La sequenza di analisi illustrata nella sezione precedente è stata applicata su un campione di dati ottici ottenuti dal gruppo LENS di Firenze. I dati si presentano come una raccolta di immagini 100pixel x 100pixel distanziate da un passo temporale di 40ms (frequenza di campionamento 25Hz). Le immagini coprono un’area di 25 mm^2 (5mm \* 5mm) e offrono una prospettiva dall’alto sulla corteccia del topolino. Si vedono chiaramente buona parte dell’emisfero sinistro del topolino, il corpo calloso che collega gli emisferi e una piccola parte dell’emisfero destro; contornati da uno sfondo nero che è stato mascherato in fase di analisi poiché privo di informazioni sull’attività nervosa. I topolini sono stati anestetizzati con un mix di Ketamina e Xilazina in dosi, rispettivamente, di 100 e 10 mg/kg (milligrammi di medicinale per kg del soggetto).

Il segnale luminoso che si osserva è originato dalla proteina fluorescente CGaMP6f , ultrasensibile alla presenza del Calcio, e raccolto tramite la tecnica di wide-field microscopy ( o two-photon microscopy?) [Murakami 2015]. Infatti, così come in buona parte delle cellule dell’organismo, gli ioni Ca2+ generano un segnale intercellulare che determina una grande varietà di funzioni, l’attività neuronale provoca flussi molto rapidi di ioni Ca2+ intercellulari liberi (Chen 2013, Grienberger 2012).

Nei teminali presinaptici i flussi di calcio provocano la liberazione dei neurotrasmettitori contenuti nei vescicoli sinaptici.

A livello postsinaptico l’aumento transiente del livello di calcio nelle sinapsi dendritiche è essenziale in molte forme di plasticità sinaptica ([Zucker, 1999](https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0896627312001729" \l "bib328)).

Calcium ions (Ca2+) enter neurons during action potential (AP) firing and synaptic input. AP firing and synaptic inputs can therefore be assessed, sometimes quantitatively, by measuring changes in intracellular [Ca2+] ([**Yasuda et al., 2004**](http://www.jneurosci.org/content/32/40/13819#ref-85)).

Tra le proteine geneticamente codificate della famiglia CGaMP6 (ottenute assemblando proteine verdi fluorescenti (GFP), calmodulin e M13 [Chen 2013]) la CGaMP6f è quella che gode del miglior compromesso tra sensitività e velocità cinetica nella risposta alla presenza di Calcio. Infatti essa presenta una sensibilità e una velocità di risposta comparabili a quelle di un colorante sintetico di Calcio come l’ OGB1-AM. Tuttavia la proteina, geneticamente codificata è molto meno invasiva rispetto ai coloranti sintetici, che vengono iniettati direttamente nel tessuto cerebrale e sono poi difficili da smaltire per l’organismo (add ref ??) .

L’espressione genetica della CGaMP6f è pari al \*\*\* [Dana 2014], l’attività nervosa che si osserva tramite questa tecnica di imaging è dunque superiore alla metà di quella totale. Attenendoci ai risultati di densità di neuroni nella corteccia dei topolini [Schuz 1989] quello che registriamo per singolo pixel è un segnale di popolazione proveniente da circa \*\*\*\*\* neuroni. Del resto la scala temporale su cui osserviamo il fenomeno non consente di essere sensibili al singolo spike neurale (circa 2Hz \* numero neuroni) ma permette di osservare le modulazioni collettive nella frequenza di spiking dovute al passaggio delle onde delta. Il fenomeno in analisi avviene in un range di frequenze compreso tra 0.5 Hz e 4 Hz, ci aspettiamo dunque che risulti visibile anche con una frequenza di campionamento di 25 Hz (che per il teorema di Nyquist-Shannon permette di ricostruire i segnali in una banda fino a 12.5Hz) . D’altra sappiamo che il segnale di popolazione sarà convoluto con la funzione di trasferimento che intercorre tra la liberazione del calcio e il segnale di fluorescenza osservato; date le informazioni a nostra disposizione sui tempi di risposta [Chen 2013 fig.1 – 3], ci aspettiamo che la dinamica di oscillazione del segnale sia dominata dal tempo di risposta della funzione di trasferimento. Ne deduciamo , perciò, che una frequenza di campionamento più elevata risulterebbe poco utile.

Già ad occhio è possibile osservare una modulazione nell’intensità dei pixel delle immagini; lo scopo di questo lavoro è quello di quantificare questo segnale e osservare in esso una dinamica collettiva identificabile con il passaggio delle onde lente.