



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS
BACHARELADO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Jacson Gabriel Feiten

Envelhecimento e a Teoria da Informação Integrada: Uma análise da regulação da
expressão gênica do hipocampo de ratos

Porto Alegre

2018

Envelhecimento e a Teoria da Informação Integrada: Uma análise da regulação da expressão gênica do hipocampo de ratos

Jacson G. Feiten^{1*}, Tadeu M. Souza^{2}, Mara da Silveira Benfato^{1 } ,

1 Departamento de Biofísica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

2 Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

 These authors contributed equally to this work.

‡ These authors also contributed equally to this work.

✉ Current Address: Departamento de Biofísica, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil

* jacsonfeiten95@gmail.com

Resumo

Sabe-se que o desenvolvimento e a sobrevivência dos seres vivos somente é possível a partir de repressões e ativações da complexa maquinaria molecular. Esse controle da expressão gênica pode ser desregulado por erros causados pelo envelhecimento, como proposto pelas teorias do envelhecimento sob as observações das biomoléculas (Teoria *redox* do Envelhecimento e Teoria da Confiabilidade) e as teorias sob a perspectiva da informação. Foi avaliada a integração da informação de Modelos de Redes Booleanos da expressão gênica no envelhecimento do hipocampo de ratos. Para isso, dados de expressão gênica de microarranjo do hipocampo de ratos (*Rattus norvegicus*) de 3, 6, 9, 12 e 23 meses foram obtidos do banco de dados GEO (*Gene Expression Omnibus*). Após a comparação da expressão de genes do hipocampo de ratos jovens (3 meses) e de ratos mais velhos (23 meses), foram selecionados oito genes com menor valor de *p*-ajustado e com o valor absoluto de $\log_2 \text{fold-change}$ maior ou igual a 1. A partir da expressão desses genes, os Modelos de Redes Booleanos foram gerados. Esses modelos foram simulados e avaliados quanto a integração da informação nos estados correspondentes ao envelhecimento. Foi observado que a quantidade de informação integrada diminuiu ao longo da dinâmica dos Modelos de Redes Booleanos. Esse resultado implica que o envelhecimento possivelmente está relacionado à perda de uma série de benefícios de arquiteturas de redes integradas como economia de conexões, dependência de contexto e memória.

Introdução

O envelhecimento pode ser definido como os efeitos fisiológicos observados ao longo do tempo sobre a escala da duração de vida de um organismo [1]. É um fenômeno marcado pela perda gradual das capacidades físicas e mentais, sendo considerado com um fator de risco para câncer, diabetes, doenças cardiovasculares e doenças neurodegenerativas [2].

Existem várias teorias que objetivam uma explicação para o envelhecimento. Muitas são compatíveis e complementares umas com as outras. A Teoria da Confiabilidade

sugere que o envelhecimento seja o esgotamento de vias redundantes com a mesma função no organismo [3]. Por outro lado, a Teoria *redox* do Envelhecimento propõe que este fenômeno seja um declínio da plasticidade da interação entre o genoma e o exposoma (doenças, infecções, exposições comportamentais, dieta, microbioma, mudanças epigenéticas e mutações). Essa teoria supõe que a deterioração da interação ocorra pelo comprometimento da flexibilidade mitocondrial e bioenergética, pelo decréscimo das capacidades de defesa e perda de fidelidade reprodutiva e fecundidade. Esta teoria leva em conta importantes aspectos do envelhecimento, incluindo falha na manutenção de defesas oxidativas e função imune [4].

Diante deste contexto, o hipocampo, responsável pela aprendizagem e memorização [5], possui sua capacidade reduzida no envelhecimento. Fato resultante de várias modificações, dentre elas, mudança no estado *redox*. A alteração da regulação do estado *redox* intracelular, a qual está associada ao envelhecimento, possui consequências deletérias para função neuronal, tanto estruturais como funcionais (por exemplo plasticidade sináptica) [6].

A comunicação entre células é essencial para a vida de organismos multicelulares, os quais crescem e se desenvolvem mediante proliferação e diferenciação de suas células. A sobrevivência, portanto, está relacionada à capacidade do organismo em responder de maneira apropriada a uma gama de sinais do ambiente [7]. Essas respostas podem ser alteradas com o envelhecimento, as quais dependem de transdução de sinal e fluxo de informação.

A informação, na Teoria da Informação de Shannon (TIS), quantifica o nível de acurácia da decodificação de sinais de entrada em sinais de saída por meio de um canal de comunicação [8], o qual pode ser afetado pelo ruído originado dos efeitos dos erros e danos acumulados ao longo do tempo [9]. Afirmar que o envelhecimento seja a presença de ruído nos canais de transmissão, equivale admitir que o ruído começaria em determinado momento, circunstância que não corresponde à realidade [10]. Esse problema é resolvido quando assumimos que o envelhecimento seja a degradação dos mecanismos de reparo (redundância inicial) do sistema ou a gradual disrupção das vias redundantes. Porém, essas teorias ainda possuem limitações que são superadas pela Teoria da Informação Integrada (TII) ou, em inglês, *Integrated Information Theory* [8]. Esta teoria quantifica a informação de modo intrínseco, sob o ponto de vista do próprio sistema. Além disso, não apenas observa a dependência estatística entre *inputs* e *outputs*, como teorias baseadas na informação de Shannon, porém quantifica a informação perturbando o conjunto de elementos do sistema em todas as formas possíveis [8].

Face ao que foi exposto anteriormente, é possível observar uma convergência de proposições entre as teorias do envelhecimento sob as observações das biomoléculas e as teorias sob a perspectiva da informação. A TII possui o potencial de complementar as explicações para as mudanças do sistema biológico no envelhecimento avaliando a alteração na quantidade de informação integrada ao longo do tempo, definindo os elementos que mais contribuem para a integração da informação e focando nos laços de retroalimentação, tão importantes nos sistemas biológicos.

