## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

- La inferencia filogenética bajo el **criterio de máxima verosimilitud** se basa en el uso de una cantidad llamada **log-likelihood**, en base a la cual evaluan las topologías alternativas. Se trata de encontrar aquella que **maximiza este valor.**
- El **log-likelihood** es el ln de la verosimilitud, que es igual a la probabilidad de los datos observados dadas una topología particular ($t$), set de longitudes de rama ($u$) y modelo de sustitución ($f$).
- Nótese que **la verosimilitud no representa la probabilidad de que un árbol sea correcto**; ésta viene determinada por la **probabilidad posterior** de la estadística bayesiana.
- Hablar de la "verosimilitud de un conjunto de datos" no es correcto ya que la verosimilitud está en función de los parámetros de un modelo estadístico, y no de los datos ($D$). **Los datos son constantes siendo el modelo lo que es variable al calcular verosimilitudes**. Se puede por lo tanto hablar de verosimilitudes como funciones de modelos o hipótesis ($H$). La verosimilitud de una hipótesis, dado un set de datos, es igual a la probabilidad condicional de los datos dada una hipótesis.

Formalmente: $L(H|D) = Pr(D|H) = Pr(D|tuf)$

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

$$L(H|D) = Pr(D|H) = Pr(D|tuf)$$

- Lo mejor es pensar en los **árboles como modelos**. La verosimilitud de una topología particular ($t$) será la probabilidad de los datos dada esa topología. Cada topología tiene como parámetros las longitudes de rama ($u$), y la verosimilitud de un modelo de sustitución ($f$) cambia según varíen los valores de los parámetros de longitud de rama
- Por lo tanto se puede concebir la filogenética bajo el criterio de máxima verosimilitud como un **problema de selección de modelos**. Se trata de encontar las estimas de los valores de cada parámetro del modelo y luego comparar las verosimilitudes de los distintos modelos, escogiendo el mejor (topología) en base a su verosimilitud
- La topología que hace de nuestros datos el resultado evolutivo más probable (dado un modelo de sust.) es la estima de máxima verosimilitud de nuestra filogenia. Por tanto, al contrario que bajo los criterios de optimización de MP, LS o ME, **bajo ML se trata de seleccionar modelos y parámetros que maximicen la función de optimización**.

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

- **Cálculo del valor de máxima verosimilitud para una sola secuencia o árbol trivial con un solo nodo**

primeros 25 nt del gen *rpoB* de *Bradyrhizobium japonicum* USDA110

**ATGGCGCAGCAGACATTCACCGGTC**

$$L = p_A p_T p_G p_G p_C p_G p_C p_A p_G p_C p_A p_G p_A p_C p_A p_T p_T p_C p_A p_C p_C p_G p_G p_T p_C$$
$$= p_A^{nA} p_C^{nC} p_G^{nG} p_T^{nT} = p_A^{6} p_C^{8} p_G^{7} p_T^{4}$$

$$\ln L = 6 \ln(p_A) + 8 \ln(p_C) + 7 \ln(p_G) + 4 \ln(p_T)$$

$p_A = 0.24$
$p_C = 0.32$
$p_G = 0.28$
$p_T = 0.16$

- A primera vista podemos sospechar que el modelo de F81 se va a ajustar mejor a los datos que el de JC69, ya que las frecuencias de nucleótidos difieren claramente de 0.25, con exceso de Cs y defecto de Ts

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

- **Cálculo del valor de máxima verosimilitud para una sola secuencia o árbol trivial con un solo nodo**

primeros 25 nt del gen *ropB* de *Bradyrhizobium japonicum* USDA110

**ATGGCGCAGCAGACATTCACCGGTC**

- Cálculo de ln$L$ bajo el modelo de JC69

$$\ln L = 6 \ln(p_A) + 8 \ln(p_C) + 7 \ln(p_G) + 4 \ln(p_T)$$
$$= 6 \ln(0.25) + 8 \ln(0.25) + 7 \ln(0.25) + 4 \ln(0.25) = -29.1$$

- Cálculo de ln$L$ bajo el modelo de F81

$$\ln L = 6 \ln(p_A) + 8 \ln(p_C) + 7 \ln(p_G) + 4 \ln(p_T)$$
$$= 6 \ln(0.24) + 8 \ln(0.32) + 7 \ln(0.28) + 4 \ln(0.16) = -26.6$$

$p_A = 0.24$
$p_C = 0.32$
$p_G = 0.28$
$p_T = 0.16$

-Por lo tanto el modelo de F81 se ajusta mejor a los datos ($-26.6 > -29.1$). Esta diferencia será tanto más notoria cuanto más larga sea la secuencia.

