

ROZPRAWA DOKTORSKA

**Rozwój innowacyjnych eksperymentalnych
technik badawczych do przeprowadzania
mikrostymulacji i rejestracji aktywności
neuronów w mózgu oraz do pomiaru
przestrzennego rozkładu dawki
terapeutycznej w radioterapii fotonowej**

Autor:

mgr inż. Paweł JURGIELEWICZ

Promotor:

dr hab. inż. Bartosz MINDUR, prof. AGH

Drugi promotor:

dr hab. Ewa KUBLIK



**AKADEMIA GÓRNICZO-HUTNICZA
IM. STANISŁAWA STASZICA W KRAKOWIE**

Wydział Fizyki i Informatyki Stosowanej
Katedra Oddziaływań i Detekcji Cząstek

Maj, 2023

Deklaracja autorstwa

Oświadczenie autora rozprawy:

Oświadczam, świadomy odpowiedzialności karnej za poświadczenie nieprawdy, że niniejszą pracę doktorską wykonałem osobiście i samodzielnie, i że nie korzystałem ze źródeł innych niż wymienione w pracy.

Podpis autora:

Data:

Oświadczenie promotorów rozprawy:

Niniejsza rozprawa jest gotowa do oceny przez recenzentów.

Podpis pierwszego promotora:

Data:

Podpis drugiego promotora:

Data:

Streszczenie

Paweł JURGIELEWICZ

Rozwój innowacyjnych eksperymentalnych technik badawczych do przeprowadzania mikrostymulacji i rejestracji aktywności neuronów w mózgu oraz do pomiaru przestrzennego rozkładu dawki terapeutycznej w radioterapii fotonowej

Niniejsza praca łączy ze sobą dwa tematy badawcze na styku fizyki, biologii, medycyny oraz inżynierii oprogramowania. Pierwszy z nich dotyczy wdrożenia do fazy testów urządzenia *Neurostim-3*, dzięki któremu możliwa jest jednoczesna rejestracja oraz stymulacja aktywności mózgu z rozdzielczością pojedynczych komórek nerwowych. System ten udostępnia 512 niezależnych kanałów zoptymalizowanych pod kątem obsługi implantowanych do mózgu matryc wieloelektrodowych, dzięki czemu możliwe są eksperymenty *in vivo* z wysoką rozdzielczością przestrzenną i czasową. W ostatnich latach badania nad działalnością mózgu zostały zintensyfikowane, gdyż poznanie algorytmów, schematów i zależności między generowanymi sygnałami przez neurony pozwoliłoby rozwiązać wiele problemów m.in. osób dotkniętych paraliżem. W pracy przedstawiona jest ogólna charakterystyka działania *Neurostim-3* na poziomie jakości przetwarzania sygnałów przez układy elektroniczne, a także wyniki uzyskane na podstawie pomiarów *in vivo* na szczurach (w tym przypadku przede wszystkim starano się zaobserwować odpowiedź mózgu zwierzęcia na generowane przez system *Neurostim-3* impulsy prądowe).

Druga część pracy prezentuje system *Dose-3D*. Jego celem jest precyzyjne określenia dawki pochłoniętego promieniowania na potrzeby planowania i weryfikacji terapii chorób nowotworowych. Ze względu na złożoność oddziaływań promieniowania z materią proces ten jest trudny do precyzyjnego symulowania, zwłaszcza w tak złożonym środowisku, jakim jest ludzkie ciało. Na łamach pracy przedstawiono urządzenie, które ma pozwalać na wielokanałowy odczyt przestrzennego rozkładu dawki w tkankopodobnym fantomie zbudowanym ze scyntylacyjnego materiału. Sukces realizacji tego projektu jest przede wszystkim uzależniony od uzyskania liniowości odpowiedzi systemu rejestrującego w funkcji zaabsorbowanej dawki promieniowania. W tym przypadku pokazano działanie poszczególnych komponentów *Dose-3D*, które warunkują poprawność generowanych danych na podstawie rejestrowanych sygnałów wejściowych.

Wspomniane systemy do pracy wymagają ponadto oprogramowania umożliwiającego wygodne i poprawne przeprowadzanie procedur pomiarowych. W tym aspekcie zaproponowano rozwiązania oparte o język programowania *Python*. W obu przypadkach wykorzystano techniki przetwarzania współbieżnego dla maksymalizacji wydajności programów sterujących. Dzięki możliwościom, które pojawiły się stosunkowo niedawno, zaproponowano kilka nowatorskich rozwiązań, które mogą dodatkowo usprawnić wykorzystanie procesora.

Abstract

Paweł JURGIELEWICZ

Development of innovative experimental research techniques enabling microstimulation and brain activity recording as well as measurements of spatial therapeutic dose distribution in the case of photon radiotherapy

This work combines two research topics at the intersection of physics, biology, medicine and software engineering. The first of them concerns the implementation of the *Neurostim-3* device into the testing phase. It was designed to simultaneously record and stimulate brain activity with the resolution of individual neurons. This system provides 512 independent channels optimized to support brain-implanted multi-electrode arrays, enabling high-resolution (both spatial and temporal) *in vivo* experiments. In recent years, brain research has been intensified because learning about algorithms, schemes and dependencies between neurons could solve many problems (including those of paralyzed people). The thesis presents the general characteristics of *Neurostim-3* at the level of signal processing quality within electronics, as well as the results obtained on the basis of *in vivo* measurements on rats. In this case, the main goal was to observe the response of the animal's brain to the current pulses generated by the *Neurostim-3* system.

The second part of the work presents the *Dose-3D* system. Its goal is to enable precise absorbed radiation dose spatial distribution determination for the purposes of planning and verification of cancer radiotherapy. Due to the complexity of the interactions of radiation with matter, this process is difficult for accurate simulation, especially in such a complex environment as a human body. The thesis presents the device that is measuring spatial dose distribution using the multi-channel approach in a tissue-like phantom made of scintillation material. This project's success primarily depends on obtaining the linear response of the recording system with the absorbed radiation dose. Here the operation of the individual basic components of the system is shown. Brought together they guarantee the correctness of the generated data based on the recorded input signals.

The systems above also require software that enables the decent and correct conduction of measurement procedures. In this regard, there have been proposed solutions based on the *Python* programming language. In both cases concurrent processing techniques were employed to maximize processing efficiency. However, thanks to opportunities that have emerged relatively recently, it was decided to implement them using a few innovative approaches to improve CPU resource utilization.

Podziękowania

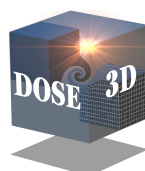
Niniejsza rozprawa doktorska została wykonana w ramach Programu Operacyjnego Wiedza Edukacja Rozwój, nr projektu *POWR.03.02.00-00-I004/16*, współfinansowanego ze środków Unii Europejskiej.



Budowa systemu pomiarowego opartego o układ scalony *Neurostim-3* była współfinansowana ze środków pochodzących z grantu Symfonia Narodowego Centrum Nauki (identyfikator grantu *UMO-2013/08/W/NZ4/00691*).



Projekt *POIR.04.04.00-00-15E5/18 (Dose-3D)* jest prowadzony w ramach programu “TEAM-NET” Fundacji na rzecz Nauki Polskiej i współfinansowany przez Fundusz Rozwoju Regionalnego Unii Europejskiej.



Special thanks goes to Sam Gross, Larry Hastings and many others who dared to try to lift standard *CPython* limitations by spending their personal time in order to improve *Python* coding & overall user experience. As the Author of this thesis, I feel honoured to be a part of that process by building the complete data acquisition system on top of the *nogil CPython* implementation.

Spis treści

Deklaracja autorstwa	III
Streszczenie	V
Podziękowania	IX
Spis treści	XI
Wstęp	XV
1 Fizyczne i praktyczne podstawy pomiarów biologicznych	1
1.1 Funkcjonowanie tkanki nerwowej	2
1.1.1 Budowa neuronu	2
1.1.2 Metody rejestracji aktywności mózgu	4
1.1.2.1 Elektroencefalografia	5
1.1.2.2 Magnetyczny rezonans jądrowy	7
1.1.2.3 Elektrody oraz sondy wieloelektrodowe	9
1.1.3 Wybrane wyzwania elektrofizjologii	11
1.1.3.1 Rejestracja potencjałów zewnątrzkomórkowych	11
1.1.3.2 Impedancja elektrod	12
1.1.3.3 Efektywna stymulacja tkanki nerwowej	13
1.1.3.4 Zastosowania	16
1.1.3.5 Etyka	16
1.2 Radioterapia przeciwnowotworowa	18
1.2.1 Promieniowanie jonizujące	18
1.2.1.1 Oddziaływanie promieniowania fotonowego z materią	20
1.2.1.2 Źródła promieniowania	21
1.2.2 Wielkości dozymetryczne i planowanie leczenia	23
1.2.2.1 System radioterapeutyczny na przykładzie <i>TrueBeamTM</i> firmy <i>Varian</i>	26
1.2.3 Metody detekcji promieniowania	28
1.2.3.1 Scyntylatory	28
1.2.3.2 Fotopowielacze	30
1.2.3.3 Elektronika odczytu	33
1.3 Podsumowanie	35

2	Architektury sprzętowe systemów pomiarowych	37
2.1	Architektura systemu do badań elektrofizjologicznych – <i>Neurostim-3</i>	38
2.1.1	Karta zbiorcza	40
2.1.2	Płytki pomiarowe i układ <i>Neurostim-3</i>	43
2.2	Architektura systemu do pomiarów rozkładu dawki pochłoniętej – <i>Dose-3D</i>	48
2.2.1	Budowa i działanie <i>Jednostki Akwizycji Danych</i>	50
2.2.1.1	Przetwarzanie danych analogowych	55
2.2.1.2	Zarządzanie przepływem danych	57
2.3	Podsumowanie	59
3	Architektura oprogramowania	61
3.1	(C)Python	62
3.1.1	Kod bajtowy i moduły	63
3.1.2	Zarządzanie pamięcią i Globalna Blokada Interpretera	65
3.1.2.1	Próby usunięcia Globalnej Blokad Interpretera	69
3.2	Oprogramowanie – <i>Neurostim-3</i>	73
3.2.1	Protokół komunikacji z <i>Neurostim-3</i>	73
3.2.1.1	Dodatkowe własności	75
3.2.2	Architektura oprogramowania	76
3.2.2.1	Interfejs użytkownika	79
3.2.2.2	Potok przetwarzania danych w systemie	80
3.2.2.3	Wizualizacja danych	86
3.2.2.4	Tryb próbkowania o wysokiej częstotliwości	90
3.3	Oprogramowanie – <i>Dose-3D</i>	94
3.3.1	Protokół komunikacji z <i>Jednostkami Akwizycji Danych</i>	94
3.3.1.1	Relacje między modułami <i>XFCP</i>	96
3.3.2	Architektura oprogramowania	98
3.3.2.1	Uruchomienie pomiaru	100
3.3.2.2	Menadżer Pomiaru	103
3.4	Podsumowanie	106
4	Badania – wyniki, analiza i omówienie	109
4.1	System <i>Neurostim-3</i>	110
4.1.1	Oprogramowanie akwizycji danych	110
4.1.2	Charakterystyka sprzętu	114
4.1.2.1	Szumy	115
4.1.2.2	Stymulacja prądowa	117
4.1.2.3	Filtracja sygnałów	120
4.1.2.4	Pomiar impedancji elektrod	122
4.1.2.5	Liniowość i jednorodność wzmocnienia	123
4.1.3	Eksperymenty biologiczne <i>in vivo</i>	127
4.1.3.1	Aktywność spontaniczna	127
4.1.3.2	Polowe potencjały wywołane stymulacją dotykową	129

4.1.3.3	Polowe potencjały wywołane stymulacją elektryczną generowaną przez <i>Neurostim-3</i>	131
4.1.3.4	Potencjały czynnościowe wywołane stymulacją elektryczną generowaną przez <i>Neurostim-3</i>	135
4.2	System <i>Dose-3D</i>	140
4.2.1	Oprogramowanie	140
4.2.2	Charakterystyka sprzętu	143
4.2.2.1	Próg odpowiedzi na sygnał wejściowy	143
4.2.2.2	Selektywność kanałów	147
4.2.2.3	Sygnał analogowy generowany przez <i>MAROC 3A</i>	148
4.2.2.4	Liniowość wzmocnienia	149
4.2.2.5	Poziom bazowy i kalibracja toru pomiaru napięcia	151
4.2.3	Testy prototypu systemu <i>Dose-3D</i> z wykorzystaniem akceleratora <i>TrueBeamTM</i> w Narodowym Instytucie Onkologii w Krakowie	154
4.2.3.1	Selektywność odpowiedzi w polu promieniowania akceleratora	156
4.2.3.2	Odpowiedź w funkcji napięcia zasilającego fotopowielacza	158
4.2.4	Analiza widma energetycznego uzyskiwanego w pomiarach	159
4.2.5	Odpowiedź w funkcji mocy dawki promieniowania rentgenowskiego generowanego w akceleratorze <i>TrueBeamTM</i>	161
4.3	Podsumowanie	164
4.3.1	System <i>Neurostim-3</i>	164
4.3.1.1	Spostrzeżenia	165
4.3.2	System <i>Dose-3D</i>	166
4.3.2.1	Spostrzeżenia	166
	Podsumowanie	169
	Bibliografia	173
	A Wykorzystane oprogramowanie	185
A.1	System <i>Neurostim-3</i>	185
A.2	System <i>Dose-3D</i>	186
	B Wkład Autora	189
	C Spis rysunków	193
	D Spis tabel	199
	E Spis skrótów	201

Wstęp

Skuteczność opieki medycznej często określana jest przez wzrost średniej długości życia społeczeństw. Skoncentrowanie uwagi na przedłużaniu życia, zamiast na podnoszeniu jego jakości jest jednak działaniem powierzchownym i krótkowzrocznym w gruncie rzeczy obciążającym społeczeństwo pod każdym możliwym kątem [1]. Dzisiaj, gdy średnia długość życia na świecie uległa znacznemu wydłużeniu¹ (głównie dzięki szczepionkom [3, 4] oraz świadomości dotyczącej podstawowej higieny [5]), medycyna musi się mierzyć z chorobami, które są specyficzne dla bogatych i starzejących się społeczeństw (np. choroby neurodegeneracyjne czy nowotworowe).

Dla przykładu pacjenci z otępieniem, czy z paralizem czterokończynowym (tzw. *tetraplegią*, np. po wypadkach komunikacyjnych), nie są w stanie funkcjonować bez ciągłej pomocy udzielanej przez innych. W tym czasie każda z tych osób jest wyłączona z życia gospodarczego, efektywnie stanowiąc obciążenie dla ekonomii². Zrozumienie mechanizmów funkcjonowania mózgu jest konieczne dla wdrażania skutecznych metod profilaktyki chorób neurologicznych i psychicznych oraz dla usprawniania działania uszkodzonego układu nerwowego. Znamiennym przykładem jest sytuacja osób sparaliżowanych, które zachowują pełnię funkcji poznawczych, ale nie mogą ich realizować ze względu na brak komunikacji między centralnym a obwodowym układem nerwowym. Wykorzystanie informacji generowanych w mózgu pacjenta bezpośrednio do sterowania urządzeniami mogłoby przywrócić im znaczną samodzielność życia oraz umożliwić wykonywanie pracy zawodowej. Do tego potrzebne jest przygotowanie systemów precyzyjnie monitorujących aktywność pojedynczych neuronów i ich populacji, a także zrozumienie implementowanych przez nie algorytmów przetwarzania informacji.

Z wiekiem znacznie rośnie prawdopodobieństwo zachorowania na nowotwór, także układu nerwowego [8]. Im wcześniejsze wykrycie oraz rozpoczęcie terapii, tym większa szansa wyleczenia. Jednak kuracja zawsze jest procesem długotrwałym i kosztownym [9, 10], a jej skuteczność zależy od wielu czynników w tym od trafności przygotowanego planu leczenia. W przypadku radioterapii, która wykorzystuje wysokoenergetyczne promieniowanie do niszczenia nieprawidłowych komórek, nieodzownym jest możliwość sprawdzenia, czy zaproponowany schemat postępowania będzie właściwy dla sytuacji danego pacjenta. Jest to etap niezwykle istotny z uwagi na złożoną naturę oddziaływania promieniowania z materią, przy tym trudny do dokładnego symulowania czy pomiaru nawet z wykorzystaniem humanoidalnego fantomu.

¹W 2019 roku średnia długość życia człowieka uśredniona ze wszystkich krajów bez rozróżnienia na płeć wyniosła 73 lata. W tym samym roku w Polsce wartość ta dla kobiet i mężczyzn wynosiła odpowiednio ~82 i ~74 lata [2].

²Jeśli opieka nad osobą ze znacznym stopniem niepełnosprawności zapewniana jest przez rodzinę, nie można też zapomnieć o dodatkowym obciążeniu psychicznym tych osób, które w skrajnych przypadkach może prowadzić do samobójstw [6, 7].

Powstanie niniejszej pracy jest motywowane chęcią opracowania i przetestowania, w odpowiedzi na zarysowane powyżej wyzwania, efektywnych i wygodnych systemów odczytu sygnałów związanych z podawaniem do tkanek zoptymalizowanych dawek energii. Opisane efekty badań nie pozwolą bezpośrednio rozwiązać wspomnianych wyżej problemów ogólnych. Stanowią jednak kolejny krok, na podstawie którego można budować bardziej złożone eksperymenty i pomiary, których celem będzie:

- zrozumienie protokołów działania mózgu, dzięki którym możliwa stanie się komunikacja dwukierunkowa z maszynami wspomagającymi lub rozszerzającymi naturalne możliwości człowieka;
- zmaksymalizowanie szans na wyleczenie choroby nowotworowej za pomocą spersonalizowanej radioterapii, optymalizowanej na podstawie estymacji przestrzennego rozkładu promieniowania w organizmie pacjenta.

Na łamach pracy zostały opisane dwa systemy pomiarowe, nad których rozwojem w pewnych aspektach pracowano w ramach doktoratu (szczegółowy opis indywidualnego wkładu Autora można znaleźć w Dodatku). Są to urządzenia całkowicie różniące się od siebie na poziomie fizycznych podstaw rejestrowanych sygnałów. Z drugiej jednak strony, zważywszy na wielokanałową naturę tych rozwiązań, oba pozwalają eksplorować meandry współbieżnego przetwarzania danych, co jest możliwe dzięki współczesnym komputerom wyposażonym w wiele jednostek obliczeniowych. W każdym przypadku zaproponowane przez Autora oprogramowanie akwizycji danych napisane zostało (niemal) całkowicie w języku *Python*, przecząc tym samym tezie, że nie nadaje się on do zadań wymagających obliczeniowo. Przy czym każde z nich charakteryzuje się zastosowaniem całkowicie odmiennych rozwiązań umożliwiających efektywne generowanie, przetwarzanie i zapis danych w czasie rzeczywistym. Takie podejście podyktowane było głównie przez potrzeby indukowane w warstwie komunikacji z zarządzającym ich pracą komputerem. Ponadto, wiązało się z koniecznością zgłębienia technicznych aspektów języka programowania, ograniczeń i sposobów ich ominięcia. Co w przypadku jednego z opisywanych systemów zakończyło się zastosowaniem nowatorskiego rozwiązania, które ma szansę zmienić postrzeganie oraz sposób pisania oprogramowania w języku *Python* w przyszłości.

Struktura pracy nawiązuje do współbieżnego charakteru przetwarzania danych w opisywanych systemach. Każdy z czterech rozdziałów skupia się na pewnym aspekcie związanym z ich działaniem, przy czym pierwsza sekcja w każdym z nich dotyczy badań elektrofizjologicznych, zaś druga radioterapii³. W rozdziale pierwszym przedstawiono podstawowe, fizyczne i biologiczne informacje dotyczące badanych układów oraz elektroniczne podstawy odczytu istotnych sygnałów generowanych w tych układach. Informacje tam zebrane pozwalają poznać kontekst i podstawy działania opisywanych później urządzeń. W żadnym jednak wypadku nie stanowią wykładu z dziedziny elektrofizjologii czy detekcji promieniowania – więcej wartościowych informacji można odnaleźć w przytaczanych referencjach⁴. Następnie przedstawione zostały architektury sprzętowe opisywanych systemów. Pokazano schematy ideowe eksperymentów oraz potoki przetwarzania danych implementowanych przez układy elektroniczne.

³Odstępstwem jest rozdział trzeci, którego początek poświęcony jest rozważaniom historycznym, teoretycznym i praktycznym w zakresie tworzenia efektywnego kodu w języku *Python*.

⁴Autor co prawda jest fizykiem z wykształcenia, ale zawsze bliżej mu było do roli programisty.

Trzeci rozdział został poświęcony szczegółowemu opisowi zaimplementowanego oprogramowania, dzięki któremu jest możliwe przygotowanie, przeprowadzenie oraz analiza pomiarów. Zwieńczeniem teoretycznych rozważań jest rozdział czwarty, w którym zawarto przedstawienie wyników otrzymanych na podstawie:

- obciążenia oprogramowania wieloma jednoczesnymi zadaniami,
- testów jakości przetwarzania danych przez same układy elektroniczne w ściśle kontrolowanych warunkach laboratoryjnych,
- pilotażowych pomiarów wykorzystujących pełne możliwości obu omawianych systemów, w docelowych warunkach.

Te ostatnie są szczególnie interesujące z tego względu, że na ich podstawie można się przekonać o tym, czy cała koncepcja oraz wykonanie projektów, na co poświęcono kilka lat prac całych zespołów badawczych, jest poprawne i umożliwia działanie zgodne z założeniami.

Rozdział 1

Fizyczne i praktyczne podstawy pomiarów biologicznych

Przedstawiane na łamach niniejszej pracy urządzenia i systemy pomiarowe mają wspólną cechę – pośrednio lub bezpośrednio znajdują zastosowanie w badaniach biologicznych i medycznych. Jedno z nich pozwala odczytywać stosunkowo niewielkie zmiany potencjału elektrycznego generowanego przez żywe tkanki w czasie ich fizjologicznej aktywności. Natomiast zadaniem drugiego jest wspomaganie procesu planowania leczenia pacjentów z chorobami onkologicznymi, którzy mają być poddani naświetlaniu wysokoenergetycznymi wiązkami promieniowania. Działanie tych urządzeń oparte jest o wykorzystanie elementarnych zjawisk fizykochemicznych, które warunkują możliwe sposoby implementacji. W praktyce jednak zjawiska te ulegają znacznym komplikacjom, wskutek wtórnych oddziaływań elektromagnetycznych zależnych od kompozycji pobliskich tkanek. W efekcie uzyskanie powtarzalnych i jednoznacznych wyników oraz ich właściwa interpretacja nie jest trywialnym zadaniem. Często taka interpretacja wymaga wykorzystanie dodatkowych technik pomiarowych, które dostarczyłyby komplementarnych informacji. Niejednokrotnie oznacza to, że trzeba wytworzyć odpowiednie urządzenie, które by to umożliwiło, od podstaw.

Rozdział ten ma na celu przybliżenie Czytelnikowi w fundamentalnym zakresie zjawisk elektrofizjologicznych oraz oddziaływania promieniowania jonizującego z materią, z naciskiem na te aspekty, które są szczególnie ważne z punktu widzenia opisywanych projektów. Znaleźć można tutaj również opisy technik komplementarnych, które rzucają dodatkowe światło na istotę problemów badawczych.

1.1 Funkcjonowanie tkanki nerwowej

Żywe komórki charakteryzują się występowaniem niezerowego, zazwyczaj ujemnego potencjału błony komórkowej (polaryzacja błony komórkowej) [11]. Za ujemny ładunek wewnątrz komórki odpowiada duże stężenie anionów organicznych oraz różnica stężeń jonów m.in. sodu, potasu, chloru i wapnia między płynem wewnątrzkomórkowym a zewnątrzkomórkowym. W niektórych typach komórek różnica potencjałów umożliwia powstawanie i przesyłanie sygnałów elektrycznych w obrębie i między komórkami. Przykładem takich komórek są neurony. Ich funkcjonowanie oparte jest o prawidłowy przebieg procesów elektrochemicznych w obrębie błony komórkowej, dzięki którym przetwarzają oraz przekazują informacje zakodowane w postaci impulsów nerwowych, czyli zmian potencjału. W warunkach równowagi, gdy metabolizm komórki pozostaje stały oraz jeśli na błonę komórkową nie działają żadne bodźce zewnętrzne, średnia wartość potencjału spoczynkowego neuronu $U_0 = -70$ mV. Błona komórkowa nie jest szczelna, zawiera struktury białkowe umożliwiające bierny lub aktywny transport jonów. Wynikiem działania aktywnego, czyli wymagającego energii, mechanizmu tzw. *pompy sodowo-potasowej*¹ jest utrzymanie wewnątrz neuronów wysokiego stężenia jonów K^+ przy jednoczesnym małym stężeniu jonów Na^+ . Poza tym w błonie występują kanały pozwalające na swobodny (zgodny z gradientem stężenia i napięcia) przepływ jonów z i do wnętrza komórki. Część z nich, związana z mechanizmem receptorowym otwiera się po zadziałaniu odpowiedniego czynnika chemicznego (tzw. ligandu, np. neuroprzekaźnika); inne otwierają się i zamykają w zależności od aktualnego napięcia na błonie komórki. Razem odpowiadają za funkcjonalne zmiany potencjału błonowego i tym samym za przetwarzanie oraz przekazywanie informacji w neuronach i między nimi.

1.1.1 Budowa neuronu

Neurony, jak wszystkie komórki, składają się ciała komórkowego (soma) oraz dwóch rodzajów wypustek: licznych i rozgałęzionych dendrytów, oraz pojedynczego aksonu, które odpowiednio przenoszą bodźce do oraz z ciała neuronu (Rys. 1.1). Długość większości aksonów przyjmuje wartości ~ 1 mm, a najdłuższe łączące rdzeń kręgowy z mięśniami z łatwością przekraczają 1 m [11].

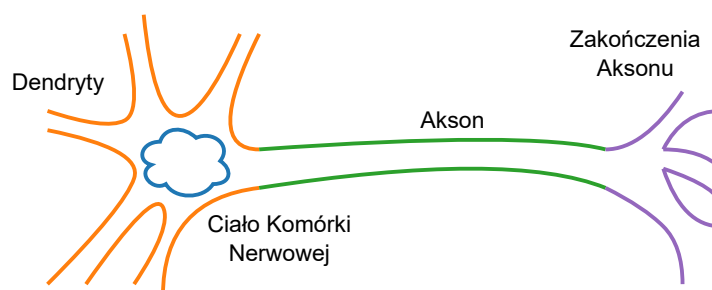
Komunikacja pomiędzy komórkami nerwowymi zachodzi poprzez tzw. synapsy elektryczne i chemiczne [14]. Te pierwsze umożliwiają dwukierunkową komunikację między neuronami dzięki bezpośredniemu połączeniu dwóch sąsiednich komórek. Natomiast w centralnym układzie nerwowym dominuje drugi typ synaps, czyli chemiczne. W przeciwieństwie do synaps elektrycznych cechują się przewodzeniem informacji w jednym kierunku. Stąd neuron, z którego pochodzi impuls elektryczny, nazywany jest neuronem *presynaptycznym*, zaś po drugiej stronie tego połączenia znajduje się neuron *postsynaptyczny*.

Bodziec, czyli pobudzenie elektryczne oddziałujące na ciało komórki nerwowej wygenerowane w odpowiedzi na zmianę zachodzącą wewnątrz niej lub jej otoczeniu², (lub superpozycja

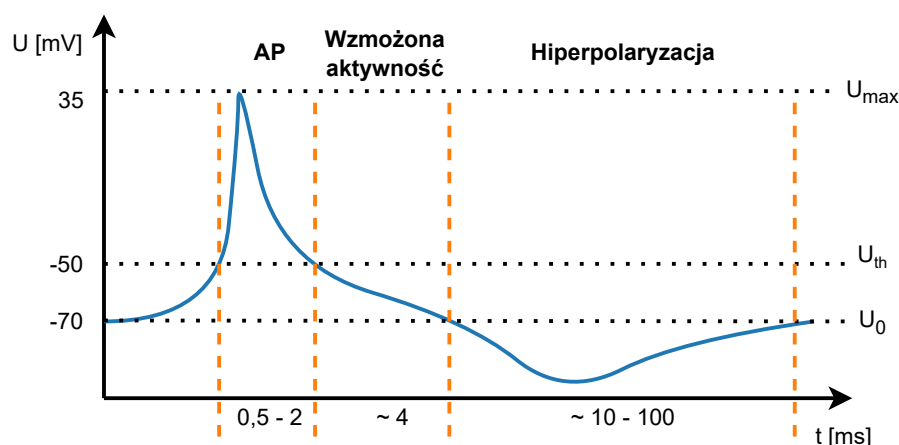
¹Za to odkrycie Jens C. Skou w 1997 roku został uhonorowany Nagrodą Nobla w dziedzinie chemii [12, 13].

²Może to być zmiana np. ciśnienia tętniczego, temperatury otoczenia czy wrażenia akustyczne.

czasowa i przestrzenna bodźców) doprowadza do otwarcia kanałów jonowych w błonie komórkowej i w efekcie stan ładunkowy między wnętrzem a zewnątrz komórki ulega zmianie $U_{int}(t) > -70$ mV. W przypadku depolaryzacji, po przekroczeniu potencjału progowego ciała neuronu $U_{th} > -50$ mV w miejscu inicjacji na tzw. wzgórku aksonowym następuje otwarcie szybkich kanałów sodowych i dalsza gwałtowna depolaryzacja błony komórkowej do wartości około $U_{max} = 35$ mV, czyli generacja potencjału czynnościowego (ang. *Action Potential, AP*)³. Czas trwania tego typu aktywności różni się od typu konkretnej komórki nerwowej i może wynosić 0,5 ms do 2 ms. W tym czasie błona komórkowa pozostaje niewrażliwa na bodźce. Krótco po ustaniu AP (tj. po przekroczeniu potencjału progowego U_{th}) pobudliwość powraca, po czym następuje hiperpolaryzacja, kiedy $U_{int}(t) < U_0$, by powrócić do stanu spoczynkowego (Rys. 1.2). Fala depolaryzacji przemieszcza się po błonie od miejsca inicjacji wzdłuż aksonu do jego zakończeń, gdzie uruchamia proces synaptycznego przekazywania sygnału do kolejnej komórki.



Rys. 1.1: Schemat ideowy budowy neuronu. Sygnały odbierane są przez neuron głównie w obrębie dendrytów i ciała komórkowego. Jeśli suma bodźców wejściowych przekracza próg aktywacji neuronu, wtedy indukowany jest potencjał czynnościowy i propagowany przez akson do innych neuronów, z którymi ten jest połączony.



Rys. 1.2: Przebieg potencjału błony komórkowej komórki nerwowej $U_{int}(t)$ w odpowiedzi na otrzymany bodziec nadprogowy. W trakcie generowania AP neuron pozostaje niewrażliwy na bodźce, aż do przekroczenia progu aktywacji U_{th} . Dla każdej z faz został podany przybliżony czas jej trwania. Zaadaptowane z [11].

³W literaturze związanej z elektrofizjologią można najczęściej spotkać się z terminem *iglica* (ang. *spike*).

1.1.2 Metody rejestracji aktywności mózgu

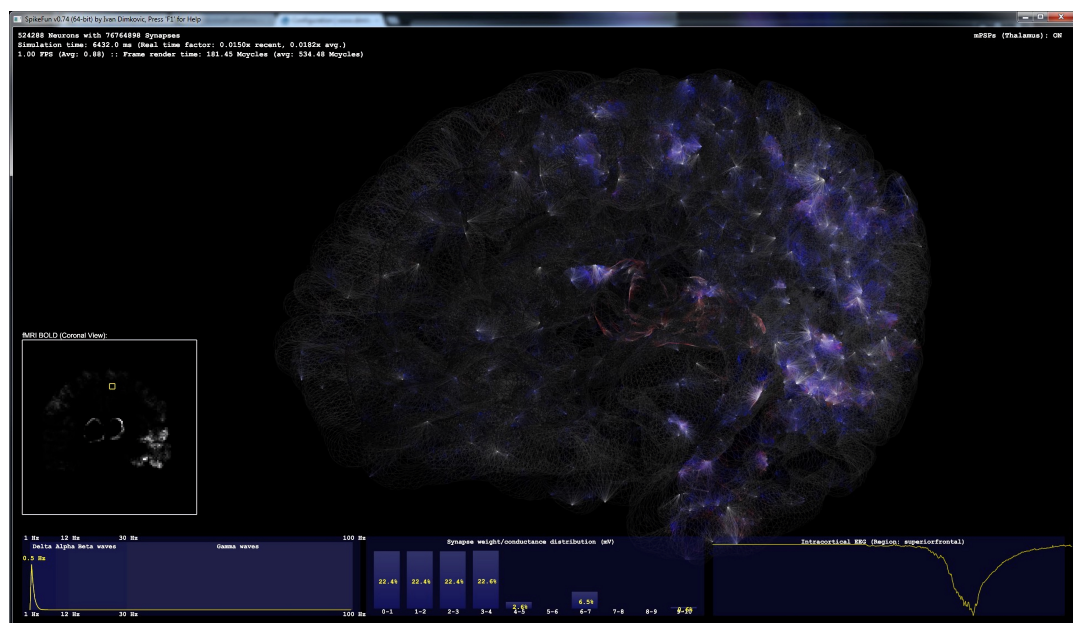
Jedną z metod badania funkcji układu nerwowego to rejestracja sygnałów elektrycznych generowanych przez komórki nerwowe. W zależności od zastosowanych elektrod i parametrów aparatury sygnał może zawierać faktyczne zmiany potencjału błonowego lub *prądy przezbłonowe* (ang. *trans-membrane currents*) pojedynczych komórek (tzw. rejestracje wewnątrzkomórkowe lub rejestracje *łatkowe*, ang. *patch-clamp*); lub wynikające z nich zmiany pola elektrycznego w przestrzeni zewnątrzkomórkowej. Im większy jest rozmiar zewnątrzkomórkowej elektrody, z tym większego obszaru uśrednia ona sygnały. Skrajnym przypadkiem jest rejestracja elektroencefalograficzna (ang. *Electroencephalography, EEG*), gdzie duże elektrody o średnicy ~ 1 cm położone na skórze głowy odbierają zintegrowane sygnały praktycznie z całego mózgu. Dla odmiany inwazyjne mikroelektrody zewnątrzkomórkowe rejestrują sygnały pochodzące z pojedynczych, najbliższych położonych komórek na tle zsumowanej aktywności większych populacji neuronalnych.

W niniejszej pracy, w części poświęconej zagadnieniom elektrofizjologicznym, zaprezentowany został kompletny system pomiarowy składający się z dedykowanego sprzętu i oprogramowania służący do rejestracji oraz stymulacji z wykorzystaniem wielokanałowych macierzy takich mikroelektrod.

Im mniejszy jest rozmiar wykorzystanych mikroelektrod, tym większe zachodzi prawdopodobieństwo zarejestrowania wyraźnych potencjałów czynnościowych pojedynczych neuronów (ang. *single-unit*). Częstotliwość ich występowania jest wysoce zmienna, zależna od typu komórek nerwowych i może przyjmować wartości rzędu 0,1 Hz do 1000 Hz przy amplitudach dochodzących do kilku miliwoltów. W przypadku większego rozmiaru elektrod potencjały czynnościowe indywidualnych neuronów przestają się wyróżniać i są reprezentowane w sygnale jako wielokomórkowy (ang. *multi-unit*) wysokoczęstotliwościowy szum neuronalny. Dynamika podprogowych zmian potencjałów błonowych jest mniejsza i dzięki temu, podczas zorganizowanej aktywności lokalnych populacji komórek nerwowych, sumują się one generując niskoczęstotliwościową składową lokalnego potencjału polowego (ang. *Local Field Potential, LFP*) [15]. Sygnały te mają charakterystyczne częstotliwości $< 0,1$ Hz do ~ 300 Hz i amplitudy dochodzące do 10 mV (czasem też więcej) [16]. Uważa się, że LFP niesie za sobą komplementarną informację do AP, jednak natura powstawania oraz znaczenie tych sygnałów pozostaje przedmiotem intensywnych badań [17, 18].

Szacuje się, że ludzki mózg przy swojej średniej objętości ~ 1200 cm³ [19] oraz masie $\sim 1,5$ kg posiada $8,6 \times 10^{10}$ neuronów [20] wykazuje się mocą ~ 15 W [21]. Dla porównania mózg myszy składa się z $\sim 7,5 \times 10^7$ neuronów w objętości ~ 420 mm³ i ma masę $\sim 0,5$ g [22]. Przyjmując liniową zależność mocy od liczby neuronów w mózgu, w zależności od aktywności myszy, ich mózg zużywa 2% do 8% [23] budżetu energetycznego. Gęstość neuronów, rozumiana jako liczba ciał komórek w jednostce objętości, różni się dość znacznie nawet w obrębie tej samej struktury mózgu. Pomiar wykonany dla myszy wykazały, że średnia wartość tego parametru dla kory to $\rho_{NCx} = 9,2 \times 10^4 \frac{1}{\text{mm}^3}$ [24], co w przeliczeniu daje oszacowanie przestrzeni zajmowanej przez jeden neuron na poziomie woksela o boku ~ 22 μm .

Przytoczone parametry obrazują pierwsze wyzwanie związane z rejestracją aktywności mózgu. Z jednej strony, monitorowanie zachowania konkretnego neuronu (tj. jego aktywność) pozwala odkryć schemat jego działania, z drugiej strony, jednak jest ona nierozzerwalnie powiązana z aktywnością w sieci połączeń, do której przynależy (Rys. 1.3). Idealne ideowo rozwiązanie powinno zatem umożliwiać odczyt aktywności z całego mózgu z rozdzielczością przestrzenną pojedynczej komórki nerwowej oraz rozdzielczością czasową rzędu 10 kHz. Przy aktualnym stanie nauki i technologii jest to zadanie niewykonalne, aczkolwiek na przestrzeni lat wykształciły i rozwijają się techniki umożliwiające próbkowanie sygnałów neuronalnych w skali makro oraz mikro [25]. Część z nich, w tym kluczowa z punktu widzenia niniejszej dysertacji metoda wykorzystująca koncepcję wprowadzanych do mózgu mikroelektrod, została pokrótce opisana w kolejnych podrozdziałach.



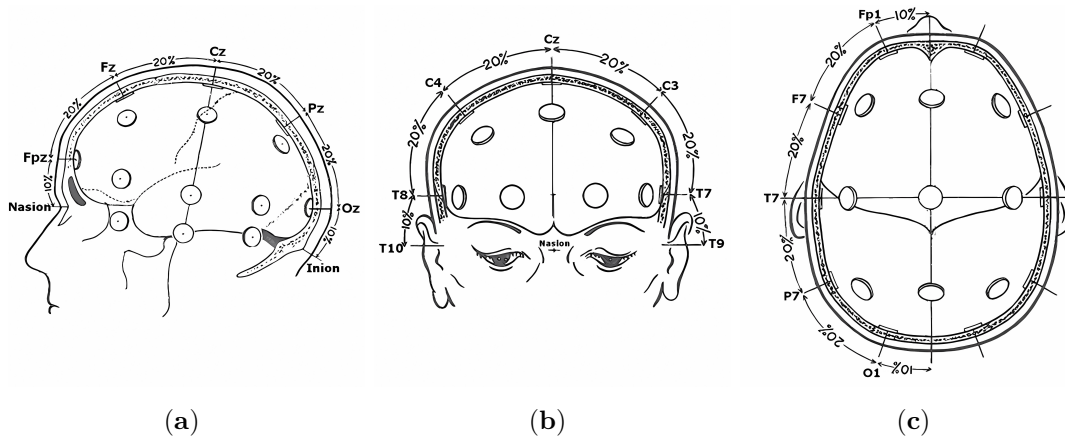
Rys. 1.3: Symulacja aktywności modelu mózgu ssaka za pomocą $\sim 5 \times 10^5$ neuronów oraz $\sim 7,6 \times 10^7$ synaps z wykorzystaniem oprogramowania *DigiCortex* [26, 27]. Aktywność pojedynczego neuronu wyzwala AP u innych, które są z nim połączone aksonami. Symulacja cechuje się wysokim poziomem szczegółowości, jednak jeśli miały to być mózgi ludzkie to przedstawione odwzorowanie ukazuje jedynie $\sim 6 \times 10^{-4}$ % neuronów [20].

1.1.2.1 Elektroencefalografia

EEG pozwala odczytać bioelektryczną czynność mózgu za pomocą nieinwazyjnych elektrod przyklejanych do skóry głowy. W standardowym badaniu używa się co najmniej 21 elektrod rozmieszczonych równomiernie na powierzchni głowy zgodnie ze standardem przyjętym przez *International Federation of Clinical Neurophysiology* [28] (Rys. 1.4).

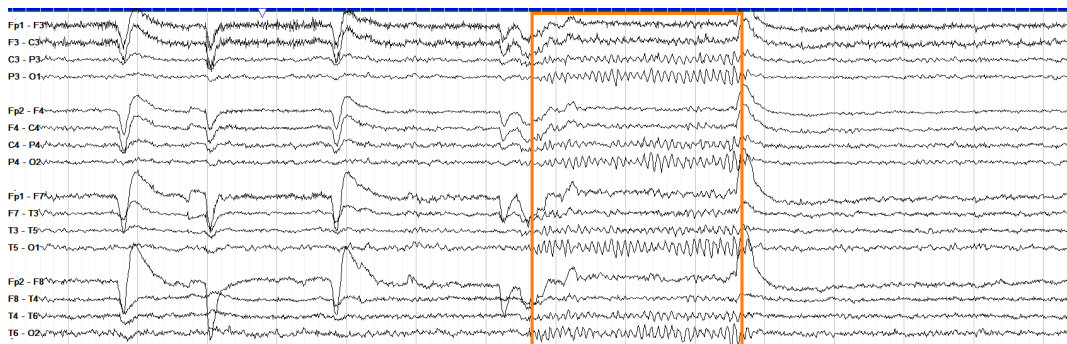
Zmiany potencjału odbieranego przez elektrody wywołane są fluktuacją potencjałów błonowych neuronów – przede wszystkim (ale nie tylko) komórek piramidalnych kory mózgu [29]. Synchroniczna aktywność znacznych populacji neuronów skutkuje sygnałami o wysokiej amplitudzie i stosunkowo niskich częstotliwościach. Natomiast niejednoczesne pobudzenie indukuje

wypadkowe potencjały o niskiej amplitudzie oraz wysokiej częstotliwości (tzw. desynchronizacja). W efekcie obserwowane sygnały przyjmują amplitudy rzędu $1 \mu\text{V}$ do $100 \mu\text{V}$ oraz częstotliwości $0,1 \text{ Hz}$ do 100 Hz , podzielone na charakterystyczne pasma: *delta* ($0,5 \text{ Hz}$ do $3,5 \text{ Hz}$), *theta* (4 Hz do $7,5 \text{ Hz}$), *alfa* (8 Hz do 13 Hz), *beta* (13 Hz do 30 Hz) i *gamma* ($>30 \text{ Hz}$) [29, 30].



Rys. 1.4: Standard rozmieszczenia elektrod w pomiarze EEG na powierzchni głowy dorosłego człowieka. Widok z (a) boku, (b) frontu, (c) góry. Zaadaptowane z [28].

Analiza przebiegu sygnału EEG w połączeniu z informacją o położeniu elektrody pozwala oszacować stan funkcjonalny (tj. czuwanie, wyciszenie, sen) i zdrowie badanego mózgu. Dla przykładu częstotliwość w pasmie *alfa* odbierana z okolicy płata potylicznego przy zamkniętych oczach świadczy o wyciszeniu układu wzrokowego. Otwarcie oczu, które wiąże się z odbiorem wrażeń wzrokowych, skutkuje desynchronizacją w sygnale (Rys. 1.5). Tymczasem rejestracja silnych fal o częstotliwości z zakresu $0,1 \text{ Hz}$ do 7 Hz (*delta* oraz *theta*) nie powinna zachodzić w stanie czuwania i może świadczyć o dysfunkcji mózgu [31].



Rys. 1.5: Przykładowy zarejestrowany przebieg sygnału EEG z widoczną synchronizacją pasma *alfa* wywołaną poprzez zamknięcie oczu badanej osoby (zaznaczone kolorem pomarańczowym). Nazwy występujące po lewej stronie opisują elektrody, z jakich dany przebieg został zarejestrowany (rejestracja prowadzona jest w tzw. montażu dwubiegunowym, pomiędzy sąsiadującymi elektrodami). Zaadaptowane z [32].

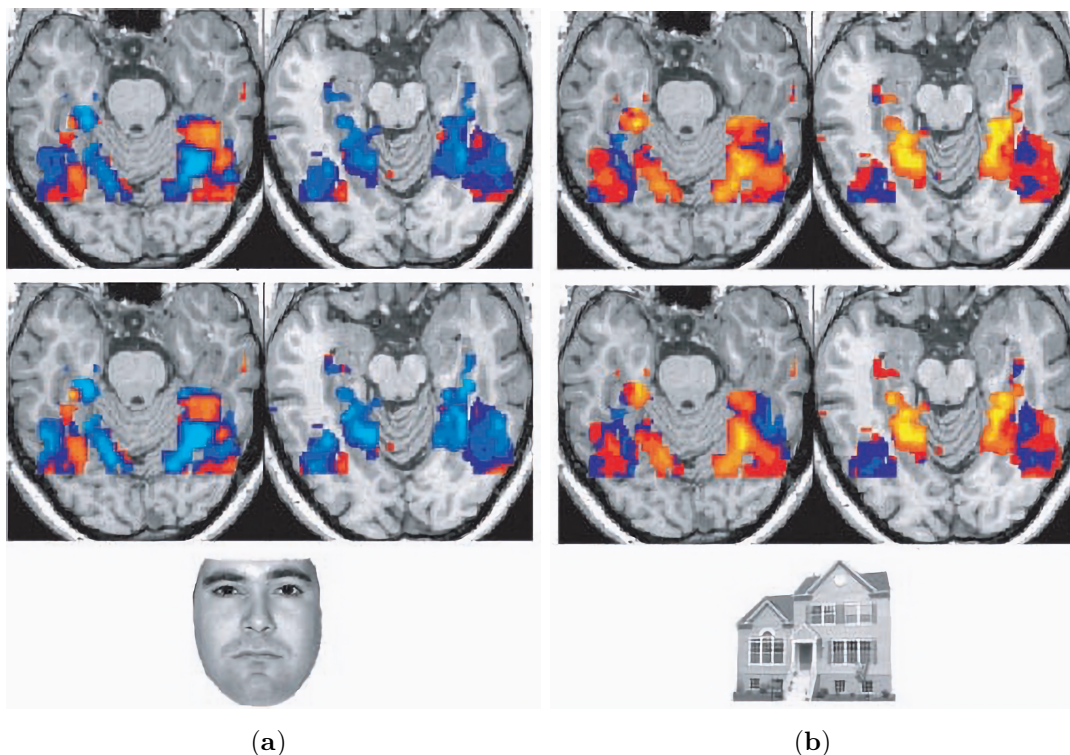
Niewątpliwą zaletą metody EEG jest jej nieinwazyjność i prostota, które pozytywnie wpływają na jej dostępność. Od 1924 [33, 34], kiedy zarejestrowano po raz pierwszy sygnał EEG z mózgu człowieka, technika ta stała się rutynową metodą diagnostyczną (np. badania zaburzeń snu czy wykrywania epilepsji [35]), jest też powszechnie stosowana w badaniach mózgowych

mechanizmów procesów psychopoznawczych [36]. Niestety, sygnał EEG jest bardzo złożony, gdyż próbkowana jest makroskopowo cała objętość mózgu. Nie tylko nie można odczytać informacji o aktywności indywidualnych neuronów, ale, ze względu na nieskończony zasięg pola elektrycznego, nie istnieje pewność co do lokalizacji poszczególnych populacji generujących fale EEG, co może sprawiać problemy w interpretacji otrzymanych danych.

1.1.2.2 Magnetyczny rezonans jądrowy

Inna nieinwazyjna metoda badania aktywności mózgu to obrazowanie metodą rezonansu magnetycznego (ang. *Magnetic Resonance Imaging, MRI*). Technika ta wykorzystuje zjawisko rezonansu spinu jądrowego w zewnętrznym polu magnetycznym do obrazowania zmieniających się w czasie i przestrzeni własności tkanek. W wyniku oddziaływania zewnętrznego pola magnetycznego na jądro atomowe o niezerowym spinie poziomy energetyczne atomu ulegają rozszczepieniu. Energia rozszczepienia spinowego jest mierzalna i określa częstotliwość promieniowania elektromagnetycznego, dla którego występuje efekt rezonansu, czyli silnej absorpcji energii. Wartość ta jest proporcjonalna do wypadkowego pola indukcji magnetycznej w miejscu, w którym znajduje się atom. Układy, dla których ważna jest informacja przestrzenna (np. w obrazowaniu medycznym), mierzy się, stosując silne jednorodne pole magnetyczne (rzędu ~ 1 T) oraz dodatkowe pole z gradientem przestrzennym, dzięki któremu różnicuje się częstotliwość rezonansową w objętości badanego obiektu. Dla protonu, czyli jądra atomu wodoru, parametr ten wynosi $\sim 42,577$ MHz w polu o indukcji 1 T. Układ spinów jądrowych znajdujących się w stanie o podwyższonej energii po wyłączeniu wymuszenia będzie dążył do równowagi termodynamicznej poprzez wypromieniowanie zakumulowanej energii. Szybkość tego procesu zależy m.in. od oddziaływań ze spinami jądrowymi sąsiadujących atomów, które prowadzą do utraty wspólnej fazy przez układ wzbudzonych spinów (tzw. *dekoherencja*) [37, 38]. Czas zanikania sygnału rezonansowego jest bezpośrednim wynikiem pomiaru i jest rzędu 10 ms do >1000 ms, przez co uwarunkowana jest rozdzielczość czasowa tej techniki [39].

W przypadku funkcjonalnego obrazowania metodą rezonansu magnetycznego (ang. *Functional Magnetic Resonance Imaging, fMRI*) wykorzystuje się fakt, że wzmożonej aktywności neuronów towarzyszy ich nasilony metabolizm i zwiększone zapotrzebowanie na tlen. Prowadzi to do zmian stężenia *deoksyhemoglobiny* (odtlenowanej hemoglobiny) w tkance nerwowej. Związek ten ma własności paramagnetyczne, przez co wpływa na jednorodność lokalnego pola magnetycznego, a stąd zmianie ulegają obserwowane czasy relaksacji spinów protonów (Rys. 1.6). Trzeba jednak pamiętać, że obserwacje te dają jedynie pośrednią informację o aktywności tkanki nerwowej [40–42]. Ponadto rozdzielczość czasowa metody jest ograniczana przez wymagania techniczne skanowania (czas powtarzania skanu $T_R \simeq 2$ s) oraz dynamikę tzw. reakcji hemodynamicznej, której maksimum opóźnione jest średnio o około 6 s w stosunku do aktywności neuronalnej. Po zaaplikowaniu odpowiednich technik filtracji osiągalna rozdzielczość przestrzenna to ~ 1 mm [43]. W porównaniu do EEG fMRI ma znacznie lepszą rozdzielczość przestrzenną, ale o wiele gorszą rozdzielczość czasową. Ponadto wymaga skomplikowanej oraz kosztownej w zakupie i utrzymaniu aparatury (Rys. 1.7).



Rys. 1.6: Aktywność mózgu człowieka w odpowiedzi na prezentowane mu obrazy: (a) twarze osób, (b) domy. Im cieplejszy kolor, tym większe prawdopodobieństwo, że dany obszar był wzbudzony silniej w sytuacji badanej niż w sytuacji kontrolnej. Zaadaptowane z [44].