Até o momento, não existem trabalhos que quantificam a alteração da informação integrada ao longo do envelhecimento. Sabe-se que o desenvolvimento e sobrevivência dos seres vivos somente é possível a partir de repressões e ativações da complexa maquinaria molecular. Esse controle da expressão gênica pode ser desregulado pelos erros causados pelo envelhecimento [10]. Logo, a expressão de muitos genes pode ser afetada. E um meio para avaliar essas alterações é o microarranjo, cujos dados são facilmente obtidos de bancos de dados como o GEO (*Gene Expression Omnibus*) [11]. A relação entre alteração da expressão gênica no envelhecimento e a integração da informação pelo sistema de regulação gênica ainda é uma questão enigmática.

É possível que a quantidade de Informação Integrada diminua no envelhecimento

como o reflexo das alterações de expressão e das interações na rede de genes. Neste trabalho, a Informação Integrada foi avaliada em Modelos de Redes Booleanos gerados a partir de dados de expressão gênica de hipocampo de ratos e comparada com a quantidade de informação integrada gerada por redes booleanas aleatórias.

Materiais e Métodos

Dados de expressão gênica

Os dados de expressão de microarranjos *Affymetrix* foram obtidos do banco *Gene Expression Omnibus* (GSE9990). Os dados analisados foram referentes ao hipocampo de *Rattus norvegicus* (F344 - machos). Foram avaliadas 5 diferentes idades (3, 6, 9, 12 e 23 meses) com 9 a 15 animais por grupo, um microarranjo por animal. As amostras excluídas da análise foram *GSM252521.CEL* (6 meses) e *GSM252551.CEL* (23 meses) por apresentarem valores de expressão muito alterados.

Softwares e bibliotecas

O ambiente *R 2.11.1* [12] e a interface *RStudio 1.0.136* [13], além dos pacotes *Limma 3.3.13* [14], *Biobase 2.38.0* [15] e *GEOquery 2.46.13* [16] foram utilizados para realizar a análise de expressão gênica. Os Modelos de Redes Booleanos foram criados e simulados por meio do *R package BoolNet 2.1.3* [17] e visualizados no *software CytoScape 3.4* [18].

Modelos de Redes Booleanos

Os 8 genes com menor valor de p-ajustado e o valor absoluto de $\log_2 \text{fold} - \text{change} \geq 1$ foram selecionados. O pequeno número de genes deve-se ao fato da biblioteca de *Python 3.5 Pyphi 0.9* [19], utilizada para calcular a integração da informação, não suportar cálculos de redes com mais de 8 elementos. Para a avaliação da informação integrada também foi utilizada a interface disponível em <http://integratedinformationtheory.org/calculate.html>.

Os valores de expressão dessas matrizes foram tornados binários por meio do *package BoolNet*. Utilizou-se o comando *binarizeTimeSeries* com o método *k-means*. Com base nas matrizes anteriormente geradas, as redes booleanas foram construídas pelo método *bestfit* (*maxK = 4* (valor padrão), *returnPBN = TRUE*). O comando retorna uma rede na qual cada gene possui uma ou mais funções de transição, chamada de Rede Booleana Probabilística. Cada função possui uma probabilidade de ocorrer.

As redes aleatórias foram geradas com os parâmetros *topology: scalefree, gamma : 2.5* e *k* com diferentes valores (2, 4, 6, 8, 10). A partir deste procedimento foram geradas 500 redes (100 para cada valor de *k*), o qual define o número médio de conexões recebidas pelos nós da rede.

Os atratores foram determinados por meio de simulação de Cadeias de Markov.

Resultados

Genes selecionados para geração dos modelos

Por meio dos dados de expressão da área CA1 do hipocampo de ratos (GSE9990), obteve-se uma rede probalística dos 8 genes diferencialmente anteriormente selecionados: *Gpnmb* (*glycoprotein nmb*), *C3* (*complement component 3*), *Fcgr2b* (*Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor*), *RGD1305645* (*similar to RIKEN cDNA 1500015O10*), *Cd74* (*CD74 molecule*), *RT1-Da* (*RT1 class II, locus Da*), *RT1-Bb* (*similar to RT1 class II*

histocompatibility antigen, B-1 beta chain precursor), *Lilrb3l* (*leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B member 3-like*) Table 1.

Gpnmb codifica para uma glicoproteína transmembrana envolvida em processos como comunicação célula-célula, regulação negativa da morte neuronal e adesão celular. É expressa em neurônios, microglia, glia radial no sistema nervoso central. Mudanças em sua expressão são observadas em doenças neurodegenerativas como Mal de Parkinson e esclerose lateral amiotrófica. Sua superexpressão pode proteger camundongos da perda de neurônios induzida por uma superóxido dismutase alterada. [20]

RGD1305645 ou *Ecrq4* (*esophageal cancer-related gene 4*) codifica para Augurina. Um provável hormônio que possivelmente induz senescência em oligodendrócitos e em células precursoras neurais.

C3 codifica para um proteína que participa da ativação do sistema complemento. *C3a*, derivado de da proteína *C3*, é um mediador local do processo inflamatório, induz contração de músculo liso e aumento da permeabilidade vascular [21]. Também é um mediador do refinamento, plasticidade das sinapses e da **poda sináptica** durante o desenvolvimento. Está relacionado ao envelhecimento, à neurodegeneração e regulação da neurogênese no hipocampo de mamíferos [22].

Fcgr2b codifica para um receptor da região *Fc* de um complexo ou agregado de imunoglobulinas *gamma*. Possui papel na fagocitose de complexos imunes e na modulação da produção de anticorpos por células B. *Fcgr2b* juntamente com *Fcgr2a* são estimulados quando os receptores *toll-like* (*Tlr2*, *Tlr4*, *Tlr7*) e componentes complemento (*C1s*, *C3*, *C4a*, *Serping1*) reconhecem sequências específicas, levando a internalização, processamento e a apresentação pelo MHCII.