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

• **Verosimilitud del árbol más sencillo (dos nodos y una rama) bajo el modelo de JC69**

1 ——— 2 La long. de la rama equivale a la dist. evolutiva entre las hojas o nodos terminales

$P_{ii}(at) = Pr$ (i en sec. 1|i en sec. 2) = $¼(1 + 3e^{-4at})$
$P_{ij}(at) = Pr$ (j en sec. 1|i en sec. 2) = $¼(1 - e^{-4at})$

• Probabilidades de transición JC:
1.- prob. de "no cambio, de i a i"
2.- prob. de cambio, de j <-> i

GA ——— GG

$L$ = $L_1$ x $L_2$
= [Pr (G) Pr(G->G)] [Pr (A) Pr(A->G)]
= [¼][¼ (1 + $3e^{-4at}$)] [¼] [(¼ - ¼$e^{-4at}$) ]
= [1/16 (1 + $3e^{-4at}$)] [1/16 (1 - $e^{-4at}$)]

• Cálculo de la verosimilitud por sitio (**site likelihood**) : para cada sitio $L_k$ hay que calcular:

prob. incondic. x prob. condicional

* * * GAATCCGA ——— GGATGCGT * * *

$L = L_1 L_2 \ldots L_8$ = [1/16 (1 + $3e^{-4at}$)]$^5$ [1/16 (1 - $e^{-4at}$)]$^3$

$\ln L = 5 \ln [1/16 (1 + 3e^{-4at})] + 3 \ln [1/16 (1 - e^{-4at})]$

• Cálculo de la **verosimilitud global** para un "árbol" con 2 nodos terminales y $n$ nucleótidos alineados:

$L$ = ? $L_k$

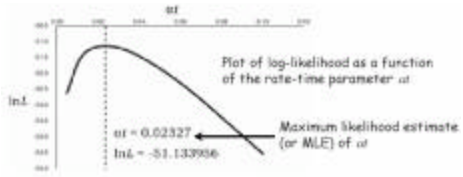
## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

• **Estima del parámetro compuesto $at$ del modelo JC69 para los primeros 30 nts de la ?? globina de gorila y orangutan**

```
gorilla    GAAGTCCTTGAGAAATAAACTGCACACACTGG
orangutan  GGACTCCTTGAGAAATAAACTGCACACACTGG
```

$$L = \left[\left(\tfrac{1}{4}\right)\left(\tfrac{1}{4} + \tfrac{3}{4}e^{-4at}\right)\right]^{28}\left[\left(\tfrac{1}{4}\right)\left(\tfrac{1}{4} - \tfrac{1}{4}e^{-4at}\right)\right]^{2}$$

• ¿Cómo estimamos el valor de $at$ ? La estima de máxima verosimilitud se obtiene del análisis de la función de verosimilitud, esencialmente probando diversos valores para el parámetro y determinando cual maximiza la función




$d_{JC69} = 3at$
= 3 (0.0237)
= 0.0474

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

• Esquema del procedimiento del cálulo del valor de verosimilitud de un árbol con 4 OTUs

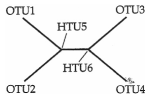
* * * GAATCCGA ——— GGATGCGT * * *
GAATCCGA
GGATGCGT

$L = L_1 L_2 \ldots L_8$ =
= [1/16 (1 + $3e^{-4at}$)]$^5$ [1/16 (1 - $e^{-4at}$)]$^3$

• En un "árbol" con sólo 2 OTUs no tenemos ningún nodo interior o ancestral. El cómputo lo realizamos directamente sobre los datos observados

• La complicación adicional que encontramos para el cálculo de verosimilitudes de árboles con > 3 OTUs radica esencialmente en que tenemos ahora nodos interiores para los que carecemos de observaciones. Se trata de unidades taxonómicas hipotéticas **HTUs**. En este caso, para calcular la verosimilitud del árbol **tenemos que considerar cada posible estado de caracter para cada nodo interior y para cada topología !!!**.