Rys. 1.7: Fotografie reklamowe urządzenia do przeprowadzania badań metodą rezonansu jądrowego *Phillips Ingenia Elition 3.0T* do zastosowań medycznych. Urządzenie składa się z dwóch zasadniczych elementów: magnesu z komorą pomiarową oraz stołu umożliwiającego pozycjonowanie pacjenta w obszarze roboczym (a). Ze względu na stosunkowo długi czas pomiaru, dla zwiększenia precyzji rutynowo stosuje się elementy unieruchamiające np. głowę pacjenta (b). Urządzenie to wytwarza stałe pole magnetyczne o indukcji 3 T i potrafi obrazować obiekty nie większe niż 55 cm. W trakcie pracy charakteryzuje się mocą ≥ 36 kW, a zastosowane w urządzeniu magnesy wykonane z nadprzewodników chłodzone są ciekłym helem. Fotografie oraz specyfikacja zaczerpnięte z [45, 46].

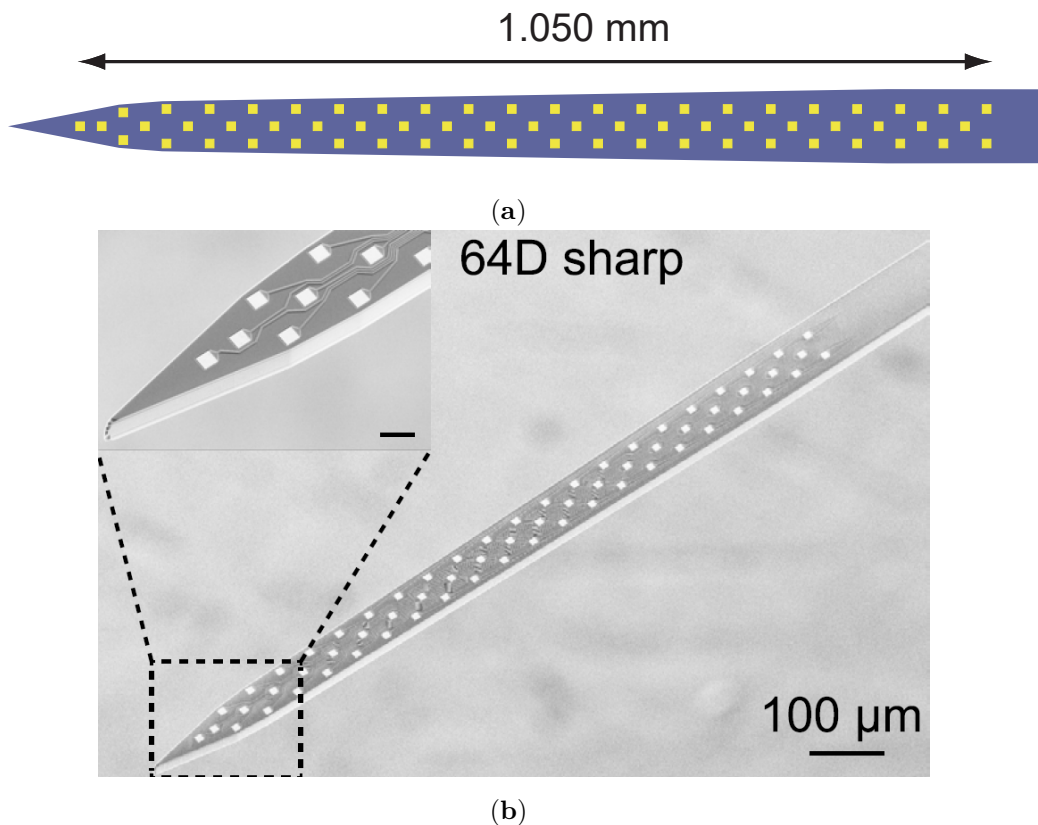
Mimo swoich ograniczeń nieinwazyjne metody monitorowania aktywności mózgu odgrywają znaczną rolę w badaniach neuropsychologicznych [47, 48] oraz medycynie np. w diagnostyce chorób neurodegeneracyjnych we wczesnej ich fazie [49] czy badaniu progresji tych chorób [50]. Jednak żadna z nich nie daje informacji o aktywności pojedynczych neuronów ani ich małych populacji z konkretnych struktur mózgu. Takie badania wymagają metod inwazyjnych obejmujących, między innymi, podejścia elektrofizjologiczne.

1.1.2.3 Elektrody oraz sondy wieloelektrodowe

Sygnały neuronalne, ze względu na swoją elektryczną naturę, nadają się do obserwacji za pomocą mikroelektrod implantowanych wewnątrz tkanki nerwowej celem rejestracji aktywności z dokładnością pojedynczej komórki nerwowej. Działanie pojedynczych neuronów, na poziomie potencjałów wewnątrzkomórkowych, może być badane za pomocą techniki *patch-clamp* [51]. Swoją nazwę wzięła ona od przeprowadzania pomiaru na bardzo małym skrawku błony komórkowej, za pomocą elektrody umieszczonej we wnętrzu mikropipety, której końcówka o średnicy rzędu 1 μm styka się z błoną, zapewniając kontakt mechaniczny oraz elektryczny. Elektroda pomiarowa rejestruje w takich warunkach zmiany pola elektrycznego w obszarze określonym przez wielkość końcówki pipety lub, w przypadku konfiguracji *whole-cell patch-clamp*, zmiany potencjału całej komórki [52]. Technika ta zapewnia bardzo precyzyjny pomiar, dając wgląd w pełne spektrum aktywności neuronu – zarówno postsynaptyczne fluktuacje jego potencjału błonowego, jak i potencjały czynnościowe. Jednakże stabilność takiej rejestracji najłatwiej uzyskać w preparatach *ex vivo* – na skrawkach mózgu umieszczonych pod mikroskopem. *In vivo*, czyli w mózgu żywych zwierząt, jest to znacznie trudniejsze. Także liczba komórek, którą można rejestrować jednocześnie jest ograniczona [53]. Rejestracje zewnątrzkomórkowe nie pozwalają na dokładne śledzenie potencjałów błonowych pojedynczych neuronów, ale dają wgląd w populacyjny sygnał połowy z wielu komórek oraz (przy odpowiednio małych elektrodach) rejestrują AP neuronów położonych w ich najbliższym otoczeniu. Do rejestracji zewnątrzkomórkowych można wykorzystywać pojedyncze szklane kapilary lub mikroelektrody metalowe. Jednak podobnie jak w przypadku metody *patch-clamp*, ogranicza to liczbę komórek możliwych do jednoczesnej rejestracji.

Znacznie większe możliwości dają matryce wieloelektrodowe (ang. *Multi-Electrode Arrays, MEA*). Są to zazwyczaj krzemowe lub polimerowe sondy z gęsto upakowaną siecią ścieżek elektrycznych prowadzących do wielu metalicznych elektrod na ich powierzchni [54]. Obszar rejestracji i rozdzielczość przestrzenna uzależnione są od typu zastosowanej MEA tj. od rozmiaru i geometrii podłoża sondy oraz od liczby, rozmiaru i dystansu pojedynczych elektrod (punktów rejestrujących). Liczba elektrod na typowych sondach waha się między 16 a 64, ale najnowsze osiągają nawet po kilka tysięcy punktów. Ich rozmiary i odległości mogą przyjmować wartości rzędu $\sim 10 \mu\text{m}$ i niższe. Wielokanałowe matryce stosuje się w badaniach *in vitro* oraz *in vivo*. Te pierwsze mają typowo równomierny rozkład elektrod na prostokątnej powierzchni i służą do badania układanych na nich skrawków tkanki (np. mózgu), wypreparowanej siatkówki czy hodowli komórkowych. Sondy wielokanałowe wprowadzane *in vivo* do mózgu mają podłużny kształt z punktami rejestrującymi ciasno upakowanymi na wąskim

podłożu sondy (Rys. 1.8). Mogą mieć jeden lub więcej *trzonków* (ułożonych w jednej lub kilku płaszczyznach), co zapewnia próbkowanie sygnału ze znacznego obszaru żywego mózgu. Rozdzielczość czasowa sygnału dyktowana jest dokładnością elektroniki sparowanej z MEA.



Rys. 1.8: (a) Schemat pasywnej sondy o wysokiej gęstości elektrod na przykładzie modelu *64D sharp* opracowanego przez *Masmanidis Lab*. Zawiera ona jedynie nieizolowane punkty elektrod oraz zaizolowane ścieżki przewodzące sygnały elektroniczne do/z urządzenia pomiarowego poprzez odpowiednie złącze. Całkowita długość sondy to 7 mm, przy czym 64 elektrody rozłożone są na długości 1,05 mm. Poszczególne elektrody o wielkości $10\ \mu\text{m} \times 10\ \mu\text{m}$ układają się równomiernie na siatce złożonej z komórek o wielkości $20\ \mu\text{m} \times 25\ \mu\text{m}$. (b) Obraz zarejestrowany przez skaningowy mikroskop elektronowy dla tego modelu elektrody. Skala dla obrazu wewnętrznego odpowiada $20\ \mu\text{m}$. Obrazy oraz dane zaczerpnięte z [55, 56].

Ze względu na sposób połączenia MEA z elektroniką w literaturze występuje podział na sondy *pasywne* i *aktywne* [57, 58]. Te pierwsze mają tę główną zaletę, iż są niezależnym elementem systemu rejestrującego, a co za tym idzie, w jednym eksperymencie da się wykorzystać różne matryce (o dowolnych wymiarach przestrzennych i pochodzące od różnych producentów) rejestrujące sygnał z wykorzystaniem dowolnego kompatybilnego systemu odczytowego. Z drugiej strony, sondy aktywne zawdzięczają swoją nazwę zintegrowanej elektronice, dzięki której system odczytowy ulega miniaturyzacji, a pomiary są mniej podatne na zakłócenia (im dłuższe ścieżki biegnące od elektrody do wzmacniacza, tym silniej zachowują się one jak anteny zbierające sygnały zakłócające). Do tej pory największym systemem odczytowym opartym o technologię sond aktywnych jest *Argo* [59] umożliwiający jednoczesną rejestrację sygnału z 65 536 elektrod, generując $\sim 3,5$ GB danych w każdej sekundzie działania. Znaczną popularność zyskuje system *Neuropixels*, który integruje elektronikę odczytu wraz z dużą liczbą

kanałów odczytowych. W zależności od generacji urządzenia umożliwia ono jednoczesny odczyt sygnałów z 384 spośród 960 lub 5120 kanałów danej sondy (przy czym odległości między elektrodami wynoszą odpowiednio 20 μm oraz 15 μm). Dzięki zastosowaniu odpowiednich materiałów i niskiej masie $\leq 3\text{ g}$ system ten wykorzystywany jest do przeprowadzania długotrwałych, wielotygodniowych eksperymentów z udziałem np. myszy [60, 61].

Co więcej, poza pasywną obserwacją, MEA mogą stanowić również interfejs służący sztucz-nemu wywołaniu aktywności komórek nerwowych. Eksperymenty elektrofizjologiczne polegające na wstrzykiwaniu prądu w obszarze tkanki nerwowej poprzez elektrody sięgają końcówki XVIII wieku [62]. Aktualne zdobycze nauki i techniki pozwalają m.in. na wspomaganie rehabilitacji po urazach systemu nerwowego [63], częściowe przywrócenie odbierania bodźców audiowizualnych (implanty ślimakowe [64] oraz siatkówki oka [65]) czy terapię zaburzeń układu ruchowego np. choroby Parkinsona [66]. Przytoczone przykłady nie oznaczają jednak, że algorytmy przetwarzania bodźców przez np. siatkówkę zostały w pełni poznane, i implanty mogą je w pełni odtworzyć, dając pacjentom pełną sprawność widzenia, chociażby z uwagi na fakt, że każda sieć neuronów jest unikatowa [67]. Pacjenci z wszczepionym implantem siatkówki oka, po długotrwałej rehabilitacji mogą być w stanie lokalizować obiekty i wykrywać ruch w ściśle kontrolowanych warunkach [68].

Ze względu na fakt, że MEA umożliwiają bezpośredni odczyt zmian lokalnego pola elektrycznego wywoływanego przez aktywność neuronów, dają największe nadzieje na zrozumienie protokołów interakcji między nimi. Aczkolwiek jest to technika wymagająca ingerencji w tkankę nerwową na etapie implantacji MEA, czego nie można zaniedbać. Obecność ciała obcego może prowadzić do m.in. przerostu oraz odkształcenia tkanek w okolicy implantu, stanów zapalnych oraz utraty komórek nerwowych.

1.1.3 Wybrane wyzwania elektrofizjologii

1.1.3.1 Rejestracja potencjałów zewnątrzkomórkowych

Amplituda AP sygnału odbieranego zewnątrzkomórkowego na wejściu MEA jest o dwa rzędy wielkości mniejsza niż rejestrowana wewnątrzkomórkowo. Obserwowane w ten sposób AP mają amplitudę 50 μV do 1000 μV , która zależy od odległości między neuronem a elektrodą rejestrującą. Ponadto przebieg zewnątrzkomórkowego AP $U_{ext}(t)$ jest uzależniony z dobrym przybliżeniem od przebiegu obserwowanego wewnątrzkomórkowo $U_{int}(t)$ [69]:

$$U_{ext}(t) \propto -\frac{dU_{int}(t)}{dt} \quad (1.1)$$

Przyjmuje się, że zdolność do detekcji AP na tle szumu jest zachowana do odległości 100 μm od źródła sygnału. Powyżej 150 μm zewnątrzkomórkowe AP jest już nieodróżnialne od szumu wynikającego z aktywności oddalonych neuronów [70]. Sprawia to, że koniecznością staje się parowanie (a w niektórych architekturach systemów pomiarowych również pełną integrację) elektrod z dedykowaną niskoszumową elektroniką odczytu konwertującą słaby i podatny na zakłócenia analogowy sygnał na jego cyfrową reprezentację. Urządzenia te muszą spełniać przede wszystkim poniższe wymagania [71, 72]:

- wzmocnienie sygnału rzędu $K = 100 \frac{V}{V}$ i większe, najlepiej z możliwością regulacji;
- przenoszenie sygnału biologicznego (LFP oraz AP) przy jednoczesnym odcięciu stałego potencjału offsetowego U_{off} pochodzącego z wytworzenia się interfejsu elektroda-elektrolit, a którego wartość może dochodzić do 50 mV (przy zakładanym wzmocnieniu z łatwością U_{off} wysyciłoby wzmacniacz);
- możliwie minimalne zniekształcenia sygnału wejściowego w całym zakresie dynamicznym, co jest szczególnie istotne przy analizie danych typu LFP [73, 74];
- niskie szумы własne komponentów elektronicznych, które dla częstotliwości fizjologicznych pochodzą od szumu migotania tj. $1/f$ oraz termicznego;
- małe zapotrzebowanie na moc, które będzie definiowało możliwe do wykorzystania źródło zasilania np. bateryjne albo zewnętrzne, moc układu może też wpływać na lokalne zmiany temperatury tkanki, a przez to prowadzić do zmian pracy pompy sodowo-potasowej;
- mała powierzchnia pojedynczego kanału, w szczególności, gdy planowany układ ma mieć możliwość odczytu z wielu elektrod jednocześnie.

W nowoczesnych systemach pojedynczy wzmacniacz pomiarowy jest multiplikowany i integrowany z ewentualną dalszą częścią toru przetwarzania jako układ scalony (ang. *Application Specific Integrated Circuit, ASIC*). Stąd całkowita moc oraz powierzchnia układu skalują się liniowo z liczbą kanałów. Chyba że cechą projektową danego systemu odczytowego jest możliwość multipleksowania w domenie czasu (tj. urządzenie umożliwia aktywne przełączanie wzmacniacza między źródłami sygnału – elektrodami). Wtedy eksperyment posiada fazę wstępną, podczas której kolejno skanowane są sygnały rejestrowane przez grupy elektrod celem wytypowania tych, które oferują możliwość rejestracji o oczekiwanych parametrach [59, 61].

Poddany filtracji, wzmocniony sygnał analogowy jest konwertowany przez przetwornik analogowo-cyfrowy (ang. *Analog-Digital Converter, ADC*) i serializowany⁴ przez układ nazywany multiplekserem (w zależności od architektury układu konwersja do wersji cyfrowej może zachodzić dopiero po serializacji danych). Część kanałów systemu (lub wszystkie) może być również wyposażone w specjalizowane podukłady służące generowaniu przebiegów stymulacyjnych, mających w zamierzeniu pobudzać neurony do wywołania AP w sposób sztuczny.

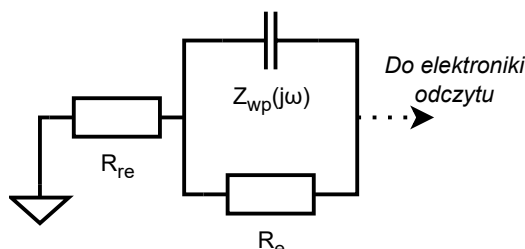
1.1.3.2 Impedancja elektrod

W przypadku rejestracji aktywności pojedynczych neuronów małe elektrody tj. o wymiarach liniowych $<15 \mu\text{m}$ są preferowane, z uwagi na fakt, że ich duża rozdzielczość przestrzenna umożliwia odbieranie bardziej lokalnych sygnałów w tym iglic o wyższych amplitudach niż w przypadku elektrod o większych rozmiarach. Mniejsze i delikatniejsze (tj. cieńsze, bardziej elastyczne) sondy wykazują lepszą biokompatybilność [75]. Z drugiej strony, zmniejszenie rozmiaru elektrody prowadzi do wzrostu jej impedancji, przez co maleje teoretyczna zdolność do rejestracji sygnałów biologicznych (choć tutaj należy zaznaczyć, iż istnieją doniesienia o realnym braku wpływu elektrod o niskiej i wysokiej impedancji na rejestrowane sygnały [76]). Impedancja interfejsu elektroda-elektrolit (tj. miejsca interakcji z tkanką) ma następujące komponenty [77] (Rys. 1.9):

⁴Próbki sygnału odpowiadające danej chwili czasowej ze wszystkich kanałów są szeregowane, a następnie wysyłane po kolei do urządzenia odbiorczego.

- rezystancja dla przepływającego prądu przez elektrodę R_e ,
- impedancja związana ze zdolnością utrzymania ładunku na interfejsie, związana z tworzeniem się tzw. warstwy podwójnej $Z_{wp}(j\omega)$,
- rezystancja rozproszona elektrolitu R_{re} .

Dla niskich częstotliwości składnik pojemnościowy stanowi przerwę w obwodzie, jednak jego znaczenie rośnie wraz ze wzrostem częstotliwości sygnału (Rys. 1.10).

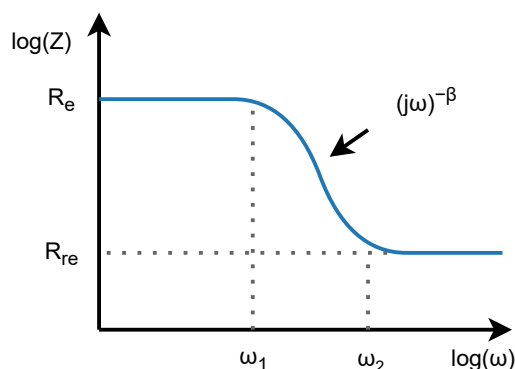


Rys. 1.9: Schemat zastępczy impedancji elektrody w elektrolicie. Zaadaptowane z [78].

Chcąc obniżyć impedancję elektrody, przy zachowaniu jej rozmiarów można zwiększyć efektywną powierzchnię elektrody poprzez zwiększenie jej porowatości. Do tego celu stosowane są różne techniki chemiczne, elektrochemiczne oraz elektrodpozycja np. platyny, tlenku irydu czy złota na powierzchni elektrody. W przypadku tak zmodyfikowanych elektrod impedancja warstwy podwójnej $Z_{wp}(j\omega)$ przestaje mieć charakter zwykłej pojemności i ma postać:

$$Z_{wp}(j\omega) = k_0(j\omega)^{-\beta}, \quad (1.2)$$

gdzie parametr β przyjmuje wartości 0,8 do 1,0 [79].



Rys. 1.10: Zależność impedancji elektrody Z od częstości ω sygnału. Przy niskich częstotliwościach $\omega < \omega_1$ element pojemnościowy $Z_{wp}(j\omega)$ zachowuje się jak przerwa w obwodzie. Natomiast dla wysokich częstotliwości, gdy $\omega > \omega_2$, element ten stanowi zwarcie w obwodzie i impedancja elektrody zmierza do R_{re} . Dla częstości pośrednich tj. $\omega_1 < \omega < \omega_2$ obserwuje się nachylenie charakterystyki zależne od parametru β . Zaadaptowane z [78].

1.1.3.3 Efektywna stymulacja tkanki nerwowej

Pełnię możliwości technik elektrofizjologicznych wykorzystuje się w momencie połączenia ze sobą rejestracji oraz pobudzania, za pomocą impulsów elektrycznych, aktywności tkanki

nerwowej. Do tego celu wykorzystywane są generatory impulsów, które mogą stanowić odrębne urządzenie, ale – ze względu na możliwość optymalizacji współpracy modułów rejestrujących i stymulujących – lepiej, aby były zintegrowane w tym samym układzie elektronicznym co wzmacniacze. Jednak zadanie to jest bardzo skomplikowane i wpływa na nie szereg czynników, z których najważniejsze zostały zebrane poniżej.

Pokrycie neuronów przez elektrody MEA

Sieć utworzona przez komórki nerwowe rzadko pokrywa się z regularną matrycą elektrod w taki sposób, aby elektrody po implantacji znalazły się obok ciał komórek nerwowych, które chcemy pobudzać. W typowych warunkach znacznie łatwiej jest pobudzić pobliskie aksony (zarówno z lokalnych neuronów, jak i przebiegające włókna z odległych struktur), ponieważ ich rozpiętość przestrzenna jest znacznie większa niż ciał komórek nerwowych (jeden akson może być pobudzany przez większą liczbę elektrod, ale też jedna elektroda może pobudzać wiele sąsiadujących aksonów). W efekcie duża wrażliwość aksonów na stymulację zewnątrzkomórkową stwarza fundamentalne trudności na drodze zbudowania systemu zdolnego do selektywnej stymulacji pojedynczych neuronów, zlokalizowanych w określonej przestrzeni zajmowanej przez MEA [80–82].

Dobór amplitudy impulsu stymulującego

Pole potencjału wytworzonego przez układ stymulujący na elektrodzie musi być wystarczająco silne do chwilowego obniżenia potencjału w otoczeniu zewnątrzkomórkowym pobudzanych neuronów i wystarczająco lokalne, aby zachować specyficzność efektów. Decydują o tym: amplituda impulsu prądowego oraz geometria elektrod stymulującej i odniesienia. Stąd w zależności od okoliczności, stosowane amplitudy impulsów są rzędu $1\ \mu\text{A}$ do $1000\ \mu\text{A}$ [83–85]. W idealnej sytuacji uzyskuje się dużą gęstość prądu w docelowym miejscu stymulacji już przy niskich amplitudach impulsów. W celu zwiększenia przestrzennej precyzji stymulacji (zageszczenia linii pola elektrycznego na wybranym obszarze) często stosuje się mikroelektrody, w których dwa bieguny zlokalizowane są blisko siebie (jako sąsiadujące przewody metalowe, sąsiadujące nadruki na sondach MEA, albo elektrody koncentryczne, gdzie izolowany przewód metalowy otoczony jest metalową kaniulą⁵). Jednak w układzie rejestracji *in vivo* do określenia potencjału referencyjnego stosowane są najczęściej duże elektrody (np. Ag/AgCl [86]), umieszczane poza mózgiem i w konsekwencji podobny układ stosowany jest także do stymulacji. W takiej sytuacji decydujące znaczenie dla zasięgu i siły stymulacji ma amplituda impulsu.

Dla eksperymentów *in vivo* nie da się ze 100% dokładnością zaplanować i kontrolować odległości neuron-elektroda i często wymagane jest zwiększanie amplitudy impulsu tak, aby zasięg pola objął wybrane miejsce stymulacji. Protokoły stymulacji są przygotowane albo *a priori*, albo dostosowywane dynamicznie przez badacza lub oprogramowanie na podstawie rejestrowanych danych (ang. *closed-loop experiment* [87]). Niestety, zbyt wysoka amplituda impulsu stymulacyjnego rozszerza obszar stymulowanej tkanki, utrudniając tym samym interpretację wyników. Duża gęstość prądu przy elektrodzie, zamiast doprowadzić do generowania AP poprzez rozpoczęcie napływu jonów Na^+ do wnętrza komórki może odwrócić kierunek przepływu

⁵Rurka o niewielkiej średnicy.

jonów, a przez to w efekcie zablokować możliwość generowania AP do czasu odzyskania przez komórkę równowagi jonowej [88, 89].

(Nie)odwracalność reakcji elektrochemicznych

W wyniku przepływu ładunku na powierzchni elektrody może dochodzić do szeregu reakcji elektrochemicznych. Część z nich to tzw. *reakcje nieodwracalne*, w których trakcie dochodzi do wytworzenia produktów toksycznych dla tkanki biologicznej lub zmieniających powierzchnię elektrody (a przez to jej właściwości). Reakcjami dominującymi są:

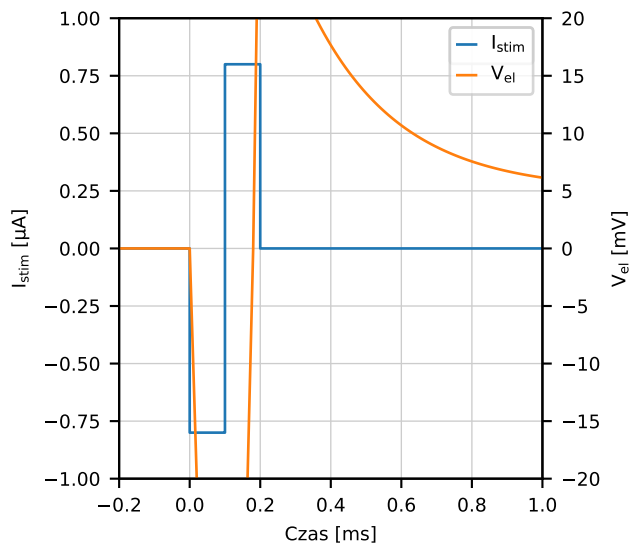
- utlenianie cząsteczek wody: $2H_2O \rightarrow O_2 \uparrow + 4H^+ + 4e^-$,
- redukcja cząsteczek wody: $2H_2O + 2e^- \rightarrow H_2 \uparrow + 2OH^-$.

Zapobieganie tym reakcjom sprowadza się do nieprzekraczania wartości spoczynkowego potencjału elektrody w elektrolicie poza zakres $-0,6$ V do $0,8$ V (tzw. *okno wody* [90]). W przypadku reakcji odwracalnych warunkiem ich odwracalności jest stosowanie impulsów o zbilansowanym ładunku, gdzie zmiana kierunku prądu przepływającego przez elektrodę powoduje powrót otoczenia elektrody do stanu pierwotnego, dzięki symetrii reakcji. W praktyce bardzo często generowane są najprostsze symetryczne impulsy dwufazowe, gdzie pierwsza z faz jest ujemna. Rzadziej są to impulsy trójfazowe, choć istnieją też inne możliwości [91].

Artefakty stymulacyjne

Ze względu na nietrywialną charakterystykę częstotliwościową elektrody (Rys. 1.10) w elektrolicie, przebieg napięcia na elektrodzie stymulującej (oraz sąsiednich) w znacznym stopniu odbiega od przebiegu impulsu pierwotnego, nawet przy zastosowaniu najprostszego impulsu dwufazowego (Rys. 1.11). Ma to związek z ładowaniem oraz rozładowywaniem elementu pojemnościowego $Z_{wp}(j\omega)$. To drugie prowadzi do utrzymywania się napięcia na elektrodzie nawet po faktycznym zakończeniu impulsu stymulacyjnego (tzw. *napięcie resztkowe*).

Co więcej, z uwagi na znaczną amplitudę napięcia w trakcie generowania impulsu, która przewyższa amplitudę sygnałów neuronalnych o kilka rzędów wielkości, rejestracja jest w tym czasie niewykonalna. Podstawową techniką zapobiegania wysycaniu wzmacniacza rejestrującego jest odłączanie jego wejścia w momencie generowania impulsu stymulacyjnego i włączenie go zaraz po jego ustaniu. Nie rozwiązuje to jednak kwestii napięcia resztkowego, które będzie widoczne w rejestrowanym sygnale. Tutaj stosowane są techniki wykorzystujące np. wiedzę o parametrach impedancji elektrody do optymalizacji kształtu impulsu [92], metody filtracji *offline* (tj. aplikowane po eksperymencie dla zarejestrowanych danych) dla impulsów o standardowym kształcie [93] lub wprost poprzez układ rozładowujący elektrodę zintegrowany z elektroniką odczytową [94].



Rys. 1.11: Symulacja artefaktu stymulacyjnego. Impuls stymulacyjny I_{stim} (dwufazowy, symetryczny, zbilansowany pod względem ładunku elektrycznego) o amplitudzie $0,8 \mu\text{A}$ i czasie trwania $0,2 \text{ ms}$ powoduje zarejestrowanie określonego przebiegu napięcia przez elektrodę V_{el} . Widoczny artefakt w postaci napięcia resztkowego po ustaniu impulsu stymulacyjnego ($t > 0,2 \text{ ms}$). Zaadaptowane z [78].

1.1.3.4 Zastosowania

Systemy oparte na MEA wykorzystywane są do badania funkcji złożonych sieci neuronalnych mózgu i zrozumienia mechanizmów leżących u podłoża podstawowych funkcji układu nerwowego [95], jak i wyższych funkcji poznawczych czy emocji człowieka [96]. Jednak nie mniej ważnym aspektem jest praktyczne zastosowanie systemów rejestracji i stymulacji elektrycznej w tak zwanych interfejsach mózg-maszyna (ang. *Brain-Machine Interface, BMI*) czy interfejsach mózg-komputer (ang. *Brain-Computer Interface, BCI*). Są to systemy składające się z aparatury i oprogramowania, które mają monitorować, wspierać a niejednokrotnie zmieniać funkcjonowanie mózgu lub sterować zewnętrznymi urządzeniami na podstawie danych odbieranych z mózgu przez odpowiednio dobrane sensory [97]. W istocie takie interfejsy już istnieją i są stosowane. Za przykład mogą tutaj posłużyć robotyczne ramiona, których ruch jest sterowany za pomocą impulsów odczytywanych z wewnętrznych struktur mózgu, a które mogą ułatwić życie sparaliżowanym pacjentów [98, 99]. Istnieją też BMI, które dzięki wykorzystaniu technik elektrofizjologicznych (w tym nieinwazyjnych, opartych o EEG) umożliwiają komunikację z komputerem i np. pisanie tekstu [100, 101]. Stymulacje tkanki nerwowej wykorzystywane są w aktywnych implantach siatkówkowych czy ślimakowych. Sukcesy w tym zakresie dają nadzieję na dalszy rozwój tych technologii, ale również nieuchronnie prowadzą do pytań natury etycznej [102].

1.1.3.5 Etyka

Dla większości komercyjnych rozwiązań nie mamy dostępu do plików źródłowych zawierających projekt sprzętu oraz oprogramowania. Ponadto, obecnie jako społeczeństwo mamy

problem z zachowaniem prywatności np. w Internecie, gdyż każde działanie (włącznie z pozycją kursora) może być monitorowane celem profilowania treści (głównie do celów reklamowych) [103]. Zatem czy posiadając implant typu BMI teraz lub w przyszłości będziemy mieli pewność, że dane zbierane przez to urządzenie będą wykorzystywane w uczciwy sposób i tylko do celów związanych z zapewnieniem funkcjonowania tej konkretnej sztuki urządzenia? Z jednej strony zbieranie i wysyłanie informacji o działaniu takiego urządzenia do bazy danych producenta może przyczynić się w oczywisty sposób do ulepszenia jego działania, natomiast należy pamiętać, że aktywność mózgu jest obrazem naszych myśli, wyobrażeń i czynów – wgląd w te dane naruszałby w oczywisty sposób prywatność osoby z wszczepionym implantem.

Bez wątpienia, gwałtowny postęp technologii jest tylko częścią potencjalnego sukcesu BMI. Ten jednakże może być utrudniony w przypadku braku etycznego oraz odpowiedzialnego społecznie rozwoju opartego na zaufaniu, przewidywaniu problemów i zagrożeń, oraz możliwości weryfikacji działania np. dzięki otwarciu dostępu do plików projektowych.

Niewątpliwie wyzwania natury etycznej w nauce będą coraz trudniejsze. Już teraz ubieganie się o finansowanie projektów, do których przeprowadzenia potrzebny jest współudział ludzi lub zwierząt wymaga wykazania się nie tylko wiedzą na temat procedur naukowych, ale również etycznych. Te drugie, jakkolwiek istotne, nie będą podlegać dalszym rozważaniom na łamach tej pracy. Wszystkie testy z udziałem zwierząt zostały przeprowadzone zgodnie z wytycznymi zawartymi w dyrektywie 2010/63/EU [104] w ramach badań zatwierdzonych przez I Lokalną Komisję Etyczną ds. Doświadczeń na Zwierzętach w Warszawie (decyzja 794/2018 z 5.12.2018 r.).

1.2 Radioterapia przeciwnowotworowa

Ludzkie życie obarczone jest 20 % ryzykiem zachorowania na nowotwór przed 75. rokiem życia. Jednocześnie jedynie co drugi przypadek uda się wyleczyć.

To uśredniona statystyka dla 185 państw świata za rok 2020 [105]. Przy $\sim 1,93 \times 10^7$ nowo zdiagnozowanych przypadkach, śmierć w wyniku tego typu choroby poniosło $\sim 10^7$ osób⁶. Najczęściej odnotowywano nowotwory piersi, płuc i prostaty.

Według oficjalnej definicji Światowej Organizacji Zdrowia (ang. *World Health Organization*, *WHO*) nowotwory są dużą grupą chorób, które mogą rozpocząć się w niemal każdym organie lub tkance ciała w wyniku niekontrolowanego wzrostu nieprawidłowych komórek, które wykraczają poza swoje granice i atakują sąsiednie części ciała lub rozprzestrzeniają się na pozostałe narządy [107]. Jako zewnętrzne okoliczności zwiększające ryzyko wymieniane są m.in.:

- używanie tytoniu,
- brak aktywności fizycznej,
- dieta pozbawiona owoców i warzyw,
- zanieczyszczenie powietrza i narażenie na dym ze spalania paliw stałych,
- nadmierna ekspozycja na promieniowanie ultrafioletowe.

Jednak są też czynniki, na które nie mamy bezpośredniego wpływu np. genetyczne [108]. Leczenie obejmuje interwencje chirurgiczne, wykorzystanie leków onkologicznych czy radioterapię. Dobór metod zależy od typu nowotworu i dostępnych efektywnych terapii oraz od indywidualnej sytuacji pacjenta⁷. Często, dla zwiększenia szansy na całkowite wyleczenie wykorzystuje się połączenie kilku podejść terapeutycznych. W przypadku guzów, których nie da się usunąć operacyjnie oraz w ramach opieki paliatywnej (w celu uśmierzania bólu lub zmniejszenia guza i ograniczenia objawów jego ucisku) stosowana jest radioterapia, czyli napromienienie zaatakowanych obszarów za pomocą wysokoenergetycznych wiązek promieniowania. Dzięki swojej przenikliwości odpowiednio zogniskowane promieniowanie dociera w głąb tkanek i deponuje w wybranych miejscach duże dawki energii, niszcząc komórki guza [109].

1.2.1 Promieniowanie jonizujące

Promieniowanie ze względu na własności oddziaływania z materią można przypisać do dwóch głównych kategorii: jonizujące bezpośrednio oraz pośrednio. Te pierwsze reprezentowane są przez cząstki naładowane α , promieniowanie β (elektrony i pozytony), protony czy jony (np. węgiel), natomiast do tych drugich zaliczane są fotony⁸.

⁶Prognoza do roku 2040 zakłada odpowiednio $\sim 3,02 \times 10^7$ oraz $\sim 1,63 \times 10^7$ przypadków [106].

⁷Ten aspekt w zależności od kraju i systemu refundacji opieki medycznej może być reprezentowany m.in. poprzez sytuację materialną oraz zakres wykupionego przez chorego ubezpieczenia zdrowotnego.

⁸Nomenklatura rozróżnia między fotonami X a γ – nie ma ona bezpośredniego związku z ich energią, a pochodzeniem. Promieniowania γ bierze się z jąder atomowych emitujących fotony w następstwie przejścia jądra atomowego do stanu o niższej energii. Natomiast X generowane jest przez elektrony w wyniku migracji na niższe powłoki elektronowe atomu (tzw. promieniowanie charakterystyczne) albo poprzez przyspieszanie/zwalnianie elektronów w polu elektromagnetycznym.

Cząstki naładowane oddziałują z materią poprzez pole kulombowskie. Gdy cząstka obdarzona ładunkiem znajdzie się w medium absorbującym, od razu znacznie wpływać na pobliskie elektrony. W wyniku tej interakcji elektrony mogą przejść na powłokę o wyższej energii (wzbudzenie) albo zostać usuniętymi z atomu (jonizacja). Jednocześnie zysk energetyczny ośrodka odbywa się kosztem energii wejściowej cząstki naładowanej, przez co sukcesywnie zmniejsza się jej prędkość – aż do zatrzymania. Szybkość hamowania zależy od wielu czynników m.in. od energii, masy, ładunku cząstki oraz rodzaju absorbentu (*wzór Bethego* [110]):

$$S = -\frac{dE}{dx} = \frac{4\pi e^4 z^2}{m_e v^2} \rho Z \left[\ln \frac{2m_e v^2}{I} - \ln \left(1 - \frac{v^2}{c^2} \right) - \frac{v^2}{c^2} \right], \quad (1.3)$$

gdzie:

- x – droga przebyta przez promieniowanie w ośrodku,
- v, z – prędkość i ładunek cząstki (wyrażony wielokrotnością ładunku elementarnego),
- c – prędkość światła w próżni,
- ρ, Z – gęstość elektronowa i liczba atomowa materiału absorbentu,
- m_e, e – masa spoczynkowa oraz ładunek elektronu,
- I – czynnik materiałowy.

W związku z powyższym dla tego samego absorbentu protony o tej samej prędkości początkowej co jony będą miały większy zasięg. Z drugiej strony materiały złożone z pierwiastków ciężkich o wysokiej gęstości mają też wysoką zdolność zatrzymywania cząstek. Ze względu na obecność czynnika $m_e v^2$ w mianowniku, szybkość hamowania cząstki jest odwrotnie proporcjonalna do jej energii. Zależność opisywana przez Równ. (1.3) osiąga maksimum dla pewnej wartości x (tzw. *pik Bragga*), po czym szybkość hamowania dość gwałtownie maleje ze względu na efekty związane z wychwytem elektronów przez jony.

Wszystkie cząstki o niezerowym ładunku, które są przyspieszane/opóźniane emitują fotony, przez co zmniejsza się ich energia. Hamowanie radiacyjne jest opisane przez [110]:

$$S_r = -\left(\frac{dE}{dx}\right)_r = \frac{\rho E Z (Z + 1) e^4}{137 m_0^2 c^4} \left(4 \ln \frac{2E}{m_0 c^2} - \frac{4}{3} \right), \quad (1.4)$$

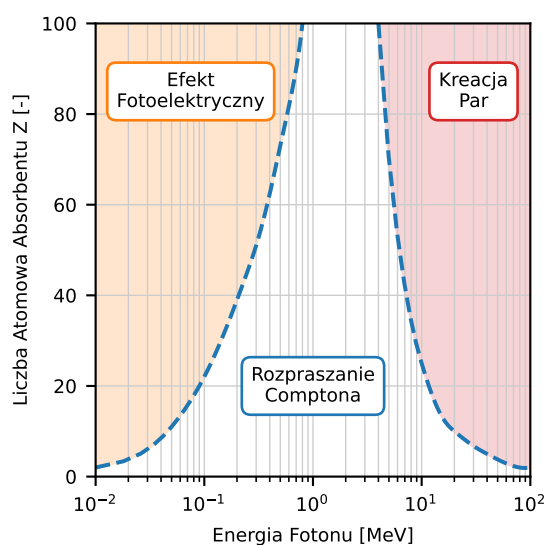
gdzie znaczenie symboli jest identyczne, jak w Równ. (1.3) (przy czym tutaj m_0 oznacza masę rozpatrywanej cząstki naładowanej). Widać stąd, że efekt ten, który manifestuje się poprzez promieniowanie hamowania⁹, jest największy dla wysokoenergetycznej cząstki oddziałującej z absorbentem o wysokiej liczbie atomowej $\sim EZ^2$, która jest obdarzona małą masą (z uwagi na czynnik $\frac{1}{m_0^2}$). Proces ten jest w większości przypadków pomijalny dla protonów i jonów, natomiast może odgrywać dużą rolę dla wysokoenergetycznych elektronów. Stosunek strat energii w wyniku wypromieniowania fotonów do strat w wyniku bezpośredniego oddziaływania dla elektronów można przybliżyć zależnością [110]:

$$\frac{S_r}{S} \simeq \frac{EZ}{700 \text{ MeV}}. \quad (1.5)$$

⁹W literaturze najczęściej można spotkać się z bezpośrednio używanym terminem *bremsstrahlung*. Słowo to pochodzi z języka niemieckiego (*bremsen* – hamować, *Strahlung* – promieniowanie), a jego wprowadzenie i powszechne używanie po dziś dzień świadczy o wkładzie niemieckojęzycznych naukowców w tę dziedzinę.

1.2.1.1 Oddziaływanie promieniowania fotonowego z materią

Istnieją trzy główne kanały interakcji fotonów z materią: *efekt fotoelektryczny*, *rozpraszanie Comptona* oraz *kreacja par*. Prowadzą one do transferu energii fotonów na rzecz innych cząstek (głównie elektronów) oraz rozproszeń. Każdy z tych procesów zachodzi z pewnym prawdopodobieństwem zależnym przede wszystkim od liczby atomowej Z medium absorbującego oraz energii fotonu. Zostało to zilustrowane na Rys. 1.12. Osie wykresów oraz dwie przerywane linie definiują obszary energii fotonu, oraz liczby atomowej absorbentu, dla których prawdopodobieństwo jednego z tych trzech wymienionych efektów jest największe. Przy tym granice między obszarami oznaczają, że dla danych parametrów prawdopodobieństwo zajścia jednego z dwóch efektów jest identyczne.



Rys. 1.12: Względne znaczenie trzech głównych typów oddziaływań promieniowania fotonowego z materią (efekt fotoelektryczny, efekt Comptona i kreacja par) w funkcji jego energii oraz liczby atomowej ośrodka absorbującego. Ukazane przerywane krzywe wyznaczają punkty, dla których dwa sąsiednie efekty mają jednakowe prawdopodobieństwo wystąpienia. Zaadaptowane z [111].

Efekt fotoelektryczny

W wyniku interakcji z atomem absorbującym zachodzi wybitcie elektronu z powłoki, a pierwotny foton znika. Początkowa energia fotonu hf jest zużywana na pracę wyjścia wynikającą z energii wiązania danego elektronu w atomie E_b oraz nadanie mu energii kinetycznej E_k :

$$E_k = hf - E_b \quad (1.6)$$

Zjonizowany atom w celu osiągnięcia korzystnego energetycznie stanu wychwytuje pobliski elektron albo obsadza wolny stan powłoki wewnętrznej za pomocą przeskoków elektronów z wyższych powłok. W ten sposób emitowane są kolejne fotony tzw. charakterystyczne promieniowanie rentgenowskie, których energia jest ściśle zależna od konfiguracji powłok elektronowych atomu. Alternatywnie może również dojść do emisji elektronu z powłoki zewnętrznej, a jego energia będzie równa różnicy między energią wzbudzonego atomu a energią wiązania tego

elektronu na tej powłoce. Proces ten, nazywany *efektem Augera* [110], jest obserwowany głównie dla lekkich pierwiastków, dla których energie wiązania elektronów są niewielkie. Podobnie jak w przypadku widma charakterystycznego promieniowania rentgenowskiego, również wyemitowane w ten sposób elektrony charakteryzują się dyskretnym widmem, jednak ze względu na ich relatywnie niewielką energię rzędu kilku keV są łatwo wychwytywane przez ośrodek.

Rozpraszanie Comptona

Padający foton o energii hf na elektron może ulec rozproszeniu w taki sposób, że część pędu i energii zostanie przekazana temu elektronowi. Niezależnie jednak od kąta θ , pod jakim dojdzie do rozproszenia (rozkład kątowy θ przewiduje *równanie Kleina-Nishiny* [112, 113]), foton będzie niósł ze sobą część energii zgodnie z ($m_e c^2$ – energia spoczynkowa elektronu):

$$hf' = \frac{hf}{1 + \frac{hf}{m_e c^2} (1 - \cos \theta)}. \quad (1.7)$$

Kreacja par

Jeżeli energia fotonu przekroczy wartość 1,02 MeV, czyli podwojoną energię spoczynkową elektronu oraz znajdzie się on w polu innej cząstki lub jądra atomowego, może dojść do zjawiska kreacji par¹⁰. W jego następstwie energia pierwotnego fotonu zamieniana jest na dwie cząstki: elektron i pozyton o pewnej energii kinetycznej wynikającej z różnicy energii pierwotnego fotonu oraz energii spoczynkowej cząstek. Efektem ubocznym tego zjawiska jest wygenerowanie przeważnie dwóch fotonów każdy o energii równej energii spoczynkowej elektronu, gdyż w pewnym momencie pozyton anihiluje, gdy zostanie spowolniony przez otaczające go medium.

1.2.1.2 Źródła promieniowania

W pewnym sensie można stwierdzić, że wszystko jest źródłem promieniowania jonizującego. Organizmy żywe składają się w dużej części z węgla – część atomów będzie zatem izotopem ^{14}C , który ulega rozpadowi β^- . Natomiast działanie tkanek pobudliwych wymaga obecności jonów potasu, którego izotop generuje promieniowanie γ lub β . Szacuje się, że w trakcie każdej sekundy w ciele człowieka dochodzi do ~ 7500 rozpadów [114].

Do celów terapii onkologicznej ważne jest jednak aby źródło promieniowania dało się kontrolować pod względem intensywności, czasu oraz obszaru oddziaływania na guz. Te warunki bardzo dobrze spełniają akceleratory cząstek, czyli urządzenia, które generują sztuczne (czyli niewystępujące w sposób naturalny) promieniowanie o ściśle określonych właściwościach dostosowywanych każdorazowo do indywidualnej sytuacji pacjenta.

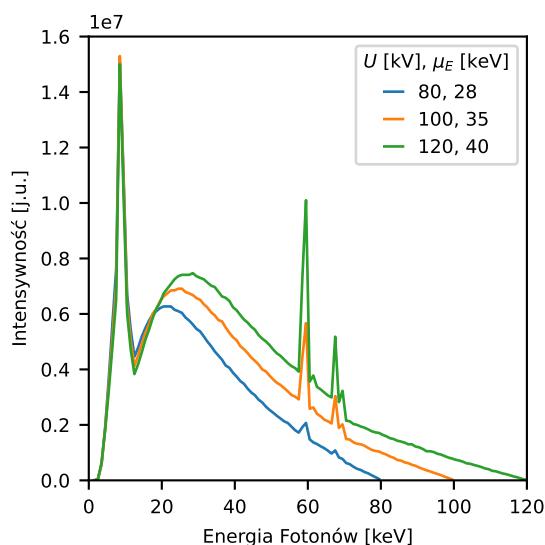
Pierwszym użytkownikiem¹¹ (a przez to odkrywcą) sztucznego promieniowania fotonowego o wysokiej energii był Wilhelm Conrad Röntgen w 1895 roku [115], za co został uhonorowany pierwszą Nagrodą Nobla w dziedzinie fizyki w 1901 roku [116]. Jeden z najprostszych modeli urządzenia do generowania użytecznego promieniowania wysokoenergetycznego składa się z bańki szklanej, w której znajdują się dwie elektrody. Materiał katody (np. wolfram) jest rozgrzewany do wysokich temperatur, wskutek czego części elektronów udaje się oderwać

¹⁰Dodatkowa cząstka jest potrzebna, gdyż przejmuje ona część pędu fotonu.

¹¹Nie było to równoznaczne ze świadomością konsekwencji zdrowotnych, jakie może powodować.

z powierzchni (termoemisja). Elektrony te ulegają przyspieszeniu w polu elektrycznym między katodą a anodą, w którą uderzają z dużą energią i wytracają ją poprzez oddziaływania kulombowskie oraz radiację (Równ. (1.4) oraz Równ. (1.5)). Dlatego właśnie widmo otrzymanego promieniowania jest szerokie, (semi)ciągłe, z maksimum energii odpowiadającym energii elektronu padającego na materiał anody (Rys. 1.13).

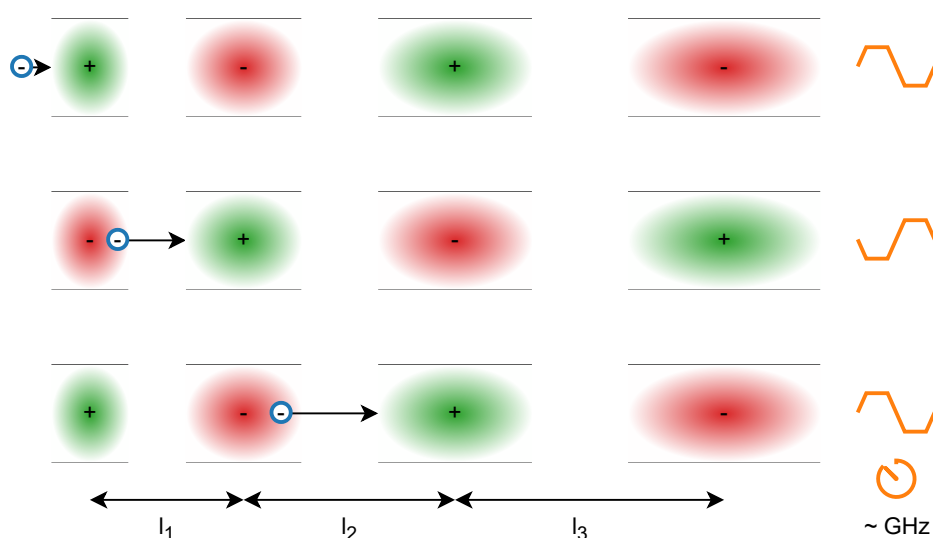
Efektywność zamiany energii kinetycznej elektronów na fotony jest tym większa im większy iloczyn ich energii oraz liczby atomowej materiału zgodnie z Równ. (1.5). Dla energii elektronów 100 keV uderzających w tarczę wolframową ($Z = 74$) stosunek energii radiacyjnej do energii rozprożeń manifestującej się w postaci ciepła wynosi $<1\%$ (właśnie dlatego anoda musi podlegać intensywnemu chłodzeniu np. ciecżą).



Rys. 1.13: Symulacja widma lampy rentgenowskiej z anodą wykonaną z wolframu dla trzech przykładowych napięć przyspieszających $U = 80, 100$ oraz 120 kV. W legendzie zostały również pokazane średnie wartości energii promieniowania μ_{E^-} wynoszą one ok. $1/3$ energii elektronów przed kontaktem z (wirtualną) anodą. Na ciągłe widmo związane z hamowaniem elektronów nałożone jest widmo charakterystyczne wolframu, które w materiale powstaje w wyniku wtórnej emisji fotonów z atomu, gdy zapełniane jest wolne miejsce po wybitym elektronie. Dane źródłowe wygenerowano za pomocą programu opisywanego w [117].

