

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
FACOLTÀ DI INGEGNERIA

Dipartimento di Ingegneria dell'Informazione
Corso di Laurea in Ingegneria Informatica e dell'Automazione



TESI DI LAUREA

**Un approccio basato su complex network per l'analisi di neuroni
non omologhi nel connettoma della Drosophila**

**A complex network-based approach to analyze non-homologous
neurons in the Drosophila connectome**

Relatore

Prof. Domenico Ursino

Candidato

Matteo Spiga

Correlatori

Prof. Giorgio Terracina

Dott. Enrico Corradini

ANNO ACCADEMICO 2023-2024

La vera delizia è nello scoprire piuttosto che nel conoscere.

Isaac Asimov

Sommario

L'analisi del connettoma si occupa dello studio delle connessioni neurali per comprendere meglio la struttura del cervello. Tra gli organismi più studiati, la *Drosophila melanogaster* rappresenta un caso di particolare interesse, grazie alla recente ricostruzione del suo connettoma sia della larva che dell'adulto. Questo lavoro si inserisce in questo contesto, con l'obiettivo di approfondire le analisi sulla *Drosophila* ponendo un focus particolare sui neuroni non omologhi. Dopo una prima fase di analisi esplorativa del connettoma, vengono condotte indagini sulla numerosità dei neuroni senza corrispettivo e le aree del cervello a cui appartengono, sia nella larva che nell'adulto. Successivamente, vengono studiate le loro proprietà attraverso diverse misure, quali il grado di input, il grado di output, il coefficiente di clustering e i motif, al fine di comprendere maggiormente il loro ruolo nel connettoma. Infine, viene condotta un'analisi approfondita degli archi senza corrispettivo. Tale analisi ci ha permesso di evidenziare le somiglianze e le differenze presenti tra emisfero sinistro e destro, sia nella larva che nell'adulto.

Keyword: Complex Network, Connettoma, *Drosophila melanogaster*, Power Neuron, Exploratory Data Analysis, Neuroni non Omologhi

Introduzione	1
1 Introduzione ai sistemi neuromorfici	3
1.1 Definizione di sistema neuromorfico	3
1.2 Architetture cognitive ispirate al cervello	4
1.2.1 Il cervello	4
1.2.2 Architettura neuromorfica	6
1.3 Obiettivi e vantaggi di un sistema neuromorfico	7
1.3.1 Potenzialità	8
1.3.2 Possibili applicazioni	9
2 Introduzione agli studi sul connettoma della Drosophila	10
2.1 Introduzione al connettoma	10
2.2 Metodologie degli studi	12
2.2.1 Il dataset della larva	12
2.2.2 Il dataset dell'adulto	13
2.3 Classificazione e tipologie di neuroni	14
2.3.1 Tipologie di neuroni nella larva	14
2.3.2 Classificazione neuronale nell'adulto	15
2.4 Scoperte e implicazioni degli studi	15
3 Exploratory Data Analysis sul connettoma della Drosophila	17
3.1 Introduzione all'Exploratory Data Analysis	17
3.2 Analisi delle centralità	18
3.3 Identificazione e ruolo dei Power Neuron	21
3.4 Motif e pattern ricorrenti	23
4 Analisi di base sui neuroni non omologhi	27
4.1 Introduzione all'analisi sui neuroni non omologhi	27
4.2 Analisi sui neuroni non omologhi	30
4.2.1 Grado di input, output e coefficiente di clustering	30
4.2.2 Motif dei neuroni omologhi e non omologhi	34
4.3 Analisi degli archi senza corrispettivo nei due emisferi	35
4.3.1 Archi senza corrispettivo nel connettoma della larva	36
4.3.2 Archi senza corrispettivo nel connettoma dell'adulto	38

4.3.3	Archi senza corrispettivo appartenenti alle diverse aree della larva e dell'adulta	40
	Conclusioni	50
	Bibliografia	51
	Sitografia	52
	Ringraziamenti	53

Elenco delle figure

1.1	Struttura di un neurone	5
1.2	Dendriti	6
1.3	Connessione tra due neuroni	6
1.4	Esempio di in-memory computing architecture	7
1.5	Differenze tra l'architettura di Von Neumann e l'architettura neuromorfica . .	8
2.1	Esemplare maschile di <i>Drosophila melanogaster</i>	10
2.2	Connettoma della larva di <i>Drosophila melanogaster</i>	12
2.3	Connettoma dell'adulto di <i>Drosophila melanogaster</i>	13
3.1	Distribuzione della degree centrality, sia in scala normale che in scala log-log, per la rete associata al connettoma della larva (in alto) e al connettoma dell'adulto (in basso)	19
3.2	Distribuzione della closeness centrality per la rete associata al connettoma della larva (in alto) e al connettoma dell'adulto (in basso)	20
3.3	Distribuzione della betweenness centrality per la rete associata al connettoma della larva (in alto) e al connettoma dell'adulto (in basso)	20
3.4	Distribuzione della eigenvector centrality per la rete associata al connettoma della larva (in alto) e al connettoma dell'adulto (in basso)	21
3.5	Rappresentazione grafica dei pattern più frequenti per area dei power neuron dell'adulto	24
4.1	Grafici a barre della frequenza per area dei nodi con e senza corrispettivo della larva	28
4.2	Grafici a barre della frequenza per area dei nodi con e senza corrispettivo dell'adulto	30
4.3	Distribuzione del grado di input della larva	31
4.4	Distribuzione del grado di output della larva	32
4.5	Distribuzione del coefficiente di clustering della larva	32
4.6	Distribuzione del grado di input dell'adulto	33
4.7	Distribuzione del grado di output dell'adulto	33
4.8	Distribuzione del coefficiente di clustering dell'adulto	33
4.9	Diagramma Sankey dei motif dei nodi con corrispettivo della larva	34
4.10	Diagramma Sankey dei motif dei nodi senza corrispettivo della larva	35
4.11	Diagramma Sankey dei motif dei nodi senza corrispettivo dell'adulto	35

4.12	Cervello solo con i neuroni (a sinistra) e cervello con connessioni (a destra) della larva	36
4.13	Cervello della larva visuale dall'alto	37
4.14	Archi senza corrispettivo dell'emisfero destro della larva	37
4.15	Archi senza corrispettivo dell'emisfero sinistro della larva	37
4.16	Rete dei supernodi aventi per corrispettivo un supernodo della larva	37
4.17	Emisfero destro - supernodi con corrispettivo - emisfero sinistro (Larva) . . .	38
4.18	Cervello solo con i neuroni (a sinistra) e cervello con connessioni (a destra) dell'adulta	39
4.19	Archi senza corrispettivo dell'emisfero sinistro dell'adulta	39
4.20	Archi senza corrispettivo dell'emisfero destro dell'adulta	39
4.21	Rete dei supernodi aventi per corrispettivo un supernodo dell'adulta	39
4.22	Emisfero destro - supernodi con corrispettivo - emisfero sinistro (Adulta) . .	40
4.23	Emisfero destro larva: ascending - qualsiasi	41
4.24	Emisfero sinistro larva: ascending - qualsiasi	41
4.25	Emisfero destro larva: ascending - ascending	42
4.26	Emisfero sinistro larva: ascending - ascending	42
4.27	Adulta: ascending - qualsiasi (sopra l'emisfero destro, sotto l'emisfero sinistro)	43
4.28	Adulta: ascending - ascending (sopra l'emisfero destro, sotto l'emisfero sinistro)	44
4.29	Emisfero destro larva: sensory - qualsiasi	45
4.30	Emisfero sinistro larva: sensory - qualsiasi	45
4.31	Emisfero destro larva: sensory - sensory	46
4.32	Emisfero sinistro larva: sensory - sensory	46
4.33	Adulta: sensory - qualsiasi (sopra l'emisfero destro, sotto l'emisfero sinistro) .	47
4.34	Adulta: sensory - sensory (sopra l'emisfero destro, sotto l'emisfero sinistro) .	48

Elenco delle tabelle

3.1	Caratteristiche principali dei connettomi della larva e dell'adulto della <i>Drosophila</i>	17
3.2	Grado medio e mediano di tutti i neuroni e dei power neuron nella larva e nell'adulto	22
3.3	Distribuzione e caratterizzazione dei power neuron tra gli emisferi	23
3.4	Pattern più frequenti nella larva	25
3.5	Pattern più frequenti nell'adulto	26
4.1	Neuroni omologhi e non nei due emisferi della larva	27
4.2	Distribuzione per area e per emisfero dei neuroni non omologhi della larva	28
4.3	Neuroni omologhi e non nei due emisferi dell'adulto	29
4.4	Distribuzione dei nodi e degli archi della larva	38
4.5	Distribuzione dei nodi e degli archi dell'adulto	40
4.6	Dati area ascending per la larva e per l'adulto nei due emisferi	42
4.7	Dati area sensory per la larva e per l'adulto nei due emisferi	49

Lo studio del connettoma rappresenta un'area di ricerca di crescente interesse il cui obiettivo è comprendere la struttura e il funzionamento del cervello di diversi organismi. L'analisi delle connessioni presenti all'interno del cervello permette di acquisire informazioni fondamentali sulla comunicazione tra neuroni, sulla loro organizzazione in sottoreti funzionali e, più in generale, sui principi che regolano l'elaborazione stessa delle informazioni.

L'analisi del connettoma non solo consente di comprendere l'organizzazione della rete neurale, ma permette anche di individuare proprietà emergenti che influenzano il comportamento globale. Studiare come i neuroni si interconnettono e la distribuzione delle loro sinapsi consente di rilevare nodi altamente connessi che svolgono un ruolo chiave nella trasmissione dell'informazione.

Lo studio del connettoma non si limita alla semplice mappatura delle connessioni, ma permette di analizzare le dinamiche tra i neuroni e il modo in cui questi si organizzano. La comprensione della struttura del connettoma può fornire indicazioni preziose su come le informazioni vengano elaborate, integrate e trasmesse all'interno del sistema nervoso, contribuendo a identificare pattern ricorrenti e differenze tra diversi organismi o tra diverse fasi dello sviluppo.

Comprendere a fondo la struttura del connettoma non è solo un traguardo scientifico, ma avrà importanti applicazioni anche in ambito medico e tecnologico, contribuendo allo sviluppo di nuove tecniche per il trattamento di patologie neurologiche e all'implementazione di modelli computazionali ispirati al funzionamento del cervello.

Negli ultimi anni, la *Drosophila melanogaster* si è affermata come organismo di riferimento per lo studio delle reti neurali, grazie alla ricostruzione con un alto livello di dettaglio del suo connettoma. Il suo sistema nervoso, pur essendo di dimensioni ridotte rispetto a quello dei vertebrati, presenta caratteristiche che lo rendono particolarmente adatto all'analisi del connettoma. L'accessibilità dei dati sul connettoma della *Drosophila*, sia della larva che dell'adulto, consente di studiare come la struttura del cervello evolva nel corso dello sviluppo.

Uno degli aspetti fondamentali nello studio del connettoma è la comprensione del ruolo dei neuroni non omologhi. L'analisi di questa tipologia di neuroni fornirà informazioni chiave sul funzionamento delle diverse aree del cervello e su come vengano processate le informazioni.

Il presente lavoro si propone di analizzare in dettaglio i neuroni non omologhi nel connettoma della *Drosophila*, sia della larva che dell'adulto. Dopo una prima fase di analisi esplorativa, si procederà valutando parametri quali il grado di input e output, il coefficiente di clustering e la presenza di motif. Queste analisi consentiranno di caratterizzare in modo

dettagliato il ruolo dei neuroni senza corrispettivo e di confrontarne le proprietà con quelle dei neuroni omologhi, al fine di individuare eventuali distinzioni.

Un ulteriore aspetto che verrà approfondito riguarda gli archi senza corrispettivo, ovvero le connessioni tra neuroni che non trovano un equivalente nell'altro emisfero, la cui analisi permetterà di evidenziare le differenze tra i due emisferi.

Attraverso queste analisi, si vuole ottenere una comprensione il più completa possibile della struttura del connettoma. L'obiettivo è che, con l'avanzamento della tecnologia che permetterà lo studio di connettomi di organismi più complessi, queste analisi potranno essere riapplicate per confrontare reti neurali di diversa scala e valutare le differenze tra sistemi nervosi più evoluti.

Questa ricerca costituisce un passo fondamentale per i futuri studi sui connettomi più complessi, offrendo spunti significativi per approfondire i principi generali che ne governano l'organizzazione.

Questa tesi è strutturata come di seguito specificato:

- Nel Capitolo 1 viene introdotto il concetto di sistema neuromorfo, illustrando il funzionamento del cervello umano e le architetture cognitive ispirate alla biologia.
- Nel Capitolo 2 vengono descritti il connettoma della *Drosophila* e le metodologie utilizzate per la sua analisi, con particolare attenzione alla classificazione dei neuroni e alle differenze tra la larva e l'adulto.
- Nel Capitolo 3 viene eseguita un'analisi esplorativa dei dati, vengono applicate metriche di centralità, per comprendere la distribuzione delle connessioni nel connettoma, e vengono identificati i power neuron.
- Nel Capitolo 4 viene approfondito lo studio dei neuroni non omologhi e degli archi senza corrispettivo nei due emisferi, analizzandone le implicazioni per la struttura e la funzionalità del connettoma.

Introduzione ai sistemi neuromorfici

In questo capitolo analizzeremo i sistemi neuromorfici, definiti da molti come la prossima sfida chiave dell'Intelligenza Artificiale. In particolare, viene fornita una prima definizione, per poi approfondire il funzionamento del cervello umano al fine di comprendere meglio l'architettura neuromorfica. In ultimo ma non per importanza, confronteremo l'architettura neuromorfica con l'architettura di Von Neumann e elencheremo gli obiettivi e i vantaggi dell'impiego di questa nuova tecnologia e come potrà rivoluzionare il prossimo futuro.

1.1 Definizione di sistema neuromorfico

Sin dall'antichità l'uomo si è sempre posto una domanda "Siamo soli nell'universo?". Da quando l'uomo è comparso sulla terra, ha sempre volto lo sguardo al cielo, alla ricerca di una risposta a questo quesito.

Al giorno d'oggi, dopo aver esplorato gran parte del nostro pianeta Terra, e scoperto una moltitudine di specie, ancora non ne abbiamo incontrata una da poter considerare nostra pari. Sì, in natura esistono molteplici animali dotati di intelletto, alcuni in grado di risolvere rompicapi (basti pensare ai corvi o anche ai polpi), ed altri che abbiamo verificato avere autoconsapevolezza, attraverso il test dello specchio, come ad esempio gli elefanti. Ma con nessuno di questi noi siamo in grado di sostenere una conversazione.

Ed è forse proprio per questo motivo che l'umanità, grazie anche agli avanzamenti nel campo della tecnologia, ha sviluppato i sistemi neuromorfici. Ma cos'è esattamente un sistema neuromorfico?

Con il termine *neuromorfico*, coniato alla fine degli anni '80 da Carver Mead ingegnere e professore presso il California Institute of Technology (Caltech), indichiamo tutti quei sistemi artificiali la cui realizzazione è basata su sistemi nervosi.

Un sistema neuromorfico, infatti, ha l'obiettivo di replicare in tutto e per tutto un cervello, sia dal punto di vista dell'hardware, simulando milioni e milioni di neuroni e di sinapsi, sia dal punto di vista del software, cercando di replicare l'invio dei segnali.

Negli ultimi decenni, sono stati fatti molti progressi nel calcolo neuromorfico, soprattutto dal punto di vista dell'hardware neuromorfico.

In ambito accademico, una delle prime implementazioni è stata il Neurogrid dell'Università di Stanford, un sistema multichip analogico-digitale misto, in grado di simulare un milione di neuroni con miliardi di connessioni sinaptiche in tempo reale.

Un esempio significativo è stato il progetto europeo Human Brain Project, conclusosi nel 2023, il cui obiettivo era comprendere meglio il cervello, individuare nuove cure per le malattie cerebrali e sviluppare tecnologie computazionali ispirate al cervello.

Il suo successore EBRAINS sta continuando quanto è stato fatto negli anni precedenti, raccogliendo dati, strumenti e tecnologie per la ricerca sul cervello. L'obiettivo del progetto è sviluppare una rete di ricerca in grado di scambiarsi apertamente dati e informazioni per promuovere e accelerare i progressi nel campo delle neuroscienze e della salute del cervello.

Ed è proprio tra le tecnologie messe a disposizione dai progetti sopra citati che rientrano i sistemi neuromorfici SpiNNaker e BrainScaleS.

SpiNNaker opera in tempo reale su chip digitali multi-core e utilizza una rete basata su pacchetti per ottimizzare lo scambio di impulsi nervosi.

BrainScaleS, invece, è una macchina che emula modelli elettronici analogici di neuroni e sinapsi, con un sistema di chip a scala wafer di prima generazione (BrainScaleS-1) e un sistema a chip singolo di seconda generazione (BrainScaleS-2).

Attualmente, la maggior parte dei dispositivi neuromorfici è realizzata in silicio e utilizza la tecnologia CMOS. Tuttavia, i ricercatori stanno continuamente testando nuovi materiali, come i materiali ferroelettrici e quelli a cambiamento di fase, per trovarne di più efficaci. Un'altra innovazione è rappresentata dai memristori, elementi di memoria elettronica non volatile che combinano le funzionalità di "memoria" e "resistore", ideali per integrare memoria ed elaborazione dei dati simulando dei neuroni a impulsi.

Ad oggi lo stato dell'arte per quanto riguarda i sistemi neuromorfici è Hala Point, sviluppato da Intel e basato sull'utilizzo di processori Intel Loihi 2.

Il sistema supporta fino a 1,15 miliardi di neuroni e 128 miliardi di sinapsi distribuiti su 140.544 nuclei di elaborazione neuromorfica. Hala Point integra canali di calcolo, di memoria e di comunicazione in una struttura massivamente parallelizzata. Il sistema può elaborare oltre 380mila miliardi di operazioni sinaptiche a 8 bit al secondo e oltre 240mila miliardi di operazioni neuronali al secondo.

Applicato a modelli di rete neurale di ispirazione biologica, il sistema può eseguire la sua piena capacità di 1,15 miliardi di neuroni 20 volte più velocemente rispetto alle velocità biologiche in tempo reale, e fino a 200 volte più veloci rispetto a capacità inferiori.

Benché Hala Point non sia pensato per la modellazione neuroscientifica, *la sua capacità neuronale è circa equivalente a quella della corteccia cerebrale di un gufo o di una scimmia cappuccina*. I sistemi basati su Loihi possono eseguire l'inferenza AI e risolvere problemi di ottimizzazione utilizzando 100 volte meno energia, a velocità fino a 50 volte superiori, rispetto alle architetture tradizionali.

1.2 Architetture cognitive ispirate al cervello

Abbiamo parlato di sistemi neuromorfici e di come essi si ispirino al cervello. Dunque, per comprendere meglio l'architettura di un sistema neuromorfico, è naturale porsi una domanda semplice, ma tutt'altro che scontata: come funziona il cervello umano?

1.2.1 Il cervello

Il cervello funziona come un grande computer: esso elabora le informazioni che riceve dai sensi e dal corpo, inviando messaggi di risposta al corpo stesso. È con il cervello che pensiamo, proviamo emozioni ed esercitiamo l'intelligenza; esso è, infatti, il fulcro della nostra condizione umana.

Il cervello umano ha approssimativamente le dimensioni di due pugni chiusi e pesa circa 1,5 chilogrammi. Esternamente, assomiglia a una grande noce, con pieghe e fessure. Il tessuto cerebrale è composto da circa 100 miliardi di neuroni e 100 trilioni di sinapsi.

Il cervello è diviso in due metà, l'emisfero destro e l'emisfero sinistro, collegati tra loro da un fascio spesso di fibre nervose chiamato corpo calloso. Ogni emisfero è costituito da sei aree (o lobi), ciascuna delle quali svolge funzioni diverse. Il cervello controlla il movimento e processa le informazioni sensoriali; qui vengono generate azioni e sensazioni, sia cosce che inconse. Inoltre, è responsabile del linguaggio, dell'udito, dell'intelligenza e della memoria.

Le funzioni dei due emisferi sono perlopiù differenti: l'emisfero sinistro è generalmente responsabile del linguaggio e del pensiero astratto, mentre l'emisfero destro si occupa prevalentemente del pensiero spaziale e della visualizzazione. Inoltre, l'emisfero destro controlla il lato sinistro del corpo, mentre l'emisfero sinistro controlla il lato destro. Ciò significa che un danno all'emisfero sinistro, come avviene in caso di ictus, può causare paralisi sul lato destro del corpo.

Adesso, avendo un'idea migliore di come è strutturato il cervello umano, possiamo entrare nel dettaglio analizzando l'elemento fondamentale di cui è composto, ossia il neurone.

Il neurone

Il neurone è costituito da diverse parti, come mostrato in Figura 1.1. I dendriti si diramano dal corpo cellulare, chiamato anche soma, dove si trova il nucleo. Successivamente, c'è un lungo canale di comunicazione chiamato assone, che termina nel terminale presinaptico, il quale può avere più ramificazioni.

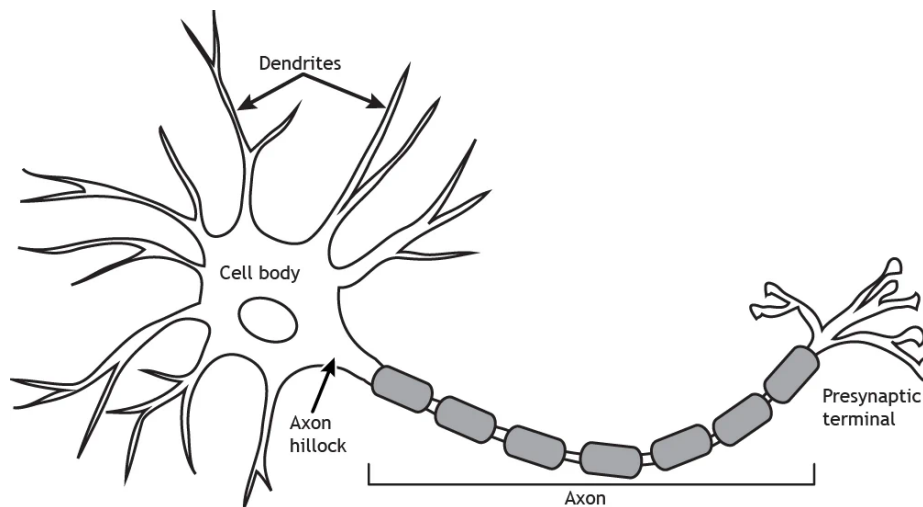


Figura 1.1: Struttura di un neurone

I dendriti, mostrati in Figura 1.2, si diramano dal soma e la loro funzione è quella di ricevere informazioni da altri neuroni. Alcuni dendriti presentano piccole protuberanze chiamate spine, che svolgono un ruolo importante nella comunicazione con altri neuroni.

