

37. Országos Tudományos Diákköri Konferencia

Pécs, 2025. április 22-25.

Fizika, Földtudományok és Matematika Szekció

Az ecetmuslica konnektomjának modellezése az exponenciális távolságszabály alapján

Szerző:

Péntek Balázs

Babeş–Bolyai Tudományegyetem, Fizika Kar, Doktori Iskola, I. év

Témavezető:

Dr.Habil. Ercsey-Ravasz Mária, egyetemi kutató

Babeş–Bolyai Tudományegyetem, Fizika Kar

Kivonat

Az ecetmuslica konnektomja jelenleg a legnagyobb méretű, neuronok szintjén teljesen feltérképezett agyi kapcsolási rajz. Mindössze 140 ezer neuronból áll, melyek közötti kapcsolatok száma eléri a 2,7 milliót (Dorkenwald et al., 2023). Az ecetmuslica konnektomjának adatbázisa ingyenesen elérhető, a neuronok közötti kapcsolatok mellett számos egyéb információ megtalálható, többek között a neuronok és szinapszisok térbeli elhelyezkedése (koordinátái) is (Dorkenwald et al., 2021). Ennek köszönhetően lehetővé vált a muslica agyának tanulmányozása nem csak az agyterületek szintjén (mint egyéb állatfajok esetében), hanem a neuronokén is. Emlősök esetén már egy évtizede kimutatták az úgynevezett exponenciális távolságszabály jelenlétét, mely szerint a fehérállományban áthaladó axonok száma exponenciálisan csökken a hosszukkal (Ercsey-Ravasz et al., 2013). Lényegében ez a szabály az agy egyik szerveződési elvét írja le, az információáramlás főleg az egymáshoz közelebbi neuronok között történik. Erre a távolságszabályra alapozva készítettek egy véletlen hálózat modellt, mely összevethető az emlősök strukturális hálózatával az agyterületek szintjén. Több faj esetén is megfigyelték, hogy ez a véletlen háló modell a valós hálózat topológiájának jó részét megmagyarázza, többek között a foksám, háromszög motívumok, és klikkek eloszlását, valamint számos egyéb súlyozatlan és súlyozott tulajdonságát is (Horvát et al., 2016; Noori et al., 2017). Felhasználva az ecetmuslica konnektomjának hatalmas adatbázisát, megépítettük a strukturális hálózatát az agyterületek szintjén és összehasonlítottuk az ennek megfelelő véletlen háló modellel. Az emlősök esetéhez hasonló következtetésre jutottunk, az exponenciális távolságszabály az ecetmuslica agyi hálózatának sok tulajdonságát megmagyarázza. Egy érdekes kivételt képez a kötések aszimmetriája, melyet ez a geometriai modell várható módon nem képes megmagyarázni, mivel ez az agyterületek között kialakuló funkcionális hierarchiából fakad, ami az agynak egy másik érdekes tulajdonsága.

Tartalomjegyzék

Bevezető	4
Az ecetmuslica agyának feltérképezése	5
Flywire projekt: neuronok automatikus szegmentálása, ellenőrzése, megosztása	7
Exponenciális távolságszabály az agyban	10
EDR véletlen háló modell	11
Adatok feldolgozása	12
Ecetmuslica konnektom az agyterületek szintjén	13
Exponenciális távolságszabály és ecetmuslica EDR modellje	16
Eredmények	20
Egy- és kétirányú kötések száma	20
Háromszög motívumok eloszlása	21
Klikk méretek eloszlása és mag-periféria struktúra	22
Fokszám	24
Átlagos legrövidebb úthossz	26
Klaszterezési együtttható	27
Tranzitivitás	28
Súlyeloszlás	29
Súlyozott linkek aszimmetriája	30
Súlyozott fokszám	31
Sajátérték spektrum	32
Távolságok eloszlása	32
Kommunikációs hatékonyságok	33
Következtetések	35
Tudományos publikációk	36
Köszönetnyilvánítás	36
Hivatkozások	37

Bevezető

A konnektom által lényegében az agy kapcsolási rajzát értjük, vagyis az idegsejtek (neuronok) közötti kapcsolatok (szinapszisok) térképét. Hálózatalméleti szempontból a konnektomra tekinthetünk úgy, mint strukturális agyi hálózat, melyben a csomópontok az agy alkotóelemeit jelentik (pl. neuronok), a közöttük levő kötések meg konkrét fizikai kapcsolatokat (pl. szinapszis). Értelmszerűen a konnektom nem csak a neuronok szintjén definiálható, hanem egy magasabb szinten is, mégpedig a funkcionális zónák (agyterületek) szintjén. Ezesetben a hálózaton belüli kötések jelölhetik az agyterületeket "összekötő" axonokat. A konnektom/strukturális agyi hálózat kötéseihez rendelhető egy súlyérték is, amely a fizikai kapcsolat erősségét jelöli (pl. szinapszisok vagy összekötő axonok száma).

Az agy struktúrájának feltérképezését a konnektomika tudományághoz rendelik, melynek végső célja az emberi konnektom teljes feltárása. Ez viszont a jelenkori imaginisztikai és számítógépes technológiákkal is csak egy távoli álmodot jelent, becslések szerint az emberi agy kb. 80 milliárd neuront tartalmaz, átlagosan pedig mindegyik neuronnak 1000 kapcsolata van. Egyéb fajok esetén viszont történtek áttörések a konnektomika terén, legelőször a fonálféreg idegrendszerének teljes feltérképezése sikerült még a 80-as években, elektronmikroszkóp segítségével mindössze kb. 300 neuronját és 5000 szinapszisát azonosították (White et al., 1986). Ezt követően az évek során még sor került az ecetmuslica lárvára (Winding et al., 2023), az elmúlt pár évben pedig a felnőtt ecetmuslicára is (Zheng et al., 2018; Dorkenwald et al., 2023). Emlősök terén pedig a neuronok szintjén egyelőre csak az egér retináját, valamint az elsődleges látókérgének egy részét sikerült feltérképezni (Briggman, Helmstaedter, & Denk, 2011; Bock et al., 2011).

Fontos megjegyezni, hogy az agy működésének megértéséhez a konnektom meghatározása szükséges, viszont nem elegendő. Ugyanis az agy jóval bonyolultabb egy áramkörnél, a működése mögött egy nagyon komplex dinamika rejlik, melyet a kapcsolási rajz nem képes teljes mértékben megmagyarázni. Ezért szükséges foglalkozni a konnektomika mellett az agy funkcióinak vizsgálatával is, melyben hasznossá válhat az agyi alkotóelemek közötti fizikai kapcsolatok ismerete.

Az ecetmuslica agyának feltérképezése

Az ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*) már a XX. század elejétől fogva szolgál modellszervezetként a biológiában. Ez többek között annak is köszönhető, hogy könnyen tenyészthetők és eltarthatóak. Idegtudományi szempontból nézve pedig a gazdag funkcionalitásának köszönhetően ideális kísérleti alannyá vált. Ugyanis ez a parányi muslica agy sok komplex viselkedés/funkció kivitelezésére képes, elsődleges példa a látás, repülés, járás. Ezek mellett még rendelkezik memóriával, valamint egyéb komplex viselkedés is megfigyelhető nála, mint például az udvarlás vagy akár agresszió is.

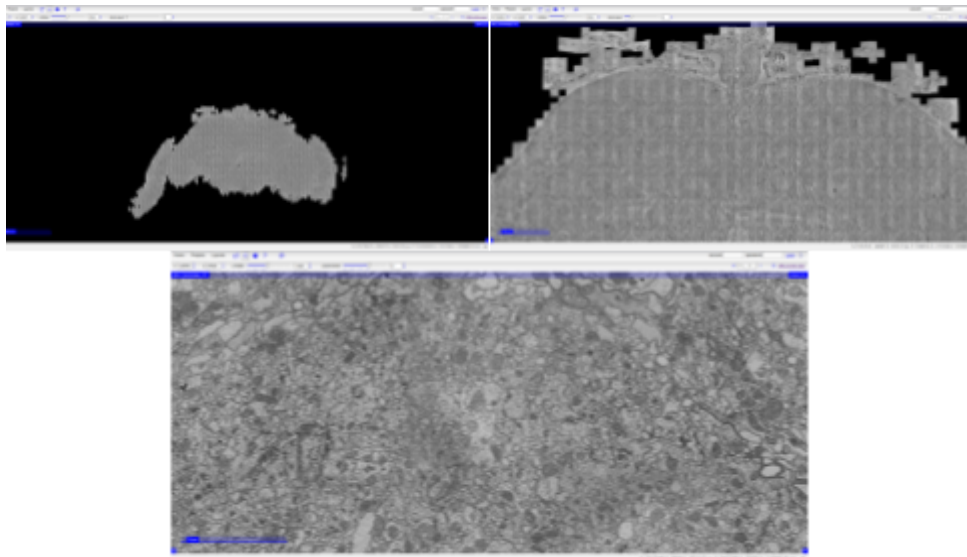


1.ábra: Ecetmuslica (*Drosophila melanogaster*)

Forrás: https://en.wikipedia.org/wiki/Drosophila_melanogaster

A konnektomika terén egy áttörést jelentett mikor 2018-ban Zheng és társainak sikerült feltérképezniük az ecetmuslica teljes agyát. Az amerikai Janelia Kutatóközpont tagjainak sikerült kidolgozniuk egy olyan sorozatkeresztmetszetes transzmissziós elektronmikroszkópot (angolul *serial section transmission electron microscopy*, röviden *ssTEM*), mellyel a teljes felnőtt muslica agy leképezhető volt szinaptikus szinten, vagyis nanométeres felbontással (Zheng et al., 2018). Első lépésként kontrasztnövelés céljából festették az agyat, majd egy gyantatömbbe helyezték. Ez lehetővé tette a helyes felszeletelését az agynak kb. 40 nanométer vastagságú szeletenként, gyémántkés használatával. Összesen megközelítőleg 7000 kép készült a módosított elektronmikroszkóppal, egy hatalmas, 106 terabájt méretű adatszettet eredményezve (Zheng et al., 2018). A készített digitális képekből pedig lehetséges a neuronok térfogati rekonstrukciója (nyomonkövetése) különböző számítógépes szoftverek segítségével (a cikk szerzői a *CATMAID* programot használták). A hatalmas adatszett feldolgozása viszont sok

időbe telik, a megközelítőleg 150 ezer neuron manuális nyomkövetése akár évtizedekbe is telhet.



2.ábra: Elektronmikroszkóppal készített kép az ecetmuslica agyának keresztmetszetéről, három különböző nagyításban (balról jobbra).
Forrás: <https://fafb.catmaid.virtualflybrain.org>

Az időigényesség problémája még érvényesebbé válik a szinapszisok megállapítása esetében, becslések szerint a kb. 150 millió szinapszis manuális megjelölése akár 40 évnyi emberi munkába telne. Ez pedig egy 5 másodperc/szinapszis detektálási időt feltételezve, ami igen valószínűtlennek hangzik. Tehát az ilyen nagy mennyiségű adatok feldolgozásához a gépek segítségére van szükség, Julia Buhmann és társainak sikerült is 2021-ben betanítaniuk egy több tíz millió paraméterű konvolúciós neurális hálózatot, mely képes a pre- és poszt-szinaptikus pontok felismerésére. Módszerük egyik előnye az, hogy ezen szinaptikus pontok meghatározásához nincs szükségük a rekonstruált neuronokra (Buhmann et al., 2021). A neurális hálójuk képes meghatározni minden egyes voxelről (az agyról alkotott 3D-s kép atomi eleméről), ha poszt-szinaptikus oldal-e és ha meg az, akkor ki tud számolni egy vektort amely a pre-szinaptikus oldal fele mutat. A rekonstruált neuronokra tehát csak akkor van szükség, ha a detektált szinapszisokat társítani szeretnénk neuron-párosokhoz. A tanítási és validációs adathalmazt a CREMI kihívás (<https://cremi.org/>) adatbázisából vonták ki, ebben összesen 1965 manuálisan megjelölt szinapszis található. A tanítási adathalmaz nagyjából a kivont adatbázis 75%-át képezte (1402 szinapszist), a validációs pedig kb. maradék 25%-ot (540 szinapszis) (Buhmann et al., 2021). A tanítási halmaz a teljes adatszetthez viszonyított jóval kisebb méretének köszönhetően (kb. 2 ezer neuron a 140 ezerhez képest) az agy távolabbi részeiben a szinapszisok jóslása nem történt ugyanakkora bizonyossággal, mint

közelében. Ugyanekkor a cikk szerzői még megjegyezték, hogy bizonyos típusú kapcsolatokat más-más pontossággal tudta megjósolni a modell. A gerinces állatokhoz viszonyítva az *ecetmuslica* agyára sokkal jellemzőbb, hogy két neuronja között létezen több szinapszis is. A konvolúciós neurális hálójuk főleg az egy-a-többhöz (vagyis egy pre-szinaptikus oldalból több poszt-szinaptikus oldalba) típusú szinapszisokat tudta legjobban beazonosítani, a több-az-egyhez típusúakat már kicsit bizonytalanabbul. Ugyanúgy a ritkább kapcsolatokra (pl. egy-az-egyhez) vagy az axo-axonális szinapszisok (eltérően a hagyományos axo-dendrikus szinapszisokhoz, az axonvég nem a dendrithez, hanem egy másik axonhoz kapcsolódik) meghatározására is érvényes ez a bizonytalanság. Egy nagyobb tanítási halmaz növelné a modellük teljesítményét, bár így is jó pontossággal működik. Amint említve volt az előbb, a neuronok rekonstrukciója nem szükséges a szinapszisok detektálásához, viszont segítségként szolgálhat az álpozitív eredmények kiszűrésénél. A konnektomon belüli kapcsolatok (hálózaton belüli kötések) a szerzők állítása szerint kb. 95%-os helyességgel lehetett meghatározni, ha kiszűrték az 5 szinapszisonál kevesebb szinapszissal rendelkező kötések (Buhmann et al., 2021).

