Adaptive Unification Of Graphs Applied To Haplotype Networks

R. H. G. Guiraldelli and R. L. A. Rocha

Abstract— For the proper representation of specimen evolution, the haplotype network is one of the reference graphical modeling tools in phylogenetics and phylogeographic research fields, aggregating high density of mutational information solely by the usage of vertices and edges. Nonetheless, there are several haplotype networks for the same set of data, depending on the selected model of network construction. This article proposes an unified representation of the diverse networks produced - giving new information before inexistent - using adaptive technology and graph theory for its construction.

Keywords— Haplotype network, graphs, adaptivity, NCPA.

I. INTRODUÇÃO

ESTUDO da evolução de espécies, nomeado filogenética, assim como a filogeografia, que relaciona o estudo filogeográfico com as influências ambientais, e a genética de populações processam grande quantidade de dados (e.g. diversas e longas sequências de bases nitrogenadas) para a extração de informações relevantes sobre a evolução de determinada espécie. Para esse objetivo, no entanto, faz-se necessário o uso de ferramentas de suporte eficientes para análise desses dados; a experiência na pesquisa biológica, portanto, guiou a solução para a representação gráfica através de grafos.

Essa representação, chamada na biologia de rede haplotípica, é de amplo uso (como bem verificado através da quantidade de softwares desenvolvidos para esse fim [2][12] e das constantes aplicações especialmente na pesquisa filogeográfica) e parte fundamental do principal algoritmo utilizado na filogeografia, o *Nested Clade Phylogeographic Analysis (NCPA)*[11]; este algoritmo, porém, admite apenas uma única rede haplotípica de entrada para análise quando, na verdade, várias hipóteses de redes existem para o mesmo conjunto de dados.

Para uma melhor representação da realidade evolutiva das espécies, independentemente do modelo proposto para formação da rede haplotípica, propõe-se o uso de adaptatividade para unificação das diversas instâncias de redes existentes para o mesmo conjunto de dados em uma única rede, adicionando, ainda, informações de probabilidade para melhores escolhas de caminhos evolutivos.

Assim, este artigo se organiza da seguinte forma: primeiramente, esta seção introdutória; a seção 2 descreve a rede haplotípica e as técnicas de sintetização existentes; a próxima seção explica, brevemente, o conceito de adaptatividade; então, a seção discursiva sobre a técnica proposta para unificação das redes, com exemplo ilustrativo; por fim, na seção 5, as conclusões, propondo, ainda, trabalhos futuros.

II. REDES HAPLOTÍPICAS

Particularmente no estudo da genética de populações, o sequenciamento do genoma de diversos indivíduos transformou-se em ferramenta básica para a obtenção de dados e realização de diversas estudos, porém não é utilizado como única ferramenta para tais objetivos. Complementarmente existe, para as atividades de análise dos dados, a necessidade de uma ferramenta que relacione os indivíduos amostrados através de características comuns e que sintetize, em uma representação bastante simplificada e de imediata compreensão, grande densidade de informação.

satisfazer esses requisitos, naturalmente convergiu-se para representações visuais tão comumentemente utilizadas para fins didáticos, especialmente através de diagramas onde elementos e suas relações são imediatamente simbolizados. Tais notações, matematicamente formalizados através da teoria de grafos, tornaram-se escolha para representar a rede haplotípica, representando os haplótipos da população (de mesma espécie) amostrada através de vértices e seus relacionamentos, simbolizando as diferencas haplotípicas mensuradas por distanciais mutacionais, representadas por arestas. É importante notar que uma rede haplotípica faz sentido, apenas, com dados coletados de populações da mesma espécie, avaliando diferenças sutis no material genético sequenciado entre os indivíduos da espécie em estudo.

Existem, para a construção dessas redes, alguns métodos, cada um apresentando uma particularidade, produzindo modelos de grafo diferentes entre si. Tais modelos, descritos brevemente em [1], são: (a) minimum spanning tree; (b) statistical parsimony e; (c) full median. A literatura destaca os métodos (a) e (b) com maiores enfoques, especialmente o último devido a sua escolha como metodologia implementada no aplicativo TCS [2], pioneiro na automação da construção de redes haplotípicas e produto de pesquisa científica do biólogo Alan Templeton.

R. H. G. Guiraldelli, Escola Politécnica da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. rguira@usp.br

R. L. A. Rocha, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, Brasil, rlarocha@usp.br

A Figura 1, abaixo, representa uma rede haplotípica extraída de [3] sintetizada utilizando-se o aplicativo supracitado.