Il soma è il luogo dove avviene il calcolo. Qui si forma il potenziale di membrana, attraverso lo scambio di ioni con l'ambiente circostante e con altri neuroni.

L'assone è il canale di comunicazione del neurone. Esso è collegato al neurone tramite il colle dell'assone e termina nei terminali presinaptici. Questi terminali sono i "punti di connessione" utilizzati per collegarsi ai terminali postsinaptici di altri neuroni; tali punti di connessione sono chiamati sinapsi, come mostrato in Figura 1.3.

L'assone termina nel terminale presinaptico, noto anche come bottone terminale. Il terminale della cellula presinaptica forma una sinapsi con un altro neurone o cellula, nota come

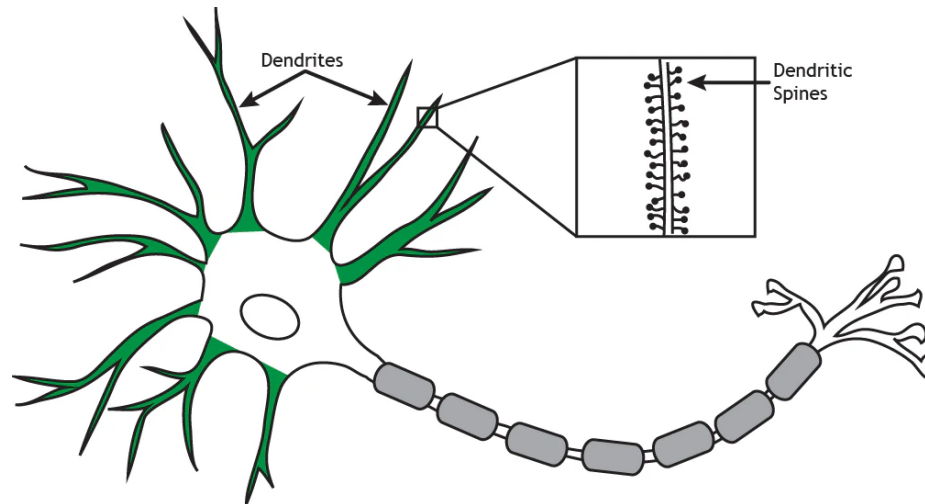


Figura 1.2: Dendriti

cellula postsinaptica. Quando il potenziale d'azione raggiunge il terminale presinaptico, il neurone rilascia neurotrasmettitori nella sinapsi. Questi agiscono sulla cellula postsinaptica. La comunicazione neuronale richiede, quindi, sia un segnale elettrico (il potenziale d'azione) che un segnale chimico (il neurotrasmettitore).

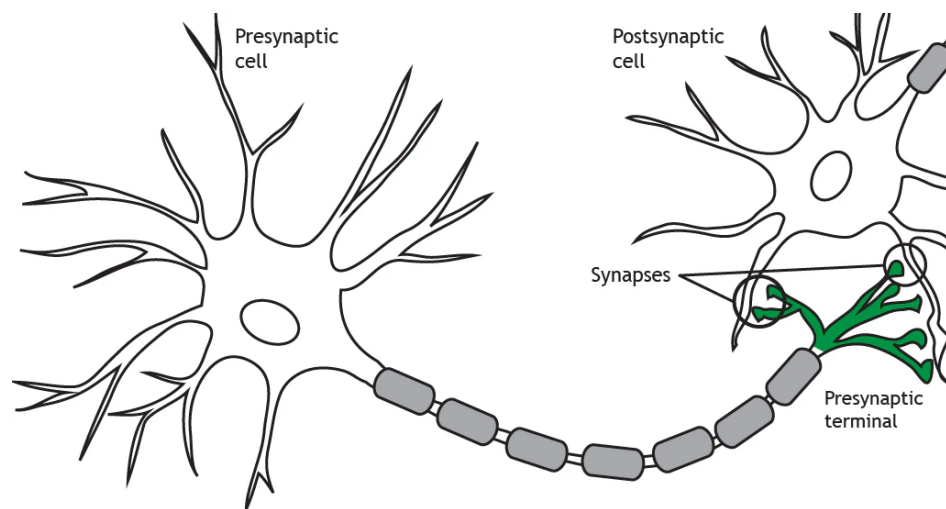


Figura 1.3: Connessione tra due neuroni

Generalmente, i terminali presinaptici connettono i dendriti, ma possono anche comunicare con corpi cellulari, o perfino con altri assoni. Inoltre, i neuroni possono formare sinapsi anche con cellule non neuronali, come cellule muscolari o ghiandolari.

I termini presinaptico e postsinaptico si riferiscono al neurone che rilascia i neurotrasmettitori (presinaptico) e a quello che li riceve (postsinaptico).

L'assone trasmette un potenziale d'azione, noto come "spike" (impulso nervoso). Questo provoca il rilascio di neurotrasmettitori chimici, che servono a comunicare con altre cellule.

1.2.2 Architettura neuromorfica

Avendo approfondito il funzionamento del cervello umano e dei neuroni che lo compongono, possiamo adesso comprendere l'architettura dei sistemi neuromorfici.

L'architettura neuromorfica rappresenta un cambio di paradigma rispetto ai modelli tradizionali, in quanto la memoria e l'unità di elaborazione non sono fisicamente separate bensì sono integrate l'una con l'altra.

L'architettura neuromorfica è detta anche "in-memory computing architecture". In questo modello non esistono una memoria centrale e un'unità di elaborazione centrale distinte, bensì i circuiti di memorizzazione e di calcolo sono distribuiti, ciò significa che il sistema è composto da molteplici unità di memoria e di calcolo di piccole dimensioni, come è possibile osservare nella Figura 1.4. Questa fusione consente di ridurre significativamente il consumo energetico e di superare la limitazione dovuta al trasferimento continuo di dati tra memoria e processore.

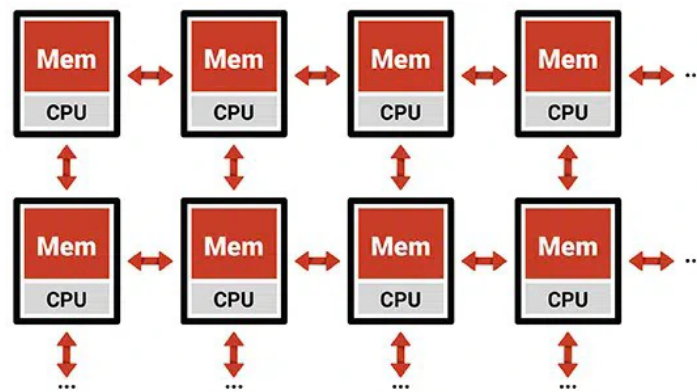


Figura 1.4: Esempio di in-memory computing architecture

Un elemento distintivo dell'architettura neuromorfica è il suo funzionamento basato su eventi, imitando in tutto e per tutto il funzionamento di un cervello, in quanto i neuroni artificiali, così come quelli naturali, si attivano in risposta a stimoli specifici ovvero, i sopracitati spike. Questo approccio fa sì che il sistema sia molto più efficiente dal punto di vista energetico. Inoltre, il calcolo parallelo e asincrono consentono di elaborare grandi volumi di dati in tempo reale, rendendo questa architettura ideale per applicazioni che richiedono alta velocità e adattabilità.

L'architettura neuromorfica non si limita a emulare la biologia, ma rappresenta una piattaforma flessibile per l'implementazione di nuovi paradigmi computazionali. Questa architettura si pone come una soluzione promettente per affrontare le crescenti sfide dell'Intelligenza Artificiale e del calcolo avanzato.

1.3 Obiettivi e vantaggi di un sistema neuromorfico

In questa sezione analizzeremo quali sono le potenzialità e le possibili applicazioni di un sistema neuromorfico. L'introduzione dei sistemi neuromorfici rappresenta un passo significativo verso una nuova era dell'Intelligenza Artificiale; in particolare, essi offrono soluzioni ispirate alla biologia per superare le limitazioni dei modelli tradizionali. Questi sistemi, progettati per emulare i meccanismi del cervello umano, mirano a superare i limiti delle architetture convenzionali, come il consumo energetico elevato, la bassa capacità di adattamento e l'inefficienza nell'elaborazione. Gli obiettivi principali includono non solo una maggiore efficienza energetica, ma anche l'elaborazione in tempo reale e un'elevata scalabilità, rendendo questi sistemi estremamente versatili e adatti a molteplici ambiti applicativi.

1.3.1 Potenzialità

Per comprendere meglio i vantaggi dell'architettura neuromorfica confrontiamola con l'architettura di Von Neumann, in modo da capire le differenze fondamentali tra le due sia nella struttura che nel funzionamento.

L'architettura di Von Neumann si basa su un'elaborazione sequenziale, con una netta separazione tra memoria e unità di elaborazione. Le istruzioni sono codificate in formato binario e trasmesse attraverso un bus centrale, operando in modalità sincrona.

Al contrario, l'architettura neuromorfica emula il funzionamento delle reti neurali biologiche, offrendo un'elaborazione massivamente parallela e integrando memoria ed elaborazione nei neuroni e sulle sinapsi artificiali.

Questo sistema utilizza impulsi discreti (spike) per la trasmissione delle informazioni e opera in modalità asincrona, guidata da eventi. Queste differenze, mostrate in Figura 1.5, rendono l'architettura neuromorfica particolarmente adatta per applicazioni che richiedono alta efficienza energetica e tempi di risposta rapidi, rispetto al modello tradizionale di Von Neumann.

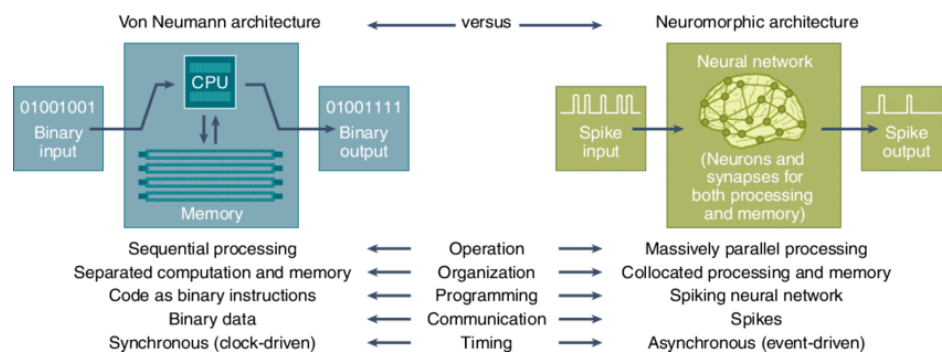


Figura 1.5: Differenze tra l'architettura di Von Neumann e l'architettura neuromorfica

Inoltre, i sistemi neuromorfici offrono enormi potenzialità computazionali. Ecco alcuni dei principali vantaggi che questa architettura di calcolo può offrire:

- **Adattabilità:** essendo una tecnologia ispirata al cervello, il calcolo neuromorfico incorpora il concetto di plasticità. I dispositivi neuromorfici sono progettati per apprendere in tempo reale, adattandosi continuamente agli stimoli in evoluzione sotto forma di input e parametri. Questo li rende particolarmente adatti a risolvere problemi nuovi e complessi.
- **Efficienza energetica:** come accennato in precedenza, i sistemi neuromorfici funzionano in modalità basata su eventi, con neuroni e sinapsi che elaborano informazioni in risposta agli impulsi provenienti da altri neuroni. Di conseguenza, solo la porzione della rete che sta elaborando gli impulsi consuma energia, mentre il resto del sistema rimane inattivo. Questo approccio porta a un consumo energetico notevolmente minore.
- **Elaborazione parallela:** grazie alla natura asincrona delle reti neurali spiking, i singoli neuroni possono svolgere contemporaneamente operazioni differenti. In teoria, i dispositivi neuromorfici possono eseguire tante operazioni quanti sono i neuroni attivi in un determinato momento. Questa caratteristica conferisce alle architetture neuromorfiche una capacità di elaborazione parallela straordinaria, permettendo loro di completare le funzioni in tempi molto brevi.

1.3.2 Possibili applicazioni

Le applicazioni attuali dei sistemi neuromorfici nel mondo reale sono ancora limitate, ma questo paradigma di calcolo potrebbe essere applicato in diversi contesti, alcuni dei quali sono i seguenti:

- *Veicoli autonomi*: grazie alle alte prestazioni e agli enormi guadagni in termini di efficienza energetica, il calcolo neuromorfico può migliorare le capacità di navigazione dei veicoli autonomi, consentendo correzioni di rotta più rapide e un migliore evitamento delle collisioni, riducendo al contempo le emissioni energetiche.
- *Cybersecurity*: i sistemi neuromorfici possono aiutare a rilevare schemi o attività insolite che potrebbero indicare attacchi informatici o violazioni della sicurezza. Queste minacce possono essere contrastate rapidamente grazie alla bassa latenza e alla velocità di calcolo dei dispositivi neuromorfici.
- *Edge AI*: le caratteristiche dell'architettura neuromorfica la rendono adatta per l'Edge AI. Il suo basso consumo energetico può affrontare il problema della breve durata della batteria di dispositivi come smartphone e wearable, mentre la sua adattabilità e la natura basata su eventi si adattano ai metodi di elaborazione delle informazioni di sensori remoti, droni e altri dispositivi dell'Internet of Things (IoT).
- *Riconoscimento di pattern*: grazie alle sue capacità di elaborazione parallela, il calcolo neuromorfico può essere utilizzato in applicazioni di machine learning per riconoscere schemi nel linguaggio naturale e nel parlato, per analizzare immagini mediche e per processare segnali di imaging provenienti da scansioni fMRI o elettroencefalogrammi (EEG), che misurano l'attività elettrica del cervello.
- *Robotica*: come tecnologia adattabile, il calcolo neuromorfico può essere utilizzato per migliorare le capacità di apprendimento in tempo reale e di decision-making dei robot, aiutandoli a riconoscere meglio gli oggetti, a navigare in layout complessi di fabbriche e a operare più rapidamente in una catena di montaggio.

Introduzione agli studi sul connettoma della *Drosophila*

*In questo capitolo introdurremo la *Drosophila*, elemento centrale su cui si basa l'intero lavoro. Approfondiremo le ricerche condotte sul suo connettoma e illustreremo le metodologie utilizzate per mappare il cervello della larva e dell'adulto. Esamineremo in dettaglio le diverse tipologie di neuroni individuati, osservando le differenze tra le due fasi dello sviluppo. Infine, esamineremo i risultati e le implicazioni derivanti da questi studi.*

2.1 Introduzione al connettoma

Il connettoma del cervello della *Drosophila* è stato oggetto di studio da parte di numerosi ricercatori; alcuni si sono concentrati sulla larva, mentre altri, hanno focalizzato la loro attenzione sull'adulto. A questo punto sorge spontaneo un interrogativo: cos'è una *Drosophila*?

La *Drosophila melanogaster*, conosciuta ai più come moscerino della frutta, è uno degli organismi più studiati nella genetica, in quanto è un insetto appartenente all'ordine dei ditteri che presenta alcune caratteristiche sorprendenti. Infatti, il 70% del suo DNA è simile al nostro, pur essendo il suo genoma dieci volte più piccolo. Inoltre, un'altra somiglianza si riscontra nella determinazione sessuale, che prevede una coppia di cromosomi identici per la femmina (XX) e diversi per il maschio (XY), rappresentato in Figura 2.1.

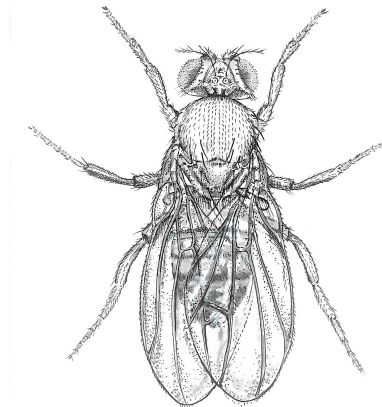


Figura 2.1: Esemplare maschile di *Drosophila melanogaster*

Questo è il primo organismo multicellulare per cui è stato completamente sequenziato il genoma nel 2000. Da allora, gli studi su questo insetto avente dimensioni di 2,5 mm si sono moltiplicati. Nel 1910 fu pubblicato il primo articolo scientifico sulla *Drosophila*; a distanza di un secolo, essa è diventata protagonista di oltre 3000 articoli di ricerca all'anno.

Alcune delle caratteristiche più apprezzate della *Drosophila*, che la rendono ideale per la ricerca, includono:

- il basso costo per il mantenimento e la sperimentazione;
- il suo breve ciclo di vita;
- l'elevato tasso di riproduzione;
- la relativa semplicità del suo genoma (possiede solo 4 coppie di cromosomi, rispetto alle 23 coppie degli esseri umani).

Grazie a queste caratteristiche, la *Drosophila* si è affermata come uno strumento fondamentale nello studio della biologia e delle neuroscienze. Proprio in questo campo è stato ampiamente studiato il suo connettoma. Ma che cosa si intende, esattamente, con il termine "connettoma"?

Il connettoma rappresenta una mappa completa delle connessioni neurali del cervello. La mappatura del sistema nervoso di un organismo può essere effettuata su diverse scale di dettaglio. A livello microscopico, essa viene effettuata a livello di neuroni e sinapsi; a livello macroscopico essa descrive, invece, la connettività strutturale e funzionale tra aree corticali e strutture subcorticali dell'encefalo.

Potrebbe sembrare ovvio che la funzione di una rete dipenda in modo critico dal modello delle sue interconnessioni. Il cervello è un esempio di una rete complessa di questo tipo; tuttavia, nonostante gli sforzi intensi dedicati a chiarire la struttura e la funzione dei sistemi neurali, non disponiamo attualmente di una mappa completa della struttura di connettività di rete del cervello di nessuna specie, con l'eccezione dei seguenti tre organismi, ciascuno con alcune centinaia di neuroni cerebrali: il nematode *C. elegans* (White et al., 1986), la larva dell'ascidia *Ciona intestinalis* (Ryan, K., Lu, Z., & Meinertzhagen, I. A., 2016) e dell'anellide marino *Platynereis dumerilii* (Verasztó et al., 2024).

In linea di principio, dovrebbe essere possibile compilare tali set di dati, almeno a un certo livello di risoluzione, per tutti gli organismi dotati di un sistema nervoso.

Con il continuo sviluppo di strumenti sempre più avanzati, si apriranno le porte alla mappatura di connettomi di dimensioni sempre maggiori e con una risoluzione senza precedenti.

Mappare il connettoma della *Drosophila* non rappresenta solo un importante traguardo scientifico, ma è anche un passo essenziale verso l'obiettivo di ottenere una comprensione completa della struttura e del funzionamento del cervello umano. Questo tipo di analisi permette non solo di studiare in dettaglio le reti neurali di un organismo, ma anche di creare un punto di riferimento per confronti futuri con altre specie.

Infatti, l'obiettivo non si limita a questo singolo insetto, in futuro man mano che verranno mappati sempre più connettomi potremo comprendere meglio le differenze e le somiglianze tra le varie specie, inclusa la nostra. Queste analisi sono fondamentali per evidenziare i punti comuni che uniscono le reti neurali attraverso le specie, ma anche per identificare le differenze che rendono ogni sistema nervoso adattato al proprio contesto evolutivo e funzionale. Con il progresso continuo della tecnologia e degli strumenti di analisi, si aprono nuove possibilità per avvicinarci sempre di più alla comprensione delle basi biologiche del cervello umano e del comportamento.

2.2 Metodologie degli studi

In questa tesi, è stato utilizzato il dataset 'L1 Larval CNS (L1EM)' per la larva, mentre si è fatto riferimento al dataset 'FlyWire Brain Dataset (FAFB)' dell'Università di Princeton per lo studio dell'adulto.

2.2.1 Il dataset della larva

Il connettoma della larva è stato ricavato attraverso diverse tecniche; la prima fra tutte è stata l'impiego del microscopio elettronico ad alta risoluzione (EM), il quale ha permesso di ottenere un volume completo del sistema nervoso della larva. Inoltre, tramite questa tecnica è stato possibile ricostruire l'architettura del cervello con una risoluzione sufficiente a distinguere le singole sinapsi. I ricercatori che si sono occupati della realizzazione del dataset hanno individuato nel connettoma della larva 3.016 neuroni e 548.000 sinapsi.

Essi hanno fatto uso di un software apposito chiamato CATMAID, il quale consiste in una piattaforma che permette l'analisi di dati volumetrici ottenuti tramite EM.

CATMAID ha facilitato la ricostruzione semi-automatica delle connessioni neuronali, riducendo significativamente il tempo necessario per completare la mappatura. Tuttavia, una parte rilevante del lavoro ha richiesto interventi manuali per verificare e correggere errori.

Le connessioni tra i neuroni sono state classificate in quattro tipi principali: assone-dendrite, assone-assone, dendrite-dendrite e dendrite-assone. Questa classificazione ha permesso di analizzare in dettaglio i tipi di connessione, evidenziando anche come alcune connessioni non canoniche, come quelle tra assone e assone, regolino aspetti alternativi dell'attività neurale.

Un altro strumento fondamentale è stato un algoritmo di simulazione, sviluppato dai ricercatori stessi, noto come "signal cascade", che ha permesso di modellare la propagazione dei segnali. Questo approccio ha fornito una visione dettagliata delle interazioni tra i neuroni sensoriali e i neuroni di output, mostrando che la maggior parte delle informazioni sensoriali raggiunge i neuroni di output entro un massimo di tre salti sinaptici.

Attraverso l'impiego di tutte queste tecniche è stato possibile ricostruire il connettoma della larva, mostrato in Figura 2.2.

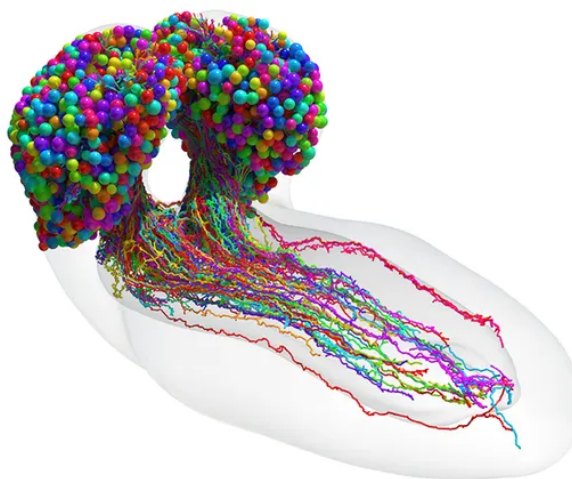


Figura 2.2: Connettoma della larva di *Drosophila melanogaster*

2.2.2 Il dataset dell'adulto

Il connettoma dell'adulto è stato realizzato grazie al contributo di centinaia di ricercatori del FlyWire Consortium. Questo progetto ha combinato tecnologie all'avanguardia e annotazioni manuali su larga scala, portando alla creazione di un modello dettagliato della connettività cerebrale.