Flywire projekt: neuronok automatikus szegmentálása, ellenőrzése, megosztása

Mint már említve volt, az összes neuron manuális rekonstrukciója is rengeteg időbe telne, feltehetően évtizedekbe. A neuronok nyomonkövetését tehát szintén mesterséges intelligencia segítségével érdemes végrehajtani, viszont talán ezesetben még nagyobb hangsúlyt kell fektetni a pontosságra. Ezért az eredményeket, a neuronok helyes taglalását le kell ellenőrizni, amire sajnálatos módon csak az ember képes. Egy többnyire Princeton-i kutatócsoportnak sikerült megoldást találni a fellépő dilemmára, kidolgozva olyan módszereket, melyek ezt az adatellenőrzési folyamatot gyorsították. Egy új adatstruktúrát bevezetve a neuronok számítógépes jelölésére, valamint egy böngésző alapú adatellenőrzésre szolgáló online platformot megalkotva létrejött a FlyWire projekt.

Az *ecetmuslica* agyáról készített felvételeket/képeket Zheng és csapatától vették át, saját algoritmusukkal rekonstruálva az agyat sokkal jobb térfogati reprezentációt kaptak (Dorkenwald et al., 2021). Viszont a digitalizált neuronokat még így is szükséges volt leellenőrizni. Ehhez egy hagyományos módszerből kiindulva, melyben a neuronok térbeli gráfokként vannak modellezve, ahol a csomópontok voxelszoportokat jelölnek (ezeket

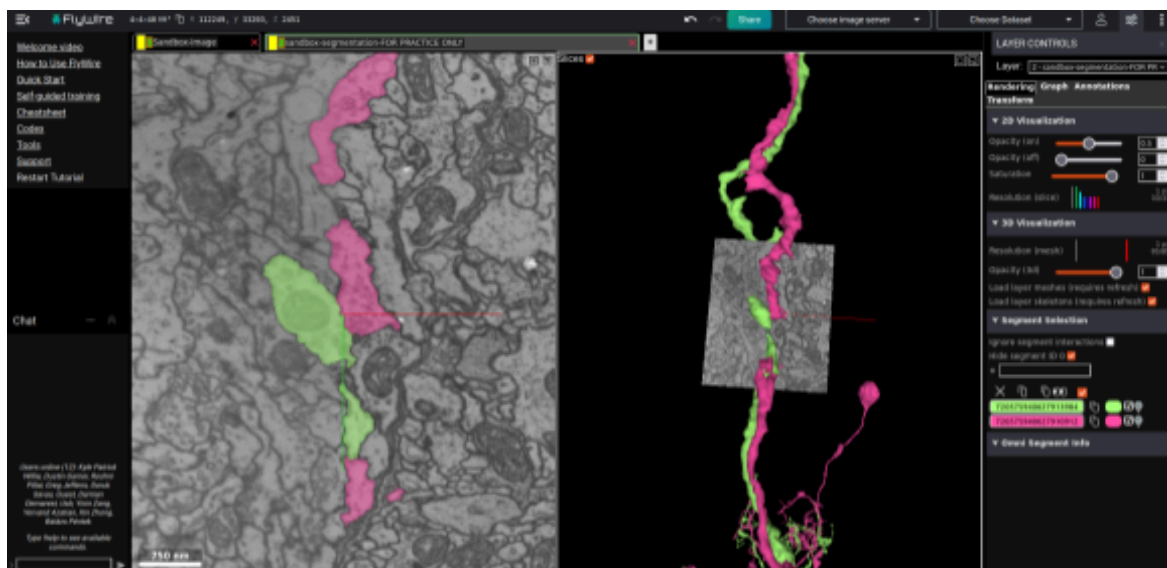
nevezik *szupervoxeleknek* és az élek ugyanahhoz a neuronhoz való tartozást jelentenek, létrehozták a *ChunkedGraph*-nak keresztelt adatstruktúrát. Az automatizált detektálás során hibásan összevont/szétválasztott neuronokat viszonylag könnyen lehet korrigálni a térbeli gráfok segítségével, élek kitörlésével/beillesztésével. Ez a módszer könnyen költségessé válhat, főleg nagyobb adatbázisok esetén. A *ChunkedGraph* implementálja a 3D-s grafikában használt *octree* nevezetű térpartíciós fa struktúrát, melyben a tér rekurzív módon van felosztva kisebb és kisebb darabokba, kialakítva egy hierarchikus szerkezetet az alkotóelemek között. Ezen esetben is a szupervoxelek tere *chunkok*-nak nevezett térbeli egységekre van felosztva, az így kialakuló hierarchikus szerkezet a *chunk*-ok között lehetővé teszi a gyors gráfműveleteket lokálisabb szinten, anélkül hogy a teljes térbeli gráfot újradolgozná.

A *ChunkedGraph* adatstruktúra teljesítménynövelő tulajdonságai lehetővé tették, hogy egy időben dolgozni lehessen ezeken a neuronfákon. A cikk szerzői éltek is ezzel a lehetőséggel, és az adatellenőrzés feladatára egy decentralizált megoldást kaptak, melyben egy nyitott közösség erejével korrigálják a mesterséges intelligencia hibáit. Egy hasonló elképzelésű projekt indult 2012-ben, mikor a Sebastian Seung által vezetett kutatócsoport létrehozott egy játékosított közösségi tudományos kutatást. Az *EyeWire* egy 3D-s puzzleként volt meghirdetve, melyben a játékosok neuronokat rekonstruálhatnak elektronmikroszkóp képek alapján. A "játékuk" elég nagy sikert aratott, állításuk szerint több mint 250 ezren regisztráltak, az egér retinájában pedig sikerült felfedezniük 6 új gangliontípust (központi idegrendszeren kívül elhelyezkedő idegsejtcsoportulás) ("About Eyewire, A Game to Map the Brain," 2012). A valószínűleg róla elkeresztelt *FlyWire* online platform alapfilozófiája megegyezik, viszont ez esetben a mesterséges intelligencia építi fel a neuronokat, a felhasználók pedig csak leellenőrzik a munkáját. Aki pedig részt akar venni ebben az ellenőrzési folyamatban, aszinkron módon el kell végeznie egy pár órás képzést, mely során megtanulja kezelni a platformba beépített eszközöket. A képzést pedig egy online "vizsga" követ, amely során a felhasználónak be kell bizonyítania tudását ahhoz, hogy hozzáférési és szerkesztési engedélyt kapjon a teljes adatbázishoz.

A *FlyWire* projekt 2023 eleje körül nyitotta meg kapuit az internetes világ előtt, azóta kb. 300 tudós vett részt a projektben kb. 50 különböző kutatóintézettől. A 2023 októberében publikált adatbázisuk már majdnem a teljes agy leképezését jelenti, 139 ezer leellenőrzött neuronból és összesen 150 millió szinapsziszból áll. A hatalmas adatbázisuk bárki számára elérhető, a *Codex* (*Connectome Data Explorer*) webes felületükön keresztül (<https://codex.flywire.ai/>). Maga a konnektom mellett még elérhető a neuronok számos tulajdonságai (pl. méreteik, osztályozásuk, neurotranszmitter típusuk, koordinátái, egyéb

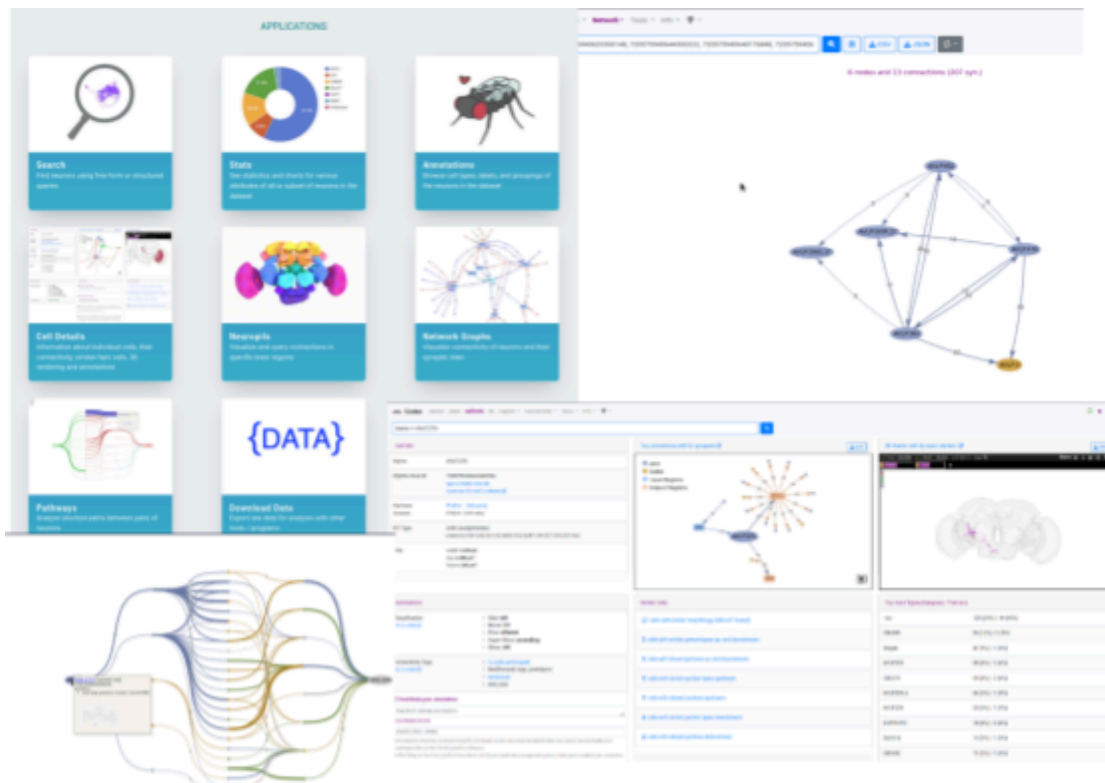
címkei), valamint a szinapszisok koordinátái és az agyterületekbe való besorolásuk is. Az adatok mellett a *Codex* még rendelkezik számos beépített eszközzel is, amivel betekintést lehet nyerni a konnektomba bármilyen programozási ismeret nélkül (4. ábrát). Emellett még a FlyWire projekt keretén belül készült számos egyéb szoftvercsomag is, pythonos könyvtárak közül például a *fafbseg.py* (<https://github.com/navis-org/fafbseg-py>) csomagon keresztül lehet lekérni az adatokat, de nem csak (lásd <https://flywire.ai/apps>).

A projekt készítői külön megjegyezték, hogy az általuk kifejlesztett módszerek nem kizárólag csak az ecetmuslica konnektomjára érvényesek, hanem a jövőben más állatfajok esetén is lehet alkalmazni. 2024 elején bejelentették, hogy az ecetmuslica agya után a ventrális idegszálát (ami gerinc szerepét tölti be, angolul *ventral nerve cord*) tervezik feltérképezni.



3.ábra: *FlyWire* rekonstruált neuronok ellenőrzésére szolgáló webes platform. Bal oldal: EM kép az agy keresztmetszetéről. Jobb oldal: keresztmetszeten kijelölt áthaladó neuronok 3D-ben.

Forrás: <http://edit.flywire.ai/>



4.ábra: *Connectome Data Explorer (Codex)* webes felület. A weboldalon több beépített alkalmazás is elérhető (bal felső sarok), mint például: konnektom hálózati ábrázolása (jobb felső sarok), neuronok közti legrövidebb utak (bal alsó), neuronokról levő információk összefoglalása (jobb alsó).

Forrás: <https://codex.flywire.ai/>

Exponenciális távolságszabály az agyban

Ellentétben bizonyos valós hálózatokkal, az agyi hálózatok struktúrája mögött szoros fizikai megkötések állnak. Egy példa egy ilyen megkötésre az Ercsey-Ravasz és társai által megfigyelt exponenciális távolságszabály (*exponential distance rule*) jelenléte az agyban. Legelőször a makákó agyában fedezték fel, hogy a fehérállományon áthaladó axonok száma exponenciálisan csökken a hosszukkal (Ercsey-Ravasz et al., 2013):

$$p(d) = C \cdot \exp(-\lambda d)$$

Az összefüggésben szereplő C mennyiség egy normalizáló állandó, a λ paraméter az exponenciális lecsengés rátája. Magyarán ez a távolságszabály azt jelenti, hogy az információáramlás sokkal gyakrabban történik rövid távolságokon, pl. közeli agyterületek között erősebbek a kötések (több axon köti össze őket), mint az egymástól távoli területek között. Tehát az agy fejlődési folyamatát az optimalitás jellemzi, a költséges, hosszú

kapcsolatok ritkán alakulnak ki. Ezt a törvényszerűséget nem sokkal a makákó után kimutatták a rágcsálók esetén is (Horvát et al., 2016; Noori et al., 2017). Újabban Barabási-Albert László csapatának sikerült egy olyan gráf adatstruktúrát kidolgozni, ami figyelembe veszi a csomók kötéseinek fizikai méretét is (Pósfai et al., 2023). Ebben a *metagráfban* a kötések nem keresztezhetik egymást, egy ilyen kötésekkel telepakolt gráfban analitikusan is ki tudták mutatni, hogy az exponenciális távolságszabály érvényes a kötések hosszára nézve.

EDR véletlen háló modell

Az exponenciális távolságszabály felfedezőinek sikerült kidolgozni egy olyan véletlen hálózat modellt, mely a valós agyi hálóknak (konnectomoknak) számos hálózattopológiai tulajdonságát leírja. Többek között az úgynevezett mag-periféria struktúra létezését és a klikkméretek eloszlását, fontos bináris (súlyozatlan) globális és lokális mennyiségeket, valamint az információáramlást jellemző kommunikációs hatékonyságok változását is, különböző sűrűségekre nézve. A véletlen háló modellt az angol elnevezésből (*exponential distance rule*) adódóan *EDR modellnek* nevezték el. A modellháló a valós agyi hálókhoz hasonlóan irányított és súlyozott is, a generálásához a következő bemeneti paraméterek szükségesek:

- Egy megválasztott λ paraméterű $p(d) \sim \exp(-\lambda d)$ exponenciális eloszlás.
- A csomók (agyterületek) közötti távolságokat tartalmazó (szimmetrikus) D mátrix.
- A valós agyi hálózatban levő linkek száma, E .

A bemeneti paraméterek közül a $p(d) \sim \exp(-\lambda d)$ exponenciális eloszlás tulajdonképpen a távolságszabályt jelöli, amire tekinthető egy fizikai megkötésnek is. A D távolságmátrix pedig tulajdonképpen egy geometriai megkötést jelent. Mivel ez a D mátrix, és a linkek száma E ugyanaz egy állatfaj agyi hálójára nézve, az EDR modell valójában egy egy-paraméteres modell, amelyet a λ lecsengési ráta határoz meg (Ercsey-Ravasz et al., 2013).