A proteína codificada por *Cd74* participa da apresentação de antígenos intermediando a formação e tráfego subcelular do complexo MHCII. Além disso, evidências indicam que também está envolvida em processos independentes de MHCI, incluindo regulação do tráfego endossomal, migração celular e sinalização celular relacionada ao receptor de *pro-inflammatory cytokine macrophage migration inhibitory factor* (*MIF*) [23].

O complexo *RT1* representa um grupo de genes intimamente ligados. A função desses genes é a apresentação de peptídeos antígenos, e portanto, controlam a resposta imune adaptativa [24].

Lilrb3l, também pode ser denominado *paired immunoglobulin-like receptor B* (*PirB*), codifica para um receptor MHCI. Evidências indicam que é expresso em neurônios do córtex, hipocampo, cerebelo e bulbo olfatório. Localiza-se nas sinapses ou próximo a elas [25].

Todos os genes selecionados aumentaram sua expressão ao longo do envelhecimento, como pode ser observado na Fig 1.

Table 1. Lista dos 8 genes com menor valor de p-ajustado.

Gene.symbol	Gene.title	log ₂ fold-change	adj.P.Val
Gpnmb	glycoprotein nmb	1.0031743	8.96 × 10 ⁻⁷
C3	complement component 3	1.35366967	8.96 × 10 ⁻⁷
Fcgr2b	Fc fragment of IgG, low affinity IIb, receptor	1.30720708	6.82 × 10 ⁻⁶
RGD1305645	similar to RIKEN cDNA 1500015O10	1.06275131	1.34 × 10 ⁻⁵
Cd74	CD74 molecule	1.67258717	0.000734
RT1-Da	RT1 class II, locus Da	1.95839189	0.000994
RT1-Bb	similar to RT1 class II histocompatibility antigen, B-1 beta chain precursor	1.86292002	0.0015
Lilrb3l	leukocyte immunoglobulin-like receptor, subfamily B	1.46217579	0.0015

Os níveis de expressão foram utilizados para a geração das redes booleanas.

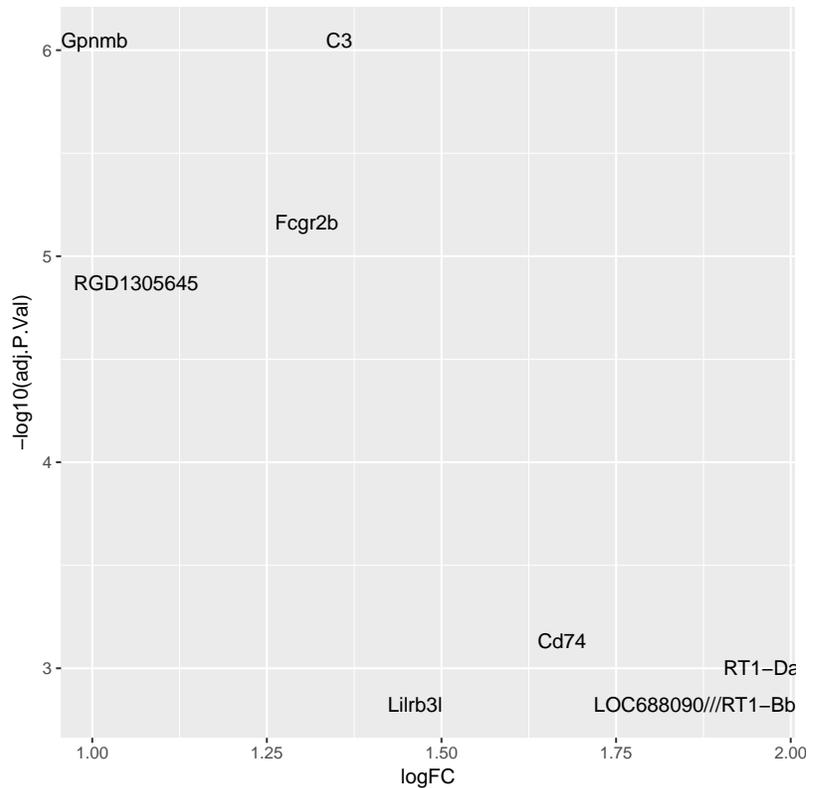


Fig 1. Relação de \log_2 fold – change e valor de p-ajustado dos genes selecionados. Os oito genes com menor valor de p-ajustado são mostrados. Os níveis de *RNAm* de *RT1-Da* e *RT1-Bb* possuem a maior diferença entre animais jovens e mais velhos.

Modelos de Redes Booleanos

Os animais apresentaram diferenças na expressão de alguns genes. Em alguns animais, de mesma condição, a expressão do mesmo gene foi menor que o limiar e, em outros, maior que o limiar (Fig 2). Introduzindo ao modelo novas possibilidades de interação entre os genes, acrescentando mais funções de transição. O conjunto delas especifica as diversas possibilidades de estados do gene ou nó em questão.

Os nós (genes) são conectados por linhas, as quais representam interações diretas ou indiretas entre os genes. O Modelo Booleano Probabilístico contém os 8 genes com diferença de expressão mais significativa as idades de 23 meses e 3 meses. Neste tipo de rede, cada nó pode possuir mais de uma função de transição (Fig 3). Os algoritmos inferiram que os genes *C3* e *RGD1305645* sofrem autorregulação. Alguns pares de nós possuem mais de um conector, indicando que esses elementos possuem mais de uma função de transição (Fig 3).

A partir da Rede Booleana Probabilística gerada (Fig 3), foi possível gerar 64 redes booleanas mais simples, nas quais cada nó possui apenas uma função de transição, como mostrado na Fig 5.

