utilizada para acceder a las bases de datos del NCBI (mediante BIO.Entrez), y para la lectura y análisis de los archivos que contienen las secuencias genómicas en formato FASTA (mediante Bio.SeqIO).
- Vcfpy es una librería creada para Python 3, y especializada en el manejo de archivos VCF. Esta permite leer, analizar y escribir los archivos con mutaciones de manera estructurada en computacionalmente eficiente, y extraer de manera sencilla e intuitiva la información que se requiere.
- Matplotlib es una de las librerías más utilizadas de Python, y se encarga de la generación de gráficos. En este caso se emplea para visualizar de manera clara tres listas: la entropía simple, la entropía generada a partir de Fuentes de Markov, y la densidad de mutaciones en la secuencia genómica. Además, se ha configurado un backend (TkAgg) para poder trabajar sin interfaz gráfica, de manera que genera imágenes exportables (en formato png). Por último, se hace uso de matplotlib.ticker, que es un módulo auxiliar que permite personalizar los ejes y formatos numéricos en los gráficos generados.

- Pandas es una librería para el análisis y manipulación de datos en forma de tablas, que se utiliza para gestionar y mostrar la información extraída de los archivos VCF y almacenar resultados intermedios, como mutaciones no aplicadas.
- Numpy es la biblioteca utilizada para lograr la optimización en los cálculos numéricos. En este contexto se usa para operaciones como el cálculo de la entropía de Shannon y la entropía basada en modelos de Markov, ya que permite manejar grandes volúmenes de datos genómicos de forma eficiente.
- Streamlit es una librería de Python de código abierto que facilita la creación y el intercambio de aplicaciones web para la ciencia de datos y el machine learning. Es una forma rápida y sencilla de convertir código Python en una aplicación web interactiva, sin necesidad de conocimientos previos de desarrollo web. En este proyecto, Streamlit facilita al usuario la carga de archivos VCF, la selección del cromosoma de estudio y la visualización de resultados gráficos y tabulares, sin necesidad de conocimientos técnicos avanzados.

4.2 Hipótesis

La hipótesis de partida se basa en la idea de que la entropía de una secuencia de ADN experimenta cambios significativos en las regiones donde puede haber mutaciones patogénicas. Estas regiones de valores anómalos entropía podrían coincidir con las zonas funcionales asociadas a enfermedades raras.

El análisis se estructura en tres casos de estudio diferentes, cada uno enfocado a detectar patrones distintos en la secuencia:

4.2.1. Caso 1: Cálculo de entropía en ventanas deslizantes

En este primer análisis, se calcula la entropía en ventanas deslizantes de tamaño w a lo largo de la secuencia genómica. El objetivo es comparar las variaciones de entropía entre la secuencia de referencia y la secuencia mutada.

La entropía H para cada ventana se calcula como:

$$H = - \sum p(kmer) \cdot \log_2 p(kmer)$$

Donde:

- $p(kmer)$ es la probabilidad de aparición de un k -mer dentro de la ventana.
- La probabilidad se calcula como la fracción de la frecuencia de ese k -mer entre el número de tipos distintos de k -mer en la ventana.

Se recorren ambas secuencias (referencia y mutada) y se calcula la entropía de cada ventana. Posteriormente, se representan gráficamente las entropías de ambas secuencias a lo largo de la posición genómica para detectar picos o variaciones significativas.

4.2.2. Caso 2: Cálculo de densidad de mutaciones

En este segundo análisis, se estudia la densidad de mutaciones presentes en las regiones cercanas a cada variante detectada en el archivo VCF.

Para ello, se toma una ventana de tamaño $2L$ centrada en cada mutación, es decir, se consideran L posiciones antes y L posiciones después de la posición de la mutación. Dentro de esta ventana, se cuenta el número de mutaciones existentes. Este procedimiento se repite para cada mutación presente en el archivo VCF.

El resultado se almacena en una lista que posteriormente se utiliza para generar un gráfico de densidad de mutaciones. Este gráfico representa las zonas con mayor concentración de variantes, lo cual podría indicar regiones funcionales afectadas.

4.2.3. Caso 3: Cálculo de entropía basada en probabilidades condicionales (Modelo de Markov)

En el tercer análisis, se utiliza un enfoque más avanzado basado en modelos de Markov de orden k para calcular la entropía condicional entre k -mers.

Creación del Autómata

Se construye un autómata que permite modelar la secuencia como una cadena de estados, donde:

- El alfabeto está formado los diferentes nucleótidos A, C, G, T.
- Los estados iniciales se corresponden con los primeros caracteres de los k -mers.
- Los estados finales corresponden a los últimos caracteres de cada k -mer.
- Las transiciones representan la concatenación de bases adyacentes.

Por ejemplo, dado un conjunto de k -mers $S = \text{ACGT}, \text{ACCD}$, se define el siguiente modelo de segundo orden:

- Alfabeto: A, C, G, T, D.
- Estados iniciales: A.
- Estados finales: T, D.
- Transiciones: AC, CG, GT, CC, CD.

Cálculo de Probabilidades de Transición

Una vez definido el autómata, se recorren las secuencias y se cuentan las ocurrencias de cada transición. Con esta información, se calcula la probabilidad de transición desde un estado s a otro estado t como:

$$p(s \rightarrow t) = \frac{\text{Número de transiciones de } s \rightarrow t}{\text{Total de transiciones desde } s}$$

Si una transición no existe, se le asigna una probabilidad muy baja para evitar problemas en el cálculo del logaritmo.

Cálculo de Entropía Condicional

Se desliza una ventana de tamaño w sobre la secuencia y , dentro de esta ventana, se analizan las transiciones de tamaño k para calcular la contribución a la entropía condicional de cada transición.

La entropía total de la ventana se calcula restando las contribuciones de todas las transiciones observadas.

4.3 Arquitectura del sistema

La arquitectura del sistema desarrollado en este Trabajo de Fin de Grado se estructura en base a una interfaz que se comunica con la parte lógica de análisis bioinformático. El diseño modular en diferentes archivos permite abstraer al usuario de los procesos complejos como la aplicación de variantes genéticas, el cálculo de entropía y el análisis de patrones, además de mantener un código organizado, reutilizable y más fácil de mantener o ampliar.