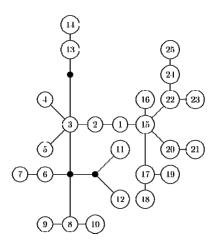


Figura 1. Rede haplotípica de uma população de *Drosophila melanogaster* [3], com representação semelhante às saídas do aplicativo Hapstar[12].

De maneira geral, as redes haplotípicas são representadas como grafos não-orientados, com os vértices representando os diversos haplótipos amostrados e nomeados por números inteiros diferente de zero; os vértices nomeados por zero têm como função exprimir os haplótipos não existentes no conjunto em análise, porém necessários para a manutenção da continuidade do diagrama. Na Figura 1, os vértices do tipo zero são representados pelos vértices negros.

Não é raro deparar-se, na literatura, com redes haplotípicas onde os vértices contém, adicionalmente, informação de frequência haplotípica amostrada. Para tal significância, o raio do limite circunscricional envolvendo o vértice varia proporcionalmente à frequência do haplótipo.

Por fim, as arestas representam distância mutacional de valor unitário. Por vezes, no entanto, ao invés da adição de haplótipos do tipo zero, marcações perpendiculares às arestas são adicionadas para simbolizar distância mutacional maior de valores maiores que um: cada traço adicional aumenta em um o valor da distância mutacional entre os haplótipos conectados.

III. ADAPTATIVIDADE

Os dispositivos computacionais tradicionais, como os diversos tipos de autômatos ou a máquina de Turing, são formalismos que representam dispositivos computacionais de grande utilidade para a representação e reprodução de algoritmos. Em particular, os autômatos são dispositivos muito simples (se comparados a outras representações de dispositivos computacionais) e de fácil entendimento até mesmo ao leigo, porém têm poder de expressividade limitada — restringem-se à representatividade de linguagens livres-decontexto [4]; a máquina de Turing, por outro lado, apresenta maior complexidade para a representação de algoritmos, porém com a capacidade de aceitar, até mesmo, as linguagens recursivamente enumeráveis, hierarquizadas como tipo-0

(zero) na Hierarquia de Chomsky [4].

Contudo, embora possuam grande capacidade de representação de algoritmos e decisão sobre linguagens, os dispositivos de computação tradicionais são inflexíveis quanto a mudanças em tempo de execução. (A máquina de Turing universal, no entanto, é uma exceção: por possuir em sua fita de entrada a definição da máquina de Turing que irá interpretar, podendo, portanto, alterar as regras daquela. [4]) Esta limitação, embora aparentemente desprezível, mantém forte relação com aprendizado [5] e com o poder computacional do dispositivo [6].

Na busca por modelos automodificáveis tão expressivos quanto autômatos, o conceito de adaptatividade emergiu, sendo matematicamente formalizado para aplicação em dispositivos computacionais [7]. Neste, um dispositivo adaptativo é representado pelo par ordenado $AD = (ND_0, AM)$ com:

- ND₀ um dispositivo computacional não-adaptativo;
- AM um mecanismo adaptativo tal que AM ⊆ BA × NR × AA e NR seja o conjunto de regras de ND₀;
- BA e AA são conjuntos de funções adaptativas, de forma que ambos contenham a ação vazia (ε∈ BA∪AA).

Assim, é possível modificar o conjunto de transições do dispositivo subjacente ND_0 através de sequências de operações de inclusão e remoção definidas pelas funções adaptativas anterior (BA) e posterior (AA) à transição de ND_0 em execução.

Descritivamente, a adaptatividade é uma caminhada sobre um possível espaço de (todos os) dispositivos de uma determinada classe (e.g., autômatos) onde as funções adaptativas escolhem uma instância particular deste espaço para a execução do passo computacional não-adaptativo. É importante ressaltar que as funções adaptativas podem ser classificadas em *anterior* ($F_B \in BA$) e *posterior* ($F_A \in AA$), representando a ordem de execução destas em relação à transição não-adaptativa do dispositivo ND_k .

IV. PROPOSTA DE ALGORITMO ADAPTATIVO

Atualmente o uso de redes haplotípicas, especialmente aquelas geradas por sistemas computacionais como o aplicativo TCS, é de grande utilidade para os estudos de filogenética e filogeografia, automatizando o processo não-imediato de construção da rede utilizando, majoritariamente, a técnica conhecida como a "parsimônia estatística" [2].