Przyspieszanie cząstek w statycznym polu elektrycznym, choć stosunkowo łatwe technologicznie ma swoje ograniczenia, które przede wszystkim sprowadzają się do maksymalnej uzyskiwanej przez nie energii. Dla przykładu w standardowych lampach rentgenowskich napięcie zasilania wynosi ~ 100 kV, co przekłada się na energię kinetyczną elektronów ~ 100 keV [118], podczas gdy w akceleratorach liniowych z łatwością osiągnąć są energie rzędu setek MeV [119]. W urządzeniach tego typu cząstki naładowane przechodzą kolejno przez serię wnęk rezonansowych sterowanych sygnałem o wysokiej częstotliwości (Rys. 1.14). Cząstka, (dla przykładu, skupimy się na elektronach), zbliżając się do pierwszej wnęki rezonansowej, jest przez nią przyciągana potencjałem dodatnim, który jest zmieniany na ujemny zaraz po tym, jak elektron przejdzie przez jej środek. W tym samym momencie kolejna wnęka zaczyna ją przyciągać. Efektywnie dochodzi w ten sposób do stopniowego przyspieszania cząstek. Z racji tego, że stacje sterowane są tym samym źródłem sygnału odpowiedzialnego za zmianę potencjału wnęk,

odległość między kolejnymi stacjami rośnie odpowiednio z uwzględnieniem efektów relatywistycznych. Ponadto należy zauważyć, że z uwagi na sposób działania na wyjściu akceleratora cząstki występują w pakietach. Urządzenia tego typu mogą stanowić samodzielne źródło promieniowania lub być pierwszym stopniem akceleracji przed wstrzyknięciem cząstek do synchrotronu. Najśłynniejszym obecnie synchrotronem na świecie jest Wielki Zderzacz Hadronów (ang. *Large Hadron Collider, LHC*) (kompleks naukowo technologiczny położony w okolicy granicy szwajcarsko-francuskiej, pod Genewą), który wykorzystuje wysokoenergetyczne $\sim 6,5$ TeV przeciwbieżne wiązki protonów i jonów m.in. do badań związanych ze strukturą materii i Wszechświata¹². Maszyna ta o kształcie w przybliżeniu kołowym zwiększa energię cząstek poprzez wielokrotne ich przechodzenie przez te same sekcje wnek rezonansowych¹³, a do zakrzywiania toru wiązki i jej skupiania wykorzystywane są sekcje magnesów.



Rys. 1.14: Zasada działania akceleratora liniowego na przykładzie elektronów. Potencjał wnek sterowany jest sygnałem o wysokiej częstotliwości (rzędu GHz). Cząstka, zbliżając się do niej, odczuwa wpływ potencjału przyciągającego, który powoduje zwiększenie jej energii kinetycznej. Natomiast po jej minięciu jest przez nią odpychana i jednocześnie przyciągana przez kolejną stację w wyniku zmiany fazy sygnału sterującego. Na podstawie [122, 123].

1.2.2 Wielkości dozymetryczne i planowanie leczenia

Wartość energii promieniowania zaabsorbowanego przez jednostkę masy nazywana jest dawką pochłoniętą [114]:

$$D \{Gy\} = \frac{1}{\rho} \frac{dW}{dV}, \quad (1.8)$$

gdzie:

- dW – wartość zaabsorbowanej energii,
- dV – element objętości,

¹²Pozytywnym skutkiem ubocznym tych działań jest zapoczątkowanie Internetu [120] czy znaczny wkład w technikę obrazowania wykorzystującą fotony pochodzące z anihilacji pozytonów tzw. pozytonowa tomografia emisyjna (ang. *Positron Emission Tomography, PET*) [121].

¹³Na tym etapie trudno już mówić o przyspieszaniu, gdyż prędkość cząstek na wyjściu akceleratora liniowego często jest bliska prędkości światła. Dla przykładu przy energii elektronów ~ 550 MeV na wejściu tzw. pierścienia akumulacyjnego synchrotronu *SOLARIS* mają one prędkość $0,9999996c$ [119].

- ρ – gęstość absorbentu,

i wyrażana jest w *grejach* [Gy]. Taka definicja nie bierze jednak pod uwagę biologicznego efektu wywołanego przez to promieniowanie. Stąd dla różnych rodzajów promieniowania definiowany jest *współczynnik wagowy promieniowania* w_R . Zgodnie z zaleceniami Międzynarodowej Komisji ds. Ochrony Radiologicznej (ang. *International Commission on Radiological Protection, ICRP*) wartości te kształtują się następująco (Tab. 1.1):

Tab. 1.1: Współczynniki wagowe promieniowania w_R [124].

Rodzaj promieniowania	Współczynnik wagowy w_R $\left[\frac{\text{Sv}}{\text{Gy}}\right]$
fotony	1
elektrony, pozytony, miony	1
neutrony	5 – 20 (zależnie od energii)
protony	5 (>2 MeV)
α , jony, fragmenty rozszczepień	20

Suma dawek pochodzących z różnych źródeł promieniowania D_R nazywana jest *dawką równoważną*, wyrażaną w *siwertach* [Sv]:

$$H \{\text{Sv}\} = \sum_R w_R D_R. \quad (1.9)$$

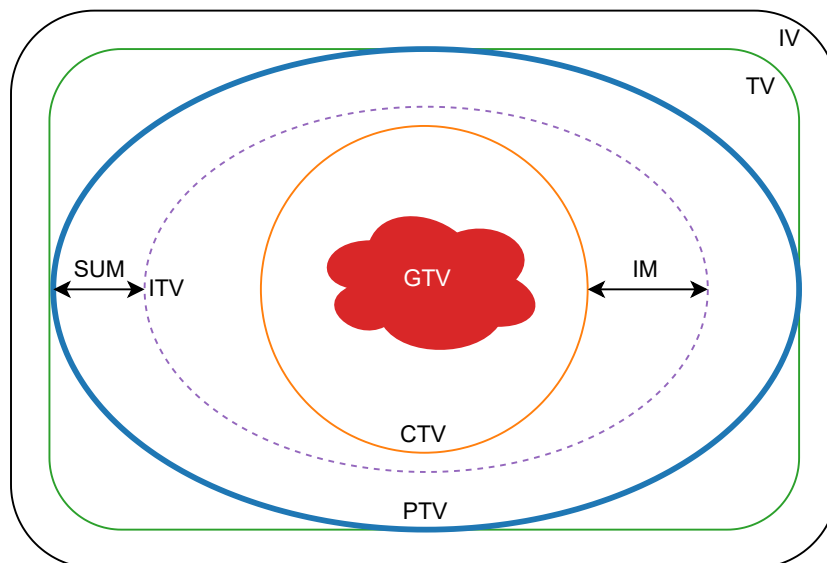
Wielkość ta jednak jest nadal niewystarczająca, gdyż różne tkanki ludzkiego ciała mają własną podatność na promieniowanie, która określana jest *współczynnikiem wagowym tkanki* w_T [124]. Równoważna dawka efektywna jest dzięki temu zdefiniowana poprzez:

$$H_{eff} = \sum_T w_T H_T = \sum_T w_T \sum_R w_R D_{T,R}. \quad (1.10)$$

Efektywność leczenia zależy od odpowiedniego doboru rozkładu dawki w napromienianej objętości zawierającej komórki nowotworowe. W przeciwieństwie jednak do leczenia operacyjnego dostarczone promieniowanie nie ma charakteru miejscowego, a część jego energii zostanie zaabsorbowana przez zdrowe, poprawnie funkcjonujące tkanki i narządy. W związku z tym utworzono terminologię dotyczącą definicji obszaru zmian nowotworowych oraz ich sąsiedztwa, które są poddawane napromienieniu (Rys. 1.15) [125, 126].

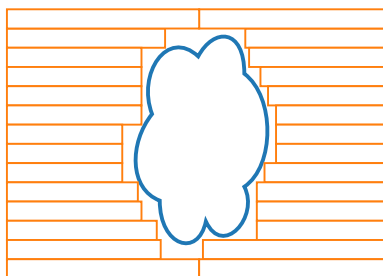
Centralny obszar stanowi makroskopowa objętość guza (ang. *Gross Tumor Volume, GTV*), który jest zmianą chorobową stosunkowo łatwą do wykazania za pomocą diagnostycznych technik obrazowania medycznego takich jak zdjęcie rentgenowskie, tomografia komputerowa czy ultrasonografia. GTV poszerzany jest o kliniczną objętość tarczową (ang. *Clinical Target Volume, CTV*), która uwzględnia ewentualne niezauważalne mikrorozsiewy komórek nowotworowych. Do tego doliczany jest jeszcze margines wewnętrzny (ang. *Internal Margin, IM*), który uwzględnia ewentualne ruchy wewnątrznarządowe oraz oczekiwaną zmianę wielkości, kształtu i położenia CTV, co skutkuje wyznaczeniem wewnętrznej objętości tarczowej (ang. *Internal Target Volume, ITV*). Finalnie planowana objętość tarczowa (ang. *Planning Target Volume,*

PTV) powstaje poprzez dodanie do ITV marginesu niepewności (ang. *Set-Up Margin*, SUM) biorącego pod uwagę niepewność ułożenia chorego na stole terapeutycznym względem zaplanowanej osi wiązki [125, 126].



Rys. 1.15: Uproszczony, schematyczny rzut dwuwymiarowy objętości definiowanych na potrzeby radioterapii, w celu przygotowania właściwego planu leczenia pacjenta. Centralny obszar zajmuje makroskopowy guz, który na etapie planowania leczenia jest rozszerzany o kolejne marginesy wynikające z czynników biologicznych, statystycznych oraz fizycznych. Znaczenie poszczególnych symboli opisane w tekście. Na podstawie [125, 126].

Celem terapii jest dostarczenie dawki terapeutycznej gwarantującej usunięcie zmian nowotworowych do objętości leczonej (ang. *Treated Volume*, TV). Ze względu na fizyczne własności wiązki promieniowania $TV \geq PTV$. Aby dostosować kształt wiązki do pożądanego kształtu, stosuje się kolimatory wielolistkowe (ang. *Multi-Leaf Colimator*, MLC) – wkładane w oś wiązki redukują natężenie promieniowania poza wyznaczonym obszarem (Rys. 1.16). Ponadto ich wykorzystanie ogranicza objętość napromienianą (ang. *Irradiated Volume*, IV), która otrzymuje znaczącą dawkę względem tolerancji na promieniowanie tkanek zdrowych.



Rys. 1.16: Schemat działania MLC . Obszar odkryty przez kolimator dostosowywany jest do skomplikowanej geometrii PTV w danej orientacji źródła promieniowania względem pacjenta. Wszystko po to, aby ograniczyć napromienienie zdrowych tkanek i zintensyfikować pozytywny efekt terapeutyczny.

Planowanie leczenia wymaga zdefiniowania również organów krytycznych, które mogą występować w okolicach PTV , a nawet być jego częścią, a których funkcjonowanie może zostać

w sposób istotny zagrożone w wyniku oddziaływania promieniowania (np. dla terapii guza mózgu narządem krytycznym będzie soczewka i gałka oczna). Niestety jest to zasadniczy problem radioterapii, który aktualnie rozwiązywany jest za pomocą komputerowych systemów wspomagających, które optymalizują terapię. Te swoje działanie opierają na algorytmach symulujących transfer energii promieniowania w ciele pacjenta na podstawie wcześniej zarejestrowanych obrazów z tomografii komputerowej oraz innych danych wprowadzonych przez osoby odpowiedzialne za przygotowanie indywidualnego planu terapii. Na tym polu dostępne są narzędzia komercyjne takie jak *OncentraTM* [127], *PRIMO*, dzięki któremu możliwe jest symulowanie działania akceleratorów medycznych i estymacja rozkładu przestrzennego dawki [128] czy pakiet *Geant4*, który pozwala analizować oddziaływanie promieniowania przechodzącego przez dowolne medium [129]. Coraz częściej na etapie planowania leczenia wykorzystuje się również techniki uczenia maszynowego (ang. *Machine Learning, ML*), które mogą wspomagać określanie poszczególnych obszarów tarczowych oraz optymalizować profil wiązki promieniowania przy minimalnej ingerencji ludzkiej [130].

Liczba kroków, które trzeba zaplanować i przemyśleć w całym tym procesie sprawia, że jest on podatny na błędy. Co więcej, algorytmy obliczające rozkład przestrzenny dawek, choć ciągle ulepszone, nadal nie są idealne. Dlatego plany leczenia poddawane są walidacji, podczas której wiązką terapeutyczną naświetla się mniej bądź bardziej złożone fantomy antropomorficzne, zbudowane z materiałów i o kształcie przypominającym ludzkie tkanki i ciało. Materiały składowe cechują się współczynnikami pochłaniania promieniowania, które odwzorowują zachowanie się tkanek biologicznych takich jak tkanka tłuszczowa, mięśniowa czy kostna. Depozycja energii promieniowania w fantomie jest mierzona i porównywana z zamierzonymi efektami. Na tej podstawie plan leczenia ulega ewentualnemu zatwierdzeniu lub poprawieniu.

Zasadniczy problem dotyczący dostępnych fantomów polega na tym, że ich rozmiary są standaryzowane i nie odwzorowują sylwetki, postury danego pacjenta. Dla przykładu żeńska forma *fantomu Aldersona* odpowiada kobiecie o wadze 50 kg przy wzroście 1,55 m [131]. Otrzymywane z jego pomocą wyniki mogą w znacznym stopniu odbiegać od tego, jaką dawkę i w którym miejscu pacjent rzeczywiście przyjmie. Od dokładności przeprowadzonej ewaluacji planu terapii pacjenta zależy w końcu jego komfort, zdrowie a przede wszystkim życie.

1.2.2.1 System radioterapeutyczny na przykładzie *TrueBeamTM* firmy *Varian*

Jednym z uznanych producentów urządzeń, dzięki którym możliwe jest przeprowadzanie radioterapii jest firma *Varian*. W Polsce istnieje 16 ośrodków medycznych wyposażonych w ich rozwiązania [132], a dużą część z nich stanowią instrumenty klasy *TrueBeamTM* [133]. Ich główny komponent stanowi głowica umożliwiająca kształtowanie wiązki elektronów lub promieniowania rentgenowskiego o maksymalnym polu przekroju poprzecznego 40 cm × 40 cm za pomocą 120-elementowego MLC. Źródłem promieniowania jest akcelerator liniowy, odpowiedzialny za generowanie wiązek fotonów 4, 6, 8, 10, 15 MV oraz elektronów o energiach

6, 9, 12, 16, 20 i 22 MeV [134, 135] (Rys. 1.17). Podawana przez producenta maksymalna intensywność promieniowania fotonowego sięga $14 \frac{\text{Gy}}{\text{min}}$ oraz $24 \frac{\text{Gy}}{\text{min}}$ odpowiednio dla 6, oraz 10 MV¹⁴. Ze względu na zasadę działania akceleratora liniowego wiązka nie jest ciągła, a dawki dzielone są na impulsy do 360 w ciągu minuty [138].



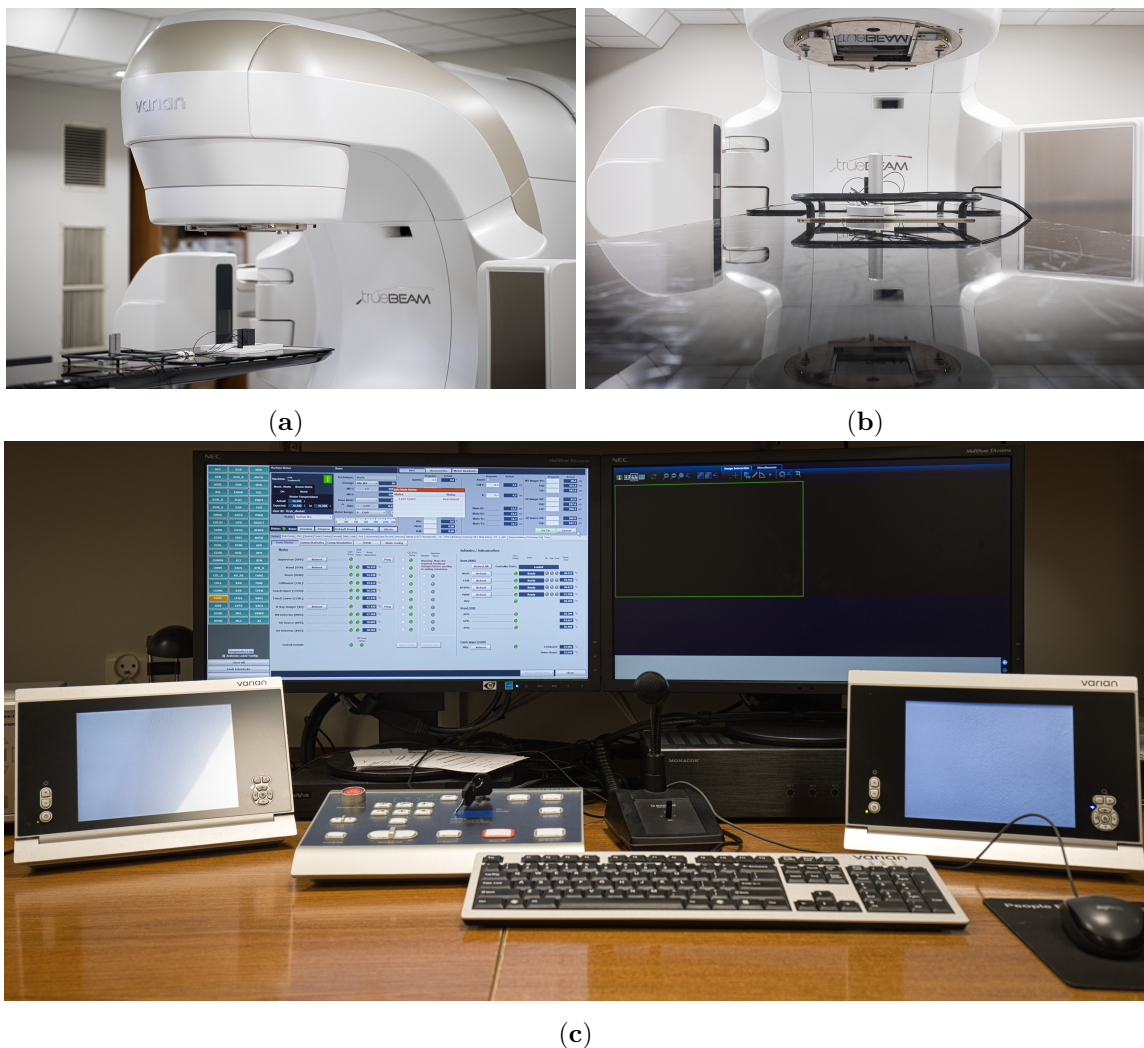
Rys. 1.17: Wizualizacja techniczna komponentów składowych urządzenia *TrueBeamTM*. Akcelerator liniowy znajduje się w górnej części grafiki. Promieniowanie fotonowe lub elektro-
nowe jest odpowiednio kształtowane przez filtry oraz MLC i jest kierowane w stronę zmian chorobowych u pacjenta znajdującego się na stole. Zaadaptowane z [139].

Przytoczone parametry działania *TrueBeamTM* pozwalają przede wszystkim skrócić czas trwania pojedynczej sesji naświetlania do ~ 2 min, co znacznie wpływa na komfort pacjenta [140–142]. Ponadto na bezpieczeństwo procesu terapeutycznego składa się m.in. [134]:

- monitorowanie całkowitej dawki promieniowania na wyjściu urządzenia;
- obrazowanie tkanek za pomocą dodatkowej lampy rentgenowskiej i detektora promieniowania na bazie krzemu w trakcie procesu naświetlania (Rys. 1.18);
- rozbudowany system monitoringu pacjenta, w tym jego rytmu oddechowego, dzięki czemu możliwe jest wstrzymanie wiązki, gdy zmiany chorobowe znajdują się w tymczasowo nieoptymalnej pozycji.

W trakcie naświetlania pacjent zostaje położony na stole wykonanym z wytrzymałego materiału o niskiej gęstości, który ogranicza rozpraszanie wiązki. Dzięki możliwości obracania głowicy wokół osi wyznaczonej przez dłuższy bok stołu promieniowanie może docierać do tkanek pod odpowiednim kątem, zgodnym z opracowaną procedurą. Co więcej, w danej sesji położenie głowicy oraz konfiguracja MLC mogą ulegać zmianom.

¹⁴Dawki raportowane przez urządzenie w rzeczywistości dotyczą tkankopodobnego fantomu na pewnej głębokości od powierzchni, na którą pada to promieniowanie. W gestii producenta pozostaje zdefiniowanie warunków pomiaru tego parametru, choć istnieją pewne rekomendacje [136]. Oprogramowanie dokonuje odczytu z detektora promieniowania na wyjściu głowicy i na tej podstawie oszacowuje ile jednostek monitorujących (ang. *Monitor Unit, MU*) zostało zaabsorbowanych przy tych założeniach [137]. Zgodnie z przyjętą konwencją $1 \text{ Gy} = 100 \text{ MU}$.



Rys. 1.18: (a) Fotografia systemu *TrueBeam*TM znajdującego się w Narodowym Instytucie Onkologii w Krakowie. (b) Podsystem do obrazowania za pomocą promieniowania rentgenowskiego (lewe i prawe skrzydło) oraz okno wyjściowe wiązki terapeutycznej (dolna część głowicy). (c) Stanowisko operatora urządzenia, z którego poziomu odbywa się sterowanie parametrami *TrueBeam*TM. Widoczne dwa mniejsze monitory oraz mikrofon pozwalają utrzymać komunikację z pacjentem, gdy ten jest poddawany naświetlaniu.

1.2.3 Metody detekcji promieniowania

Opisane niżej narzędzia to tylko skromny wycinek zagadnienia dotyczącego detekcji wysokoenergetycznego promieniowania. Niemniej jednak ich dobór wynika wprost z kompozycji projektu opisywanego w kolejnym rozdziale.

1.2.3.1 Scyntylatory

Scyntylatory, czyli materiały, które pod wpływem promieniowania jonizującego generują kwanty światła, są chętnie wykorzystywane do jego detekcji. Przykładem tego typu substancji jest siarczek cynku ZnS , który był wykorzystywany przede wszystkim w początkach fizyki jądrowej ze względu na to, że generowane przez niego błyski światła są dostrzegalne ludzkim okiem [110, 143]. Scyntylatorem mogą być kryształy nieorganiczne (np. jodek cezu

CsI, domieszkowany talem jodek sodu NaI(Tl)), związki organiczne (np. plastiki [144]), ciecze lub gazy (np. argon, ksenon) [114]. W przypadku każdej z tych grup mechanizm generowania światła jest nieco inny, ale w uproszczeniu sprowadza się do tego, że promieniowanie wpadające w objętość scyntylatora deponuje w nim energię, dzięki której atomy ośrodka ulegają wzbudzeniu. Stany wzbudzone jednak nie są stabilne i atomy wypromieniowują nadwyżkę energii w postaci kwantów światła, które można zarejestrować.

Od materiału scyntylacyjnego oczekuje się, że będzie cechować się [110]:

- wysoką efektywnością scyntylacji (definiowaną jako część energii padającego promieniowania, które jest zamieniane w światło, które można zarejestrować)¹⁵, niezależną od energii wejściowego promieniowania czy czynników zewnętrznych takich jak np. wilgotność, czy temperatura;
- uzyskiem liczby fotonów proporcjonalnym do depozytu energii, co przekłada się na późniejszą możliwość powiązania zarejestrowanych danych z wejściowym promieniowaniem;
- przezroczystością dla emitowanych przez siebie fotonów, dzięki czemu nie będą podlegały absorpcji utrudniającej detekcję;
- odpornością na ewentualne zniszczenia radiacyjne, co jest ważne przy narażeniu na wysokie dawki oraz ich natężenie;
- szybką odpowiedzią z krótkim czasem zaniku, dzięki której będzie możliwe rozróżnienie między poszczególnymi kwantami promieniowania;
- łatwością obróbki mechanicznej i przystosowania go do wymaganego kształtu i rozmiarów budowanego detektora w określonym budżecie pieniężnym;
- współczynnikiem załamania światła bliskim współczynnikowi dla szkła, czyli $\sim 1,5$, co ułatwiłoby jego połączenie z innymi urządzeniami używanymi w torze pomiarowym.

Dla przykładu scyntylatory plastikowe mogą przyjmować niemal dowolne kształty (również przy wykorzystaniu techniki druku 3D [144, 145]) w przeciwieństwie do kryształów nieorganicznych, których proces wytwarzania jest bardziej skomplikowany i kosztowny. Ze względu na fakt, że jest to materiał organiczny, można w pewnym stopniu upodobnić jego własności związane z gęstością oraz efektywną liczbą atomową, aby pod względem odpowiedzi na promieniowanie zachowywał się w sposób zbliżony do tkanek biologicznych. Z drugiej strony tego typu materiały zazwyczaj są też mniej odporne na promieniowanie oraz warunki panujące w otaczającym je środowisku. Po zaabsorbowaniu skumulowanych dawek promieniowania fotonowego rzędu 10^4 Gy w przypadku scyntylatorów plastikowych obserwuje się znaczne pogorszenie efektywności generowania scyntylacji [146, 147]. Materiały te są również wrażliwe na oddziaływanie światła, powietrza i wilgoci, które negatywnie wpływają na ich pracę [148]. Wspomniane wady można jednak łatwo złagodzić poprzez monitoring dawek oraz środowiska, a w razie potrzeby zużyty moduł można wymienić na nowy bez ponoszenia wysokich kosztów.

Światło wygenerowane w objętości scyntylatora może propagować się w dowolnym kierunku, a sygnał świetlny przeważnie odbierany jest tylko w jednym jego miejscu (np. dla scyntylatora w kształcie sześciianu fotony będą zbierane z powierzchni jednej ze ścianek). Aby zmaksymalizować efektywność odbierania światła, stosuje się pokrycie ścianek materiałem, dzięki

¹⁵Niska efektywność scyntylacji będzie skutkowałą nie tylko trudnością detekcji światła, ale również nagrzwaniem się materiału w wyniku nieradiacyjnego rozpraszania energii.

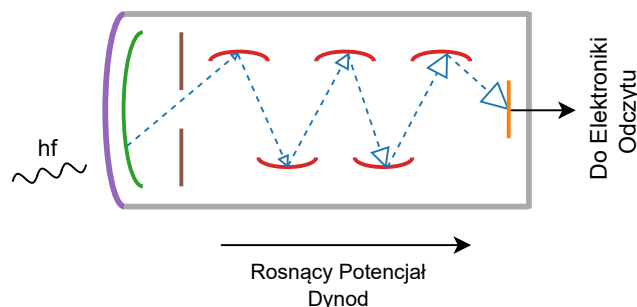
któremu fotony, zamiast uciec niezauważone, odbijają się z powrotem do scyntylatora. Wykorzystuje się do tego zjawisko całkowitego wewnętrznego odbicia, dla którego ważne jest, aby współczynnik załamania światła materiału refleksyjnego n_1 był mniejszy niż materiału scyntylatora n_0 , gdyż od tego zależy wartość kąta krytycznego α_c . Jest to minimalny kąt padania, dla którego foton pozostanie w danym ośrodku ze 100 % prawdopodobieństwem¹⁶:

$$\alpha_c = \arcsin \frac{n_1}{n_0}. \quad (1.11)$$

Jednocześnie różnica współczynników załamania w miejscu, z którego odbierane są fotony przez system odczytowy, musi być jak najmniejsza tak, aby zmaksymalizować prawdopodobieństwo opuszczenia światła ze scyntylatora, tym samym zwiększając wydajność detekcji.

1.2.3.2 Fotopowielacze

Światło wygenerowane w scyntylatorze w następstwie zaabsorbowania dawki promieniowania jest stosunkowo słabym sygnałem, który należy wzmocnić, aby uzyskać odpowiedni impuls elektryczny. Do tego celu bardzo dobrze nadają się fotopowielacze (ang. *PhotoMultiplier Tubes*, *PMT*), które dokonują konwersji krótkich i słabych rozbłysków światła składających się nawet z pojedynczego fotonu do postaci impulsu elektrycznego (Rys. 1.19) [114].



Rys. 1.19: Uproszczony schemat budowy i działania PMT. Wejściowy foton o energii hf powoduje wygenerowanie w wyniku efektu fotoelektrycznego elektronu, który jest przyspieszany w rosnącym potencjale w kierunku pierwszej dynody. Tam rozprędzony elektron wybija kolejne elektrony, które zaczynają być przyciągane przez następną z dynod, która znajduje się na wyższym potencjale niż poprzednia. W ten sposób następuje lawinowe generowanie elektronów (ich rosnąca liczba symbolizowana jest przez zwiększający się grot strzałek). Ostatecznie wygenerowane elektrony trafiają do anody, z której sygnał w postaci impulsu prądowego odczytywany jest przez elektronikę odczytu. Na podstawie [110, 114, 150].

Ideowo, PMT składa się z dwóch kluczowych elementów: fotokatody oraz sekcji lawinowego wzrostu liczby elektronów. Całość znajduje się w próżni, dzięki czemu proces konwersji

¹⁶Związki wiążące ze sobą refleksję i transmisję są o wiele bardziej złożone i ciekawe z matematycznego, oraz fizycznego punktu widzenia. Przede wszystkim zawierają w sobie zależność od energii poszczególnych kwantów (tzw. *relacja dyspersji*). Więcej informacji na ten temat, wraz z opisem matematycznym zainteresowany Czytelnik może odnaleźć np. w pracy magisterskiej Autora [149].

może zachodzić w kontrolowanych warunkach. Fotokatoda dokonuje konwersji fotonów padających przez okienko wejściowe PMT¹⁷ na (foto)elektrony, dzięki efektowi fotoelektrycznemu (Równ. (1.6)). Wybite ładunki przechodzą przez elektrody filtrująco-skupiające i przyspieszają w polu elektrycznym w kierunku dynody. W efekcie zderzenia z dynodą wybijanych jest więcej elektronów, niż było przed tą interakcją. Elektrony te są następnie przyciągane przez kolejne dynody, a na impuls widziany przez anodę (elektrodę końcową połączoną z systemem odczytowym) składa się już nawet 10^{10} elektronów i w większości przypadków ich liczba jest proporcjonalna do liczby pierwotnych fotoelektronów.

PMT z pojedynczą anodą pozwala na zarejestrowanie sygnału wejściowego, jednak nie umożliwia odtworzenia informacji o położeniu zdarzenia w przestrzeni okienka wejściowego. Problem ten rozwiązują wieloanodowe fotopowielacze (ang. *Multianode PhotoMultiplier Tubes, MA-PMT*), gdzie sekcje dynod oraz elektrody zbiorcze są odpowiednio zwielokrotnione dzięki czemu możliwy jest odczyt wielokanałowy [150].

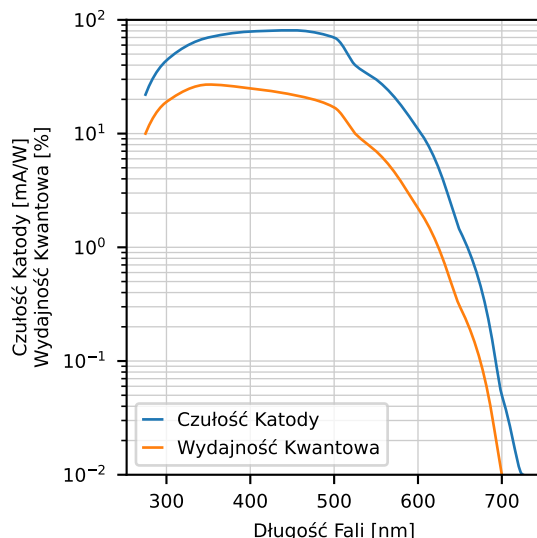
Pobieżna analiza Równ. (1.6) prowadzi do wniosku, iż aby nastąpiło wybitcie elektronu z powierzchni fotokatody, wejściowe fotony muszą charakteryzować się pewną minimalną energią. Maksymalna długość fali fotonu pierwotnego zależy od materiału, z którego wykonana jest fotoelektroda. Dla przykładu elektrody cezowo-tellurkowe (Cs – Te) są niewrażliwe na fale promieniowania widzialnego (tj. $\lambda > 300$ nm), natomiast materiały bialkaliczne (Sb – Rb – Cs czy Sb – K – Cs) umożliwiają generowanie fotoelektronów na podstawie promieniowania widzialnego do ~ 700 nm [150]. Z drugiej strony możliwość wzmacniania fotonów nadfioletowych będzie ograniczana przez materiał, z którego wykonane jest okienko, przez które fotony przedostają się do fotokatody. Fluorek magnezu MgF_2 przepuszcza promieniowanie w szerokim zakresie aż do $\lambda = 115$ nm, zaś szkło borokrzemowe, które jest najczęściej wykorzystywane, pochłania kwanty światła o długości krótszej niż $\lambda = 300$ nm.

Czułość PMT na padające światło można zdefiniować na dwa równoważne sposoby albo jako *czułość katody na promieniowanie* S_c (ang. *cathode radiant sensitivity*), albo poprzez *wydajność kwantową* η (ang. *quantum efficiency*). Czułość katody otrzymuje się w wyniku podzielenia wartości prądu generowanego przez katodę przez moc strumienia padających na nią fotonów o danej długości fali i mierzony jest w amperach na wat (A/W). Natomiast wydajność kwantowa η jest niczym innym niż stosunkiem średniej liczby elektronów wyemitowanych przez katodę do liczby zaabsorbowanych fotonów o danej energii. Relacja między tymi wartościami charakterystycznymi jest opisana przez:

$$\eta = \frac{hc}{\lambda e} S_c \times 100 \%, \quad (1.12)$$

gdzie h , c , e to odpowiednio stała Plancka, prędkość światła w próżni oraz ładunek elektronu. Natomiast λ jest długością fali absorbowanego elektronu. Przykładowa charakterystyka wydajności PMT w funkcji długości fali fotonów została pokazana na Rys. 1.20.

¹⁷Scyntylicator znajduje się przy tym albo bezpośrednio połączony z okienkiem wejściowym PMT, albo światło jest transferowane między tymi komponentami za pomocą światłowodów.



Rys. 1.20: Czulość katody, oraz wydajność kwantowa przykładowego MA-PMT dostępnego komercyjnie. Widoczny szybki spadek wydajności dla fotonów o niskiej energii oraz ostry początek charakterystyki wynikający z zastosowanego okienka, przez które fotony przedostają się do wnętrza MA-PMT. Zaadaptowane z [151].

Wzmocnienie sygnału K w tego typu urządzeniach jest funkcją liczby etapów generowania prądu. Jeżeli każda z N dynod średnio dla każdego elektronu generuje δ elektronów to:

$$K = \alpha \delta^N, \quad (1.13)$$

gdzie α jest współczynnikiem zdolności zbierania elektronów przez anodę. Co więcej, δ jest funkcją napięcia między kolejnymi dynodami V : $\delta \propto V$, zatem:

$$K \propto \alpha V^N. \quad (1.14)$$

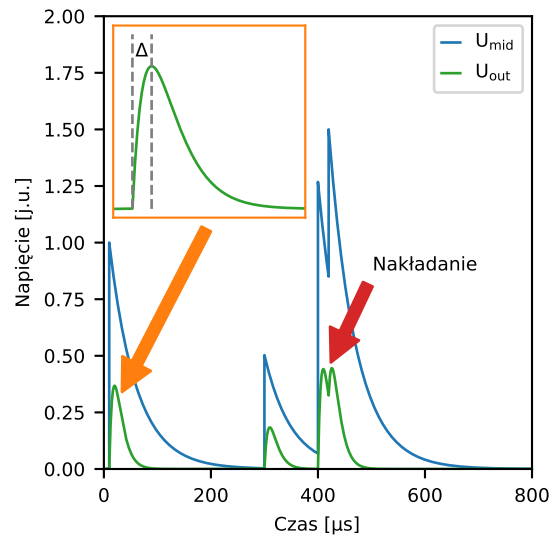
W praktyce jednak wykładnik potęgi jest modyfikowany przez czynnik p , który waha się między 0,6 a 0,9 [110]. Z uwagi na poziomy wzmocnienia, które mogą osiągać wartość $K = 10^{10}$ ważne jest, aby PMT było izolowane świetlnie od otoczenia. Narażenie urządzenia na światło słoneczne, gdy jest ono zasilone, może prowadzić do jego zniszczenia wskutek przekroczenia wartości bezpiecznych prądu określonych przez producenta.

Z działaniem PMT ściśle związana jest obserwacja tzw. *prądu ciemnego*. Elektrony w materiale katody są w ciągłym ruchu, a ich średnia energia kinetyczna w warunkach pokojowych wynosi $\sim 0,025$ eV. Niektóre z nich mogą mieć energię, która przekracza barierę potencjału E_b , przez co istnieje prawdopodobieństwo, że uda im się opuścić katodę i zapoczątkować proces wzmocnienia sygnału. W efekcie czego zostanie odnotowany impuls, który jednak nie został wygenerowany w wyniku zaabsorbowania fotonu – sygnał ten jest traktowany jako szum. Jego występowanie można ograniczyć poprzez obniżenie temperatury PMT.

1.2.3.3 Elektronika odczytu

Sygnaly generowane przez PMT są dość szybkie o czasie narastania impulsu prądowego rzędu 1 ns [114, 151]. Ich bezpośredni pomiar jest dość kłopotliwy dlatego do ich odczytu wykorzystuje się ASIC, które implementują odpowiednie potoki przetwarzania sygnałów, dzięki którym można finalnie określić liczbę lub energię zdarzeń zarejestrowanych w objętości detektora. Przeważnie na wejściu takiego układu znajduje się wzmacniacz ładunkowy (konwerter prąd-napięcie) o stałej czasowej $\tau_{in} = 50 - 100 \mu\text{s}$, co pozwala odebrać całość wejściowego ładunku. Jednakże, gdy częstotliwość rejestrowanych zdarzeń jest znacząca, sygnały zaczynają nakładać się na siebie (wartość sygnału nie zdąży wrócić do poziomu bazowego). Zastosowanie filtru pasmowoprzepustowego na kolejnym etapie pozwoli ukształtować je w taki sposób, aby czas ich trwania został zredukowany, a jednocześnie ich amplituda pozostała proporcjonalna do ładunku wejściowego (Rys. 1.21). Stała czasowa tego filtru powinna zostać odpowiednio dobrana, aby ograniczyć niekorzystne efekty związane z nakładaniem się sygnałów od różnych zdarzeń, a jednocześnie być wystarczająco długa, aby umożliwić odczyt amplitudy z dużą dokładnością.

W układach implementujących taki potok przetwarzania sygnałów czas narastania przebiegu U_{out} jest niezależny od ładunku na wejściu. W związku z tym odczytywanie sygnału na wyjściu filtru pasmowoprzepustowego ze stałym opóźnieniem względem jego rozpoczęcia będzie skutkowało otrzymaniem informacji o amplitudzie sygnału, która jest proporcjonalna do depozytu energii w detektorze. Taki sygnał analogowy poddawany jest konwersji do reprezentacji cyfrowej i finalnie zapisywany na potrzeby późniejszej analizy.



Rys. 1.21: Efekty działania toru akwizycji złożonego ze wzmacniacza ładunkowego, oraz układu kształtowania zaimplementowanych w hipotetycznym, wyidealizowanym układzie elektroniki odczytu. W losowych momentach w wyniku zaabsorbowania fotonów w fotopowielaczu na wejście wzmacniacza ładunkowego ASIC dochodzą kolejno cztery impulsy o amplitudach względnych $1 : 0,5 : 1,2 : 0,65$. Konwertowane są one do przebiegu postaci U_{mid} przez filtr górnoprzepustowy o stałej czasowej $\tau_{in} = 50 \mu s$ i przekierowywane do układu kształtowania (filtr dolno- oraz górnoprzepustowy o identycznej stałej czasowej $\tau = 10 \mu s$), mającego na celu odseparować od siebie impulsy tak, aby ich amplitudę dało się powiązać z energią padających fotonów. Pierwsze trzy impulsy są odróżnialne od siebie, mimo że trzeci z nich pojawia się jeszcze zanim napięcie U_{mid} zdąży powrócić do poziomu bazowego. W przypadku czwartego impulsu, który wystąpił krótko po trzecim, dochodzi do nakładania, które uniemożliwia poprawną estymację wymuszenia. Mimo niemal dwukrotnie niższej amplitudy prądu wejściowego maksymalna obserwowana wartość U_{out} jest porównywalna z tą dla poprzedniego impulsu. Zjawisko to można ograniczyć do pewnego stopnia za pomocą skracania stałej czasowej układu kształtującego sygnał. Jednak dla zbyt małych stałych czasowych filtru pasmowoprzepustowego amplituda sygnału przestaje być proporcjonalna do ładunku wejściowego. Dzieje się tak dlatego, że z punktu widzenia tego filtru sygnał wejściowy nie jest już funkcją schodkową. Rysunek wewnętrzny pokazuje w powiększeniu kształt impulsu po przejściu przez filtr oraz czas Δ , dla którego występuje maksymalna amplituda od momentu detekcji narastającego zbocza sygnału. Na podstawie [110, 114].

1.3 Podsumowanie

Przedstawione zostały dwa, pozornie zupełnie odrębne zagadnienia, które jednak łączy:

- problem wiarygodnego odczytu, z dobrą rozdzielczością czasową i przestrzenną, sygnałów elektrycznych pochodzących z obszarów prawdziwej lub fantomowej tkanki,
- potrzeba dostarczenia precyzyjnie dobranych porcji energii (w formie ładunku elektrycznego lub promieniowania jonizującego) w wybrane miejsca tego obszaru.

Natomiast w praktyce będą one się wiązały z koniecznością rozwiązania specyficznych wyzwań.

Poziom wiedzy współczesnej neurofizjologii i próby zrozumienia, w jaki sposób kooperują ze sobą populacje neuronów odpowiadające za mechanizmy zachowania i procesy poznawcze, przesunął wymagania badawcze w kierunku jednoczesnego monitorowania aktywności jak największej liczby neuronów. Jednym ze sposobów jest stosowanie wielkoskalowych MEA do rejestracji, *in vivo*, zewnątrzkomórkowych sygnałów neuronalnych. Ponieważ wolne składowe LFP i potencjały czynnościowe niosą komplementarne informacje o aktywności neuronalnej, najlepiej rejestrować sygnał szerokopasmowy zawierające oba te komponenty. Stawia to jednak wyzwania dla elektronicznego systemu odczytowego pod względem przenoszonego pasma częstotliwościowego oraz dynamiki amplitudowej. To z kolei wpływa na ilość danych generowanych przez taki system w ciągu każdej sekundy pracy, z którymi musi poradzić sobie oprogramowanie sterujące przebiegiem pomiaru. Umieszczenie elektrod wewnątrz mózgu, choć daje możliwość bezpośredniej stymulacji za pomocą impulsów prądowych celem wywołania sztucznej aktywności, też jest problematyczne, gdyż stanowi mechaniczną ingerencję w tkankę.

W przypadku leczenia chorób nowotworowych przedstawiony opis skupił się na ukazaniu wyzwań związanych z terapią w kontekście usuwania zmian za pomocą promieniowania fotonowego. Pokazano, w jaki sposób definiowane są obszary napromieniane oraz jak przebiega weryfikacja założonego planu leczenia. Z uwagi na wykorzystywanie fantomów o standaryzowanych kształtach i rozmiarach nie jest to dokładna procedura. W tym obszarze znaczną poprawę mogłyby przynieść personalizowane modele fantomów, które służyłyby do testowania terapii. Dla zmaksymalizowania korzyści płynących z takiego rozwiązania potrzebny jest jednak precyzyjny, wielokanałowy system odczytowy próbujący informacje o depozycie energetycznym w badanej objętości.

Rozdział 2

Architektury sprzętowe systemów pomiarowych

Niniejszy rozdział ma na celu zapoznanie Czytelnika z architekturami sprzętowymi, których celem jest realizacja badań elektrofizjologicznych z użyciem MEA oraz pomiaru przestrzennego rozkładu dawki pochłoniętej dla celów teleradioterapii fotonowej, dla których kontekst oraz fizyczne zasady działania zostały przedstawione w rozdziale poprzednim. Omówione zostaną schematy ideowe systemów pomiarowych oraz najważniejsze elementy elektroniczne i ich cechy, które wspólnie tworzą kompletny sprzętowy tor pomiarowy, realizujący postawione założenia danego eksperymentu.

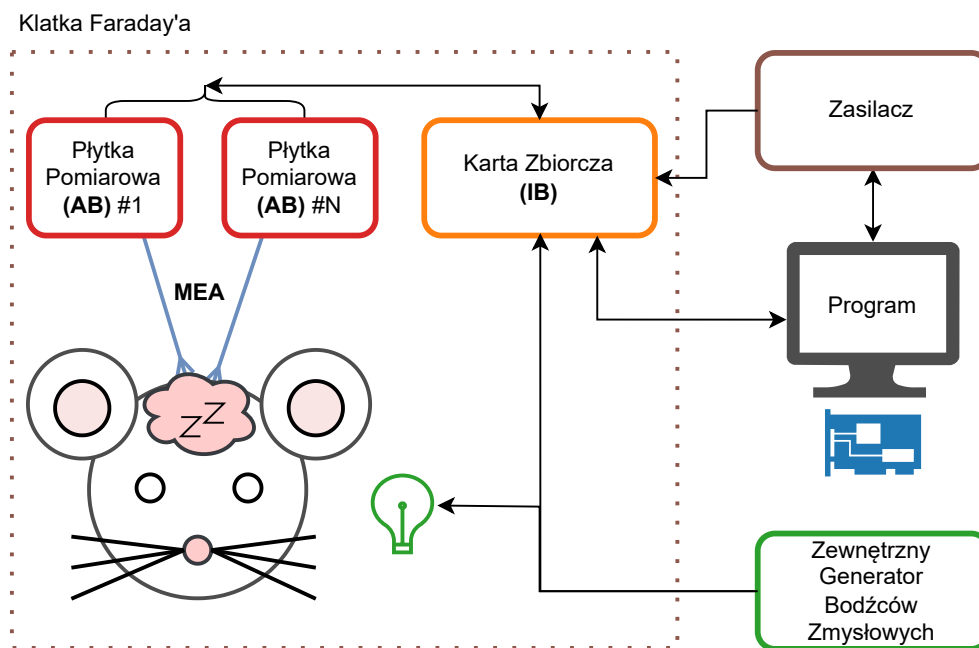
Oba urządzenia, o których będzie mowa, zostały zaprojektowane i zrealizowane w ramach konsorcjów powstałych na potrzeby krajowych grantów badawczych, gdzie dużym wkładem wykazały się grupy naukowców skupione w Katedrze Oddziaływań i Detekcji Cząstek Wydziału Fizyki i Informatyki Stosowanej na Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie.

2.1 Architektura systemu do badań elektrofizjologicznych – *Neurostim-3*

Na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie od lat rozwijana jest seria urządzeń rodziny *Neurostim* [152, 153]. Ich głównym komponentem jest iteracyjnie ulepszany wielokanałowy ASIC, którego zadaniem jest odczyt zewnątrzkomórkowych potencjałów neuronalnych przy wykorzystaniu MEA oraz generowanie sztucznej aktywności tkanki nerwowej poprzez wstrzykiwanie impulsów w tkankę. Najnowsza generacja nazywana *Neurostim-3* jest dostosowana do współpracy z dostępnymi na rynku pasywnymi MEA, co zważywszy na szeroką gamę produktów oferowanych przez producentów tego typu urządzeń, przekłada się na dużą dowolność w zakresie doboru matryc do potrzeb eksperymentalnych. System *Neurostim-3* cechuje się następującymi własnościami:

- zaprojektowany do stosowania w badaniach *in vivo* na zwierzętach doświadczalnych podczas ich kontrolowanego farmakologicznie snu lub w unieruchomieniu (ang. *head-fixed*)
- jednoczesna obsługa do 512 niezależnych kanałów, gdzie każdy z nich pozwala na równoczesną rejestrację i stymulację z rozdzielczością czasową $2,5 \times 10^{-5}$ s (podstawowa częstotliwość próbkowania 40 kHz),
- możliwość użycia MEA o maksymalnej liczbie 128 elektrod,
- niskoszumowy układ odczytowy o konfigurowalnym wzmocnieniu $100 \frac{V}{V} \leq K \leq 500 \frac{V}{V}$ oraz paśmie przenoszenia pozwalającym na odczyt pełnego spektrum sygnałów zewnątrzkomórkowych <1 Hz do 10 000 Hz,
- stymulacja za pomocą impulsów prądowych o arbitralnym kształcie i maksymalnej amplitudzie $I_{max} = 15 \mu A$,
- możliwość synchronizacji danych z generowanymi zewnętrznymi impulsami.

Schemat ideowy przykładowego eksperymentu został pokazany na Rys. 2.1. Głowa znieczulonego zwierzęcia (szczura, myszy) zostaje unieruchomiona i przeprowadzana jest procedura implantacji MEA w pożądaną strukturę mózgu. MEA zostają podłączone poprzez odpowiednie złącze do płytek pomiarowych (ang. *ASIC Board, AB*). Są to obwody drukowane (ang. *Printed Circuit Board, PCB*) z osadzonym jednym bądź dwoma układami *Neurostim-3*, których podstawowym zadaniem jest odebranie słabych sygnałów zewnątrzkomórkowych, ich wzmocnienie, a następnie konwersja danych do postaci cyfrowej. Dane te trafiają kolejno do karty zbiorczej (ang. *Interface Board, IB*), która agreguje dane ze wszystkich, maksymalnie czterech, AB i wysyła je do komputera z zainstalowaną kartą pomiarową *NI DIO 6537* [154] oraz działającym oprogramowaniem do akwizycji danych i sterowania przebiegiem eksperymentu.



Rys. 2.1: Schemat ideowy eksperymentu z użyciem systemu *Neurostim-3* celem rejestracji i stymulacji aktywności mózgu. Proces rejestracji i przetwarzania danych próbkowanych przez MEA przeprowadzany jest przez dedykowane układy elektroniczne implementowane na AB oraz IB. Przebieg eksperymentu oraz jego parametry są ustalane przez użytkownika poprzez podanie konfiguracji do programu do akwizycji danych.

Ważną cechą całego systemu jest możliwość generowania (prawie) dowolnie złożonych sekwencji prądowych impulsów stymulujących sztuczną aktywność mózgu. Ta funkcjonalność może być dopełniana dzięki zewnętrznym względem *Neurostim-3* Generatorom Bodźców Zmysłowych (np. świetlnym czy dotykowym) synchronizowanym z danymi rejestrowanymi przez *Neurostim-3*. Pozwala to na precyzyjną korejestrację danych elektrofizjologicznych i informacji o przebiegu czasowym eksperymentu. Co ważne, informacje o markerach bodźców dostępne są w czasie rzeczywistym, co pozwala na walidację danych w czasie eksperymentu. Walidacja służy przede wszystkim ocenie:

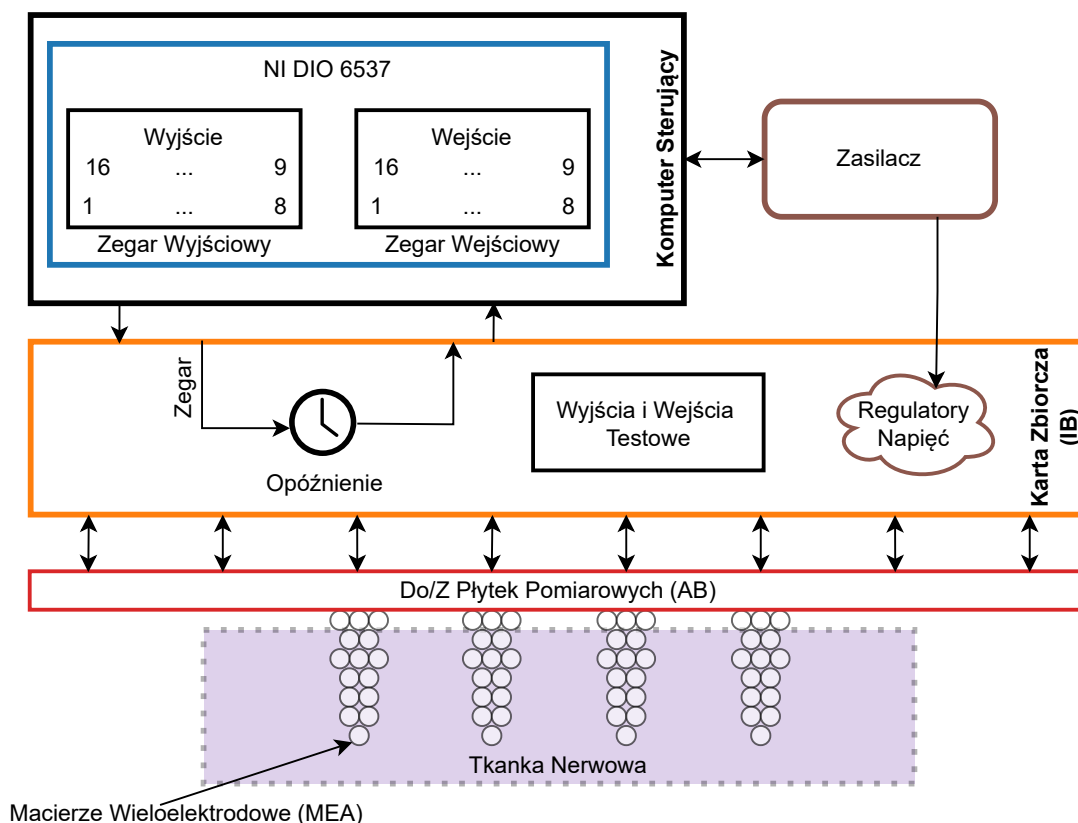
- przybliżonego położenia elektrod w strukturach mózgu na podstawie obserwowanej charakterystyki przebiegów,
- stanu funkcji życiowych zwierzęcia (np. zmiany częstotliwości w sygnale LFP sugerują spłycenie znieczulenia ogólnego i wskazują na konieczność podania dawki anestetyku),
- efektywności przeprowadzanej stymulacji elektrycznej.