Il processo è iniziato allo stesso modo di come è stato fatto con la larva, ossia con l'acquisizione di dati volumetrici ad alta risoluzione attraverso il microscopio elettronico, lavoro che è stato portato avanti dal Janelia Research Campus. Questi dati sono stati successivamente allineati e rielaborati da diversi laboratori della Princeton University, che ne hanno eseguito la ricostruzione automatica di tutte le cellule cerebrali.

Con il termine "ricostruzione automatica", si intende l'utilizzo dell'Intelligenza Artificiale; senza il supporto di quest'ultima, si stima, infatti, che il progetto avrebbe richiesto quasi 50.000 anni-persona.

Il lavoro è poi proseguito con un'ampia attività di annotazione e correzione manuale, sfruttando la piattaforma FlyWire. Centinaia di scienziati, ma anche volontari appassionati al progetto, hanno partecipato al processo di revisione, contribuendo a migliorare l'accuratezza delle ricostruzioni.

Grazie al contributo di tutti loro, sono stati dedicati collettivamente un totale di 33 anni-persona per correggere e annotare i risultati del modello di IA. Inoltre, diversi laboratori hanno fornito previsioni sulle sinapsi e informazioni sui neurotrasmettitori, permettendo di completare il quadro funzionale del connettoma.

In ultimo, per consentire l'esplorazione dei dati, è stato sviluppato il Connectome Data Explorer (Codex), una piattaforma che permette di analizzare e condividere il connettoma.

La collaborazione tra volontari e ricercatori ha prodotto una mappa di tutti i 139.255 neuroni e delle 50 milioni di connessioni sinaptiche del cervello del moscerino della frutta. Il connettoma mostrato in Figura 2.3 rappresenta, dunque, una pietra miliare nello studio delle neuroscienze.



Figura 2.3: Connettoma dell'adulto di *Drosophila melanogaster*

2.3 Classificazione e tipologie di neuroni

Il sistema nervoso della *Drosophila melanogaster* è organizzato in modo altamente strutturato e si evolve attraverso lo sviluppo dell'organismo, passando da una fase larvale più semplice a un'organizzazione più complessa nell'adulto. Nella larva, i neuroni sono suddivisi in diverse tipologie funzionali. Con la metamorfosi, il sistema nervoso della larva subisce una profonda riorganizzazione, dando origine alla rete neurale dell'adulto, molto più complessa.

Di seguito vengono presentate le principali tipologie neuronali identificate nella larva e le superclassi che caratterizzano il sistema nervoso dell'adulto.

2.3.1 Tipologie di neuroni nella larva

Nel sistema nervoso della larva, è possibile individuare diverse tipologie di neuroni. Di seguito vengono descritti i principali tipi di neuroni identificati, evidenziandone le caratteristiche e le loro funzioni:

- *ascending*: i neuroni ascendenti trasmettono segnali somatosensoriali dal cordone nervoso ventrale (VNC) al cervello, permettendo la comunicazione tra il sistema periferico e il sistema centrale.
- *CN*: i neuroni di convergenza integrano segnali appresi e innati, collegando centri di apprendimento, come il "mushroom body" (MB) e il corno laterale (LH).
- *DN-SEZ*: i neuroni discendenti della zona subesofagea (SEZ) controllano le risposte motorie collegate al movimento della testa e a comportamenti specifici associati ai segnali sensoriali.
- *DN-VNC*: questi neuroni discendenti trasmettono segnali dal cervello al cordone nervoso ventrale, modulando lo stato locomotorio e le risposte motorie.
- *KC*: le cellule Kenyon sono i principali componenti dell'MB e codificano l'identità degli stimoli, contribuendo alla memoria e all'apprendimento.
- *LHN*: i neuroni del corno laterale sono responsabili dell'elaborazione di valenze innate associate a stimoli sensoriali.
- *LN*: i neuroni locali elaborano segnali sensoriali all'interno di specifici neuropili cerebrali, spesso connettendosi in modo non canonico.
- *MB-FBN*: questi neuroni forniscono feedback, regolando i processi di apprendimento e memoria.
- *MB-FFN*: questi neuroni trasmettono segnali sensoriali verso i neuroni dopaminergici, contribuendo all'apprendimento associativo.
- *MBIN*: i neuroni di input del "mushroom body" forniscono segnali di insegnamento, spesso dopaminergici, per supportare l'apprendimento.
- *MBON*: i neuroni di output dell'MB rappresentano valenze apprese, modulando il comportamento sulla base di esperienze passate.
- *PN*: i neuroni di proiezione trasmettono segnali sensoriali dai neuropili sensoriali primari ad altre aree cerebrali, come il corpo fungiforme e il corno laterale.
- *PN-somato*: questi neuroni trasmettono segnali meccanosensoriali, nocicettivi e propriocettivi dal cordone nervoso al cervello.

- *pre-DN-SEZ*: questi neuroni pre-discendenti si connettono con i neuroni dell'area DN-SEZ e modulano i segnali in ingresso prima che essi raggiungano i circuiti motori.
- *pre-DN-VNC*: i neuroni pre-discendenti verso il VNC integrano segnali sensoriali complessi e li trasmettono ai neuroni discendenti.
- *RGN*: questi neuroni, coinvolti nella modulazione ormonale, regolano processi fisiologici, come crescita e metabolismo.
- *sensory*: i neuroni sensoriali trasmettono informazioni ambientali al cervello attraverso connessioni dirette o neuroni intermedi.

2.3.2 Classificazione neuronale nell'adulta

Nel cervello dell'adulta, i neuroni sono organizzati in diverse superclassi, ciascuna con ruoli specifici nella trasmissione e nell'elaborazione delle informazioni. Di seguito, vengono descritte le principali superclassi identificate nel connettoma dell'adulta, evidenziando il ruolo da esse ricoperto nel sistema nervoso:

- *ascending*: questi neuroni trasmettono informazioni dal cordone nervoso ventrale (VNC) al cervello centrale, permettendo la comunicazione tra il sistema nervoso periferico e quello centrale.
- *central*: questi neuroni sono intrinseci al cervello centrale, responsabili di processi di integrazione e modulazione delle informazioni.
- *descending*: questi neuroni trasmettono segnali in direzione opposta, dal cervello al VNC, coordinando il controllo motorio e altre funzioni autonome.
- *endocrine*: questi neuroni collegano il cervello alle ghiandole endocrine, regolando la secrezione di ormoni coinvolti nello sviluppo e nel metabolismo.
- *motor*: questi neuroni inviano segnali dalla struttura centrale del cervello alla periferia, controllando direttamente i muscoli e i movimenti.
- *optic*: questi neuroni appartengono ai lobi ottici, responsabili dell'elaborazione visiva e del trasporto dell'informazione luminosa dalle ommatidi (elementi che costituiscono l'occhio degli insetti) alla parte centrale del cervello.
- *sensory*: questi neuroni ricevono input sensoriali dalla periferia (vista, olfatto, tatto, temperatura) e li trasmettono al cervello per l'elaborazione.
- *visual centrifugal*: questi neuroni trasmettono informazioni dal cervello centrale ai lobi ottici, formando circuiti di feedback che modulano la percezione visiva.
- *visual projection*: questi neuroni portano segnali dai lobi ottici al cervello centrale, contribuendo all'elaborazione dell'immagine e all'integrazione multisensoriale.

2.4 Scoperte e implicazioni degli studi

Nel cervello umano, l'importanza del connettoma deriva dalla consapevolezza che la struttura e la funzione del cervello umano sono strettamente legate attraverso molteplici livelli e modalità. Il connettoma pone naturalmente forti vincoli su quali neuroni o popolazioni neuronali possono interagire, o su quanto forti o dirette siano le loro interazioni. Il modello

delle interazioni dinamiche plasmato dal connettoma è alla base delle operazioni e dei processi della cognizione umana.

È improbabile che le relazioni tra struttura e funzione nel cervello possano essere ridotte a semplici corrispondenze uno-a-uno. Ciò risulta immediatamente evidente, poiché il connettoma può supportare un gran numero di stati dinamici variabili in ogni momento, a seconda degli input sensoriali attuali, dello stato globale del cervello, dell'apprendimento e dello sviluppo.

Per molte malattie devastanti del cervello, come la demenza, il Parkinson, l'Alzheimer e altre, i medici possono solo trattare i sintomi. La scienza medica non dispone ancora di una cura.

Perché? Perché è difficile curare ciò che non si comprende, e il cervello umano, con i suoi miliardi di neuroni connessi da cento trilioni di sinapsi, è incredibilmente complesso.

Qualsiasi cervello che comprendiamo a fondo ci dice qualcosa su tutti i cervelli. Per questo è importante studiare connettomi sempre più complessi.

Il funzionamento del cervello dipende in modo critico da quali neuroni si connettono con altri neuroni e dalla forza delle loro connessioni. Non bisogna soffermarsi sul singolo neurone, o per meglio dire, è importante capirne la funzione e come contribuisce alle decisioni e ai comportamenti, ma bisogna sempre ricordarsi di guardare all'insieme formato dai neuroni che lavorano in cooperazione per coordinare quel comportamento.

I neuroscienziati sottolineano spesso che il cervello umano è l'organo più complesso del corpo, e forse la rete neurale più complessa esistente. Senza una comprensione dettagliata di come i neuroni si connettono tra loro, non possiamo avere una conoscenza di base di ciò che funziona correttamente in un cervello sano o di ciò che va storto quando sono presenti delle malattie.

L'obiettivo di tutti questi studi è di aprire la strada a mappe dettagliate del cervello umano e ai trattamenti personalizzati che ne potrebbero derivare. Sperando che in un futuro non troppo lontano sarà possibile scansionare il proprio connettoma per ricevere terapie su misura.

Exploratory Data Analysis sul connettoma della Drosophila

In questo capitolo effettueremo una panoramica sull'analisi esplorativa dei dati da noi portata avanti al fine di evidenziare le principali somiglianze, ma anche le differenze, tra la larva e l'adulto. Esamineremo, poi, le diverse metriche di centralità, concentrandoci sulla loro importanza e sul loro ruolo significativo nell'individuare i power neuron. Infine, studieremo i motivi e i pattern ricorrenti per comprendere al meglio le strutture funzionali emergenti nel connettoma.

3.1 Introduzione all'Exploratory Data Analysis

Inizialmente, è stata condotta un'analisi esplorativa dei dati sui connettomi della larva e dell'adulto in modo da confrontare le loro caratteristiche ed evidenziarne le differenze. Studiare le proprietà dei connettomi è, infatti, un passaggio fondamentale, che ci aiuterà poi a comprendere meglio anche gli altri concetti che vedremo in seguito. Nella Tabella 3.1 sono riportati i risultati ottenuti.

Misura	Larva	Adulto
Numero di nodi (neuroni)	2.952	134.181
Numero di archi (connessioni)	110.677	2.700.513
Grado medio di un nodo	74,98	40,25
Densità	0,0127	0,0001
Coefficiente di clustering medio	0,1781	0,1102
Lunghezza media del cammino	3,28	4,52
Diametro	15	14
Assortatività del grado	0,2515	-0,0557
Massima componente fortemente connessa	2.810	119.756

Tabella 3.1: Caratteristiche principali dei connettomi della larva e dell'adulto della Drosophila

Dall'analisi della Tabella 3.1 osserviamo come nella transizione da larva ad adulto, emergano diverse tendenze, in particolare:

- il numero di neuroni e connessioni aumenta significativamente (due ordini di grandezza per i neuroni e un ordine di grandezza per le connessioni);
- il grado medio dei nodi e il coefficiente di clustering medio diminuiscono;
- la densità si riduce drasticamente (due ordini di grandezza);

- la lunghezza media del cammino e il diametro rimangono sostanzialmente costanti.

Da tali caratteristiche deduciamo come il cervello della *Drosophila* cresca durante la transizione dalla fase di larva a quella di adulta.

Tuttavia, la diminuzione del grado medio dei nodi, della densità e del coefficiente di clustering indica che la crescita delle connessioni è inferiore rispetto alla crescita del numero di neuroni. Di conseguenza, nel passaggio da larva ad adulta, probabilmente i neuroni tendono a differenziarsi maggiormente e le loro connessioni diventano più selettive, con l'obiettivo di collegare specifiche aree con altre aree altrettanto specifiche.

Un'altra caratteristica da considerare è l'assortatività del grado, che risulta moderatamente positiva nel caso della larva e sostanzialmente nulla nel caso dell'adulta. Anche per questo parametro, dunque, osserviamo un comportamento differente tra i due connettomi. Infine, un ultimo aspetto interessante è la massima componente fortemente connessa, per la quale i connettomi della larva e dell'adulta mostrano un comportamento molto simile. Infatti, in entrambi i casi, osserviamo la presenza di una grande componente connessa che include quasi tutti i nodi del connettoma (più esattamente, il 95,16% dei nodi nella larva e l'89,25% dei nodi nell'adulta). Ciò significa che, in linea di principio, le informazioni possono fluire facilmente tra tutti (o quasi tutti) i neuroni del cervello della larva e dell'adulta.

3.2 Analisi delle centralità

Esaminiamo, ora, le diverse metriche di centralità da noi utilizzate nelle nostre analisi e il modo in cui queste hanno messo in evidenza le differenze tra i due connettomi. È proprio attraverso tale confronto che possiamo comprendere meglio in che modo la transizione da larva ad adulta influenzi l'architettura del connettoma e le dinamiche della rete stessa.

Ma cos'è esattamente una metrica di centralità e cosa ci permette di misurare? Nel contesto delle reti, ogni metrica di centralità cattura un aspetto diverso della connettività e del ruolo funzionale dei nodi, mettendo in evidenza caratteristiche specifiche della rete.

Nello studio dei connettomi, abbiamo considerato quattro principali misure di centralità:

- *Degree centrality*: misura il numero di connessioni dirette di un nodo, indicando la sua popolarità o influenza locale nella rete.
- *Closeness centrality*: valuta quanto un nodo sia vicino a tutti gli altri nodi nella rete.
- *Betweenness centrality*: misura il ruolo di un nodo nella mediazione all'interno di una rete. Se un nodo si trova lungo l'unico percorso attraverso il quale devono passare gli altri nodi, allora quel nodo risulta essere cruciale e, probabilmente, avrà un'elevata betweenness centrality.
- *Eigenvector centrality*: assegna un punteggio di importanza a un nodo in base alla centralità dei suoi vicini, valorizzando i nodi con connessioni a nodi altamente connessi.

Iniziamo studiando la degree centrality; nella Figura 3.1 mostriamo la distribuzione, sia su scala normale che log-log, per le reti associate al connettoma della larva (in alto) e dell'adulta (in basso). Dall'analisi di questa figura, possiamo osservare che la distribuzione della degree centrality nell'adulta segue una power law molto ripida, con pochissimi neuroni che hanno un numero molto alto di connessioni e molti neuroni con un numero basso di connessioni. Invece, per quanto riguarda la larva, possiamo osservare che la distribuzione è diversa e irregolare. Infatti, nella parte più a sinistra possiamo vedere la presenza di una distribuzione a campana; spostandoci verso destra, questa è sovrapposta da una seconda distribuzione a campana; infine, c'è una coda che include un numero ridotto di nodi con valori molto

alti di degree centrality, ciò significa che nella larva ci sono molti neuroni con un numero medio-basso di connessioni e pochi neuroni con un numero elevato di connessioni.

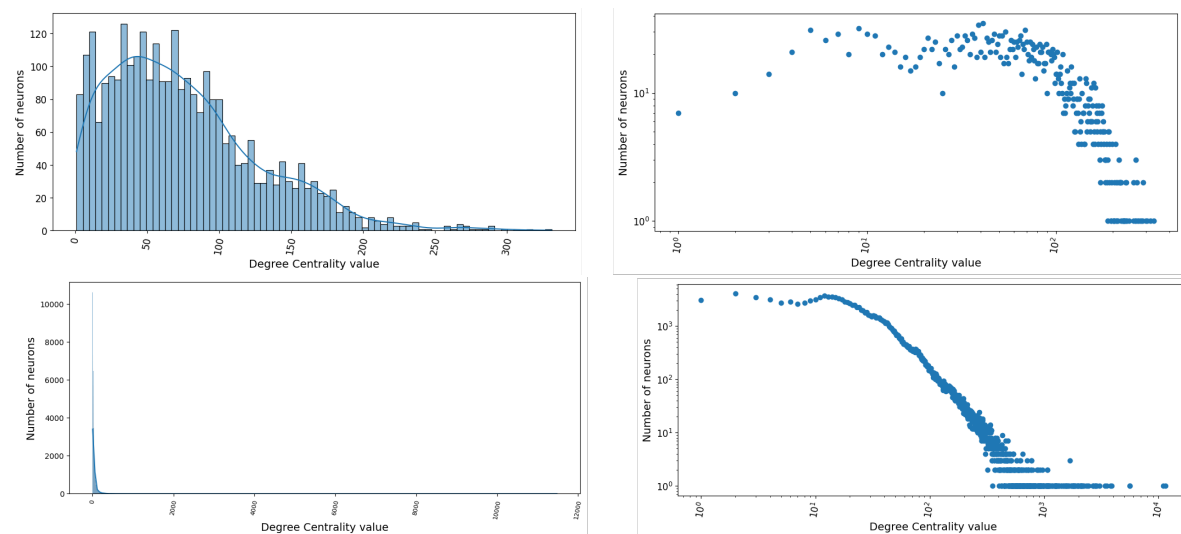


Figura 3.1: Distribuzione della degree centrality, sia in scala normale che in scala log-log, per la rete associata al connettoma della larva (in alto) e al connettoma dell'adulto (in basso)

Concentriamoci ora sulla closeness centrality. Nella Figura 3.2 vengono mostrati la distribuzione dei valori di questa centralità nella rete corrispondente al connettoma della larva (in alto) e dell'adulto (in basso). In entrambi i casi possiamo notare come la distribuzione assumi una forma a campana, tipica delle closeness centrality. Tuttavia, ci sono alcune differenze tra le distribuzioni della larva e dell'adulto. In particolare, la distribuzione della larva è più regolare, mentre quella dell'adulto assomiglia maggiormente alla sovrapposizione di tre curve a campana con altezze gradualmente crescenti.

Inoltre, la distribuzione dell'adulto è molto più ripida rispetto a quella della larva. Infine, entrambe le distribuzioni hanno una coda lunga, ma nella larva tale coda è situata a sinistra della curva a campana, mentre nell'adulto è a destra. Il grafico per l'adulto mostra che ci sono pochi neuroni con una closeness centrality molto alta e che, quindi, sono collegati agli altri neuroni attraverso percorsi molto brevi. Inoltre, molti neuroni hanno una closeness centrality media e sono, quindi, collegati agli altri neuroni tramite percorsi che non sono né troppo lunghi né troppo brevi.

Consideriamo, ora, la betweenness centrality, le cui distribuzioni per la larva e per l'adulto vengono mostrate nella Figura 3.3. Dall'analisi di questa figura possiamo vedere che entrambe le distribuzioni seguono una power law. La curva è molto ripida per l'adulto, mentre per la larva risulta essere leggermente meno ripida oltre a presentare delle irregolarità nella parte sinistra. Da quest'analisi possiamo dedurre che, nei connettomi della larva e dell'adulto, ci sono molti neuroni che non sono strategici per collegare diverse aree del cervello, mentre esiste un numero ridotto di neuroni altamente strategici per collegare tali aree.

L'ultima centralità che consideriamo è l'eigenvector centrality, la cui distribuzione per la larva e l'adulto è mostrata nella Figura 3.4. Dall'analisi della figura, possiamo vedere che entrambe le distribuzioni seguono una power law. Anche in questo caso, come nel precedente, questa distribuzione è molto ripida per l'adulto e meno ripida per la larva. Quindi in entrambi i connettomi dell'adulto e della larva ci sono molti neuroni poco importanti perché collegati con poche connessioni ad altri neuroni altrettanto poco importanti. Allo stesso tempo, ci sono pochi neuroni molto importanti perché collegati con molte connessioni ad altri neuroni importanti o molto importanti.