Por lo tanto, la aplicación está dividida en dos componentes principales:

- Una interfaz de usuario (archivo `interfaz.py`): Desarrollada con la biblioteca `Streamlit`, permite al usuario interactuar con el sistema mediante menús desplegables, campos de entrada y botones. Desde aquí se cargan los datos, se configuran los parámetros de análisis y se visualizan o descargan los resultados.
- La lógica de aplicación (archivo `back.py`): Contiene las funciones que procesan los datos genómicos, aplican las mutaciones, calculan entropía (simple y condicional), construyen autómatas de Markov y generan los gráficos.

El flujo general está diseñado para permitir la carga eficiente de los datos genómicos y mutaciones, su procesamiento y la visualización de resultados.

4.3.1. Carga de Datos

El sistema comienza con la selección de un número de cromosoma por parte del usuario. A partir de este número, la aplicación busca automáticamente el archivo de referencia correspondiente en formato FASTA, lo cual simplifica el uso del sistema y reduce errores. Del mismo modo, el usuario debe subir un archivo VCF con las variantes genéticas de la muestra que desee. Además, se da la opción de modificar los principales parámetros para el análisis.

Si no se encuentra el archivo FASTA correspondiente, o el archivo con las mutaciones no tiene extensión `.vcf`, se informa al usuario y se detiene el proceso. Esto garantiza que el sistema solo se ejecuta cuando todos los elementos necesarios están presentes.

4.3.2. Análisis de Secuencia Genómica

A continuación, se lleva a cabo el núcleo del análisis, dividido en tres módulos:

- Cálculo de entropía en ventanas deslizantes: Se desliza una ventana de tamaño w a lo largo de la secuencia genómica (tanto de referencia como mutada) y se calcula la entropía en cada segmento usando la fórmula de Shannon.

- Densidad de mutaciones: Se analiza la distribución de mutaciones en la secuencia mediante una ventana de tamaño $2L$ centrada en cada variante detectada y se contabiliza el número de mutaciones en dicho intervalo.
- Entropía basada en modelos de Markov: Se construye un modelo de Fuente de Markov de orden k para representar la secuencia como una cadena de estados. A partir de las transiciones, se calculan probabilidades condicionales y, con ellas, se evalúa la entropía condicional.

4.3.3. Visualización y Exportación de Resultados

Tras finalizar el análisis, el sistema genera varios gráficos:

- Entropía simple de la secuencia de referencia y mutada.
- Entropía condicional o de Markov de la secuencia de referencia y mutada.
- Densidad de mutaciones en la secuencia.

Además, se exportan los siguientes archivos para descarga:

- Autómata de Markov de la secuencia original y de la secuencia mutada.
- Archivo VCF con las mutaciones que no se han podido aplicar.
- Archivo comprimido .zip con todos los resultados.

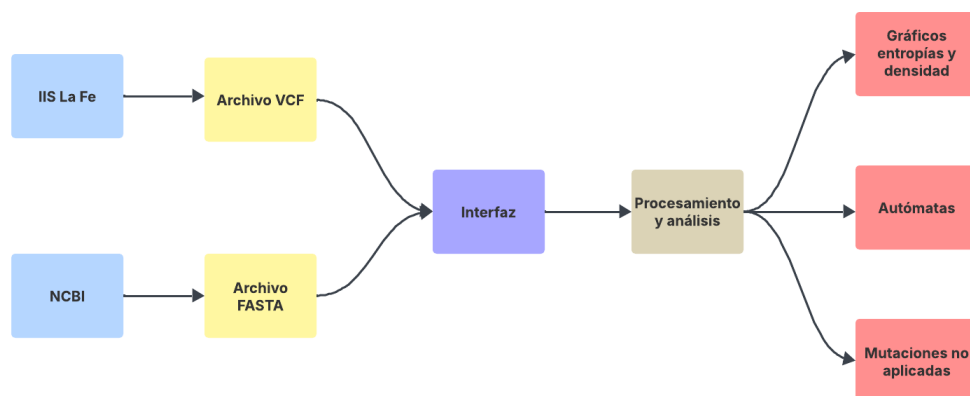


Figura 4.1: Diagrama de flujo del sistema.

CAPÍTULO 5

Desarrollo

5.1 Importación de librerías y configuración inicial

En primer lugar, se realizan importaciones de librerías necesarias para ejecutar distintas funciones en el análisis genómico y se realiza una configuración inicial del servidor de Streamlit.

En `back.py`, el archivo que contiene la lógica de la aplicación, se hace uso de diversas bibliotecas necesarias para recuperar secuencias genómicas, analizarlas, generar gráficos, y trabajar con datos genómicos en diversos formatos. Se usan módulos estándar como `math` y `time`, y otros especializados como `matplotlib` para generar gráficos (aunque configurado para un backend sin interfaz gráfica con `TkAgg`), `pandas` y `numpy` para análisis de datos, y `Bio de Biopython` para acceder a bases de datos biológicas del NCBI. También se importa `vcfpy` para manejar archivos VCF (usados en genómica para representar variantes), y `requests` para hacer solicitudes HTTP.

En `interfaz.py`, se importan los módulos necesarios para construir la interfaz web con Streamlit, la herramienta de Python para crear aplicaciones interactivas. Se importa `st` de `streamlit` para generar la UI, `AnalizadorGenomico` desde el archivo `back.py` (que contiene la lógica), y bibliotecas estándar como `pandas` para manejo de datos, `os` para operaciones del sistema de archivos, y `zipfile` para comprimir archivos.

Adicionalmente, se ha añadido el archivo `config.toml` en la carpeta `streamlit`, estableciendo el parámetro `maxUploadSize = 1000` dentro de la sección `[server]`. Esto significa que se ha aumentado el límite máximo de tamaño de archivo que el usuario puede subir a la aplicación a 1 GB, lo cual es necesario para poder trabajar con archivos genómicos grandes como las secuencias genómicas o los VCFs.

5.2 Lectura de las mutaciones presentes en el archivo VCF

En segundo lugar, se realiza la lectura del archivo VCF correspondiente a los pacientes que presentan una determinada enfermedad rara (en este caso retinosis pigmentaria).

Para ello, se utiliza una librería específica de Python (`vcfpy`), que permite extraer de manera estructurada los datos contenidos en el archivo. El programa recorre cada línea del VCF (ignorando las líneas de encabezado) y obtiene los datos fundamentales de cada mutación. Sin embargo, no necesitamos obtener los detalles de todas las mutaciones, por lo que se realiza un filtrado para obtener solo las mutaciones que se encuentren en el cromosoma especificado por el usuario.