As redes chegam em um estado de estabilidade denominado atrator. Um ou mais atratores podem existir nessas redes. Cada um deles com uma diferente probabilidade de ocorrência. Caso um atrator de alta probabilidade seja muito diferente do padrão observado nos dados, a rede em questão terá alto nível de erro. Grande parte das redes booleanas deste trabalho apresentaram nenhum erro (Fig 4). Isso deve-se ao único

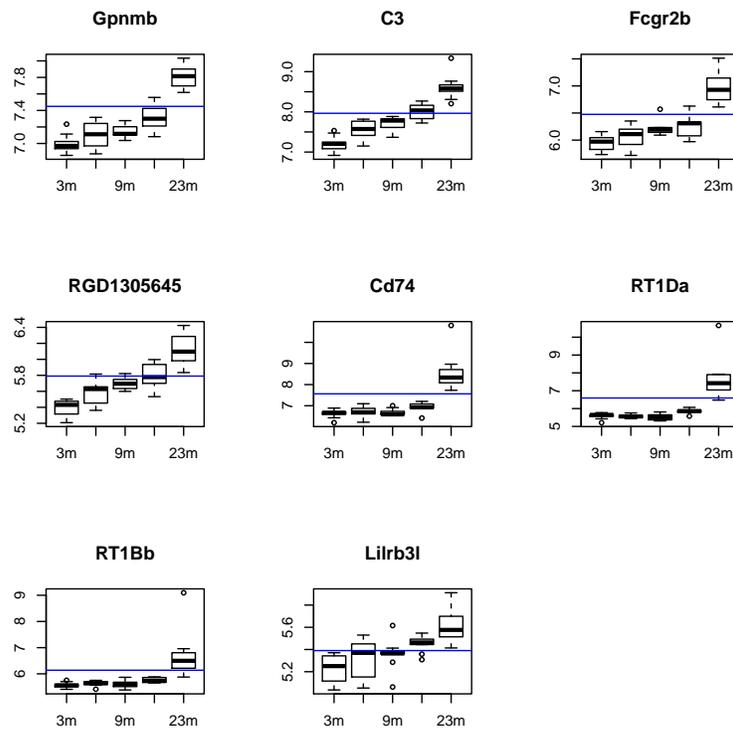


Fig 2. Expressão dos genes selecionados ao longo do tempo. Os valores de expressão acima do limiar (linha azul) são considerados como 1. É possível observar uma tendência de aumento nos níveis de *RNA* desses genes ao longo do tempo. Aos 23 meses, todos os genes possuem estado 1.

atrator nessas redes com todos os nós da rede ativados. Situação que corresponde aos dados de expressão. Como o *fitness* está relacionado com o erro, grande parte das redes apresentou elevado *fitness*. Essa relação pode ser visualizada na Fig 5, na qual o *fitness* é determinado como o inverso do erro.

Todas as redes booleanas geradas a partir da rede probabilística possuem a mesma matriz de adjacência. Assim, o *fitness* está relacionado às diferentes funções de transição dos elementos, as quais especificam diferentes dinâmicas para o sistema.

Caso a simulação inicie no estado no qual todos os nós estão ativos, o sistema progride para o estado final (atrator) no qual todos os nós estão inativos. Esses estados estão em conformidade com os estados de expressão obtidos a partir dos dados, indicando a validade do modelo booleano gerado.

Os melhores modelos possuem apenas um atrator, no qual todos os nós (genes) estão inativos. Este estado é correspondente ao padrão de expressão dos animais mais velhos. Já os piores modelos possuem mais de um atrator. Assim, os estados iniciais também podem fluir para estados diferentes daqueles que são encontrados no envelhecimento. Conseqüentemente, esses modelos correspondem menos aos dados, aumentando o nível de erro.

Informação Integrada

Sob o ponto de vista do Modelo Booleano, todos os genes estão inativados na idade de 3 meses e são ativados ao longo do tempo. Os estados que os genes assumem aos 23 meses,

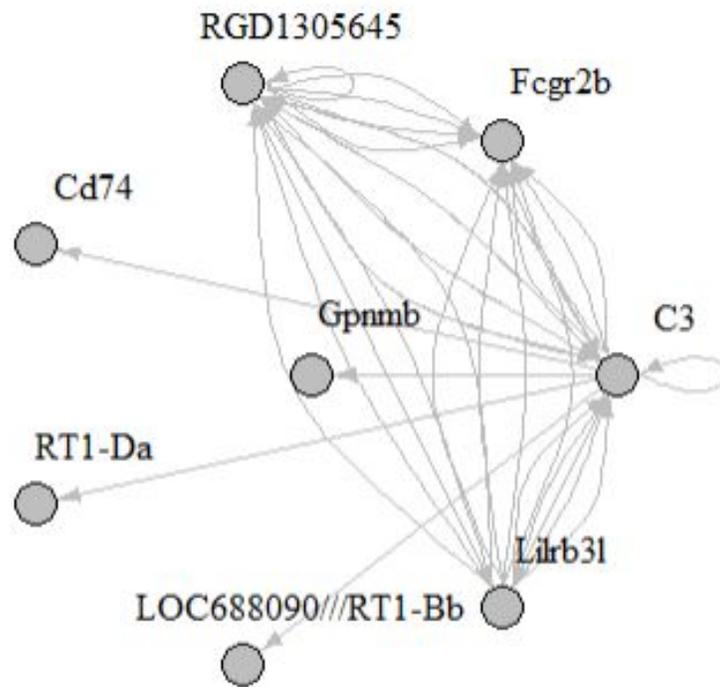


Fig 3. Rede Booleana Probabilística. A rede foi gerada a partir dos dados de expressão.

por serem menos informativos, acabam reduzindo a integração da informação. Assim, Φ (phi) do complexo principal diminui de 0,250 (estado de 3 meses) para 0,125 no estado que representa 23 meses (Fig 7 8). Esses resultados são produto do modelo que representa a possível interação de genes relacionados ao envelhecimento, visto que as redes aleatórias com diferentes valores de k geraram informação integrada igual a zero em todos os seus estados.