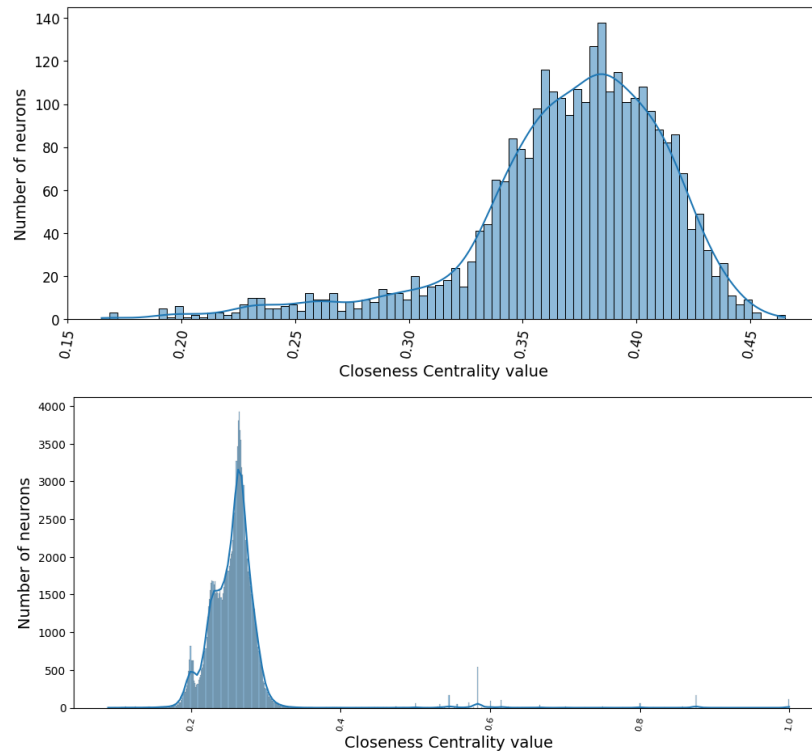


Figura 3.2: Distribuzione della closeness centrality per la rete associata al connettoma della larva (in alto) e al connettoma dell'adulto (in basso)

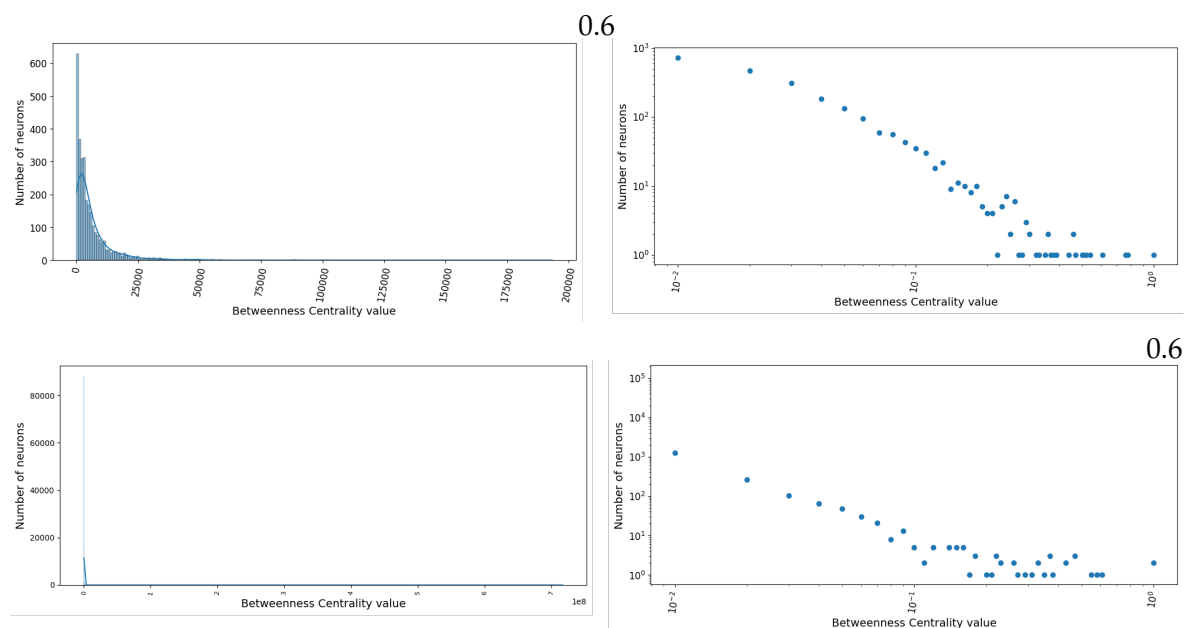


Figura 3.3: Distribuzione della betweenness centrality per la rete associata al connettoma della larva (in alto) e al connettoma dell'adulto (in basso)

Osservando tutte queste distribuzioni nel loro insieme, possiamo fare alcune considerazioni. La prima è che le distribuzioni della betweenness centrality e della eigenvector centrality per la larva e per l'adulto risultano essere simili. Mentre, le distribuzioni della degree centrality e della closeness centrality per la larva e per l'adulto presentano alcune

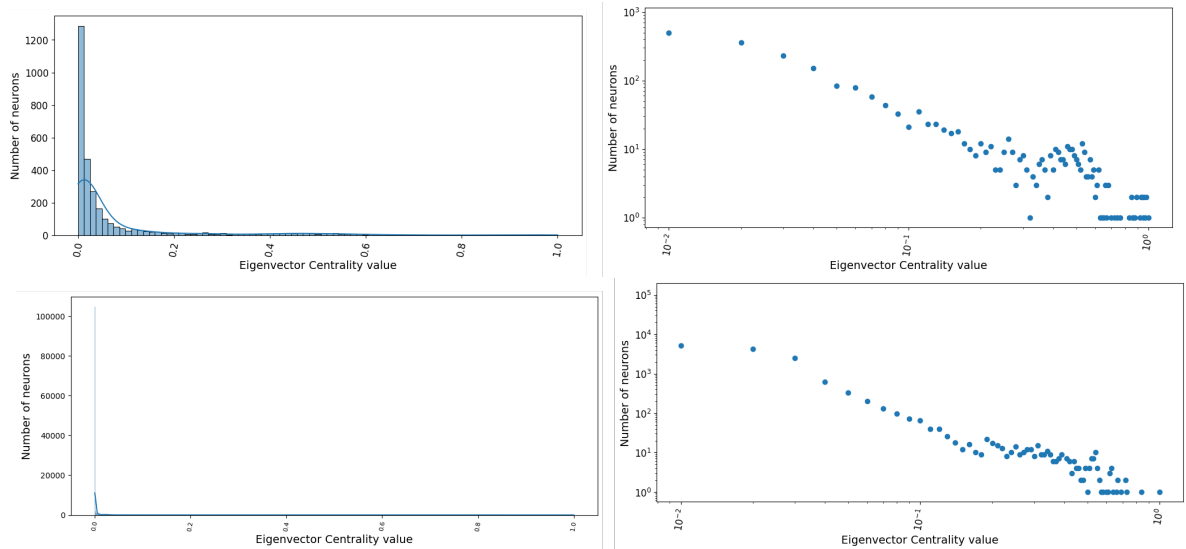


Figura 3.4: Distribuzione della eigenvector centrality per la rete associata al connettoma della larva (in alto) e al connettoma dell'adulto (in basso)

somiglianze (ad esempio, la forma a campana della closeness centrality) ma anche diverse differenze. La seconda è che, in tutti i tipi di centralità, sia per la larva che per l'adulto, osserviamo la presenza di un numero ridotto di neuroni che hanno un valore estremamente alto di centralità.

3.3 Identificazione e ruolo dei Power Neuron

In questa sezione analizzeremo i power neuron, cercando di comprendere il loro significato e i criteri con cui vengono identificati. Ma cosa si intende esattamente per power neuron e come sono individuati?

Un power neuron, in un connettoma, è un neurone che appartiene contemporaneamente al 20% dei neuroni caratterizzati dai valori più alti di degree centrality, closeness centrality, betweenness centrality ed eigenvector centrality.

La soglia del 20% è empirica ed è stata scelta sulla base delle seguenti considerazioni: la maggior parte delle distribuzioni segue una power law e si voleva restringere il focus ai neuroni più importanti per ciascuna centralità, evitando però di escluderne alcuni.

Comprendere il significato delle diverse metriche di centralità e la loro relazione con il connettoma ci permette di identificare i vantaggi che un neurone ottiene quando presenta un valore elevato in ciascuna di queste misure.

Di seguito, elenchiamo le principali implicazioni per i power neuron in base alle diverse metriche di centralità:

- *Alta degree centrality:* i power neuron possiedono molte connessioni e possono, quindi, agire come hub per altri neuroni.
- *Alta closeness centrality:* i power neuron sono connessi ad altri neuroni attraverso percorsi mediamente brevi, permettendo, così, che le informazioni che trasmettono raggiungano rapidamente il resto del connettoma.
- *Alta betweenness centrality:* i power neuron sono tra i pochi nodi strategici in grado di trasportare informazioni tra diverse aree del connettoma.

- *Alta eigenvector centrality*: i power neuron sono collegati a numerosi altri neuroni altrettanto centrali nella rete.

Nella larva sono presenti 162 power neuron su 2.952 neuroni totali, mentre nell'adulto il numero di power neuron è 5.473 su 134.181 neuroni totali. Tuttavia, nonostante le differenze strutturali tra le due reti associate al connettoma della larva e dell'adulto, la percentuale di power neuron presenti nelle due è simile. Infatti, tale percentuale è del 5,49% nella larva e del 4,08% nell'adulto.

Nella Tabella 3.2 presentiamo un confronto tra il grado di tutti i neuroni e quello dei power neuron nella larva e nell'adulto. I dati mostrano chiaramente che il grado medio dei power neuron è significativamente più elevato rispetto a quello complessivo dei neuroni. Ciò che risulta particolarmente interessante, tuttavia, è l'elevata differenza anche nel grado mediano, che si rivela anch'esso nettamente superiore rispetto a quello di tutti i neuroni. Ciò suggerisce che l'intera distribuzione del grado nei power neuron è spostata verso valori più alti, indicando una tendenza generale a una connettività maggiore rispetto agli altri neuroni della rete.

	Grado		Grado entrante		Grado uscente	
	Medio	Mediano	Medio	Mediano	Medio	Mediano
<i>Larva</i>						
Tutti i neuroni	74,98	65	37,49	32	38,32	32
Power neuron	175,89	165	101,87	97	74,02	71,5
<i>Adulto</i>						
Tutti i neuroni	40,25	22	20,13	9	20,53	12
Power neuron	218,12	152	124,55	86	93,57	60

Tabella 3.2: Grado medio e mediano di tutti i neuroni e dei power neuron nella larva e nell'adulto

Un aspetto interessante emerge quando consideriamo il numero totale di connessioni associate ai power neuron. Se moltiplichiamo il grado medio dei power neuron nella larva (175,89) per il loro numero totale (162) otteniamo 28.494, che rappresenta il numero di connessioni e, di conseguenza, il numero di neuroni direttamente collegati ai power neuron. Poiché la larva possiede 2.952 neuroni, questo risultato suggerisce un'elevata sovrapposizione tra gli insiemi di neuroni connessi a ciascun power neuron. In particolare, in media, ogni neurone nel connettoma della larva è connesso (tramite un arco in entrata o in uscita) a circa 10 power neuron distinti.

Un'analisi analoga nell'adulto rivela un comportamento simile: moltiplicando il grado medio dei power neuron (218,12) per il loro numero totale (5.473), otteniamo 1.193.770 connessioni. Considerando che il numero complessivo di neuroni nell'adulto è 134.181, ne deriva che, in media, ogni neurone è connesso (attraverso un arco in entrata o in uscita) a circa 9 power neuron.

Ora consideriamo il grado medio rispetto agli archi entranti e uscenti. La Tabella 3.2 mostra che il loro valore per tutti i neuroni è sostanzialmente uguale. Anche il grado mediano per gli archi entranti ed uscenti è lo stesso. Tuttavia, quando analizziamo i power neuron, osserviamo che il grado medio e mediano in entrata è sempre maggiore del corrispondente grado in uscita.

Esaminiamo, adesso, la distribuzione dei power neuron tra gli emisferi. La Tabella 3.3 riassume tale distribuzione e caratterizza ciascun power neuron sulla base delle seguenti proprietà:

- *emisfero*, destro o sinistro, in cui si trova il power neuron.
- *presenza o assenza di un omologo* nell'altro emisfero.

- *tipo*, se power neuron o semplice neurone, dell'eventuale omologo nell'altro emisfero.

Dall'analisi di questa tabella possiamo osservare che i power neuron sono distribuiti in modo pressoché equo tra i due emisferi sia nella larva che nell'adulto. In entrambi i casi, vi è solo una leggera prevalenza di power neuron nell'emisfero destro.

<i>Larva</i>		
	<i>Emisfero sinistro</i>	<i>Emisfero destro</i>
Power neuron	71	82
Power neuron senza omologo	0	0
Power neuron con omologo	71	82
Power neuron il cui omologo è un power neuron	56	56
Power neuron il cui omologo non è un power neuron	15	26

<i>Adulto</i>		
	<i>Emisfero sinistro</i>	<i>Emisfero destro</i>
Power neuron	2,598	2,826
Power neuron senza omologo	77	103
Power neuron con omologo	2,521	2,723
Power neuron il cui omologo è un power neuron	2,004	2,004
Power neuron il cui omologo non è un power neuron	517	719

Tabella 3.3: Distribuzione e caratterizzazione dei power neuron tra gli emisferi

Una grande percentuale di power neuron ha un altro power neuron come omologo; questo è il caso per il 73,20% dei power neuron nella larva e per il 76,43% dei power neuron nell'adulto.

Il resto dei power neuron, di solito, ha un omologo, anche se quest'ultimo non è un power neuron. Ciò avviene sempre nella larva, dove non esiste alcun power neuron privo di omologo, e quasi sempre nell'adulto, dove solo una piccola percentuale di power neuron (cioè il 3,32%) non ha un omologo.

Abbiamo, quindi, scoperto empiricamente che nella *Drosophila* esiste un gruppo di neuroni estremamente potenti in grado di influenzare fortemente la trasmissione delle informazioni all'interno del connettoma.

3.4 Motif e pattern ricorrenti

In questa regione esploreremo il concetto di motif. Ma cosa si intende esattamente con motif e per cosa sono utilizzati? I motif sono dei pattern funzionali molto frequenti in cui sono coinvolti i neuroni. Nello specifico, vengono utilizzati per studiare più in dettaglio i power neuron. Intuitivamente, un pattern funzionale indica la presenza di una sottorete che coinvolge neuroni appartenenti ad aree specifiche e collegati tra loro da connessioni altrettanto specifiche.

I motif, in questo studio, vengono utilizzati per approfondire i power neuron. Infatti, ci interessano i pattern in cui uno o più power neuron appartenenti a una determinata area sono collegati tramite archi uscenti (o entranti) a neuroni di aree ben definite.

Un esempio di tale pattern è illustrato graficamente nella prima sottorete della Figura 3.5. Questo pattern indica che uno o più power neuron appartenenti all'area 'central' sono connessi tramite archi entranti ai neuroni delle aree 'ascending', 'central' e 'visual projection', mentre sono connessi tramite archi uscenti ai neuroni delle aree 'central' e 'descending'.

L'area 'central' è definita come "core area" (area principale) di questo pattern perché i power neuron da cui esso origina appartengono a questa area. Il valore di conteggio pari a 202 significa che questo pattern si verifica 202 volte nel connettoma. Possiamo, dunque, affermare che questo pattern funzionale, che ha come nucleo uno o più power neuron dell'area 'central',

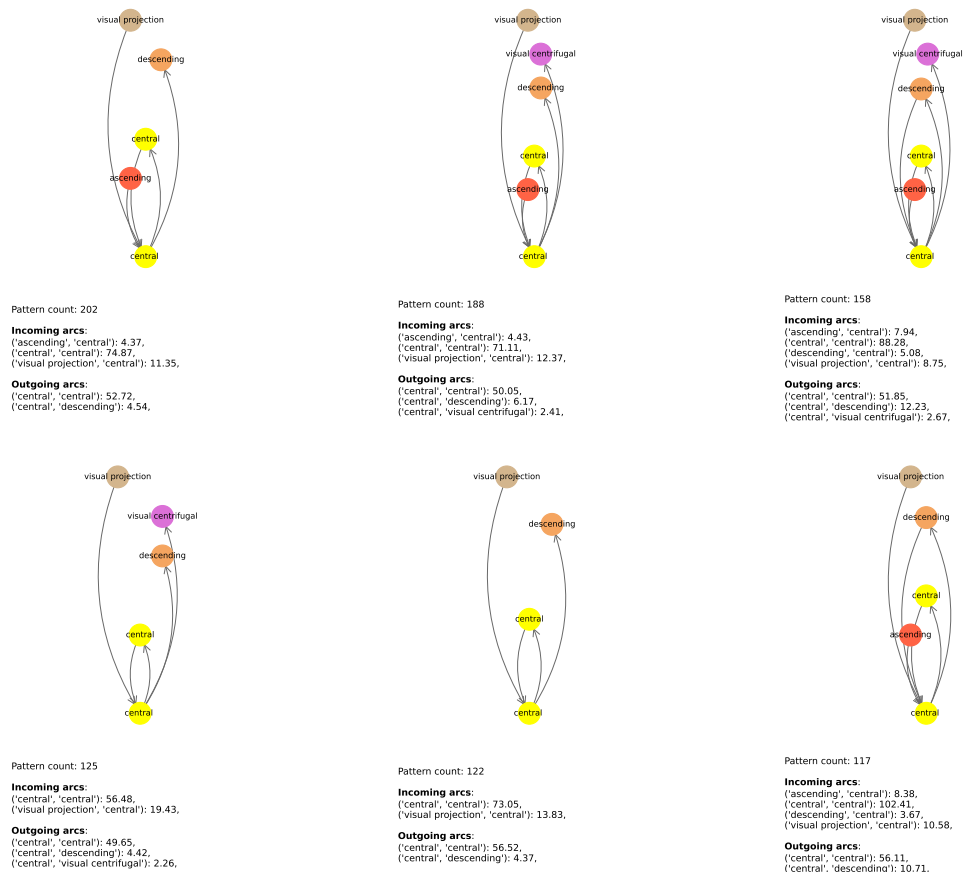


Figura 3.5: Rappresentazione grafica dei pattern più frequenti per area dei power neuron dell'adulto

è molto comune nel connettoma dell'adulto, poiché si verifica 202 volte, ogni volta con un power neuron differente appartenente all'area 'central'.

Nella Tabella 3.4 sono riportati i pattern ricorrenti per i power neuron della larva. È facile osservare come le aree più rappresentate siano 'deep brain', 'learning/memory' e 'innate'.

Un dato interessante è che quasi tutti i power neuron appartenenti all'area 'pre-output' sono organizzati nello stesso pattern, il quale raccoglie, in realtà, tutte le aree eccetto 'sensory' e 'ascending', sia come aree di input che di output.

In effetti, le aree 'sensory' e 'ascending' sono quasi completamente assenti nei pattern più frequenti della larva. Queste due aree non solo non contengono power neuron e quindi non possono essere considerate aree principali di alcun pattern, ma compaiono solo occasionalmente come aree di input o output nei pattern individuati.

Passando ora allo studio dei pattern dell'adulto, riportati nella Tabella 3.5, possiamo osservare come il numero di aree analizzate sia simile nei due organismi, sette nella larva e nove nell'adulto.

Dall'osservazione della tabella è facile notare come la maggioranza dei pattern abbia come "core area" l'area 'central'. Inoltre, è interessante anche notare come nessun pattern frequente coinvolga una sola area.

Come già osservato per la larva, anche nell'adulto alcune aree risultano quasi del tutto assenti nei pattern ricorrenti. In particolare, l'area 'sensory' non presenta power neuron e compare solo in tre pattern poco frequenti, tutti con area principale 'central', in cui svolge sempre il ruolo di input.

<i>Input</i>	<i>Core area</i>	<i>Output</i>	<i>Count</i>
brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	deep brain	brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	26
deep brain, innate, learning/memory, pre-output	learning/memory	brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	13
deep brain, innate, learning/memory, pre-output	deep brain	brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	12
brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	pre-output	brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	8
deep brain, innate, learning/memory, pre-output	learning/memory	deep brain, innate, learning/memory, pre-output	7
deep brain, innate, learning/memory, pre-output	innate	brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	6
brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	innate	brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	5
deep brain, innate, learning/memory, pre-output	innate	deep brain, innate, learning/memory, pre-output	5
ascending, brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	deep brain	brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	5
brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	learning/memory	brain outputs, deep brain, innate, learning/memory, pre-output	4

Tabella 3.4: Pattern più frequenti nella larva

Analogamente, l'area 'endocrine' non contiene power neuron ed è coinvolta solo in cinque pattern rari, in cui l'area principale è 'central' in due casi e 'descending' nei restanti tre. Inoltre, l'area 'motor' compare unicamente come area di output, con una media di sole due connessioni per pattern.

Un'ultima osservazione riguarda l'area 'ascending'. Sebbene contenga 50 power neuron, tutti i pattern con quest'area principale sono poco rappresentati; infatti, ognuno compare meno di 10 volte.

Inoltre, ogni volta che questa area appare nei pattern con altre aree principali, generalmente compare come area di input; ciò accade nell'80% dei casi. Ciò è coerente con il fatto che i neuroni di quest'area sono organizzati in modo piuttosto diverso rispetto agli altri neuroni.

L'analisi dei pattern ha rivelato nuove somiglianze tra la larva e l'adulta, evidenziando elementi comuni nei due connettomi. Questo studio dei pattern potrà poi essere ampliato per comprendere meglio le connessioni tra i power neuron e per determinare se esistano motivazioni più complesse alla base dei pattern funzionali individuati in questo lavoro.

<i>Input</i>	<i>Core area</i>	<i>Output</i>	<i>Count</i>
ascending, central, visual projection	central	central, descending	202
central, optic, visual centrifugal, visual projection	visual projection	central descending, optic, visual centrifugal, visual projection	197
ascending, central, visual projection	central	central, descending, visual centrifugal	188
ascending, central, descending, visual projection	central	central, descending, visual centrifugal	158
central, visual projection	central	central, descending, visual centrifugal	125
central, visual projection	central	central, descending	122
optic, visual centrifugal, visual projection	optic	optic, visual projection	122
ascending, central, descending, visual projection	central	central, descending	117
central, visual projection	central	central	106
central, optic, visual centrifugal, visual projection	visual projection	central, descending, optic, visual projection	103
central, optic, visual centrifugal, visual projection	visual projection	central, visual centrifugal	102
ascending, central, visual projection	central	central	89
central, optic, visual centrifugal, visual projection	visual projection	central, visual centrifugal, visual projection	85
ascending, central, descending, visual centrifugal, visual projection	central	central, descending, visual centrifugal, visual projection	81
central, optic, visual centrifugal, visual projection	visual projection	central, descending, visual centrifugal, visual projection	80
ascending, central, visual projection	central	central, descending, visual centrifugal visual projection	80
optic, visual centrifugal, visual projection	optic	optic, visual centrifugal, visual projection	79
ascending, central, descending, visual projection	central	central, descending, visual centrifugal, visual projection	70
central, optic, visual centrifugal visual projection	visual projection	central, optic, visual centrifugal visual projection	69
ascending, central, descending, visual centrifugal, visual projection	central	central, descending, visual centrifugal	67
central, visual projection	central	central, visual projection	61
ascending, central, visual centrifugal visual projection	central	central, descending, visual centrifugal	58
central, visual projection	central	central, visual centrifugal	58
ascending, central, descending	central	central, descending, visual centrifugal	51
ascending, central, visual projection	central	central, visual projection	50
central, visual projection	central	central, descending, visual centrifugal visual projection	48
ascending, central, visual centrifugal visual projection	central	central, descending, visual centrifugal visual projection	45
ascending, central, descending	central	central, descending	45
central	central	central, descending, visual centrifugal	44
central, optic, visual centrifugal, visual projection	visual projection	central, optic, visual projection	43
ascending, central, visual projection	central	central, descending, visual projection	43
ascending, central, descending, visual projection	central	ascending, central, descending, visual centrifugal	43
central	central	central, descending	38
central, visual projection	central	central, descending, visual projection	37

Tabella 3.5: Pattern più frequenti nell'adulto

Analisi di base sui neuroni non omologhi

*In questo capitolo analizzeremo i neuroni non omologhi nel connettoma della *Drosophila melanogaster*, approfondendo le loro proprietà. In particolare, esamineremo il loro grado di input e di output, il loro coefficiente di clustering e i motif propri dei neuroni omologhi e non. Successivamente, ci concentreremo sugli archi senza corrispettivo tra i due emisferi, sia per la larva che per l'adulto, identificando le connessioni e il loro impatto sulla trasmissione delle informazioni nel cervello.*

4.1 Introduzione all'analisi sui neuroni non omologhi

Nel capitolo precedente quando abbiamo parlato di power neuron, abbiamo citato anche i neuroni da noi definiti come 'omologhi'. In quell'occasione abbiamo detto che i neuroni omologhi sono, dei neuroni che possiedono il reciproco nell'altro emisfero. Per reciproco intendiamo un neurone simile in tutto e per tutto a quello che si sta considerando. Per questi motivi i neuroni omologhi sono detti anche neuroni con corrispettivo.

Una domanda che è sorta durante i nostri studi è la seguente: se alcuni neuroni hanno un omologo, ne esistono anche altri che non lo hanno? E, in tal caso, quanti sono in numero rispetto a quelli che lo possiedono e a quali aree appartengono?

La risposta a tali domande è affermativa, ossia esistono dei neuroni non omologhi nel cervello della *Drosophila*, sia larva che adulta, che appartengono a diverse aree.

Nella Tabella 4.1 vengono elencati i neuroni con e senza corrispettivo della larva e come sono ripartiti nei due emisferi. Notiamo, come i neuroni non omologhi siano presenti in quantità molto ridotte nel connettoma rispetto ai neuroni omologhi, e sono distribuiti in maniera quasi analoga tra i due emisferi, il 46,33% si trova nell'emisfero sinistro, mentre il 53,67% è collocato nell'emisfero destro.