No entanto, o uso dessas ferramentas produz como resultado uma única rede haplotípica representando, unicamente, uma instância entre os diversos modelos existentes (como visto na seção II); esta unicidade de simbologia, consequentemente, guia a inferência dos processos evolutivos e mutacionais sob a perspectiva de um único modelo de análise dos dados. O uso de informações enganosas na análise filogeográfica, por sua vez, direciona a

pesquisa científica para conclusões falsas; esse efeito ocorre, ainda, quando essas informações provêm da rede haplotípica[1].

Buscando auxiliar os estudos biológicos de filogeografía, propõe-se a unificação dos modelos geradores da rede haplotípica com o objetivo de, independentemente da modelagem escolhida, retratar os eventos naturais da melhor maneira observada e mais coerentemente possível. No entanto, para a utilização do método NCPA, um único grafo se faz necessário e, assim, tal unificação vai além daquela de conceitos biológicos e dos modelos e inclui a dos próprios grafos, suportada pelo uso das teorias de grafos [10] e conjuntos.

Para a ocorrência desta, o uso de tecnologia adaptativa se mostra extremamente eficaz e adere-se naturalmente à representação gráfica da rede haplotípica, uma vez que grafos mantém morfismo (através da aplicação de funtores [8]) com autômatos, dispositivos computacionais sobre os quais a tecnologia adaptativa foi originalmente concebida.

A estratégia se traduz na busca, em todos os elementos do conjunto de redes haplotípicas para determinada população, pelo vértice com mínimo valor de Centrality(v_i), expansão do conceito de centralidade de vértice [10, p.9] para um conjunto de grafos. Tal métrica é definida a partir de duas outras funções, CentralityDegree(v_i , G) e Pertinence(v_i , G), e do conceito do valor de menor caminho, $d(v_i, v)$, entre dois vértices, como se segue:

CentralityDegree(
$$V_i$$
, G) = max { $d(V_i, V)$ } | $V \neq V_i \land \forall V \in V \land V_i \in V \land G = (V, A)$
Pertinence(V_i , G) =
$$\begin{cases} 1, \text{ se } V_i \in V \text{ para } G = (V, A) \\ 0, \text{ caso contrário} \end{cases}$$

$$\sum_{k=0}^{N-1} \text{CentralityDegree}(V, G_k)$$
Centrality(V_i) =
$$\sum_{k=0}^{N-1} \text{Pertinence}(V, G_k)$$

Caso haja diversos vértices com o mesmo valor (mínimo) de Centrality(V), toma-se por escolha aqueles de tipo zero.

O processo de busca acima descrito seleciona, prioritariamente, os vértices representativos de aspectos centrais do grafo, apresentando alta densidade de informação por ocuparem posições-chave na formação dos diversos ramos do grafo.

Após encontrado os nós com as propriedades acima enunciadas, inicia-se a busca por semelhanças entre os diversos grafos baseados no nó em análise, formando um novo grafo (nomeado grafo unificador) compartilhando as propriedades de destaque entre os diversos grafos e adicionando valores às arestas. Formalmente, para um vértice V_i , o conjunto dos vértices vizinhos de V_i no grafo unificador será $\bigcup_k \left\{ v_j^k \middle| v_j^k \right\}$ seja vizinha de v_i no grafo k; o valor de contagem da quantidade de arestas unindo o vértice V_i com

um vértice v_j qualquer é determinado pela função

Count
$$(\mathbf{v}_i, \mathbf{v}_j) = \sum_{k=0}^{N-1} \mathrm{Id}(\mathbf{G}_k)$$
, onde
$$\mathrm{Id}(\mathbf{G}_k) = \begin{cases} 1, & \text{se } \{\mathbf{v}_i, \mathbf{v}_j\} \in \mathbf{A}_k \land \mathbf{G}_k = (\mathbf{V}_k, \mathbf{A}_k) \\ 0, & \text{caso contrario} \end{cases}$$

é a função característica do conjunto gerado pela união em relação a aresta e N representa a quantidade de redes haplotípicas.