Ze względu na konieczność rejestracji relatywnie słabych sygnałów, zwierzę wraz z elektroniką odczytu są izolowane elektromagnetycznie od świata zewnętrznego dzięki klatce Faraday'a. Ponadto cała wrażliwa elektronika zasilana jest za pomocą zewnętrznego zasilacza generującego napięcie 5 V, które jest dodatkowo stabilizowane przez regulatory znajdujące się na AB oraz IB.

Zarówno układ scalony *Neurostim-3*, jak i wszystkie PCB (tj. IB oraz AB) włącznie z oprogramowaniem zostały w całości zaprojektowane na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie.

2.1.1 Karta zbiorcza

Sekwencje danych sterujących przebiegiem eksperymentu, które generowane są przez oprogramowanie, wysyłane są przez kartę pomiarową do IB (Rys. 2.2). Karta ta daje dostęp do 16 wyjściowych oraz 16 wejściowych cyfrowych linii sygnałowych synchronizowanych przebiegiem zegarowym. Jednakże do bezpośredniej komunikacji z AB wykorzystywanych jest tylko osiem linii wejściowych i wyjściowych oraz źródło sygnału zegarowego o częstotliwości 50 MHz. Pozostałe linie są zarezerwowane np. do celu synchronizacji danych względem zewnętrznych cyfrowych sygnałów. Każda n -ta linia wejścia/wyjścia karty pomiarowej odpowiedzialna jest za komunikację z n -tym układem *Neurostim-3* zlokalizowanym na jednym z maksymalnie czterech AB. Dane sterujące przeznaczone dla konkretnego układu *Neurostim-3* są łączone z sygnałem zegarowym oraz zasilaniem (odpowiednie poziomy generowane są przez *Regulatory Napięć* z napięcia wejściowego 5 V pochodzącego z zasilacza laboratoryjnego np. *Rigol DP1308A* [155]) i wysyłane poprzez lekkie i elastyczne okablowanie *Intan Technologies* [156] o długości 0,9 m lub 1,8 m do AB.



Rys. 2.2: Architektura sprzętowa systemu pomiarowego *Neurostim-3*. Karta pomiarowa *NI DIO 6537* daje dostęp do 16 wyjściowych oraz 16 wejściowych cyfrowych linii danych, oraz sygnału zegarowego. Wysyła ona dane sterujące wygenerowane przez oprogramowanie do IB, które to zarządza przepływem danych do/z AB, dystrybuuje odpowiednie napięcia oraz zapewnia dostęp do pinów testowych. Sygnał zegarowy zostaje odpowiednio opóźniony na IB przez linie opóźniające, w celu skompensowania czasu potrzebnego na dystrybucję danych do AB i z powrotem. *Neurostim-3*, który jest częścią każdego AB jest konfigurowany przez dane sterujące, dzięki czemu jest on w stanie realizować zaprojektowany protokół eksperymentalny. Zaadaptowane z [85].

Sygnaly cyfrowe będące efektem rejestracji danych przez *Neurostim-3* są transferowane przez ten sam kabel do IB, a następnie do karty pomiarowej. Jednakże dane pochodzące z AB nie posiadają informacji o zegarze, dlatego na IB znajdują się linie opóźniające, które kompensują czas potrzebny do propagacji danych sterujących do AB i z powrotem¹. Innymi słowy, opóźnienie jest dobierane na podstawie różnicy czasu między odebraniem pierwszego bitu wyjściowych danych sterujących przez IB, a pierwszym poprawnym bitem danych zarejestrowanym przez AB widzianym na IB i zależy przede wszystkim od długości użytych przewodów².

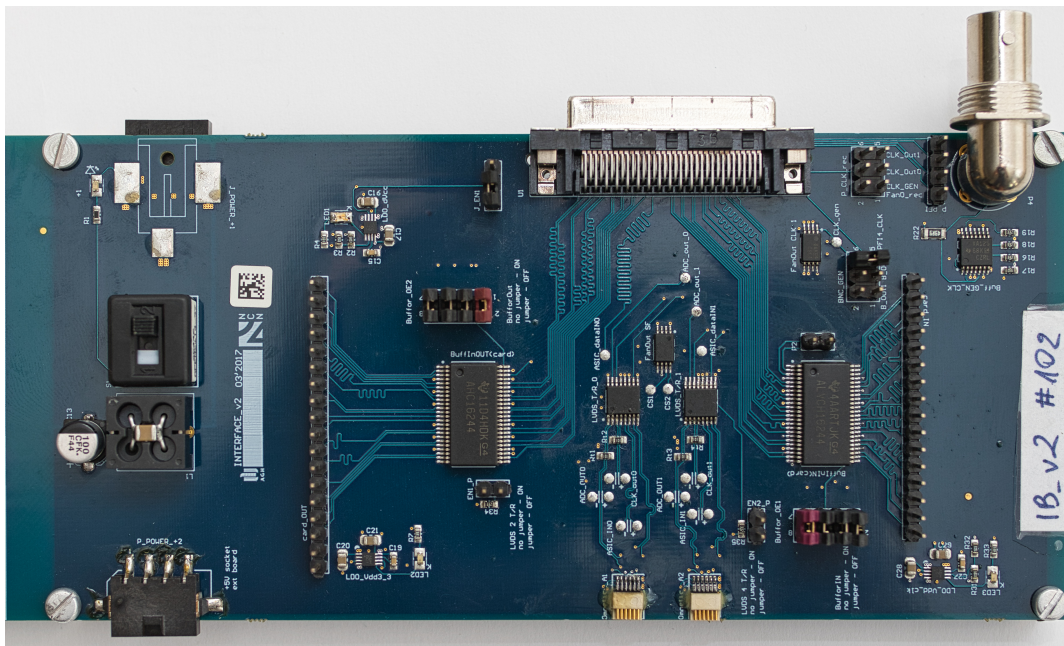
Poza podstawową funkcjonalnością IB pozwala na interakcję z zewnętrznymi urządzeniami. Wszystkie 16 linii danych sterujących (włącznie z tymi, które nie są wykorzystywane wprost przez żaden z układów *Neurostim-3*) mogą zostać przechwycone przez zewnętrzne urządzenie (np. oscyloskop celem weryfikacji poprawności transmisji danych). Analogicznie, osiem wolnych cyfrowych linii wejściowych może służyć do wysłania równoległe z informacjami pochodzącymi z *Neurostim-3* danych synchronizacyjnych do komputera pomiarowego, celem np. wyrównania danych względem zewnętrznych zdarzeń takich jak np. błysk światła czy stymulacja piezoelektryczna wibrys.

Ze względu na konieczność podania różnych napięć do poszczególnych komponentów systemu, *Regulatory Napięcia* znajdujące się na IB wytwarzają stabilne poziomy 3,6 V, 3,3 V oraz 1,8 V z napięcia wejściowego 5 V podawanego przez zewnętrzny zasilacz, względem potencjału jego masy. Potencjał 1,8 V używany jest jako potencjał referencyjny (zerowy) przez analogową elektronikę odczytu *Neurostim-3*. Natomiast potencjał niski ADC na AB tożsamy jest z globalną masą, zaś wysoki ustalony został na 3,3 V. Powoduje to, że środkowy kod ADC (tj. $2^{12-1} = 2048$) nie odpowiada potencjałowi referencyjnemu elektroniki odczytu. Dlatego dane analogowe prezentowane w pracy zawierają się między $-1,8$ V a $1,5$ V.

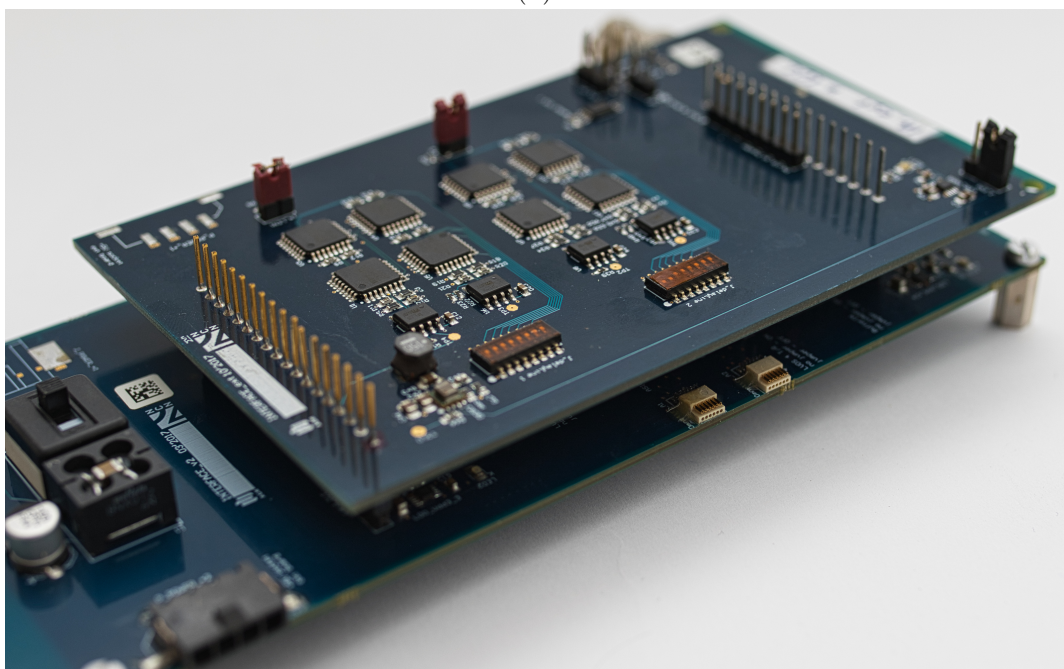
Powstały dwie główne wersje IB. Jedna z nich (tzw. *IB128*) pozwala na komunikację z maksymalnie dwoma AB, gdzie każde z nich umożliwia wykorzystanie MEA o maksymalnie 64 elektrodach (Rys. 2.3). Natomiast druga (tzw. *IB512*) obsługuje do czterech AB zarówno 64-jak i 128-kanalowych, dając dostęp do maksymalnie 512 kanałów rejestrująco-stymulujących jednocześnie (Rys. 2.4).

¹Dla używanego sygnału zegarowego tj. 50 MHz długość fali światła w miedzi wynosi $\sim 4,6$ m i jest porównywalna z długością, którą pokonują dane sterujące na drodze IB – AB – IB.

²Wartość opóźnienia jest wspólna dla wszystkich AB stąd wymagane jest, aby wszystkie kable używane w danym pomiarze były identycznej długości.

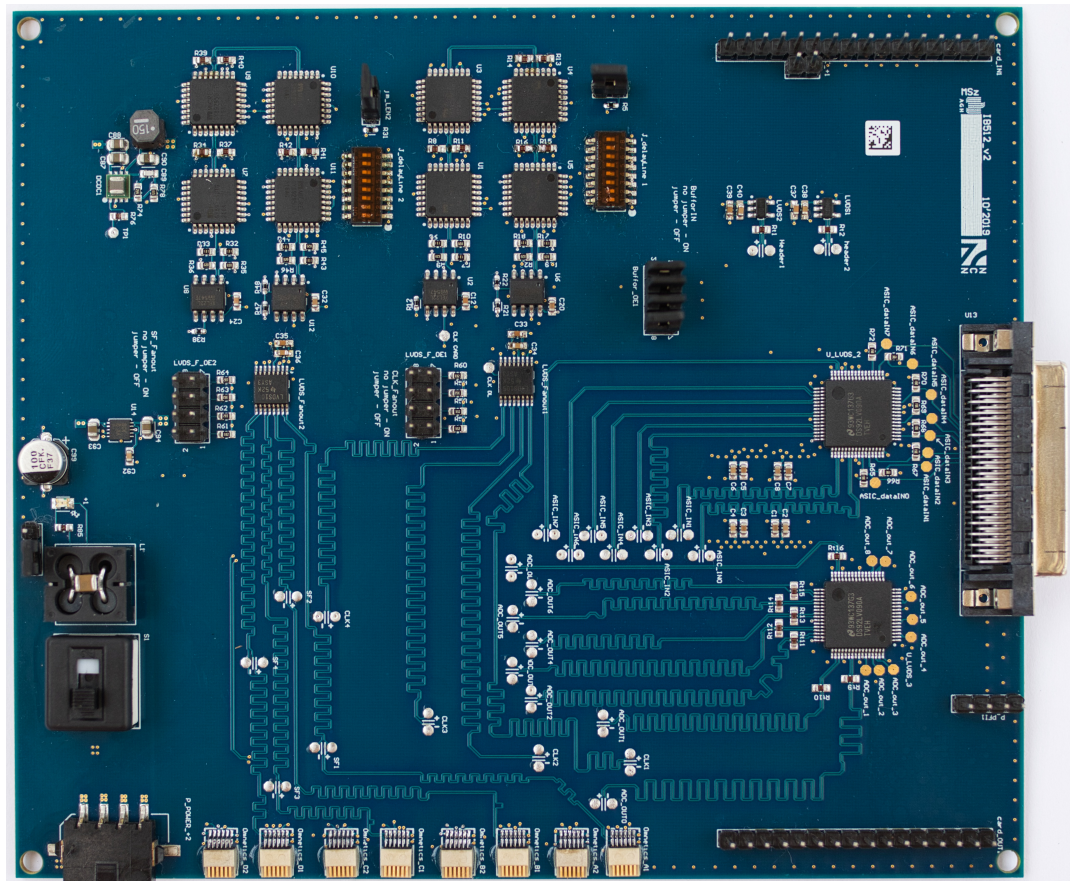


(a)



(b)

Rys. 2.3: Fotografia IB w wersji obsługującej do dwóch AB 64-kanalowych. Urządzenie zostało zaprojektowane jako kompozycja dwóch współpracujących ze sobą PCB nakładanych jedno w drugie. Wymiary zewnętrzne 15 cm × 7 cm. (a) Z lewej strony części dolnej widnieje sekcja zasilania z przełącznikiem, kondensatorem i cewką. Pośrodku, między dwoma pionowymi rzędami pinów znajduje się sekcja transmisji danych z/do karty pomiarowej, na które składają się przede wszystkim układy buforujące oraz konwertery sygnału do/z postaci różnicowej, dzięki czemu można stosować długie przewody do łączenia z AB. Szerokie złącze (typu *SCSI VHDCI* [157]) u góry zdjęcia pozwala podłączyć IB do karty pomiarowej. Dwa wąskie złącza z pozłacanymi stykami w dolnej partii fotografii służą do podłączenia dwóch egzemplarzy AB w wersji 64-kanalowej. (b) Kompletnie *IB128*. Górne PCB implementuje przede wszystkim konfigurowalne linie opóźniające oraz oferuje *Wejścia i Wyjścia Testowe*, dzięki którym można poddać analizie strumienie sterujące oraz przesyłać sygnały synchronizacyjne wraz z danymi pochodzącymi z AB.



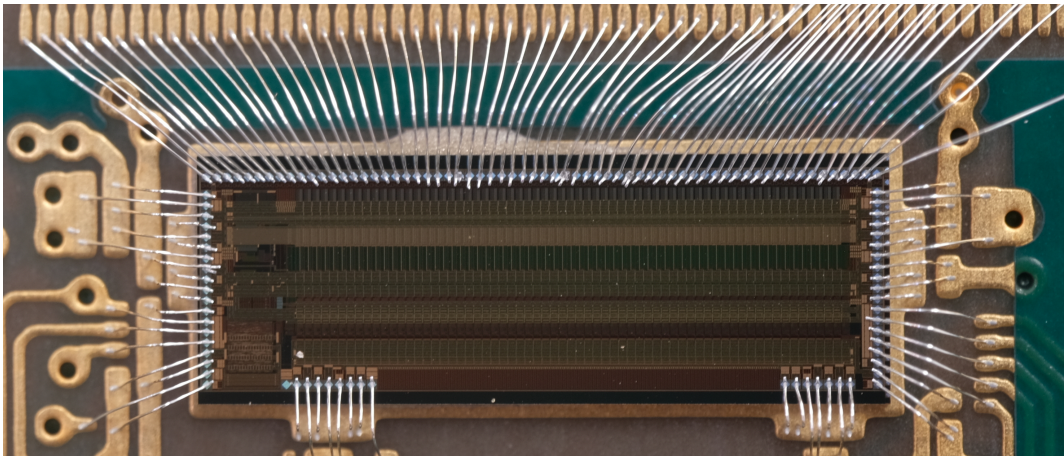
Rys. 2.4: Fotografia IB w wersji obsługującej do czterech AB 64- lub 128-kanałowych. Wymiary zewnętrzne 15 cm × 13 cm. W jednym eksperymencie można używać jednocześnie różne wersje AB. Dla konfiguracji z czterema AB 128-kanałowymi uzyskuje się pełne wykorzystanie systemu i dostęp do 512 kanałów rejestrująco-odczytowych. Konstrukcja *IB512*, w przeciwieństwie do *IB128*, jest monolityczna tzn. wszystkie układy znajdują się na tym samym PCB, przy czym większość elementów jest wspólna dla obu konstrukcji. Sekcja zasilania znajduje się po lewej stronie. W środkowej części u góry zaimplementowane zostały konfigurowalne za pomocą mikroprzełączników linie opóźniające, zaś na prawo od nich zostały wyprowadzone *Wejścia Testowe*. Złącze pozwalające połączyć *IB512* z kartą pomiarową znajduje się na prawym brzegu PCB, a zaraz przy nim położone są konwertery sygnału do/z postaci różnicowej (w tym przypadku ze względu na większą liczbę obsługiwanych ASIC zastosowano układy o większej liczbie kanałów niż dla *IB128*). Układy buforujące zostały zamontowane na odwrócenie PCB jako jedyne z układów aktywnych. Rząd osiemu złączy dla AB widoczny jest w dolnej partii zdjęcia, a sygnały sterujące z karty pomiarowej można przechwycić dzięki rzędowi poziomych pinów w prawym dolnym rogu (*Wyjścia Testowe*).

2.1.2 Płytki pomiarowe i układ *Neurostim-3*

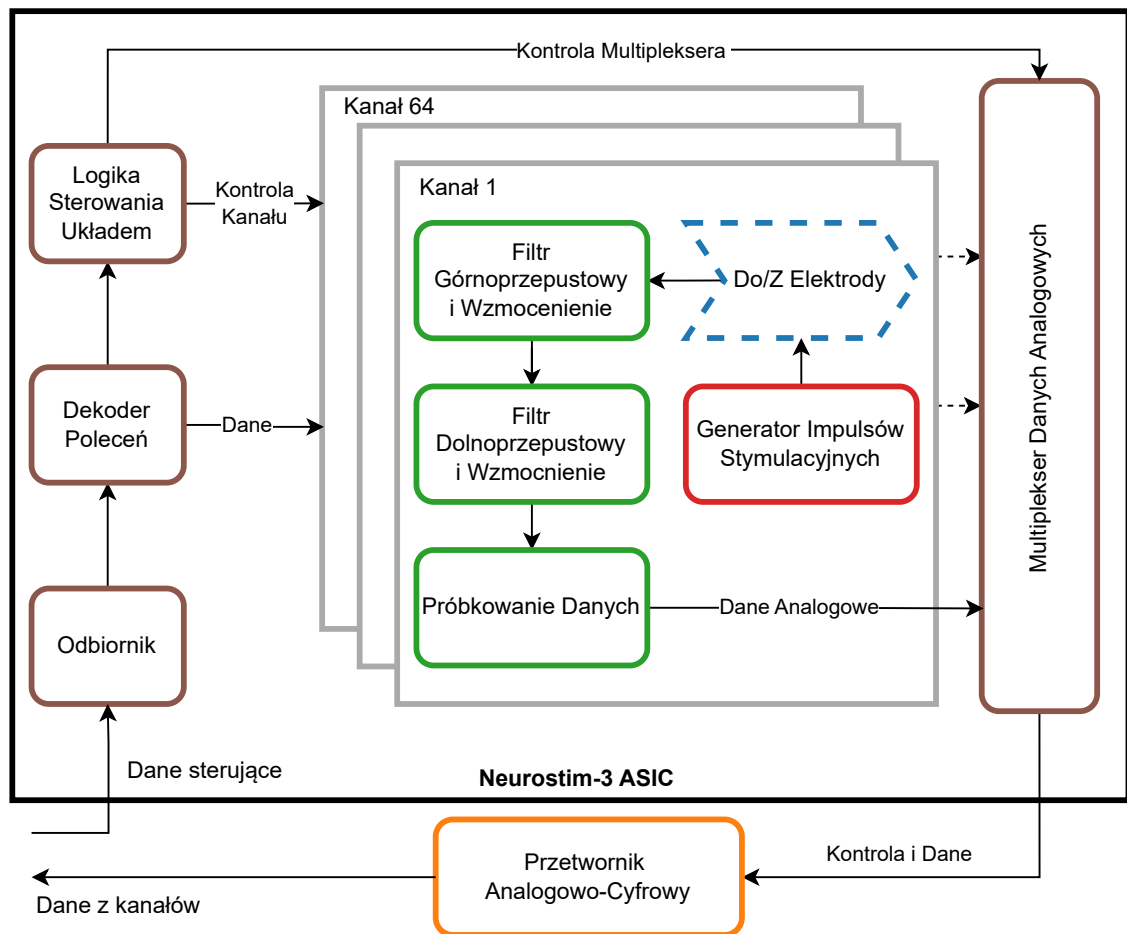
Zdjęcie układu *Neurostim-3* osadzonego na AB przedstawia Rys. 2.5, natomiast jego uproszczony funkcjonalny schemat blokowy znajduje się na Rys. 2.6. Ciąg bitów, który jest wytwarzany przez oprogramowanie sterujące, a który jest przesyłany do ASIC, jest logiczną pojedynczą linią danych przenoszącą informacje o wolnozmiennych parametrach przetwarzania (np. wzmocnieniu) oraz danych czasu rzeczywistego zawierających szczegółowy opis protokołu stymulacji – oddzielnie dla każdego z 64 kanałów w ASIC. Dane sterujące są na początkowym etapie analizowane przez *Dekoder Poleceń* i na podstawie odnalezionego identyfikatora polecenia podejmowana jest jedna z poniższych czynności:

- ustawienie parametru globalnego m.in.:
 - reset układu,
 - zakres prądu wyjściowego,
 - parametry pracy multiplexera analogowego;
- modyfikacja działania konkretnego kanału m.in.:
 - włączenie/wyłączenie stymulacji elektrycznej,
 - zmiana parametru wzmocnienia;
- przygotowanie każdego z aktywnych kanałów do wstrzyknięcia prądu o zadanej amplitudzie oraz odczyt danych poprzez MEA podłączone do AB.

W przypadku tego ostatniego sygnały są próbkowane jednocześnie dla wszystkich aktywnych kanałów w momencie wyzwolenia z domyślną częstotliwością 40 kHz. Odczytane sygnały przez elektrody przechodzą proces filtracji pasmowoprzepustowej i amplifikacji, zgodnie z konfiguracją układu ustaloną przez użytkownika. Analogowe dane ze wszystkich kanałów są następnie serializowane przez multiplexer. Na tym etapie kończy się udział układu *Neurostim-3*. Dane są transferowane do zewnętrznego 12-bitowego układu ADC [158] na AB, dzięki któremu analogowe wartości są konwertowane do ich cyfrowej reprezentacji i w końcu przesyłane do IB.

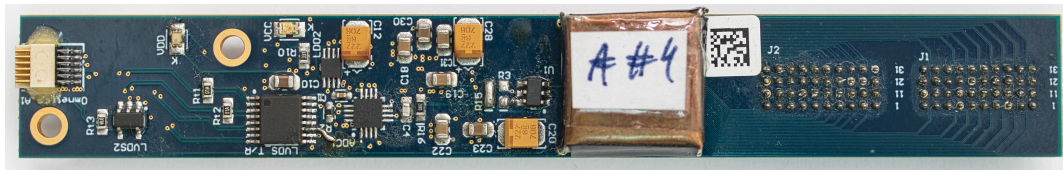


Rys. 2.5: Makrofotografia zamontowanego układu *Neurostim-3* na AB przed umieszczeniem go w miedzianej osłonie tłumiącej zakłócenia elektromagnetyczne. Widoczne liczne połączenia ASIC z odpowiadającymi im polami kontaktowymi na PCB (tzw. *wire bonding* [159]). Zdjęcie udostępnione dzięki uprzejmości Pawła Hottowego.

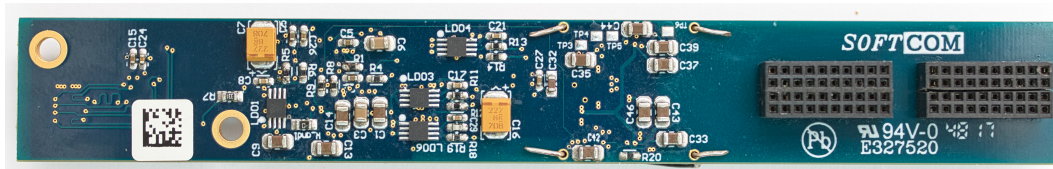


Rys. 2.6: Potok przetwarzania danych zaimplementowany na AB. Dane sterujące wygenerowane przez oprogramowanie i dystrybuowane przez IB trafiają do układu *Neurostim-3*. Urządzenie dekoduje przychodzący ciąg bitów celem przygotowania działania przy założonych parametrach np. wzmocnienia czy filtracji danych analogowych. Logika sterowaniem układu sekwencjonuje pożądane działania poprzez zapewnienie jednoczesowego wykonania poleceń we wszystkich aktywnych kanałach (tj. odczyt sygnału czy wygenerowanie prądu o zadanej amplitudzie). Odczytane próbki danych analogowych podlegają multipleksowaniu (tj. N źródeł sygnału zamienianych jest na jeden sygnał, zawierający dane ze wszystkich N źródeł), następnie trafiają do zewnętrznego ADC i zostają przesłane do IB. Zaadaptowane z [85].

Do tej pory powstało kilka wersji AB różniących się między sobą przede wszystkim liczbą zastosowanych układów *Neurostim-3* (jeden albo dwa) oraz typem złącza dla MEA (Rys. 2.7 oraz Rys. 2.8). AB z dwoma ASIC umożliwiają eksperymenty z użyciem 128-kanałowych MEA i mimo konieczności obsługi dwóch układów, tylko niektóre elementy elektroniczne musiały zostać zdublowane względem wersji 64-kanałowej.

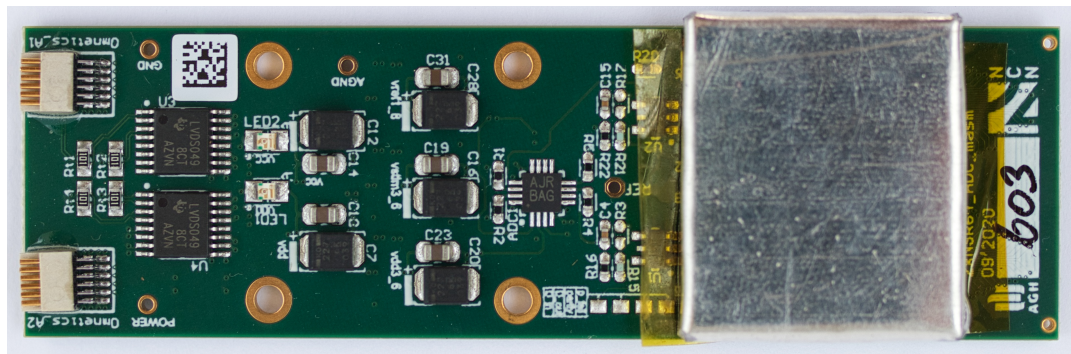


(a)

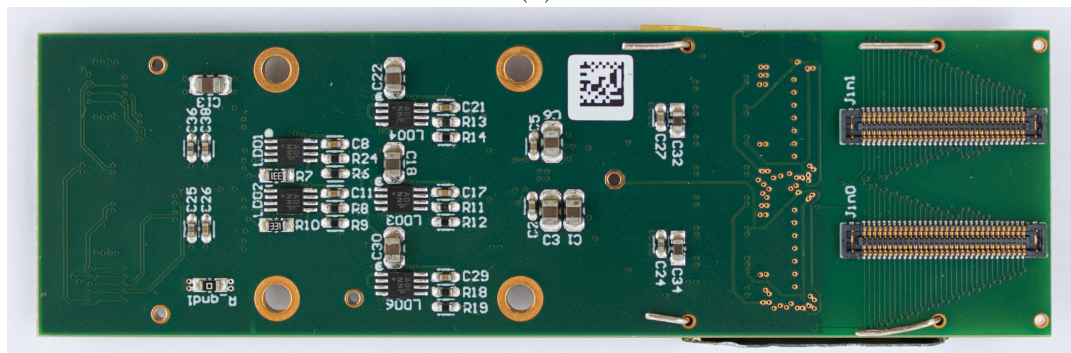


(b)

Rys. 2.7: Jedna z możliwych konfiguracji AB z gniazdem do podłączenia MEA o maksymalnej liczbie 64 elektrod. **(a)** Widok od strony układu *Neurostim-3*. **(b)** Widok od strony złącza pozwalającego na montaż MEA. Wymiary zewnętrzne 15 mm × 110 mm. Z lewej strony na przedstawionych fotografiach znajduje się złącze, do którego wpinany jest przewód z IB. Idąc w prawo, widoczne są elementy dyskretne, w tym *Regulatory Napięć* (oznaczone na PCB jako *LDO#*), dioda zasilania *VDD*, konwertery sygnałów różnicowych *LVDS*, układ *ADC*. Układ *Neurostim-3* (znajdujący się pod miedzianą osłoną, zapewniającą ekranowanie elektromagnetyczne – tutaj oznaczony etykietą #4 wskazującą konkretny egzemplarz urządzenia) został umieszczony bliżej centrum PCB. Natomiast samo złącze pozwalające podłączyć MEA do elektroniki znajduje się z prawej strony PCB. Warto zwrócić uwagę na otwory znajdujące się w okolicy *VDD* oraz na lewym boku – umożliwiają one sztywne przymocowanie AB do manipulatora, za pomocą którego ustalane jest umiejscowienie MEA w mózgu zwierzęcia poddawane go eksperymentowi.



(a)



(b)

Rys. 2.8: Konfiguracja AB w wersji 128-kanalowej. Wymiary zewnętrzne 24 mm × 80 mm. (a) Widok z góry, od strony zamontowanych układów *Neurostim-3* (do obsługi 128-kanalowych MEA wymagane są dwa egzemplarze ASIC). (b) Widok od dołu od strony złącz MEA. Projekt tego PCB jest znacznie mniej gęsto upakowany, w porównaniu do wersji 64-kanalowej, gdyż tylko niektóre elementy dyskretny musiały zostać zdublowane po to, aby móc obsłużyć dodatkowy ASIC. Większość elementów dyskretnych wymagana jest do zapewnienia zasilania poprzez *Regulatory Napięcie*. Zatem oba układy mogą korzystać z jednego źródła danego napięcia. Wystarczający jest również pojedynczy układ ADC, gdyż wykorzystywany model pozwala jednocześnie przetwarzać dane analogowe z dwóch źródeł.

2.2 Architektura systemu do pomiarów rozkładu dawki pochłoniętej – *Dose-3D*

Dokładność i skuteczność leczenia nowotworów za pomocą promieniowania jonizującego w dużej mierze zależy od rozpoznania oraz precyzyjnej aplikacji dawki, która jest celowana w zmienione chorobowo tkanki. Każdy przypadek jest inny ze względu na zróżnicowanie typów, rozmiaru, położenia oraz sąsiedztwa guza. W efekcie dla każdego pacjenta wymagane jest przygotowanie indywidualnego planu terapeutycznego, na które składa się określenie geometrii napromieniowania, dawki oraz harmonogramu zabiegów. Wszystko to ma na celu, maksymalizację szans wyeliminowania guza przy jednoczesnej minimalizacji niepożądanych skutków ubocznych, związanych z potencjalnym uszkodzeniem zdrowych tkanek (w tym tzw. *narządów krytycznych*, jak np. serce). Weryfikacja planu leczenia może być wykonana za pomocą symulacji numerycznych dokonujących obliczeń rozkładu dawki pochłoniętej [127–129] lub pomiaru z użyciem fantomu, który jest poddany napromienieniu zgodnie z przygotowaną procedurą, zanim pacjent pojawi się w pomieszczeniu terapeutycznym. Ze względu na niedoskonałości modeli numerycznych, ten drugi sposób uznawany jest za dający najbardziej miarodajne wyniki, wymaga jednak wyspecjalizowanej aparatury pomiarowej [160].

Na potrzeby terapii onkologicznej wykorzystującej wiązkę promieniowania rentgenowskiego, zostało w Krakowie założone konsorcjum o nazwie *Dose-3D* współtworzone przez naukowców z:

- Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie,
- Politechniki Krakowskiej im. Tadeusza Kościuszki,
- Narodowego Instytutu Onkologii w Krakowie,

Celem tego przedsięwzięcia jest zbudowanie *rekonfigurowalnego detektora do pomiaru przestrzennego rozkładu dawki promieniowania dla zastosowań w przygotowaniu indywidualnych planów leczenia pacjentów*. Konsorcjum to powstało w ramach programu badawczego *TEAM-NET* Fundacji na rzecz Nauki Polskiej współfinansowanego przez Unię Europejską z Europejskiego Funduszu Rozwoju Regionalnego [161, 162].

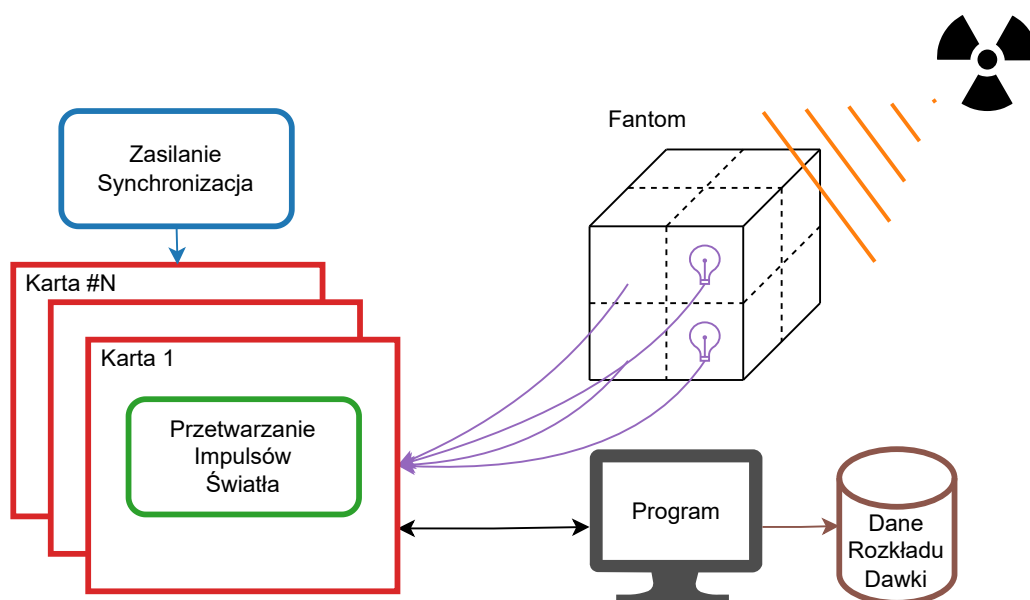
Efektom tych prac jest prototyp urządzenia, który pozwala określić z dużą dokładnością pochłoniętą dawkę promieniowania rentgenowskiego w danej objętości (Rys. 2.9). Projekt ten składa się z dwóch głównych elementów:

- fantomu zbudowanego ze scyntylatorów o własnościach oddziaływania z promieniowaniem jonizującym podobnych jak w tkankach,
- elektroniki odczytu transformującej fotony wygenerowane w fantomie na odpowiadające im informacje o depozytach energetycznych.

Rekonfigurowalność tego systemu przejawia się w aspekcie dostosowania geometrii fantomu. Przykładowa geometria detektora została pokazana na Rys. 2.10. Pojedyncze scyntylatory można łączyć ze sobą w niemal dowolny sposób, otrzymując pożądaną geometrię pomiaru, która jest dostosowana do indywidualnej sytuacji pacjenta (w praktyce fantom ma odtwarzać obszar zmian chorobowych oraz ich okolic). Każdy ze scyntylatorów jest połączony z elektroniką odczytu za pomocą światłowodu, dzięki czemu wygenerowane fotony są wyprowadzane poza obszar aktywny fantomu.

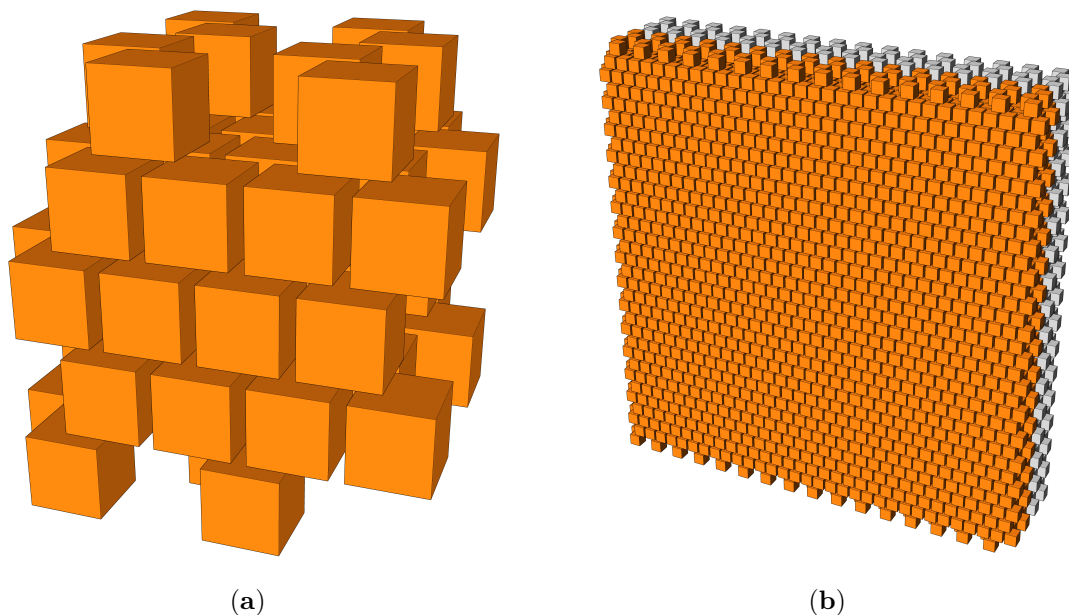
Elektroniczny system odczytowy został zorganizowany jako zespół identycznych funkcjonalnie kart pomiarowych (tzw. *Jednostki Akwizycji Danych*), gdzie każda z nich zapewnia obsługę do 64 wejść sygnału (kanałów). Liczba tych kart może być dostosowana do potrzeb wynikających z aktualnej kompozycji fantomu. Ich rolą jest przede wszystkim wzmocnienie słabych sygnałów świetlnych i ich konwersja na odpowiadające im ładunki elektryczne w każdym z kanałów. Natomiast wartość zmierzonego napięcia w układzie kształtowania sygnału w odpowiedzi na ładunek wejściowy jest proporcjonalna do energii zdeponowanej przez promieniowanie w danym scyntylatorze. Dzięki tym wszystkim konwersjom możliwe staje się określenie rozkładu dawki pochłoniętej w całym fantomie.

Pracą kart zarządza *Komputer Sterujący* z oprogramowaniem systemu akwizycji danych (ang. *Data Acquisition System, DAQ*), które konfiguruje i monitoruje sprzęt oraz odbiera dane pomiarowe, które są następnie zapisywane do późniejszej analizy³.



Rys. 2.9: Ideowy schemat pomiaru terapeutycznej dawki pochłoniętej przy wykorzystaniu urządzenia zbudowanego w ramach konsorcjum *Dose-3D*. W naświetlanych promieniowaniem rentgenowskim sześciennych kostkach utworzonych z materiału scyntylacyjnego, budujących fantom, następuje generacja fotonów, które za pomocą światłowodów trafiają do kart pomiarowych. Tam następuje transformacja analogowych sygnałów wejściowych do postaci cyfrowej, które są następnie odbierane przez *Komputer Sterujący* zarządzający pracą systemu przy pomocy oprogramowania DAQ. Finalnie dane te są zapisywane na trwałym nośniku.

³Docelowo analiza danych będzie zautomatyzowanym procesem analizującym dawkę pochłoniętą celem weryfikacji planu terapeutycznego pacjenta.



Rys. 2.10: Geometria prototypowej konfiguracji fantomu na bazie scyntylatorów plastikowych w systemie *Dose-3D*. Blok detekcyjny składający się z 64 elementów (a). Widoczne przerwy między scyntylatorami zostały zaprojektowane, w celu zapewnienia możliwości odprowadzenia generowanego światła do systemu odczytowego przez światłowody przy zachowaniu jednorodnego pokrycia przestrzeni objętością czynną. Konstrukcja przykładowego detektora składającego się z $8 \times 8 \times 2 = 128$ bloków o łącznej liczbie 8192 scyntylatorów (b).

Dalszy opis koncentruje się na tych składnikach systemu, które związane są z elektroniką skupioną wokół kart pomiarowych oraz ich oprogramowaniu, gdyż jako członek zespołu z Akademii Górniczo-Hutniczej albo byłem obecny przy procesie ich projektowania, albo wdrażałem rozwiązania umożliwiające sprawną obsługę wielu kart i związanych z nimi funkcjonalności za pomocą napisanego od podstaw oprogramowania DAQ.

2.2.1 Budowa i działanie *Jednostki Akwizycji Danych*

Podstawowym elektronicznym elementem systemu *Dose-3D* jest *Jednostka Akwizycji Danych*, która jest kompozycją połączonych ze sobą PCB z odpowiednio dobranymi komponentami (Rys. 2.11). Jej celem jest przetwarzanie przychodzących za pośrednictwem światłowodów impulsów świetlnych (sygnałów analogowych) pochodzących z maksymalnie 64 scyntylatorów. Elektroniczny potok przetwarzania został zaimplementowany na *Jednostce Akwizycji Danych* w taki sposób, aby możliwe było powiązanie energii wejściowych fotonów z dawką promieniowania zaabsorbowaną w objętości scyntylatorów. Potok ten jest realizowany przez trzy kluczowe komponenty znajdujące się na PCB:

- 64-kanałowy MA-PMT *Hamamatsu H7546B* [151], który konwertuje fotony pochodzące ze scyntylatorów na elektrony, a następnie wzmacnia powstały impuls prądowy;
- 64-kanałowy ASIC *MAROC 3A* [163], który mierzy powstałe w MA-PMT impulsy prądowe i wyznacza liczbę oraz (pośrednio) energię rejestrowanych fotonów;
- programowalna macierz logiczna (ang. *Field-Programmable Gate Array, FPGA*) zintegrowana z modułem *MARS AX3* [164], dzięki której możliwa jest sprzętowa implementacja

kontroli przepływu danych cyfrowych w obrębie *Jednostki Akwizycji Danych* oraz odbiór i transfer cyfrowych danych fizycznych.

MA-PMT do działania wymaga zasilania napięciem stałym z zakresu -650 V do -1000 V względem potencjału masy (w zależności od oczekiwanego poziomu wzmocnienia sygnału wejściowego), dlatego też na PCB znajduje się generator wysokiego napięcia *Hamamatsu C13890-15* [165]. Ten do działania wymaga zasilania 12 V , które jest podawane z zewnątrz przez zasilacz obsługujący grupę *Jednostek Akwizycji Danych*. Zasilacz ten zaopatruje system również w napięcie 6 V będące bazą dla *Regulatorów Napięć*, które dostarczają odpowiednie napięcia zapewniające poprawną pracę FPGA, *MAROC 3A* oraz pozostałych komponentów. Na każdej *Jednostce Akwizycji Danych* znajduje się ponadto magistrala międzyukładowa (ang. *Inter-Integrated Circuit, I2C*) [166]. Dzięki niej monitorowane są wartości generowanych prądów i napięć, temperatura układów oraz steruje się napięciem polaryzującym MA-PMT.

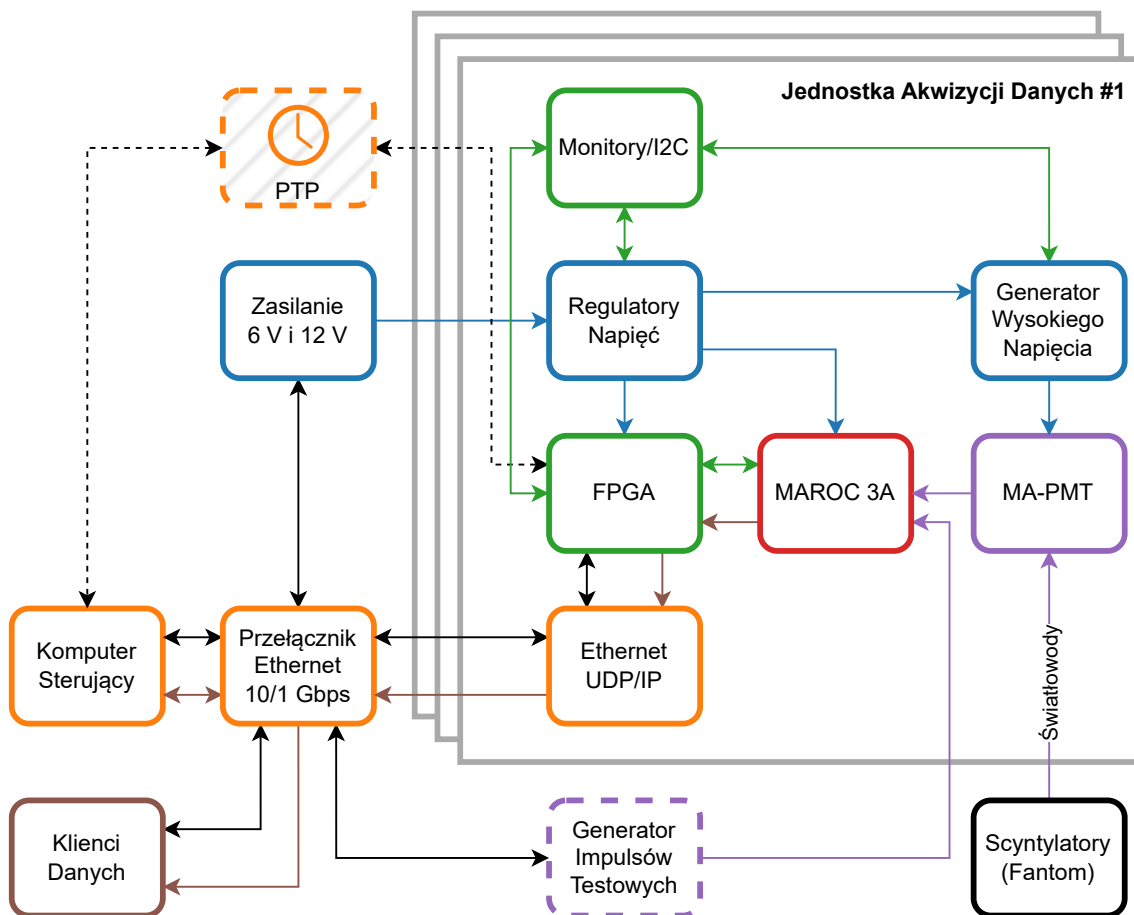
Transfer danych do/z *Jednostki Akwizycji Danych* realizowany jest poprzez złącze *Ethernet* wykorzystując protokół pakietów użytkownika (ang. *User Datagram Protocol, UDP/IP*) [167]. Protokół ten został wybrany ze względu na względną prostotę implementacji w FPGA. Wszystkie łącza pochodzące z *Jednostek Akwizycji Danych* są agregowane przez *Przełącznik Ethernet* i są dostępne z poziomu *Komputera Sterującego* z uruchomionym oprogramowaniem DAQ. Ponadto w sieci obsługiwanej przez *Przełącznik Ethernet* mogą działać programy klienckie, będące subskrybentami danych, a których zadaniem jest zapis informacji generowanych przez określoną *Jednostkę* na trwałym nośniku bądź ich wizualizacja podczas pomiaru.

Z uwagi na to, że *Jednostki Akwizycji Danych* działają w sposób niezależny od siebie, wymagana jest synchronizacja ich zegarów, które wykorzystywane są do znakowania czasu otrzymania danych przez FPGA. Obecnie uzyskiwane jest to poprzez dystrybucję zegara i resetu z jednego źródła, a w przyszłości planowana jest implementacja protokołu PTP (ang. *Precision Time Protocol, PTP*) [168].

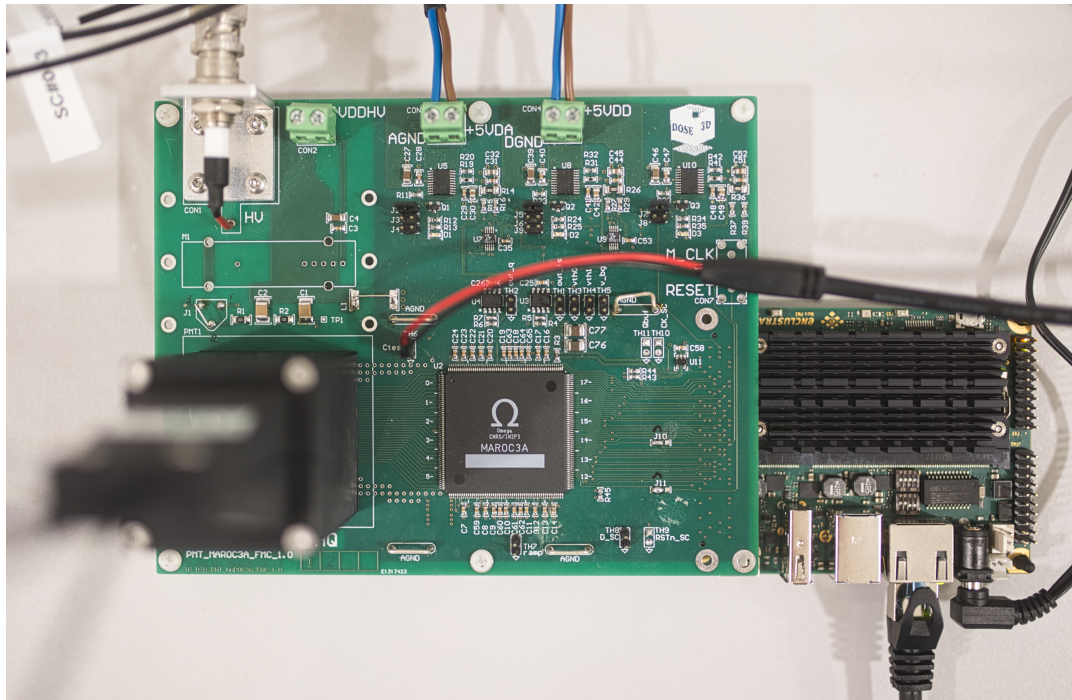
Ważnym etapem rozwoju każdego systemu pomiarowego jest możliwość dokonania charakteryzacji jego pracy przy minimalnej liczbie aktywnych etapów przetwarzania i ograniczonej zmienności warunków zewnętrznych. To drugie można zrealizować przy pomocy źródła sygnału wzorcowego. W przypadku *Dose-3D* wykorzystywany do tego celu jest *Generator Impulsów Testowych*, który jest skonfigurowany w taki sposób, aby wytwarzane przez niego sygnały imitowały impulsy pochodzące z MA-PMT o zadanej amplitudzie. Są one przenoszone na wejście testowe *MAROC 3A (Ctest)* i dystrybuowane do kanałów. Dzięki tego typu pomiarom można przetestować poprawność komunikacji oraz poznać parametry związane z przetwarzaniem sygnałów przez dany egzemplarz *MAROC 3A*, dla różnych ustawień wzmocnień, progów sygnału wejściowego czy opóźnień sygnału *ADC Start* względem zarejestrowanego zdarzenia.