Egy ilyen térbeli, fizikai, irányított és súlyozott háló generálása az EDR modell megalkotói szerint a következő algoritmussal történik:

1. Véletlenszerűen kiválasztunk egy d távolságot a megválasztott $p(d) \sim \exp(-\lambda d)$ exponenciális eloszlásból.

2. Megkeressük az összes (i, j) csomópontpárost, melyre a D_{ij} mátrixelem (csomók közötti mért távolság) ugyanabba a bin-be esik, mint az előző lépésben kiválasztott d távolság (vagyis $d \leq D_{ij} < d + \Delta d$). A Δd binméretet az állatfajnak specifikusan válasszuk meg.
3. Az előző lépésben kapott csomópontpárosok közül kiválasztunk teljesen véletlenül (egyenletes valószínűséggel) egyetlen egyet.
4. A kiválasztott csomópár közé beszúrunk egy teljesen véletlen irányú kötést.
5. A fenti lépéseket megismételjük mindaddig, míg a modellhálóban a bináris (súlyozatlan) kötések száma el nem éri a valós hálóban meghatározott E kötések számát.

A modellháló súlyozottsága abból a tényből fakad, hogy ugyanaz a csomópontpáros közé dobhatunk több lépésben is kötést, így egy súlyértéket generálva. A generálás megállási feltétele ezért fog függeni a bedobott bináris kötések számától, ami nem ugyanaz, mint az összes bedobott kötés (Ercsey-Ravasz et al., 2013).

Mint már említve volt, az EDR modell a makákó, egér és patkány agyi háló számos jellegzetességét megmagyarázza. Ez tehát alátámasztja azt az állítást, hogy az exponenciális távolságszabály betartása egy fontos kritérium az agy kifejlődésében. Ugyanakkor érdemes megjegyezni azt is, hogy az EDR által nem megmagyarázott topológiai tulajdonságok is érdekes eredményeket jelenthetnek, sugalván azt, hogy ezek egyéb biológiai specifikusságból adódnak.

Továbbiakban tehát az exponenciális távolságszabályt és az erre épített EDR véletlen háló modellt vizsgáljuk meg az *ecetmuslica* esetén.

Adatok feldolgozása

Az adatokat a *Codex* platformról töltöttük le, az adatbázis legutolsó verzióját (*snapshot 783 - Oct 2023*), mely 139.255 leellenőrzött idegsejtet, 2.700.513 kapcsolatot és 34.153.566 szinapszist tartalmaz. Az adatbázis kezelői külön megjegyezték, hogy az a 2,7 millió kapcsolat a neuronok között az összesen detektáltak egy részét képezik, ezek a kötések 4-nél több szinapszist tartalmaznak. Ez a küszöbérték megegyezik a bevezetőben említett értékkel, melyet Buhmann és csapata vezetett be a szinapszisok predikciójánál. Azon kívül, hogy ezeket a szűrt kötések nagyon jó pontossággal tudták megjósolni, érvelhető biológiai

szempontból is a küszöbérték használata. Ugyanis az erősebb (több szinapsziszból álló) kötések fontosabb szereppel rendelkezhetnek a neuronok közötti kommunikációban, valamint valószínűbb, hogy ezek egyedtől függetlenek (Dorkenwald et al., 2023).

A konnektomot jellemző szomszédsági mátrix mellett még felhasználtuk a neuronok egyik fajta osztályozását is, amely 3 különböző kategóriába sorolhatók. Belső (*intrinsic*) neuronoknak nevezzük azokat, melyek teljesen az agy belsejében találhatóak. Az afferens (*afferent*) neuronok sejttestjei az agyon kívül helyezkednek el, viszont az axonvégei az agyba nyúlnak. Az ilyen típusú neuronok az érzékszervekből szerzett szenzoriális információkat küldik az agyba. Az afferens neuronok “ellentéteinek” tekinthetők az efferens (*efferent*) neuronok, melyek sejtteste az agyon belül van, axonvégei pedig kívül (Dorkenwald et al., 2023). Ezek pedig motorikus információt küldenek ki az agyból, nevezik őket még motoneuronoknak is és a mozgás kivitelezésében van szerepük. A továbbiakban bemutatott eredmények esetén csak ezek a belső neuronok voltak figyelembe véve, melyek kb. az összes neuronok 85%-át képezik (118 ezer a 139-ből).

Ecetmuslica konnektom az agyterületek szintjén

Az előző kutatásokhoz hasonlóan, az EDR modell érvényességét mi is először az agyterületek (funkcionális zónák) szintjén fogjuk megvizsgálni. Ez a makákó esetén egyszerűbb volt, mivel a *retrograde tracing* kísérleti módszer által kapott méréseket feldolgozva egyből a zónák szintjén kapták meg a konnektomot. Tehát a mi esetünkben kicsinyíteni kell a konnektomot, át kell térjünk az agyterületek szintjére. Ezt könnyedén meg is lehetne valósítani, ismerve mindegyik neuron “hovatartozását” (sejtteste melyik zónában helyezkedik el, vagyis hol kapja az információt), meg tudnánk határozni az agyterületek közötti kötéseket, például a hozzájuk rendelhető neuronkapcsolatok átlagolásával.

Az ecetmuslica agya sokkal sűrűbb ($6,9 \text{ szinapszis}/\mu\text{m}^3$), mint az emlősöké ($< 1 \text{ szinapszis}/\mu\text{m}^3$), illetve legtöbb neuronjának a felépítése pedig az emlősöknél megszokottól eltér, abban az értelemben hogy a sejttest és a dendrit térben el vannak választva (Dorkenwald et al., 2023). Tehát a dendrit $\rightarrow$ sejttest $\rightarrow$ axon út mentén történő információáramlás nem megfelelő közelítés az ecetmuslica neuronjaira nézve. Ezesetben a sejttestek főleg az agy felszínén helyezkednek el, a belőlük kiinduló nyúlvány (amit neveznek még *elsődleges neuritnek*) hatol be az agy belsejébe, onnan pedig két részre ágazik szét. Egyik elágazás a dendrit (ahol kapja az információt), a másik pedig az axon (itt küldi az

információt), mindkettőre jellemző a többszörös kisebb elágazások megjelenése. Tehát az ecetmuslica esetén egy neuron társítása egyetlen egy agyterülethez nem lehetséges, mivel a nyúlványai több ilyen zónát járhatnak be.

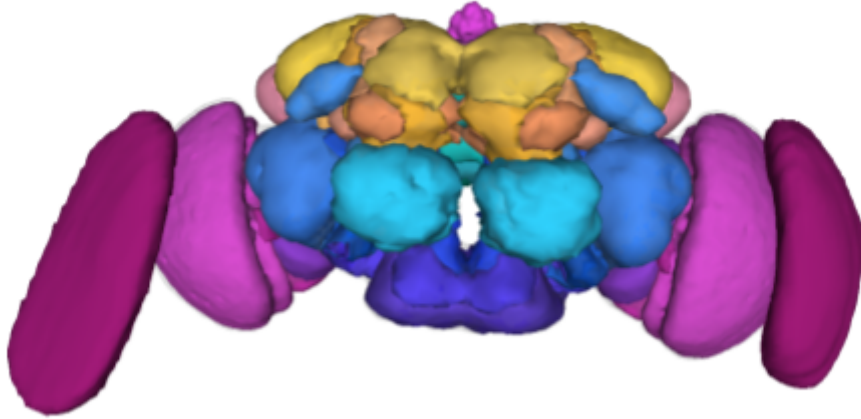


5.ábra: Neuronok közötti különbségek emlősök (felső ábra) és az ecetmuslica között (alsó ábra). Emlősök esetén a dendrit a sejttest körül helyezkedik el, ecetmuslica esetén viszont el vannak választva.

Forrás: Beaulieu-Laroche, L. et al., 2021 (felső ábra);

https://codex.flywire.ai/app/view_3d (alsó ábra)

Ha a neuronokat nem is, a szinapszisokat viszont lehetséges társítani az agyterületekhez. Ez Dorkenwald és társainak sikerült is, felhasználva egy előző kutatásban meghatározott *neuropilek* (agyterületek) atlaszát (Ito et al., 2014), a szinapszisokat a pre-szinaptikus oldaluk szerint sorolták be a 78 zónába.



6.ábra: Az ecetmuslica 78 agyterülete (*neuropilje*).
 Forrás: <https://codex.flywire.ai/app/neuropils>

Így tehát megvolt az elegendő információ ahhoz, hogy megépíthető legyen a konnektom az a neuropilek makroskáláján. Ugyanaz a kutatócsoport ki is dolgozott egy módszert, mellyel az építés megvalósítható. A következő két feltételből indultak ki (Dorkenwald et al., 2023; Lin et al., 2023):

- Egy neuron esetén az információáramlás valószínűsége (jel.: p) egy adott agyterületen belül megközelíthető úgy, hogy az ott található szinapszisok számát osztjuk az össz szinapszisainak számával.
- Egy neuron esetén az információ be- és kiáramlása egymástól függetlennek tekinthető, vagyis számolható külön valószínűség a bejövő (p_{in}), és külön a kimenő szinapszisokra (p_{out}).

Tehát egy neuronon keresztüli információáramlás valószínűségét jellemezhető N darab agyterület esetén két N hosszúságú vektorral.

$$p_{in} = (p_{in_1}, p_{in_2}, \dots, p_{in_N})$$

$$p_{out} = (p_{out_1}, p_{out_2}, \dots, p_{out_N})$$

A két vektort (diadikusan) összeszorozva megkapható egy $N \times N$ -es W mátrixot, melynek W_{ij} eleme meg fogja adni annak a valószínűségét, hogy az adott neuronnak beáramló információja legyen az i . agyterületben ÉS kiáramlója a j -ben.

$$W = p_{in} p_{out}^T$$

Kiszámolva a fenti mátrixot az összes neuronra és összeadva őket megkaphatjuk a végső neuropil-neuropil konnektom, amit neveznek még *projektomnak* is.

$$W = \sum_i W^{(i)}$$

Mi is ugyanezt az algoritmust használva számoltuk ki az agyterületek kötőmátrixát (projektomát). A neuronokra való szummázás után a mátrixelemek igazából egy erősségértéket adnak, amik a zónák közötti kapcsolatokat jellemzik. Tekintve, hogy az agyterületek különböző méretűek lehetnek (lásd 6. ábrát), a szinapszisok számai nagyságrenddel eltérhetnek a nagyobb és kisebb zónák esetén. Ezért mi a kapott kötőmátrixot lenormáltuk oszlopai szerint, így pedig az újonnan kapott W_{ij} mátrixelem meg fog felelni annak a $p_{i \rightarrow j}$ valószínűségnek, hogy az i . agyterületben kapott információ átáramlódjon a j -be. Tehát, az $i \rightarrow j \rightarrow k$ úton haladó információáramlás valószínűsége megadható a megfelelő mátrixelemek szorzataként:

$$p_{i \rightarrow j \rightarrow k} = W_{ij} \cdot W_{jk}$$

Logaritmálva, majd beszorozva -1 -gyel a fenti egyenlet két oldalát, következőt kapjuk:

$$-\log(p_{i \rightarrow j \rightarrow k}) = -\log(W_{ij} \cdot W_{jk}) = -\log(W_{ij}) + [-\log(W_{jk})]$$

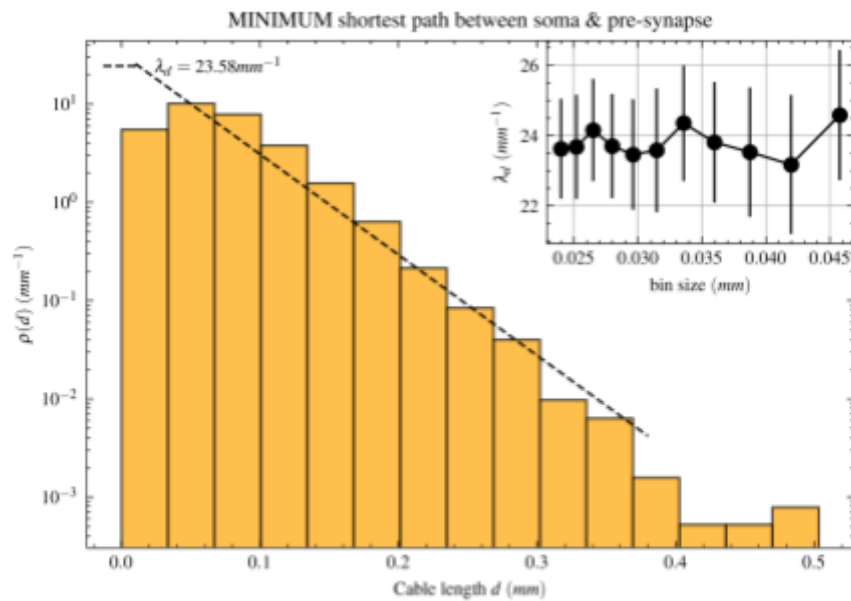
A hálózat szempontjából nézve érdekesebb ilyen alakban definiálni a kötések súlyát, mert így az összegükből álló csomópontok közötti úthosszak új értelmet nyernek. Erre a $-\log(p_{i \rightarrow j \rightarrow k}) \geq 0$ értékre tekinthetünk úgy is, mint egy ellenállás érték az információáramlásra nézve. Így a hálózaton belül a csomók közti legrövidebb úthosszak egyúttal a legkisebb ellenállású utat fogják jelenteni, vagyis a legvalószínűbb útját az információátvitelnek. A továbbiakban bemutatott eredmények mindegyik esetében a konnektom kötőmátrixának $-\log(W)$ alakjával dolgoztunk.