Por construção, inicialmente definem-se os conjuntos $V_{\cup} = A_{\cup} = \emptyset$ do grafo unificador $G_{\cup} = (V_{\cup}, A_{\cup})$. Durante a busca por arestas semelhantes nas N redes haplotípicas, para cada vértice V_i em estudo, caso encontrada um elemento $\{V_i, V_j\} \in A$ da relação, então uma função adaptativa prévia F_B é disparada adicionando o vértice V_j em V_{\cup} e criando uma aresta $\{V_i, V_j\}$ no conjunto A_{\cup} .

Após a inserção do nó V_j , uma função adaptativa posterior F_A remove a aresta $\{V_i, V_j\}$ e adiciona a aresta rotulada por ℓ , representada da forma $(\{V_i, V_j\}, \ell)$, onde $\ell \in \{0,1,2,...\}$ é o rótulo da transição atribuído pela função de contagem.

O grafo unificador, por fim, conterá todos os nós (ou haplótipos) dos N grafos concorrentes gerados pelos modelos iniciais indicando, através dos rótulos, as conexões com maior probabilidade de ocorrência após a unificação dos modelos. Espera-se, assim, predizer a rede haplotípica com maior compatibilidade com os fenômenos observados na natureza e que melhor contribua com as inferências do método NCPA ou outros métodos de estudo bio-evolutivos.

A. Exemplo Ilustrativo

Exemplificando a aplicação da técnica previamente descrita, utiliza-se como entrada os três grafos representados pelas Fig. 2, Fig. 3 e Fig.4, interpretados como três redes haplotípicas diferentes (de até quatro haplótipos) para um conjunto de dados filogenéticos hipotético. É imediata a observação da diferença entre essas redes, expressando relações (de mutação) não-equivalentes entre os haplótipos nas diferentes figuras.



Figura 2. Rede haplotípica de quatro haplótipos (ou grafo G_1), com mutações ocorrendo sequencialmente.

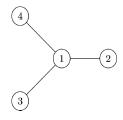


Figura 3. Rede haplotípica de quatro haplótipos (ou grafo G_2), com todas as mutações diretamente derivadas do haplótipo 1.

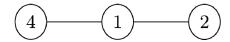


Figura 4. Rede haplotípica de três haplótipos (ou grafo G_3), com mutações ocorrendo sequencialmente.

Das figuras, elege-se o *haplótipo 1* como o centro de massa (conforme indicado na TABELA I CentralityDegree(v,Gk) e Centrality(v) calculados para todos os vértices e grafos.) e inicia-se, a partir deste, a formação do grafo unificador G_{\cup} , adicionando-se ao conjunto V_{\cup} o *vértice 1*. Então, percorre-se os grafos G_1 a G_3 buscando todos os nós que mantém a relação $\{1,k\}$. E.g., de G_1 verifica-se a relação $\{1,2\}$, fazendo $V_{\cup} = \{1,2\}$ e $A_{\cup} = \{\{1,2\}\}$. A função adaptativa posterior F_A é então executada, removendo $\{1,2\}$ de A_{\cup} e adicionando, $(\{1,2\},1)$, fazendo-no $A_{\cup} = \{(\{1,2\},1)\}$; este último nada mais é que a aresta $\{1,2\}$ nomeada pelo rótulo 1, simbolizando o número de vezes que a relação foi encontra nos conjuntos A dos grafos analisados até então.

Vértice	G_1	G_2	G_3	Centrality(v)	
1	3	1	1	5/3	
2	2	2	2	6/3	
3	2	2	-	4/2	
4	3	2	2	7/3	

TABELA I CentralityDegree(v, G_k) e Centrality(v) calculados para todos os vértices e grafos.

Esse procedimento algorítmico é repetido até o momento em que $V_{\cup} = \bigcup_{k=1}^{3} V_{k}$, $A_{\cup} = \bigcup_{k=1}^{3} A_{k}$ e todas as arestas estejam rotuladas com o valor da frequência que aparecem no conjunto de grafos. Nesta configuração, portanto, temos o grafo G_{\cup} conforme indicado na Fig. 5.

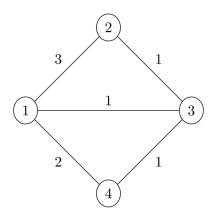


Figura 5. Grafo unificador G_{\perp} .

Nota-se que G_{\cup} mantém as relações das três redes haplotípicas de entrada com a informação adicional de frequência em que as relações (mutacionais) ocorrem. Desta nova representação, é possível uma análise mais abrangente da evolução de populações, mesmo para processos como o NCPA.