Funkcjonalność *Jednostki Akwizycji Danych* była dobrze określona od początkowych faz projektu, jednak fizyczne rozmieszczenie elementów było przedmiotem wielu rozważań. Pierwszy prototyp (tzw. *TN1*), którego głównym celem było rozpoznanie prawidłowego działania zespołu komponentów bazowych (tj. MA-PMT, *MAROC 3A* oraz FPGA), został wyprodukowany w 2021 roku i z założenia nie był przystosowany do pracy równoległej w szafach serwerowych typu *rack* (Rys. 2.12). Natomiast w toku licznych spotkań projektowych koncepcja finalnej formy implementacji elektroniki odczytu ewoluowała bardzo dynamicznie. Znaczną rolę

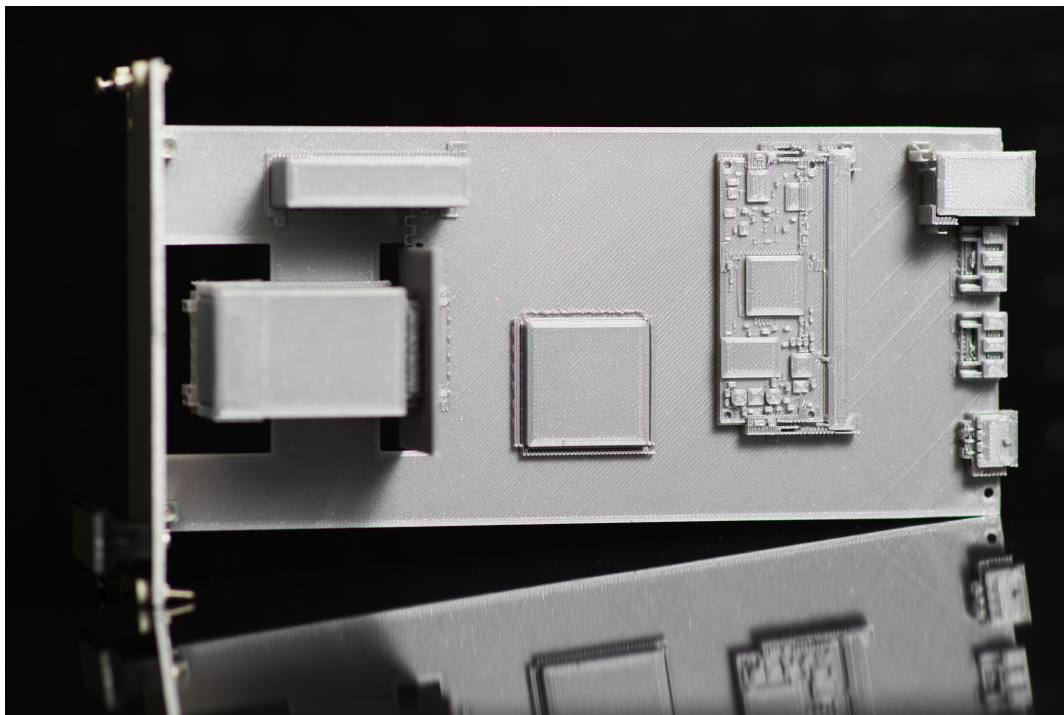
odegrała tutaj technika druku 3D, która pozwoliła generować fizyczne obiekty o pożądanym kształcie bez konieczności zakupu i montażu kosztownych elementów elektronicznych. Fotografie wizualizacji jednego z prototypów *Jednostki Akwizycji Danych* otrzymanego techniką druku 3D zostały przedstawione na Rys. 2.13.



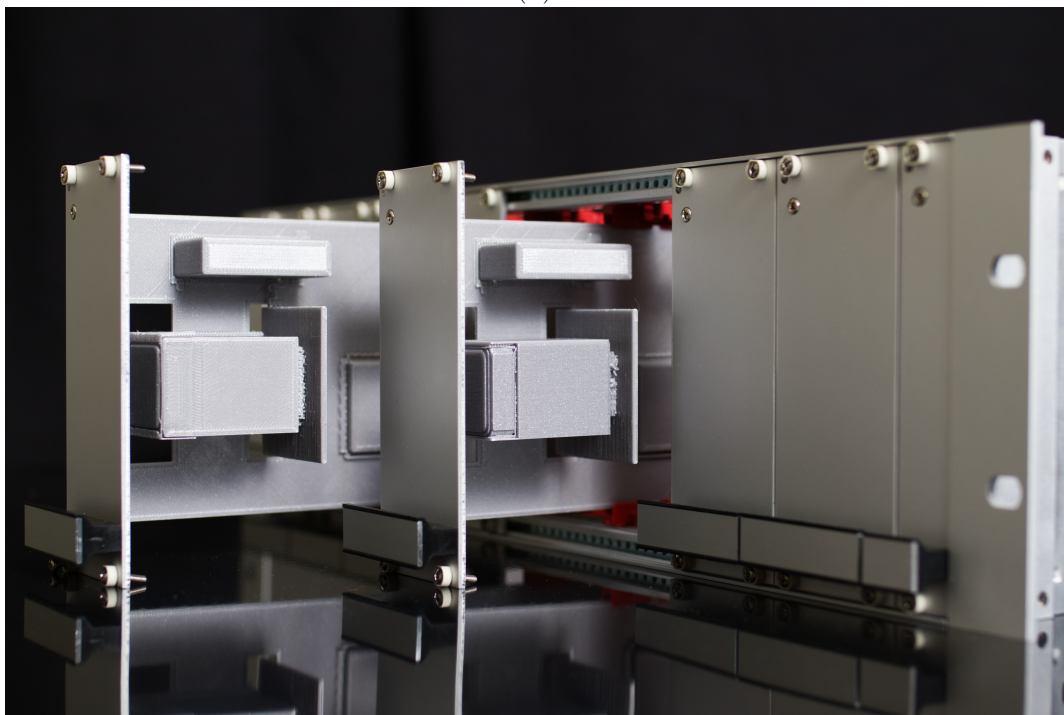
Rys. 2.11: Przepływ danych w systemie pomiędzy poszczególnymi komponentami – od światłowodów po *Komputer Sterujący*. *Jednostki Akwizycji Danych* są identyczne pod względem funkcjonalnym i każda z nich pozwala obsłużyć maksymalnie 64 scyntylatory. Sygnały pochodzące od fotonów są wzmacniane i przetwarzane przez *MAROC 3A*, celem określenia ich liczby i energii. Komunikacją oraz zbieraniem danych na *Jednostce Akwizycji Danych* zarządza oprogramowanie układowe *FPGA*. Architektura systemu została przewidziana w taki sposób, aby w łatwy sposób dało się go rozszerzać poprzez dodawanie kolejnych *Jednostek Akwizycji Danych* w zależności od potrzeb stawianych przez geometrię fantomu. W przyszłości ich praca będzie synchronizowana z wykorzystaniem protokołu PTP. Przebiegiem całego pomiaru zarządza *Komputer Sterujący*, komunikując się z każdą z *Jednostek* poprzez *Przełącznik Ethernet* z wykorzystaniem protokołu UDP/IP. Dane pomiarowe odbierane są przez aplikacje klienckie.



Rys. 2.12: Fotografia pierwszej wersji *Jednostki Akwizycji Danych* stworzonej w ramach projektu *Dose-3D*. Główne PCB (lewa część) jest w tym przypadku odseparowane od modułu z FPGA (prawa mniejsza część) i połączone są ze sobą poprzez złącze typu *FMC* (niewidoczne na zdjęciu). PCB składa się z sekcji zasilania (górna część), układu *MAROC 3A* oraz *MA-PMT* (lewy dolny róg PCB – urządzenie zostało obudowane specjalnie przygotowaną osłoną, która w znacznym stopniu ogranicza przedostawanie się światła otaczającego do toru pomiarowego). Zasilanie *MA-PMT* zostało zrealizowane całkowicie za pomocą zewnętrznego generatora wysokiego napięcia *CAEN NDT1470* [169] (wejście w skrajnym lewym górnym rogu PCB). Aczkolwiek zasilanie za pomocą zintegrowanego generatora zostało zaplanowane, o czym świadczy nieobsadzone pole *M1* przewidziane dla *Generatora Wysokiego Napięcia* oraz kostka *CON2*, do której można podłączyć wymagane przez to urządzenie źródło napięcia 12 V. Przewód podłączony w centralnej części PCB, a który został połączony ze złączem oznaczonym jako *Ctest*, służy do przekazywania impulsów testowych, których charakterystyka ma naśladować sygnały prądowe generowane przez *MA-PMT* w odpowiedzi na zarejestrowane fotony. Tym sposobem mając źródło sygnału o znanej charakterystyce, możliwe jest sprawdzenie poprawności działania *MAROC 3A* oraz transmisji danych przez FPGA. Moduł zawierający FPGA jest zasilany osobno przez dedykowany zasilacz sieciowy. Na PCB tego modułu istnieją porty komunikacyjne, z których na potrzeby *Dose-3D* wykorzystywane jest jedynie złącze *Ethernet 1 Gbit/s* w każdą ze stron (tzw. *pełen duplex*).



(a)

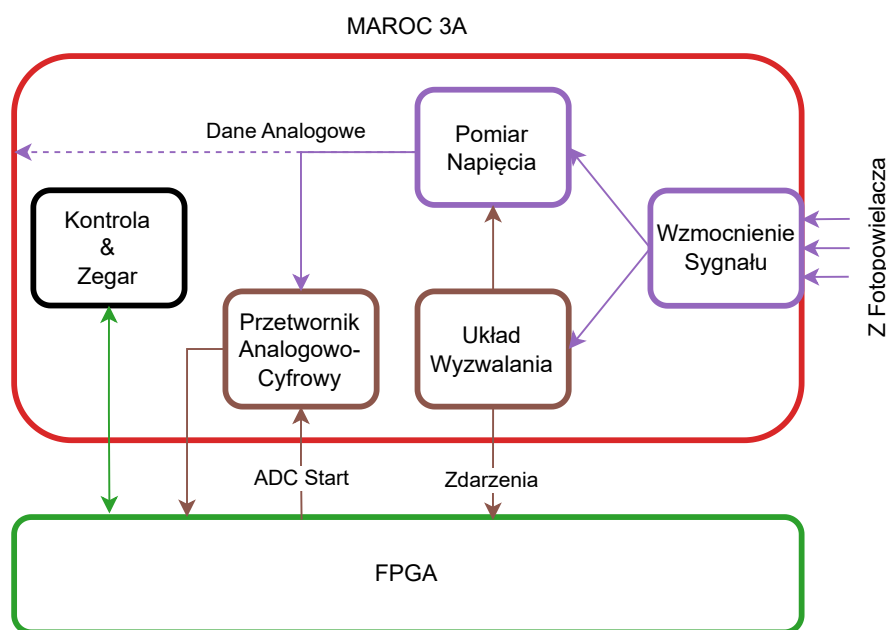


(b)

Rys. 2.13: Zdjęcia jednych z pierwszych wydruków 3D prototypu *Jednostek Akwizycji Danych*. (a) Widoczne są zarysy MA-PMT, *Generator Wysokiego Napięcia*, MAROC 3A, moduł FPGA, złącza portów komunikacyjnych oraz zasilania. Finalny układ elementów na PCB różni się od przedstawionego, jednak ilustruje zasadniczą ideę, wedle której pojedyncza *Jednostka Akwizycji Danych* jest możliwie kompaktowa i łatwo ją dodać/usunąć/wymienić w środowisku, gdzie wiele tego typu *Jednostek* powinno pracować jednocześnie. (b) Dwie *Jednostki* umieszczone w kasecie typu *rack*.

2.2.1.1 Przetwarzanie danych analogowych

Za przetwarzanie danych analogowych do postaci cyfrowej odpowiedzialny jest układ *MAROC 3A* (Rys. 2.14). Analogowe sygnały prądowe pochodzące z MA-PMT (lub w przypadku testów z *Generatora Impulsów Testowych*) podlegają na samym początku korekcie *Wzmocnienia Sygnału* przez wzmacniacze prądowe na wejściu każdego z kanałów. Korekta ta aplikowana jest dla każdego kanału indywidualnie, po to, aby skompensować ewentualne niejednorodności wzmocnienia MA-PMT występujące pomiędzy jego kanałami. Dalej sygnały rozdzielane są do dwóch torów przetwarzania. Jedna z gałęzi trafia do *Układu Wyzwalania*, która generuje binarny sygnał, gdy rejestrowana amplituda przewyższa zadany przez użytkownika próg (tzw. *threshold*)⁴. Natomiast w drugim torze sygnał podlega kształtowaniu, dzięki czemu możliwy jest pomiar analogowego przebiegu napięcia w każdym z kanałów. Dane analogowe trafiają na zewnątrz *MAROC 3A*, gdzie mogłyby zostać zamienione do postaci cyfrowej, jednak w *Dose-3D* używane jest wewnętrzne ADC zintegrowane z układem *MAROC 3A*. Aby mógł zajść proces konwersji próbek analogowych pochodzących z *Pomiaru Napięcia*, *MAROC 3A* potrzebuje zewnętrznego sygnału *ADC Start*. Pojawienie się *ADC Start* powinno być skorelowane z odebraniem informacji o zaistnieniu sygnału nadprogowego. Optymalna wartość opóźnienia względem otrzymania informacji o zdarzeniu na którymkolwiek z kanałów zależy od konfiguracji układu oraz trybu pomiarowego, dlatego pojawienie się *ADC Start* jest konfigurowalne i sterowane przez FPGA.



Rys. 2.14: Uproszczony schemat działania układu *MAROC 3A*. Wejściowe sygnały podlegają korekcie amplitudy, po czym trafiają do dwóch semi-niezależnych torów przetwarzania. *Układ Wyzwalania* daje informację o odebraniu sygnału nadprogowego. Natomiast drugi kształtuje wejściowy impuls w taki sposób, aby po konwersji ADC możliwe było odtworzenie energii fotonu na wejściu MA-PMT. FPGA odbiera dane z układu *MAROC 3A*, gdy te są dostępne, steruje rozpoczęciem konwersji danych analogowych do postaci cyfrowej oraz dokonuje konfiguracji *MAROC 3A* zgodnie z poleceniami otrzymywanymi z *Komputera Sterującego*.

⁴Wartość progu jest wspólna dla wszystkich kanałów w *Jednostce Akwizycji Danych*.

Konfiguracja układu *MAROC 3A* odbywa się poprzez każdorazowe wgranie ciągu 829 bitów reprezentujących informacje o pożądanym sposobie przetwarzania sygnałów przez ASIC. Dopóki bity te nie zostaną przesłane w całości, stan układu pozostaje nieokreślony, a wszystkie potencjalne dane, które mogą się pojawiać, należy uznać za niepoprawne i odrzucić. Spośród parametrów pracy *MAROC 3A* można wyróżnić:

Korektę wzmocnienia sygnału wejściowego

Dla każdego z 64 kanałów ASIC definiuje się indywidualnie, w jakim stopniu amplituda sygnału wejściowego ma zostać skorygowana, ze względu na niejednorodność wzmocnienia między poszczególnymi kanałami MA-PMT. Wzmocnienie może przyjmować wartości z zakresu 0 do 3,984 z krokiem 0,0156 i opisywane jest za pomocą 8-bitowych rejestrów.

Ustawienia *Pomiaru Napięcia*

Sposób kształtowania sygnału w torze *Pomiaru Napięcia*, a w szczególności jego amplituda oraz czas narastania zależą od doboru pojemności zaangażowanych w przetwarzanie. Im większe pojemności, tym czas narastania sygnału jest dłuższy i dla *MAROC 3A* może dochodzić do 142 ns.

Próg aktywacji *Układu Wyzwalania*

Określa minimalną wartość napięcia zmierzoną przez *Układ Wyzwalania* (tzw. *threshold*), która będzie skutkowałą wygenerowaniem binarnego sygnału o wystąpieniu zdarzenia nadprogowego w kanale. Wartość progu (definiowana przez 10-bitowy przetwornik cyfrowo-analogowy (ang. *Digital-Analog Converter, DAC*)) powinna zostać dobrana w taki sposób, aby była to możliwie niska wartość gwarantująca odrzucanie zdarzeń fałszywych (szumu) przy jednoczesnej akceptacji zdarzeń prawdziwych wynikających z detekcji promieniowania w fantomie.

Ctest

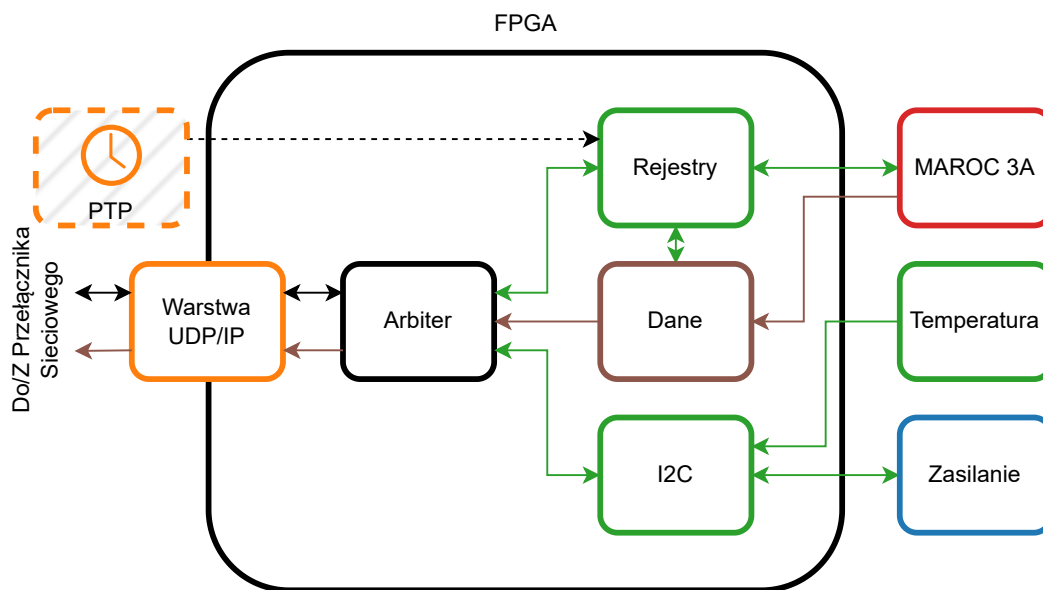
Maska 64-bitowa definiująca, które kanały działają w trybie testowym. Tryb ten pozwala badać funkcjonalność sprzętu bez konieczności angażowania MA-PMT. *MAROC 3A* akceptuje wtedy sygnały wejściowe produkowane przez zewnętrznie sterowany *Generator Impulsów Testowych* naśladujący kształt impulsów, które w normalnych warunkach pochodziłyby z MA-PMT.

Rozdzielczość konwersji analogowych danych z *Pomiaru Napięcia* przez wbudowany układ ADC

Do dyspozycji są trzy ustawienia N : 8, 10 oraz 12 bitów na próbkę. Ze względu na typ zastosowanego ADC, który porównuje wartość wejściową z sygnałem narastającym (tzw. architektura Wilkinsona [170]), czas przetwarzania próbki analogowej jest proporcjonalny do 2^N . Oznacza to, że dla częstotliwości zegara $f_{clk} = 40$ MHz maksymalna osiągalna częstotliwość próbkowania danych wynosi ~ 8 kHz oraz ~ 53 kHz odpowiednio dla najdokładniejszego, oraz najmniej dokładnego próbkowania. Otrzymywane wartości są zakodowane przy pomocy kodu Gray'a, który gwarantuje, że każde dwie sąsiednie wartości zapisane w kodzie binarnym różnią się stanem pojedynczego bitu [171].

2.2.1.2 Zarządzanie przepływem danych

Za zarządzanie komunikacją w obrębie *Jednostki Akwizycji Danych* odpowiedzialny jest układ FPGA z dedykowanym dla niego *oprogramowaniem układowym* (ang. *firmware*). Pozwala ono na kontrolę poszczególnych bloków funkcjonalnych MAROC 3A poprzez moduły odpowiedzialne m.in. za przeprowadzenie początkowej konfiguracji, generowanie sygnału *ADC Start* oraz odbiór danych cyfrowych wskazujących na liczbę, oraz energię sygnałów rejestrowanych na wejściu ASIC (Rys. 2.15).



Rys. 2.15: Organizacja oprogramowania układowego na FPGA. *Rejestry* oraz *I2C* odpowiadają za odczyt, oraz zmianę wolnozmiennych parametrów takich jak np. status aktualizacji parametrów konfiguracyjnych MAROC 3A czy liczba cykli zegara dzieląca odebranie informacji o wystąpieniu zdarzenia z MAROC 3A do wygenerowania sygnału *ADC Start*. Dane cyfrowe są stemplowane znacznikami czasu, które są wspólne dla całego systemu, dzięki czemu zachowana jest synchronizacja danych pochodzących z różnych *Jednostek Akwizycji Danych*. Dostęp do szyny komunikacyjnej umożliwiającej łączność modułów z *Komputerem Sterującym* jest przydzielany przez *Arbitra*.

FPGA komunikuje się ze światem zewnętrznym (tj. z *Komputerem Sterującym*) z wykorzystaniem protokołu UDP/IP. Każdy pakiet posiada nagłówek zgodny ze standardem *XFCP* [172], który definiuje przede wszystkim, którego modułu na FPGA dany pakiet dotyczy oraz jakiego typu informacje za sobą niesie. Istnieją trzy typy modułów, które odpowiadają za komunikację.

- *Rejestry* – umożliwiają zmianę oraz odczyt parametrów pracy danej *Jednostki Akwizycji Danych* z wykorzystaniem rejestrów bitowych, dzięki nim możliwe jest rekonfigurowanie pracy MAROC 3A, sprawdzenie stanu kolejek buforujących dane w FPGA czy zaprzestanie wysyłania danych pomimo rejestracji nowych przez MAROC 3A;
- *Dane* – dla normalnych warunków pracy są źródłem pakietów danych, odpowiadających pomiarom wykonanym przez MAROC 3A w torach *Pomiaru Napięcia* oraz *Układu Wyzwalania*, dla obu typów danych istnieją osobne instancje tych modułów, w tym pierwszym przypadku przesyłane są dane pochodzące z wewnętrznego względem MAROC 3A

ADC, natomiast w tym drugim jest to stan liczników zdarzeń dla każdego z kanałów, w chwili otrzymania z *Komputera Sterującego* żądania wysłania tych informacji⁵;

- *I2C* – jego zachowanie w dużej mierze jest podobne do *Rejestrów*, gdyż służy do wymiany wolnozmiennych informacji takich jak np. stan rejestrowanych przez monitory napięć, jednak jego działanie jest dostosowane do obsługi urządzeń, które są zgodne ze standardem *I2C*.

Dane, które pochodzą z *Jednostki Akwizycji Danych* są stemplowane za pomocą wewnętrznego dla FPGA znacznika czasu. W docelowym środowisku, gdzie wiele *Jednostek* będzie pracowało równolegle, wartość tego znacznika może mieć inną wartość, jeśli nie zostanie on zsynchronizowany⁶. Aby temu zaradzić, w systemie została zaimplementowana obsługa prostej dystrybucji wspólnego zegara oraz resetu w tzw. topologii *daisy chain* [173].

Ważnym modulem zaimplementowanym w oprogramowaniu układowym jest też *Arbiter*. Dba on przede wszystkim o to, by informacje odbierane i przetworzone przez poszczególne moduły zostały finalnie wysłane do *Komputera Sterującego* (innymi słowy stara się on przydzielać czas szyny połączenia sieciowego dla wszystkich modułów, nawet jeśli generowane przez nie równolegle dane byłyby gotowe do odesłania w tym samym momencie).

⁵W planowanej aktualizacji oprogramowania układowego ma pojawić się możliwość zdefiniowania konkretnego okresu mierzonego za pomocą liczby cykli zegara FPGA, który będzie definiował, co jaki czas ma być wysyłany pakiet z zawartością odpowiadającą stanowi poszczególnych liczników w *Jednostce*. Zwiększy to precyzję czasową, z jaką generowane są te informacje, gdyż aktualnie żądania te muszą być utworzone programowo. W związku z tym regularność otrzymywania danych zależna jest od wydajności komputera, jego obciążenia, harmonogramowania zadań przez system operacyjny oraz opóźnień na interfejsach danych.

⁶Brak synchronizacji *Jednostek* oznacza brak możliwości przeprowadzenia rzetelnej analizy danych zależnej od czasu. Tym bardziej że przypisanie konkretnego scyntylatora do *Jednostki* może być dowolne.

2.3 Podsumowanie

Zaprezentowane urządzenia pomiarowe, choć zostały zaprojektowane do różnych celów, współdzielą pewne cechy charakterystyczne jak np. modularność oraz nastawienie na zsynchronizowaną pracę wielokanałową, która pośrednio decyduje o dokładności wykonywanych pomiarów. W przypadku *Neurostim-3* większa liczba kanałów zapewniana przez AB pozwala wykorzystać MEA albo pokrywające większy obszar tkanki nerwowej, albo wręcz przeciwnie pozwoli na pomiary z lepszą rozdzielczością przestrzenną. Podobna sytuacja występuje dla *Dose-3D*, gdzie liczba kanałów definiuje pośrednio, jak dokładny fantom ze scyntylatorów może zostać obsłużony. Jednakże możliwości rozszerzania *Neurostim-3* o obsługę więcej niż 512 kanałów są ograniczone. Wynika to zwłaszcza z możliwości *Karty Pomiarowej*, która udostępnia 16 cyfrowych linii wejściowych i wyjściowych, z zegarem o maksymalnej częstotliwości do 50 MHz. Można by próbować użyć kilku IB zarządzanych przez oddzielne *Karty Pomiarowe* jednak, w przeciwieństwie do *Dose-3D*, nie istnieje mechanizm, który pozwalałby na synchronizację pracy pomiędzy IB. Tymczasem liczba kanałów w systemie *Dose-3D* jest ograniczona jedynie posiadaną liczbą *Jednostek Akwizycji Danych*. Jeżeli spodziewana maksymalna szybkość generowania informacji w danej konfiguracji wiąże się z przekroczeniem możliwości aktualnej infrastruktury sieciowej, wystarczy jedynie dokonać aktualizacji rodzaju przełącznika sieciowego, do którego podłączone są *Jednostki Akwizycji Danych* oraz karty sieciowej w *Komputerze Sterującym*.

Omawiane systemy różnią się jednak znacznie sposobem interakcji z oprogramowaniem zarządzającym pomiarem, który wynika wprost ze specyfiki działania układów *Neurostim-3* oraz *MAROC 3A*. Wymusiło to konieczność poszukiwania niestandardowych rozwiązań programistycznych, z których opisem można się zapoznać w rozdziale następnym.

Rozdział 3

Architektura oprogramowania

Warstwa sprzętowa systemu pomiarowego definiuje przede wszystkim możliwości eksperymentalne oraz jakość przetwarzania rejestrowanych sygnałów. Z uwagi na poziom skomplikowania, szybkość działania oraz poziom integracji ich rekonfiguracja za pomocą fizycznych przełączników byłaby nieefektywna. Właśnie dlatego równie ważną rolę w sukcesie danego rozwiązania odgrywa jego oprogramowanie, które dzięki znajomości protokołu komunikacyjnego rozumianego przez sprzęt potrafi w wydajny i przewidywalny sposób przeprowadzić pomiar zgodnie z oczekiwaniami użytkownika oraz zapisać otrzymane dane. W wielu przypadkach okazuje się pomocna również (nawet najprostsza) wizualizacja danych w trakcie trwania samego pomiaru, dzięki czemu można oszacować poprawność wykonywania całego eksperymentu.

Rozdział ten w przeciwieństwie do wszystkich pozostałych charakteryzuje się odmienną strukturą. Ze względu na cechy wykorzystywanego w opisywanych systemach języka programowania, którym jest *Python*, pierwsza sekcja ma charakter teoretyczny – skupia się na tych właściwościach języka oraz ich ewolucji, które w znaczący sposób ukształtowały to, w jaki sposób te DAQ zostały zaprojektowane. Dopiero później następuje przejście do omówienia DAQ i potoku przetwarzania danych zaimplementowanych na potrzeby odpowiednio *Neurostim-3* oraz *Dose-3D*.

3.1 (C)Python

Od początkowych etapów prac z oboma przedstawionymi w poprzednim rozdziale platformami sprzętowymi zdawano sobie sprawę, że ich obsługa programowa będzie niosła za sobą konieczność połączenia możliwości szybkiego prototypowania funkcjonalności z wydajnością działania. Ten drugi warunek w pierwszym przybliżeniu byłby spełniony, jeśli przygotowane oprogramowanie byłoby w stanie na bieżąco sprostać obsłudze danych pochodzących z tych urządzeń w najgorszym możliwym przypadku (tj. gdy urządzenia ciągle generują dane z maksymalną zaprojektowaną dla nich szybkością transmisji). Z drugiej strony zakres planowanych zadań, które miałyby być realizowane przez to oprogramowanie, był szeroki. Od komunikacji niskopoziomowej operującej pojedynczymi bitami, przez automatyzację procesu pomiarowego do (w przypadku *Neurostim-3*) wizualizacji danych w trakcie eksperymentu. Poszukiwano języka programowania o stosunkowo prostej składni, z dostępem do bezpłatnych bibliotek oraz wsparciem społeczności użytkowników (co jest pośrednim gwarantem możliwości utrzymania multiplatformowego kodu przez wiele lat). Pod tym kątem dobrym wyborem wydawał się język *Python*, czyli język stworzony przez Guido van Rossuma w 1991 roku [174] i dynamicznie rozwijający się, który według różnych statystyk plasuje się w pierwszej trójce najpopularniejszych języków programowania [175–177]¹.

Python jako język programowania, definiuje jedynie zbiór reguł i struktur, które są wymagane, aby dana *implementacja* została uznana za zgodną z daną jego wersją. Istnieje wiele *implementacji*, z których można wymienić IronPython [178], Jython [179] czy PyPy [180]. Ich wykorzystanie może być jednak utrudnione ze względu na brak możliwości użycia wielu niskopoziomowych rozszerzeń czy (częściową) kompatybilność jedynie ze starszymi standardami języka. Z tego względu największą popularnością cieszy się *CPython* będący tzw. *implementacją referencyjną*, która jest upubliczniana przez *Python Software Foundation* [181] co roku wraz z dokumentacją nowej wersji języka *Python*². *CPython* charakteryzuje się dwoma szczególnymi dla niego cechami:

- kod napisany przez użytkownika jest kompilowany do *kodu bajtowego*, który jest następnie interpretowany przez *maszynę wirtualną*;
- zarządzanie pamięcią alokowaną na potrzeby obiektów tworzonych w trakcie pracy programu odbywa się na podstawie *zliczania referencji* do tych obiektów, wspomaganego przez globalną blokadę interpretera (ang. *Global Interpreter Lock, GIL*) [182, 183].

Oba powyższe w znaczący sposób wpływają na scenę związaną z dostarczaniem bibliotek rozszerzających oraz tworzeniem własnego oprogramowania opartego o tę implementację.

Od tej pory pojęcia *Python* oraz *CPython* mogą występować zamiennie i stanowią nawiązanie do *implementacji referencyjnej* języka *Python*.

¹Chronologicznie najpierw powstawało oprogramowanie *Neurostim-3*. Dopiero później, na bazie zdobytych doświadczeń, rozpoczęto prace w projekcie *Dose-3D*.

²Prócz tego publikowane są również poprawki oraz aktualizacje bezpieczeństwa do pięciu lat po ogłoszeniu danej wersji języka.

3.1.1 Kod bajtowy i moduły

Zrozumiały przez programistę, wysokopoziomowy kod programu napisany w języku *Python* jest transformowany w momencie próby jego uruchomienia przez kompilator do postaci pośredniej, czyli *kodu bajtowego*. Reprezentacja ta jest zbiorem elementarnych instrukcji [184], których uruchomienie przez *maszynę wirtualną* (czyli program interpretujący program) prowadzi do wykonania działań opisanych przez oryginalny wysokopoziomowy kod³ (Rys. 3.1). *Kod bajtowy* nie podlega, w przeciwieństwie np. do języka *Java*, dalszej kompilacji do natywnych instrukcji sprzętowych procesora, co uniemożliwia przetwarzanie programu z wydajnością jego ekwiwalentu napisanego np. w języku *C*. Podejście takie wynika wprost z przyjętej filozofii, według której język *Python* miał mieć pewne cechy języków skryptowych oferowanych przez systemy operacyjne, które ułatwiają pisanie kodu przy jednoczesnej możliwości wykorzystania specjalizowanych modułów napisanych w języku *C* [186, 187]. W tym przypadku wydajność wykonania kodu zapisanego bezpośrednio przy użyciu składni *Pythona* została poświęcona na rzecz pełnego dynamizmu, który pozwala w dowolnym momencie przypisywać obiekty jednego typu do zmiennych przechowujących obiekty typu drugiego czy zmieniać kompozycję obiektów poprzez dynamiczne dodawanie/usuwanie pól oraz metod. Stanowi to jeden z głównych czynników, dla których wiele osób używa *CPython*, gdy ważniejsza jest łatwość oraz tempo prototypowania rozwiązań niż bezwzględna szybkość wykonania. Wspomniana dowolność nie pozwala jednak interpreterowi na uzyskanie pewności np., czy dana funkcja będzie wykorzystywana jedynie dla obiektów ściśle określonego typu⁴, co jest niezbędne do wykonania kompilacji do kodu maszynowego⁵.

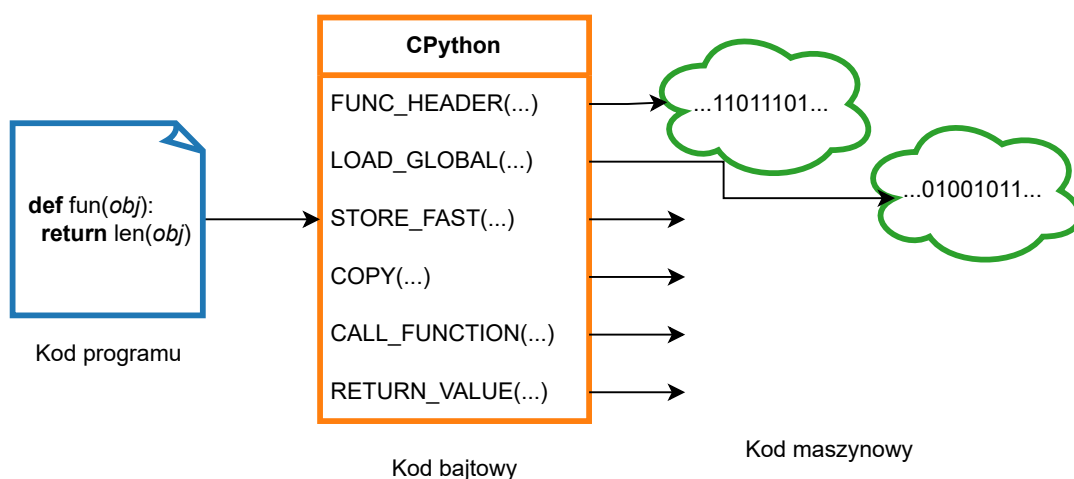
Stosunkowo niska wydajność wykonania kodu jest szczególnie odczuwalna przy zadaniach repetytywnych wymagających dużej liczby obliczeń na większym zbiorze danych takich jak np. mnożenie macierzy, które jest podstawą m.in. technik uczenia maszynowego. W zależności od konkretnego zastosowania implementacja operacji numerycznych bezpośrednio w *Pythonie* może być dwa lub więcej rzędów wielkości wolniejsza niż ekwiwalentny program przygotowany np. w języku *C*. Na potrzeby operacji wymagających numerycznie, przewidziano możliwość rozszerzania funkcjonalności za pomocą modułów implementujących funkcje biblioteczne, których kod może zostać opisany za pomocą natywnych dla procesora instrukcji. *Maszyna wirtualna* widząc odwołanie w programie do funkcji zewnętrznej (tj. nieopisanej za pomocą kodu *Pythona*), przekazuje do niej wymagane parametry i oczekuje na jej zakończenie

³Wspomniany dualizm rodzi wiele nieporozumień w zakresie ogólnego zrozumienia, w jaki sposób działa *CPython*. Ponadto niektóre operacje mogą być przeprowadzane w trakcie kompilacji (np. zniekształcanie nazw, ang. *name mangling*), podczas gdy większość jest ewaluowana w trakcie wykonania programu, co może prowadzić do trudnych do wychwycenia błędów [185].

⁴Od wersji 3.5 do standardu języka *Python* została wprowadzona możliwość deklaracji typów używanych przez zmienne i funkcje [188, 189]. Ich stosowanie jest całkowicie dobrowolne, a wszelkie informacje, które mogłyby służyć do ewentualnej optymalizacji, są całkowicie pomijane przez *maszynę wirtualną*. Informacje o typach stosowane są wyłącznie do statycznej analizy kodu źródłowego i stanowią pomoc dla programisty wspomaganą przez narzędzia do podpowiadania składni w używanym edytorze kodu źródłowego [190].

⁵Pod koniec 2020 roku [191] został zaproponowany plan przyspieszenia działania interpretera, którego pierwsza inkarnacja w wersji 3.11 wprowadziła m.in. koncepcję *adaptacyjnego interpretera* (ang. *specializing adaptive interpreter*), który analizuje, w jaki sposób i na jakich typach danych wykonywany jest kod i dokonuje specjalizacji operacji, co przekłada się na wydajność przetwarzania [192]. Dzięki tym oraz planowanym zmianom w interpreterze spodziewany jest średni przyrost wydajności na poziomie 400% do 500% w wersji 3.14 w porównaniu z wyjściową w wersji 3.10. Mecenasem tego projektu jest firma *Microsoft* [193].

oraz wytworzone przez nią wyniki, po czym *maszyna wirtualna* powraca do wykonania *kodu bajtowego*. Tym sposobem łączona jest prostota składni z zadowalającą w większości przypadków wydajnością. Ponadto użytkownik, korzystając z funkcji bibliotecznych, może mieć większą pewność co do poprawności algorytmu niż gdyby miał dokonać jego implementacji samodzielnie. Dla wspomnianych zastosowań numerycznych dobrze napisany kod *Pythona* definiuje sposób oraz parametry transformujące dane na poszczególnych etapach wykonywanych przez zoptymalizowane funkcje biblioteczne. Warto przy tej okazji wspomnieć o takich modułach jak *NumPy* [194] oraz *SciPy* [195], które oddają w ręce użytkownika zbiór wysoce zoptymalizowanych funkcji ułatwiających przetwarzanie wielowymiarowych struktur danych. Do zastosowań w uczeniu maszynowym do dyspozycji użytkowników są takie biblioteki jak *PyTorch* [196] czy *Tensorflow* [197], które pozwalają skupić się na tworzeniu modelu uczenia, a nie na szczegółach implementacji. Jeżeli wydajność obliczeniowa z jakiegoś powodu nadal jest niezadowalająca mimo wykorzystania dostępnych funkcji, programista może spróbować posłużyć się *leniwą kompilacją* (ang. *just-in-time compilation*) oferowaną przez moduł *Numba* [198]. Jest to rozwiązanie o tyle interesujące, że pozwala wybrać cel kompilacji do kodu maszynowego (tj. procesor czy karta graficzna) oraz liczbę wątków, na które ma zostać podzielony problem – wszystko to jest możliwe przy minimalnym nakładzie pracy programisty. Sam algorytm użytkownika jest natomiast zapisany w czystym kodzie *Pythona* i nie wymaga oddzielnej kompilacji, gdyż ta wykonywana jest automatycznie w momencie, gdy pierwszy raz zachodzi konieczność wykorzystania zoptymalizowanego kodu w programie. Ostatecznie programista może też stworzyć własną skompilowaną bibliotekę funkcji – jest to droga dająca najwięcej możliwości i dowolności, jednakże wymaga przede wszystkim pamiętania o dostarczeniu nowej wersji biblioteki po każdej aktualizacji plików źródłowych (co wiąże się również z wykonaniem kompilacji do kodu maszynowego).



Rys. 3.1: Wykonanie kodu programu polega na uprzedniej kompilacji zrozumiałego przez programistę algorytmu do postaci *kodu bajtowego*, czyli instrukcji, którymi posługuje się *maszyna wirtualna*. Instrukcje te są w istocie funkcjami, które implementuje *CPython* i w takiej formie wykonywane są one przez procesor. Jakakolwiek optymalizacja przeprowadzana jest na etapie kompilacji *CPythona*, zatem zachodzić może jedynie dla danego typu instrukcji *maszyny wirtualnej*, nie zaś dla ciągu wywołań kodu bajtowego uzyskanego na podstawie algorytmu przygotowanego przez programistę.

Oddanie w ręce programistów możliwości realizacji dowolnych działań za pomocą umiejętnego doboru narzędzi dostępnych z poziomu natywnego *Pythona* rozszerzalnych za pomocą opcjonalnych modułów stanowi fundament popularności tego języka programowania.

3.1.2 Zarządzanie pamięcią i Globalna Blokada Interpretera

Python jak wiele nowoczesnych języków programowania ukrywa przed użytkownikiem zarządzanie pamięcią. W przeciwieństwie np. do języka *C++*, gdzie programista musi zadbać o przydział bloku pamięci o odpowiedniej wielkości i zwolnieniu go, gdy ten nie jest już potrzebny⁶. To zarządzanie pamięcią odbywa się za pomocą mechanizmu zwracania pamięci (ang. *Garbage Collector*, *GC*), który jest integralną częścią *maszyny wirtualnej*. Mechanizm ten działa w taki sposób, że co jakiś czas wykonywanie instrukcji jest zatrzymywane celem wytypowania obiektów, które nie są już używane, wobec czego można zwolnić pamięć przez nie zarezerwowaną. *CPython* używa do tego licznika przechowującego informację o aktualnej liczbie referencji (tj. odwołań) do każdego obiektu. Gdy wartość licznika osiąga zero, stanowi to jasny przekaz, że *GC* może uwolnić pamięć zajmowaną przez dany obiekt.

GC oparty o zliczanie referencji działa dobrze w środowisku, gdy algorytmy przetwarzane przez *maszynę wirtualną* są sekwencyjne. Jednakże już na początku lat 90. ubiegłego tysiąclecia komputerowe systemy operacyjne zaczęły wprowadzać możliwość wykonywania wielu zadań semi-jednocześnie z dynamicznym przydzielaniem dla nich czasu procesora i współdzieleniem przestrzeni adresowej pamięci. W ten sposób oddano w ręce programistów możliwość projektowania *aplikacji wielowątkowych* (ang. *multithreaded applications*), choć z drugiej strony zdecydowana większość wykorzystywanych procesorów miała umiejętność przetwarzania wyłącznie jednego wątku. W przypadku wykorzystywania wielu wątków, których stan przetwarzania może zostać przełączony na dowolnym etapie (tj. po wykonaniu dowolnej instrukcji opisanej za pomocą *kodu bajtowego*), może dochodzić m.in. do zjawiska, które w literaturze jest określane mianem *wyścigu o dane* (ang. *race condition*) [204, 205].

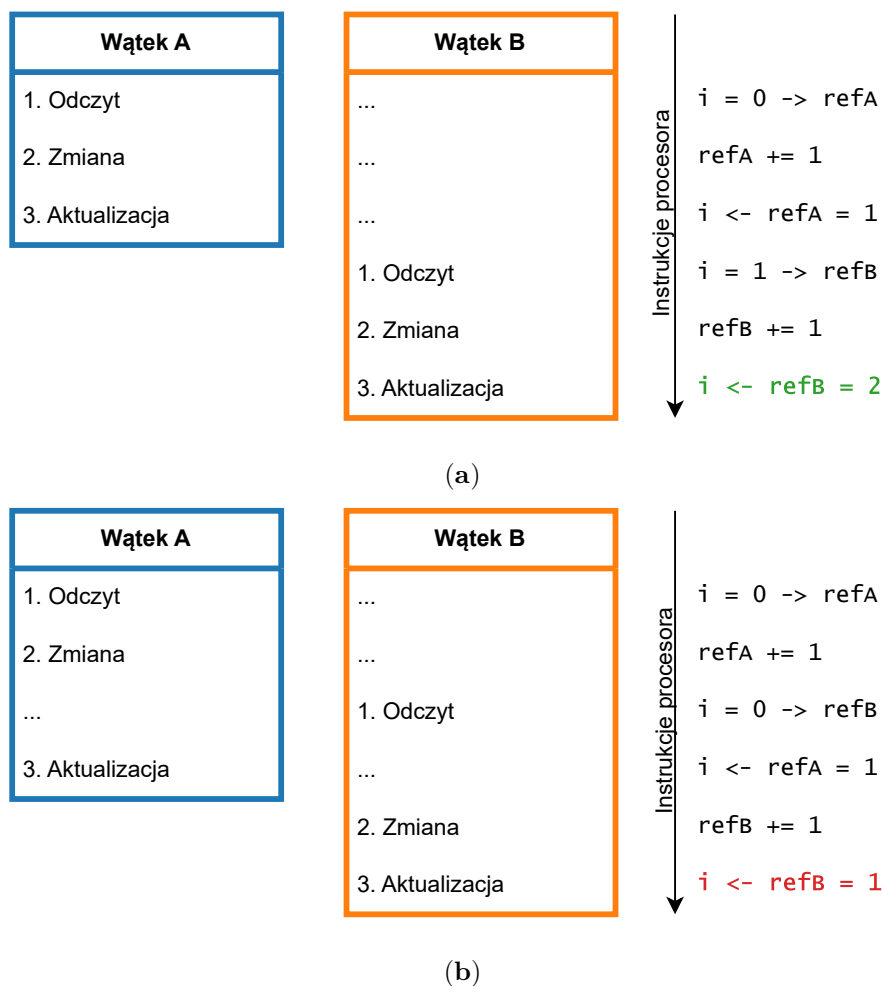
Rozpatrując stan licznika referencji, operacja zmiany jego wartości składa się tak naprawdę z trzech oddzielnych operacji:

- (1) odczytu wartości licznika do wewnętrznego rejestru,
- (2) inkrementacji/dekrementacji wartości wewnętrznego rejestru,
- (3) zapisu wartości rejestru do licznika referencji.

Dla obiektu współdzielonego przez dwa wątki **A** i **B**, jeżeli operacja (1) w wątku **B** nastąpi przed zakończeniem operacji (3) wątku **A**, to w takim przypadku na wyjściu otrzymywana jest błędna wartość licznika referencji (Rys. 3.2). Ta wcześniej czy później będzie prowadziła do tzw. *wycieku pamięci* (ang. *memory leak*) bądź do próby wykorzystania obiektu, dla którego *GC* na podstawie licznika referencji podjął już działanie zwolnienia zajmowanej pamięci. Stąd, aby tworzyć poprawnie zachowujące się programy wielowątkowe w *Pythonie*, należało wprowadzić mechanizm zapobiegający tego typu sytuacjom. W tym celu w 1992 roku wprowadzono

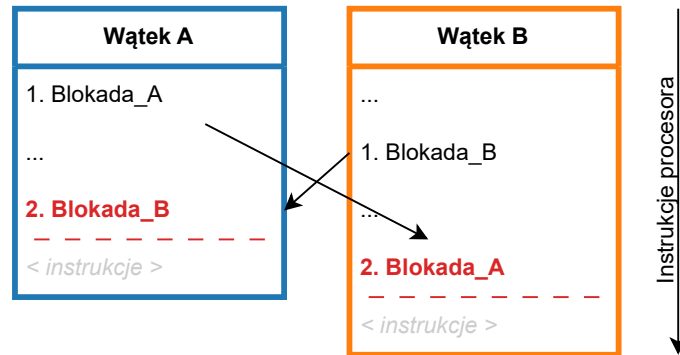
⁶Stwierdzenie to jest pewnym uproszczeniem. Nowoczesne standardy języka (tj. *C++11* i nowsze) starają się ukrywać przed programistą konieczność bezpośredniego zarządzania pamięcią poprzez właściwe wykorzystanie tzw. *biblioteki standardowej* i udostępniane przez nią abstrakcyjne typy danych [199, 200]. W tym miejscu można wyróżnić listy (`vector` [201]) oraz inteligentne wskaźniki (`unique_ptr` [202] czy `shared_ptr` [203]).

GIL, czyli obiekt *maszyny wirtualnej*, który wątek musi posiadać, aby jego *kod bajtowy* lub zewnętrzne funkcje biblioteczne mogły być wykonywane [206]. GIL jest prostym, aczkolwiek skutecznym rozwiązaniem zapewniającym poprawność zarządzania pamięcią. Przede wszystkim jego implementacja jest o wiele łatwiejsza oraz mniej obciążająca procesor niż alternatywne podejście wykorzystujące blokady stowarzyszone z każdym obiektem⁷. Ponadto w systemach, w których występuje więcej niż jeden obiekt blokady współdzielony przez współbieżne zadania, może dochodzić do *zakleszczania* (ang. *deadlock*) [204, 205]. Jest to sytuacja, w której przynajmniej dwa wątki próbują uzyskać dostęp do zasobów chronionych przez przynajmniej dwie blokady, ale w przeciwnej kolejności uzyskiwania tego dostępu (Rys. 3.3). W przypadku zakleszczenia program lub jego część nie jest dalej wykonywana, co nieuchronnie będzie prowadziło do błędów. GIL jest natomiast rozwiązaniem odpornym na ten efekt, gdyż jest jedyną blokadą stojącą na straży wykonywania instrukcji przez wątki.



Rys. 3.2: Ilustracja *wyścigu o dane* w wyniku braku synchronizacji między wątkami **A** oraz **B**. Przykład sekwencji instrukcji prowadzących do poprawnych (a) oraz niepoprawnych (b) wyników.

⁷Wątek, aby móc zmienić jakiegokolwiek pole związane z obiektem, musiałby otrzymać dostęp nadany przez blokadę strzegącą dostępu tylko do tego obiektu. Jednocześnie wszystkie inne wątki zmuszone byłyby do oczekiwania na zwolnienie tej blokady.



Rys. 3.3: Przykład sekwencji blokad, które prowadzą do zakleszczenia i w konsekwencji uniemożliwiają dalsze przetwarzanie instrukcji. Oba wątki próbują otrzymać dostęp do dwóch blokad, ale w przeciwnej kolejności. W konsekwencji wykonanie zadań zostanie zatrzymane.

Przez wiele lat, czyli do ok. 2005 roku, GIL nie stanowił większego ograniczenia, gdyż większość procesorów była jednordzeniowa i jednowątkowa. Jednakże wraz z sukcesem procesorów *Intel Core 2 Duo* [207] oraz konsol *Xbox 360* [208] i *PlayStation 3* [209] sytuacja na rynku uległa diametralnej zmianie, gdyż w komputerach konsumenckich coraz częściej zaczęły się pojawiać jednostki zdolne do prawdziwie równoległej obróbki danych dzięki obecności kilku fizycznych rdzeni obliczeniowych. W takich warunkach bardzo łatwo przekonać się, że wydajność aplikacji wielordzeniowych napisanych w *Pythonie* może być ograniczana wydajnością przetwarzania pojedynczego rdzenia procesora⁸, gdyż w każdej chwili w danej *maszynie wirtualnej* tylko jeden wątek jest w stanie przetwarzać swoje instrukcje⁹.

Wspomniany problem związany z wykorzystaniem pełnego potencjału procesorów został oficjalnie zaadresowany przez twórcę *Pythona*. Według niego usunięcie GIL było operacją stanowiącą głęboką ingerencję w *maszynę wirtualną*, co wyraził w następujących słowach¹⁰ (tłumaczenie własne) [212]:

Z zadowoleniem przyjmę zestaw poprawek do *Py3k*^a tylko wtedy, gdy wydajność programu jednowątkowego (i programu wielowątkowego, ale ograniczonego przez operacje wejścia – wyjścia) nie ulegnie pogorszeniu.