Ao considerarmos a integração da informação, os genes *C3*, *RGD130564* e *Lirb3l* constituem um complexo de conceitos. Isso significa que esses genes são o máximo local de integração de informação, evidenciada pelas interações bidirecionais desses genes.

Os resultados encontrados para esse sistema estão de acordo com a hipótese sugerida na qual o envelhecimento pode estar correlacionado com a alteração da eficiência dos canais de informação.

A quantidade de integração da informação não está relacionado a quanto determinado modelo corresponde aos dados. Ao menos para a sequência de estados que representa o envelhecimento, não foi observado qualquer diferença na quantidade de informação integrada entre os melhores modelos e os piores modelos, ambos possuem a mesma quantidade de informação integrada ao longo da dinâmica do sistema.

As rede booleanas aleatórias de livre escala não geraram integração da informação, principalmente por causa da conectividade das redes geradas. Não houve laços de retroalimentação nessas redes, impossibilitando integração de informação. Já as redes booleanas geradas a partir dos dados de expressão apresentaram laços de retroalimentação e interação bidirecional entre os nós como (*C3*, *Fcgr2b*, *RGD1305645*, *Lirb3l*). Essa característica, por sua vez, possibilita a integração da informação.

Como esperado, os nós (mecanismos) com interações bidirecionais formam conceitos. Os conceitos podem ter diferentes graus de ordem. *C3* e *RGD130564* são conceitos de

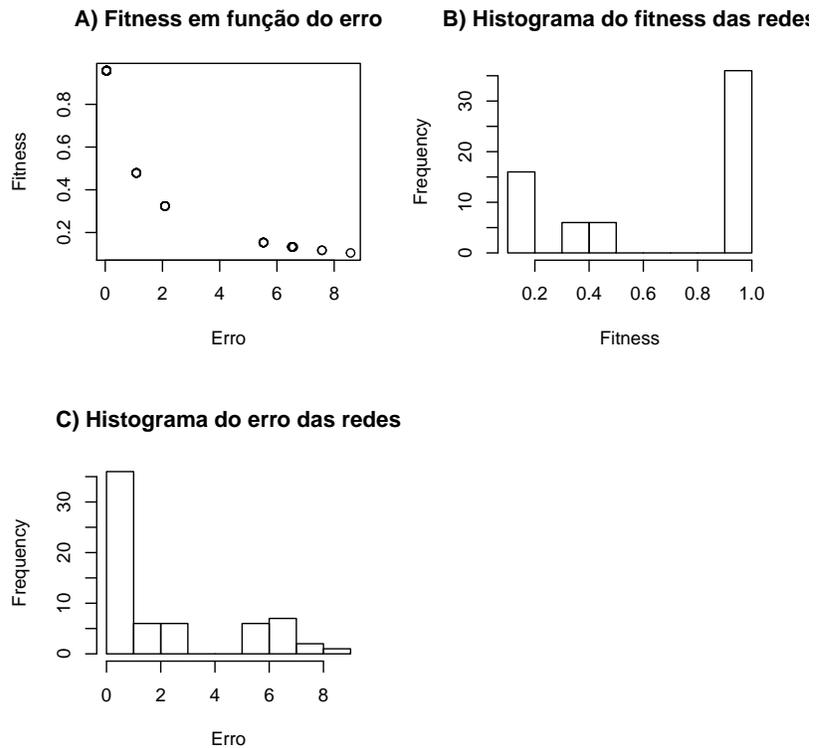


Fig 4. Medidas de ajuste das redes booleanas aos dados. A: Quanto mais o atrator da rede se desvia do estado discreto de expressão dos genes aos 23 meses, menor é o *fitness* dessa rede. B: 36 redes atingiram o valor máximo de *fitness*. C: Muitas redes tiveram pequena quantidade de erros, pois o *fitness* é uma função do inverso do erro.

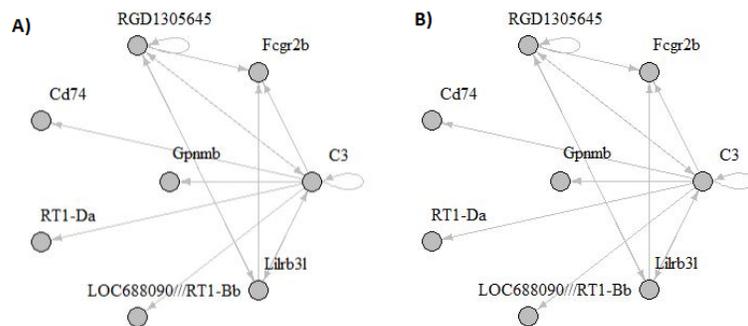


Fig 5. Redes Booleanas com diferentes *fitness*. As duas redes representadas são derivadas da rede booleana probabilística inicial. A rede “A” é uma das redes com maior *fitness*. Enquanto que a rede “B” é a rede com menor *fitness*. As redes são idênticas em suas conexões.

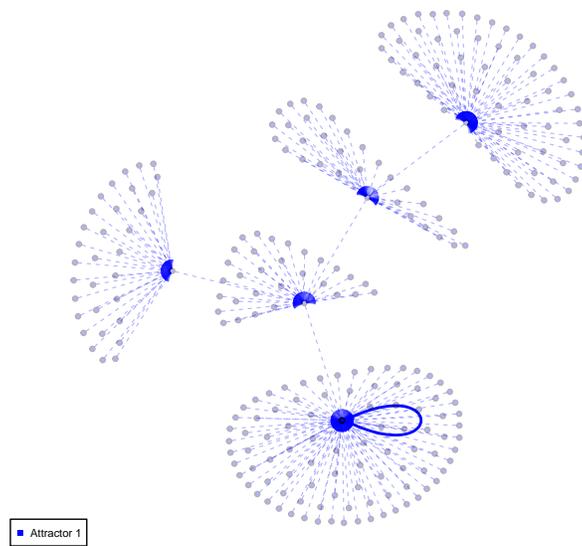


Fig 6. Bacias de atração de uma das melhores redes. Cada ponto representa um estado possível da Rede Booleana. O ponto com um laço representa o atrator, o qual define o estado de expressão dos genes aos 23 meses.

primeira ordem, enquanto $[C3 \text{ Liltrb3l}]$ constituem um conceito de segunda ordem formado pelos nós (mecanismos) $C3$ e $Liltrb3l$. Este último deixa de constituir um conceito, quando ativado no estado do sistema mais velho.