Exponenciális távolságszabály és ecetmuslica EDR modellje

Az exponenciális távolságszabály ellenőrzésére szükségünk volt az axonhosszakra. Ezért szintén a *Codex* webes felületről töltöttük le a térbeli gráf-/faszerkezeteket, melyek a valós neuronok “csontvázának” felel meg (digitális reprezentációjának). Felhasználva ezeket a neuronfákat, az axonhosszakokat a következő módon mértük le: kikerestük a sejttestnek jelölt csomót (szupervoxelt), és meghatározzuk a hozzá legközelebb levő pre-szinaptikus pontnak

jelölt supervoxelt. A köztük levő úthosszal közelítjük meg a neuron axonhosszát, a pre-szinaptikus pont kiválasztásánál pedig azért vesszük a sejttesthez a legközelebbit, mert minket maga az axonnyúlvány érdekel. A legközelebbi pre-szinaptikus pont után már szinte mindig nagyon sok fele ágazik az axon.(pl. az előző 5. ábrán). Azt is meg kell említenünk, hogy bizonyos neuronok esetén ez a legközelebbi pre-szinaptikus pont nem feltétlenül az axonvégen található, hanem megeshet, hogy a dendriten vagy maga az axonnyúlványon legyen. Erre két okot lehet adni: a szinapszis jósoló neurális háló hibázhat, vagy ezek a pontok a nem a hagyományos axonvég-dendrit szinapszisok, hanem dendrit-dendrit vagy axon-axon. Figyelembe véve, hogy mi a közel 120 ezer minta eloszlását nézzük, statisztikai szempontból ez nem hoz be nagy hibát.

A kapott axonhosszak előfordulási valószínűségét ábrázolva a 7. ábrán, látható ahogy szépen kirajzolódik az exponenciális csökkenés. A lecsengő részre megkaptuk az ecetmuslica konnektomjára jellemző $\lambda_d = 23,58 \text{ mm}^{-1}$ értékű csökkenési rátát. A fittelést elvégezve több méretű bin-re, egy $(23,51; 24,06) \text{ mm}^{-1}$ konfidenciaintervallumot kaptunk.



7.ábra: Ecetmuslica axonhosszainak eloszlása. Az axonhossz a neuronfában a sejttest és hozzá legközelebbi preszinapsztikus pont közötti úthosszként volt megközelítve. A fekete szaggatott vonal a fittelt $\lambda_d = 23,58 \text{ mm}^{-1}$ együtthatójú exponenciális csökkenést jelöli. Belső ábra: különböző méretű bin-ekre kapott λ_d paraméterek, melyekre számolt 95%-os konfidenciaintervallum $(23,51; 24,06) \text{ mm}^{-1}$

Az EDR modell érvényességének vizsgálata úgy történik, hogy egy meghatározott $[0, \lambda_{\max}]$ intervallumból veszünk sorra értékeket, mindegyik ilyen λ -ra generálunk több

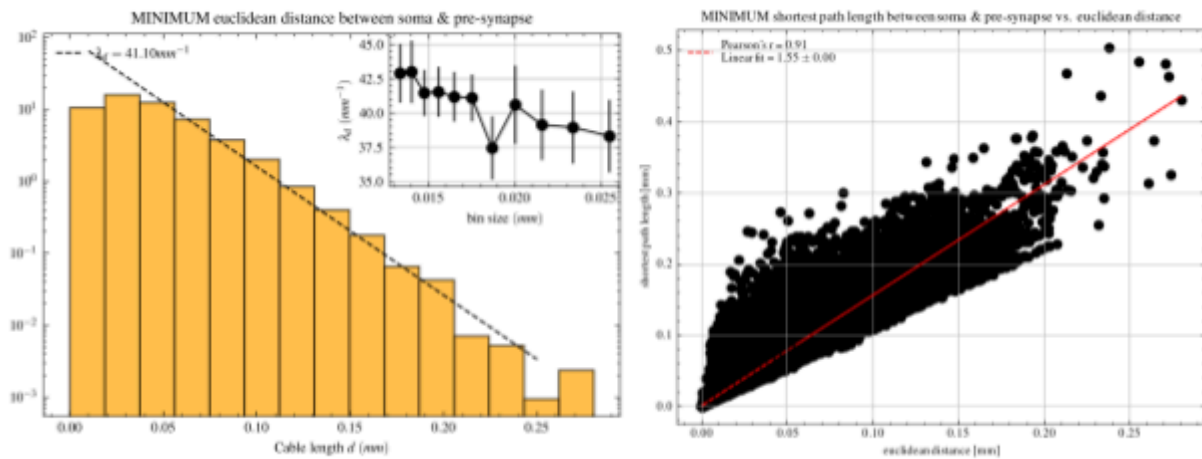
véletlen hálót a bevezetőben elmagyarázott algoritmussal. Ezek után meg kell nézni, hogy melyik λ paraméterre adja átlagosan a modell a valós hálózathoz képest a legközelebbi eredményt, egy adott hálózatelméleti tulajdonságra (pl. fokszámeloszlás vagy átlagos legrövidebb úthossz). Átlagosan az értendő, hogy egy adott λ -ra generált összes véletlen hálóra kiszámoljuk az adott mennyiséget/metrikát és átlagoljuk a kapott eredményeket. Ha pedig a legközelebbi eredményt adó λ értéke az exponenciális távolságszabályból kapott/fittelt (valós) λ_d értékhez közel van, akkor kijelenthető, hogy az EDR modell jól írja le a valós agyi háló adott tulajdonságát (Ercsey-Ravasz et al., 2013). Fontos, hogy a megválasztott λ_{max} valamennyivel nagyobb legyen mint a λ_d , az alsó korlátot pedig azért vesszük 0-nak hogy legyen egy null-model is, amihez az EDR modell hasonlítható. Ugyanis $\lambda = 0$ esetén $p(d) = konst.$, vagyis az exponenciális távolságszabályból adó fizikai megkötés eltűnik, ezért nevezik CDR (*constant distance rule*) modellnek

A $p(d) \sim \exp(-\lambda d)$ alakjában megjelenő fizikai megkötés mellett egy geometriait is megszabunk, a bemeneti paraméterként megadott D távolságmátrix által. Az agyterületek közötti távolságok kiszámolásához a *fafbseg.py* python csomagon keresztül lekért, egy régebbi kutatásban publikált tömegközéppontok helyzeteit használtuk (Jenett et al., 2012). Ezek a koordináták összesen 75 agyterületre voltak elérhetőek, mivel 3 agyterületet a *FlyWire* csapat adott hozzá utólag az adatbázishoz. A mi szempontunkból ez nem is jelentett nagy veszteséget, mivel ez a 3 zóna már érzékszervhez elég közeli, minket pedig mint már említettük főleg az agyon belüli kapcsolatok érdekelnek. Két ilyen zóna a bal és jobb szemhez kapcsolódik (*lamina of the compound eyes* - lásd 6. ábrán a két szélső magenta zónát), a harmadik pedig az *ocellar ganglion*-nak nevezett harmadik vizuális érzékszerve az ecetmuslicának. Ez pedig a feje tetején helyezkedik el (lásd 6. ábrán a fenti rózsaszín gömböcskét) és egy alulfókuszált szemként viselkedik, szerepe van a repülésben, illetve a térbeli orientációban. A projektomot tehát újraszámoltuk csak erre a 75 agyterületre, ez pedig egy $E = 4733$ darab kötésű hálót eredményezett.

Mivel a D mátrix euklidészi távolságokat tartalmaz, az EDR modell λ paramétere is ezen a skálán kéne legyen értelmezve. Viszont a λ_d axonhosszak eloszlásából kapott érték nem igazán található meg ezen az euklidészi skálán, mivel itt térbeli görbék hossza van számolva. Mint már tudjuk, az ecetmuslica agyának belseje nagyon sűrű, teli van axontekervényekkel, melyeknek hossza nagyobb egy egyszerű egyenesénél. Ezért egy korrekt összehasonlítás kedvéért kénytelenek voltunk ugyanarra a skálára hozni a valós λ_d és

a modell λ paraméterét. Mivel a D mátrixot nem tudtuk más módon kiszámolni, a lemért axonhosszakat kellett átskaláznunk. Ez pedig hasonló módon történt mint eredetileg, ugyanazt a csomópárost (szupervoxeleket) vettük a neuronfákban, mint amikre számoltuk a legrövidebb úthosszakokat. A különbség annyi volt, hogy ezúttal a kettő között euklidészi távolságot számoltunk (mindegyik szupervoxel/csomó koordinátáját ismertük a létező adatokból). Így tehát ezen “euklidészi axonhosszak” eloszlását megvizsgálva, szintén egy exponenciális csökkenést kaptunk, viszont egy $\lambda_d = 41,1 \text{ mm}^{-1}$ paraméterrel. Ezesetben a konfidenciaintervallum pedig $(39,29; 41,71) \text{ mm}^{-1}$ értékű.

A legrövidebb úthosszakból és az euklidészi távolságokból kapott axonhosszak elég jól korrelálnak ($r = 0,91$), ami egy erős lineáris kapcsolatot sugall a kettő között. Így tehát meggyőződünk az átskalázás helyességéről, az ábrára fittelt egyenes iránytényezőjéből egy 1,55-os faktort kaptunk.



8.ábra:

Bal oldalt: *Ecetmuslica* “euklidészi axonhosszainak” eloszlása. Az axonhossz a neuronfában a sejttest és hozzá legközelebbi preszinapsztikus pont közötti euklidészi távolságként volt megközelítve. A fekete szaggatott vonal a fittelt $\lambda_d = 41,1 \text{ mm}^{-1}$ együtthatójú exponenciális csökkenést jelöli. Belső ábra: különböző méretű bin-ekre kapott λ_d paraméterek, melyekre számolt 95%-os konfidenciaintervallum $(39,29; 41,71) \text{ mm}^{-1}$

Jobb oldalt: Az axonhosszak és az “euklidészi axonhosszak” korrelációs ábrája. Mindegyik pont egy neuront jelöl. A két mennyiség jól korrelál egymással ($r=0,91$), egy erős lineáris kapcsolatot jelentve. A piros szaggatott vonal a lineáris fittet jelöli, egy 1,55-ös skálázási együtthatóval.

Összegezve tehát, az EDR modellhálók generálásához a következő paramétereket használtuk fel:

- $p(d) \sim \exp(-\lambda d)$ ahol $\lambda \in \{0, 5, 10, \dots, 55, 60 \text{ mm}^{-1}\}$

- 500 generált véletlen háló egy adott λ -ra
- neuropilek közti 75×75 -ös euklidészi távolságmátrix D
- kötések száma $E = 4733$

A következő fejezetben mutatjuk be kapott eredményeinket az *ecetmuslica* valós hálójára, valamint CDR és EDR modelljére.

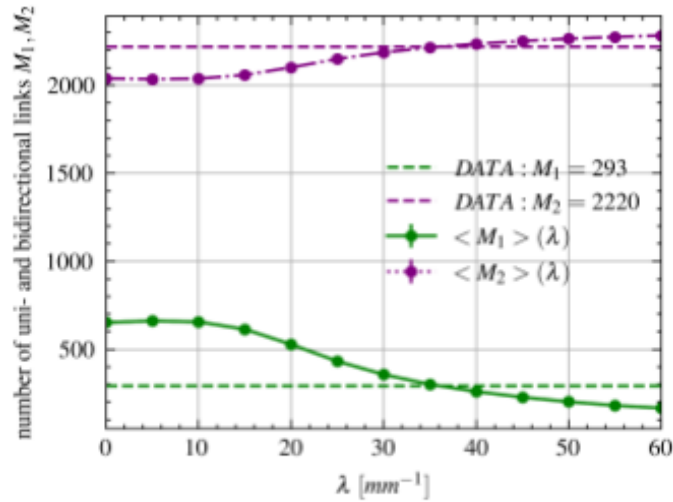
Eredmények

Ebben a fejezetben tehát különböző hálózateméleti mennyiségeket számoltunk ki és hasonlítottunk össze a valós agyi hálóra és a CDR/EDR modellekre. Az egyszerűség kedvéért azokban az esetekben, ahol egy ábra egyetlen egy λ paraméterű EDR modell összehasonlítását jelenti a valós agyi hálózattal (pl. eloszlások esetén), a CDR modell mellett csak a $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modellre kapott eredményt mutatjuk meg. Mivel ez a legközelebbi érték a fittelt λ_d -hez, így meg tudjuk vizsgálni a modell pontosságát (ha pedig más értékre ad találhatóbb eredményt a modell, azt külön megemlítjük).

Egy- és kétirányú kötések száma

Az egy és kétirányú (mármint oda-vissza típusú) kötések számának vizsgálatával betekintést kaphatunk az agyi hálózaton belüli kommunikáció reciprocitására. Előző kutatásokban például a makákó esetén is azt kapták, hogy a kommunikáció többnyire mindkét irányba történik a csomók között (Ercsey-Ravasz et al., 2013). Az *ecetmuslica* esetén mi is ugyanarra a következtetésre jutottunk, amire számítottunk is mivel a háló sűrűsége igen nagy (kb. 85%).

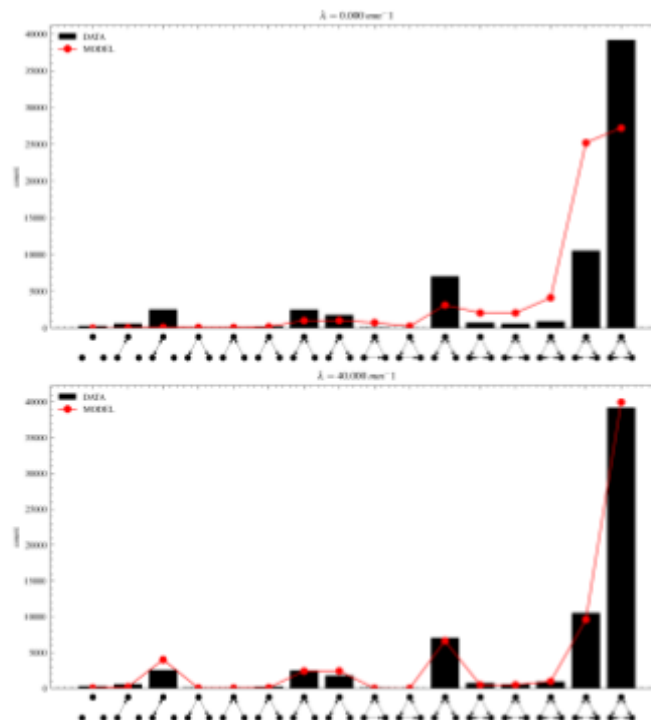
A különböző paraméterű EDR modellekre is elvégezve a számolást, a legjobban találó egy- és kétirányú kötések számát (jel.: M_1 , M_2) a $\lambda = 35 \text{ mm}^{-1}$ értékre kaptuk, ami igen közel van a valós (axonhosszak eloszlására fittelt) $\lambda_d = 41,1 \text{ mm}^{-1}$ értékhez (valamint a konfidenciaintervallumhoz is), és ennél az értéknél is nagyon közel áll a modell a kísérleti eredményekhez.