^aRobocza nazwa dla *Python 3.0*.

Na podstawie tych słów można dojść do wniosku, iż Guido van Rossum był dość sceptycznie nastawiony do możliwości powodzenia tego przedsięwzięcia. Ponadto on sam wielokrotnie

⁸W rzeczywistości zadania w zależności od swojej specyfiki można podzielić na *ograniczone przez procesor* (ang. *CPU-bound*) oraz *ograniczone przez operacje wejścia – wyjścia* (ang. *I/O-bound*). Te pierwsze polegają w znacznej mierze na wydajności przetwarzania instrukcji przez procesor, natomiast te drugie są zależne od danych pochodzących z zewnątrz np. z Internetu i większą część czasu spędzają w oczekiwaniu na dane, przez co nie wykonują *kodu bajtowego*. Twórcy modułów rozszerzających mogą w takim przypadku zdecydować się na *zwolnienie GIL*, dzięki czemu inny wątek może zacząć przetwarzać dane, gdyż nie wpłynie to na stan liczników referencji.

⁹Jak pokazały badania wykonane wiele lat po wprowadzeniu GIL do interpretera, oryginalna i długo wykorzystywana implementacja była daleka od optymalnej, wskutek czego zadania wielowątkowe wykonywane były znacznie wolniej niż gdyby zostały one uruchomione sekwencyjnie [210]. Zostało to naprawione dopiero w 2011 roku przy okazji wydania wersji *Python 3.2* [211].

¹⁰Oryginalnie: *I'd welcome a set of patches into Py3k only if the performance for a single-threaded program (and for a multi-threaded but I/O-bound program) does not decrease.*

broniał GIL jako skutecznego i wydajnego mechanizmu zapewniającego poprawność wykonania operacji przez *maszynę wirtualną* [213, 214].

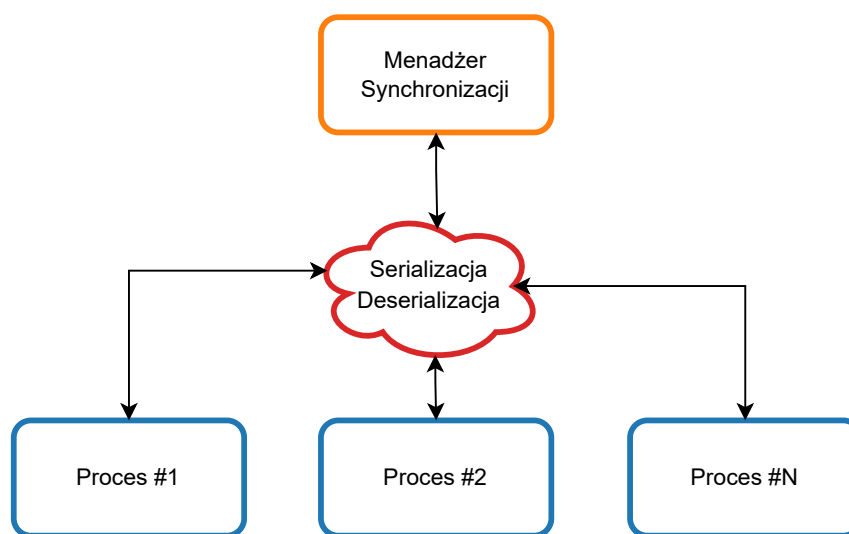
Z drugiej strony należy przypomnieć, że istnienie GIL jest podyktowane sposobem, w jaki *CPython* zarządza pamięcią, a który jest oparty o liczniki referencji. Istniejące implementacje *Pythona* takie jak *IronPython* czy *Jython* nie stosują GIL, gdyż korzystają z innych implementacji GC, przez co problem ograniczenia wykorzystania wielowątkowości w ich przypadku nie występuje. Na pozór zatem dobrym pomysłem byłaby zmiana modelu wykorzystania pamięci na taki, który do poprawnego działania nie potrzebowałby liczników referencji. Takie działanie stanowiłoby głęboką ingerencję w sposób integracji *CPythona* z bibliotekami zewnętrznymi, które aktualnie dzięki tzw. *C API* mogą ingerować w stan *maszyny wirtualnej*, a przez to w zarządzaną przez nią pamięć. Tego typu zmiana wiązałaby się z koniecznością przebudowy znakomitej większości istniejących bibliotek, na co aktualnie osoby zarządzające projektem *CPython* nie mogą sobie pozwolić, gdyż wymagałoby to zbyt wiele wysiłku całej społeczności [215].

Pewnym sposobem zaradzenia na ewentualne niedogodności wynikające z nieoptymalnego wykorzystania dostępnych zasobów sprzętowych przez programy w języku *Python* było wprowadzenie w 2008 roku wraz z *Python 2.6* do standardu języka modułu *multiprocessing* [216]. Filozofia jego użycia polega na wykonywaniu zadań równoległych w kilku działających jednocześnie instancjach *maszyny wirtualnej*. Każda z tych instancji, będąc osobnym procesem systemu operacyjnego, posiada odrębną przestrzeń adresową, a co się z tym wiąże, każda z nich zarządza czasem życia wyłącznie swoich obiektów, oraz posiada własny GIL. W przypadku problemów, które można rozłożyć na niezależne od siebie zadania np. jednoczesna analiza wielu zbiorów danych, na podstawie których przygotowywane są wykresy, moduł ten sprawdza się idealnie. Wyzwaniem zaczyna być natomiast sytuacja, w której kilka procesów działa jednocześnie, jednak ich wykonanie jest zależne w jakimś stopniu od (niejednokrotnie pośrednich) wyników działania pozostałych procesów, gdyż konieczne jest w tym przypadku wykorzystanie prymitywów synchronizacyjnych. Z uwagi na fakt, że procesy są izolowane od wszystkich pozostałych przez system operacyjny, wymiana danych między nimi nie jest trywialnym zadaniem. Moduł *multiprocessing* do tego celu udostępnia obiekty typu *menadżer synchronizacji* (ang. *SyncManager*), które same z siebie są osobnymi procesami, pośredniczącymi w wymianie informacji z użyciem takich prymitywów jak *lista*, *słownik*, *kolejka* czy *blokada*. Wymiana danych z ich wykorzystaniem wymaga jeszcze ponadto dodatkowego składnika, którym jest *serializacja/deserializacja obiektów* (ang. *pickling/unpickling*), wymienianych za pośrednictwem tych prymitywów¹¹ (Rys. 3.4).

Protokół ten ma kilka ograniczeń, z których dwa najważniejsze to niska przepustowość danych związana z koniecznością wykonania serializacji po stronie nadawcy i deserializacji po stronie odbiorcy (co w praktyce sprowadza się do możliwości transmisji danych nie więcej niż 10 $\frac{\text{MB}}{\text{s}}$) oraz brak możliwości współdzielenia obiektów, które nie podlegają serializacji np. obiekty wątków. W szczególnych przypadkach, gdy potok przetwarzania jest bardzo dobrze

¹¹Serializacja dokonuje konwersji hierarchii obiektów do postaci ciągu bajtów, z którego na drodze deserializacji (po stronie odbiorcy) zostanie odtworzona wyjściowa hierarchia obiektów.

określony, tzn. kierunek przepływu danych jest stały, o nieziennej (lub wolnoziennej) przepustowości, można próbować wykorzystać *pamięć współdzieloną*. Jest to blok danych o stałej wielkości, który można wykorzystać do wymiany informacji z pominięciem etapu ich *serializacji/deserializacji*. Dzięki temu możliwe staje się osiągnięcie o wiele wyższych prędkości transferów niż te, na które pozwala *menadżer synchronizacji*. Wadą tego rozwiązania jest konieczność podjęcia *a priori* decyzji o rozmiarze tego bloku pamięci bez względu na jego wykorzystanie w trakcie działania programu. Od wersji *Pythona 3.8* udostępniana jest natywna możliwość wykorzystania *pamięci współdzielonej* [217]. Natomiast wsparcie dla kolejek o elementach będącymi tablicami *NumPy* o stałym rozmiarze i typie, opartych o model *pamięci współdzielonej* można uzyskać poprzez moduł *arrayqueues* [218].



Rys. 3.4: Kooperacja procesów w *CPython* jest możliwa dzięki *menadżerowi synchronizacji*, pełniącemu funkcję serwera danych. Dane te jednak podlegają *serializacji/deserializacji* na drodze od procesu nadawcy do odbiorcy, co niekorzystnie wpływa na przepustowość transmisji i potencjalnie ogranicza wydajność działania całego programu. Na podstawie [219].

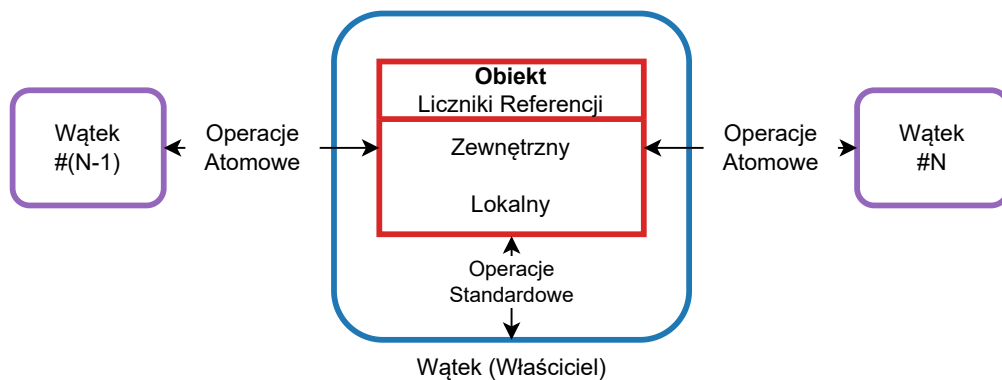
3.1.2.1 Próby usunięcia Globalnej Blokady Interpretora

Aplikacje budowane w oparciu o zestaw kooperujących ze sobą procesów, dzięki którym możliwe się stało pełniejsze wykorzystanie możliwości nowoczesnych jednostek obliczeniowych, rozwiązało wiele problemów, jednak nie wszystkie. Ponadto wciąż wśród społeczności *CPythona* panowało przekonanie, że programiści (a tym samym przygotowywane przez nich aplikacje) są w pewnym stopniu ograniczeni przez obecność GIL.

W 2016 Larry Hastings zaprezentował swój pomysł na usunięcie GIL z *maszyny wirtualnej* przy jednoczesnym zachowaniu GC opartego o liczniki referencji, co pozwoliłoby odblokować pełen potencjał przetwarzania opartego o wątki [220]. Zaproponowana implementacja, nazwana *gilectomy*, przede wszystkim usuwała GIL na rzecz wykorzystania *atomowych* (tj. niepodzielnych) operacji zmiany wartości liczników referencji, które są wspierane przez nowoczesne procesory. W następstwie otrzymano implementację *CPythona*, która była w stanie wykorzystać wszystkie rdzenie procesora. Dla przypadku testowego, który polegał na obliczaniu pierwszych 30 wyrazów ciągu Fibonacciego przez siedem wątków rzeczywisty czas spędzony na obliczaniu

wartości wynosił jedynie 4% całego czasu wykonywania tego programu i był ~20-krotnie wolniejszy niż ten sam program uruchomiony przez natywną *maszynę wirtualną*¹². Rok później zaprezentowane zostały dodatkowe mechanizmy, które usprawniły implementację, aczkolwiek nadal dla aplikacji wielowątkowych nie osiągnięto zysku względem *implementacji referencyjnej*. Ponadto kod interpretera na drodze wspomnianych usprawnień uległ znacznej komplikacji względem stanu wyjściowego [221, 222]. W 2018 roku projekt został porzucony ze względu na brak pomysłów związanych z dalszym rozwojem¹³.

Stosunkowo niedawno, bo w 2021 roku, temat usunięcia GIL z *CPythona* został podjęty przez Sama Grossa [224, 225]. Jego implementacja, nazwana *nogil*, oparta jest w głównej mierze o zmniejszenie częstości inkrementacji/dekrementacji *atomowych liczników referencji* oraz niskokosztowe (pod względem narzutu pamięci i czasu procesora) blokady zapewniające integralność danych przechowywanych przez *słowniki, listy czy zbiory* [226, 227]. Punktem wyjścia dla tego projektu była obserwacja, że większość obiektów wykorzystywanych przez dany wątek programu to obiekty, które zostały przez niego stworzone, a wykorzystywane są przez inne wątki w znacznie mniejszym stopniu. Będąc właścicielem obiektu, może on zmieniać licznik referencji w tradycyjny sposób. Dlatego *nogil* przypisuje do każdego obiektu dwa liczniki referencji – jeden aktualizowany przez wątek właściciela, drugi przez wszystkie pozostałe tylko, że wartość tego drugiego jest zmieniana przy pomocy *operacji atomowych*. Pamięć zajmowana przez taki obiekt jest zwalniana, gdy każdy z tych liczników będzie miał wartość zero. Rozwiązanie to nosi nazwę *przeniesionego zliczania referencji* (ang. biased reference counting) [228] (Rys. 3.5).



Rys. 3.5: *Przeniesione zliczanie referencji* zaimplementowane w *nogil* celem zmniejszenia narzutu związanego z koniecznością wykorzystania *operacji atomowych*. Wątek właściciela aktualizuje *lokalny licznik referencji* jako jedyny, więc może do tego celu wykorzystywać standardowe (tj. nieatomowe) operacje bez obawy o błędny wynik. Na podstawie [228].

Rozwiązuje to problem narzutu związanego z operacjami atomowymi, jednak nie działa w przypadku, gdy dany obiekt jest często wykorzystywany przez wiele wątków jednocześnie, co jest

¹²Larry Hastings twierdził, że narzut obliczeniowy nie wynika wprost z użycia operacji atomowych tylko z faktu, że każda tego typu operacja unieważnia zawartość pamięci podręcznej procesora.

¹³Larry Hastings zaczął w tamtym momencie rozważać implementację GC, która nie wymagałaby informacji o liczbie referencji do obiektów [223]. Takie podejście wiązałoby się jednak z porzuceniem kompatybilności ze wszystkimi bibliotekami, których działanie zakłada kooperację z interpreterem.

szczególnie widoczne dla obiektów stałych oraz funkcji. Dla tych pierwszych całkowicie zrezygnowano ze *zliczania referencji*, gdyż są one usuwane przez GC dopiero w chwili zakończenia programu. Natomiast *zliczanie referencji* dla obiektów funkcji/metod zostało usunięte w kontekście pobierania i zwracania ich kodu przez *maszynę wirtualną* celem ich wywołania.

Choć przedstawiona implementacja została oparta o te cztery wymienione filary (tj. trzy modyfikacje dotyczące *zliczania referencji* oraz blokowanie dostępu do elementarnych struktur danych), to skala zmian objęła również:

- alokację pamięci, która musi działać poprawnie w środowisku wielowątkowym,
- GC,
- strukturę *kodu bajtowego*,

co może powodować problemy z działaniem niektórych bibliotek.

Nogil został stworzony na podstawie *Python 3.9*¹⁴ [230] i dla pakietu standardowych dla *Pythona* testów [231] wykazuje średnio $\sim 11\%$ większą wydajność niż *implementacja referencyjna Python 3.9*. Jednakże od momentu wydania wersji 3.9 wydajność przetwarzania przez interpreter wzrosła na tyle, że wstępne próby implementacji *nogil* dla *Python 3.12* skutkują narzutem czasowym względem *implementacji referencyjnej* o 5% do 8% [232]. Należy jednak mieć na uwadze, iż ten sam test, który był wykorzystywany na potrzeby *gilectomy* (wielowątkowe obliczanie kolejnych liczby ciągu Fibonacciego) pokazuje, że wydajność aplikacji może znacznie zyskać przy wykorzystaniu wielu wątków. W tym kontekście z jednej strony *nogil* nie tylko spełnia oczekiwania postawione przez Guido van Rossuma, ale nawet je przewyższa (bazując na porównaniu efektów względem bazowej implementacji *Python 3.9*), podczas gdy jednocześnie nie jest w stanie im sprostać w obliczu zmian, które zaszły w interpreterze przez ostatnie trzy lata. Wszystko to sprawiło, że projekt ten zyskał oficjalne wsparcie *Python Software Foundation* oraz społeczności. Na początku 2023 roku został opublikowany oficjalny dokument, który szczegółowo opisuje proponowane zmiany i aktualnie pomysł ten jest poddany do konsultacji społeczności [232, 233] (co jednak nie gwarantuje, że GIL zostanie ostatecznie usunięty z *CPython*). Natomiast poszczególne elementy przedstawionej implementacji, takie jak nowy alokator pamięci [234] czy pomijanie zliczania referencji obiektów stałych [235] mają zostać zaimplementowane w przyszłych wersjach.

Nawet jeśli *nogil* zostanie zaaprobowany, w początkowej fazie planowane jest dystrybuowanie *CPython* w dwóch wersjach z oraz bez GIL, co wiązać się będzie również z koniecznością utrzymywania dwóch wersji kodu zewnętrznych modułów¹⁵. Aktualnie każda zainteresowana osoba może sprawdzić działanie *nogil* we własnym zakresie, jednak trzeba się liczyć z tym, że niektóre moduły mogą mieć ograniczoną dostępność w zależności od wykorzystywanego

¹⁴W chwili pisania niniejszych słów, prace nad prototypem *nogil* dla aktualnie przygotowywanej wersji *Python 3.12* są w zaawansowanym stadium [229].

¹⁵W tej sprawie Sam Gross deklaruje, że będzie udzielał wsparcia ich twórcom oraz każdemu, kto używa jego implementacji.

systemu operacyjnego [236] i ponadto nie ma gwarancji, że będą działały prawidłowo w środowisku wielowątkowym^{16,17}.

Tylko poprzez aktywne budowanie społeczności wykorzystującej na co dzień *nogil* istnieje realna możliwość przekonania osób decyzyjnych zajmujących się rozwijaniem projektu *CPython*, iż możliwości, które oferuje *nogil* są pożądane i wpłyną pozytywnie na produktywność programistów.

¹⁶Wiele bibliotek, których początki sięgają lat 90. (a nawet wcześniej), w sposób fundamentalny nie jest przygotowana do poprawnej pracy, gdy używane są wątki. Koronnym przykładem jest tutaj standard zapisu pliku *HDF5*, który wykorzystywany jest jako format bazowy wielu innych formatów plików, zwłaszcza tych, które nastawione są na przechowywanie zbiorów danych naukowych. Aktualizacja takich bibliotek jest nietrywialna i wymaga zazwyczaj wieloetapowych przygotowań [237].

¹⁷Ze względu na zmiany w strukturze *kodu bajtowego* programy wykonywane przez *nogil* nie mogą korzystać z modułu *Numba*.

3.2 Oprogramowanie – Neurostim-3

3.2.1 Protokół komunikacji z Neurostim-3

Układ *Neurostim-3* do poprawnego działania wymaga ciągłego strumienia danych sterujących zawierającego informacje o żądanych parametrach rejestracji oraz protokole stymulacji elektrycznej. Ilość danych produkowanych/odbieranych przez oprogramowanie dla pojedynczego ASIC jest ściśle powiązana z częstotliwością zegara systemowego generowanego przez kartę pomiarową tj. $1 \text{ bit} \times 50 \text{ MHz} \simeq 50 \frac{\text{Mbit}}{\text{s}}$. W praktyce jednocześnie wykorzystuje się wszystkie 16 + 16 linie, co skutkuje koniecznością obsługi ciągłych $\sim 100 \frac{\text{MB}}{\text{s}}$ strumieni w każdym kierunku.

Po włączeniu zasilania *Neurostim-3* uruchamiany jest z domyślnym stanem jego rejestrów wewnętrznych. Przed rozpoczęciem pomiaru należy go skonfigurować za pomocą odpowiednich ciągów stanów niskich i wysokich rozpoznawanych przez *Dekoder Poleceń*. Gdy *Neurostim-3* zacznie otrzymywać sygnał zegarowy, *Dekoder Poleceń* uruchamia analizę przychodzącego do niego ciągu danych. Podstawowym elementem komunikacji jest tzw. *ramka danych*. *Dekoder Poleceń* nie podejmuje żadnych działań konfiguracyjnych, dopóki w przychodzącym strumieniu danych nie zostanie odnaleziony ciąg czterech stanów 1010 (tzw. *nagłówek ramki*). Po nim następują dane ramki (struktura ramki oraz jej długość zależy ściśle od typu polecenia, oraz w niektórych przypadkach istniejącej konfiguracji układu), zakończone bitem parzystości, którego wartość powinna zostać ustalona przez oprogramowanie na stan wysoki jedynie w przypadku, gdy *dane ramki* zawierają parzystą liczbę stanów wysokich¹⁸. Po odczytaniu bitu parzystości *Dekoder Poleceń* przechodzi z powrotem do trybu poszukiwania nagłówka ramki.

Najistotniejszymi komendami, z punktu widzenia zapewnienia poprawności komunikacji są te związane z:

- ustaleniem puli aktywnych kanałów (tzw. maska kanałów),
- konfiguracją parametrów próbkowania sygnału,
- przekazaniem informacji o żądaniu ustawienia amplitudy prądu na kanałach tzw. *ramka danych czasu rzeczywistego* (ang. *Real-Time Data Frame, RTDF*).

Podstawą do zrozumienia zasady, z jaką działa *Neurostim-3* jest konstatacja:

Wszystkie aktywne kanały są próbkowane jednocześnie, w tym samym czasie następuje ustalenie amplitud prądów stymulacyjnych na kanałach zgodnie z zawartością RTDF, a częstotliwość, z jaką próbkowane są sygnały zależy od odległości mierzonej liczbą cykli zegara systemowego między kolejnymi początkami ramek RTDF.

Odległość między kolejnymi RTDF nie może być dowolnie mała. Dla każdej konfiguracji maski kanałów i parametrów próbkowania istnieje pewna minimalna długość RTDF – niedostosowanie się do tego ograniczenia skutkuje błędnym działaniem *Dekodera Poleceń* i w rezultacie utratą kontroli nad *Neurostim-3*. Dane ramki w przypadku RTDF mają następującą postać:

- stały ciąg bitów 111 identyfikujący rodzaj komendy (tzw. mnemonik),

¹⁸*Neurostim-3* w czasie analizowania *Ramki Danych* sam zlicza stany wysokie, jeśli jego obliczenia nie zgadzają się z przesłanym z oprogramowania strumieniem danych, wtedy generowany jest sygnał na padzie testowym, którego obecność nie ma jednak bezpośredniego wpływu na funkcjonowanie układu.

- ciąg bitów o dowolnej (tj. ignorowanej) zawartości, którego długość w liczbie cykli zegara zależy od konfiguracji rejestrów,
- $14 \times N_{ch}$ bitów, definiujących stan wyjść prądowych, dla każdego z N_{ch} aktywnych kanałów zdefiniowanych przez maskę kanałów.

Struktura podciągów 14-bitowych w RTDF jest identyczna dla wszystkich aktywnych kanałów i przede wszystkim służy ustaleniu wartości odpowiednich DAC odpowiedzialnych za ustalenie wartości generowanego prądu stymulacyjnego I_o (Tab. 3.1).

Tab. 3.1: Struktura podciągów 14-bitowych w RTDF.

Nazwa	Pozycja w Podciągu	Znaczenie
DAC ₇	13 – 7	Wartość dziesiętna wyrażona naturalnym kodem binarnym
DAC _e	6	Wyjście prądu 0 - wyłączone 1 - włączone
I _{pol}	5	Polarność prądu wyjściowego 0 - ujemna 1 - dodatnia
DAC ₄	4 – 1	Wartość dziesiętna wyrażona naturalnym kodem binarnym
REC _e	0	Odczyt analogowy 0 - włączony 1 - wyłączony

RTDF został zoptymalizowany w taki sposób, aby dla eksperymentów polegających jedynie na odczycie danych wystarczyło wysłanie pustych (tj. wypełnionych zerami) ciągów bitów. W takim ustawieniu rejestr REC_e umożliwia odczyt wejściowych danych analogowych z MEA. W praktyce podczas pomiarów biologicznych stan wysoki tych rejestrów wykorzystuje się jedynie w trakcie wysyłania impulsów stymulujących, tj. gdy DAC_e = 1, w celu redukcji artefaktu stymulacyjnego. Wartość generowanego przez kanał prądu stymulacyjnego I_o w danym momencie jest podana wzorem:

$$I_o(\text{DAC}_b, I_{\text{pol}}) = \frac{[\text{DAC}_{10}] \times [\text{DAC}_7] \times [\text{DAC}_4]}{(2^{10} - 1)(2^7 - 1)(2^4 - 1)} \times 15 \mu\text{A} \times \begin{cases} -1 & \text{jeśli } I_{\text{pol}} = 0 \\ 1 & \text{jeśli } I_{\text{pol}} = 1 \end{cases}, \quad (3.1)$$

gdzie:

- [DAC_b] jest wartością dziesiętną odpowiadającą przekazanej do *Neurostim-3* wartości DAC w naturalnym kodzie binarnym,
- DAC₁₀ jest stanem globalnego rejestru skalującego (tj. dla konkretnego ASIC), który został ustawiony przez użytkownika na etapie konfiguracji.

Aby jednak prąd ten został przekazany na wyjście kanału¹⁹, DAC_e musi przyjąć wartość 1.

¹⁹Dla zachowania precyzji generowanych wartości prądu można stosować technikę zakładającą wcześniejsze wystawienie źródła prądowego z włączeniem jego wyjścia dopiero w następnym RTDF.

Przy domyślnych parametrach działania system *Neurostim-3* pracuje z globalnym zegarem $f_{clk} = 50$ MHz (jest to maksymalna możliwa częstotliwość zegara, którą oferuje wykorzystywana przez system *Karta Pomiarowa*) ze wszystkimi kanałami oznaczonymi jako aktywne przy odstępach między następującymi po sobie RTDF długości 1250 cykli zegara. Skutkuje to próbkowaniem wejść/wyjść z częstotliwością $f_s = 40$ kHz, co jest wystarczające do rejestracji zewnątrzkomórkowych sygnałów biologicznych, jednak może być kłopotliwe przy próbie określenia charakterystyki częstotliwościowej filtru pasmowo-przepustowego czy impedancji elektrod. Dzięki maskowaniu kanałów można jednak znacznie zredukować wymaganą długość RTDF, a przez to zwiększyć częstotliwość próbkowania. Minimalna osiągalna długość RTDF przy pojedynczym aktywnym kanale w ASIC to 27 cykli zegara systemowego (+5 wymaganych na nagłówki ramki oraz bit parzystości) co przekłada się na możliwość kontroli z częstotliwością $f_{s_{max}} = 1,5625$ MHz. Jest to jednak częstotliwość mało praktyczna, gdyż zaimplementowany w kodzie algorytm generujący impulsy prostokątne, używany w procedurach testowych, jest oparty o dzielniki liczby RTDF w strumieniu danych odpowiadającym akwizycji danych przez 0,5 s. Stąd o wiele praktyczniej z tego względu jest wykorzystywać częstotliwość $f_s = 1$ MHz.

Przetworzone i zserializowane przez *Neurostim-3* dane analogowe trafiają na wejście ADC taktowanego zegarem systemowym. Minimalny czas konwersji wyrażony liczbą cykli zegara to 14 dla wykorzystywanego 12-bitowego przetwornika i jest tożsamy z długością podciągów RTDF, dzięki czemu możliwe jest osiągnięcie częstotliwości próbkowania opisanych powyżej. Taki sygnał cyfrowy, który wchodzi na wejście *Karty Pomiarowej* musi zostać jeszcze poddany programowej deserializacji, gdyż architektura komputera przewiduje, że kolejne bity stowarzyszone z daną wartością są przekazywane na tym samym bajcie, nie zaś na n -tych bitach kolejnych bajtów.

3.2.1.1 Dodatkowe własności

Wdrożenie *Neurostim-3* do etapu, gdzie jest on wykorzystany we właściwym eksperymencie biologicznym, nie byłoby możliwe bez możliwości wcześniejszej charakteryzacji parametrów i ewaluacji poprawności działania samego ASIC. Choć zaprezentowany protokół komunikacji jest bardzo prosty, co przejawia się m.in. brakiem możliwości odczytania wartości rejestru (jedynie dane zwrotne to cyfrowe dane odpowiadające zarejestrowanym potencjałom w aktywnych kanałach, pozbawione znaczników czasowych czy innych metadanych), to jednak pozwala na dość dużą swobodę w zakresie testowania parametrów jego pracy poprzez dodatkowe komendy oraz stany rejestrów:

- globalne sterowanie amplitudą prądu za pomocą 10-bitowego DAC, co w połączeniu z pozostałymi DAC zaimplementowanymi w każdym z kanałów daje $(21 + 1)$ -bitową rozdzielczość sterowania amplitudą prądu stymulacji (1 bit na polarność I_{pol});
- 5-bitowe, niezależne konfigurowanie filtru dolno- oraz górnoprzepustowego, gdzie najniższa wartość bitowa odpowiada minimalnej możliwej częstotliwości granicznej osiągananej przez filtr w kanale, według założeń projektowych powinno się to przekładać na regulację <1 Hz do 7 Hz oraz 1 kHz do 20 kHz odpowiednio filtru górno- oraz dolnoprzepustowego;
- wzmocnienie sygnału analogowego K w paśmie przenoszenia spośród ośmiu dyskretnych ustawień od $100 \frac{V}{V}$ do $500 \frac{V}{V}$;

- pomijanie układu wzmacniająco – filtrującego w trybie *Voltage Follower*, co jest przydatne przy określeniu prawdziwej charakterystyki impedancji elektrod $Z(j\omega)$, dla częstotliwości sygnału poza pasmem przenoszenia;
- przekierowanie impulsów stymulacyjnych bezpośrednio na wejście wzmacniacza danego kanału poprzez wewnętrzny rezystor $R_{gi} = \sim 5,5 \text{ k}\Omega$.

Mając te wszystkie opcje do dyspozycji, można przeprowadzić gruntowne testy charakteryzujące układ za pomocą sygnałów o znanym i dobrze określonym kształcie. Jeżeli generowany jest sygnał prądowy o amplitudzie I_o przy wzmacnieniu K to oczekiwana amplituda sygnału odczytywanego przez oprogramowanie może być przybliżona przy pomocy zależności:

$$V_{\text{ADC}}(K, I_o) = K \times I_o(\text{DAC}_b, I_{\text{pol}}) \times R_{gi}. \quad (3.2)$$

Podczas tego typu pomiarów testowych trzeba jednak ograniczać wartość prądu stymulacji. W praktyce wartość prądu I_o powinna być dobierana w taki sposób, aby $|V_{\text{ADC}}| \leq 1 \text{ V}$.

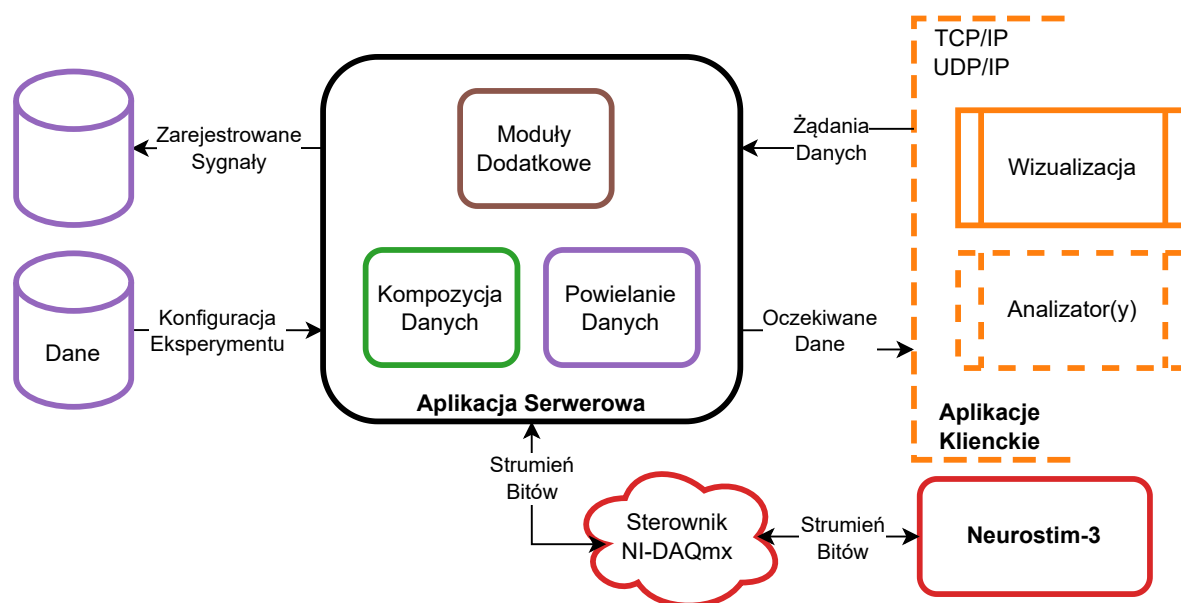
3.2.2 Architektura oprogramowania

Sposób sterowania układem oparty o ciągłą transmisję danych kontrolnych oferowany przez *Neurostim-3* pozwala na dowolnie złożone eksperymenty z dynamicznym przełączaniem parametrów (w tym aktywnej liczby kanałów i częstotliwości próbkowania sygnałów), ale jest znacznie trudniejszy do obsłużenia (zwłaszcza bez metadanych otrzymywanych zwrotnie). Dlatego w niniejszej pracy jest zaprezentowana implementacja DAQ zakładająca przeprowadzenie identycznej pełnej konfiguracji układów *Neurostim-3*, po której następuje wyłącznie ciągła transmisja RTDF o niezmiennej długości.

Komunikacja z systemem pomiarowym opartym o układy *Neurostim-3* jest przeprowadzana przez stworzone od podstaw oprogramowanie, zapewniające właściwą obsługę urządzeń, zapis zarejestrowanych danych oraz wygodną wizualizację sygnałów w trakcie trwania pomiaru (Rys. 3.6). Tak naprawdę jest to zestaw kooperujących ze sobą programów (procesów uruchomionych w osobnych interpreterach *CPython*) tj. *Aplikacja Serwerowa*, *Wizualizacja* oraz opcjonalne *Analizatory* danych²⁰. *Aplikacja Serwerowa* zarządza przebiegiem pomiaru zgodnie z parametrami działania oraz protokołem stymulacji elektrycznej ustalonymi przez użytkownika, odbiera szeregowe dane cyfrowe przychodzące z karty pomiarowej, wykonuje zapis danych po ich deserializacji oraz dystrybuje je do *Aplikacji Klientkich*. Wymiana danych odbywa się przy wykorzystaniu protokołu kontroli transmisji (ang. *Transmission Control Protocol, TCP/IP*) [238] lub UDP/IP [167], zależnie od potrzeb. Ten pierwszy zapewnia, że wszystkie potrzebne dane będą trafiać do klientów, jednak może się to wiązać ze znacznym obciążeniem łącza sieciowego. Podczas gdy UDP/IP, dzięki wykorzystaniu trybu *multiemisji* (ang. *multicast*), potrzebuje takiej samej liczby zasobów niezależnie od liczby jednocześnie połączonych klientów, za cenę możliwości utraty części danych. Takie postawienie granicy między *Aplikacją Serwerową* a klientami z wykorzystaniem protokołów transmisji sieciowej:

²⁰Te ostatnie nie zostały zaimplementowane, jednak ze względu na identyczny sposób otrzymywania danych pomiarowych, co *Wizualizacja* stworzenie takich programów jest właściwie kwestią dobrze określonego celu automatycznej analizy danych.

- ułatwia tworzenie nowych *Aplikacji Klienckich*, które współdzielą między sobą jedynie moduł odpowiedzialny za odbiór danych,
- usuwa ryzyko przedwczesnego zakończenia akwizycji danych w wyniku nieobsłużonego błędu po stronie *Aplikacji Klienckiej*,
- umożliwia podgląd *online* danych eksperymentalnych także z dowolnego miejsca z dostępem do Internetu,
- odciąża *Komputer Sterujący* od zadań, które nie muszą być przez niego wykonywane.



Rys. 3.6: Schemat architektury systemu DAQ dla urządzenia *Neurostim-3*. *Aplikacja serwerowa* jest centralną częścią systemu odpowiedzialną za (1) tworzenie *Wyjściowego Strumienia Bitów* zawierającego dane sterujące urządzeniem na podstawie dostarczonej przez użytkownika *Konfiguracji Systemu*, (2) dwustronną komunikację z kartą pomiarową *NI DIO 6537*, poprzez sterownik *NI-DAQmx*, która dokonuje transferu danych między *Komputerem Sterującym* a *IB*, (3) odczyt danych kanałów z *Wejściowego Strumienia Bitów*, (4) zapis danych na nośnik, (5) oraz dystrybucję danych do kompatybilnych aplikacji klienckich poprzez *TCP/IP* lub *UDP/IP*. Zaadaptowane z [85].

Ponadto *Aplikacja Serwerowa* oprócz głównego potoku przetwarzania danych implementuje szereg *Modułów Dodatkowych*, które ułatwiają obsługę systemu oraz dają pełniejszy podgląd stanu, w którym się znajduje (Rys. 3.7).

SCPI

Umożliwia zdalną kontrolę zasilacza wykorzystując standard komunikacji z urządzeniami pomiarowymi (ang. *Standard Commands for Programmable Instruments, SCPI*) [239].

Logowanie Zdarzeń

Zbiera informacje o statusie przetwarzania danych i zapisuje je na do ewentualnej analizy.

Odtwarzacz Eksperymentów

Emuluje dane wejściowe z *Neurostim-3* za pomocą uprzednio zapisanych plików. Dzięki niemu

można wybrać plik oraz zakres danych, by móc przeprowadzić wizualizację bądź analizę wybranego wycinka eksperymentu.

Monitor Statusu Systemu

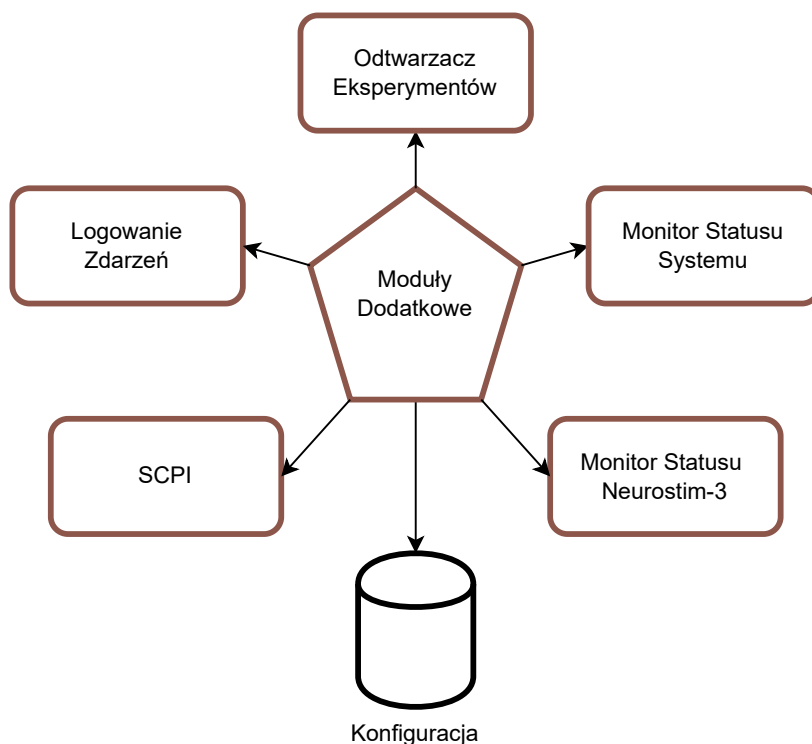
Pobiera i prezentuje informacje o statusie wszystkich modułów systemu i wykorzystaniu przez nie zasobów komputera.

Monitor Statusu Neurostim-3

Narzędzie, które w trakcie trwania pomiaru jest w stanie (przy odpowiednich założeniach) symulować stan każdego ASIC. Jest ono przydatne z uwagi na fakt, że *Neurostim-3* nie implementuje możliwości odpytywania się o stan jego rejestrów. Dodatkowo moduł ten symuluje kształty przebiegów stymulacyjnych generowanych przez każdą z elektrod, co przydaje się do korelacji rejestrowanych przebiegów z aplikowanymi impulsami.

Konfiguracja

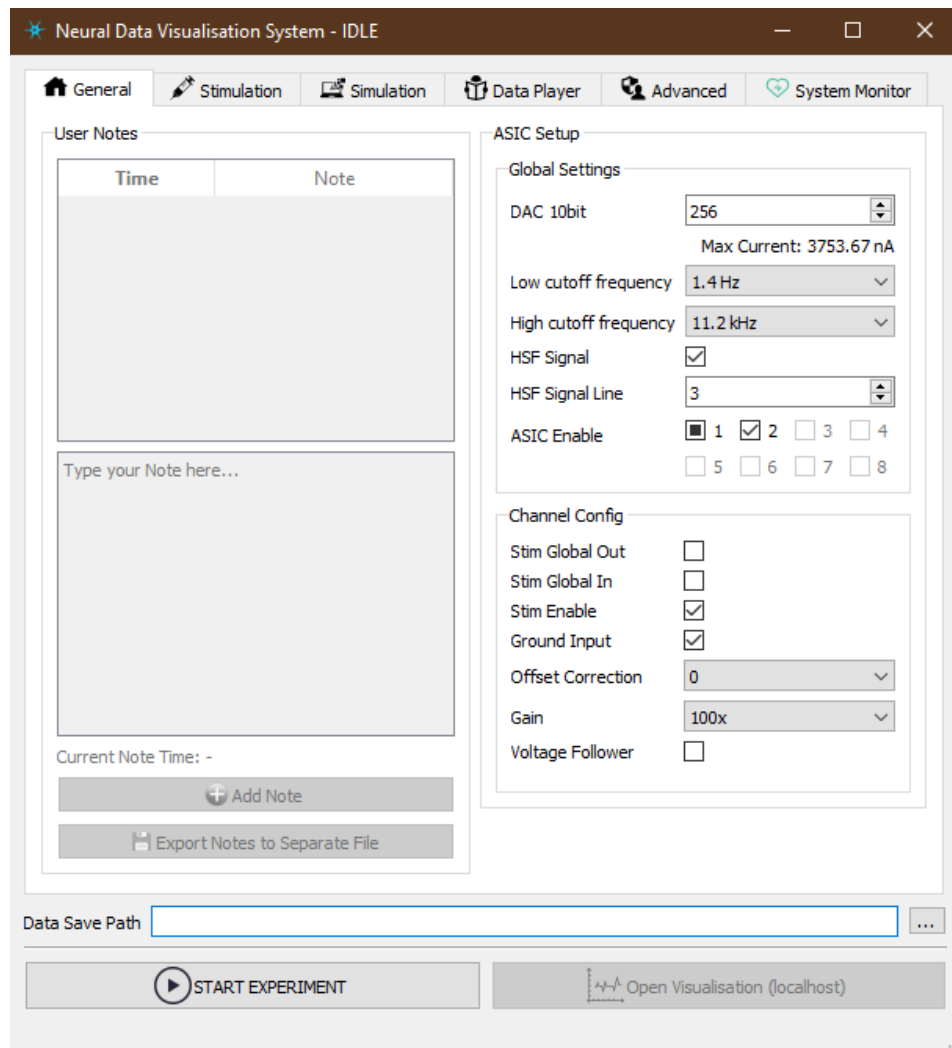
Plik, którego zawartość jest współdzielona przez wszystkie moduły, a który przechowuje dane istotne z punktu widzenia zapewnienia poprawnego działania oprogramowania.



Rys. 3.7: *Moduły Dodatkowe Aplikacji Serwerowej.* Większość z nich tj. *Logowanie Zdarzeń*, *Monitor Statusu Systemu* oraz *Monitor Statusu Neurostim-3* pełni funkcje kontrolne. *Odtwarzacz Eksperymentów* pozwala reprodukować przebieg pomiaru na podstawie wcześniej zarejestrowanych lub wygenerowanych danych. *SCPI* umożliwi komunikację z urządzeniami zewnętrznymi zgodnymi z SCPI. Moduł *Konfiguracji* jest prostym rozwiązaniem przechowującym krytyczne parametry pracy całego systemu w jednym miejscu. Zaadaptowane z [85].

3.2.2.1 Interfejs użytkownika

Graficzny interfejs użytkownika (ang. *Graphical User Interface, GUI*) *Aplikacji Serwerowej* pozwala na modyfikację wszystkich parametrów eksperymentu (Rys. 3.8). Został on zaprojektowany z wykorzystaniem narzędzi dystrybuowanych razem z biblioteką *PyQt5* [240]. Interfejs *Aplikacji Serwerowej* odzwierciedla funkcjonalność zaprogramowanych podsystemów, których najważniejsze parametry mogą być dostosowywane przez użytkownika. W celu ułatwienia obsługi GUI zostało podzielone na zakładki.



Rys. 3.8: Główne okno programu *Aplikacji Serwerowej*. Aplikacja ta pozwala na ustawienie parametrów pomiaru tj. rejestrów *Neurostim-3* (wspólnie dla wszystkich ASIC) oraz protokołu stymulacji elektrycznej. Poszczególne kluczowe funkcje zostały umieszczone w zakładkach odpowiedzialnych za pracę poszczególnych podsystemów. Zaadaptowane z [85].

General (Główne)

Tutaj pokazane są parametry, z którymi będzie uruchomiony każdy ASIC podłączony do IB i aktywowany polem wyboru *ASIC Enable*. W rzeczywistości są to wartości parametrów komend sterujących rozpoznawalnych przez *Neurostim-3*. *Global Settings* (Ustawienia Globalne) definiują przede wszystkim (1) maksymalny możliwy prąd stymulacyjny (*DAC 10bit*) oraz

parametry filtracji górnoprzepustowej (*Low cutoff frequency*, *High cutoff frequency*). *Channel Config* to zestaw dodatkowych parametrów, które aplikowane są dla każdego kanału np.:

- *Stim Enable* umożliwia stymulację za pomocą generowanych wewnętrznie przebiegów prądowych przez ASIC,
- *Ground Input* wprowadza kanały w stan przechwytywania zwrotnego wygenerowanych impulsów stymulacyjnych poprzez wewnętrzny rezystor $R_{gi} = 5,5 \text{ k}\Omega$,
- *Voltage Follower* wyłącza układy wzmacniająco-filtrujące w torze rejestrującym sygnały,
- *Gain* pozwala wybrać poziom wzmocnienia $100 \frac{\text{V}}{\text{V}} \leq K \leq 500 \frac{\text{V}}{\text{V}}$ (aktywne jedynie przy wyłączonym *Voltage Follower*).

Stimulation (Stymulacja)

Pozwala określić protokół stymulacji.

Simulation (Symulacja)

Tutaj można na bieżąco w trakcie pomiaru monitorować stan rejestrów dla aktywowanych ASIC oraz dokonać wyboru dokładności symulowanych przebiegów stymulacyjnych.

Data Player (Odtwarzacz Eksperymentów)

Konfiguracja sposobu odtwarzania wcześniej zapisanego eksperymentu.

Advanced (Zaawansowane)

Znajdują się tutaj dwie opcje: (1) wykonanie resetu elektroniki przed rozpoczęciem pomiarów, poprzez chwilowe odłączenie zasilania (aktywne tylko, gdy zostanie wykryta komunikacja z zasilaczem z wykorzystaniem SCPI), (2) wybór zapisu danych z kompresją.

System Monitor (Monitor Statusu Systemu)

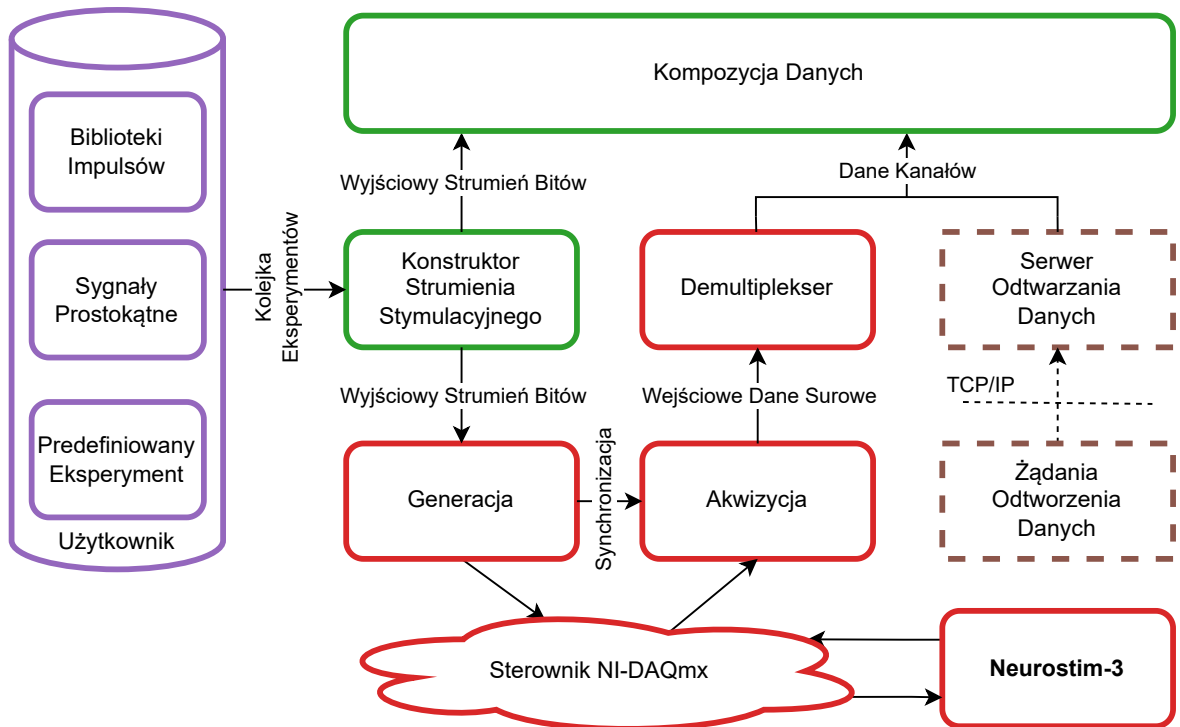
Pokazuje podsumowanie dotyczące wykorzystania zasobów *Komputera Sterującego* przez poszczególne podsystemy oprogramowania.

3.2.2.2 Potok przetwarzania danych w systemie

Przyjęta charakterystyka pracy *Neurostim-3* oparta o jednokrotną konfigurację przed rozpoczęciem pomiaru, po której zachodzi wysyłanie wyłącznie ramek typu RTDF do ASIC pozwoliła w naturalny sposób wydzielić poszczególne etapy przetwarzania, generujące stałą ilość danych na wyjściu każdego etapu w każdej chwili działania systemu. Większość bloków widocznych na diagramach zaprezentowanych w tym podrozdziale można utożsamiać z osobnymi procesami interpretera języka *Python* komunikujących się ze sobą za pomocą kolejek zaimplementowanych na bazie *pamięci współdzielonej* oraz flag zarządzanych przez menadżer synchronizacji (ang. *SyncManager*, *SM*).

W efekcie *Aplikacja Serwerowa* jest kompozycją współpracujących ze sobą (poprzez *SM* z modułu *multiprocessing* oraz kolejki oparte o pamięć współdzieloną z wykorzystaniem modułu *arrayqueues*), równoległych procesów realizujących potok przetwarzania danych.

Aby otrzymać dane pochodzące z zarejestrowanych potencjałów przez *Neurostim-3*, oprócz parametrów konfiguracyjnych układu (tj. wzmacnienie i filtracja sygnału analogowego, zakres prądu stymulacyjnego), użytkownik musi przede wszystkim zdecydować, w jaki sposób chce przekazać do *Aplikacji Serwerowej* informację o planowanym protokole stymulacji. Można tego dokonać, wybierając jeden z przedstawionych niżej sposobów (Rys. 3.9).