A notação em forma de grafo cíclico, embora apresenta uma grande densidade de informação, não apresenta uma trajetória linear e determinística dos eventos representados; assim, na análise da rede de haplótipos, é preferível a representação por árvores (grafos acíclicos) informando, assim, um único curso evolutivo para as populações em estudo.

Assim, o procedimento para extração de árvores a partir de uma rede de haplótipos unificada como o da Fig. 5, baseia-se, simplesmente, em manter a aresta de maior peso associada ao vértice; porém, caso exista mais de uma aresta de maior peso associada, escolhe-se aquela relacionada com o vértice de maior pontuação $Score(V_i)$, onde:

Weight(v, v')= $I \mid (\{v, v'\}, I)$ seja um par ordenado de aresta e peso da aresta para o grafo em análise.

$$Score(v_i) = \frac{\sum_{\forall v_j \in V_{\cup}} Weight(v_i, v_j)}{\sum_{\forall \{v, v'\} \in A_{\cup}} Weight(v, v')} \times \frac{Degree(v_i)}{\max\limits_{\forall v \in A_{\cup}} \left\{ Degree(v) \right\}} \times \frac{\min\limits_{\forall v \in A_{\cup}} \left\{ CentralityDegree(v) \right\}}{CentralityDegree(v_i)} \times \frac{\min\limits_{\forall v \in A_{\cup}} \left\{ Centrality(v) \right\}}{Centrality(v_i)}$$

Da Fig. 5 podemos extrair três árvores distintas (Fig. 6, Fig. 7 e Fig. 8) se mantido, apenas, os vértices com maiores pesos. Contudo, o vértice de número 3 têm as três arestas associadas a si com o mesmo peso (de valor unitário), possibilitando a múltipla extração de árvores. Com essa restrição, o sistema de pontuação (TABELA II) é aplicado aos vértices relacionado com as três arestas para a seleção daquele com maior probabilidade de justificar uma evolução linear dos haplótipos.

v_i	1	2	3	4
$\sum_{\forall v_j \in V_{\cup}} Weight(v_i, v_j)$	6	5	3	3
$Degree(v_i)$	3	2	3	2
CentralityDegree (v_i)	1	2	1	2
Centrality (v_i)	5/3	6/3	4/2	7/3
$Score(v_i)$	0.353	0.082	0.147	0.042

TABELA II. Valores utilizados no cálculo de Score (v_i) para cada vértice v_i do grafo $G_{||}$.

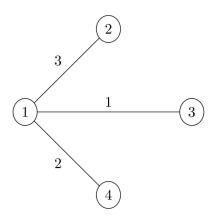


Figura 6. Árvore T_1 derivado de G_1 .

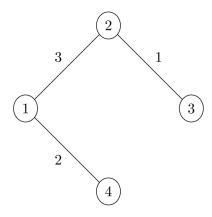


Figura 7. Árvore T_2 derivada de G_{ij} .

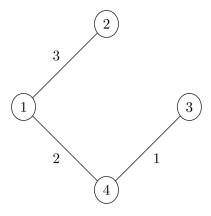


Figura 8. Árvore T_3 derivada de G_1 .

Dos valores de $Score(V_i)$ apresentados na TABELA II, temos como seleção a árvore T_1 (Fig. 6), definindo a ligação do vértice 3 ao vértice 1.

V. CONCLUSÃO

Embora a notação gráfica da rede haplotípica seja uma ferramenta que agregue grande diferencial à pesquisa filogenética e filogeográfica, a não uniformidade nas representações para um mesmo conjunto de dados (devido aos diferentes modelos de construção das redes) torna-na objeto entrópico nas análises das populações [1]; a seleção de um

único modelo, também, leva a perda de informações como a frequência com o qual algumas mutações ocorrem nas diversas modelagens dos dados.

A geração de um grafo unificador, por sua vez, unifica todas as propriedades fornecidos por cada um dos métodos de sintetização de redes haplotípicas além de adicionar novas informações, possibilitando, na análise, extrair novas relações desta nova representação, como exemplo a árvore T₁ (Fig. 6) e, ainda, se ater ao antigo modelo de preferência.

Por fim, a adaptatividade traz benefícios na construção do grafo unificador, possibilitando não apenas a construção do mesmo em tempo de execução, mas também sua modificação para a inserção dos rótulos numéricos nas arestas representando a função de contagem das relações entre vértices.