9.ábra: Egy- és kétirányú kötések száma (M_1 , M_2). A szaggatott vízszintesek a valós agyi hálóra kapott eredményt jelölik. A pontozott görbe pedig a különböző λ paraméterű EDR modellekét.

Háromszög motívumok eloszlása

Háromszög motívumoknak nevezik a három csomópontból álló algráfokat, melyek a hálózat építőelemeinek is tekinthetők, valamint előzőleg több információfeldolgozó hálóra is hasonló jellegű eloszlást kaptak (Milo et al., 2002). Egy irányított hálóban összesen 16 darab ilyen háromszög konfiguráció létezhet a kötésekre nézve, a 10. ábra x-tengelyén vannak ezek feltüntetve. Ezen esetben is inkább a $\lambda = 35 \text{ mm}^{-1}$ paraméterű modellre kaptuk a leghasonlóbb motívum eloszlást, viszont a $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ -re is közelít kaptunk (10. ábra).



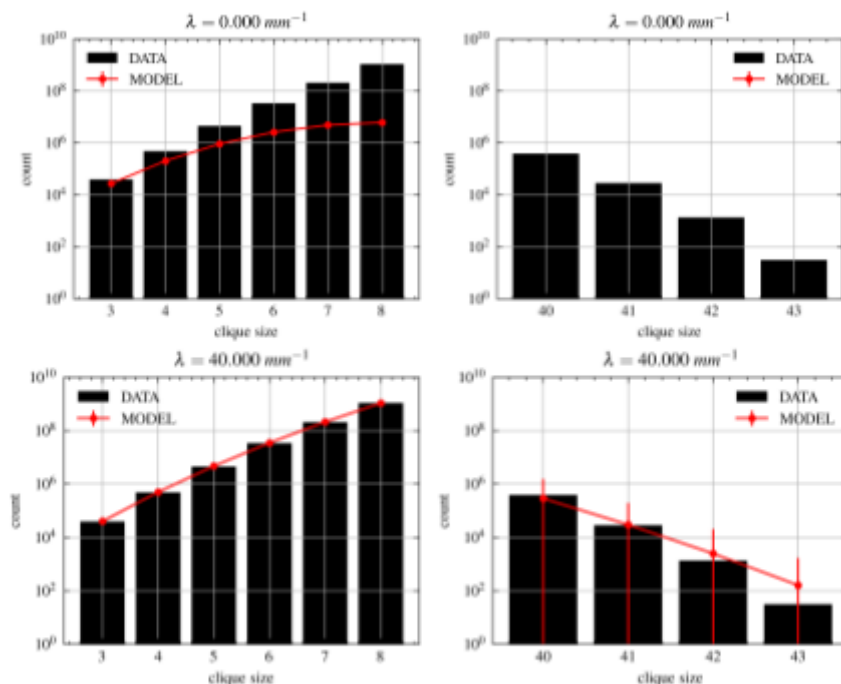
10.ábra: Háromszög motívumok eloszlása valós (fekete) és modell (piros) hálóra. Felső ábra: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR modellre; Alsó ábra: $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modellre

Klikk méretek eloszlása és mag-periféria struktúra

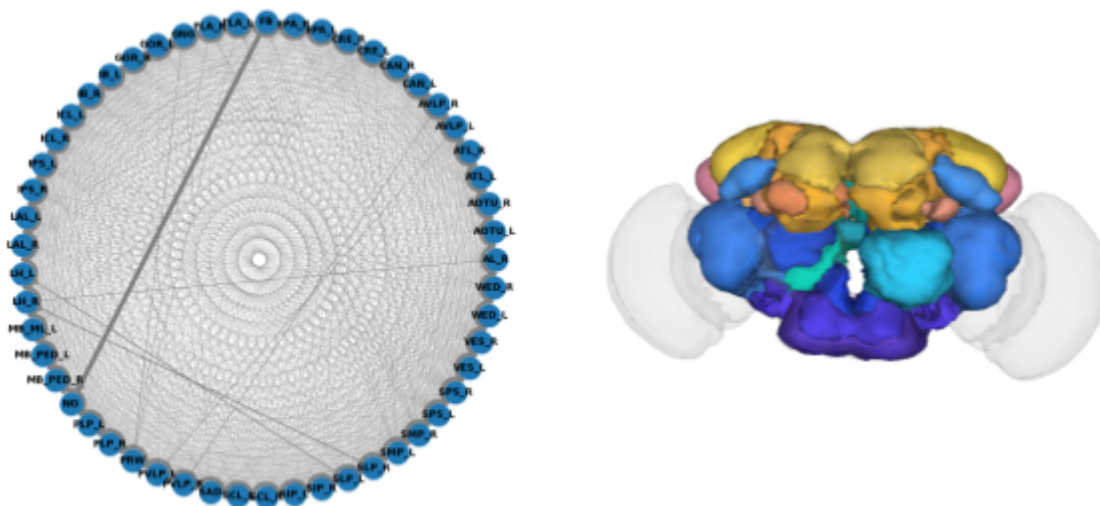
A k -klikk egy hálón belül egy olyan algráfot jelent, mely k csomóból áll és teljesen kötött, vagyis irányított háló esetében $k(k-1)$ kötéssel rendelkezik. Megvizsgálva a különböző méretű klikkek előfordulását az *ecetmuslica* hálójában, 43-as méretűt kaptunk a legnagyobbak, mellesleg 31 darabot belőle. A teljes eloszlást nézve ismét az EDR modellre ($\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ -re) kaptunk hasonló eredményt, a CDR esetén ilyen nagy méretű klikkeket nem volt képes reprodukálni.

A 43-as méretű legnagyobb klikkek tehát magukba foglalják a csomók több mint felét, egy nagy, központi magot alkotva a hálózaton belül. Ez a mag-perifériának nevezett struktúra (*core-periphery*) a makákó agyi hálózatban is megjelent, feltételezések szerint ennek a sűrű magnak az agyterületek együttes információ (és ingerek) feldolgozásában van szerepe (Ercsey-Ravasz et al., 2013). Megvizsgálva a 31 db. ilyen klikket, összesen 53 különböző található meg bennük, ezek között mindössze 2726 kötés van, ami egy nagyon nagy, 98%-os sűrűséget jelent. A maradék 22 csomó az úgynevezett perifériához tartozik, 204 kötés

található meg benne, a maghoz képest jóval gyérebb, 44%-os sűrűségű. A mag-periféria közötti kötések sűrűsége viszont nagyobb, kb. 77%.



11.ábra: Klikk méretek eloszlása valós (fekete) és modell (piros) hálóra. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik. Felső ábrák: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR modellre; Alsó ábrák: $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modellre



12.ábra: Az ecetmuslica konnektomjának sűrű magja. Bal oldalt: mag hálózati ábrája (az élek szélessége a kötés erősségével arányos) Jobb oldalt: maghoz tartozó agyterületek elhelyezkedése az agyban

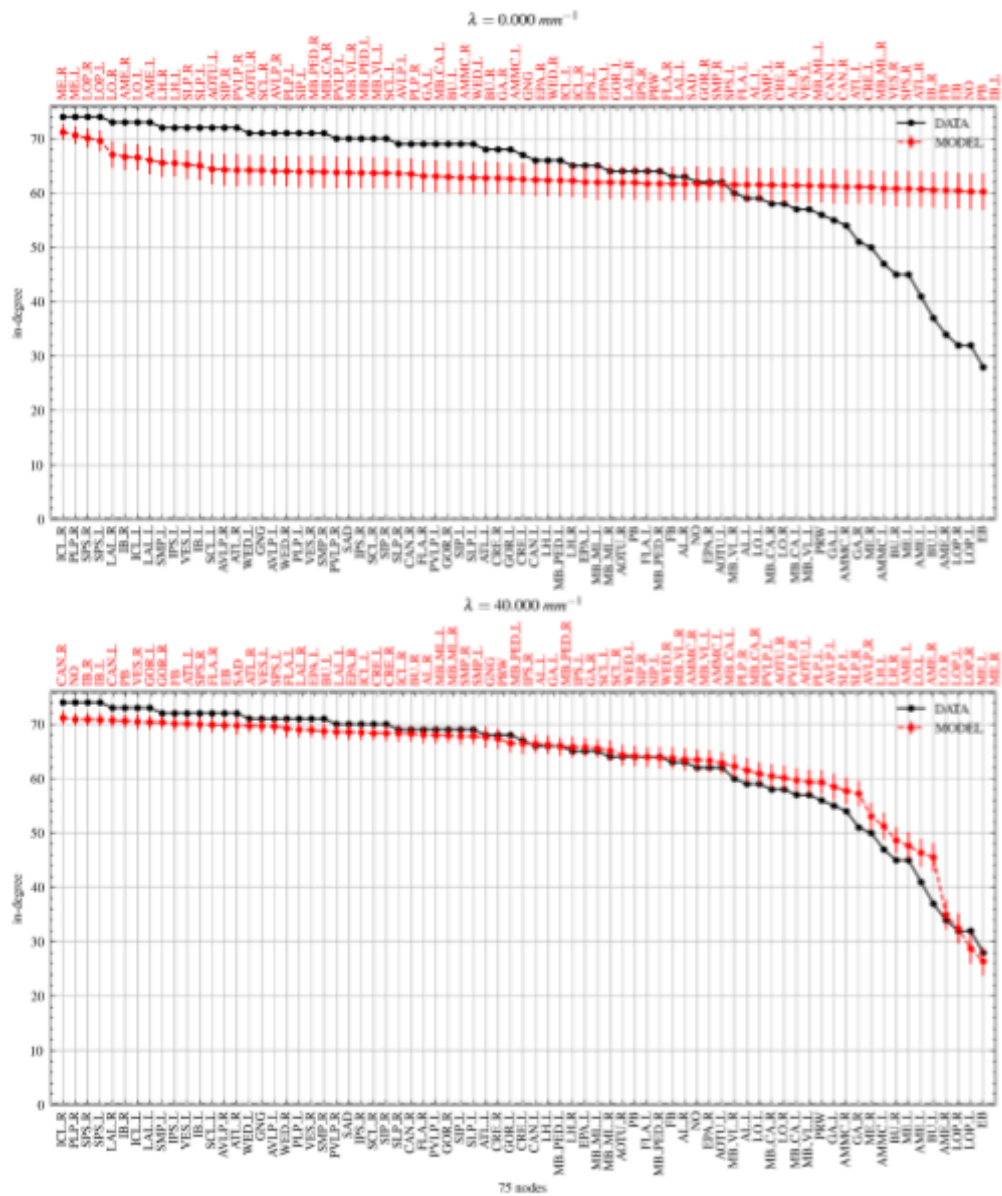
Fokszám

A fokszám talán a hálózateleméletben a legismertebb mennyiség, ez egy csomóra van számolva, súlyozatlan hálóban megadja mindegyik csomó szomszédainak számát. Irányított háló esetén szétválasztható a két irány szerint, beszélhetünk bemeneti és kimeneti fokszámokról:

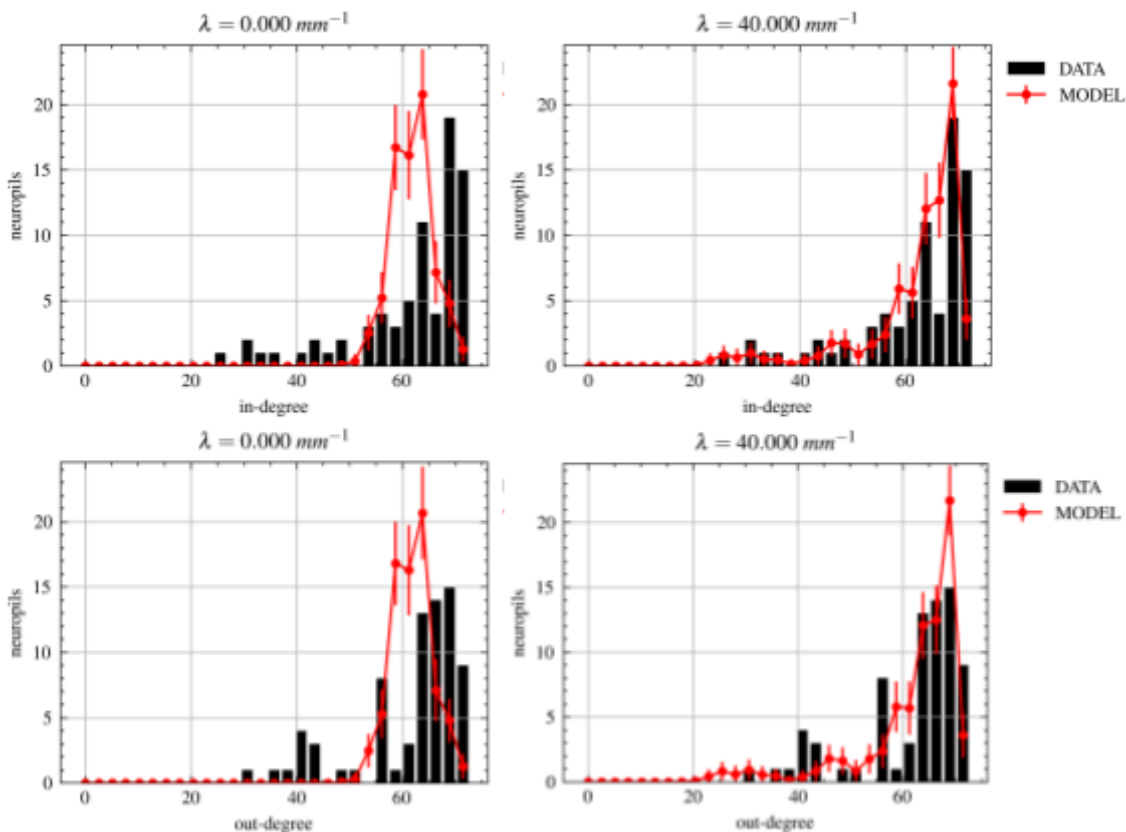
$$k_i^{in} = \sum_{j=1}^N A_{ij}$$
$$k_i^{out} = \sum_{j=1}^N A_{ji}$$

Ahol A_{ij} a hálót jellemző szomszédsági mátrix elemei, értéke 1 ha létezik kötés j -ből i -be, egyébként 0. Tehát ez a mennyiség megadja nekünk, hogy hány szomszédja van egy adott csomónak (hány agyterülettel kommunikál, és melyik irányba). A 13. ábrán példaként ábrázoltuk a csomók bemeneti fokszámát, a valós és a CDR/EDR hálókra. A csomókat fokszámuk szerint csökkenő sorrendbe rendeztük külön a valós és modell hálókra, az EDR esetén visszakaptuk az alacsonyabb fokszámértékeket. Megfigyelhető, hogy a valós adatok és modell esetén is van egy pár közös kisebb fokszámú csomó (pl. az agy szélén elhelyezkedő vizuális zónák *LOP*, *ME*, *AME*), viszont külön megemlítenénk hogy az EDR modelltől nem várható el, hogy reprodukálja a csomók sorrendjét (pl. a centrális agyban elhelyezkedő *EB* zónának valójában elég alacsony a fokszáma, az EDR modellbe viszont nagy). Ez abból adódik, hogy a két megkötésen kívül a modellháló generálásában a csomók (agyterületek) teljesen véletlenszerűen, egyenletes valószínűséggel vannak kiválasztva. A kapott eredmények elég közel voltak több $\lambda = 30 - 50 \text{ mm}^{-1}$ értékre, mi most ebből az intervallumból egy ($\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$) EDR modell eredményt jelenítünk meg.