Não foi observada a relação da performance ou *fitness* do modelo com a integração da informação. Os genes possuem um papel funcional na célula e são expressos em determinadas condições, alterando as interações da rede gene-gene. Essas interações alteram o fluxo e o processamento de sinais na célula.

206
207
208
209
210
211
212

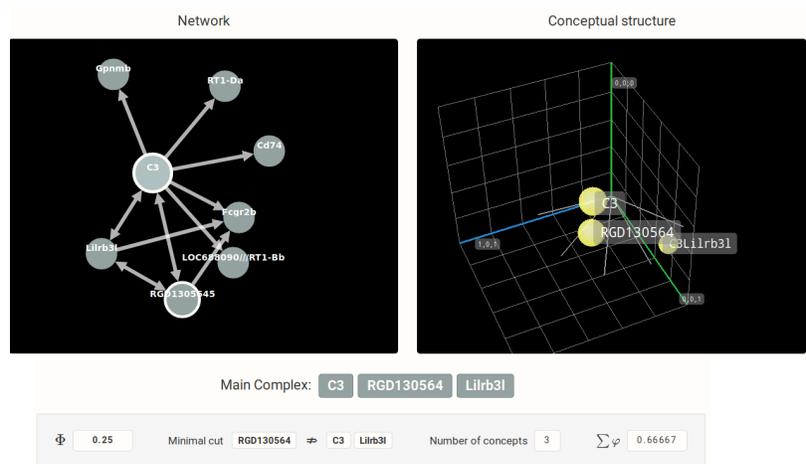


Fig 7. Informação integrada e estrutura de conceitos no estado jovem. A figura à direita mostra a disposição dos conceitos (*MICS - minimum information conceptual structure*) no espaço multidimensional denominado *qualia*. A organização dos círculos define a qualidade da experiência enquanto Φ determina o nível de importância de cada conceito. Sistema no estado que representa a expressão de genes no hipocampo aos 3 meses de idade. Os nós cinza representam o estado 0 (inativado ou baixa expressão). Quanto maior o círculo, maior é a quantidade de informação conceitual.

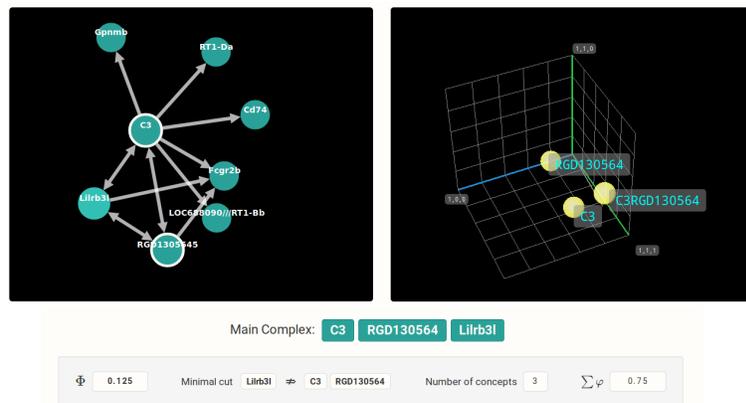


Fig 8. Informação integrada e estrutura de conceitos no estado mais velho. Sistema no estado que representa a expressão de genes no hipocampo aos 23 meses de idade. Os nós azuis representam o estado 1 (ativado ou elevada expressão).

Discussão

213

A TII quantifica a informação intrínseca, a qual especifica o quanto as alterações nos estados do sistema são capazes de produzir novas mudanças dentro dele, sob a perspectiva do próprio sistema. Nesta teoria, a informação é causal. É avaliada por perturbação do conjunto de elementos em todas as formas possíveis, não apenas observando-os. Também é composicional, no sentido de que diferentes combinações de elementos dentro do sistema podem especificar diferentes conjunturas. Também é integrada, o particionamento do sistema completo afetará a quantidade de informação. A TII somente considera a informação que é maximamente integrada ou exclusiva, de uma perspectiva intrínseca, há somente um conjunto de causas. Nenhum desses requerimentos importa para o observador que mede somente a dependência estatística entre *inputs* e *outputs*, sob perspectiva extrínseca da TIS [8].

214
215
216
217
218
219
220
221
222
223
224

Outra diferença é que a TIS utiliza a Divergência de Kullback-Leibler (DKL), a qual mede a perda de informação da perspectiva de um observador externo pela aproximação de uma distribuição de probabilidade em relação a outra [8]. Neste caso, DKL mede a redução da incerteza, onde a distribuição de probabilidades dos elementos da mensagem é avaliada contra a entropia máxima (onde todos os estados possuem igual probabilidade). TII utiliza EMD (*Earth mover's distance*) para calcular a quantidade de informação de uma perspectiva intrínseca do sistema. Ao contrário de DKL, a EMD leva em conta a distância relativa entre os estados [8].

225
226
227
228
229
230
231
232

Em contrapartida, o envelhecimento também pode ser entendido, não somente como o acúmulo de erros, mas como a deterioração e o esgotamento da redundância do sistema e dos mecanismos de reparação de erros. Logo, a redundância é usada pelo sistema para responder aos danos aleatórios do ambiente, os quais provocam o aumento da complexidade do sistema. No momento em que ela se esgota, os mesmos fatores de agressão são responsáveis pelo envelhecimento e pela morte dos organismos. Assim, a quantidade de informação, ao longo do tempo, aumenta até certo ponto, e em seguida, decresce (fase de envelhecimento do organismo) [10].