5.3 Almacenamiento de las mutaciones en una estructura de datos adecuada

Una vez extraídas las mutaciones del archivo VCF, se almacenan en un diccionario de Python (ya que permite un acceso rápido y una organización estructurada y eficiente), de tal manera que cada mutación queda registrada mediante los siguientes campos:

- Cromosoma en el que se encuentra la variante.
- Posición exacta dentro del cromosoma.
- Base de la secuencia de referencia.
- Base correspondiente a la secuencia mutada.

5.4 Extracción de la secuencia de referencia del cromosoma correspondiente

En este paso, se procede a la lectura del archivo FASTA que contiene la secuencia de referencia del cromosoma que se desea analizar.

Debido a que la secuencia de un cromosoma entero contiene una cantidad de información extremadamente elevada, su procesamiento sería muy costoso computacionalmente. Además, la generación de gráficos de toda la secuencia sería demasiado compleja. Por lo tanto, se ha optado por procesar la secuencia en bloques más pequeños, permitiendo un análisis más eficiente y visualmente interpretable.

Este archivo se abre en modo lectura (with open(fasta_file, "r") as file) y se recorre línea a línea.

Para comprobar que el número de cromosoma es correcto, se limpia la cabecera eliminando el símbolo > y cualquier espacio extra, tomando solo el primer fragmento del ID en caso de que haya espacios (por ejemplo, si el encabezado es "chr1...info", se queda solo con "chr1"). Si el id del registro coincide con el cromosoma solicitado por el usuario, se extrae la secuencia en el rango especificado y se convierte a mayúsculas.

Una vez extraída la secuencia, se han considerado dos opciones en caso de que la secuencia contenga caracteres N (indicando zonas donde no se conoce con certeza la base presente):

1. estas posiciones serán ignoradas y no se tendrán en cuenta en los cálculos de entropía o en el análisis de las mutaciones, ya que no aportan información relevante,
2. serán tratadas como un nuevo tipo de base nitrogenada, entendiendo que también aportan información a los valores de la entropía.

En cualquier caso, estas zonas desconocidas no están cerca de ninguna mutación con las que se está trabajando, por lo que no es relevante el tratamiento que se les dé.

5.5 Aplicación de las mutaciones sobre la secuencia de referencia

Una vez obtenida la secuencia de referencia del cromosoma, se incorporan las mutaciones almacenadas previamente. Para ello, el primer paso es convertir la secuencia de referencia en una lista para permitir la modificación directa de esta.

Después, se extraen solo las mutaciones correspondientes al cromosoma actual y se ordenan por posición. Para cada mutación, se ajusta la posición relativa dentro de la secuencia, ya que debemos considerar los posibles desplazamientos por cambios de longitud en mutaciones anteriores (por ejemplo, AAT \rightarrow A). Se extrae el segmento de referencia de la secuencia y se compara con la mutación esperada: se comprueba que las bases presentes en la posición correspondiente de la secuencia de referencia coinciden con las bases de referencia indicadas en el archivo VCF.

En caso de que esta base coincida, se aplica la mutación, reemplazando el fragmento correspondiente con la nueva variante y se actualiza el desplazamiento, para ajustar futuras posiciones si cambia la longitud.

En cambio, si la base no coincide (posible error en los datos o desactualización del archivo FASTA), la mutación se descarta, se almacena la información de dicha mutación en un archivo para su posterior análisis o revisión y se imprime una advertencia.

Este proceso da lugar a una nueva secuencia mutada, sobre la cual se realizarán las comparaciones con la secuencia original.

5.6 Cálculo de la entropía mediante ventanas deslizantes

A continuación, se calcula la entropía simple sobre ambas secuencias (referencia y mutada) utilizando una ventana deslizante de tamaño w ($w > k$).

Para ello se define primero una función para contar la frecuencia de cada k -mer en la secuencia (subcadenas de longitud k). Esto se realiza recorriendo la secuencia, extrayendo cada subcadena de longitud k e introduciéndola en un diccionario donde las claves son los k -mers y los valores son las frecuencias (se suma 1 por cada aparición a la entrada correspondiente).

Después, se procede a calcular la entropía de Shannon en ventanas deslizantes de tamaño w sobre la secuencia, basada en la distribución de k -mers dentro de cada ventana. La ventana se desplaza a lo largo de la secuencia en pasos de una posición, y dentro de cada ventana se calcula la entropía en base a las probabilidades de aparición de cada k -mer con la siguiente fórmula:

$$H = - \sum p_i \cdot \log_2(p_i), \text{ donde } p_i \text{ es la probabilidad del } k\text{-mer } i.$$

Una vez calculada, se añade la entropía a una lista, y finalmente se devuelve la lista de entropías de cada ventana.

5.7 Representación gráfica de la entropía en ambas secuencias

Una vez obtenida la lista de entropías de ambas secuencias, se procede a su representación gráfica mediante librerías de visualización de Python (matplotlib).

Los gráficos permiten observar de forma clara las zonas de la secuencia en las que se produce un incremento o decremento significativo de la entropía debido a la presencia de mutaciones.

Estos cambios podrían estar asociados a regiones funcionales relevantes en el genoma o a zonas afectadas por enfermedades.

5.8 Cálculo de la densidad de mutaciones

En este paso, se analiza la concentración de mutaciones en torno a cada variante presente en el archivo VCF.

Para ello, se centra una ventana de tamaño $2L$ en cada mutación, considerando L posiciones hacia atrás y L posiciones hacia adelante desde la posición de la variante.

Dentro de esta ventana, se cuenta el número total de mutaciones presentes, y se guarda en una tupla (pos, cuenta) indicando cuántas mutaciones hay en torno a pos. Este procedimiento se repite para todas las mutaciones del cromosoma, generando una lista de valores que reflejan la densidad de mutaciones en distintas regiones.

5.9 Representación gráfica de la densidad de mutaciones

La lista obtenida en el paso anterior se utiliza para generar un gráfico que permite visualizar las regiones con mayor concentración de variantes.

Este tipo de representación la utilizamos para detectar zonas del genoma donde se acumulan un elevado número de mutaciones, las cuales están resaltadas y se especifican sus valores concretos.