	Emisfero sinistro	Emisfero destro	Totale nodi
Nodi omologhi	1.237	1.237	2.474
Nodi non omologhi	63	73	136
Totale nodi	1300	1310	2610

Tabella 4.1: Neuroni omologhi e non nei due emisferi della larva

Un'altra informazione interessante è data dall'area a cui appartengono i neuroni con e senza corrispettivo. Nella Figura 4.1 è possibile osservare come questi neuroni siano ripartiti nelle diverse aree della larva. In particolare, notiamo come per i neuroni con corrispettivo,

che costituiscono la maggioranza, questi siano distribuiti su tutte le aree della *Drosophila*, con una concentrazione elevata nelle aree pre-DN-VNC e sensory. Osserviamo, invece, come i neuroni non omologhi siano presenti in sole tre aree: KC, sensory e LN.

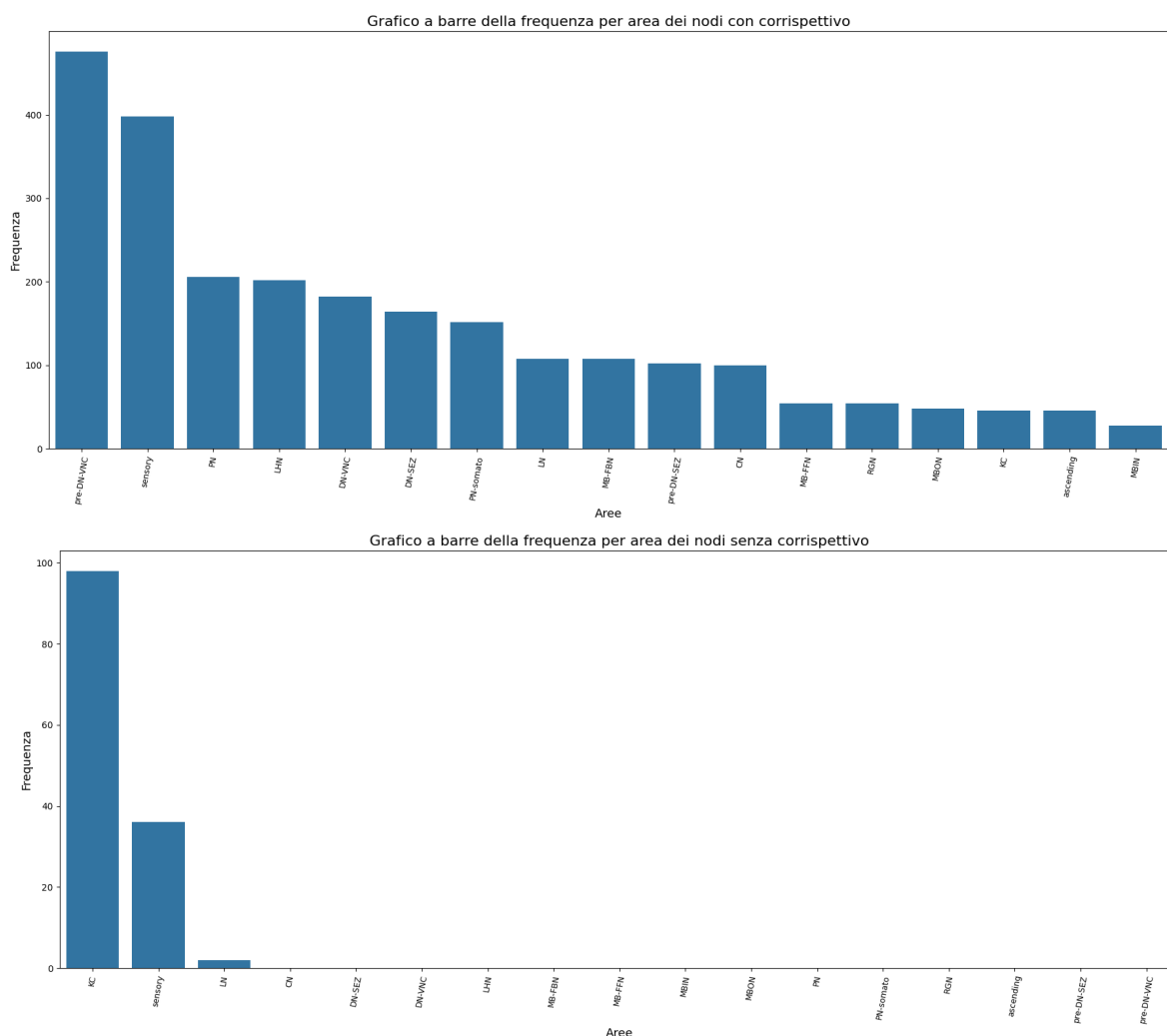


Figura 4.1: Grafici a barre della frequenza per area dei nodi con e senza corrispettivo della larva

Nella Tabella 4.2 è presente un approfondimento in merito alle aree a cui appartengono i neuroni senza corrispettivo, ripartiti per emisferi. Si osservi come un numero elevato di neuroni non omologhi appartenga all'area KC; infatti, il 72% dei neuroni senza corrispettivo appartiene a quest'area.

	Emisfero sinistro	Emisfero destro	Totale nodi
KC	50	48	98
sensory	13	23	36
LN	0	2	2
Totale nodi	63	73	136

Tabella 4.2: Distribuzione per area e per emisfero dei neuroni non omologhi della larva

Inoltre, un aspetto degno di nota sta nel fatto che 29 dei neuroni sensoriali classificati come visivi nella larva risultano essere nodi senza corrispettivo. Nello specifico, 16 si trovano nell'emisfero destro e i rimanenti 13 sono presenti nell'emisfero sinistro. Quindi tutti i nodi

sensoriali senza corrispettivo dell'emisfero sinistro sono di tipo visivo, mentre per i nodi sensoriali senza corrispettivo dell'emisfero destro, 16 sono di tipo visivo, 5 di tipo gut e 2 di tipo gustatory-pharyngeal.

Proseguiamo ora con lo studio dei neuroni senza corrispettivo dell'adulto. Una problematica emersa durante lo studio dei neuroni non omologhi dell'adulto riguarda il dataset utilizzato, il quale, infatti, a differenza del dataset della larva non forniva le coppie neurone-neurone. Non essendo disponibili le coppie di neuroni sarebbe risultato difficile trovare anche i neuroni senza corrispettivo. Per far fronte a questa difficoltà, abbiamo applicato un algoritmo di matching, che ci ha permesso di ricavare i neuroni omologhi del connettoma dell'adulto. L'efficacia dell'algoritmo da noi utilizzato è confermata anche dalla coerenza dei dati ottenuti.

Infatti, il numero di nodi senza corrispettivo trovato è in continuità con i dati della larva, poiché la percentuale del numero di nodi senza corrispettivo sul totale per la larva è del 5,2%, valore simile a quella per l'adulto che è del 4,96%.

Nella tabella 4.3 vengono elencati i neuroni omologhi e non dell'adulto e come sono distribuiti nei due emisferi. Osserviamo che, così come già riscontrato per la larva, i neuroni senza corrispettivo sono presenti in quantità significativamente inferiori rispetto ai neuroni omologhi e risultano essere distribuiti in maniera equilibrata tra i due emisferi. Infatti il 56,27% si trova nell'emisfero sinistro, mentre il 43,72% è collocato nell'emisfero destro.

	Emisfero sinistro	Emisfero destro	Totale nodi
Nodi omologhi	66.076	66.076	132.152
Nodi non omologhi	3.883	3.017	6.900
<i>Totale nodi</i>	69.959	69.093	139.052

Tabella 4.3: Neuroni omologhi e non nei due emisferi dell'adulto

Così come per la larva, anche per l'adulto un aspetto particolarmente interessante riguarda la distribuzione dei neuroni senza corrispettivo nelle diverse aree. Analizzare come sono ripartiti i nodi non omologhi consente di individuarne eventuali pattern ricorrenti e differenze significative rispetto ai neuroni aventi un omologo. Confrontare le aree in cui questi neuroni sono presenti nelle due fasi dello sviluppo della *Drosophila* permette, inoltre, di comprendere meglio la sua evoluzione.

Nella Figura 4.2 è possibile osservare la distribuzione di questi neuroni nelle diverse aree dell'adulto. Analogamente a quanto riscontrato nella larva, i neuroni con corrispettivo risultano diffusi su tutte le aree del connettoma, con una concentrazione maggiore nelle regioni optic, central e sensory.

Invece, per quanto riguarda i neuroni senza corrispettivo, essi appartengono a diverse aree del connettoma, sebbene si concentrino prevalentemente nelle aree optic, central e sensory, con una distribuzione quasi equivalente tra le prime due. Ciò rappresenta una differenza degna di nota rispetto alla larva, dove i neuroni privi di omologo erano limitati esclusivamente a tre aree specifiche.

Abbiamo quindi fornito una panoramica sui neuroni omologhi e non omologhi, analizzando il loro numero nel connettoma della *Drosophila*, sia della larva che dell'adulto, e le aree a cui appartengono. L'analisi ha evidenziato come i neuroni senza corrispettivo rappresentino una percentuale ridotta rispetto ai neuroni omologhi, con una distribuzione equilibrata tra i due emisferi in entrambe le fasi dello sviluppo.

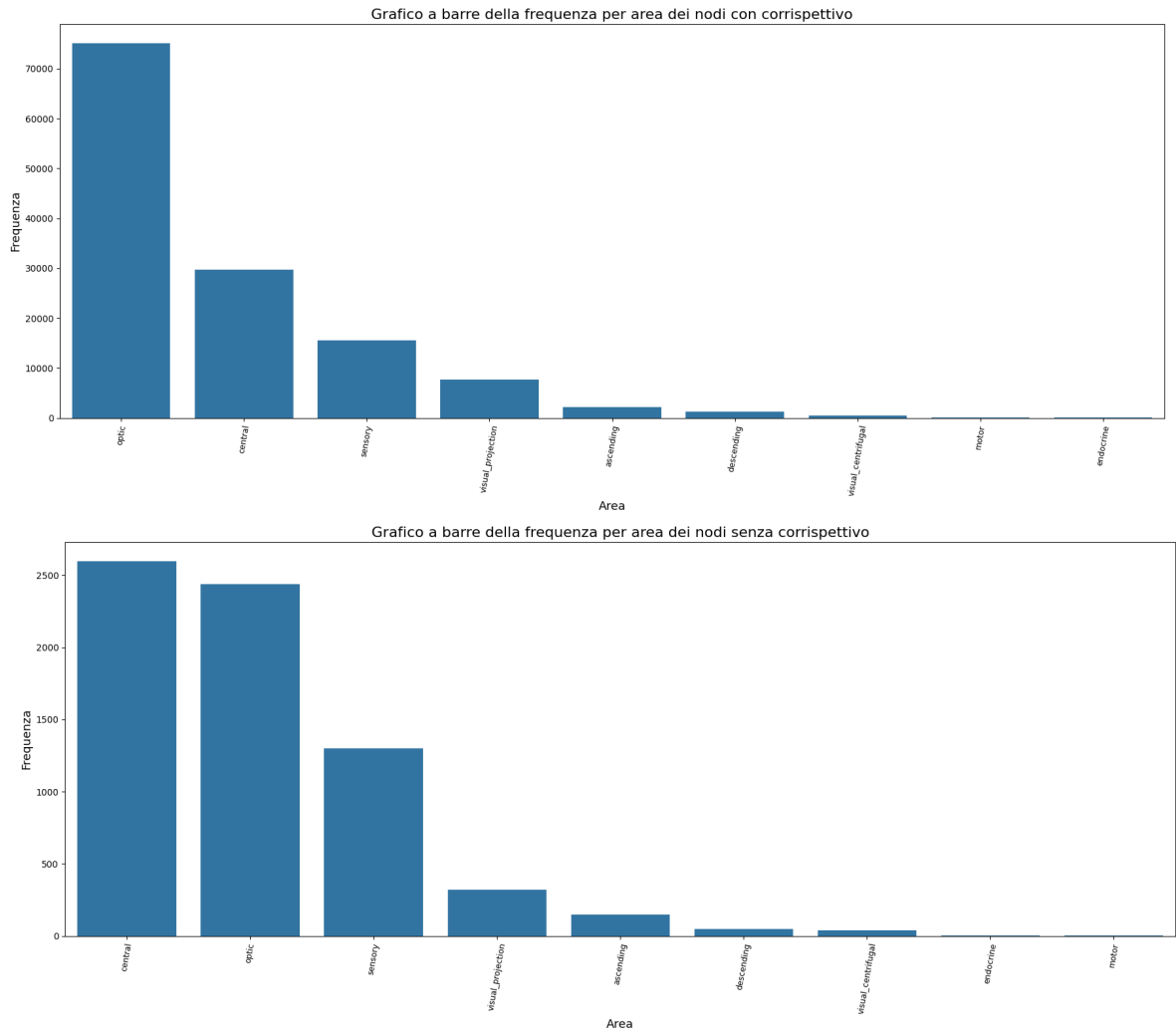


Figura 4.2: Grafici a barre della frequenza per area dei nodi con e senza corrispettivo dell'adulto

4.2 Analisi sui neuroni non omologhi

Avendo compreso il significato di neuroni non omologhi, come sono distribuiti nelle diverse aree del connettoma e come siano presenti in numero significativamente inferiore rispetto ai neuroni omologhi, possiamo ora approfondire ulteriormente le loro caratteristiche.

In questa sezione, analizzeremo il grado di input e di output, il coefficiente di clustering e i motif sia per i neuroni omologhi ma anche per quelli senza corrispettivo. Queste analisi ci permetteranno di comprendere meglio il ruolo che questi neuroni svolgono all'interno del connettoma della *Drosophila*, evidenziandone le eventuali differenze e individuando possibili pattern distintivi.

4.2.1 Grado di input, output e coefficiente di clustering

In questo paragrafo analizzeremo il grado di input, il grado di output e il coefficiente di clustering dei neuroni omologhi e non sia per la larva che per l'adulto. Questo confronto ci aiuterà a identificare possibili differenze e a chiarire il ruolo che questi neuroni svolgono.

Ma cosa si intende esattamente per grado di input, grado di output e coefficiente di clustering?

- Il grado di input rappresenta il numero di connessioni in entrata che un neurone riceve da altri neuroni della rete; potremmo paragonarlo ad un'indicazione della quantità di informazioni che il neurone elabora.
- Il grado di output indica il numero di connessioni in uscita, ovvero quanti neuroni ricevono informazioni da quel neurone; ci suggerisce il suo livello di influenza all'interno del connettoma.
- Il coefficiente di clustering misura quanto i vicini di un neurone siano connessi tra loro.

Attraverso queste misure, potremo osservare se esistono differenze significative tra i neuroni omologhi e non omologhi.

Nelle seguenti figure, i grafici illustrano la distribuzione del grado di input, del grado di output e del coefficiente di clustering per i neuroni con e senza corrispettivo. In ciascun grafico, l'asse delle ordinate rappresenta il numero di neuroni, mentre l'asse delle ascisse indica la misura della proprietà in esame (grado di input, grado di output o coefficiente di clustering).

Le distribuzioni sono visualizzate attraverso istogrammi, che mostrano la frequenza con cui i neuroni assumono determinati valori, e da una curva, che aiuta a evidenziare l'andamento generale della distribuzione. Inoltre, in ogni grafico è riportata la media della distribuzione (linea tratteggiata rossa), che fornisce un riferimento sulla tendenza centrale dei dati.

I grafici sono organizzati in coppie, con il pannello a sinistra dedicato ai neuroni senza corrispettivo e il pannello a destra relativo ai neuroni con corrispettivo, consentendo un confronto diretto tra le due categorie.

Nella Figura 4.3 è possibile osservare la distribuzione del grado di input della larva, sia per i nodi omologhi che per quelli non omologhi. Notiamo come i neuroni senza corrispettivo tendano a ricevere input in modo più variabile rispetto ai neuroni con corrispettivo. Questo suggerisce che possano avere un ruolo più complesso nell'elaborazione delle informazioni all'interno del cervello della larva, mentre i neuroni omologhi seguono una distribuzione più prevedibile e uniforme.

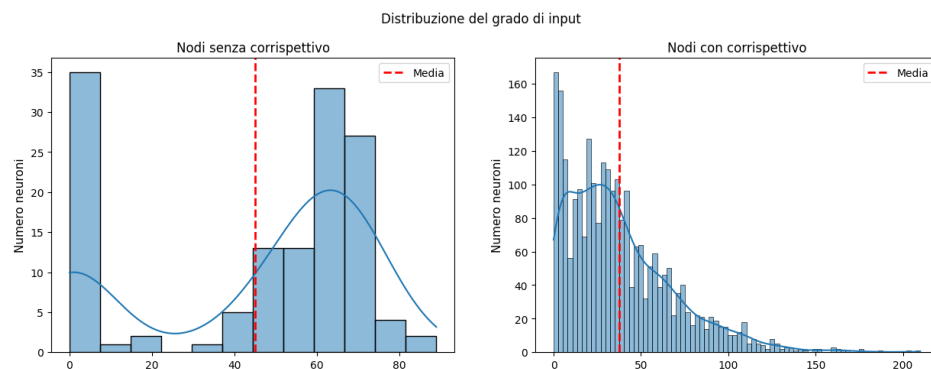


Figura 4.3: Distribuzione del grado di input della larva

Nella Figura 4.4 viene mostrata la distribuzione del grado di output della larva, per i nodi con e senza corrispettivo. Osserviamo come i neuroni senza corrispettivo sembrano assumere un comportamento più variegato, con una maggiore dispersione nei valori del grado di output. Al contrario, i neuroni omologhi presentano un andamento più standardizzato.

Nella Figura 4.5 è illustrata la distribuzione del coefficiente di clustering della larva, sia per i nodi omologhi che per quelli non omologhi. Il coefficiente di clustering risulta essere più alto nei neuroni senza corrispettivo, ciò potrebbe indicare che questi neuroni abbiano

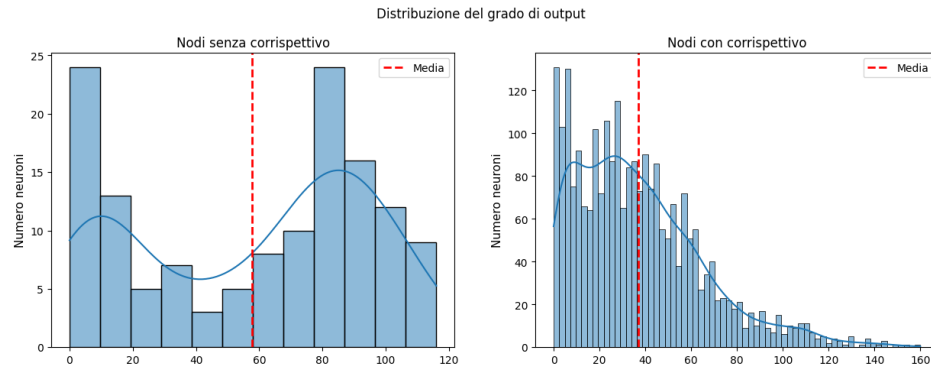


Figura 4.4: Distribuzione del grado di output della larva

funzioni più specifiche. I neuroni omologhi, invece, sembrano essere inseriti in una rete più ampia, con connessioni distribuite in modo più esteso.

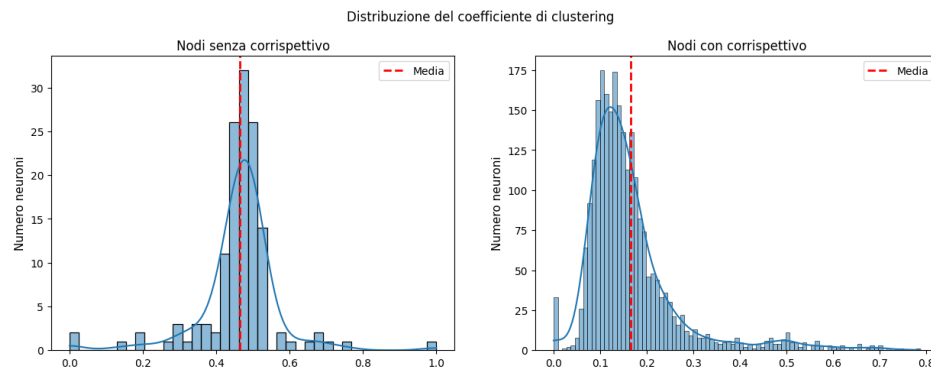


Figura 4.5: Distribuzione del coefficiente di clustering della larva

Passiamo ora all'analisi dell'adulto per verificare se emergano delle differenze rispetto alla larva nella distribuzione del grado di input, del grado di output e del coefficiente di clustering per i neuroni omologhi e non. Confrontando le due fasi dello sviluppo della *Drosophila*, potremo, infatti, osservare se la struttura del connettoma evolve mantenendo strutture simili a quelle della larva, o se nella crescita si vada a differenziare.

In particolare, siamo interessati a capire se le differenze riscontrate tra neuroni con e senza corrispettivo nella larva si mantengano anche nell'adulto.

Nella Figura 4.6 viene mostrata, per i neuroni omologhi e non, la distribuzione del grado di input dell'adulto. Notiamo come rispetto alla larva i neuroni senza corrispettivo assumono una distribuzione più regolare e meno frammentata. Tuttavia, le differenze tra neuroni omologhi e non omologhi sono minime, suggerendo che con la crescita del connettoma la rete tenda a uniformarsi, riducendo la distinzione tra le due tipologie di nodi.

Nella Figura 4.7 è illustrata la distribuzione del grado di output per i nodi con e senza corrispettivo dell'adulto. Nella larva, i neuroni senza corrispettivo presentavano una distribuzione più disomogenea. Nell'adulto, invece, la distribuzione è più continua e regolare. Anche in questo caso, la similarità tra neuroni omologhi e non suggerisce che con lo sviluppo le differenze tra i due gruppi di nodi si riducano.