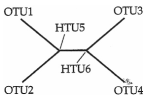
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | ... $n$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| OTU1 | A | A | G | A | C | T | T | C | A | ...N |
| OTU2 | A | G | C | C | C | T | T | C | T | ...N |
| OTU3 | A | G | A | T | A | T | C | C | A | ...N |
| OTU4 | A | G | A | G | G | T | C | C | T | ...N |

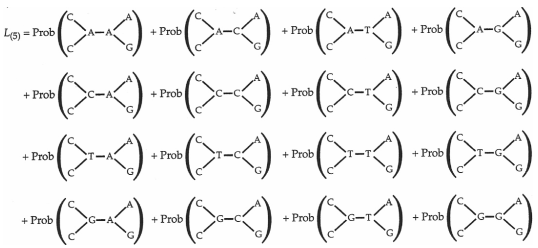



## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

• Esquema del procedimiento del cálculo del valor de verosimilitud de un árbol con 4 OTUs

| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | ... $n$ |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| OTU1 | A | A | G | A | C | T | T | C | A | ...N |
| OTU2 | A | G | C | C | C | T | T | C | T | ...N |
| OTU3 | A | G | A | T | A | T | C | C | A | ...N |
| OTU4 | A | G | A | G | G | T | C | C | T | ...N |




• Para 4 OTUs existen 3 topologías posibles.

Por ello hemos de repetir este cálculo para cada una de ellas con el fin de encontrar la topol. más verosímil

$L = L_{(1)} \times L_{(2)} \times L_{(3)} \times \ldots \times L_{(n)} = \prod_{i=1}^{n} L_{(i)}$

$\ln L = \ln L_{(1)} + \ln L_{(2)} + \ln L_{(3)} + \ldots + L_{(n)} = \sum_{i=1}^{n} \ln L_{(i)}$

• La **verosimilitud para cada sito** representa la suma sobre todas las posibles asignaciones de estados de caracter en todas las ramas interiores de un árbol. La **verosimilitud total** es el producto de las veros. por sitio.

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

- La inferencia filogenética bajo el criterio de máxima verosimilitud implica
  **MUCHISIMO TRABAJO COMPUTACIONAL**
  **(=> mucho tiempo de trabajo de procesador)**

- Las verosimilitudes globales han de ser maximizadas para cada topol. Para ello necesitamos:
  - encontrar EMV para cada long. de rama y cada parámetro del modelo de sust.
  - ello implica calcular la verosimilitud global muchas, pero que muchas veces

- En la práctica los **árboles de ML se estiman en múltiples ciclos**, en los que se van **optimizando secuencialmente los diversos parámetros** del modelo de sustitución y longitudes de rama

- Por lo general **se comienzan estos ciclos partiendo de una topología** obtenida por un método rápido, tal como **NJ o MP**. Sobre esta topología se ajustan los valores de los parámetros del modelo. A continuación se emplea algún método de reajuste de topología (branch swapping) y se ajustan las longitudes de rama, cerrando un ciclo. En múltiples ciclos consecutivos se va optimizando la topología y long. de rama, **hasta que convergen en la estima de máxima verosimilitud global**

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

¿Vale la pena tanto trabajo?

- **Uso eficiente de la información**
  - la MP ignora los sitios constantes y autapomórficos
  - los métodos de distancia pierden toda la información no capturada en la matriz de distancias pareadas
  - la inferencia bajo **MV es más consistente que** los métodos anteriores cuando existe heterogeneidad en longitudes de rama (inconsistencia en **MP**) y cuando el diámetro de los árboles es grande (inconsistencia en **métodos de distancia**)

- **Generalidad de modelo**
  - algunos modelos pueden implementarse en métodos de distancia, pero la estima del valor de los parámetros no puede hacerse de manera precisa y consistente
  - **los modelos más complejos sólo pueden implementarse bajo MV**

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

- **Prueba de razón de verosimilitud (likelihood ratio test, LRT) para la selección de modelos e hipótesis evolutivas**

- Una de las **ventajas** de utilizar modelos explícitos de evolución bajo ML es que se pueden **obtener estimas de todos los parámetros del modelo y optimizarlos conjuntamente**.

- Además, los **parámetros estimados bajo ML tienen varias propiedades estadísticas muy deseables**: a medida que incrementa el tamaño de muestra (long. de sec.) incrementa la probabilidad de convergir con el valor verdadero del parámetro (**consistencia**) y tienen la **menor varianza de entre todas las estimas posibles** con el mismo valor esperado.

- Pero quizás lo más importante es que **ML provee de un marco en el cual evaluar hipótesis evolutivas alternativas de manera rigurosa y objetiva**

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

**1. La relevancia e impacto de los modelos de evolución en filogenética y evol. molecular**

- Los modelos no son sólo importantes por sus consecuencias en la estima filogenética, sino que además los son porque la **caracterización del proceso evolutivo** a nivel molecular es **objeto de estudio en sí mismo**, en el ámbito de la evolución molecular.