Rys. 3.9: Schemat generowania oraz akwizycji *Strumienia Bitów*. Zawartość *Wyjściowego Strumienia Bitów* zależy od wybranej przez użytkownika konfiguracji układów *Neurostim-3* (identycznej dla wszystkich układów) oraz zdefiniowanego protokołu stymulacji elektrycznej. Strumień ten trafia do układów *Neurostim-3* poprzez *Sterownik NI-DAQmx* oraz kartę pomiarową. *Akwizycja* aktywnie oczekuje na *Wejściowy Strumień Danych*, który musi zostać odcodowany przez *Demultiplekser*, by móc dalej operować z wykorzystaniem *Danych Kanałów*. Co ważne do poprawnego działania *Aplikacji Serwerowej* nie jest wymagany fizyczny dostęp do *Neurostim-3* oraz karty pomiarowej, o ile celem użytkownika jest odtworzenie eksperymentu na podstawie plików z danymi. Zaadaptowane z [85].

Brak Stymulacji

Neurostim-3 będzie pracował jedynie w trybie odczytu danych analogowych, a stymulacja elektryczna nie będzie wykorzystywana w pomiarze.

Biblioteki Impulsów

Użytkownik przekazuje dwa pliki zawierające dane macierzy programu *MATLAB* [241]. Jeden z nich określa kształty impulsów poprzez definicję 14-bitowych podciągów RTDF definiujących generowany prąd w kolejnych próbkach czasu, zaś drugi mówi o tym który impuls z tego pierwszego pliku, kiedy i na którym kanale systemu *Neurostim-3* ma zostać zaaplikowany.

Sygnaly Prostokątne

Wykorzystywane głównie do celów testowych systemu, gdy potrzebny jest sygnał wyjściowy o dobrze zdefiniowanych parametrach (amplituda, częstotliwość) aplikowany na dowolnych kanałach. Ten tryb opiera się na odpowiednim modyfikowaniu stanu I_{pol} przy ustalonych wszystkich pozostałych parametrach w RTDF w zależności od wybranej częstotliwości sygnału.

Predefiniowany Eksperyment

Generowany zazwyczaj za pomocą zewnętrznych skryptów plik zgodny z notacją obiektów JavaScript (ang. *JavaScript Object Notation, JSON*) [242], zawierający informacje o wykorzystywanych impulsach oraz sposobie ich aplikacji w trakcie eksperymentu. Pod względem zawartości jest tożsamy z **Biblioteką Impulsów**, jednakże zaletą plików w formacie JSON jest możliwość przeglądania i modyfikacji ich zawartości za pomocą dowolnego edytora tekstu.

Eksperyment jest uruchamiany jedynie w przypadku, gdy parametry lub pliki wejściowe definiujące eksperyment zostaną poprawnie zinterpretowane przez *Aplikację Serwerową* – tylko wtedy zostanie on opublikowany w *Kolejce Eksperymentów*.

W momencie, gdy *Konstruktor Strumienia Stymulacji* otrzyma dane nowego eksperymentu z *Kolejki Eksperymentów*, rozpoczyna się tworzenie *Wyjściowego Strumienia Bitów* na jego podstawie. Procedura konfiguracji *Neurostim-3* zachodzi tylko raz na początku pomiaru (tj. przed wygenerowaniem pierwszego RTDF) z wykorzystaniem komend odpowiadających pożądanym parametrom pracy ASIC. *Wyjściowy Strumień Bitów* jest generowany ciągle w pakietach odpowiadających 0,5s pracy *Neurostim-3* w taki sposób, że *Konstruktor Strumienia Stymulacji* próbuje odnaleźć w opisie eksperymentu impulsy, które powinny zostać zaaplikowane w aktualnie rozpatrywanym pakiecie. Jeśli zostaną odnalezione, to odpowiednie bity *Wyjściowego Strumienia Bitów* zostaną ustawione w pożądanym sposób. W przypadku braku żądań impulsów *Wyjściowy Strumień Bitów* będzie odpowiadał pustym RTDF. Ponadto, gdy użytkownik korzysta z *Biblioteki Impulsów* oraz *Predefiniowanego Eksperymentu*, *Wyjściowy Strumień Bitów* na najstarszych, nieużywanych przez *Neurostim-3* wprost, bitach może wprowadzać sygnały synchronizacyjne, za każdym razem, gdy na którymkolwiek z kanałów systemu generowany jest impuls stymulacyjny. Sygnały te da się odczytać za pomocą *Wyjść Testowych* na IB za pomocą zewnętrznego urządzenia, mogą również zostać bezpośrednio przekazane na *Wejścia Testowe* na IB po to, by stać się częścią *Wejściowych Danych Surowych*. Gotowe pakiety *Wyjściowego Strumienia Bitów* są buforowane w kolejce i wykorzystywane przez proces *Generacji*.

Dzięki procesom *Generacji* oraz *Akwizycji* możliwy jest transfer danych przez kartę pomiarową przy wykorzystaniu dedykowanego *Sterownika NI-DAQmx*. Procesy te ustalają wymagane parametry transmisji dla karty *NI DIO 6537*, a następnie dokonują ciągłego odpowiednio wysyłania i odbierania danych za pośrednictwem funkcji udostępnianych przez sterownik. *Generacja* przekazuje kolejne *Wyjściowe Strumienie Bitów* otrzymane od *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego*, podczas gdy *Akwizycja* oczekuje na zmultipleksowane próbki danych cyfrowych z każdego podłączonego do IB układu *Neurostim-3* (dodatkowo odczytywane osiem linii danych może nieść dane synchronizacyjne). Typowe działanie powyższych procesów jest zapewnione tak długo, jak *Generacja* ma dostęp do nowych pakietów *Wyjściowego Strumienia*

Bitów poprzez kolejkę wejściową. Jeśli kolejka ta zostanie opróżniona w wyniku przedwczesnego zakończenia pomiaru przez użytkownika, osiągnięcia końca opisu eksperymentu bądź zbyt wysokiego obciążenia *Konstruktora Strumienia Stymulacyjnego* koniecznymi do zaaplikowania impulsami przez dłuższy czas (tj. ~ 4 s), proces *Generacji* zacznie powtarzać ostatni znany mu pakiet, w celu utrzymania komunikacji z *Neurostim-3*, a *Akwizycja* zostanie poinformowana, że otrzymywane przez nią od tej pory dane powinny zostać zignorowane do momentu rozpoczęcia nowego pomiaru²¹.

Otrzymane przez *Akwizycję Wejściowe Dane Surowe* są 16-bitowymi ciągami danych dla pomiaru trwającego 0,5 s. Ich najmłodsze bajty na każdym n -tym bicie niosą zmultiplexowane cyfrowe dane pochodzące z n -tego układu *Neurostim-3* ($n \in [1; 8]$), natomiast najstarsze bajty niosą dane pochodzące z *Wejść Testowych* na IB. Dane kanałów muszą przejść przez *Demultiplekser*, który transformuje je do rozpoznawalnej przez komputer reprezentacji. Istotnie jest to funkcja, której ciało jest postaci przedstawionej w Listing 3.1:

Listing 3.1: Uproszczona wersja ciała funkcji służącej do deserializacji *Surowych Danych Wejściowych*.

```
for channelSample in range(20000):
    for chNum in range(64):
        for chipNum in range(8):
            for bw in range(12):
                ...
```

Dla każdego 0,5 s pakietu oznacza to konieczność wykonania 122 880 000 iteracji. Uwzględniając wydajność obliczeniową interpretera *CPython* jest to niewykonalne w dostępnym budżecie czasowym. Stąd finalnie zdecydowano się na transformację krytycznej z punktu widzenia wydajności sekcji za pomocą modułu *Numba*. Dzięki temu dodatkowo rozwiązano problem utrzymywania zewnętrznego względem *Pythona* kodu (co byłoby niezbędne w przypadku kompilowanej biblioteki języka *C*), gdyż kod maszynowy związany z tą funkcją generowany jest automatycznie przy pierwszym jej uruchomieniu z uwzględnieniem własności platformy systemowo-sprzętowej.

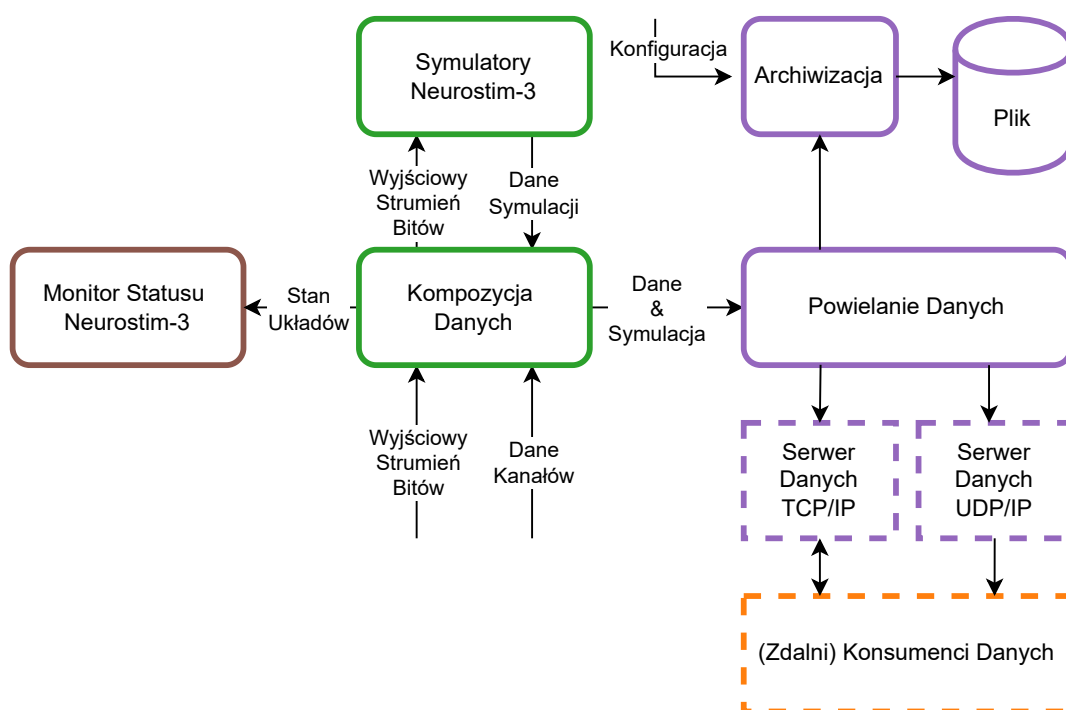
Na wyjściu *Demultipleksera* otrzymywane są wartości dwubajtowe bez znaku (używane ADC jest 12-bitowe, gdzie najniższa wartość odpowiada wyjściowej amplitudzie sygnału równej $-1,8$ V, natomiast najwyższa tj. 4095, 1,5 V), uporządkowane jako dwuwymiarowa tablica *NumPy* [194] o rozmiarze $(512 + 8) \times 20000$ przechowująca dane ze wszystkich 512 kanałów systemu *Neurostim-3* (oraz 8 kanałów testowych) dla akwizycji danych trwającej 0,5 s. W efekcie każda tablica zawierająca *Dane Kanałów* to $\sim 19,84$ MB danych, które są przetwarzane przez dalsze procesy (wielkość tej tablicy nie zależy od liczby działających w danej chwili ASIC, nieobsadzone linie transmisyjne dają w takim przypadku zawsze wartość stałą).

Inny sposobem na wymuszenie obiegu *Danych Kanałów* w *Aplikacji Serwerowej* jest przeglądanie wcześniej zapisanych danych kompatybilnych z opisywanym DAQ przy pomocy *Serwera Odtwarzania*. Ten oczekuje na *Żądania Odtwarzania* poprzez prosty protokół wymiany informacji oparty o TCP/IP. Wspomniane żądania są definiowane w GUI *Aplikacji Serwerowej*

²¹Takie zachowanie zostało zaimplementowane w celu zapobiegania błędom transmisji danych, które występowały między kolejnymi uruchomieniami pomiarów, gdy nie stosuje się odłączania zasilania w celu zastosowania sprzętowego resetu systemu.

i mówią o tym, który plik, od którego momentu, jak długo ma być odtwarzany oraz ile powtórzeń wykonać. *Żądania Odtworzenia Danych* są sprawdzane przez *Serwer Odtwarzania Danych* i wykonywane jedynie wtedy, gdy nie jest aktywny żaden pomiar wykorzystujący standardowy potok przetwarzania (tj. *Generacja* i *Akwizycja* nie są zajęte obsługą prawidłowych danych).

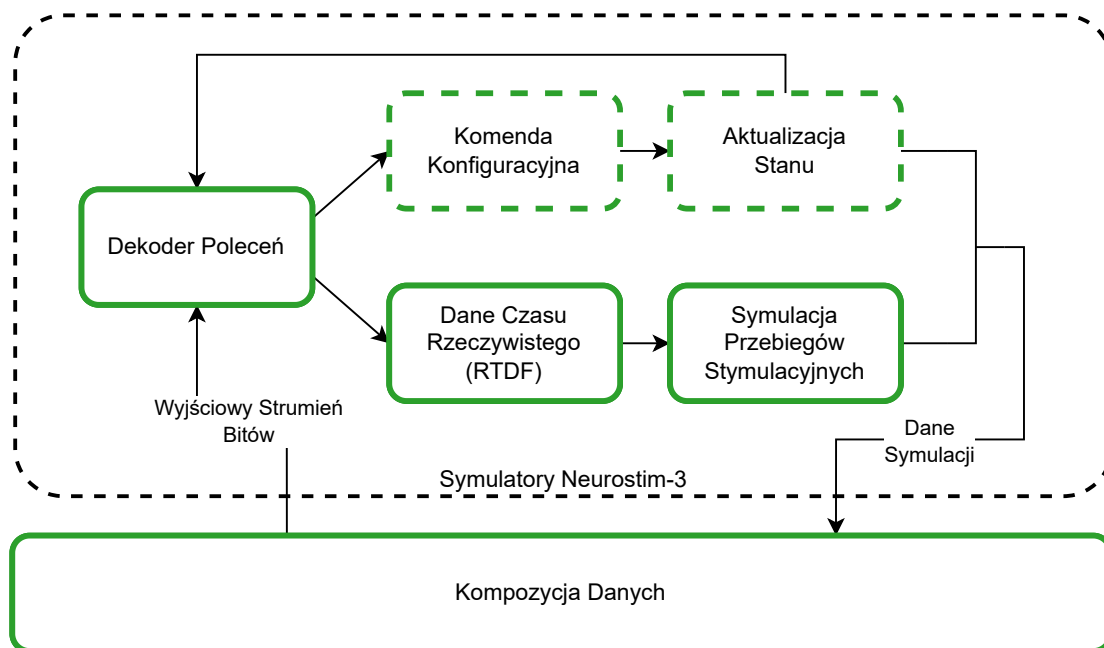
Dane Kanałów oraz odpowiadający im *Wyjściowy Strumień Bitów* podlegają konsolidacji na etapie *Kompozycji Danych* (Rys. 3.10). Tutaj *Wyjściowy Strumień Bitów* jest rozdzielany na podstrumienie dedykowane poszczególnym ASIC, które trafiają do dedykowanego dla każdego układu *Symulatora Neurostim-3* po to, by dokonać ekstrakcji *Statusu Neurostim-3*, czyli stanu jego rejestrów wewnętrznych oraz przebiegów prądowych, które powinny zostać wygenerowane przez kanały w danym 0,5s oknie pomiarowym. Uproszczony algorytm symulacji ASIC został zaprezentowany na Rys. 3.11.



Rys. 3.10: Przepływ *Danych Kanałów* w systemie. Zebrane dane oraz odpowiadający im *Wyjściowy Strumień Bitów* są łączone ze sobą na etapie *Kompozycji Danych* przy wykorzystaniu *Symulatorów Neurostim-3*. Te ostatnie analizują zawartość *Wyjściowy Strumień Bitów* i na tej podstawie udostępniają informację o (1) (prawdopodobnym) stanie rejestrów każdego ASIC (2) oraz kształtach przebiegów stymulacyjnych, które powinny zostać wygenerowane przez generatory prądów w każdym z kanałów. *Dane Kanałów* wraz z symulowanymi przebiegami stymulacyjnymi są łączone ze sobą, zapisywane na nośniku danych oraz rozgłaszane przez *Serwery Danych TCP/IP* oraz *UDP/IP* do kompatybilnych *Konsumentów Danych*. Zaadaptowane z [85].

Z chwilą, gdy symulator otrzyma nowy *Wyjściowy Strumień Bitów*, rozpoczyna się jego analiza. W celu uproszczenia algorytmu, dzięki któremu możliwe jest przeprowadzenie symulacji w czasie trwania pomiaru, a które jest zgodne z przyjętą filozofią prowadzenia eksperymentu, przyjęto, że komendy konfiguracyjne dla *Neurostim-3* mogą występować jedynie na początku analizowanego pakietu danych, do wystąpienia pierwszego RTDF. Gdy zostanie wykryta komenda konfiguracyjna, wtedy odpowiednia zmienna w oprogramowaniu ulega

aktualizacji, zgodnie z zawartością *Strumienia*. Natomiast analiza kolejnych RTDF prowadzi do wygenerowania *Symulowanego Strumienia Stymulacji* zawierającego przebiegi odpowiadające impulsom, które powinny zostać zaaplikowane przez poszczególne kanały ASIC. Po zakończeniu analizy *Wyjściowego Strumienia Bitów* przez *Symulator Neurostim-3* przesyła on *Dane Symulacji* z powrotem do procesu *Kompozycji Danych*. Ten zbiera *Dane Symulacji* dla wszystkich układów *Neurostim-3*, przesyła *Stan Układów* do *Monitora Statusu Neurostim-3*²² oraz łączy symulowane przebiegi stymulacyjne z *Danymi Kanałów* (Rys. 3.12).

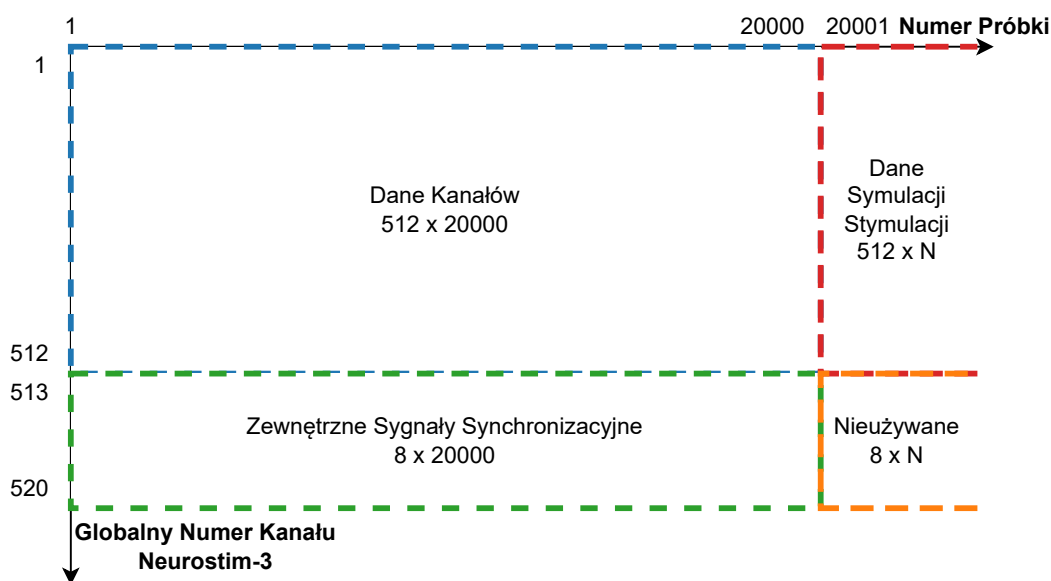


Rys. 3.11: Uproszczony algorytm działania *Symulatora Neurostim-3*. Dla każdej porcji *Wyjściowego Strumienia Bitów* odpowiadającej pracy układu przez 0,5 s algorytm próbuje na początku odszukać komendy sterujące inne niż RTDF. Jeśli takie zostaną znalezione przed pierwszym wystąpieniem RTDF, wtedy następuje aktualizacja programowego stanu ASIC. Po pierwszym odnalezieniu RTDF algorytm zakłada, że dalej w analizowanej porcji *Wyjściowego Strumienia Bitów* znajdują się już wyłącznie polecenia typu RTDF i na tej podstawie generowane są przebiegi sygnałów stymulacyjnych dla każdego z 64 kanałów osobno. Stan każdego z układów *Neurostim-3* jest analizowany przez dedykowaną instancję *Symulatora Neurostim-3*. Zaadaptowane z [85].

Tak otrzymane dane są następnie dystrybuowane przez moduł *Powielania Danych*, który multiplikuje przychodzące do niego pakiety do *Archiwizacji* oraz do *Serwerów Danych TCP/IP*, oraz *UDP/IP*. Ten pierwszy obsługuje zapis danych wejściowych (*Danych & Symulacji* wraz z danymi konfiguracyjnymi *Neurostim-3* oraz DAQ) do pliku wykorzystując do tego hierarchiczny format danych (ang. *Hierarchical Data Format 5, HDF*) [243]. Zapisane w ten sposób informacje są używane do późniejszej analizy zewnętrznymi narzędziami lub też przez *Serwer Odtwarzania Danych*. *Archiwizacja* domyślnie wykorzystuje kompresję danych bezstratnym algorytmem *GZIP* [244], który redukuje objętość zapisywanych danych, zwłaszcza gdy

²²Jego działanie jest odzwierciedlane przez tabelę stanu rejestrów dla każdego aktywnego ASIC w GUI *Aplikacji Serwerowej* na karcie *Simulation*.

do IB podłączonych jest mniej niż osiem układów *Neurostim-3*²³. Użytkownik może zdecydować o wyłączeniu kompresji danych przed rozpoczęciem pomiaru w GUI w zakładce *Advanced*. Natomiast *Serwery Danych TCP/IP* oraz *UDP/IP* pozwalają zewnętrznym *Konsumentom Danych* korzystać z kopii danych. Dla połączenia TCP/IP *Konsument Danych* może dokonać subskrypcji podzbioru kanałów, dzięki czemu optymalizowane jest wykorzystanie połączenia sieciowego. W przypadku UDP/IP jest to niepotrzebne, gdyż wykorzystywany jest tryb multemisji, dla którego dowolna liczba *Konsumentów* może korzystać z jednego źródła danych (wszystko wysyłane jest z DAQ tylko raz, ewentualna filtracja wymaganych kanałów musi zajść po stronie *Konsumenta Danych*).

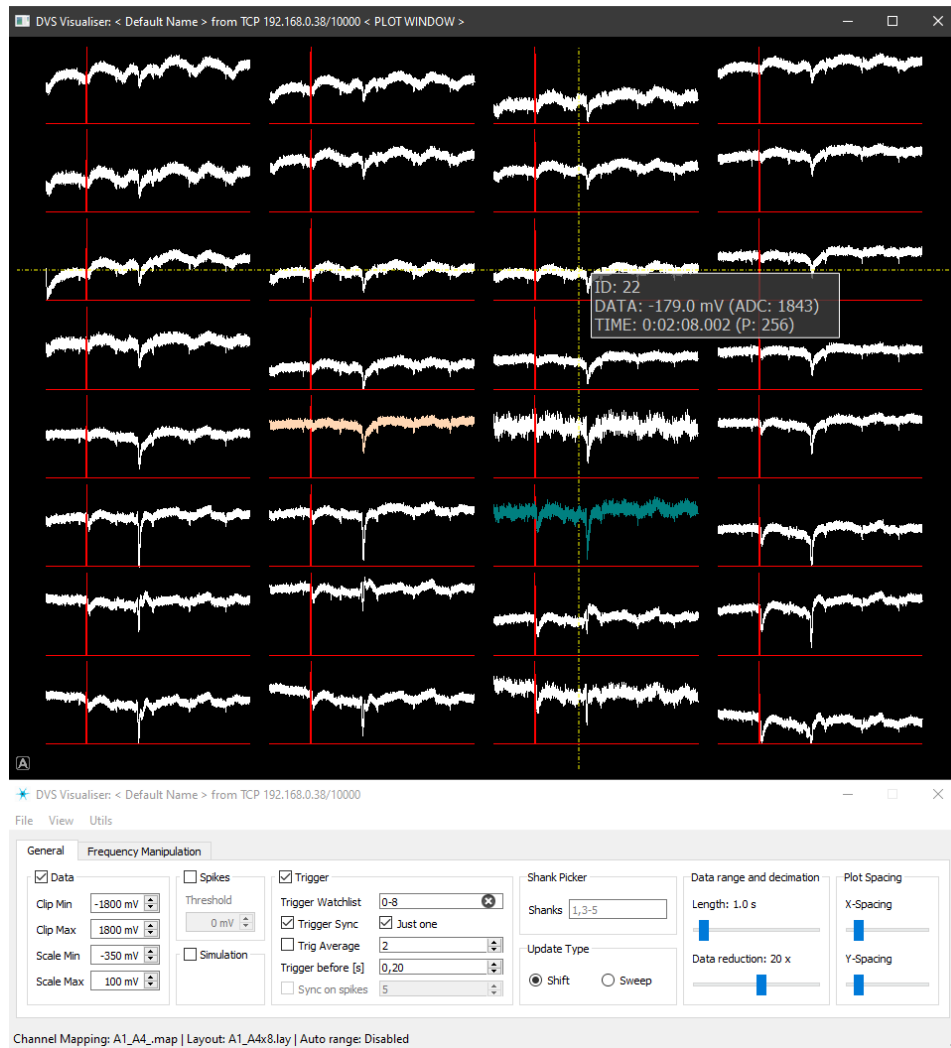


Rys. 3.12: Układ danych w tablicy *Dane & Symulacja*, która jest dystrybuowana przez moduł *Powielania Danych*. *Dane Symulacji Stymulacji* zostają dołączone za próbkami *Danych Kanałów* (tj. za próbką o indeksie 20 000), a ich długość zależy od wybranej przez użytkownika dokładności symulacji. W celu zachowania dwuwymiarowego charakteru tablicy zastosowane zostało dołączanie bloku danych o długości *Danych Symulacji Stymulacji* i szerokości ośmiu kanałów – w tej chwili jest on nieużywany, jednak w przyszłości mógłby przenosić dodatkowe informacje o stanie systemu *Neurostim-3*.

3.2.2.3 Wizualizacja danych

Wizualizacja danych w trakcie eksperymentu jest ważnym czynnikiem pozwalającym określić przydatność gromadzonych danych. Dla omawianego systemu *Neurostim-3* powstało narzędzie do wizualizacji, które łączy się z uruchomionym *Serwerem Danych* wykorzystując do tego protokół TCP/IP albo UDP/IP, przetwarza otrzymywane dane zgodnie z parametrami zadanymi przez użytkownika oraz rysuje przebiegi potencjału (Rys. 3.13).

²³Objętość danych surowych ze wszystkich kanałów w każdej sekundzie wynosi $2\text{ B} \times (512 + 8) \times 40\text{ kHz} = \sim 40 \frac{\text{MB}}{\text{s}}$. W zależności od dokładności generowania *Symulowanych Przebiegów Stymulacyjnych* wartość ta może ulec podwojeniu.

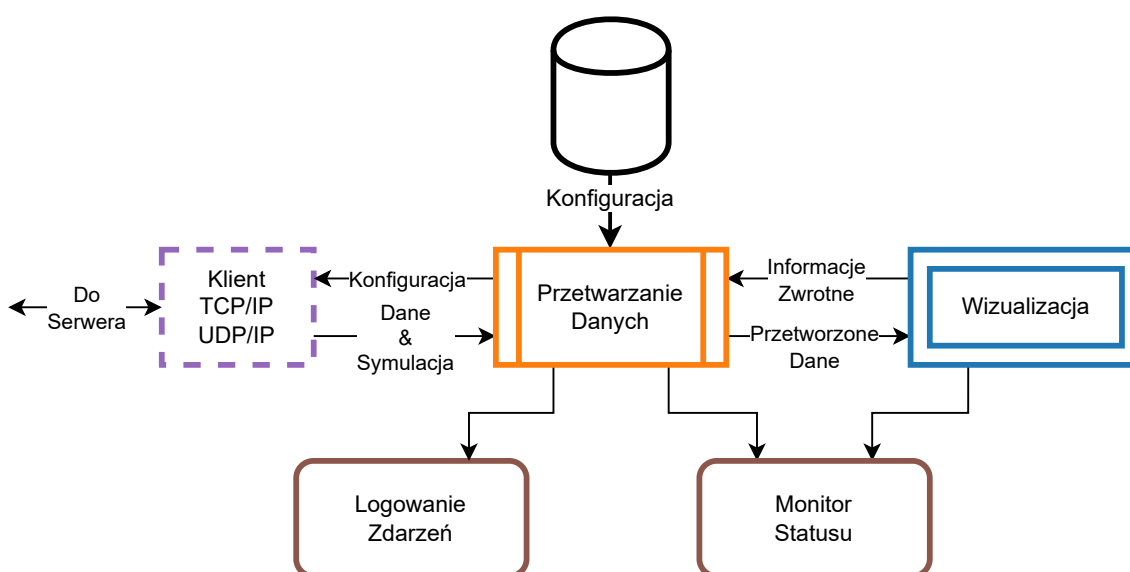


Rys. 3.13: GUI do wizualizacji danych eksperymentalnych w trakcie trwania pomiaru. Dolna część umożliwia konfigurację parametrów wizualizacji takich jak zakres amplitud, sposób synchronizacji z zewnętrznym źródłem sygnałów, układ krzywych w oknie czy ilość prezentowanych danych oraz ich jakość. Górne okno przedstawia przykładowe dane. Domyślnie wszystkie krzywe rysowane są białym kolorem w sposób, który odwzorowuje rozmieszczenie elektrod na MEA. Część kanałów może zostać oznaczona przez użytkownika celem łatwiejszego podglądu (kolorowe krzywe). Na czerwono wizualizowany jest sygnał synchronizacyjny, względem którego wyrównywane są wizualizacje rejestrowanych potencjałów. Zaadaptowane z [85].

Prezentowane narzędzie składa się z dwóch okien. Jedno z nich pozwala na dobór parametrów wizualizacji, zaś drugie pokazuje zarejestrowane dane. Zmiana parametrów tego pierwszego od razu wpływa na sposób rysowania. Kluczową opcją pozwalającą na poprawną interpretację przestrzenno-czasową danych jest sposób odwzorowania przebiegów w przestrzeni okna wizualizacji (użytkownik może tworzyć własne odwzorowania odpowiadające aktualnej

konfiguracji systemu)²⁴. Poza tym można za pomocą odpowiednich parametrów zmieniać sposób aktualizacji danych na wykresie, wyrównywać dane do sygnałów synchronizacyjnych pochodzących z *Wejść Testowych* na IB, obliczać średnią odpowiedź wokół sygnałów synchronizacyjnych czy otrzymać spektrum sygnału dla każdego kanału osobno. Dla wygody stan okna wyboru parametrów można zapisać i odtworzyć.

Aplikacja do wizualizacji danych pomiarowych współdzieli kilka elementów oraz koncepcji z *Aplikacją Serwerową* (Rys. 3.14). Naturalnie składa się ona z *Klienta TCP/IP* oraz *UDP/IP*, które potrafią prowadzić poprawną komunikację z *Serwerem*. Poza tym korzysta z tego samego modułu *Konfiguracji* oraz *Logowania Zdarzeń*, oraz posiada *Monitor Statusu*, który jest uproszczoną wersją tego wykorzystywanego przez *Aplikację Serwerową*, a który zbiera informacje o czasie potrzebnym do przetworzenia *Danych* & *Symulacji* na każdym z etapów.

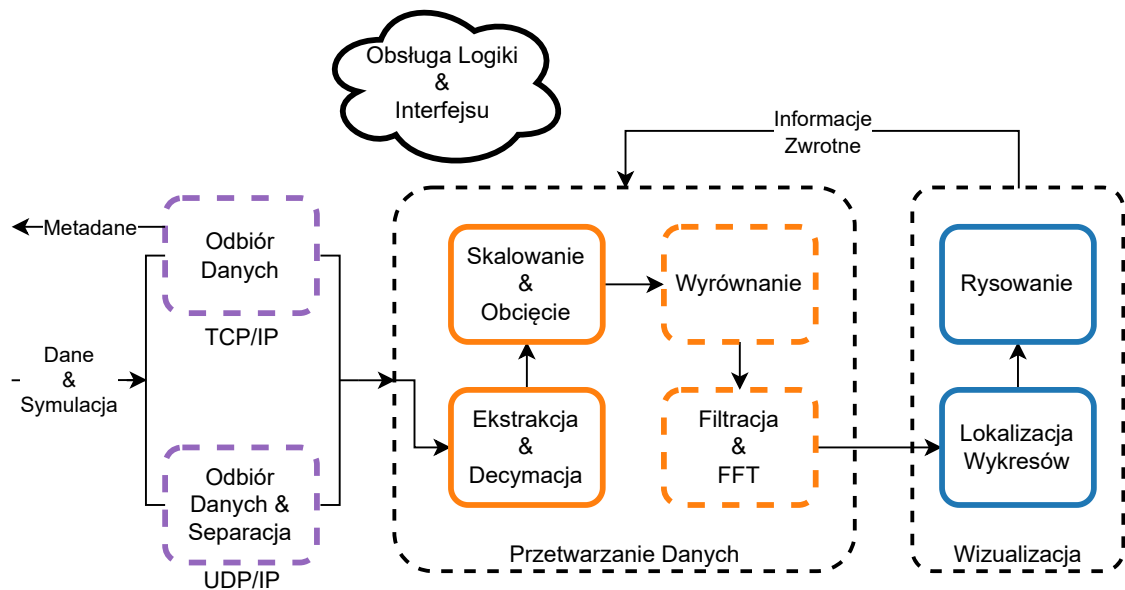


Rys. 3.14: Główne komponenty aplikacji do wizualizacji danych pomiarowych. Gdy *Aplikacja Serwerowa* jest w trakcie przetwarzania danych (tj. uruchomiona jest komunikacja z *Neurostim-3* albo uruchomiony jest *Odtwarzacz Eksperymentów*), dane mogą zostać odebrane przez klienta TCP/IP albo UDP/IP i przetworzone w odpowiadający użytkownikowi sposób). Zaadaptowane z [85].

Dana instancja aplikacji do wizualizacji może być uruchomiona tylko z jednym rodzajem używanego protokołu do transmisji danych wejściowych (Rys. 3.15). Wykorzystując *Klienta TCP/IP* aplikacja przedstawia się podając listę kanałów, którymi jest zainteresowana i tylko ten podzbiór danych będzie do niej przesyłany, co efektywnie redukuje obciążenie łącza sieciowego przy zachowaniu pewności, że wszystkie wysłane dane zostaną przez *Klienta* odebrane.

²⁴Każde MEA cechuje się charakterystycznym dla niego sposobem numeracji elektrod i rozmieszczenia ich w przestrzeni. Ponadto różne MEA nawet tego samego producenta mogą mieć elektrody o tym samym indeksie podłączone fizycznie do innych pinów na gnieździe wpinanym do AB. Na sam koniec trzeba mieć na uwadze to, do którego złącza na IB jest podłączany AB z danym typem MEA. W praktyce do każdego eksperymentu trzeba za każdym razem tworzyć oddzielne mapowania, co jest zadaniem podatnym na błędy. Dla eksperymentów wykorzystujących jedynie możliwość rejestracji błędne mapowanie nie jest dużym problemem, bo zawsze da się to poprawić, nawet po zakończonym eksperymencie. Natomiast w eksperymentach wykorzystujących wewnętrzne generowanie impulsów prądowych błędnie przygotowane mapowanie zawsze będzie prowadziło do stymulacji elektrycznej za pomocą elektrody innej niż zamierzona.

Natomiast użycie *Klienta UDP/IP* powoduje, że będą mu udostępniane dane ze wszystkich kanałów, dzięki zastosowaniu multiemisji po stronie *Aplikacji Serwerowej*. *Klient UDP/IP* stara się odebrać jak najwięcej ramek, by odbudować pełen 0,5s pakiet danych²⁵. Wszystkie ramki są numerowane, stąd *Klient* wie, które ramki zostały pominięte – wtedy odpowiadające im próbki danych będą wypełnione zerami. Dopiero po złożeniu całego pakietu *Danych & Symulacji* dokonywana jest filtracja wymaganych kanałów. W obu przypadkach *Klientów* lista żądanych kanałów może zostać zmieniona w trakcie działania aplikacji.



Rys. 3.15: Potok przetwarzania danych implementowany przez aplikację do wizualizacji danych pomiarowych w trakcie eksperymentu. W większości przypadków nie istnieje konieczność wizualizacji potencjałów ze wszystkich 512 kanałów systemu *Neurostim-3*. Stąd część algorytmu odpowiedzialna za odebranie danych z *Aplikacji Serwerowej* zapewnia, że tylko wymagany podzbiór danych będzie przetwarzany dalej, odciążając dzięki temu procesor komputera. Zaadaptowane z [85].

Aplikacja do wizualizacji danych została zaprojektowana w taki sposób, aby mogła ona prezentować dane z dowolnej liczby kanałów systemu w wydajny sposób. Na samym początku otrzymany pakiet danych jest dzielony na logiczne komponenty tj. *Dane Kanałów*, *Dane Synchronizacyjne* oraz *Symulację Stymulacji*, po czym przeprowadzana jest ich decymacja z wykorzystaniem algorytmu minimum-maksimum²⁶. Pozwala to w znacznym stopniu ograniczyć ilość przetwarzanych oraz rysowanych danych, które i tak trudno byłoby dostrzec w ciągle odświeżającym się obrazie. Parametr decymacji, czyli stosunek liczby danych pierwotnych do przetwarzanych, można zmieniać z poziomu GUI przy pomocy suwaka. Następnie dane

²⁵*Serwer Danych UDP/IP* dzieli każdy 0,5s pakiet w taki sposób, by na raz wysłać dane pochodzące ze wszystkich kanałów systemu dla kolejnych 10 próbek danych (daje to największy rozmiar pakietu UDP/IP, który optymalizuje wydajność transmisji). W ten sposób każdy pakiet *Danych & Symulacji* jest dzielony co najmniej na 2000 ramek (zależnie od obecności i dokładności *Symulacji Stymulacji*).

²⁶Próbki danych dzielone są na n segmentów i w każdym z nich wybierana jest wartość minimalna oraz maksymalna (z zachowaniem kolejności ich wystąpienia). Na wyjściu otrzymuje się ciąg danych składający się z $2n$ próbek, który zachowuje informację o obwiedni sygnału w każdym z n segmentów (w szczególności powinny zostać zachowane informacje o wystąpieniu AP).

podlegają skalowaniu oraz przycięciu, gdy wymagane jest skoncentrowanie się na wartościach potencjałów wyjściowych (tzn. po filtracji i wzmacnieniu) z konkretnego zakresu. Dalsze etapy przetwarzania danych przed ich wysłaniem do *Wizualizacji* tj. *Wyrównanie* oraz *Filtracja & FFT* są fakultatywne – użytkownik ma wpływ na ich obecność w potoku przetwarzania i może je dostosować do własnych potrzeb.

Dane synchronizacyjne służą do wyrównywania danych w taki sposób, aby zdarzenie, rozumiane jako maksymalna wartość 12-bitowa występująca na jednym z wybranych przez użytkownika kanałów synchronizacyjnych, występowało zawsze w określonym położeniu w przestrzeni podglądu danych. Pozwala to po pierwsze znaleźć korelacje czasowe między zdarzeniem synchronizacyjnym a odpowiedzią tkanki biologicznej. Po drugie umożliwia ekstrakcję średniej odpowiedzi na te zdarzenia (w średniej odpowiedzi potencjały spontaniczne są odfiltrowywane). Użytkownik za pomocą GUI wybiera źródła sygnału synchronizacyjnego – może nim być jedno z ośmiu *Wejść Testowych*, jak również suma logiczna kilku wejść (tj. synchronizacja zajdzie wtedy, gdy na którymkolwiek z wybranych kanałów odczytano stan wysoki).

Dalej, tak przygotowane dane mogą zostać przetworzone przez moduł cyfrowego przetwarzania sygnałów (ang. *Digital Signal Processing, DSP*). Zaimplementowany został cyfrowy filtr Butterwotha [245] o konfigurowalnych parametrach (tj. rząd filtru, częstotliwości graniczne, typ przenoszenia), gdy potrzebne są dane pochodzące z określonego zakresu częstotliwości w trakcie wizualizacji (np. filtr górnoprzepustowy będzie przydatny do obserwacji kanału o wysokiej aktywności typu AP). Na samym końcu przetwarzania może zostać aktywowana szybka transformata Fouriera (ang. *Fast Fourier Transform, FFT*), celem sprawdzenia kompozycji częstotliwościowej danych do wizualizacji (może to przydawać się do określenia wpływu częstotliwości zasilania sieciowego 50 Hz na dane).

Tak przygotowane dane są w końcowej fazie przekazywane do procesu *Wizualizacji*, który dokonuje rozmieszczenia poszczególnych przebiegów w oknie, zgodnie z dostarczonym przez użytkownika odwzorowaniem, które najczęściej naśladuje położenie elektrod na powierzchni zastosowanych w eksperymencie MEA. Rysowanie wykresów zostało zaimplementowane z wykorzystaniem biblioteki *PyQtGraph* [246], która potrafi w wydajny sposób przetwarzać duże zbiory danych. Ponadto możliwa jest prosta interakcja z obszarem rysowania poprzez podawanie informacji tekstowych powiązanych z rysowanymi w danym miejscu sygnałami, przesuwanie i powiększanie, oraz zaznaczanie myszą podzbioru interesujących wykresów.

3.2.2.4 Tryb próbkowania o wysokiej częstotliwości

Zgodnie z informacjami przedstawionymi wcześniej, sposobem na zmianę częstotliwości próbkowania danych przez *Neurostim-3* jest wyłączenie części kanałów oraz manipulacja zagęszczeniem RTDF w *Wyjściowym Strumieniu Bitów*. Dzięki temu możliwe jest uzyskanie częstotliwości próbkowania danych rzędu 1 MHz. Są to wartości znacznie wykraczająca poza zakres obserwowanych sygnałów biologicznych, jednak mogą być przydatne na potrzeby pewnych specyficznych klas zastosowań:

- stymulacja wykorzystująca niewielki podzbiór kanałów ASIC celem aplikacji przebiegów prądowych o wysokiej rozdzielczości czasowej, tuż przed żądaniem wysłania impulsów

zostawałyby wysłane do ASIC odpowiednie komendy konfiguracyjne dezaktywujące kanały niestymulujące, zaś zaraz po ostatniej próbie impulsu następowałoby przywrócenie układu do normalnej pracy tj. z częstotliwością próbkowania danych 40 kHz na wszystkich 64 kanałach (tzw. tryb próbkowania o zmiennej częstotliwości);

- wykonanie dokładnych pomiarów charakteryzujących analogowy tor przetwarzania polegających w szczególności na zbadaniu pasma przenoszenia czy zebraniu charakterystyki częstotliwościowej impedancji używanych elektrod w trybie *Voltage Follower*.

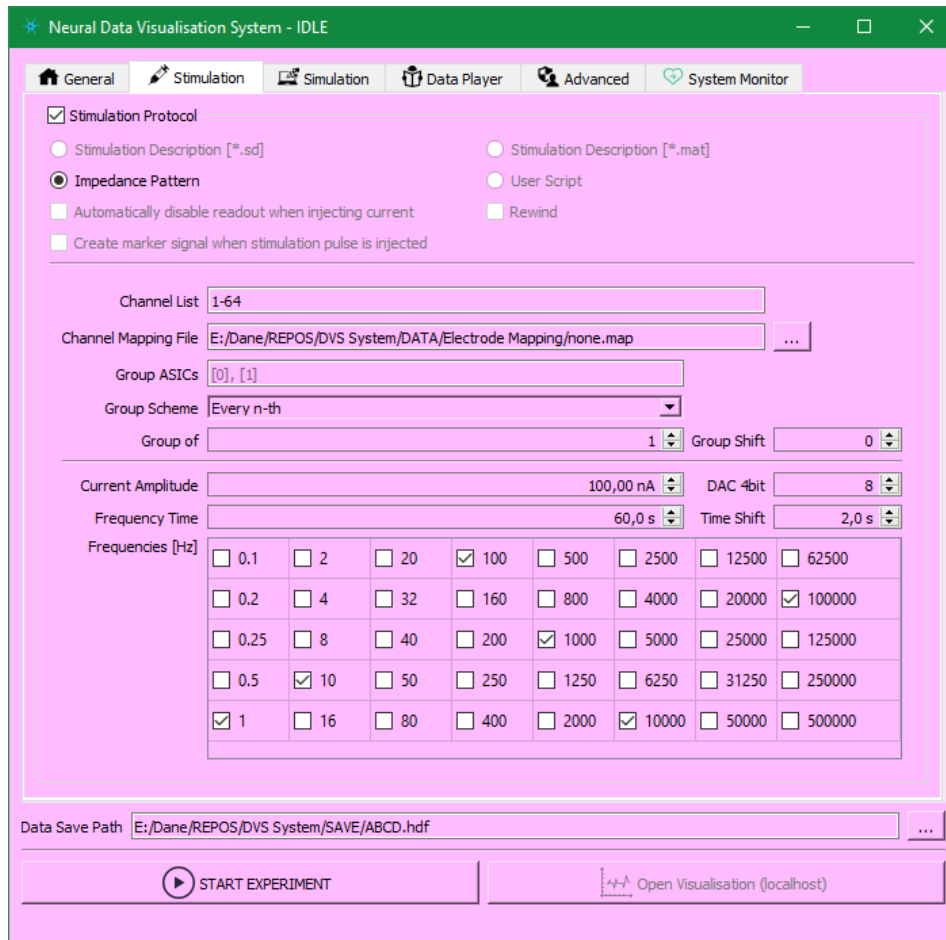
Oba wspomniane zastosowania były eksplorowane w trakcie prac badawczych, jednakże to drugie zostało wdrożone i jest wykorzystywane.

Tryb próbkowania o zmiennej częstotliwości, aby spełniał swoje założenia, musi brać pod uwagę każdą zmianę parametrów pracy każdego z układów *Neurostim-3* z osobna oraz wynikające z tego przesunięcia bitów w *Wejściowych Danych Surowych*. Stawia on wyzwania na etapie tworzenia logicznego opisu eksperymentu, budowy *Wyjściowego Strumienia Bitów*, deserializacji *Wejściowych Danych Surowych* (w danym 0,5 s oknie pomiarowym kanały tego samego ASIC mogą odczytać różną ilość danych, a kolejne próbki w obrębie jednego kanału mogą powstawać w różnych odstępach czasowych), symulacji stanu *Neurostim-3* oraz wizualizacji. Sytuacja jest też utrudniona przez fakt, iż to, co otrzymuje IB z każdego AB jest jedynie ciągiem bitów pochodzących z ADC bez nagłówek, które pozwalałyby na identyfikację początku właściwych danych (w tym przypadku mogłyby okazać się pomocne, chociażby sygnały kontrolne pochodzące z *Multiplexera Danych Analogowych*). W ocenie Autora zadanie to, przy zachowaniu maksymalnego stopnia ogólności, wymaga zaprojektowania całego oprogramowania od nowa, przy czym potencjalny zysk dla eksperymentów z wykorzystaniem tkanek biologicznych jest trudny do predykcji, a przygotowanie eksperymentów pod kątem opisu przebiegu stymulacji zostałyby w znacznej mierze skomplikowane i dalekie od obecnie stosowanego. Pozostałością po pracach nad wdrożeniem tego rozwiązania jest zestaw specjalizowanych narzędzi pozwalających tworzyć logiczny przebieg danego eksperymentu, który dokonuje ciągłego sprawdzania, czy istnieje możliwość zastosowania danego polecenia w podanych warunkach (dane te stanowiłyby punkt wyjścia dla nowego *Konstruktora Strumienia Stymulacyjnego* oraz *Demultiplexera*).

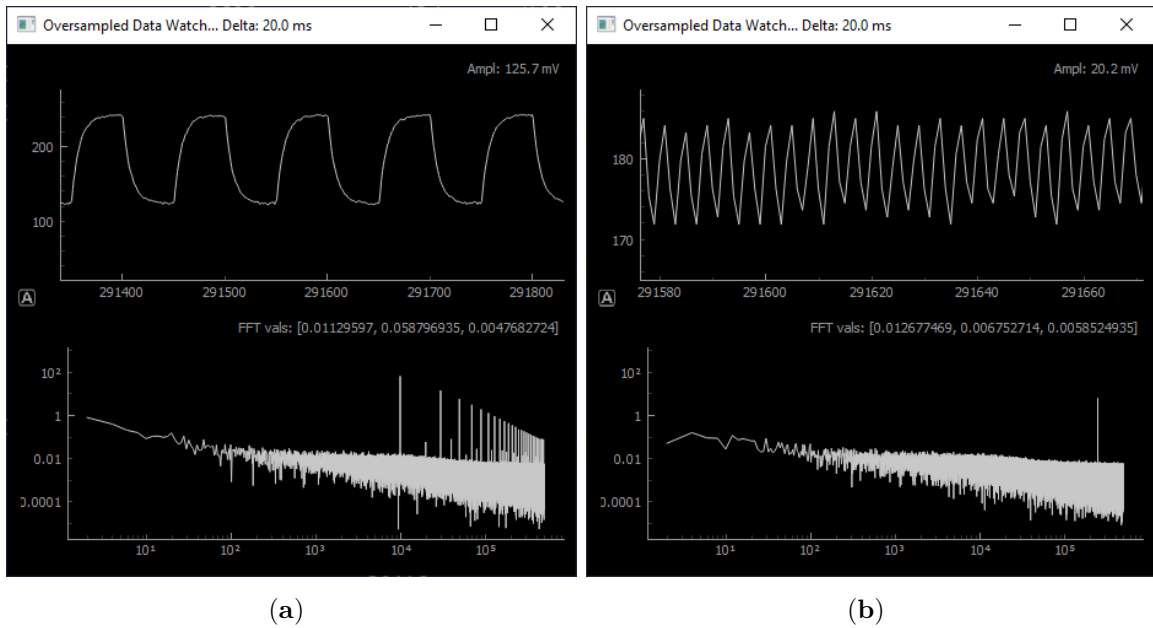
Tryb próbkowania o wysokiej częstotliwości w zaproponowanej formie umożliwia:

- próbkowanie danych ze stałym okresem 1 μ s,
- zbieranie danych z jednego dowolnego n -tego kanału na każdym z aktywnych ASIC z możliwością zmiany tego kanału w trakcie pomiaru,
- generowanie prostokątnych przebiegów stymulacyjnych o częstotliwościach wykraczających poza 20 kHz (Rys. 3.16),
- wizualizację danych w dedykowanym, uproszczonym GUI pochodzących tylko z jednego kanału z automatycznym obliczaniem FFT (Rys. 3.17).

Jednocześnie wszelkie inne metody stymulacji oparte o arbitralne przebiegi, symulacja działania *Neurostim-3* czy *Odtwarzanie Danych* zostały w tym trybie uniemożliwione, gdyż prowadziłyby do błędów oprogramowania.



Rys. 3.16: Widok głównego okna *Aplikacji Serwerowej* w trybie próbkowania o wysokiej częstotliwości. Ukazany został panel służący do wyboru parametrów generowanych przebiegów prostokątnych. W tym trybie w danej chwili może być aktywny tylko n -ty kanał w każdym ASIC. W trakcie pomiaru na każdym z wybranych kanałów aplikowane są impulsy prądowe o zadanej amplitudzie, o rosnącej częstotliwości (zgodnie z wyborem) przez określony przez użytkownika czas, po czym następuje przejście do kolejnego kanału (po osiągnięciu ostatniego, proceder jest powtarzany). Aby odróżnić ten tryb działania *Aplikacji Serwerowej* od typowego, celowo zastosowano wyróżniające się kolor tła GUI.



Rys. 3.17: Okno wizualizacji zdeserializowanych danych w trybie próbkowania o wysokiej częstotliwości. Górna część okna pokazuje odczytane dane wprost, natomiast dolna prezentuje spektrum częstotliwości znajdujących się w tych danych. W przykładach zastosowano generowane przez *Neurostim-3* impulsy prostokątne o częstotliwości 10 kHz **(a)** oraz 250 kHz **(b)**. Dla niższej z prezentowanych częstotliwości widoczny jest efekt filtracji dolnoprzepustowej na zboczach narastających i opadających.