5.10 Construcción del autómata para el cálculo de probabilidades de transición

En este paso se construye un autómata basado en un modelo de Markov de orden K (no confundir con el parámetro k de los k -mers), con el objetivo de modelar las transiciones entre k -mers presentes en la secuencia.

Para ello, primero se define un alfabeto formado por las diferentes bases A, C, G, T y se recorre la secuencia para generar los estados del autómata, definidos por subcadenas de longitud $K - 1$, y se registran las transiciones entre dichos estados como el paso de un estado a otro adyacente, desplazado en una base. Además, se obtienen los estados iniciales y finales a partir de los k -mers, que son aquellos estados que constituyen el comienzo y final, respectivamente, de un k -mer.

Una vez construido el autómata, se recorren las secuencias analizadas y se calculan las probabilidades de transición entre estados dividiendo la frecuencia de cada transición entre el total de transiciones posibles desde su estado origen. El resultado final es un autómata que consiste en cuatro elementos:

- El alfabeto de símbolos.
- El conjunto de estados iniciales.
- El conjunto de estados finales.
- La matriz de transición probabilística de los estados

5.11 Representación y guardado del autómata

Una vez construido el autómata, se procede a su representación mediante guardado de los elementos principales en formato texto en un archivo txt. Se genera un archivo para la secuencia original y otro para la secuencia mutada para poder realizar comparaciones.

En este archivo se representan los elementos principales de la siguiente manera:

- Alfabeto como una lista con las diferentes bases nitrogenadas
- Estados iniciales y finales, como una lista de secuencias de tamaño K-1.
- Transiciones, como una lista de tuplas del tipo: (estado actual, símbolo, siguiente estado)

5.12 Cálculo de las probabilidades de transición y de la entropía condicional

A partir de las probabilidades almacenadas en el autómata, se calcula la entropía condicional dentro de ventanas deslizantes de tamaño w , teniendo en cuenta las transiciones presentes en cada ventana.

Para ello, primero se recorre la secuencia usando una ventana deslizante de tamaño w , extrayendo una subsecuencia en cada iteración y dentro de cada ventana, se recorre la subsecuencia formando pares de estado actual, siguiente estado para obtener el valor de la probabilidad para esa transición. Ahora se aplica la fórmula de la entropía sumando el valor negativo de $p \cdot \log_2(p)$ para cada transición (si la transición no se encuentra, se asume una probabilidad muy pequeña para evitar $\log(0)$).

Esto permite obtener una medida de la entropía, considerando no solo la frecuencia de k -mers individuales, sino también las relaciones de dependencia entre bases.

5.13 Interfaz gráfica

Finalmente, con el objetivo de facilitar el uso de esta aplicación a usuarios no expertos en programación, se ha implementado una interfaz gráfica utilizando la biblioteca Streamlit, una herramienta en Python que permite construir aplicaciones web interactivas de forma sencilla y eficiente.

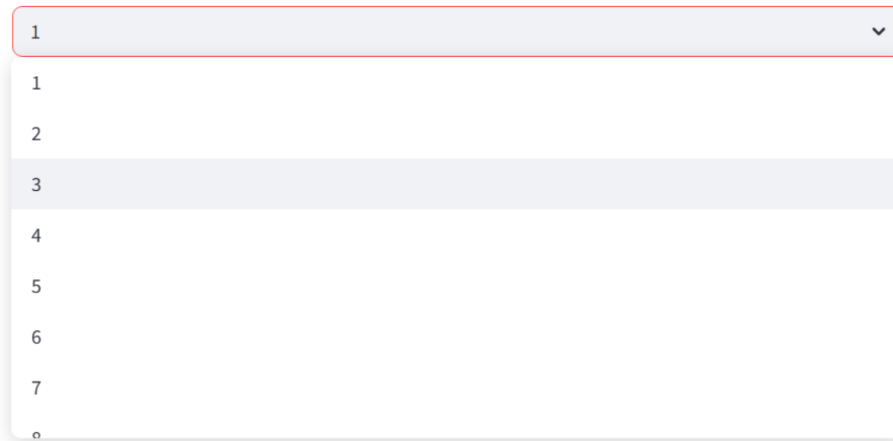
Esta interfaz permite realizar análisis genómicos de manera accesible y guiada a través de los diferentes pasos necesarios para cargar los datos, configurar los parámetros de análisis, ejecutar el procesamiento y visualizar o descargar los resultados generados.

A través de esta interfaz, el usuario podrá introducir una serie de parámetros entre los que se incluyen:

- Seleccionar el número de cromosoma a analizar desde un menú desplegable. A partir de esta selección, el sistema asocia automáticamente el identificador del cromosoma en formato GRCh37 y el archivo FASTA correspondiente (en caso de que no se encuentre, se muestra un mensaje de error).

Análisis Retinosis Pigmentaria

Selecciona el cromosoma:



1

1

2

3

4

5

6

7

8

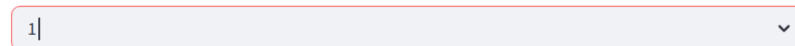
9

Figura 5.1: Menú desplegable de selección de cromosoma en la interfaz de usuario.

- Se debe proporcionar un archivo con las mutaciones del paciente en formato VCF, cargado a través de subida de archivos.

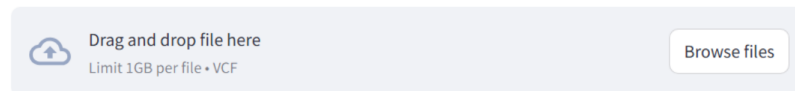
Análisis Retinosis Pigmentaria

Selecciona el cromosoma:



1

Sube el archivo VCF con las mutaciones:



Drag and drop file here

Limit 1GB per file • VCF

Browse files

Figura 5.2: Buscador de archivos en el sistema para proporcionar VCF en la interfaz de usuario.

- Tamaño de k-mer (k), que define el tamaño de las secuencias.
- Orden del modelo de Markov (k_{markov}), que determina cuántos símbolos anteriores se consideran en la probabilidad condicional.
- Tamaño de ventana para densidad (l), que establece el rango en el que se tienen en cuenta las mutaciones alrededor de cada variante.
- Tamaño de ventana para entropía (w), para el cálculo de las entropías.
- Posición de inicio y tamaño del bloque, para definir el segmento del cromosoma a analizar y así no cargar regiones genómicas excesivamente grandes.