- Los modelos de evolución **son herramientas poderosas** siempre y **cuando**, a pesar de las simplificaciones que hacen, **describen adecuadamente las características más salientes de los datos y permiten hacer predicciones precisas** sobre el problema bajo estudio.

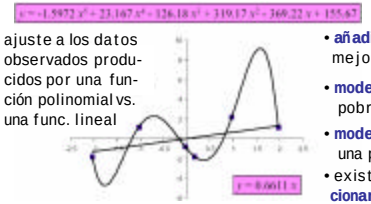
- **El rendimiento de un método se maximiza cuando se satisfacen los supuestos subyacentes**.

- Es conveniente por tanto seleccionar el modelo más adecuado para cada set particular de datos y cuantificar el ajuste de los datos al modelo seleccionado.

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

**2. Selección de modelos de sustitución de secuencias de DNA**

- En términos generales modelos complejos se ajustan a los datos mejor que los simples. Idealmente **se ha de seleccionar un modelo los suficientemente complejo** (rico en parámetros) como **para describir adecuadamente las características más notables del patrón de sust.** del set de datos, pero no sobreparametrizado para **evitar colinearidad de parámetros (redundancia),** tiempos excesivamente largos de cómputo y estimas poco precisas de los parámetros por excesiva varianza.



ajuste a los datos observados producidos por una función polinomial vs. una func. lineal

- **añadir parámetros** a un modelo generalmente mejora su ajuste a los datos observados
- **modelos infra-parametrizados** conducen a un pobre ajuste a los datos observados
- **modelos supra-parametrizados** conducen a una pobre predicción de eventos futuros
- existen métodos estadísticos para **seleccionar modelos ajustados** a cada set de datos

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

**2. Selección de modelos de sustitución de secuencias de DNA y Proteína**

- Se deben de usar **pruebas estadísticas para seleccionar el modelo que mejor se ajusta a los datos de entre los disponibles**. Este ajuste de los modelos a los datos puede ser evaluado usando pruebas de razones de verosimilitud (likelihood ratio tests, **LRTs**) o usando criterios de información de Akaike o bayesianao (**AIC** y **BIC**, respectivamente). Se puede usar una prueba de LRT para evaluar la capacidad que tiene un modelo particular en ajustar los datos.

- Idealmente debemos de seleccionar el mejor modelo para cada gen o región genómica que queramos analizar. No conviene hacerlo para una supermatriz de alineamientos concatenados. El uso de **modelos particionados** en los que se ajusta el modelo para cada posición de los codones, por cada gen a analizar, resultan generalmente en ajustes globales significativamente mejores que **modelos promediados** para cada gen.

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

**3. Prueba de razón de verosimilitudes (LRT)**

- Una manera natural y muy usada de comparar el ajuste relativo de dos modelos alternativos a una matriz de datos es contrastar las verosimilitudes resultantes mediante la prueba de razones de verosimilitud (RV) ó likelihood ratio test (LRT):

$$? = 2(\log_e L_1 - \log_e L_0)$$

donde $L_1$ es el valor de ML global para la hipótesis alternativa (modelo más rico en parámetros) y $L_0$ es el valor de ML global para la hipótesis nula (el modelo más simple).
**? >= 0 siempre**, ya que los parámetros adicionales van a dar una mejor explicación de la variación estocástica en los datos que el modelo más sencillo.

- Cuando los modelos a comparar están anidados ($L_0$ es un caso especial de $L_1$) el estadístico ? sigue aproximadamente una **distribución $?^2$ con $q$ grados de libertad, donde $q$ = diferencia entre el no. de parámetros libres entre $L_1$ y $L_0$ .**

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

**3. Prueba de razón de verosimilitudes (LRT)**

- El LRT es por tanto una prueba estadística para cuantificar la bondad relativa de ajuste entre dos modelos anidados. Veamos un ejemplo. Vamos seleccionar entre los modelos JC69, F81, HKY85 y TrN93 para el set de datos de mtDNA-primates.nex, considerando sólo las regiones codificadoras y eliminando Lemur_catta, Tarsius_syrichta y Saimiri_scireus y usando un árbol NJ sobre el cual estimar parámetros

| Modelo | -lnL |
|---|---|
| JC69 | 3585.54820 |
| F81 | 3508.04085 |
| HKY85 | 3233.34395 |
| TrN93 | 3232.29439 |

- ¿ Qué podemos concluír de estos valores de –ln*L* en cuanto a la **importancia relativa de los parámetros** considerados por estos modelos en cuanto al nivel de ajuste a los datos que alcanzan ?