Nella Figura 4.8 è possibile osservare la distribuzione del coefficiente di clustering dell'adulto, sia per i nodi omologhi che per quelli non omologhi. Il coefficiente di clustering risulta mediamente più basso, relativamente a quello della larva. Ciò potrebbe indicare che il connettoma dell'adulto presenti una minore concentrazione di connessioni locali e una struttura più distribuita. Inoltre, la quasi totale sovrapposizione delle distribuzioni per neuroni

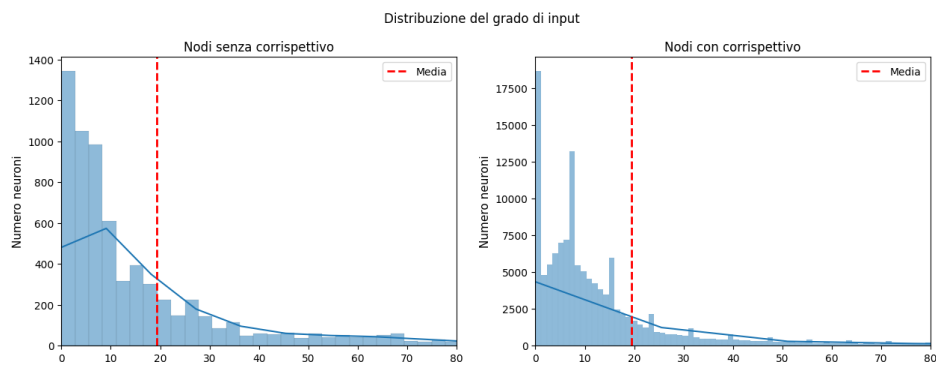


Figura 4.6: Distribuzione del grado di input dell'adulto

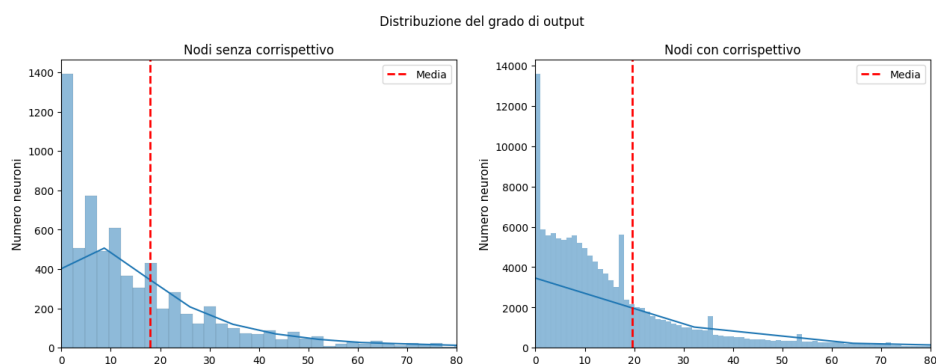


Figura 4.7: Distribuzione del grado di output dell'adulto

omologhi e non suggerisce che, con la maturazione, le distinzioni tra i due gruppi in termini di coefficiente di clustering si riducano ulteriormente.

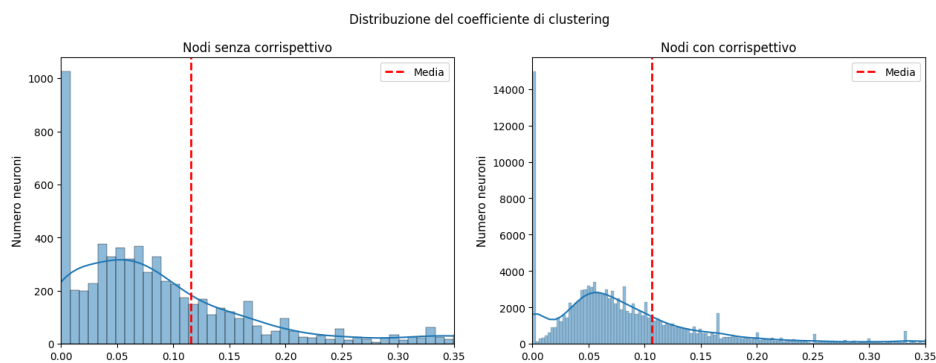


Figura 4.8: Distribuzione del coefficiente di clustering dell'adulto

L'analisi del grado di input, del grado di output e del coefficiente di clustering dei neuroni omologhi e non omologhi, sia nella larva che nell'adulto, ha permesso di evidenziare importanti caratteristiche all'interno del connettoma della *Drosophila*.

Dal confronto tra le due fasi dello sviluppo è emerso che, sebbene nella larva i neuroni senza corrispettivo mostrino una maggiore variabilità nei valori di input e output e un coefficiente di clustering più elevato rispetto ai neuroni omologhi, nell'adulto queste differenze si vanno ad attenuare. In particolare, la distribuzione del grado di input e di output nell'adulto risulta più regolare e simile tra i due gruppi, suggerendo che con la maturazione del connettoma la rete formata dai neuroni tenda ad uniformarsi.

4.2.2 Motif dei neuroni omologhi e non omologhi

In questo paragrafo, ci concentreremo sull'analisi dei motif dei neuroni omologhi e non omologhi, sia nella larva che nell'adulto. In particolare, siamo interessati a comprendere se esistano differenze nella tipologia di motif tra le due fasi dello sviluppo.

L'analisi dei motif permette di individuare pattern che potrebbero essere associati a specifiche funzioni. Inoltre, confrontare i motif tra larva e adulta consente di osservare eventuali cambiamenti durante lo sviluppo.

Per analizzare ciò sono stati realizzati diversi diagrammi Sankey che rappresentano il flusso delle connessioni tra le diverse aree cerebrali.

I motif di questa sezione sono stati individuati scansionando l'intero connettoma e registrando per ogni neurone tutte le connessioni in ingresso e in uscita. Per ogni neurone, poi, si è individuata l'area di appartenenza e si è verificato se una determinata area comparisse almeno una volta come input o output.

Grazie a questa metodologia, il diagramma che ne deriva permette di visualizzare il percorso delle informazioni nel connettoma, evidenziando come le diverse aree siano connesse tra loro. Inoltre, confrontando i diagrammi della larva e dell'adulto, è possibile comprendere se la struttura della rete mantenga schemi simili nel tempo o se subisca variazioni.

Nella Figura 4.9 è illustrato il diagramma Sankey dei motif dei nodi omologhi della larva. Un aspetto che emerge immediatamente dall'osservazione del grafico è la sua notevole simmetria, che conferisce alla figura una struttura quasi architettonica.

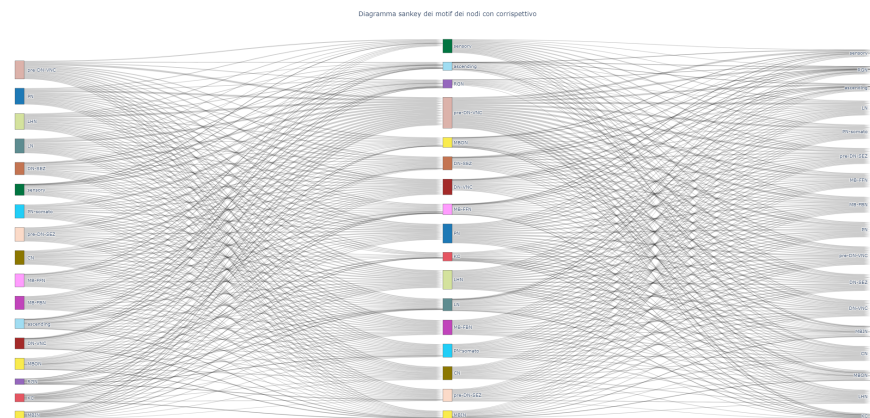


Figura 4.9: Diagramma Sankey dei motif dei nodi con corrispettivo della larva

Questa simmetria riflette la natura equilibrata della rete, suggerendo che i neuroni con corrispettivo siano organizzati in un sistema di connessioni ben distribuito tra i due emisferi. La disposizione speculare delle connessioni evidenzia come i neuroni omologhi siano parte di una rete altamente strutturata, con flussi di informazione che si ripetono in maniera ordinata tra le diverse aree del connettoma.

Nella Figura 4.10 osserviamo il diagramma Sankey dei motif dei nodi senza corrispettivo della larva. Notiamo come l'organizzazione dei neuroni senza corrispettivo della larva suggerisca che questi neuroni potrebbero essere funzionalmente specializzati, piuttosto che partecipare a un ampio network di elaborazione. Il loro ruolo potrebbe essere legato a compiti specifici all'interno del connettoma.

Nella Figura 4.11 è raffigurato il diagramma Sankey dei motif dei nodi non omologhi dell'adulto.

Il diagramma Sankey suggerisce che i neuroni senza corrispettivo, pur rimanendo meno distribuiti rispetto agli omologhi, acquisiscano una maggiore connettività nella fase adulta,

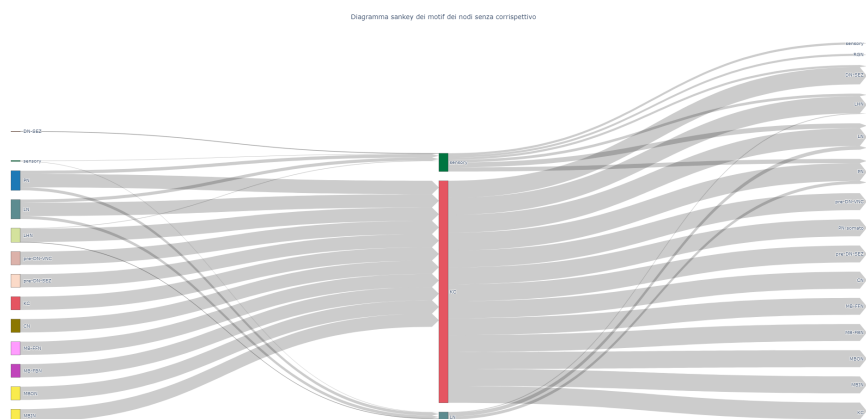


Figura 4.10: Diagramma Sankey dei motif dei nodi senza corrispettivo della larva

suggerendo un adattamento del loro ruolo nel connettoma della *Drosophila*. L'importanza delle aree optic e sensory riflette il crescente peso delle informazioni visive e sensoriali nell'adulto.

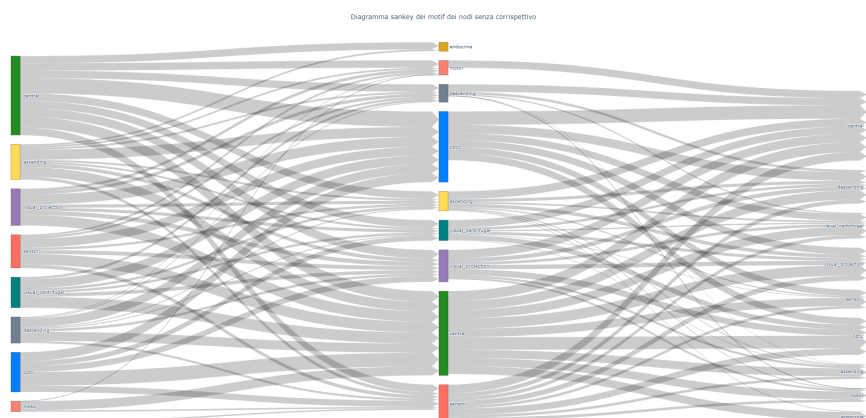


Figura 4.11: Diagramma Sankey dei motif dei nodi senza corrispettivo dell'adulto

L'analisi dei motif nei neuroni omologhi e non omologhi suggerisce che la struttura del connettoma della *Drosophila* evolva nel tempo, con i neuroni senza corrispettivo che assumono una connettività maggiore nella fase adulta. Tuttavia, mentre i neuroni con corrispettivo mantengono una funzione di integrazione tra più aree, i neuroni senza corrispettivo rimangono più specializzati, suggerendo che possano essere coinvolti in processi neurali più specifici e localizzati.

4.3 Analisi degli archi senza corrispettivo nei due emisferi

Abbiamo discusso dei neuroni con e senza corrispettivo, analizzandone le principali caratteristiche. Ora, in questa sezione, invece, approfondiremo il concetto di archi senza corrispettivo nei due emisferi del connettoma della *Drosophila*, sia nella larva che nell'adulto. Ma che cos'è un arco senza corrispettivo?

Un arco senza corrispettivo è una connessione tra due neuroni che non presenta un equivalente speculare nell'altro emisfero. Se consideriamo una coppia di neuroni omologhi nei

due emisferi, ogni neurone stabilisce le proprie connessioni in ingresso e in uscita. Idealmente, le connessioni di un neurone nell'emisfero sinistro dovrebbero avere un equivalente speculare nel neurone omologo dell'emisfero destro. Quando questa corrispondenza non è rispettata, l'arco viene considerato senza corrispettivo.

Gli archi senza corrispettivo ci forniscono una visione dettagliata delle asimmetrie presenti nel connettoma della *Drosophila* e al contempo ci permettono di comprendere meglio la sua evoluzione nel passaggio dalla larva all'adulto. Nei prossimi paragrafi verranno presentati i risultati ottenuti, con particolare attenzione alle aree maggiormente coinvolte in queste asimmetrie.

Le immagini che seguono sono state realizzate utilizzando Gephi, un software open-source specializzato nella visualizzazione e nell'analisi di grafi complessi.

Esse sono state elaborate in modo da rappresentare in maniera visiva alcune delle proprietà dei neuroni della *Drosophila*. In particolare, la colorazione dei nodi indica la loro degree centrality, mentre la dimensione riflette la closeness centrality. Quindi, banalmente, più i colori sono caldi, più la degree è alta, e più il nodo è grande, più cresce la closeness centrality.

Inoltre, tutte le illustrazioni sono state generate basandosi sulle coordinate originali dei neuroni appartenenti ai connettomi della larva e dell'adulto.

4.3.1 Archi senza corrispettivo nel connettoma della larva

In Figura 4.12 viene mostrata, a sinistra, l'insieme dei neuroni che costituiscono il cervello della larva, mentre a destra, è illustrato il cervello della larva ma comprensivo di tutte le connessioni.

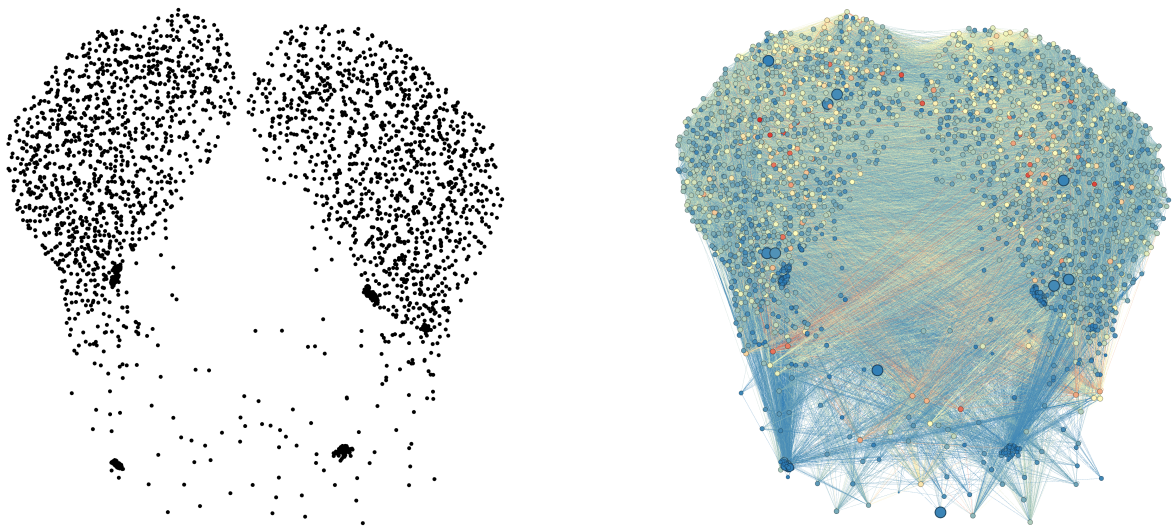


Figura 4.12: Cervello solo con i neuroni (a sinistra) e cervello con connessioni (a destra) della larva

Nella Figura 4.13 è mostrato il connettoma della *Drosophila* larva; è la stessa rete graficata nella parte destra della Figura 4.12, ma questa volta con una visuale dall'alto. Viene mostrata un'altra prospettiva per far comprendere meglio come stiamo effettivamente lavorando con un oggetto tridimensionale e non bidimensionale come potrebbe sembrare dalle rappresentazioni. A riprova di ciò, confrontando questa immagine con la Figura 2.2, è possibile notare le somiglianze, che rafforzano ulteriormente l'accuratezza della ricostruzione.

Nelle Figure 4.14 e 4.15 sono raffigurati, rispettivamente, gli archi senza corrispettivo dell'emisfero destro e dell'emisfero sinistro della larva. Notiamo come le due immagini siano una la differenza dell'altra.

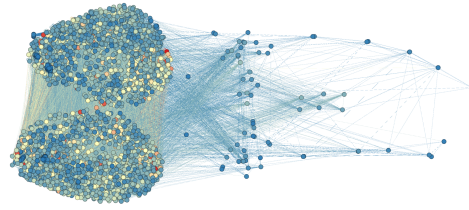


Figura 4.13: Cervello della larva visuale dall'alto

Nella Figura 4.16, invece, viene illustrata la rete composta da tutti gli archi dei supernodi che hanno come corrispettivo un supernodo. Le connessioni rappresentate nell'immagine così come quelle in figura 4.12 e 4.13 sono le uniche connessioni che comprendono tutti gli archi. Possiamo osservare come l'immagine completi le due che le stanno sopra.



Figura 4.14: Archi senza corrispettivo dell'emisfero destro della larva



Figura 4.15: Archi senza corrispettivo dell'emisfero sinistro della larva

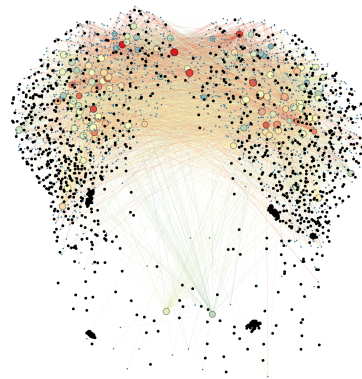


Figura 4.16: Rete dei supernodi aventi per corrispettivo un supernodo della larva

In Figura 4.17 viene mostrata la rete composta dagli archi senza corrispettivo dell'emisfero destro e dagli archi senza corrispettivo dell'emisfero sinistro, unita alla rete generata dai supernodi aventi come corrispettivo un supernodo.

La Tabella 4.4 fornisce una panoramica della struttura del connettoma della *Drosophila* larva, presentando il numero di nodi, il numero di archi e la densità delle diverse reti da noi sopra studiate.

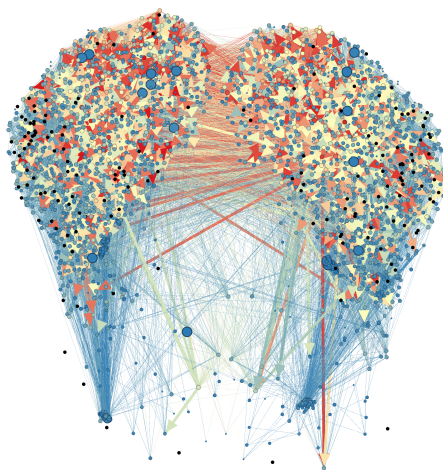


Figura 4.17: Emisfero destro - supernodi con corrispettivo - emisfero sinistro (Larva)

	N° nodi	N° archi	Densità
Cervello	2.952	110.677	0,013
Emisfero destro	1.303	18.067	0,011
Emisfero sinistro	1.297	16.287	0,01
Supernodi con corrispettivo supernodo	1.546	8.488	0,004
Emisfero destro - supernodi con corrispettivo - emisfero sinistro	2.792	40.879	0,005

Tabella 4.4: Distribuzione dei nodi e degli archi della larva

4.3.2 Archi senza corrispettivo nel connettoma dell'adulto

Procediamo ora con lo studio della *Drosophila* adulta, applicando le stesse metodologie adottate per l'analisi della larva. Anche in questo caso, sono state usate le stesse considerazioni per identificare e caratterizzare gli archi senza corrispettivo nei due emisferi.

L'analisi dell'adulto permette di confrontare i dati ottenuti con quelli della larva, consentendo di osservare eventuali cambiamenti sorti durante lo sviluppo. In particolare, potremo verificare se le asimmetrie negli archi senza corrispettivo si mantengano, si riducano o si intensifichino, e se la rete dei supernodi conservi il suo ruolo strutturale o subisca modifiche nella sua organizzazione.

Le immagini e le tabelle presentate nelle prossime sezioni sono state realizzate con gli stessi criteri della larva, mantenendo la corrispondenza con le coordinate dei neuroni e utilizzando Gephi per la rappresentazione grafica.

Per l'adulto come per la larva, al fine di migliorare la comprensibilità grafica delle reti analizzate, ogni rappresentazione è stata realizzata sovrapponendo la rete in esame, all'insieme di neuroni del cervello che si sta attualmente considerando. Questa scelta consente di mantenere la coerenza spaziale tra le connessioni mostrate e la reale disposizione dei neuroni nel connettoma della *Drosophila*, sia nella larva che nell'adulto.

Nella Figura 4.18 è possibile osservare, per la *Drosophila* adulta, la rappresentazione del cervello in due diverse configurazioni, analogamente a quanto fatto in precedenza per la larva. Sul lato sinistro dell'immagine è mostrato l'insieme dei neuroni che costituiscono il cervello, mentre sulla destra è riportato il connettoma completo.

Come già evidenziato per la larva, anche per l'adulto è possibile confrontare la Figura 4.18 con la Figura 2.3, notando le somiglianze che sono indice di una rappresentazione accurata.

Anche per l'adulto sono stati individuati gli archi senza corrispettivo nei due emisferi, rappresentati, rispettivamente, nelle Figure 4.19 e 4.20. Analogamente a quanto osservato per la larva, le due immagini risultano complementari, poiché evidenziano gli archi presenti in un

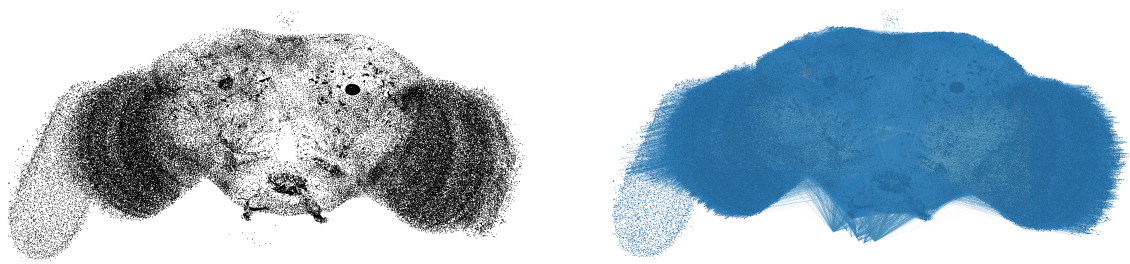


Figura 4.18: Cervello solo con i neuroni (a sinistra) e cervello con connessioni (a destra) dell'adulto

emisfero che non trovano corrispettivo nell'altro. Questo conferma la presenza di asimmetrie, suggerendo che anche nell'adulto vi siano differenze strutturali tra i due lati del cervello.

Nella Figura 4.21 è, invece, raffigurata la rete composta da tutti gli archi dei supernodi che hanno come corrispettivo un supernodo.

Così come per la larva, anche per l'adulto questa rete conserva una configurazione che suggerisce che il ruolo svolto dai supernodi con corrispettivo supernodo rimanga costante nella trasformazione da larva a adulto.