Análisis Retinosis Pigmentaria

Selecciona el cromosoma:

1

Sube el archivo VCF con las mutaciones:



Drag and drop file here

Limit 1GB per file • VCF

Browse files



RP924_9589186940.vcf 282.6MB



Introduce el tamaño de k-mer:

7

- +

Introduce el orden de la Fuente de Markov:

6

- +

Introduce el tamaño de la ventana para la densidad:

500

- +

Introduce el tamaño de la ventana para la entropía:

100

- +

Introduce la posición de inicio

1315000

- +

Introduce el tamaño del bloque:

100000

- +

Ejecutar análisis

Figura 5.3: Parámetros configurables para el análisis en la interfaz de usuario.

Una vez introducidos estos datos, la aplicación se encarga de ejecutar la lógica del programa: aplica las mutaciones del archivo VCF sobre la secuencia original, calcula la entropía simple y la entropía basada en probabilidades condicionales, analiza la densidad de mutaciones en regiones del genoma y genera los gráficos y archivos correspondientes. Finalizado este análisis, se devuelven las siguientes salidas:

- Tres imágenes descargables con los gráficos de entropía simple, entropía condicional (o de Markov) y densidad de mutaciones.

Análisis completado.

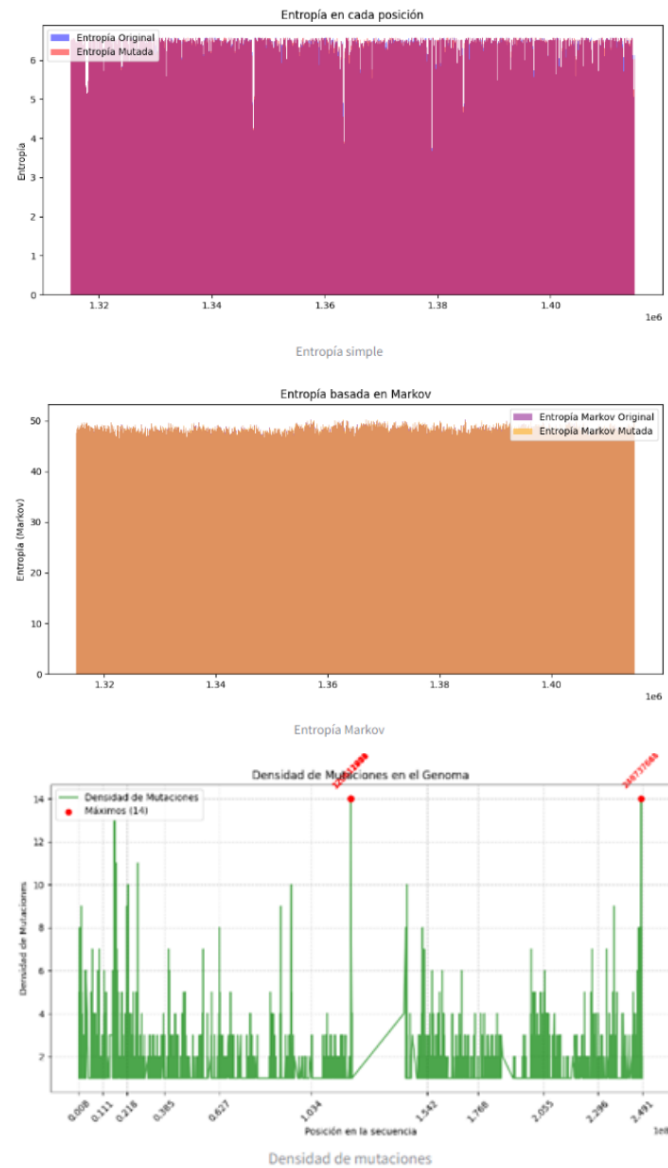


Figura 5.4: Imágenes de los gráficos resultantes del análisis en la interfaz de usuario.

- Tres archivos para descargar: dos ficheros de texto con los autómatas de la secuencia original y secuencia mutada (los generados a partir de Fuentes de Markov), y un archivo con las mutaciones que no han podido aplicarse.



Figura 5.5: Archivos para descargar con los autómatas resultantes del análisis en la interfaz de usuario.

- Además, se proporciona la opción de descargar un archivo comprimido (.zip) que incluye todos los resultados para facilitar su almacenamiento o distribución.

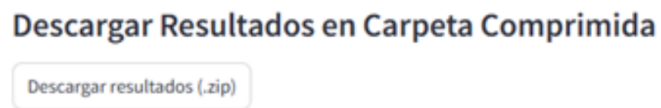


Figura 5.6: Archivo comprimido para descargar con todos los archivos resultantes del análisis en la interfaz de usuario.

CAPÍTULO 6

Experimentos

Con el objetivo de evaluar la eficacia de este proyecto en la identificación de mutaciones relevantes asociadas a la retinosis pigmentaria, se han diseñado y ejecutado una serie de experimentos sobre datos genómicos para comprobar el comportamiento del sistema desarrollado en distintos escenarios y medir su capacidad para detectar patrones genéticos relevantes mediante técnicas basadas en Teoría de la Información y Fuentes de Markov.

En esta sección se detallan los archivos usados, los valores de los parámetros seleccionados, los procedimientos implementados y los resultados obtenidos, proporcionando un análisis crítico de los mismos. Todo ello con el fin de demostrar la aplicabilidad del enfoque y su correcto funcionamiento en el diagnóstico y estudio del genoma.

6.1 Experimento base

Para el primer experimento, se trabajará con el cromosoma 1, descargado previamente desde en NCBI, y un tamaño de k-mer pequeño para una exploración general del genoma, detección de zonas con variabilidad o entropía anómala. Para ello se seleccionarán los siguientes valores:

- Número de cromosoma: 1.
- Archivo con las mutaciones: `RP924_9589186940.vcf` (es el archivo VCF con las mutaciones proporcionado por IIS la Fe).
- Tamaño de k-mer: 4.
- Orden de la fuente de Markov: 3.
- Tamaño de ventana para la densidad: 500.
- Tamaño de ventana para la entropía: 100.
- Posición de inicio: 874778.
- Tamaño de bloque: 100000

Una vez configurados estos parámetros, se procede a ejecutar el análisis, el cual tiene una duración aproximada de 5 minutos. Transcurrido este tiempo, el análisis finaliza y se imprimen por pantalla los siguientes resultados:



Figura 6.1: Gráficas obtenidas a partir del experimento 1.