A. Trabalhos Futuros

Tem-se em vista a complementação teórica do método proposto neste artigo, projetando-se uma modelagem de inferência indutiva para a extração de um conjunto de subgrafos ótimos segundo a ótica bio-evolutiva; neste, ainda, é possível realizar a extração do grafo unificador diretamente dos dados de entrada, independentemente dos métodos de síntese de rede haplotípica existentes.

Sugere-se, ainda, modificações no aplicativo TCS [2] para que gere como saída uma rede haplotípica baseado no grafo unificador para as múltiplas possíveis redes concebidas pela aplicação, ao invés de única rede através do método *statistical parsimony*.

Finalmente, também há a possibilidade de alterar o aplicativo GeoDis [9] para que suporte um grafo unificador como entrada de rede haplotípica e, então, realizar múltiplos processamentos paralelos do nested clade phylogeographic analysis.

AGRADECIMENTO

O trabalho aqui reportado recebeu auxílio através do projeto FAPESP 2010/09586-0.

REFERÊNCIAS

- S. Joly, M. Stevens, and B. J. van Vuuren, "Haplotype networks can be misleading in the presence of missing data," *Systematic Biology*, vol. 56, no. 5, pp. 857–862, 2007.
- [2] M. Clement, D. Posada, and K. A. Crandall, "Tcs: a computer program to estimate gene genealogies," *Molecular Ecology*, vol. 9, no. 10, pp. 1657–1660, 2000.
- [3] A. R. Templeton, E. Boerwinkle, and C. F. Sing, "A cladistic analysis of phenotypic associations with haplotypes inferred from restriction endonuclease mapping. i. basic theory and an analysis of alcohol dehydrogenase activity in drosophila," *Genetics*, vol. 117, pp. 343–351, October 1987.
- [4] C. Papadimitriou and H. Lewis, Elements of Theory of Computation, Prentice-Hall, Ed. Prentice-Hall, 1998.
- [5] H. Pistori and J. J. Neto, "Decision tree induction using adaptive fsa," CLEI Eletronic Journal, vol. 6, 2003.
- [6] R. L. A. Rocha and J. J. Neto, "Autômato adaptativo, limites e complexidade em comparação com máquina de Turing," in *Proceedings* of the second Congress of Logic Applied to Technology - LAPTEC 2000. São Paulo: Faculdade SENAC de Ciências Exatas e Tecnologia, 2000, pp. 33–48.

- J. J. Neto, Lecture Notes on Computer Science. Springer-Verlag, 2001, ch. Adaptive Rule-Driven Devices - General Formulation and Case Study, pp. 234–250.
- [8] B. C. Pierce, Basic Category Theory for Computer Scientists. MIT Press, 1991.
- [9] D. Posada, K. A. Crandall, and A. R. Templeton, "Geodis: A program for the cladistic nested analysis of the geographical distribution of genetic haplotypes," *Molecular Ecology*, vol. 9, no. 4, pp. 487–488, 2000.
- [10] R. Diestel, Graph Theory. Springer, 2010.
- [11] A. R. Templeton, "Statistical phylogeography: methods of evaluating and minizing inference errors", *Molecular Ecology*, vol. 13, no. 4, pp. 789–809, April 2004.
- [12] A. G. F. Teacher, D. J. Griffiths, "HapStar: automated haplotype network layout and visualization", *Molecular Ecology*, vol. 11, no. 1, pp. 151–153, January 2011.



Ricardo Henrique Gracini Guiraldelli nasceu em Sorocaba, Brasil, em 10 de março de 1986 e gradou-se em Engenharia de Computação pela Escola Politécnica da Universidade de São Paulo. Desde 2009 é mestrando na EPUSP em Engenharia de Computação e membro da ACM (Association for Computing Machinery), atuando na área de Bioinformática e Fundamentos de Computação.



Ricardo Luis de Azevedo da Rocha é natural do Rio de Janeiro-RJ e nasceu em 29/05/1960. Graduou-se em Engenharia Elétrica modalidade Eletrônica na PUC-RJ, em 1982. É Mestre e Doutor em Engenharia de Computação pela EPUSP (1995 e 2000, respectivamente). Suas áreas de atuação incluem Tecnologias Adaptativas, Fundamentos de Computação e Modelos Computacionais.

Dr. Rocha é membro da ACM (Association for Computing Machinery), do IEEE (Institute of Electrical and Electronics Engineers) e da SBC (Sociedade Brasileira de Computação).