Véletlen hálók esetében általában inkább a fokszámeloszlást szokták megnézni. Amint már említettük, az EDR modell nem tudja visszaadni ugyanazt a fokszámértéket egyenként a csomókra, ezért minket is a fokszámok eloszlása érdekel inkább.



13.ábra: Bejövő linkekből számolt foksám a csomópontok szerint, valós (fekete) és modell (piros) hálóra. Felső ábra: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR modellre; Alsó ábra: $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modellre



14.ábra: Fokszámok eloszlása valós (fekete) és modell (piros) hálóra. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik. Felső ábrák: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR és $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modellre a bemeneti fokszám; Alsó ábrák: CDR és EDR modellre a kimeneti fokszám.

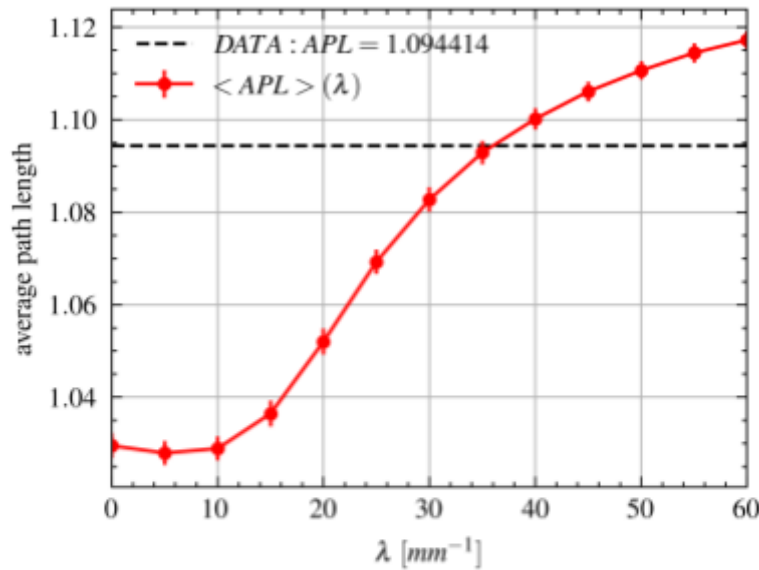
Átlagos legrövidebb úthossz

A hálózatok egy másik jellegzetes mennyisége az átlagos legrövidebb úthossz (*average path length*), melyet legtöbbször súlyozatlan és irányítatlan hálókon definiálnak, vagyis mint a hálózat csomói közötti ugrások számának átlaga. Ez a mennyiség a valós hálózatok kis-világ tulajdonság (*small-world property*) felfedezésével vált felkapottá, miszerint a nagy méretű valós hálózatokban is viszonylag kevés lépésben érhetünk egyik csomóból a másikba (pl. szociális háló esetén a jól ismert hat lépéses távolság) (Watts & Strogatz, 1998). Matematikailag az átlagos legrövidebb úthossz felírható, mint:

$$APL = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{ij} d_{ij}$$

Az ecetmuslica esetén $APL = 1,09$ -et kaptunk, ami azt jelentené, hogy átlagosan egyetlen egy él választ el két csomót, ami a háló nagy, 85%-os sűrűségét nézve logikus is. A számunkra érdekesebb eredmény az az, hogy amint a 15. ábrán is látható, az EDR modell

ismét jól jellemzi a valós hálót, mellesleg egy λ_d -hez közeli értékű paraméterrel ($\lambda = 35 \text{ mm}^{-1}$ körül).



15.ábra: Átlagos legrövidebb úthossz (APL). A szaggatott vízszintes a valós agyi hálóra kapott eredményt jelöli, a pontozott görbe pedig a különböző λ paraméterű EDR modellekét. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik.

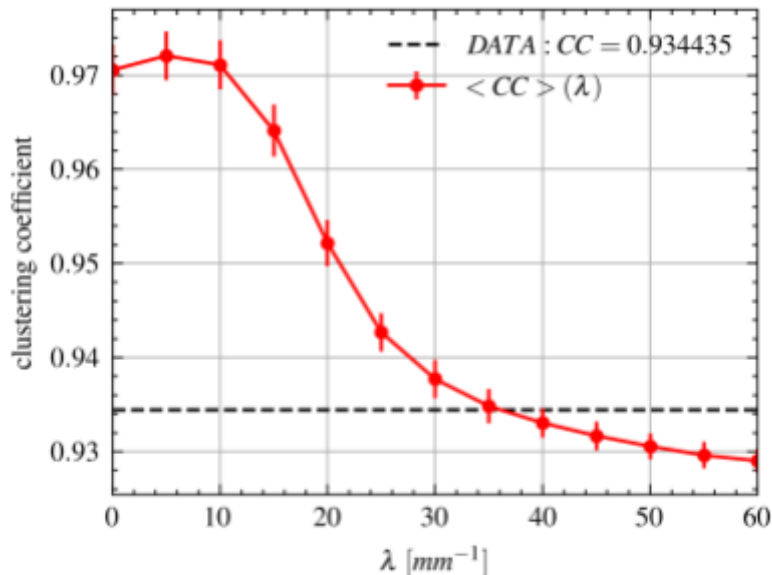
Klaszterezési együtttható

A *kis-világúság* felfedezésével az átlagos legrövidebb úthossz mellett a klaszterezési együtttható is népszerűvé vált. Egy csomópont (lokális) klaszterezési együttthatója igazából megadja a közvetlen szomszédságában a kötések sűrűségét. Átlagolva az összes csomópontra, megkapható a hálózatot jellemző (globális) klaszterezési együtttható, ami az előbb említett kis-világ tulajdonsággal rendelkező hálózatoknál elég nagy (Watts & Strogatz, 1998). Ez az átlagos klaszterezési együtttható megadható az alábbi módon:

$$CC = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N CC_i = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N \frac{1}{k_i(k_i-1)} \sum_{j,k \in N_i} A_{jk}$$

Ahol N a csomók számát, k_i az i . csomó fokszámát (vagyis közvetlen szomszédainak számát), N_i pedig az i . csomó szomszédait jelölik. Az első szummán belüli tag adja meg tulajdonképpen a szomszédság sűrűségét, itt A_{jk} a hálózat súlyozatlan & irányítatlan szomszédsági mátrixát jelöli.

Az ecetmuslica agyi hálózatát egy nagy $CC = 0,934$ klaszterezési együttható jellemez, az EDR modell meg ismét $\lambda = 35 \text{ mm}^{-1}$ körül adja vissza ezt az értéket, de a $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ értéknél is nagyon közel van még az adatokhoz.



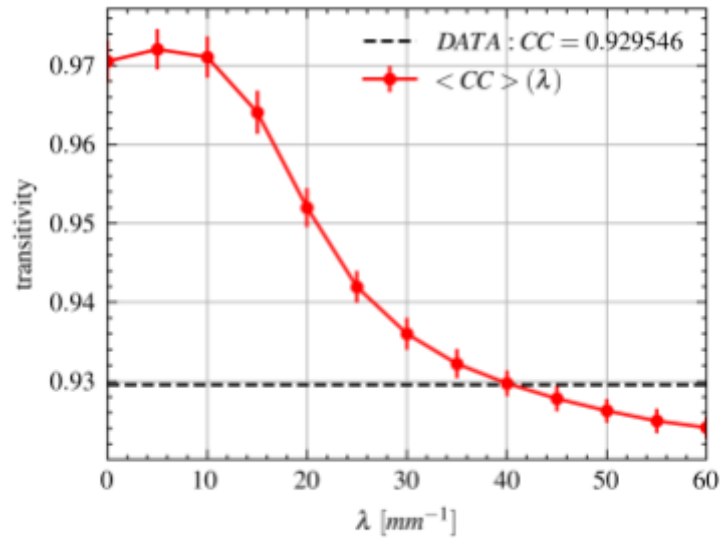
16.ábra: Klaszterezési együttható (CC). A szaggatott vízszintes a valós agyi hálóra kapott eredményt jelöli, a pontozott görbe pedig a különböző λ paraméterű EDR modellekét. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik.

Tranzitivitás

A tranzitivitás az előzőleg bevezetett klaszterezési együtthatóhoz hasonló, ugyanazt a hálózati tulajdonságát próbálja jellemezni, csak kicsit másképpen van számolva. A matematikában ismert tranzitív relációhoz hasonló, annak a valószínűségét adja meg, hogy két azonos szomszédal rendelkező csomó között egy él legyen.

$$CC = \frac{\sum_{i,j,k} A_{ij} A_{jk} A_{ki}}{\sum_i k_i (k_i - 1)}$$

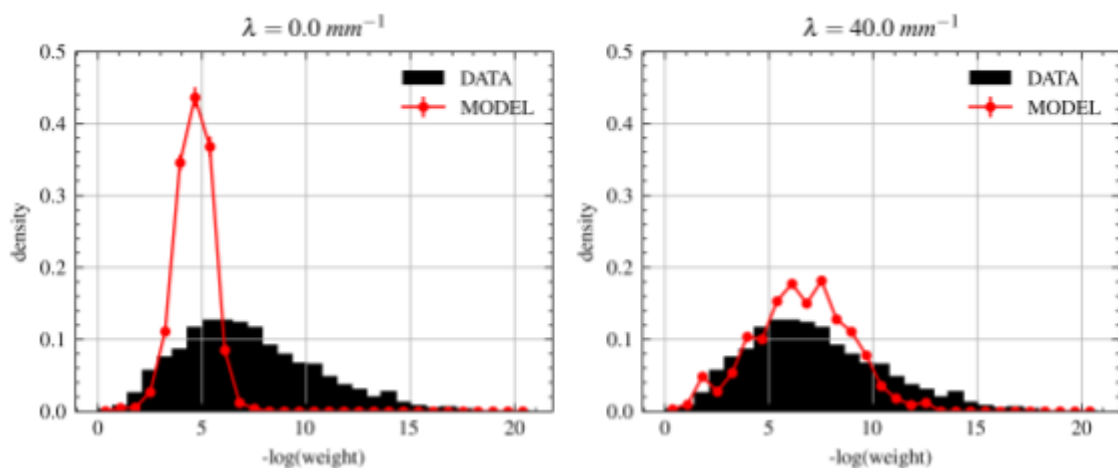
Itt az előző értékhez hasonlólt kaptunk, $CC = 0,929$; az EDR modellre számolt tranzitivitás pedig $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ esetén volt megközelítőleg ugyanaz, mint az ecetmuslica konnektomjánál.



17.ábra: Transzitivitás (CC). A szaggatott vízszintes a valós agyi hálóra kapott eredményt jelöli, a pontozott görbe pedig a különböző λ paraméterű EDR modellekét. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik.

Súlyeloszlás

A továbbiakban súlyozott mennyiségeket vizsgáltunk meg, legelőször a súlyeloszlással kezdtük. Itt egyúttal megemlítenénk, hogy a kapott modellhálókra is ugyanúgy elvégeztük a normálást, valamint a logaritmálást, mint a valós esetén. A súlyok eloszlása haranggörbe alakját követi, viszont itt a legjobban találó EDR modellek esetén is kicsit el van csúszva.



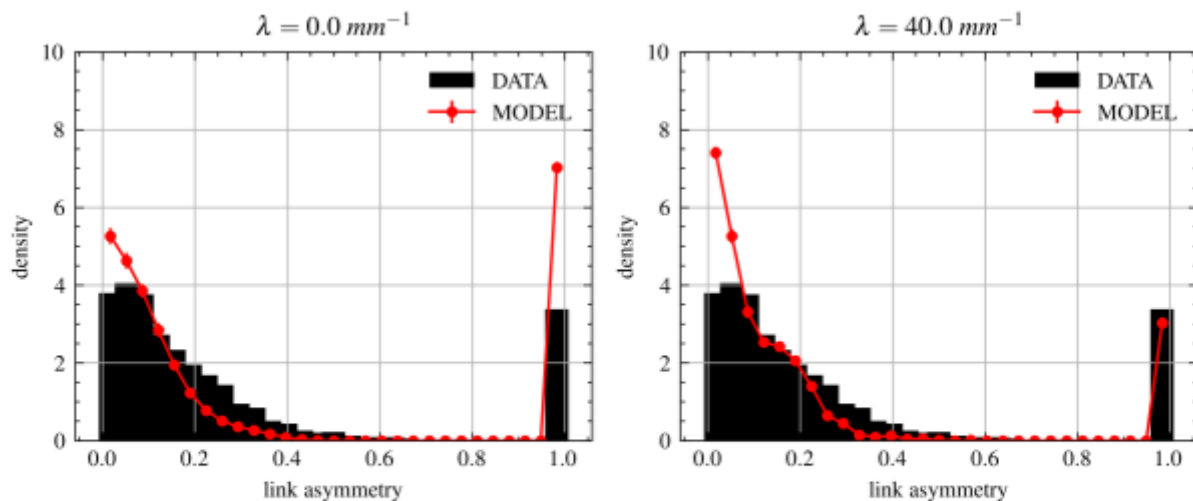
18.ábra: Súlyok eloszlása valós (fekete) és modell (piros) hálóra. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik. Bal oldalon: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR modell. Jobb oldalon: $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modell

Súlyozott linkek aszimmetriája

A súlyozott linkek (kötések) aszimmetriáját a W súlyozott kötőmátrix értékeiből számoltuk ki:

$$\frac{|W_{ij} - W_{ji}|}{W_{ij} + W_{ji}}$$

Egyirányú kötések esetén a nem létező kötés súlyértékét 0-nak vettük. Így tehát a kapott eloszlásba bele vannak számolva ezek is.