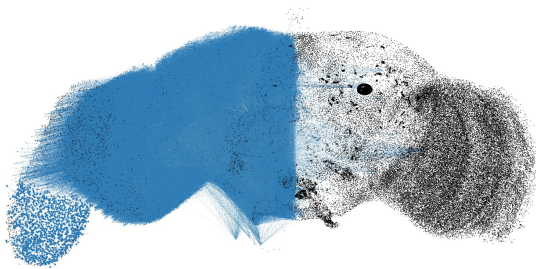


Figura 4.19: Archi senza corrispettivo dell'emisfero sinistro dell'adulto

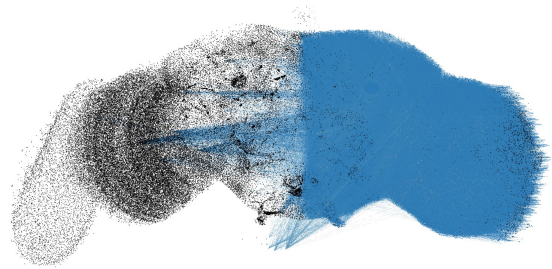


Figura 4.20: Archi senza corrispettivo dell'emisfero destro dell'adulto

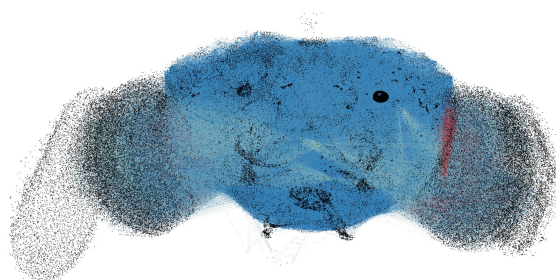


Figura 4.21: Rete dei supernodi aventi per corrispettivo un supernodo dell'adulto

La rete formata dai supernodi con corrispettivo supernodo potrebbe rappresentare una struttura di controllo e regolazione del connettoma della *Drosophila*. Essendo costituita dai neuroni con una corrispondenza tra i due emisferi, ovvero questa rete potrebbe fungere da coordinatore delle informazioni tra i due emisferi, come una sorta di organo regolatore.

In molte reti neurali, esistono delle sovrastrutture il cui compito è soprascedere allo scambio delle informazioni all'interno della rete. L'analisi di questa rete potrebbe fornire ulte-

riori indizi sulla funzione dei power neuron stessi, permettendoci di ottenere una maggiore comprensione.

Infine, nella Figura 4.22 è rappresentata la rete che combina gli archi senza corrispettivo dell'emisfero destro e dell'emisfero sinistro, integrata alla rete dei supernodi aventi come corrispettivo supernodo.

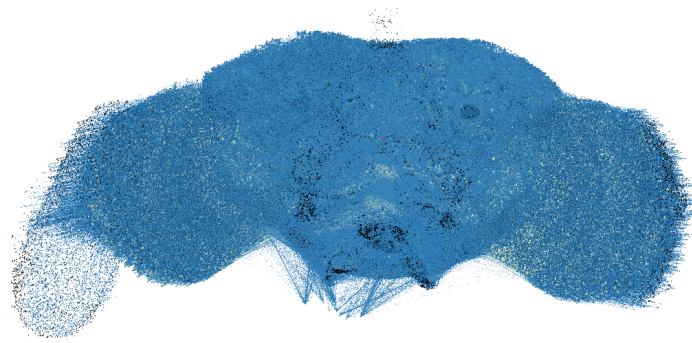


Figura 4.22: Emisfero destro - supernodi con corrispettivo - emisfero sinistro (Adulta)

Nella Tabella 4.5 vengono analizzate in dettaglio alcune informazioni delle diverse reti dell'adulta da noi sopra studiate, in particolare il numero di nodi ed il numero di archi.

	N° nodi	N° archi
Cervello	134.181	2.700.513
Emisfero destro	66.375	970.210
Emisfero sinistro	66.460	817.594
Supernodi con corrispettivo supernodo	71.424	424.800
Emisfero destro - supernodi con corrispettivo - emisfero sinistro	133.209	2.070.046

Tabella 4.5: Distribuzione dei nodi e degli archi dell'adulta

4.3.3 Archi senza corrispettivo appartenenti alle diverse aree della larva e dell'adulta

Una volta ottenuti gli archi senza corrispettivo della larva e dell'adulta, li abbiamo poi suddivisi per area.

Ad esempio, se consideriamo l'area ascending, per questa sono stati calcolati gli archi senza corrispettivo in due diverse configurazioni: "ascending - qualsiasi" e "ascending - ascending" per entrambi gli emisferi.

Nel caso di "ascending - qualsiasi" dell'emisfero sinistro (e analogamente per il destro), ci si riferisce a tutti gli archi senza corrispettivo presenti in quell'emisfero, a condizione che almeno uno dei due nodi appartenga alla categoria ascending.

In modo più specifico, nel caso "ascending - ascending", vengono considerati esclusivamente quegli archi senza corrispettivo in cui entrambi i nodi appartengono alla categoria ascending.

Questa distinzione permette di analizzare separatamente i casi in cui un solo nodo appartiene a una determinata categoria da quelli in cui entrambi i nodi condividono la stessa area, fornendo un quadro più dettagliato degli archi senza corrispettivo.

Nelle Figure 4.23 e 4.24 sono rappresentati gli archi senza corrispettivo in cui almeno uno dei due nodi è di tipo ascending, rispettivamente per l'emisfero destro e per l'emisfero sinistro.

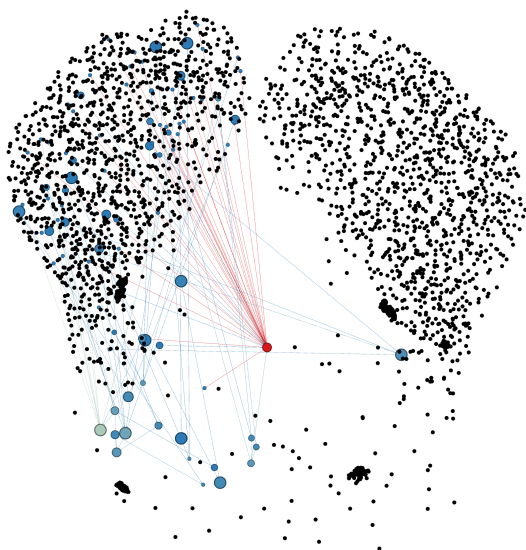


Figura 4.23: Emisfero destro larva: ascending - qualsiasi

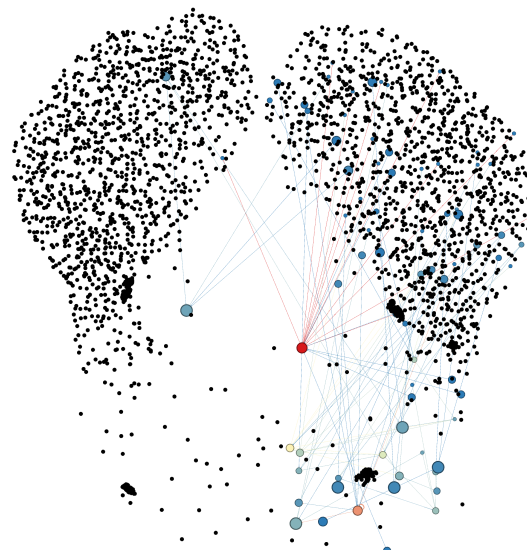


Figura 4.24: Emisfero sinistro larva: ascending - qualsiasi

Osservando la Figura 4.23, relativa all'emisfero destro, si nota che gli archi senza corrispettivo con almeno un nodo ascending si distribuiscono lungo l'intero emisfero, sebbene vi siano regioni più connesse. Alcuni nodi emergono con dimensioni maggiori e colori più intensi, indicando una maggiore centralità sia in termini di grado che di vicinanza ai nodi più connessi.

Analogamente, la Figura 4.24 rappresenta la stessa analisi per l'emisfero sinistro. La distribuzione degli archi senza corrispettivo mostra una configurazione simile a quella dell'emisfero destro, con connessioni diffuse ma concentrate attorno a specifici nodi più centrali.

Il confronto tra le due figure indica una certa simmetria nella distribuzione degli archi senza corrispettivo tra i due emisferi per i nodi di tipo ascending.

Nelle Figure 4.25 e 4.26 sono rappresentati gli archi senza corrispettivo in cui entrambi i nodi appartengono alla categoria ascending, rispettivamente per l'emisfero destro e per l'emisfero sinistro.

La Figura 4.25, relativa all'emisfero destro, mostra una struttura più compatta rispetto alla Figura 4.23, con un numero inferiore di connessioni. Gli archi senza corrispettivo che coinvolgono due nodi ascending tendono a concentrarsi in regioni più specifiche.

Similmente, la Figura 4.26 presenta lo stesso tipo di analisi per l'emisfero sinistro. Anche qui, rispetto alla configurazione "ascending - qualsiasi", si osserva una rete più ristretta e localizzata, con connessioni limitate a specifiche zone del connettoma. Questo potrebbe indicare che gli archi senza corrispettivo formati da due nodi ascending non siano distribuiti in maniera casuale, ma piuttosto seguano uno schema strutturale definito.

Il confronto tra le due figure mette in evidenza che gli archi senza corrispettivo tra due nodi ascending risultano più selettivi e concentrati, rispetto alla configurazione più generale in cui almeno un nodo è di tipo ascending, tendenza visibile in entrambi gli emisferi.

Analizziamo ora, le configurazioni "ascending - qualsiasi" e "ascending - ascending" per entrambi gli emisferi dell'adulto.

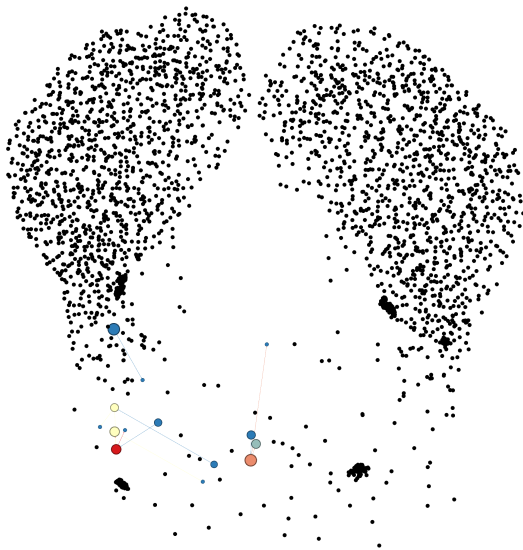


Figura 4.25: Emisfero destro larva: ascending - ascending



Figura 4.26: Emisfero sinistro larva: ascending - ascending

Nella Figura 4.27 è rappresentata la distribuzione degli archi senza corrispettivo dell'emisfero destro (in alto) e dell'emisfero sinistro (in basso) in cui almeno uno dei nodi appartiene alla categoria ascending. Come osservato precedentemente per la larva, anche nell'adulta questi archi si concentrano in specifiche regioni del cervello. La distribuzione spaziale di tali archi evidenzia il ruolo centrale dei neuroni ascending nella trasmissione dell'informazione tra diverse aree del connettoma.

Nella Figura 4.28, invece, sono raffigurati gli archi senza corrispettivo dell'emisfero destro (in alto) e dell'emisfero sinistro (in basso), questa volta considerando esclusivamente gli archi con neuroni appartenenti alla categoria ascending. Rispetto alla figura precedente, qui si nota una maggiore specificità nella disposizione degli archi, con una rete che appare molto più compatta.

La Tabella 4.6 riporta un confronto tra le proprietà della rete dei nodi ascending nella larva e nell'adulta, suddivisa per emisfero e per la sotto-rete dei soli nodi ascending-ascending. L'analisi di questi dati consente di individuare differenze significative nelle due fasi dello sviluppo.

	N° nodi	N° archi	Densità	Coefficiente di clustering
Larva - Emisfero destro - ascending - qualsiasi	91	96	0,012	0
Larva - Emisfero sinistro - ascending - qualsiasi	77	99	0,017	0,075
Larva - Emisfero destro - ascending - ascending	14	13	0,071	0
Larva - Emisfero sinistro - ascending - ascending	18	25	0,082	0,079
Adulta - Emisfero destro - ascending - qualsiasi	6.976	27.482	0,001	0,033
Adulta - Emisfero sinistro - ascending - qualsiasi	6.320	23.592	0,001	0,044
Adulta - Emisfero destro - ascending - ascending	642	1.309	0,003	0,073
Adulta - Emisfero sinistro - ascending - ascending	480	1.071	0,005	0,076

Tabella 4.6: Dati area ascending per la larva e per l'adulta nei due emisferi

Nella larva, il numero complessivo di nodi e archi è notevolmente inferiore rispetto all'adulta, riflettendo un connettoma più semplice e meno esteso. La densità della rete nella larva risulta sensibilmente più elevata, suggerendo che, pur avendo un numero ridotto di connessioni, i neuroni ascending tendono a formare una rete più compatta e coesa rispetto all'adulta, dove le connessioni risultano più distribuite. Questo si riflette anche nel coefficiente

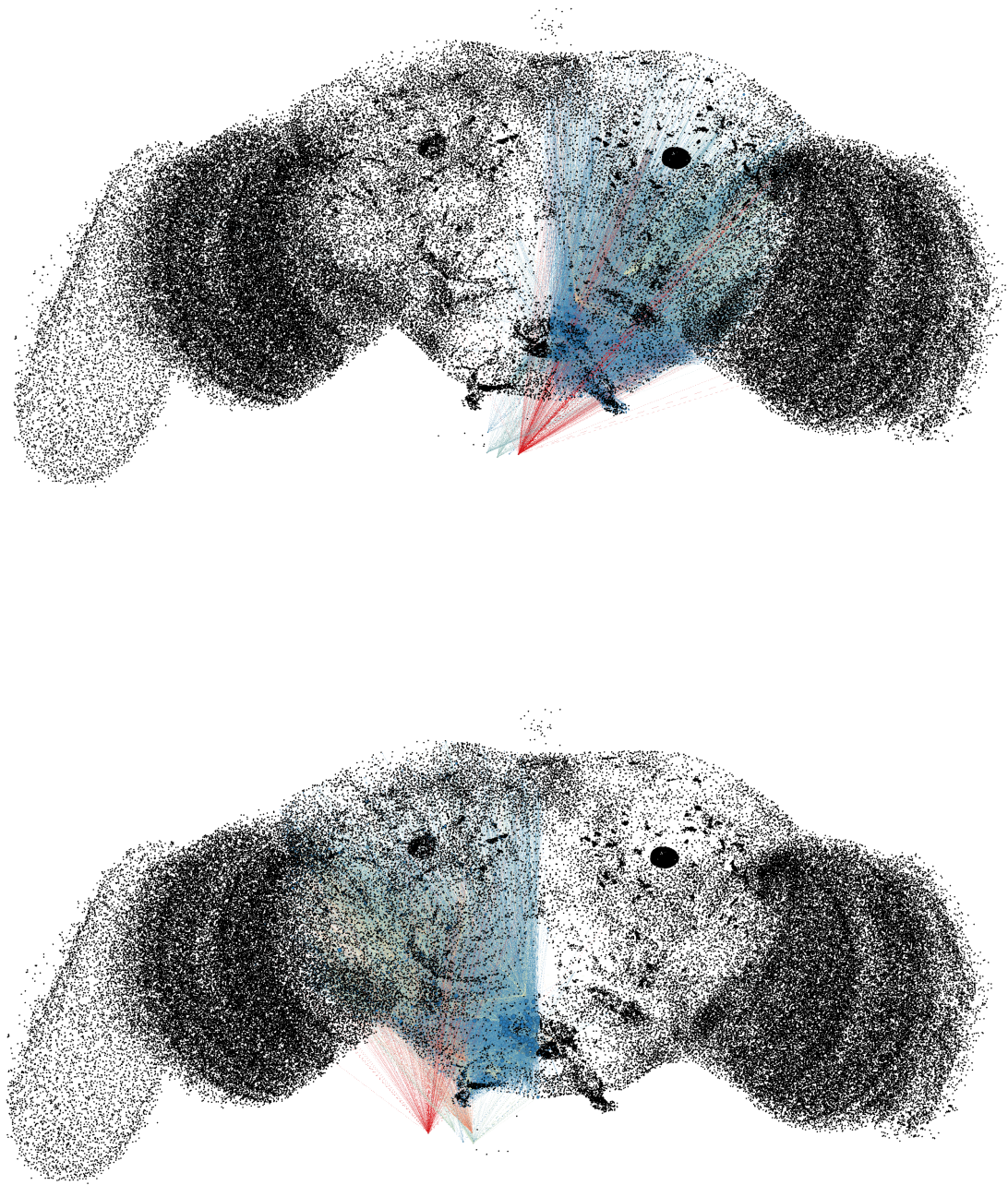


Figura 4.27: Adulta: ascending - qualsiasi (sopra l'emisfero destro, sotto l'emisfero sinistro)

di clustering, che nella larva è più elevato, specialmente nell'emisfero sinistro, segnalando la presenza di una maggiore tendenza alla formazione di gruppi locali di connessioni.

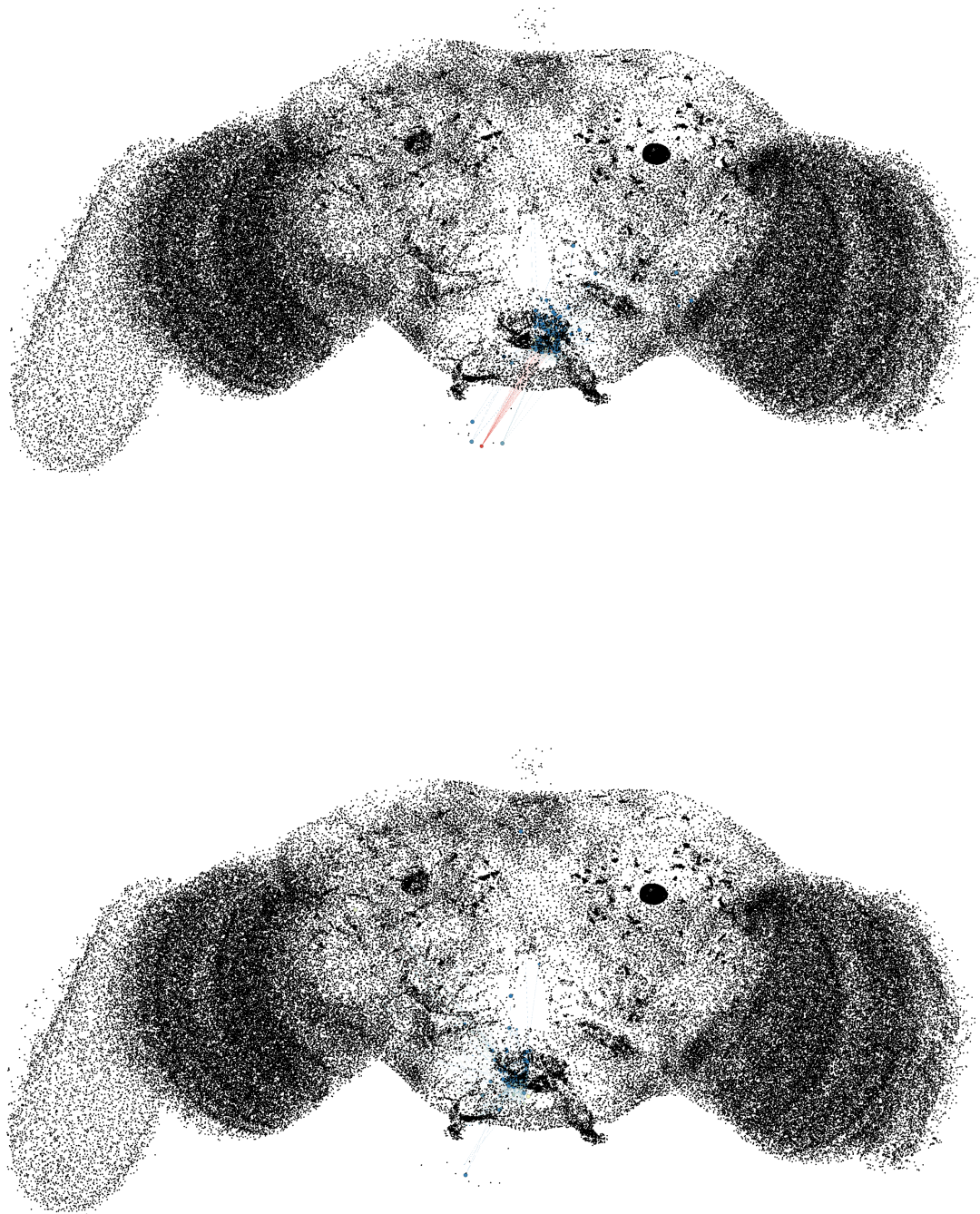


Figura 4.28: Adulta: ascending - ascending (sopra l'emisfero destro, sotto l'emisfero sinistro)

Nell'adulto, invece, si osserva una rete molto più ampia in termini di nodi e archi, ma con una densità ridotta, il che indica che la crescita del connettoma dell'area ascending non avvie-

ne con un semplice aumento proporzionale delle connessioni, bensì con una distribuzione più dispersa e specializzata. Anche il coefficiente di clustering varia in modo significativo: mentre nella rete ascending generale della larva è più alto, nell'adulto si mantiene a valori più bassi. Tuttavia, nella configurazione "ascending-ascending", il coefficiente di clustering cresce rispetto alla rete generale, indicando che le connessioni tra neuroni ascending tendono a formare strutture locali anche nell'adulto.

Questo confronto suggerisce che i nodi ascending subiscano una ristrutturazione significativa durante lo sviluppo, passando da una configurazione più compatta e localizzata nella larva a una più specializzata nell'adulto, con una maggiore complessità nella loro organizzazione.

Procediamo ora con l'analisi dell'area sensory, adottando la stessa metodologia utilizzata per l'area ascending. Dopo aver ottenuto gli archi senza corrispettivo sia per la larva che per l'adulto, li abbiamo suddivisi in quattro reti, distinte in base all'emisfero e alla configurazione dei nodi coinvolti.

Analogamente a quanto fatto per l'area ascending, anche per l'area sensory sono state individuate due configurazioni principali: "sensory - qualsiasi" e "sensory - sensory". Nella prima configurazione, vengono presi in considerazione tutti gli archi senza corrispettivo in cui almeno uno dei due nodi appartiene alla categoria sensory, mentre nella seconda vengono analizzati esclusivamente gli archi in cui entrambi i nodi appartengono a questa categoria.

L'analisi di queste configurazioni consente di approfondire la distribuzione e la struttura delle connessioni senza corrispettivo dell'area sensory, evidenziando eventuali differenze tra i due emisferi e tra le due fasi dello sviluppo.

Nelle Figure 4.29 e 4.30 sono rappresentati gli archi senza corrispettivo in cui almeno uno dei due nodi è di tipo sensory, rispettivamente per l'emisfero destro e per l'emisfero sinistro. La distribuzione di questi archi evidenzia l'importanza dell'area sensoriale, che si estende ampiamente lungo l'intero emisfero, con alcune regioni maggiormente connesse.