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

### 3. Prueba de razón de verosimilitudes (LRT)

| Modelo | -lnL | $H_0$ a rechazar (o hipótesis anidadas a evaluar) |
|---|---|---|
| JC69 | 3585.54820 | |
| F81 | 3508.04085 | 1. igual frec. de bases |
| HKY85 | 3233.34395 | 2. Ti = Tv |
| TrN93 | 3232.29439 | 3. tasas de Ti iguales |
| | | ... |

| modelos | diff. GL = *q* | $X^2$ | *P* | |
|---|---|---|---|---|
| JC-F81 | 3 - 0 = 3 | 155 | 0 | |
| JC-HKY85 | 4 - 0 = 4 | 704.4 | 0 | |
| JC-TrN | 5 – 0 = 5 | 706.4 | 0 | |
| F81-HKY85 | 4 – 3 = 1 | 549.4 | 0 | ← Por lo tanto el modelo seleccionado es el **HKY** |
| F81-TrN | 5 – 3 = 2 | 551.4 | 0 | |
| KHY-TrN | 5 – 4 = 1 | 2.1 | 0.15 | ← |

http://www.fourmilab.ch/rpkp/experiments/analysis/chiCalc.html

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

### 3. Prueba de razón de verosimilitudes (LRT)

| Modelo | -lnL | $H_0$ a rechazar (o hipótesis anidadas a evaluar) |
|---|---|---|
| HKY85 | 3233.34395 | |
| HKY85 +G | 3145.29031 | 1. tasa homogénea de sust entre sitios |
| HKY85 +I+G | 3142.36439 | 2. no existe proporción de sitios invariantes |

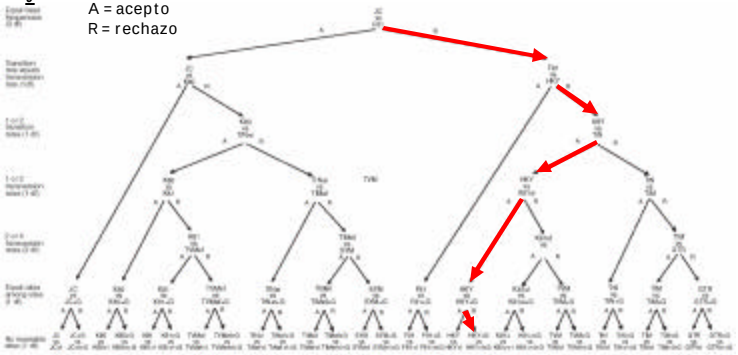
| modelos | diff. GL = *q* | $X^2$ | *P* | |
|---|---|---|---|---|
| HKY85-vs. +G | 1 | 176 | 0 | ← Por lo tanto el modelo seleccionado es el **HKY+G** si tomamos 0.01 como punto de corte, o **HKY+I+G** si usamos alfa = 0.05. |
| HKY85+G vs. I+G | 1 | 5.85 | 0.015 | ← |

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

### 3. Esquema jerárquico de efectuar LRTs partiendo desde el modelo más sencillo (JC69)

$H_0$

A = acepto
R = rechazo



HKY+I+G

## Máxima verosimilitud y estima de parámetros de modelos de sustitución

### 6. Resumen de algunos modelos y sus parámetros libres

- Dado que en los modelos de sust. de DNA la tasa promedio de sustitución se considera = 1 y los parámetros de tasa relativa se escalan de tal manera que la tasa promedio de sust. en equilibrio = 1, el modelo más sencillo (JC69) no tiene ningún parámetro libre, dado que el único parámetro ($\alpha$) a estimar valdrá ¼ en este contexto.

| Modelo | caracter ísticas | no. de parámetros libres |
|---|---|---|
| JC | nst= 1 basefreq= equal | 0 |
| F81 | nst=1 basefreq=uneq | 3 para las *frec. de bases* |
| K2P | nst=2 basefreq=eq | 1 para el *tratio* (ti/tv) |
| HKY85 | nst=2 basefreq=uneq | 4 (1 para *tratio* y 3 para frec. de bases) |
| TrN93 | nst=3 basefreq=uneq | 5 (2 tasas de ti y 3 para freq de bases) |
| GTR | nst=6 basefreq=uneq | 8 (5 para tasas de subst y 3 para freq. de bases) |

| | |
|---|---|
| proporción de sitios invariantes (I) | 1 parámetro libre adicional para pinv |
| distribución gamma (G) | 1 parámetro libre adicional para G |
| ambos combinados (I+G) | 2 parámetros libres adicionales |