A partir de las gráficas obtenidas, se pueden extraer diversas conclusiones relevantes sobre el comportamiento del genoma ante la presencia de mutaciones y la utilidad de las medidas de entropía para su detección.

En la primera gráfica, que representa la entropía simple mediante ventanas deslizantes de tamaño 100 para las secuencias original y mutada, se observan variaciones significativas en los valores de entropía en ciertas regiones. Estas diferencias sugieren que las mutaciones introducidas tienen un impacto en la distribución de los distintos k-mers en esas zonas y, por tanto, permite identificar regiones potencialmente relevantes del genoma.

La segunda gráfica, que refleja la entropía basada en Fuentes de Markov, también mediante ventanas deslizantes de tamaño 100, muestra un comportamiento más similar en ambas versiones de la secuencia, aunque se aprecian pequeñas diferencias en regiones específicas. Esto sugiere que, aunque el modelo de Markov suaviza los valores de entropía,

sigue siendo capaz de captar alteraciones y además detectar patrones de mutación que afectan a la dependencia entre símbolos, más allá de su frecuencia individual.

Finalmente, en la tercera gráfica se representa la densidad de mutaciones a lo largo de la secuencia en ventanas de tamaño 1000 (2x500) centradas en cada mutación. Se identifican varios picos significativos, resaltados en rojo, que indican regiones con alta concentración de mutaciones. Estos máximos podrían coincidir con algunas posiciones en las que se observaron diferencias notables en las medidas de entropía, ya que se podría tratar de regiones del genoma susceptibles de contener variantes genéticas funcionalmente relevantes.

```
Alfabeto:
['A', 'C', 'G', 'T']

Estados Iniciales:
['AA', 'AC', 'AG', 'AT', 'CA', 'CC', 'CG', 'CT', 'GA', 'GC', 'GG', 'GT', 'TA', 'TC', 'TG', 'TT']

Estados Finales:
['AA', 'AC', 'AG', 'AT', 'CA', 'CC', 'CG', 'CT', 'GA', 'GC', 'GG', 'GT', 'TA', 'TC', 'TG', 'TT']

Transiciones (estado_actual, símbolo, siguiente_estado):
(CC, T, CT), 0.246382
(CC, C, CC), 0.374000
(CC, A, CA), 0.228844
(CC, G, CG), 0.150775
(CT, C, TC), 0.339713
(CT, G, TG), 0.432483
(CT, A, TA), 0.073631
(CT, T, TT), 0.154173
(TC, C, CC), 0.392663
(TC, A, CA), 0.232846
(TC, T, CT), 0.270550
(TC, G, CG), 0.103940
(CA, G, AG), 0.430467
(CA, C, AC), 0.294787
(CA, T, AT), 0.134597
(CA, A, AA), 0.140149
(AG, C, GC), 0.274378
(AG, G, GG), 0.373951
(AG, A, GA), 0.204374
(AG, T, GT), 0.147297
(CG, C, CG), 0.382924
```

Figura 6.2: Autómata de la secuencia original obtenido a partir del experimento 1.

```
Alfabeto:
['A', 'C', 'G', 'T']

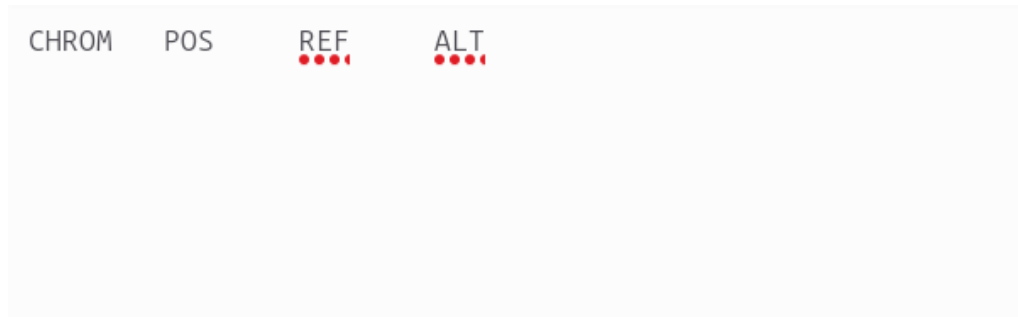
Estados Iniciales:
['AA', 'AC', 'AG', 'AT', 'CA', 'CC', 'CG', 'CT', 'GA', 'GC', 'GG', 'GT', 'TA', 'TC', 'TG', 'TT']

Estados Finales:
['AA', 'AC', 'AG', 'AT', 'CA', 'CC', 'CG', 'CT', 'GA', 'GC', 'GG', 'GT', 'TA', 'TC', 'TG', 'TT']

Transiciones (estado_actual, símbolo, siguiente_estado):
(CC, T, CT), 0.246520
(CC, C, CC), 0.374788
(CC, A, CA), 0.228098
(CC, G, CG), 0.150594
(CT, C, TC), 0.339883
(CT, G, TG), 0.432820
(CT, A, TA), 0.073553
(CT, T, TT), 0.153744
(TC, C, CC), 0.393482
(TC, A, CA), 0.232388
(TC, T, CT), 0.270412
(TC, G, CG), 0.103718
(CA, G, AG), 0.431107
(CA, C, AC), 0.294405
(CA, T, AT), 0.134670
(CA, A, AA), 0.139818
(AG, C, GC), 0.274415
(AG, G, GG), 0.373590
(AG, A, GA), 0.204539
(AG, T, GT), 0.147455
(CG, C, CG), 0.384544
```

Figura 6.3: Autómata de la secuencia mutada obtenido a partir del experimento 1.

A partir de los archivos de ambos autómatas se puede extraer la siguiente información: tanto el autómata con la secuencia original como la mutada comparten el mismo alfabeto y los mismos estados iniciales y finales. Sin embargo, aunque ambos archivos muestran las mismas transiciones, la frecuencia de transición entre estados sí ha cambiado y esto afecta directamente a la entropía condicional basada en el modelo de Markov, ya que las frecuencias de uso de las transiciones pueden generar una distribución de probabilidades diferente, aumentando o disminuyendo la entropía de determinadas regiones.



| CHROM | POS | REF | ALT |
|-------|-----|-----|-----|
|-------|-----|-----|-----|

Figura 6.4: Archivo con mutaciones no aplicadas obtenido a partir del experimento 1.