233
234
235
236
237
238
239
240

Os benefícios de Uma arquitetura integrada nas rede de interações, capaz de manter altos níveis de Φ , são economia de conexões, velocidade, composicionalidade, dependência de contexto, memória e a habilidade para aprender funções adaptativas rapidamente, de maneira flexível e a partir de conhecimentos prévios. Um sistema altamente integrado é autônomo, assim pode agir e reagir baseado nos próprios estados internos [8].

241
242
243
244
245
246

Uma das limitações é a baixa disponibilidade de dados de expressão de genes ao longo do tempo, estudos do tipo *timecourse*. Neste trabalho foi utilizado apenas um conjunto de dados para avaliar a alteração da integração da informação durante o envelhecimento. Além disso, existe a inviabilidade da biblioteca Python *Pyphi* de calcular mais de 8 nós no sistema. O tempo de cálculo aumenta exponencialmente à medida que são acrescentados mais elementos na rede e mais interações, pois a quantidade de integração da informação é calculada particionando o sistema de todas as formas possíveis. Os dados de expressão utilizados neste trabalho são uma média da expressão de várias células. Melhores modelos poderiam ser gerados se fossem utilizados dados de expressão de células únicas.

247
248
249
250
251
252
253
254
255
256

Diante dessas limitações, é crucial utilizar melhores métodos de cálculo e obtenção de dados. Uma possibilidade é efetuar os cálculos de informação integrada utilizando o método unificado proposto por Oizumi em 2016 [26], o qual permitirá a avaliação de maior número elementos na rede. Será empregado maior número de ferramentas para inferir as redes de interações gene-gene e métodos com maior nível de detalhamento da expressão gênica.

257
258
259
260
261
262

O método utilizado neste trabalho pode ser automatizado e utilizado para análise de dados de vários microarranjos possibilitando a avaliação da quantidade informação

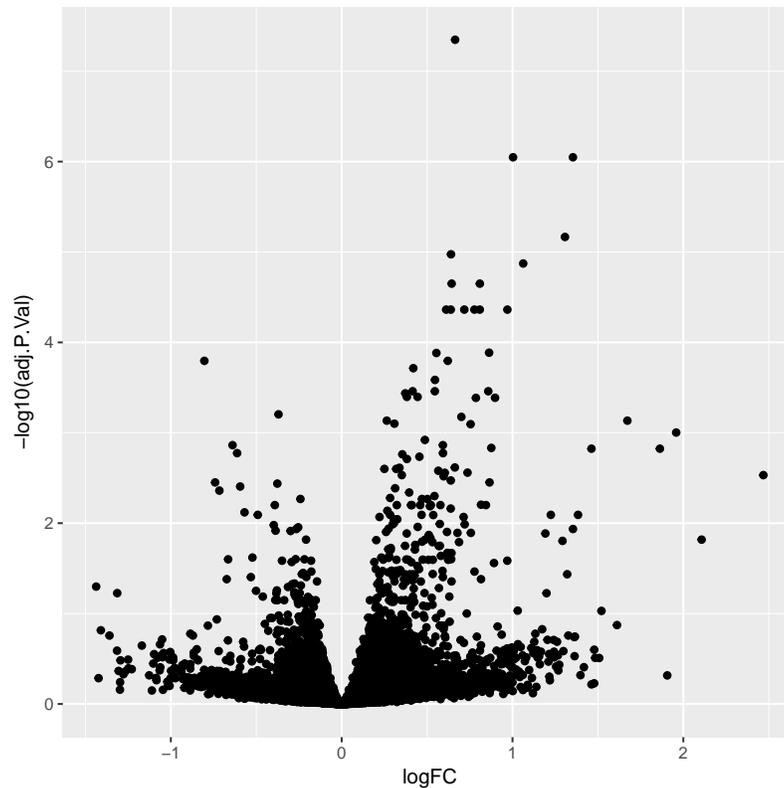
263
264

integrada de outras condições, regiões cerebrais e de outros órgãos. Também permite visualizar a interação dos genes de uma maneira holística e como influenciam e são influenciados pelo sistema. Este trabalho apresenta uma indicação de que a integração da informação é alterada ao nível de regulação de genes. Assim, os efeitos que são observados no envelhecimento podem estar relacionados com a alteração do processamento da informação

265
266
267
268
269
270

Supporting information

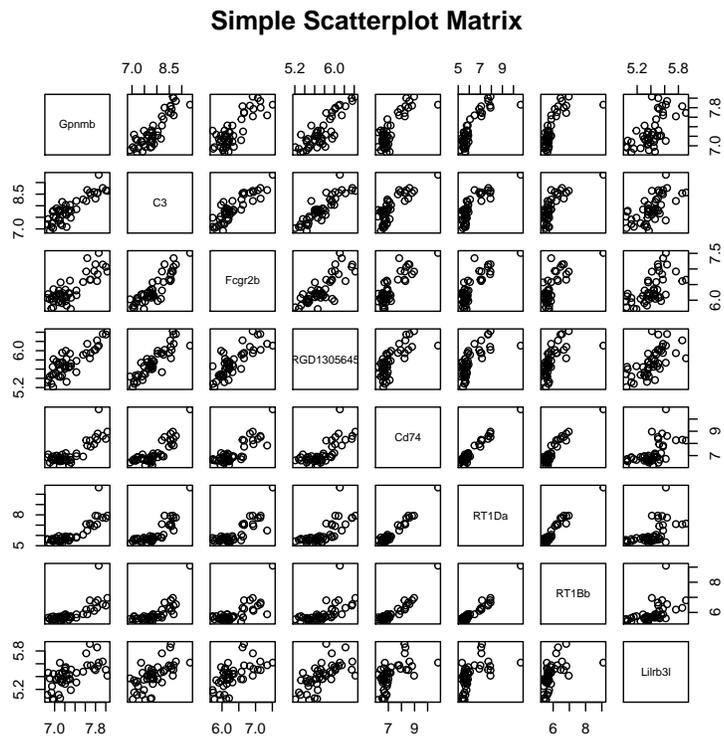
271



S1 Fig. Volcano plot. Cada ponto representa um gene. Aqueles na parte superior possuem maior confiabilidade e maior diferença de expressão entre animais jovens (3 meses) e mais velhos (23 meses). Valores positivos de log2FC significam maiores níveis de RNAm em animais mais velhos quando comparados aos jovens.