19.ábra: Súlyozott kötések aszimmetriája valós (fekete) és modell (piros) hálóra. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik. Bal oldalon: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR modell. Jobb oldalon: $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modell

Ezen esetben már nem fogható rá annyira az EDR modellre (de se a CDR-re), hogy jól megközelítené a valódi hálózat súlyainak aszimmetriáját. Minél nagyobb a λ paraméter, annál meredekebb a modellnek átadott $p(d)$ eloszlás is, így sokkal több él fog bekerülni az egymáshoz közeli csomókhoz, egy nagyobb súlyértéket generálva. Ugyanakkor mi a kötések irányát teljesen véletlenül válasszuk ki mindegyik lépésben, valójában viszont az agyon belüli kapcsolatok iránya mögött biológiai magyarázat rejtőzik, szoros összefüggésben van a területek funkcionális hierarchiájával (Felleman & Van Essen, 1991). Ezt várható módon az EDR modell nem képes reprodukálni. Ez egy fontos példa arra, hogy az EDR modellt mint null modellt használva, hogyan fedezhetünk fel olyan tulajdonságokat, amelyek tényleg biológiai fontosságúak és nem egyszerűen geometriai megszorításokból adódnak.

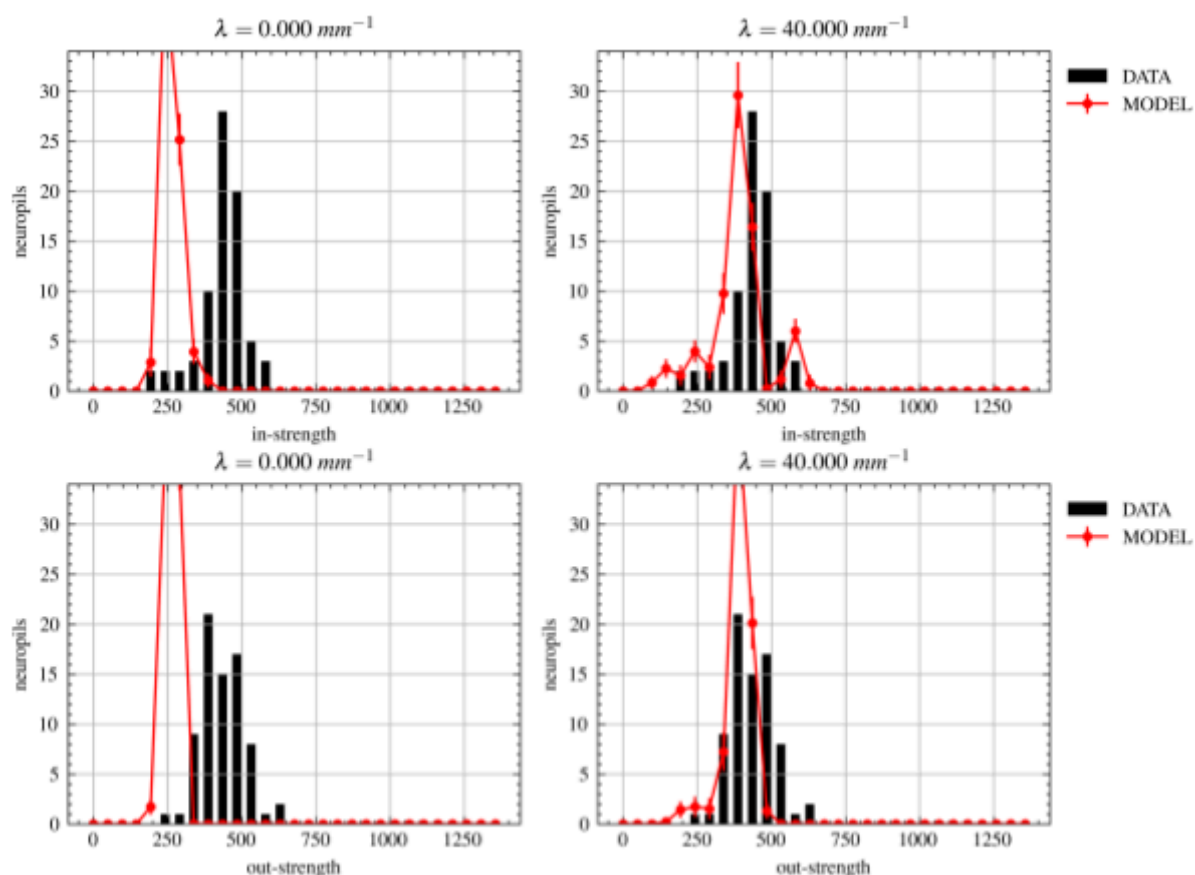
Súlyozott fokszám

Súlyozott fokszám hasonlóan számolható mint a súlyozatlan, csak ezesetben a csomó szomszédaival való kötések súlyösszegét fogja megadni.

$$k_i^{in} = \sum_{j=1}^N W_{ij}$$

$$k_i^{out} = \sum_{j=1}^N W_{ji}$$

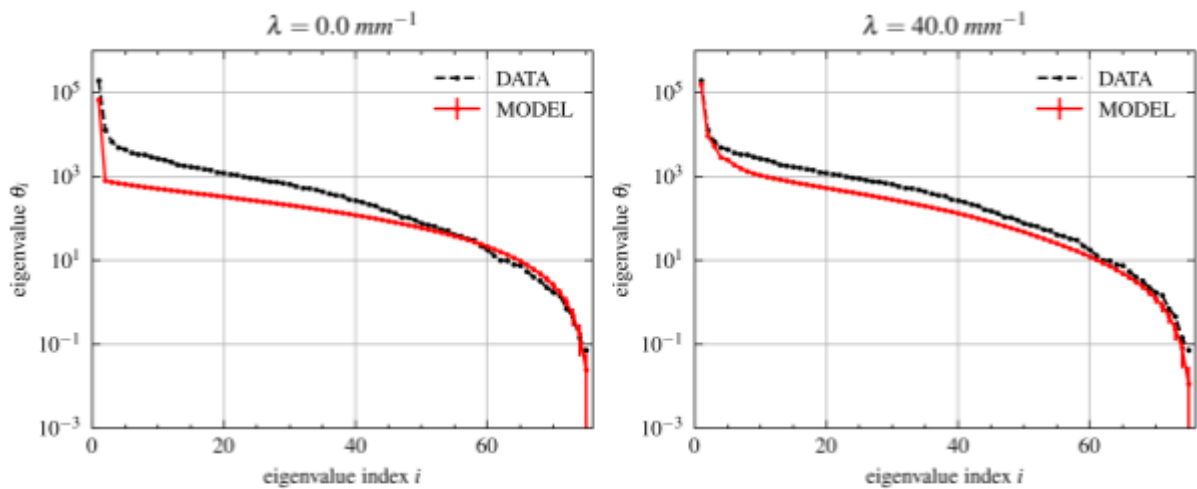
A súlyozott be- és kimeneti fokszámok eloszlásai vizsgálatánál az EDR modellre kapott eredmények már nem jellemzik olyan jól a valós hálóra mértéket. A bemenetknél még a $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ -re még valamennyire jól talál a két eloszlás magassága, csak a maximumhelyük nem. A kimeneti fokszámok esetén pedig inkább fordítva.



20.ábra: Súlyozott fokszámok eloszlása valós (fekete) és modell (piros) hálóra. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik. Felső ábrák: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR és $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modellre a bemeneti fokszám; Alsó ábrák: CDR és EDR modellre a kimeneti fokszám.

Sajátérték spektrum

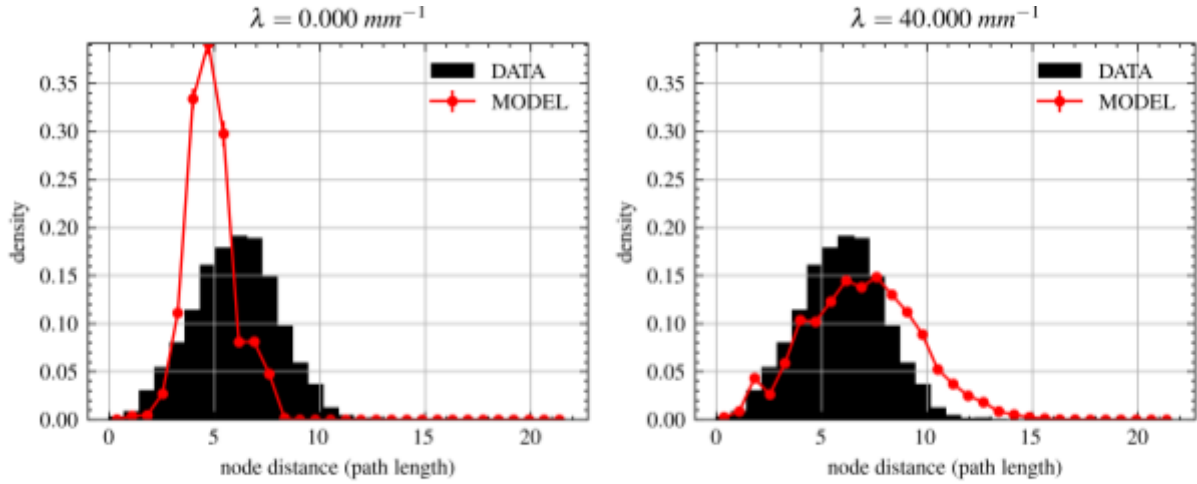
A gráfelmélet egyik alterülete az úgynevezett spektrális gráfelmélet, melyben sokszor a szomszédsági mátrix lineáris algebrai tulajdonságai vannak vizsgálva. Mi a súlyozott szomszédsági mátrixot (kötésmátrixot) spektrumát számoltuk ki, viszont annak érdekében, hogy valós sajátértékeket kapjunk, szimmetrizálnunk kellett. Vagyis a WW^T mátrix sajátértékeit ábrázoltuk a 21. ábrán. Itt kiemelhető, hogy az első pár legnagyobb sajátértéke az EDR modellnek eléggé megegyezik a valós hálójával, míg a CDR egyáltalán nem.



21.ábra: Súlyozott sajátérték spektrum valós (fekete) és modell (piros) hálóra. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik. Bal oldalon: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR modell. Jobb oldalon: $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modell

Távolságok eloszlása

Ebben az esetben távolságok alatt valójában a legrövidebb súlyozott úthosszakat értjük. Ezek pedig mint már említettük, értelmezhetőek a legkisebb ellenállású utakként az információfolyamra nézve. A szakirodalomban már ismert, hogy ezek a távolságok a súlyozott agyi hálózatok fontos tulajdonságait jellemezhetik (Schieber et al., 2017). A teljes távolság eloszlást nézve az EDR modell $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ -re nem a legkedvezőbb eredményt adta, míg pl. a $\lambda = 30 \text{ mm}^{-1}$ esetén szinte tökéletesen talál a valós hálóra kapott eloszlással.



22.ábra: Súlyozott legrövidebb úthosszak eloszlása valós (fekete) és modell (piros) hálóra. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik. Bal oldalon: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR modell. Jobb oldalon: $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modell

Kommunikációs hatékonyságok

A távolságok függvényében ki tudunk számolni két kommunikációs hatékonysági mennyiséget, melyek a hálón belüli információfolyam jellemzésére szolgálnak. Globális hatékonyságnak nevezzük az inverz távolságok átlagát, amely a hálózaton belüli átlagos információátvitel hatékonyságát jellemzi (minél kisebbek a d távolságok, annál nagyobb lesz a hatékonyság) (Latora & Marchiori, 2003).

$$E_g = \frac{1}{N(N-1)} \sum_{i,j} \frac{1}{d_{ij}}$$

A csomók szintjén is definiálható egy ilyen lokális mennyiség, ami egy csomó körüli információáramlás hatékonyságát fogja megadni, úgy hogy kivesszük az adott csomót a kötéseivel együtt a hálóból. Vagyis a csomó kivétele után a szomszédai között újraszámolva a távolságokat (az egész maradék hálón keresztül) határozható meg ez a lokális hatékonyság.