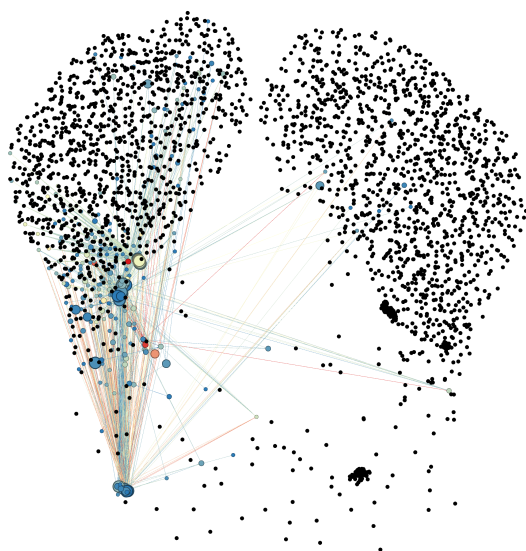


Figura 4.29: Emisfero destro larva: sensory - qualsiasi



Figura 4.30: Emisfero sinistro larva: sensory - qualsiasi

Nella Figura 4.29, relativa all'emisfero destro, si osserva un'elevata densità di connessioni tra nodi sensory e altre regioni del connettoma, mentre nella Figura 4.30, che rappresenta l'emisfero sinistro, il pattern risulta simile, seppur con leggere variazioni nella disposizione delle connessioni.

Il confronto tra le due figure mostra una certa simmetria nella distribuzione degli archi senza corrispettivo appartenenti alla area sensory, con differenze che potrebbero riflettere variazioni funzionali tra i due emisferi. Le connessioni tendono a concentrarsi attorno a nodi di grande dimensione e colore più intenso.

Nelle Figure 4.31 e 4.32 viene analizzata una configurazione più specifica: gli archi senza corrispettivo in cui entrambi i nodi appartengono alla categoria sensory. In questa configurazione, i nodi risultano distribuiti in maniera più selettiva, con connessioni concentrate in regioni ben definite del connettoma.

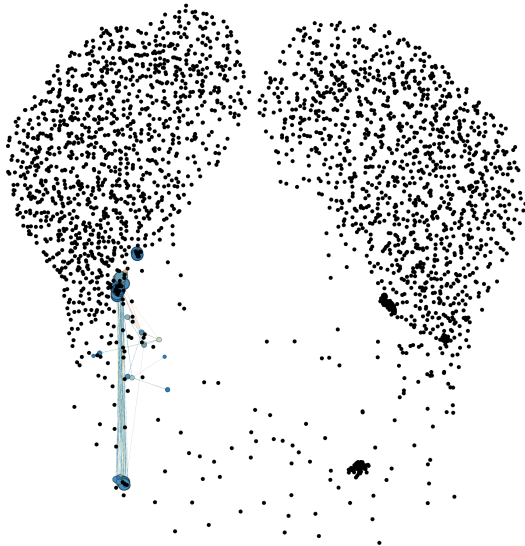


Figura 4.31: Emisfero destro larva: sensory - sensory



Figura 4.32: Emisfero sinistro larva: sensory - sensory

La Figura 4.31, che rappresenta l'emisfero destro, mostra una rete più densa rispetto alla Figura 4.29, ma con una disposizione più localizzata delle connessioni. Similmente, la Figura 4.32, relativa all'emisfero sinistro, conferma questa tendenza, con una riduzione del numero di archi rispetto alla configurazione "sensory - qualsiasi", ma con una maggiore compattezza.

Ora possiamo estendere l'analisi all'adulto, applicando lo stesso criterio di suddivisione degli archi senza corrispettivo per la categoria sensory.

Nella Figura 4.33 sono rappresentati gli archi senza corrispettivo dell'area sensory dell'adulto, suddivisi tra emisfero destro (in alto) ed emisfero sinistro (in basso). La configurazione "sensory - qualsiasi" mostra le connessioni in cui almeno uno dei due nodi appartiene alla categoria sensory. Rispetto alla larva, si nota una struttura più articolata e diffusa, con connessioni che si estendono maggiormente attraverso il cervello. Inoltre, la rappresentazione dell'adulto è stata leggermente ingrandita rispetto alla larva per garantire una migliore leggibilità della rete e delle connessioni. Osservando come sono distribuite le connessioni potremmo dire che i neuroni sensoriali dell'adulto possano essere coinvolti in un'integrazione di informazioni più estesa e complessa rispetto alla larva. Questa maggiore diffusione potrebbe riflettere la necessità dell'adulto di processare una gamma più ampia di stimoli ambientali.

Un aspetto particolarmente rilevante è la presenza di un fascio esterno di neuroni, comune sia nella larva che nell'adulto, che sembra evolversi in maniera coerente tra le due fasi dello sviluppo. Questo potrebbe indicare una struttura conservata con un ruolo chiave nella trasmissione delle informazioni sensoriali e nel processamento di stimoli provenienti dall'ambiente. Il fatto che questa caratteristica sia mantenuta tra larva e adulto suggerisce che la sua funzione sia cruciale per il funzionamento del connettoma della *Drosophila*. Potrebbe trattarsi di un'organizzazione deputata a integrare input sensoriali.

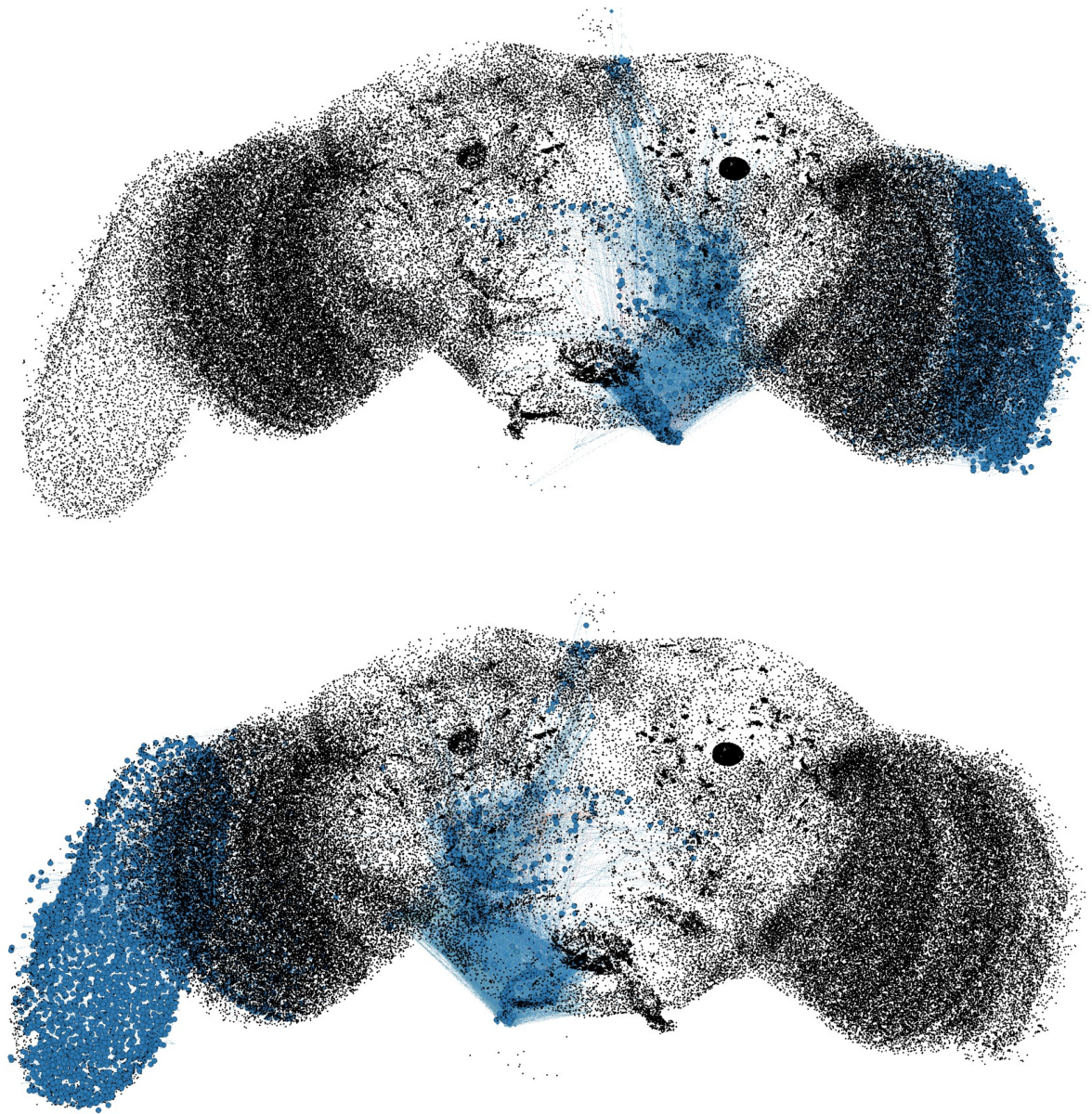


Figura 4.33: Adulta: sensory - qualsiasi (sopra l'emisfero destro, sotto l'emisfero sinistro)

Nella Figura 4.34 è mostrata la configurazione "sensory - sensory", in cui entrambi i nodi di ciascun arco senza corrispettivo appartengono alla categoria sensory. Anche in questo caso si osserva, analogamente a quanto riscontrato nella larva, come la rete appare più specializzata e localizzata, con connessioni che si concentrano in specifiche regioni del cervello. Il confronto con la larva evidenzia una maggiore complessità strutturale nell'adulto, con un'organizzazione più distribuita delle connessioni e una maggiore differenziazione delle aree coinvolte.

Infine, confrontando le due configurazioni "sensory - qualsiasi" e "sensory - sensory", si nota come i neuroni sensoriali non siano distribuiti casualmente, ma tendano a organizzarsi secondo schemi ben definiti. La configurazione "sensory - qualsiasi" mostra connessioni più eterogenee e diffuse, suggerendo un'interazione dei neuroni sensoriali con altre tipologie di neuroni. Al contrario, la configurazione "sensory - sensory" evidenzia come i neuroni

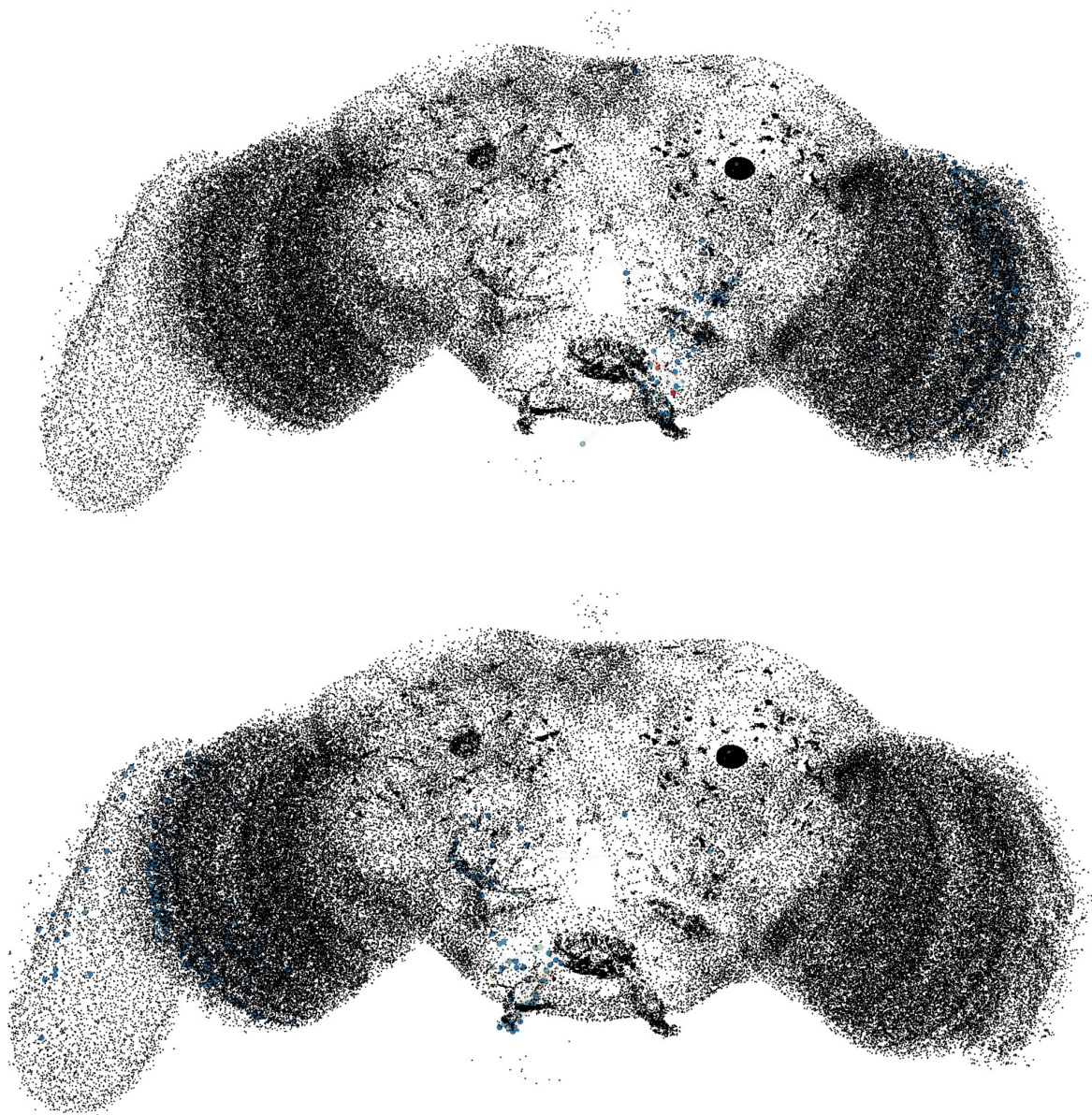


Figura 4.34: Adulta: sensory - sensory (sopra l'emisfero destro, sotto l'emisfero sinistro)

sensoriali formino anche reti più compatte e selettive tra loro, probabilmente per facilitare il processing di stimoli specifici.

L'insieme di queste osservazioni sottolinea come l'area sensory, sia nella larva che nell'adulto, segua principi di organizzazione che ne garantiscono un funzionamento ottimale, con un'evoluzione strutturale che accompagna il passaggio dallo stadio larvale a quello adulto. La maggiore complessità dell'adulto evidenziata da queste figure riflette la necessità di una maggiore capacità di elaborazione sensoriale, coerente con un comportamento più sofisticato nella fase adulta.

La Tabella 4.7 riporta i dati relativi alle reti degli archi senza corrispettivo appartenenti all'area sensory per entrambi gli emisferi della larva e dell'adulto. Come già osservato in precedenza, si è effettuata una distinzione tra la configurazione "sensory - qualsiasi", in cui almeno uno dei due nodi appartiene alla categoria sensory, e la configurazione "sensory -

sensory", in cui entrambi i nodi appartengono a questa categoria.

Nella larva, il numero di nodi e archi risulta nettamente inferiore rispetto all'adulto. La densità della rete nella larva si mantiene relativamente più alta, indicando che le connessioni tra i nodi sensory sono maggiormente concentrate e strutturate in sottogruppi. Questo aspetto si riflette anche nel coefficiente di clustering, che assume valori superiori rispetto a quelli dell'adulto, soprattutto nella configurazione "sensory - sensory", dove si osservano connessioni più strettamente interconnesse.

Nell'adulto, il numero di nodi e archi aumenta notevolmente, evidenziando una crescita significativa della rete. Tuttavia, la densità della rete si riduce, suggerendo che l'aumento delle connessioni avviene in modo più distribuito e meno concentrato. Il coefficiente di clustering, seppur più basso rispetto alla larva, resta comunque rilevante nella configurazione "sensory - sensory", indicando che le connessioni tra i neuroni sensory mantengono una certa tendenza a formare cluster locali.

Questo confronto suggerisce che la rete dell'area sensory subisce una profonda ristrutturazione tra la fase larvale e quella adulta, passando da una configurazione più compatta e densa a una più ampia e dispersa, con un aumento del numero di nodi e una riorganizzazione delle connessioni. Tale evoluzione potrebbe essere correlata a un diverso utilizzo delle informazioni sensoriali nelle due fasi dello sviluppo della *Drosophila*, riflettendo l'adattamento del sistema nervoso a funzioni più complesse nell'adulto.

	<i>N° nodi</i>	<i>N° archi</i>	<i>Densità</i>	<i>Coefficiente di clustering</i>
Larva - Emisfero destro - sensory - qualsiasi	410	1.322	0,008	0,048
Larva - Emisfero sinistro - sensory - qualsiasi	408	1.211	0,007	0,057
Larva - Emisfero destro - sensory - sensory	181	357	0,011	0,101
Larva - Emisfero sinistro - sensory - sensory	171	327	0,011	0,095
Adulto - Emisfero destro - sensory - qualsiasi	11.404	23.640	0	0,014
Adulto - Emisfero sinistro - sensory - qualsiasi	10.608	23.921	0	0,013
Adulto - Emisfero destro - sensory - sensory	650	502	0,001	0,026
Adulto - Emisfero sinistro - sensory - sensory	652	650	0,002	0,063

Tabella 4.7: Dati area sensory per la larva e per l'adulto nei due emisferi

Nel corso di questo lavoro, abbiamo condotto un'analisi approfondita del connettoma della *Drosophila melanogaster* con l'obiettivo di studiare il funzionamento dei neuroni non omologhi e comprendere meglio il loro ruolo.

Inizialmente, è stata svolta un'analisi esplorativa dei dati al fine di ottenere una visione d'insieme della struttura del connettoma. Durante questa fase, sono stati esaminati diversi parametri, come il numero di nodi e di archi, oltre alle misure di centralità, utili per valutare l'importanza dei neuroni nella rete per poi identificare i power neuron. Tali approfondimenti ci hanno permesso di comprendere meglio l'organizzazione dei connettomi e di individuare i primi elementi distintivi tra la larva e l'adulto.

Successivamente, sono stati dapprima identificati i neuroni senza corrispettivo, dei quali sono state analizzate la numerosità e le aree di appartenenza. Su di essi sono state, successivamente, effettuate diverse misurazioni, tra cui il grado di input e di output e il coefficiente di clustering, per caratterizzare le differenze tra neuroni omologhi e non.

Parallelamente, l'analisi dei motif ci ha fornito informazioni su come vengono gestiti ed elaborati i flussi di dati da questi particolari neuroni, evidenziando come evolva la gestione delle informazioni tra i neuroni con e senza corrispettivo nel passaggio dalla larva all'adulto.

Inoltre, l'analisi degli archi senza corrispettivo ha mostrato come, nonostante l'assenza di una corrispondenza tra emisferi, essi mantengano una certa simmetria. Le simmetrie osservate emergono in particolare tra nodi in cui almeno uno dei due neuroni non è omologo dell'altro, suggerendo che i neuroni stabiliscano connessioni ridondanti con altri neuroni della stessa area. Questo fenomeno potrebbe indicare un meccanismo volto a mantenere la connettività complessiva del cervello, garantendo il flusso di informazioni anche in caso di traumi o danni che compromettano le vie di comunicazione principali.

Possibili sviluppi futuri includono l'estensione di queste analisi a connettomi più complessi, con l'obiettivo di verificare se le caratteristiche osservate nella *Drosophila melanogaster* siano presenti anche in organismi con complessità superiore.

- BUHMANN, J., SHERIDAN, A., MALIN-MAYOR, C., SCHLEGEL, P. e GERHARD, S. (2021), «Automatic detection of synaptic partners in a whole-brain *Drosophila* electron microscopy data set», *Nature Methods*.
- DORKENWALD, S., MATSLIAH, A., STERLING, A. R., SCHLEGEL, P. e YU, S.-C. (2024), «Neuronal wiring diagram of an adult brain», *Nature*.
- ECKSTEIN, N., BATES, A. S., CHAMPION, A., DU, M. e YIN, Y. (2024), «Neurotransmitter classification from electron microscopy images at synaptic sites in *Drosophila melanogaster*», *Cell*.
- HEINRICH, L., FUNKE, J., PAPE, C., NUNEZ-IGLESIAS, J. e SAALFELD, S. (2018), «Synaptic Cleft Segmentation in Non-isotropic Volume Electron Microscopy of the Complete *Drosophila* Brain», in «Medical Image Computing and Computer Assisted Intervention – MICCAI 2018», .
- LIN, A., YANG, R., DORKENWALD, S., MATSLIAH, A. e STERLING, A. R. (2024), «Network statistics of the whole-brain connectome of *Drosophila*», *Nature*.
- MATSLIAH, A., YU, S.-C., KRUK, K., BLAND, D. e BURKE, A. T. (2024), «Neuronal parts list and wiring diagram for a visual system», *Nature*.
- RYAN, K., LU, Z. e MEINERTZHAGEN, I. A. (2016), «The CNS connectome of a tadpole larva of *Ciona intestinalis* (L.) highlights sidedness in the brain of a chordate sibling», *eLife*.
- SCHLEGEL, P., YIN, Y., BATES, A. S., DORKENWALD, S. e EICHLER, K. (2024), «Whole-brain annotation and multi-connectome cell typing of *Drosophila*», *Nature*.
- VERASZTÓ, C., JASEK, S., GÜHMANN, M., BEZARES-CALDERÓN, L. A. e WILLIAMS, E. A. (2024), «Whole-body connectome of a segmented annelid larva», *eLife*.
- WHITE, J. G., SOUTHGATE, E., THOMSON, J. N. e 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*.
- WINDING, M., PEDIGO, B. D., BARNES, C. L., PATSOLIC, H. G. e PARK, Y. (2023), «The connectome of an insect brain», *Science*.
- ZHENG, Z., LAURITZEN, J. S., PERLMAN, E., ROBINSON, C. G. e NICHOLS, M. (2018), «A Complete Electron Microscopy Volume of the Brain of Adult *Drosophila melanogaster*», *Cell*.

- FlyWire – <https://flywire.ai>
- Human Brain Project – <https://www.humanbrainproject.eu/>
- IBM – <https://www.ibm.com>
- Intel – <https://www.intel.com>
- Wikipedia – <https://www.wikipedia.org>

Ringraziamenti

Vorrei ringraziare il mio relatore, il Professore Domenico Ursino, per la sua guida durante il percorso di realizzazione di questa tesi; a lui sono estremamente grato per l'opportunità concessami e per la fiducia che mi è stata data, permettendomi di partecipare a questo progetto di ricerca.

Ringrazio anche i miei correlatori, per il loro contributo e supporto durante la redazione di questa tesi.

Un ringraziamento speciale va alla mia famiglia: ai miei genitori e a mio fratello, che mi sono stati sempre accanto, nel sostegno e nella comprensione.

Un pensiero affettuoso va anche a mia nonna, il cui affetto e supporto non sono mai mancati.

Infine, ringrazio anche i miei compagni di corso. La loro amicizia e il loro incoraggiamento sono stati un supporto fondamentale in questo viaggio.

A tutti voi va la mia più sincera gratitudine.