References

1. Plant TM, Zeleznik AJ. *Knobil and Neill's physiology of reproduction*. Academic Press; 2014.
2. Ureshino RP, Rocha KK, Lopes GS, Bincoletto C, Smaili SS. Calcium Signaling Alterations, Oxidative Stress, and Autophagy in Aging. *Antioxidants & Redox Signaling*. 2014;21(1):123–137. doi:10.1089/ars.2013.5777.



S2 Fig. Correlação de expressão entre genes selecionados. De uma maneira geral, a expressão dos genes são correlacionadas. Para um maior detalhamento é necessário calcular da significância dessas correlações.

3. Gavrilov LA, Gavrilova NS. Reliability theory of aging and longevity. *Handbook of the Biology of Aging*. 2006;6:3–42.
4. Jones DP. Redox theory of aging. *Redox biology*. 2015;5:71–79.
5. Kluger A, Gianutsos JG, Golomb J, Ferris SH, George AE, Franssen E, et al. Patterns of motor impairment in normal aging, mild cognitive decline, and early Alzheimer Disease. *The Journals of Gerontology Series B: Psychological Sciences and Social Sciences*. 1997;52(1):P28–P39.
6. Bettio LEB, Rajendran L, Gil-Mohapel J. The effects of aging in the hippocampus and cognitive decline. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*. 2017;79:66 – 86. doi:<https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2017.04.030>.
7. Chaiwanon J, Wang W, Zhu JY, Oh E, Wang ZY. Information integration and communication in plant growth regulation. *Cell*. 2016;164(6):1257–1268.
8. Oizumi M, Albantakis L, Tononi G. From the phenomenology to the mechanisms of consciousness: integrated information theory 3.0. *PLoS computational biology*. 2014;10(5):e1003588.
9. Yockey HP. Some introductory ideas concerning the application of information theory in biology. In: *Symposium on information theory in biology*. New York: Pergamon Press; 1958. p. 50–59.
10. ATLAN H. *A organização biológica e a teoria da informação*. Tradução de Maria Fernanda Oliveira Lisboa. 2006;.
11. Edgar R, Domrachev M, Lash AE. Gene Expression Omnibus: NCBI gene expression and hybridization array data repository. *Nucleic acids research*. 2002;30(1):207–210.
12. R Development Core Team. *R: A Language and Environment for Statistical Computing*; 2008. Available from: <http://www.R-project.org>.
13. RStudio Team. *RStudio: Integrated Development Environment for R*; 2015. Available from: <http://www.rstudio.com/>.
14. Ritchie ME, Phipson B, Wu D, Hu Y, Law CW, Shi W, et al. limma powers differential expression analyses for RNA-sequencing and microarray studies. *Nucleic Acids Research*. 2015;43(7):e47. doi:10.1093/nar/gkv007.
15. Huber W, Carey VJ, Gentleman R, Anders S, Carlson M, Carvalho BS, et al. Orchestrating high-throughput genomic analysis with Bioconductor. *Nature methods*. 2015;12(2):115–121.
16. Davis S, Meltzer PS. GEOquery: a bridge between the Gene Expression Omnibus (GEO) and BioConductor. *Bioinformatics*. 2007;23(14):1846–1847.
17. Müssel C, Hopfensitz M, Kestler HA. BoolNet – an R package for generation, reconstruction and analysis of Boolean networks. *Bioinformatics*. 2010;26(10):1378–1380.
18. Cline MS, Smoot M, Cerami E, Kuchinsky A, Landys N, Workman C, et al. Integration of biological networks and gene expression data using Cytoscape. *Nat Protoc*. 2007;2(10):2366–2382.
19. Mayner W, Marshall W, Marchman B. pyphi: 0.8.1; 2016. Available from: <https://doi.org/10.5281/zenodo.55692>.

20. Murata K, Yoshino Y, Tsuruma K, Moriguchi S, Oyagi A, Tanaka H, et al. The extracellular fragment of GPNMB (Glycoprotein nonmelanosoma protein B, osteoactivin) improves memory and increases hippocampal GluA1 levels in mice. *Journal of neurochemistry*. 2015;132(5):583–594.
21. Nakagawa H, Komorita N. Complement component C3-derived neutrophil chemotactic factors purified from exudate of rat carrageenin-induced inflammation. *Biochemical and biophysical research communications*. 1993;194(3):1181–1187.
22. Hernandez-Encinas E, Aguilar-Morante D, Morales-Garcia JA, Gine E, Sanz-SanCristobal M, Santos A, et al. Complement component 3 (C3) expression in the hippocampus after excitotoxic injury: role of C/EBP β . *Journal of neuroinflammation*. 2016;13(1):276.
23. Schröder B. The multifaceted roles of the invariant chain CD74—More than just a chaperone. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Cell Research*. 2016;1863(6):1269–1281.
24. Günther E, Walter L. The major histocompatibility complex of the rat (*Rattus norvegicus*). *Immunogenetics*. 2001;53(7):520–542.
25. Ukai H, Kawahara A, Hirayama K, Case MJ, Aino S, Miyabe M, et al. PirB regulates asymmetries in hippocampal circuitry. *PloS one*. 2017;12(6):e0179377.
26. Oizumi M, Tsuchiya N, Amari Si. Unified framework for information integration based on information geometry. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016;113(51):14817–14822.