Finalmente, se ha verificado que el archivo generado con las mutaciones no aplicadas está vacío. Este resultado es un buen indicador, ya que significa que todas las variantes recogidas en el archivo VCF han podido integrarse correctamente en la secuencia de referencia descargada desde el NCBI y no se han producido conflictos entre las bases de referencia especificadas en el VCF y las que figuran en la secuencia genómica.

6.2 Experimento base

En conjunto, estos resultados demuestran que el análisis computacional de la entropía, tanto clásica como basada en modelos de Markov, permite detectar con eficacia alteraciones en el genoma. Esto respalda el potencial del enfoque desarrollado en este proyecto como herramienta de apoyo en el diagnóstico de enfermedades genéticas como la retinosis pigmentaria, contribuyendo al avance en métodos no invasivos y automáticos de análisis genético.

CAPÍTULO 7

Conclusiones

???? ?????????????? ?????????????? ?????????????? ?????????????? ??????????????

Bibliografía

- [1] Thomas M. Cover and Joy A. Thomas. *Elements of Information Theory*. Wiley-Interscience, segunda edición, 2006.
- [2] J. D. Watson, T. A. Baker, S. P. Bell, A. Gann, M. Levine i R. Losick. *Molecular Biology of the Gene*. Pearson Education, 7a edició, 2013.
- [3] Roberto Togneri y Christopher J. S. deSilva. *Fundamentals of Information Theory and Coding Design*. CRC Press, Boca Raton, Florida, 2006.
- [4] National Eye Institute. Retinitis pigmentaria | National Eye Institute. Disponible en <https://www.nei.nih.gov/espanol/aprenda-sobre-la-salud-ocular/enfermedades-y-afecciones-de-los-ojos/retinitis-pigmentaria>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [5] Roche España. Enfermedades raras: ¿qué debes saber? s.f. Disponible en <https://www.roche.es/que-hacemos/areas-terapeuticas/enfermedades-raras/enfermedades-raras-que-debes-saber>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [6] Federación Española de Enfermedades Raras (FEDER). Conoce más sobre las ER. s.f. Disponible en <https://www.enfermedades-raras.org/enfermedades-raras/conoce-mas-sobre-er>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [7] Garrity, J. Estructura y función de los ojos. *Manual MSD Versión Para Público General*, 11 de marzo de 2024. Disponible en: <https://www.msmanuals.com/es/hogar/trastornos-oft%C3%A1lmicos/biolog%C3%ADa-de-los-ojos/estructura-y-funci%C3%B3n-de-los-ojos>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [8] Revista Estudiantil CEUS (Ciencia Estudiantil Unidad de Salud). Vista de retinosis pigmentaria. *Revista Estudiantil CEUS*, s.f. Disponible en: <https://ceus.ucacue.edu.ec/index.php/ceus/article/view/8/5>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [9] Delgado-Pelayo, S. A. Retinosis Pigmentaria. *Revista Médica MD*, vol. 3.4(3), pp. 163–166, 2012.
- [10] Gil, G. A., Checa, F. L., Borrego, S., Chaparro-Hernández, P., Rueda, T. R., y Sanchez, J. Estudio de la variabilidad clínica y la heterogeneidad genética en la retinitis pigmentosa. Dialnet, 1994. Disponible en <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6768158>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [11] Stone, E. M. Genetic Testing for Inherited Eye Disease. *Archives of Ophthalmology*, 125(2):205, 2007. Disponible en <https://doi.org/10.1001/archophth.125.2.205>. Consultado el 30 de mayo de 2025.

- [12] Hanany, M., Rivolta, C., & Sharon, D. Worldwide carrier frequency and genetic prevalence of autosomal recessive inherited retinal diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(5):2710–2716, 2020. Disponible en <https://doi.org/10.1073/pnas.1913179117>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [13] De Castro Miró, M. *Diagnóstico genético de las distrofias hereditarias de retina mediante secuenciación masiva de nueva generación (NGS)*. Tesis doctoral, Universitat de València, 2017. Repositorio UV. Disponible en <https://roderic.uv.es/handle/10550/61138>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [14] Shen, D., Wu, G., & Suk, H. Deep Learning in Medical Image Analysis. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 19(1), 221–248, 2017. Disponible en <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071516-044442>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [15] Verana Health. Why Real-World Data is Key to Providing Insights Into Retinitis Pigmentosa, emés el 20 de noviembre de 2024. Disponible en <https://veranahealth.com/why-real-world-data-is-key-to-providing-insights-into-retinitis-pigmentosa/>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [16] Hartong, D. T., Berson, E. L., & Dryja, T. P. Retinitis pigmentosa. *The Lancet*, vol. 368, núm. 9549, pp. 1795–1809, 2006. Disponible en [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69740-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69740-7). Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [17] Ferreira, H., Marta, A., Machado, J., Couto, I., Marques, J. P., Beirão, J. M., & Cunha, A. Retinitis Pigmentosa Classification with Deep Learning and Integrated Gradients Analysis. *Applied Sciences*, vol. 15, núm. 4, art. 2181, 2025. Disponible en <https://doi.org/10.3390/app15042181>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [18] Stevenson, S. How deep learning may play a role in predicting retinitis pigmentosa visual impairment, emés el 14 de març de 2023. Disponible en <https://www.opthalmologytimes.com/view/how-deep-learning-may-play-a-role-in-predicting-retinitis-pigmentosa-visual-impairment>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [19] Issa, Mohamad et al. Applications of artificial intelligence to inherited retinal diseases: A systematic review. *Survey of Ophthalmology*, vol. 70, núm. 2, pp. 255–264.
- [20] Societat Espanyola de Ciències de la Computació i Llenguatges (SECal). Aplicaciones de la Teoría de la Información en Genómica, sense data. Disponible en <https://www.secal.es>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [21] N.D. Un algoritmo encuentra indicios de enfermedades en la parte del ADN que teóricamente no servía para nada, emés el 21 d’abril de 2025. Disponible en <https://media.lavozdegalicia.es/noticia/sociedad/2025/04/21/algoritmo-encuentra-indicios-enfermedades-parte-adnconsidera-inutil/00031745236367256507381.htm>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [22] Wang, Y., Juroch, K., Chen, Y., Ying, G., & Birch, D. G. Deep Learning-Facilitated Study of the Rate of Change in Photoreceptor Outer Segment Metrics in RPGR-Related X-Linked Retinitis Pigmentosa. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, vol. 64, núm. 14, art. 31, 2023. Disponible en <https://doi.org/10.1167/iovs.64.14.31>. Consultado el 30 de mayo de 2025.