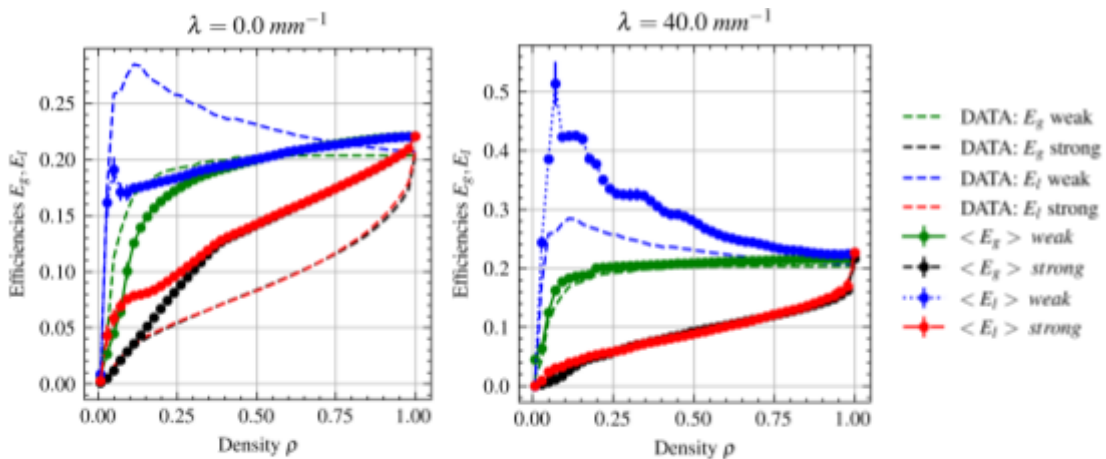
$$E_{l_i} = \frac{1}{k_i(k_i-1)} \sum_{j,k \in N_i} \frac{1}{d_{jk/i}}$$

k_i -vel az i . csomó szomszédainak számát jelöltük, N_i -vel a szomszédságát, $d_{jk/i}$ -vel pedig az i nélküli hálóban számolt távolságot. Kiszámolva és átlagolva az összes csomóra ezt a mennyiséget, megkapható a hálózat (átlagos) lokális hatékonysága (Vragović, Louis, & Díaz-Guilera, 2005).

$$E_l = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N E_{l_i}$$

Az EDR modellt bevezető cikkhez hasonló ezeket az E_g , E_l értékeket nem csak a teljes háló(k)ra, hanem a fokozatosan ritkított verzióra is kiszámoltuk, végigkövetve ezen mennyiségek változását a sűrűség függvényében. Ezáltal megfigyelhető a különböző erősségű kötések szerepe a hálón belüli kommunikáció hatékonyságában. Ha a legerősebb kötések kezdjük kivenni fokozatosan, mint két hatékonyság elég hamar lecseng (lásd 23. ábrán a piros és fekete görbéket). Viszont az érdekesség a másik esetben rejlik, mikor a leggyengébb kötések kezdjük kivenni a hálóból. Ugyanis ekkor egy adott ponton már csak a háló legerősebb kötései maradnak, amik tekinthetők a legalapvetőbbeknek is. Ezért ezt a maradék hálót nevezhetjük gerincnek is, mivel a háló kötéseinek alapját képezi. Ez a gerinc tartja fent a teljes háló globális hatékonyságát, szétbontása után ez az érték nagyon gyorsan csökken. Az ábrán a zöld görbéken látszik, hogy kb. 15%-os sűrűségik az E_g inkább konstans, az ennél alacsonyabb sűrűségeknél törik le. Ezzel ellentétben a lokális hatékonyság értéke egyre inkább nő, ahogy csökken a sűrűség, a gerincnek megfelelő sűrűségnél éri el a maximumát. Ez azt sugallja, hogy a lokális szinten történő információáramlás sokkal erősebb a gerincen belül (Ercsey-Ravasz et al., 2013).

A számunkra igazán fontos eredmény az, hogy a valós háló ezen tulajdonságát visszaadja az exponenciális távolságszabályra épülő modell, ezzel ellentétben a null-modellként kezelt CDR háló ezt nem tudja megmagyarázni.



23.ábra: Kommunikációs hatékonyságok értéke csökkenő kötés sűrűség függvényében valós (szaggatott) és modell (pontosított) hálóra. Az errorbar-ok a modell (véletlen) hálókra kapott eredmények szórását jelölik. A két hálóra négy görbét különböztethetünk meg: globális hatékonyság változása a leggyengébb linkek sorozatos kitörölésével (zöld szín); globális hatékonyság változása a legerősebb linkek kitörölésével (fekete szín); lokális hatékonyság leggyengébb kötésekkel (kék szín); lokális hatékonyság legerősebbekkel (piros). Bal oldalon: $\lambda = 0 \text{ mm}^{-1}$ CDR modell. Jobb oldalon: $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ EDR modell

Következtetések

E kutatási projekt során tehát sikerült egy már jól ismert tulajdonságát az emlős és rágesáló agynak leellenőrizni egy rovar agyára is. Ez az exponenciális távolságszabály néven ismert törvény az agy optimális kifejlődését, valamint minimális költségű kábelezését jellemzi. Konkrétan megfogalmazva, az agyban az axonok előfordulási valószínűsége exponenciálisan csökken a hosszukkal. A szabály felfedezői kidolgoztak egy véletlen háló modellt, amely ezt az exponenciális eloszlást és a csomók (agyterületek) koordinátáit felhasználva képes egy olyan fizikai és térbeli (irányított és súlyozott) hálót generálni, ami visszaadja az emlős konnektom hálózati sok tulajdonságát.

Felhasználva a *FlyWire* projekt keretén belül publikált teljes ecetmuslica konnektomot, el tudtuk végezni ugyanezeket a vizsgálatokat. Lemérve az axonhosszakat euklidészi távolságonként a megadott digitalizált neuronokon, mi egy $\lambda_d = 41,1 \text{ mm}^{-1}$ paraméterű exponenciális eloszlást kaptunk egy $(39, 29; 41, 71) \text{ mm}^{-1}$ konfidenciaintervallummal. A projekt csapata által meghatározott módszerrel számoltuk ki az ecetmuslica projektomát (agyterületek hálózatát) a neuronok közötti kapcsolatok alapján. Majd ezt a valós agyi hálózatot hasonlítottuk össze az EDR modell néven ismert véletlen hálókkal, számos hálózatelemleti mennyiséget kiszámolva.

A súlyozatlan mennyiségekre az EDR modell szinte mindegyik esetében jó pontossággal adja vissza a valós háló tulajdonságait a $\lambda = 40 \text{ mm}^{-1}$ paraméterű modell. Súlyozott mennyiségek esetében viszont felmerült egy probléma, mivel ez a modell nem tudja reprodukálni a valós hálózat súlyozott kötéseinek közötti aszimmetriát. Ezek mögött valószínű egyéb érdekes biológiai tulajdonságok állhatnak. Ebből adódóan a súlyokra épülő mennyiségek esetén se adta a legkedvezőbb eredményeket az EDR modell. A súlyozott legrövidebb úthosszakból számolt kommunikációs hatékonyságok esetén viszont ez a modell ismét képes volt elég pontosan megmagyarázni a valódi tulajdonságokat.

Végzőként kiemelnénk, hogy a kutatásunkban az újdonság az volt, hogy ezt az exponenciális távolságszabállyal történő modellezést egy teljesen feltérképezett agyra végeztük el, mellesleg egy másik állatcsoportba tartozóra. Az emlősök (makákó, egér, patkány) után az ecetmuslicára is kijelenthető, hogy az EDR modell összességében jól írja le a valós agyi hálózat topológiáját, ellentétben a CDR (null-)modellel. Ez pedig továbbra is abba az irányba mutat, hogy ez az exponenciális távolságszabály állatfajtól független, vagyis az agy egy általános tulajdonsága lehet. Ez egy fontos eredmény, mert azt sugallja, hogy ezután

újabb fajok konnektomjának vizsgálatakor, eleve ezt az EDR modellt kell null-modellként használni, ha fel akarjuk fedezni az igazán érdekes, biológiailag is releváns tulajdonságokat, amelyek nem egyszerűen fizikai és geometriai megkötésekből származnak.

A továbbiakban egy nagy kihívás lesz kiterjeszteni ezt az EDR modellt a neuronális szintre is, az ecetmuslica lenne az első állatfaj, amire elvégezhetnénk ezt ezen a mikroszinten. Ellenben ehhez az eredeti EDR modellt újra kell definiálni, hiszen ez az agyterületek szintjén volt értelmezve.

Tudományos publikációk

Levente Varga, Botond Molnár, Vasile V. Moca, Laura Perez-Cervera, Antonio Díaz-Parra, David Moratal, Balázs Péntek, Wolfgang H. Sommer, Raul C. Mureşan, Santiago Canals, Mária Ercsey-Ravasz (2024). *Brain dynamics supported by a hierarchy of complex correlation patterns defining a robust functional architecture*. Cell Systems, 15(8), 770-786

Levente Varga, Balázs Péntek, Botond Molnár, Laura Perez-Cervera, Mohamed Kotb Selim, Antonio Díaz-Parra, David Moratal, Wolfgang H. Sommer, Santiago Canals, Raul C. Mureşan, Vasile V. Moca, Mária Ercsey-Ravasz (2024). *Protocol to study brain dynamics through the hierarchy of complex correlation patterns defining a robust functional architecture*, STAR Protocols, beküldve.

Balázs Péntek, Mária Ercsey-Ravasz (2024). *The exponential distance rule based network model predicts topology and reveals functionally relevant properties of the Drosophila projectome*, Network Neuroscience, beküldve.

Köszönetnyilvánítás

A kutatás a BBTE hallgatói kutatási ösztöndíj keretén belül, a PN-III-P4-PCE-2021-0408 projekt támogatásával zajlott le. Valamint köszönjük a Magyarország Collegium Talentum programjának támogatását.

Hivatkozások

- About eyewire, A game to map the brain. (2012, November 6). Retrieved May 4, 2024, from Blog website: <https://blog.eyewire.org/about/>
- Bock, D. D., Lee, W.-C. A., Kerlin, A. M., Andermann, M. L., Hood, G., Wetzell, A. W., ... Reid, R. C. (2011). Network anatomy and in vivo physiology of visual cortical neurons. *Nature*, 471(7337), 177–182. <https://doi.org/10.1038/nature09802>
- Briggman, K. L., Helmstaedter, M., & Denk, W. (2011). Wiring specificity in the direction-selectivity circuit of the retina. *Nature*, 471(7337), 183–188. <https://doi.org/10.1038/nature09818>
- Buhmann, J., Sheridan, A., Malin-Mayor, C., Schlegel, P., Gerhard, S., Kazimiers, T., ... Funke, J. (2021). Automatic detection of synaptic partners in a whole-brain Drosophila electron microscopy data set. *Nature Methods*, 18(7), 771–774. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01183-7>
- Dorkenwald, S., Matsliah, A., Sterling, A. R., Schlegel, P., Yu, S., McKellar, C. E., ... Murthy, M. (2023). *Neuronal wiring diagram of an adult brain*. Cold Spring Harbor Laboratory. Retrieved from Cold Spring Harbor Laboratory website: <http://dx.doi.org/10.1101/2023.06.27.546656>
- Dorkenwald, S., McKellar, C. E., Macrina, T., Kemnitz, N., Lee, K., Lu, R., ... Seung, H. S. (2021). FlyWire: Online community for whole-brain connectomics. *Nature Methods*, 19(1), 119–128. <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01330-0>
- Ercsey-Ravasz, M., Markov, N. T., Lamy, C., Van Essen, D. C., Knoblauch, K., Toroczkai, Z., & Kennedy, H. (2013). A predictive network model of cerebral cortical connectivity based on a distance rule. *Neuron*, 80(1), 184–197. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.07.036>
- Felleman, D. J., & Van Essen, D. C. (1991). Distributed hierarchical processing in the primate cerebral cortex. *Cerebral Cortex*, 1(1), 1–47. <https://doi.org/10.1093/cercor/1.1.1-a>
- Horvát, S., Gămănuț, R., Ercsey-Ravasz, M., Magrou, L., Gămănuț, B., Van Essen, D. C., ... Kennedy, H. (2016). Spatial embedding and wiring cost constrain the functional layout of the cortical network of rodents and primates. *PLOS Biology*, 14(7), e1002512. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1002512>

- Ito, K., Shinomiya, K., Ito, M., Armstrong, J. D., Boyan, G., Hartenstein, V., ... Vosshall, L. B. (2014). A systematic nomenclature for the insect brain. *Neuron*, 81(4), 755–765. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.12.017>
- Jefferis, G. S. X. E. (2014, June 18). JFRC2 template brain. Retrieved from Zenodo website: <https://zenodo.org/record/10567>
- Jenett, A., Rubin, G. M., Ngo, T.-T. B., Shepherd, D., Murphy, C., Dionne, H., ... Zugates, C. T. (2012). A gal4-driver line resource for drosophila neurobiology. *Cell Reports*, 2(4), 991–1001. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2012.09.011>
- Latora, V., & Marchiori, M. (2003). Economic small-world behavior in weighted networks. *The European Physical Journal B - Condensed Matter and Complex Systems*, 32(2), 249–263. <https://doi.org/10.1140/epjb/e2003-00095-5>
- Lin, A., Yang, R., Dorkenwald, S., Matsliah, A., Sterling, A. R., Schlegel, P., ... Murthy, M. (2023). *Network Statistics of the Whole-Brain Connectome of Drosophila*. Cold Spring Harbor Laboratory. Retrieved from Cold Spring Harbor Laboratory website: <http://dx.doi.org/10.1101/2023.07.29.551086>
- Milo, R., Shen-Orr, S., Itzkovitz, S., Kashtan, N., Chklovskii, D., & Alon, U. (2002). Network motifs: Simple building blocks of complex networks. *Science*, 298(5594), 824–827. <https://doi.org/10.1126/science.298.5594.824>
- Noori, H. R., Schöttler, J., Ercsey-Ravasz, M., Cosa-Linan, A., Varga, M., Toroczka, Z., & Spanagel, R. (2017). A multiscale cerebral neurochemical connectome of the rat brain. *PLOS Biology*, 15(7), e2002612. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.2002612>
- Pósfai, M., Szegedy, B., Bačić, I., Blagojević, L., Abért, M., Kertész, J., ... Barabási, A.-L. (2023). Impact of physicality on network structure. *Nature Physics*, 20(1), 142–149. <https://doi.org/10.1038/s41567-023-02267-1>
- Schieber, T. A., Carpi, L., Díaz-Guilera, A., Pardalos, P. M., Masoller, C., & Ravetti, M. G. (2017). Quantification of network structural dissimilarities. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/ncomms13928>
- Vragović, I., Louis, E., & Díaz-Guilera, A. (2005). Efficiency of informational transfer in regular and complex networks. *Physical Review E*, 71(3). <https://doi.org/10.1103/physreve.71.036122>
- Watts, D. J., & Strogatz, S. H. (1998). Collective dynamics of ‘small-world’ networks. *Nature*, 393(6684), 440–442. <https://doi.org/10.1038/30918>

- White, J. G., Southgate, E., Thomson, J. N., & Brenner, S. (1986). The structure of the nervous system of the nematode *Caenorhabditis elegans*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. B, Biological Sciences*, 314(1165), 1–340. <https://doi.org/10.1098/rstb.1986.0056>
- Winding, M., Pedigo, B. D., Barnes, C. L., Patsolic, H. G., Park, Y., Kazimiers, T., ... Zlatic, M. (2023). The connectome of an insect brain. *Science*, 379(6636). <https://doi.org/10.1126/science.add9330>
- Zheng, Z., Lauritzen, J. S., Perlman, E., Robinson, C. G., Nichols, M., Milkie, D., ... Bock, D. D. (2018). A Complete Electron Microscopy Volume of the Brain of Adult *Drosophila melanogaster*. *Cell*, 174(3), 730-743.e22. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.06.019>