- [23] ZonaiT. Avances en la terapia génica para la retinosis pigmentaria causada por mutaciones en el gen RPGR, sense data. Disponible en <https://biotech-spain.com/es/articles/avances-en-la-terapia-g-nica-para-la-retinosis-pigmentaria-causada-por-mutaciones-en>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [24] F. Zhang, W. Gu, M. E. Hurles, i J. R. Lupski. Copy Number Variation in Human Health, Disease, and Evolution. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 10(1):451–481, 2009. Disponible en <https://doi.org/10.1146/annurev.genom.9.081307.164217>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [25] Javier, A. ¿Qué es el formato FASTA? Disponible en <https://es.scribd.com/document/540407009/que-es-el-formato-fasta>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [26] National Center for Biotechnology Information (NCBI). FASTA Format for Nucleotide Sequences. Disponible en <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/fastaformat/>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [27] Auton, A., Abecasis, G. R., Altshuler, D. M., Durbin, R. M., Bentley, D. R., Chakravarti, A., Clark, A. G., Donnelly, P., Eichler, E. E., Flicek, P., Gabriel, S. B., Gibbs, R. A., Green, E. D., Hurles, M. E., Knoppers, B. M., Korbel, J. O., Lander, E. S., Lee, C., et al. A global reference for human genetic variation. *Nature*, 526(7571), 68–74, 2015. Disponible en <https://doi.org/10.1038/nature15393>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [28] National Human Genome Research Institute (NHGRI). Introduction to Genomics. Disponible en <https://www.genome.gov/About-Genomics/Introduction-to-Genomics>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [29] EMBL-EBI. Understanding VCF format | Human genetic variation. Disponible en https://www-ebi-ac-uk.translate.google/training/online/courses/human-genetic-variation-introduction/variant-identification-and-analysis/understanding-vcf-format/?_x_tr_sl=en&_x_tr_tl=es&_x_tr_hl=es&_x_tr_pto=sge. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [30] Danecek, P., Auton, A., Abecasis, G., Albers, C. A., Banks, E., DePristo, M. A., Handsaker, R. E., Lunter, G., Marth, G. T., Sherry, S. T., McVean, G., & Durbin, R. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics*, 27(15), 2156–2158, 2011. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btr330>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [31] Genómica computacional. Formato FASTA. *Google Sites*, consultado en mayo de 2025. Disponible en: <https://sites.google.com/site/genomicaciencias/laboratorio/formato-fasta>. Consultado el 30 de mayo de 2025.
- [32] J. L. Rinn i H. Y. Chang. Genome regulation by long noncoding RNAs. *Annual Review of Biochemistry*, 81:145–166, 2012. Disponible en: <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-051410-092902>. Consultado el 30 de mayo de 2025.

APÉNDICE A

Objetivos de Desarrollo Sostenible

Tabla A.1: Grado de relación del trabajo con los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS).

| Objetivos de Desarrollo Sostenible | Alto | Medio | Bajo | No procede |
|--|------|-------|------|------------|
| ODS 1. Fin de la pobreza. | | | | X |
| ODS 2. Hambre cero. | | | | X |
| ODS 3. Salud y bienestar. | X | | | |
| ODS 4. Educación de calidad. | | | | X |
| ODS 5. Igualdad de género. | | | | X |
| ODS 6. Agua limpia y saneamiento. | | | | X |
| ODS 7. Energía asequible y no contaminante. | | | | X |
| ODS 8. Trabajo decente y crecimiento económico. | | | | X |
| ODS 9. Industria, innovación e infraestructuras. | | X | | |
| ODS 10. Reducción de las desigualdades. | X | | | |
| ODS 11. Ciudades y comunidades sostenibles. | | | X | |
| ODS 12. Producción y consumo responsables. | | X | | |
| ODS 13. Acción por el clima. | | | | X |
| ODS 14. Vida submarina. | | | | X |
| ODS 15. Vida de ecosistemas terrestres. | | | | X |
| ODS 16. Paz, justicia e instituciones sólidas. | | | | X |
| ODS 17. Alianzas para lograr objetivos. | | | | X |

Este proyecto presenta un alto grado de relación con el Objetivo de Desarrollo Sostenible (ODS) 3: Salud y bienestar, ya que se centra en el análisis del genoma humano mediante técnicas de Teoría de la Información con el objetivo de identificar la mutación causante de la RP. El diagnóstico temprano y preciso de esta patología permite mejorar la calidad de vida de los pacientes, facilitando un tratamiento adecuado y un mejor seguimiento clínico.

Asimismo, el proyecto se enmarca dentro del ámbito de la investigación científica e innovación tecnológica, lo cual está directamente vinculado con el ODS 9: Industria, innovación e infraestructura. La aplicación de métodos computacionales avanzados en el

análisis genómico contribuye al desarrollo de nuevas herramientas diagnósticas y promueve el progreso en el campo de la bioinformática y la medicina personalizada.

Además, al estar dirigido al estudio de una enfermedad rara, este trabajo tiene una implicación significativa en la reducción de desigualdades, en concordancia con el ODS 10. Las personas afectadas por enfermedades poco frecuentes suelen enfrentar barreras en el acceso al diagnóstico y tratamiento. Este tipo de investigaciones contribuye a reducir esa brecha, promoviendo una atención médica más equitativa y accesible para poblaciones vulnerables.

Finalmente, el uso de herramientas computacionales para la identificación de mutaciones clave en el genoma permite optimizar los recursos utilizados en laboratorios, disminuyendo la necesidad de realizar pruebas físicas extensas. Esto se alinea tanto con el ODS 12: Producción y consumo responsables, al fomentar un uso más eficiente de los recursos disponibles, como con el ODS 11: Ciudades y comunidades sostenibles, en cuanto a la sostenibilidad de las infraestructuras científicas y sanitarias que prestan estos servicios.

APÉNDICE B

??? ?????????????? ????

???? ?????????????? ?????????????? ?????????????? ?????????????? ??????????????