3.3 Oprogramowanie – *Dose-3D*

3.3.1 Protokół komunikacji z *Jednostkami Akwizycji Danych*

Komunikacja w systemie *Dose-3D* oparta jest o występujące w trakcie jego pracy zdarzenia. Zdarzenie może być związane z żądaniem rekonfiguracji *MAROC 3A* czy odebraniem przez FPGA cyfrowych danych będących wynikiem rejestracji nadprogowego sygnału wejściowego związanego z wykreowaniem fotonu w objętości scyntylatora. Różne rodzaje zdarzeń mogą się przeplatać ze sobą i nie istnieje deterministyczna reguła, dzięki której można przewidzieć ich kolejność. Zwłaszcza że zmiana intensywności źródła promieniowania pierwotnego lub jego przestrzennej relacji względem fantomu będzie wiązała się ze zmianą liczby danych generowanych przez *MAROC 3A*. Stąd ciągi bitów (*ładunki*, ang. *payload*) reprezentujące zdarzenie, przesyłane są z/do *Jednostek Akwizycji Danych* jako pakiety zgodne ze standardem UDP/IP wykorzystując do tego infrastrukturę sieciową *Ethernet*. Odbierając pakiet przeznaczony dla danej *Jednostki Akwizycji Danych*, wykonywana jest jego analiza na podstawie nagłówek zawartych na początku pakietu UDP/IP celem określenia adresata (modułu zaimplementowanego w oprogramowaniu układowym) oraz akcji, jaka ma zostać wykonana. W drugą stronę tzn. wtedy, gdy jakiś moduł chce wysłać dane do *Komputera Sterującego*, ładunek zostaje rozszerzony o niezbędne nagłówki identyfikujące nadawcę oraz typ danych, a następnie zostaje wysłany. Analiza zawartości pakietu zachodzi po stronie *Komputera Sterującego*.

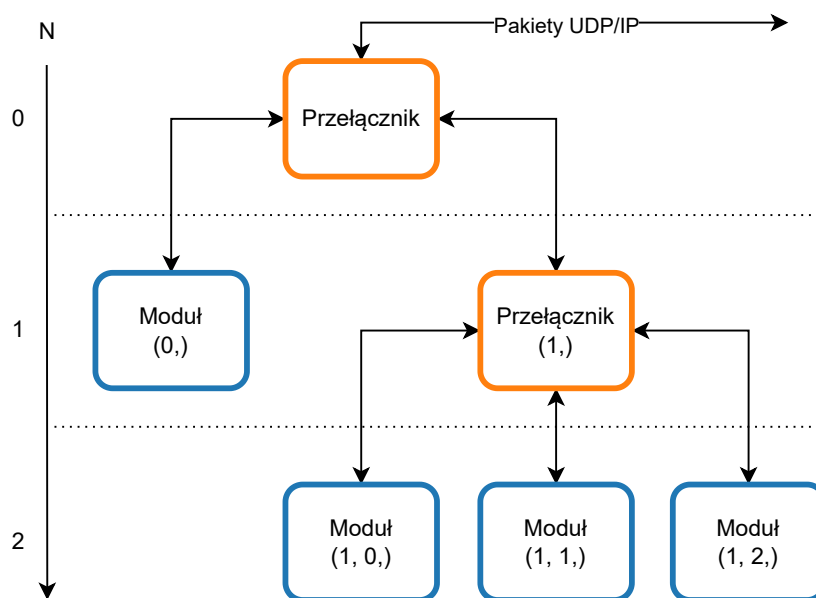
Zawartość nagłówek pakietów jest ściśle związana z wykorzystywanym w projekcie standardem *XFCP* [172]. Jest to platforma, która ułatwia tworzenie oprogramowania układowego FPGA, w taki sposób, aby sterowanie nim z poziomu oprogramowania było jak najprostsze, dzięki możliwości adresowania modułów na podstawie ścieżki znajdującej się w nagłówku pakietu. Dzięki komponentom udostępnianym przez tę platformę możliwą staje się logiczna hierarchizacja modułów odpowiedzialnych za poszczególne podsystemy i odwoływanie się do nich za pomocą adresu w drzewie (Rys. 3.18). W ten sposób można tworzyć niemal dowolne hierarchie w zależności od potrzeb.

Struktura pakietu *XFCP* jest stosunkowo prosta i składa się kolejno z:

- ścieżki modułu w drzewie ($N \times 1\text{ B}$, gdzie wartość N zależy od głębokości położenia modułu w drzewie),
- znacznika końca ścieżki równego 255 (1 B),
- identyfikatora rodzaju pakietu (1 B),
- ładunku.

Platforma *XFCP* nakłada również pewne wymagania na zachowanie modułów, z czego najważniejsze z punktu widzenia oprogramowania DAQ jest konieczność identyfikacji typu modułu na podstawie dwubajtowej wartości oraz nazwy konkretnej instancji nie dłuższej jednak niż 16 znaków *ASCII*. Każdy z modułów musi również się przedstawić po odebraniu pakietu *IDRequestPacket*, za pomocą pakietu *IDResponsePacket*, którego ładunek zawiera właśnie identyfikator typu modułu, jego nazwę oraz opcjonalnie inne dane umożliwiające określenie szczegółowych parametrów pracy danego modułu. Pomijając *Przełączniki*, w wykorzystywanej na potrzeby *Dose-3D* implementacji *XFCP* wykorzystywane są trzy typy modułów: *Rejestry*, *I2C* oraz *Dane*. Dwa pierwsze odpowiedzialne są za wolnozmienną wymianę prostych pakietów

mających na celu odczyt lub zapis stanu urządzeń (przy czym ten drugi z nich dostosowany jest do współpracy z urządzeniami zewnętrznymi względem FPGA, które wykorzystują magistralę I2C). Natomiast *Dane* stanowią źródło danych fizycznych zarejestrowanych przez *MAROC 3A*. Ich działaniem steruje się za pomocą *Rejestrów Stowarzyszonych*, gdyż *Dane* są w stanie jedynie wysłać pakiety.



Rys. 3.18: Przykład logicznej hierarchii modułów możliwej do zaimplementowania w FPGA z wykorzystaniem platformy *XFCP*. W korzeniu drzewa hierarchii ($N = 0$) zawsze znajduje się *Przełącznik* – ten typ modułu wie, ile modułów i *Przełączników* znajduje się na poziomie poniżej. Elementy na danym poziomie są numerowane za pomocą liczb od 0 do 253, a ich pełna ścieżka składa się ze ścieżki elementu nadrzędnego z dołączonym numerem identyfikacyjnym modułu na danym poziomie drzewa.

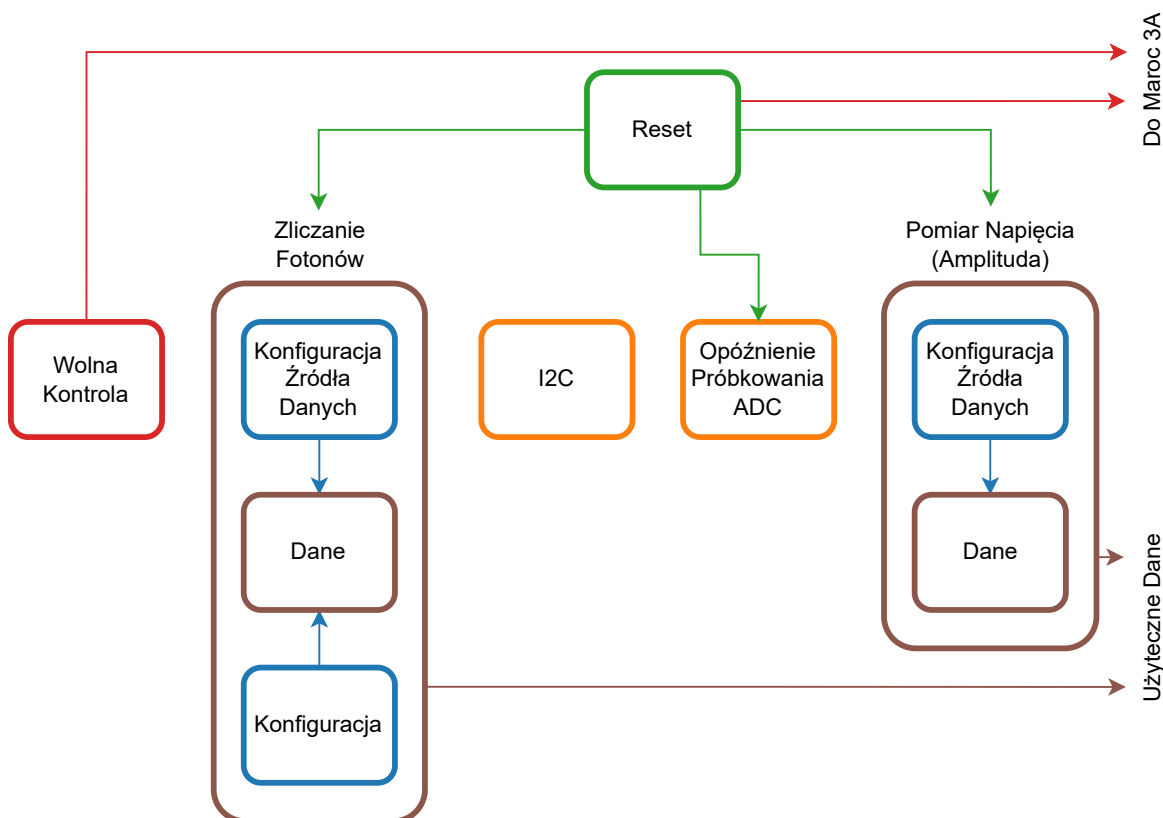
Z punktu widzenia *Komputera Sterującego*, *Rejestry* implementują ciągle bloki pamięci zorganizowane w bajtach, gdzie na określonych przez dokumentację *oprogramowania układowego* bajtach znajdują się pola wskazujące aktualny stan pewnej części potoku przetwarzania danych. Większość z tych pól jest dostępna zarówno do odczytu, jak i zapisu. Jednak niektóre jak np. te, które wskazują na stan kolejek danych między modułami a *MAROC 3A*, są wyłącznie do odczytu. Chęć odczytu pojedynczego bitu wiąże się z wysłaniem z DAQ pakietu typu *ReadRegisterRequestPacket* i oczekiwaniem na odpowiedź reprezentowaną przez *ReadRegisterResponsePacket*, który zawiera dane z całego bajtu, którego częścią jest ten żądany bit. Podobnie wygląda to w przypadku zmiany stanu określonego bitu *Rejestru*, gdzie najpierw DAQ musi wysłać żądanie odczytu całego bajtu, poczekać na odpowiedź, zmienić lokalnie stan tego bitu w całym otrzymanym bajcie i dopiero na końcu wysłać za pomocą pakietu *WriteRegisterRequestPacket* nową wartość. Taka wymiana pakietów nie zawsze musi być optymalna – niektóre pola, zwłaszcza te obsługiwane przez moduły *Rejestrów Stowarzyszonych* implementowane są pojedynczo, na osobnych bajtach. Dzięki temu zmiana ich wartości z poziomu DAQ jest jednoetapowa i angażuje jedynie *WriteRegisterRequestPacket*.

Moduły *I2C*, podobnie jak *Rejestry*, działają na zasadzie żądanie-odpowiedź. Jednakże ich

obsługa przez *XFCP* (w przeciwieństwie do pozostałych typów modułów) powoduje blokadę transmisji danych do/z pozostałych modułów do momentu zakończenia przetwarzania żądania przychodzącego z *Komputera Sterującego*, czyli do chwili odesłania przez niego odpowiedzi. W tym czasie przychodzące żądania do FPGA są gromadzone (kolejkowane) przed drzewem modułów, natomiast gotowe wychodzące pakiety np. z modułów generujących dane są przechowywane przez kolejki wyjściowe.

3.3.1.1 Relacje między modułami *XFCP*

Obsługa *Jednostki Akwizycji Danych* przeprowadzana jest za pomocą dziewięciu modułów. Uproszczone zależności między nimi zostały zilustrowane na Rys. 3.19 – nie stanowią one jednak odwzorowania właściwej implementacji hierarchii modułów *XFCP*, która w przypadku *Dose-3D* jest jednopoziomowa (wszystkie moduły są bezpośrednio połączone z głównym *Przełącznikiem XFCP*). Odpowiednia sekwencja generowania zdarzeń z poziomu *Komputera Sterującego* oraz odpowiedź na odbierane przez niego zdarzenia stanowi podstawę prawidłowego przebiegu pomiaru i możliwości późniejszej analizy danych.



Rys. 3.19: Ilustracja zależności między modułami *XFCP* zaimplementowanymi w oprogramowaniu układowym na FPGA dla *Jednostki Akwizycji Danych*. Choć przedstawiona struktura wyraża pewną hierarchię zależności, to jednak obecnie nie ma ona odzwierciedlenia w sposobie implementacji drzewa *XFCP* – jest to struktura jednopoziomowa, gdzie wszystkie widoczne moduły zostały bezpośrednio połączone z *Przełącznikiem XFCP*.

Reset

Rejestr, dzięki któremu jest możliwe unieważnienie działania poszczególnych modułów, jak

i samego *MAROC 3A*. Umiejętne operowanie stanami poszczególnych bitów resetujących jest kluczowe dla zapewnienia poprawności i stabilności akwizycji danych.

Wolna Kontrola

Rejestr, służący do obsługi konfiguracji *MAROC 3A*, składający się z czterech głównych pól:

- przyszłej konfiguracji *MAROC_CONFIG* (829 bit),
- rozpoczęcia przesyłania *START_SEND* (1 bit),
- operacji w toku *BUSY* (1 bit),
- ostatnio zaaplikowanej konfiguracji *LAST_MAROC_CONFIG* (829 bit, tylko do odczytu).

Definiowanie ustawień *MAROC 3A* odbywa się dwuetapowo. Najpierw powinno nastąpić przekazanie do *MAROC_CONFIG* ciągu bitów reprezentujących działanie przy pożądanym ustawieniu. Właściwa konfiguracja *MAROC 3A* rozpoczyna się dopiero po wysłaniu w następnym kroku pakietu typu *WriteRegisterRequestPacket* ustanawiającego *START_SEND* w stan wysoki. Dopóki proces transferu konfiguracji z FPGA do *MAROC 3A* nie zostanie ukończony, niezerowa wartość *BUSY* sygnalizuje ten fakt, a ASIC znajduje się w nieokreślonym stanie. *MAROC 3A* sam w sobie nie pozwala na odczyt jego konfiguracji, dlatego *oprogramowanie układowe* FPGA dokonuje automatycznego kopiowania ustawień do *LAST_MAROC_CONFIG*. Zawartość tego pola jest rutynowo sprawdzana względem oczekiwanej zaraz po zakończeniu konfiguracji *MAROC 3A*.

Zliczanie Fotonów

Kompozycja modułu typu *Dane* wraz z dwoma *Rejestrami Stowarzyszonymi*. Wewnętrznie *Dane* przechowuje 64 48-bitowe liczniki zawierające informację o liczbie zarejestrowanych *Zdarzeń* przez poszczególne kanały *MAROC 3A*. Wartość liczników podlega inkrementacji na podstawie dedykowanych sygnałów związanych z wystąpieniem *Zdarzenia* (ang. *trigger*) z ASIC w wyniku rejestracji impulsu nadprogowego (Rys. 2.14). *Konfiguracja* pozwala wyczyścić stan tych liczników poprzez *RESET_COUNTERS* oraz umożliwia wymuszenie wygenerowania pakietu z danymi na podstawie aktualnych wartości tych liczników (*SNAPSHOT*). Pakiet z danymi zostaje wygenerowany przez *Dane* i oprócz wartości liczników zawiera również sygnatury czasowe, na podstawie których na etapie analizy danych można określić tempo przyrostu zliczeń. Jego wygenerowanie nie oznacza jednak jego wysłania do *Komputera Sterującego* – za to odpowiedzialne są pola *SEND_NEXT_FRAME* oraz *SEND_ON_RECEPTION* dostępne poprzez *Konfigurację Źródła Danych*. Ustawienie ich w stan wysoki odblokowuje odpowiednio jednokrotne oraz ciągle wysyłanie gotowych pakietów wygenerowanych przez *Dane*. Moduł ten umożliwia również monitorowanie stanu kolejek danych oraz ich wyczyszczenie (*RESET_FIFO*), co przydaje się, zwłaszcza gdy uruchamiany jest nowy pomiar i poprzednio przygotowane pakiety, które mogłyby zostać w kolejkach, są z nim niekompatybilne.

I2C

Rejestr, poprzez który kontrolowane są urządzenia podłączone do magistrali I2C. Pozwala odczytywać stany napięć, prądów i temperatur poszczególnych komponentów znajdujących się

w obrębie *Jednostki Akwizycji Danych* oraz ustawić pożądaną wartość napięcia, które ma być generowane na potrzeby MA-PMT.

Opóźnienie Próbkowania ADC

Rejestr przechowujący dwubajtową liczbę całkowitą bez znaku, która definiuje opóźnienie wygenerowania sygnału *ADC Start* względem otrzymania przez FPGA informacji o wykryciu zdarzenia przez *MAROC 3A*. Wartość ta wyrażona jest poprzez liczbę pełnych cykli zegara FPGA, którego okres wynosi 4 ns.

Pomiar Napięcia (Amplituda)

Kompozycja modułu typu *Dane z Rejestrem Stowarzyszonym* typu *Konfiguracja Źródła Danych*. Po otrzymaniu wartości napięć z wewnętrznego dla *MAROC 3A* ADC, które odpowiadają wejściowym amplitudom sygnałów, są one łączone przez *Dane* w pakiet *XFCP* razem z informacją o sygnaturze czasowej oraz stanie układu wyzwiania, na podstawie których wiadomo, na którym kanale oraz kiedy doszło do zarejestrowania sygnału nadprogowego. Podobnie jak w przypadku *Zliczania Fotonów* właściwym wysłaniem pakietu steruje moduł *Konfiguracja Źródła Danych*, który jest instancją tego samego typu modułu, jednak dedykowaną w tym przypadku sterowaniu wyjściem danych z *Pomiaru Napięcia*.

3.3.2 Architektura oprogramowania

Stworzenie oprogramowania zdolnego do obsługi *Jednostki Akwizycji Danych* jest zadaniem zarówno nieskomplikowanym, jak i złożonym – zależnie od przyjętych założeń oraz celów. Mając za zadanie np. pomiar energii zdeponowanej w kanałach, zupełnie wystarczające może być przygotowanie krótkiego programu, który konfiguruje *MAROC 3A*, a następnie cyklicznie wysyła żądania wygenerowania impulsu wejściowego *Ctest* przez *Generator Impulsów Testowych* i odczytuje pakiet pochodzący z *Pomiaru Napięcia* z FPGA. Problemy związane z przedstawionym podejściem są jednak następujące:

- program nie jest swobodnie i prawidłowo skalowalny, gdy pomiar ma być prowadzony przy wykorzystaniu więcej niż jednej *Jednostki*²⁷,
- zmiana parametrów pomiaru będzie z dużą dozą prawdopodobieństwa wymagała ingerencji w główny kod programu, przez co w repozytorium będzie dostępny jeden program, który podlega częstym zmianom albo wiele bardzo podobnych do siebie – w obu przypadkach będzie to kod trudny w utrzymaniu,
- jakkolwiek zmiana w strukturze modułów *XFCP* będzie wymagała aktualizacji wszystkich dotychczasowych programów,
- pomiar sekwencyjny będzie znacznie wolniejszy niż gdyby impulsy oraz odczyt danych działał równolegle, co wydłuża szczególnie przebieg wszelkich procedur testowych, a które wymagają zbadania wielowymiarowej przestrzeni parametrów,
- kod jest w pełni zależny od sprzętu, który jest przez niego obsługiwany.

²⁷Uruchomienie puli procesów wykonujących tę samą procedurę rozwiązuje problem skalowalności, ale otrzymane wyniki nie będą zsynchronizowane bez zastosowania dodatkowego kodu.

Wszelkie doraźne próby poradzenia sobie z wyżej wymienionymi problemami będą skutkowały powstaniem biblioteki funkcji lub klas, które będą starały się w jakiś sposób tuszować te niedogodności, ale nie pozwolą na ich eliminację²⁸. Ponadto, a może i przede wszystkim, użytkownik testujący sprzęt nie musi umieć programować. Z jego punktu widzenia, najważniejsze są parametry pracy systemu, dla których ma dokonać charakterystyki przetwarzania sygnałów w torze pomiarowym, nie zaś szczegóły dotyczące znaczeń poszczególnych pól *Rejestrów* czy prawidłowej kolejności obsługi pakietów *XFCP*.

W związku z powyższym podjęto działania, które przede wszystkim miały na celu odseparowanie logiki pomiaru od obsługi pojedynczych pakietów *XFCP*. Wykorzystana została do tego wiedza oraz doświadczenie w pisaniu aplikacji wieloprocesowych w języku *Python*. W postawionym zadaniu ważną rolę odgrywa założenie, że każdy moduł obecny w *oprogramowaniu układowym* FPGA jest reprezentowany przez odpowiednią instancję *Modułu Programowego*, do którego odwołują się pozostałe komponenty DAQ. *Moduły Programowe* pracują równolegle, dzięki czemu nie występują ograniczenia przetwarzania pakietów pochodzących z *Pomiaru Napięcia* czy *Zliczania Fotonów* (przypominając, w ich przypadku generowanie pakietów UDP/IP jest silnie związane z rejestrowaną przez *MAROC 3A* aktywnością). Każdy z *Modułów Programowych* posiada kolejkę żądań wejściowych, na podstawie których generuje właściwe pakiety *XFCP* i jest jedynym konsumentem pakietów, które zostały wyprodukowane przez bliźniaczy moduł na FPGA. Dopiero przetworzony, finalny rezultat operacji przeprowadzonych przez *Moduł Programowy* jest przesyłany do logiki zarządzającej pracą DAQ. Ponadto przyjęto, że oprogramowanie DAQ nie powinno w żaden szczególny sposób wyróżniać jednego typu modułów od drugiego (tj. *Rejestry* oraz *Dane*) – sposób ich obsługi powinien być możliwie identyczny. W szczególności kolejki komunikacyjne łączące *Moduły Programowe* z pozostałymi częściami potoku przetwarzania powinny zachowywać się tak samo, bez szczególnych optymalizacji dla modułów typu *Dane*, dla których długość pakietów jest niemal zawsze takiej samej długości (wyjątkiem są w tym przypadku pakiety typu *IDResponsePacket*, za pomocą których każdy moduł musi się przedstawić)²⁹.

Na podstawie powyższych założeń zbudowano architekturę oprogramowania, która na poziomie podstawowej komunikacji jest niezależna od rodzaju sprzętu, który obsługuje tak długo, jak jest on zgodny ze standardem *XFCP*. Jest to istotne z punktu widzenia projektu, gdyż aktualne prototypy *Jednostek Akwizycji Danych* oraz powiązane z nimi *oprogramowanie układowe* mogą ulegać zmianom w przyszłości np. przez zastąpienie *MAROC 3A* innym ASIC czy obsługę wielu takich układów przez *Jednostkę*. W takim przypadku pożądana jest możliwość zachowania większości kodu, którego prawidłowość działania została potwierdzona wcześniej.

Jednakże przydatność tego kodu w przyszłości była w pewnym sensie zagrożona, z uwagi

²⁸Opisane problemy niemal całkowicie dotknęły *Dose-3D*, gdy priorytetem krótko po otrzymaniu pierwszych prototypowych PCB było dostarczenie pierwszych danych pomiarowych z ich wykorzystaniem.

²⁹Wydawać mogłoby się, że w przypadku *Danych* słuszne byłoby wykorzystanie kolejek opartych o pamięć współdzieloną, które są udostępniane wraz z pakietem *arrayqueues* [218]. Szczegół implementacyjny sprawia jednak, że tworzone w trakcie wypełniania pamięci współdzielonej metadane przesyłane są i tak za pomocą kolejek z pakietu *multiprocessing*. Przy wielu ~ 10 kHz stosunkowo niewielkich ładunkach generowanych przez *Dane* rzędu 100 B ich wykorzystanie nie daje wymiernego zysku wydajności transmisji danych między procesami.

na wydajność transmisji danych między procesami, która ze względu na małe i różne rozmiary pakietów UDP/IP musiała wykorzystywać do tego zadania kolejki z pakietu *multiprocessing*³⁰. Zgodnie z wynikami testów już 50 000 pakietów otrzymywanych w trakcie sekundy może sprawić, że znaczna większość czasu systemu będzie przeznaczona jedynie dla celu transmisji danych między kolejnymi procesami bez wykonywania właściwych operacji³¹. Problem ten udało się rozwiązać poprzez wykorzystanie wspomnianego *noil CPython*. Przystosowanie kodu do działania jako zespół współpracujących ze sobą wątków (zamiast procesów) komunikujących się z wykorzystaniem danych zawartych w kolejkach w jednej puli pamięci znacząco uprościło kod, zmniejszyło obciążenie komputera oraz uwolniło kreatywność w zakresie dalszego rozwijania DAQ.

3.3.2.1 Uruchomienie pomiaru

Oprogramowanie DAQ, będące integralną częścią projektu *Dose-3D*, zostało zaprojektowane w taki sposób, aby w maksymalny możliwy sposób ukryć przed użytkownikiem systemu szczegóły implementacji modułów *XFCP* działających w *oprogramowaniu układowym* FPGA, przy jednoczesnym stosunkowo łatwym rozszerzaniu oprogramowania o nowe możliwości (Rys. 3.20). Aby móc uruchomić pomiar, użytkownik musi przygotować plik konfiguracyjny, w którym zdefiniowane są m.in.:

- lista adresów IP *Jednostek Akwizycji Danych*, które mają zostać użyte,
- nazwa bazowa pliku, do którego będą zapisywane dane pomiarowe,
- notatka użytkownika, w której mogą znaleźć się dowolne informacje (w tym o warunkach przeprowadzenia pomiaru),
- nazwa *Scenariusza Pomiaru*, który ma zostać użyty w pomiarze, a który definiuje sekwencję ustawień oraz warunki ich zmiany.

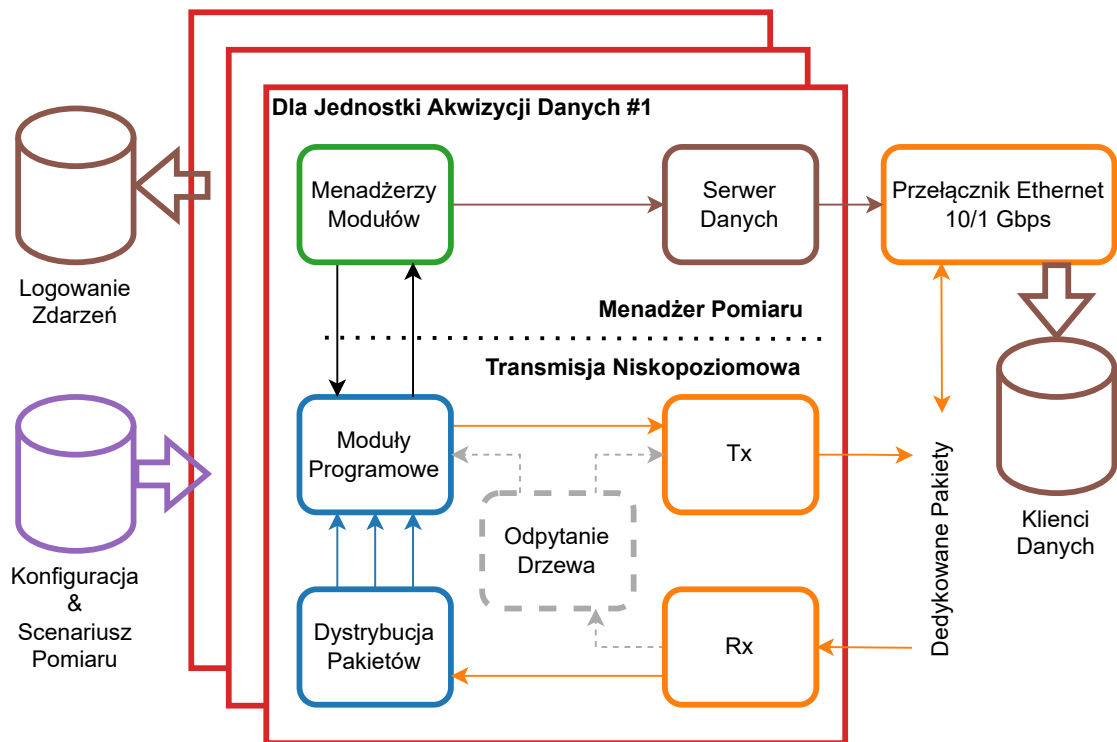
Po weryfikacji poprawności pliku konfiguracyjnego DAQ próbuje nawiązać kontakt ze wszystkimi żądanymi przez użytkownika *Jednostkami Akwizycji Danych* poprzez utworzenie obiektów *złącza* (ang. *socket* [247]) dla każdej z *Jednostek*. Gdy to się powiedzie, każda *Jednostka* zaczyna działać samodzielnie i równoległe z innymi poprzez utworzenie zbioru wątków gwarantujących obsługę poszczególnych funkcjonalności. Na początku tworzone są wątki *Tx* oraz *Rx*, których rolą jest odpowiednio wysyłanie pakietów do oraz odbieranie pakietów z konkretnej *Jednostki* poprzez obiekt *złącza*. Mając do dyspozycji te wątki możliwe jest na początek przeprowadzenie procedury *Odpytania Drzewa XFCP* i porównania otrzymanej struktury z oczekiwaną, która jest zapisana w bazie. Chroni to w pewnym stopniu przed wykorzystaniem urządzenia z niekompatybilną strukturą drzewa *XFCP*, jednak nie pozwoli wychwycić ewentualnych nieścisłości w przypisaniu znaczeń poszczególnym polom *Rejestrów*³². Jeśli którakolwiek z *Jednostek*

³⁰Najdłuższe pakiety pochodzą ze *Zliczania Fotonów* ~400 B, kolejny pod tym względem jest *Pomiar Napięcia* ~100 B, obsługa *Rejestrów* to przeważnie pojedyncze dziesiątki bajtów.

³¹Dla przypomnienia maksymalna częstotliwość danych pochodzących z samego *Pomiaru Napięcia* może osiągać 53 kHz przy korzystaniu z wewnętrznego dla *MAROC 3A* ADC. Sytuacja może ulec pogorszeniu, gdy zostanie zaimplementowany zewnętrzny układ ADC o większej szybkości przetwarzania.

³²Do pełnej walidacji potrzebny byłby mechanizm odpytywania o znaczenia bitów w *Rejestrach*. Natomiast w pewnym stopniu problem ten ma zostać zaadresowany w przyszłym *oprogramowaniu układowym*, gdzie będzie istniała możliwość odczytania informacji o jego wersji.

zostanie z jakiegokolwiek powodu nierozpoznana przez system, dalsze procedury nie zostaną zastosowane i oprogramowanie zakończy swoje działanie.



Rys. 3.20: Schemat działania oprogramowania DAQ w projekcie *Dose-3D*. Rolą użytkownika jest przygotowanie pliku konfiguracyjnego, w którym powinna zostać podana m.in. lista wykorzystywanych *Jednostek Akwizycji Danych* oraz tzw. *Scenariusz Pomiaru*, który będzie przez nie realizowany (identyczny dla każdej *Jednostki*). Do obsługi sprzętu i pomiarów tworzony jest zestaw kooperujących ze sobą wątków. Te, które należą do *Transmisji Niskopoziomowej*, są w znacznej mierze niezależne od sprzętu tak długo, jak używany jest standard *XFCP*. Natomiast specjalizacja wykorzystania poszczególnych modułów jest widoczna z perspektywy wątków po stronie *Menadżera Pomiaru*, który dba o poprawny przebieg akwizycji i zapisywania danych zgodnie ze *Scenariuszem Pomiaru*. Aktualnie do każdej *Jednostki* przypisany jest *Serwer* oraz *Klient* danych – w efekcie ich działania dane pomiarowe są zapisywane na trwałym nośniku do późniejszej analizy. Komunikaty powstające w systemie podlegają logowaniu. Część z nich pokazywana jest użytkownikowi w oknie terminala, natomiast ogół tego typu informacji trafia do odpowiednich plików. Mogą one zostać poddane analizie, stanowiąc źródło wiedzy zwłaszcza na temat sekwencji zdarzeń, która doprowadziła do ewentualnych problemów związanych z akwizycją.

Na tym etapie dochodzi do utworzenia wspomnianych *Modułów Programowych*, czyli wątków, które utrzymują komunikację z odpowiadającymi im modułami w *oprogramowaniu układowym FPGA*. Na podstawie żądań dochodzących do nich z *Menadżerów Modułów* generują one pakiety, które trafiają do *Tx*. Żądania te składają się z nazwy funkcji oraz jej parametrów, które są zrozumiałe przez dany *Moduł Programowy* – mogą dotyczyć np. odczytu wartości pól *Rejestru* lub w przypadku *Danych* żądania konwersji zgromadzonych przez *Moduł Programowy* pakietów. Jeżeli żądanie posiada efekt uboczny w postaci pakietu zwrotnego, zostanie on odebrany przez *Rx* i na podstawie zawartości nagłówka *XFCP* przekierowany do odpowiedniego *Modułu Programowego* i w rezultacie efekt będzie widoczny z poziomu *Menadżera Modułu*.

Menadżerzy Modułów umożliwiają wysokopoziomowe zarządzanie stanami *Rejestrów* za pomocą funkcji, których nazwa wyraża właściwą intencję³³ oraz odbierają poprawnie zinterpretowane *Dane*. Obiekty *Menadżerów Modułów* należą do domeny *Menadżera Pomiaru*, czyli wysokopoziomowego zarządzania transmisją zależnego od budowy *Jednostki Akwizycji Danych*.

Obsługa *Danych*

Pakiety, które docierają z *Jednostki Akwizycji Danych* w odpowiedzi na wejściowe sygnały prądowe zarejestrowane przez *MAROC 3A*, nie podlegają natychmiastowemu przetworzeniu przez odpowiednie *Moduły Programowe*, tylko są buforowane. Ich odkodowanie zachodzi w chwili osiągnięcia progowej liczby zbuforowanych pakietów (1000) lub po otrzymaniu żądania konwersji pakietów wystosowanego przez *Menadżera Modułu*. Takie podejście powinno skutkować szybszą konwersją ładunków pakietów *Danych* do zrozumiałej przez DAQ postaci, niż gdyby taka operacja miała być wykonywana osobno dla każdego z nich. Z uwagi na fakt, że *Python* jako taki mógłby nie poradzić sobie z przetwarzaniem na bieżąco wejściowych ładunków, operacje te zostały powierzone specjalnie do tego przygotowanej bibliotece napisanej w języku *C*³⁴. Konwerter musi sobie poradzić przede wszystkim ze stanami liczników *Zdarzeń* oraz wartościami pochodzącymi z *Pomiaru Napięcia* w kanałach, które nie są opisywane przez standardowe typy danych. W tym pierwszym przypadku liczniki reprezentowane są za pomocą 48 bitów na kanał, zaś w tym drugim jest to 12 bitów – dane poszczególnych kanałów występują bezpośrednio jedno za drugim. Ponadto w przypadku *Pomiaru Napięcia* odczytany ciąg bitów jest reprezentacją wartości w naturalnym kodzie Gray’a [171], który zostaje zamieniony do postaci w naturalnym kodzie binarnym [248] (Listing 3.2). Dzięki temu ich późniejsza analiza jest znacznie łatwiejsza, gdyż architektury współczesnych komputerów implementują operacje arytmetyczne, zakładając, że wejściowe dane są reprezentowane właśnie w ten sposób.

Listing 3.2: Funkcja wykorzystywana do konwersji 12-bitowej wartości opisanej kodem Gray’a do reprezentacji binarnej. Dla liczb wykorzystujących N bitów do ich zapisu potrzeba k operacji, gdzie k jest najmniejszą liczbą naturalną spełniającą warunek $2^k \geq N$ [248]. W tym przypadku $k = 4$.

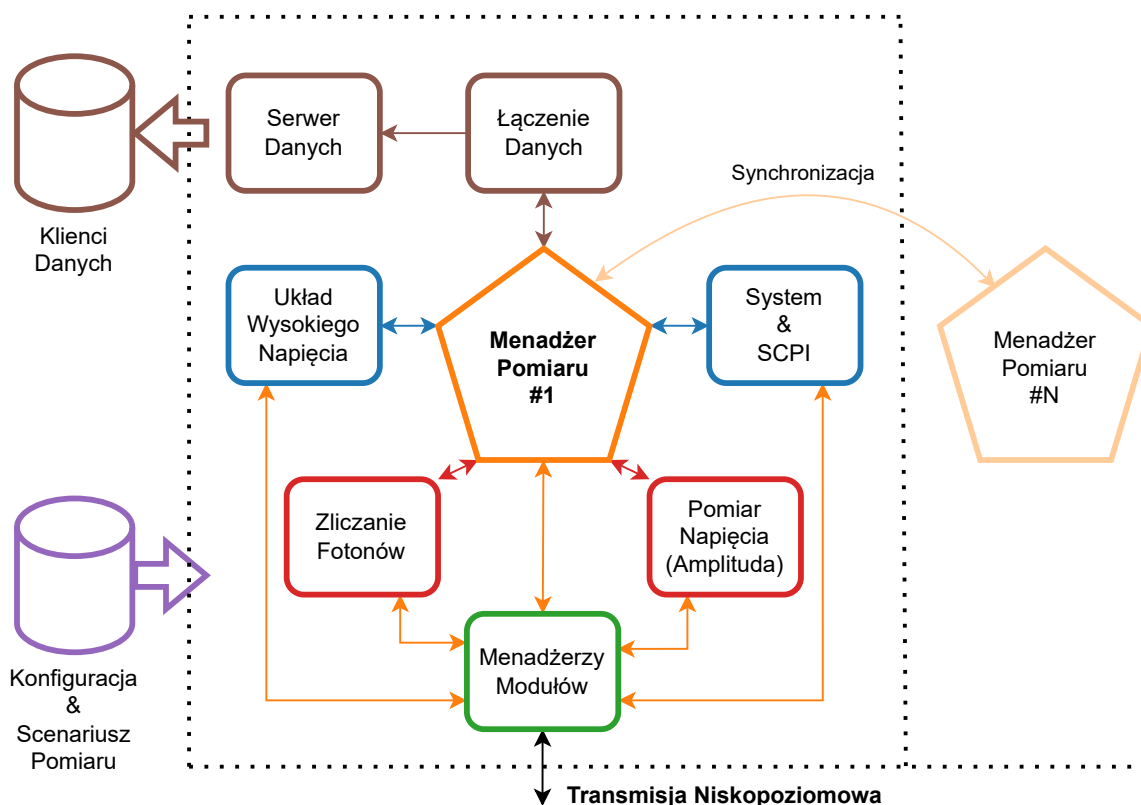
```
void gray2int(unsigned short *n)
{
    *n ^= (*n) >> 8;
    *n ^= (*n) >> 4;
    *n ^= (*n) >> 2;
    *n ^= (*n) >> 1;
}
```

³³W definicjach klas *Menadżerów Modułów* znajdują się stałe wskazujące na pozycję bitu/bitów *Rejestrów* odpowiedzialnych za funkcjonalność zgodną z nazwą tych stałych, a wywołanie funkcji korzysta z tych definicji.

³⁴Implementacja *nogil CPython* zmienia strukturę kodu bajtowego, co czyni ją niekompatybilną z pakietem *numba* [236], dlatego nie mógł on zostać użyty w tym przypadku. Najpewniejszym sposobem na zapewnienie optymalnej wydajności było przygotowanie zewnętrznej biblioteki, co niestety wiąże się z dodaniem zewnętrznych zależności. Niestety sprawia to, że wersje dla różnych systemów operacyjnych muszą być traktowane inaczej (wymagana jest rekompilacja biblioteki).

3.3.2.2 Menadżer Pomiaru

Menadżer pomiaru jest wątkiem uruchamianym na potrzeby każdej *Jednostki Akwizycji Danych*, który na podstawie otrzymanego *Scenariusza Pomiaru* steruje przebiegiem akwizycji danych. Składa się on z wielu współpracujących i odpowiednio synchronizowanych ze sobą wątków, które poprzez *Menadżerów Modułów* komunikują się ze sprzętem (Rys. 3.21).



Rys. 3.21: Wysokopoziomowa część oprogramowania DAQ w postaci *Menadżera Pomiaru* wraz z zarządzanymi przez niego wątkami dla pojedynczej *Jednostki Akwizycji Danych*. Poprzez *Menadżerów Modułów* zarządza on aktualnym etapem akwizycji na podstawie dostarczonego *Scenariusza Pomiaru*. Zebrane informacje z *Rejestrów, Danych* oraz *I2C* są cyklicznie wysyłane do zapisu poprzez *Serwer Danych*.

Układ Wysokiego Napięcia

Odpowiada za komunikację z *Generatorem Wysokiego Napięcia* zintegrowanym z *Jednostką*. Wykorzystywany jest przed rozpoczęciem pomiaru do stopniowej polaryzacji MA-PMT do wybranego punktu pracy, a po zakończeniu pomiaru przywraca w bezpiecznym dla elektroniki tempie układ do stanu spoczynku.

System & SCPI

Wydaje polecenia *Generatorowi Impulsów Testowych* oraz odczytuje wartości napięć, oraz prądów zasilających układy znajdujące się na *Jednostce*, a także temperatury ich pracy. Przekazuje zebrane dane do wątku *Łączenia Danych*.

Zliczanie Fotonów

Wysyła cyklicznie prośby dotyczące otrzymania pakietu zawierającego informacje o liczbie *Zdarzeń* zarejestrowanych przez każdy z kanałów. Odbiera skonwertowane pakiety i przekazuje je do *Łączenia Danych*.

Pomiar Napięcia (Amplituda)

Działa analogicznie jak **Zliczanie Fotonów**, tylko obsługuje część toru pomiarowego na *Jednostce Akwizycji Danych*, która wysyła informacje dotyczące zarejestrowanych napięć.

Łączenie Danych

Cyklicznie (domyślnie co 1 s) odczytuje informacje utworzone przez **System & SCPI**, **Zliczanie Fotonów** oraz **Pomiar Napięcia (Amplituda)** i generuje na ich podstawie strukturę przeznaczoną do rozgłoszenia przez **Serwer Danych**.

Serwer Danych

Wątek wysyłający z udziałem protokołu TCP/IP otrzymane z **Łączenia Danych** struktury do kompatybilnych **Klientów Danych**. Każdy z nich z osobna zapisuje dane tylko z jednego *Menadżera Pomiaru* do własnego pliku zgodnego ze standardem HDF [243] oraz biblioteką *pandas* [249], która ułatwia analizę danych zorganizowanych w formie tabel.

Obecność **Serwerów** oraz **Klientów** DAQ jest podyktowana przede wszystkim problemami z wielowątkowym zapisem, gdy w danej chwili wykorzystuje się więcej niż jedną *Jednostkę Akwizycji Danych*. Wynika to wprost z nieprzystosowania HDF do pracy współbieżnej w jednym procesie, nawet jeśli każdy z wątków operuje wyłącznie na stworzonym przez siebie pliku [237, 250]. Wymusiło to konieczność odseparowania głównego procesu, który zarządza przepływem danych w całym systemie, od procesów **Klientów Danych** (po jednym dla każdej *Jednostki*). Z drugiej strony taka architektura stanowi dobry punkt wyjścia do implementacji np. rozproszonego zapisu lub analizy danych w trakcie trwania pomiaru. Odciążyłoby to *Komputer Sterujący*, umożliwiło zapis równoległy do wielu lokalizacji (zwiększając bezpieczeństwo) oraz przyspieszyło weryfikację pomiaru.

W danym pomiarze jeden z *Menadżerów Pomiaru* ma przypisaną dodatkową funkcję – tylko on może sterować *Generatorem Impulsów Testowych*. Ponadto poszczególne etapy pomiaru są synchronizowane dla wszystkich aktywnych *Jednostek*. Dzięki temu zapewnia się, że wszystkie pracują w podobnym tempie i nie dojdzie do sytuacji, w której pewne *Jednostki* nie zarejestrują danych, tylko dlatego, że nie zakończyły jeszcze procedury konfiguracji.

Scenariusz Pomiaru

Przebieg akwizycji opisywany przez *Scenariusz Pomiaru* tak naprawdę może składać się, zależnie od woli użytkownika, z wielu tzw. *podpomiarów*. W danym momencie wszystkie *Jednostki Akwizycji Danych* wykonują synchronicznie taki sam *podpomiar*. Każdy *podpomiar* rozpoczyna się resetem modułów, po którym następuje przesłanie odpowiedniej konfiguracji *MAROC 3A* oraz ustalenie opóźnienia generowania sygnału *ADC Start*. Opcjonalnie wysyłane jest żądanie

nowej wartości napięcia polaryzującego MA-PMT lub komunikacja z *Generatorem Impulsów Testowych*, celem wygenerowania przez niego sygnałów o określonej charakterystyce (amplituda, częstotliwość, liczba powtórzeń, kształt itp.). Po czym następuje zgłoszenie przez *Menadżerów Modułów* chęci otrzymywania *Danych. Podpomiar* trwa tak długo aż:

- **Łączenie Danych** będzie odbierać informacje przez określoną liczbę sekund,
- **Zliczanie Fotonów** albo **Pomiar Napięcia (Amplituda)** odbierze zdefiniowaną przez użytkownika liczbę ramek danych.

Stanowi to tzw. *warunek zakończenia podpomiaru*. Gdy *podpomiar* ma zostać zakończony **Zliczanie Fotonów** oraz **Pomiar Napięcia (Amplituda)** starają się odebrać wszelkie ramki, które mogły zostać zbuforowane, po czym poprzez odpowiednich *Menadżerów Modułów* blokują możliwość wysyłania pakietów przez *Dane* i resetują stan kolejek sprzętowych. Opisany cykl jest powtarzany aż do osiągnięcia końca *przestrzeni pomiaru*, która jest zdefiniowana w *Scenariuszu* poprzez typy parametrów oraz wartości, które mają przyjmować. W większości przypadków kolejne *podpomiaru* różnią się między sobą wartością jednego parametru. Stąd wielkość przestrzeni (tj. liczba *podpomiarów* realizowanych przez dany *Scenariusz*) dana jest przez iloczyn liczby wartości, które ma przyjmować każdy z poddawanych zmianom parametrów. Kolejność *podpomiarów* jest ściśle określona i do każdego z nich przypisywana jest kolejna liczba naturalna. Wszystkie dane, które pochodzą z jednego *podpomiaru* są znakowane tą liczbą. Na jej podstawie można dokonać filtracji wartości z zapisanych plików i mieć pewność, że ich akwizycja była przeprowadzana w identycznych warunkach³⁵.

Przykład

W pomiarze mającym na celu zbadania charakterystyki *MAROC 3A* generowany jest ciągły identyczny impuls wejściowy o częstotliwości występowania 1 kHz. Chcemy zbadać otrzymywane dane dla trzech wzmocnień sygnału, z progiem aktywacji (*threshold*) zmienianym od 200 do 600 włącznie z krokiem co pięć stopni DAC. Łącznie zostaną wykonane: $1 \times 3 \times \left(\frac{600-200}{5} + 1\right) = 243$ *podpomiaru* przez ten *Scenariusz*.

³⁵Dodatkowo w plikach zapisywana jest tabela z metadanymi, która przechowuje m.in. pełną informację o konfiguracji *MAROC 3A*, stanie wszystkich *Rejestrów* oraz konfiguracji *Generatora*, które są powiązane z numerem każdego *podpomiaru*.

3.4 Podsumowanie

Zaprezentowane oprogramowanie, mimo że tworzone na potrzeby różnych architektur sprzętowych, w istocie wymagało rozwiązania bardzo podobnych podstawowych wyzwań technicznych, związanych z wydajnym przetwarzaniem i transferem danych. *Neurostim-3* jak i *Dose-3D* oparte są o zespół współpracujących ze sobą jednostek przetwarzających wejściowe sygnały analogowe do cyfrowej postaci, co było pewną podpowiedzią, że również budowane dla nich oprogramowanie powinno wykorzystywać techniki współbieżne.

Ze względu na charakter transmisji implementowanej przez *Neurostim-3* bazującej na ciągłych blokach danych o stałym rozmiarze, zaprojektowano potok przetwarzania zbudowany ze specjalizowanych procesów wymieniających ze sobą przetworzone dane poprzez kolejki zaimplementowane w *pamięci współdzielonej*. Natomiast wszelkie operacje związane z zaawansowaną transformacją tych danych zostały powierzone zewnętrznym bibliotekom rozszerzającym funkcjonalność *Pythona* np. *Numba*.

Podczas programowania obsługi *Dose-3D* poznane techniki okazywały się jednakże niewystarczające. Głównie ze względu na niedeterministyczny przepływ danych oparty o występowanie *Zdarzeń* w wyniku rejestracji sygnałów nadprogowych. Zdawano sobie bowiem sprawę, że powstająca architektura oprogramowania oparta o procesy jest nad wyraz skomplikowana i niewydajna. Główną przyczyną tego stanu był brak możliwości współdzielenia danych w obrębie jednej przestrzeni adresowej, która byłaby dostępna dla wątków przetwarzających instrukcje w prawdziwie równoległy sposób. Dla przykładu procesy związane z *Modułami Programowymi* nie mogły być współdzielone przez inne procesy wprost³⁶. Jednocześnie komponenty wysokopoziomowe miały mieć możliwość sterowania modułami w *oprogramowaniu układowym* FPGA. Można natomiast współdzielić obiekt kolejki, w której umieszczane będą żądania wykonania właściwej funkcji z odpowiednimi parametrami. Właśnie w taki sposób rozwiązano ten problem, jednak wydajność dystrybucji pakietów w systemie (szczególnie tych pochodzących z *Danych*) nadal pozostawiała wiele do życzenia.

Impas ten przerwało dopiero przetestowanie *nogil Pythona*, o którego istnieniu dowiedziano się przypadkowo³⁷. Wystarczyło jedno popołudnie, aby przystosować DAQ do działania w oparciu o wątki zamiast dotychczasowych procesów.

Niewątpliwie *nogil Python* jest sukcesem, o czym świadczy obszerna dyskusja nad jego wdrożeniem do *implementacji referencyjnej* [232, 233] oraz podjęta reimplementacja na potrzeby *Python 3.12* [229]. Aczkolwiek należy mieć na uwadze, że w obecnej formie ma wiele ograniczeń wynikających głównie z kompatybilności z bibliotekami zewnętrznymi. Niektóre rozszerzenia nie działają z konkretnymi systemami operacyjnymi [236]. Pod tym względem należy szczerze przyznać, że zbiór wymaganych przez projekt *Dose-3D* bibliotek (patrz Dodatek) przez przypadek pokrywa się ze wspieranymi dla systemu operacyjnego *Linux* oraz

³⁶Obiekty procesu nie podlegają serializacji.

³⁷Pracując nad oprogramowaniem dla *Neurostim-3*, Autor ze znacznym zaciekawieniem przyglądał się projektowi *gilectomy*, jednak po jego porzuceniu z uwagi na brak satysfakcjonujących rezultatów, nie brano pod uwagę, że komuś w tak krótkim odstępie czasu jednak sztuka usunięcia GIL z *CPythona* się powiedzie. Pewnego razu, najprawdopodobniej na podstawie historii odwiedzanych stron internetowych, zaproponowany został do przeczytania artykuł opisujący dokonania Sama Grossa [251].

Windows³⁸. Wynika to głównie z faktu, że w obecnej formie DAQ działa jako aplikacja wiersza poleceń – nie potrzebuje GUI ani nie dokonuje wizualizacji danych, do których wymagane są specjalistyczne biblioteki.

Trzeba mieć na uwadze, że oparcie oprogramowania *Dose-3D* o eksperymentalny projekt tak jak stanowi oryginalne rozwiązanie problemu badawczego, tak jest również obarczone ryzykiem, związanym z możliwością odrzucenia proponowanych zmian przez osoby zarządzające rozwojem *CPythona*, a w konsekwencji z jego porzuceniem przez Sama Grossa³⁹:

Moim celem związanym z reimplementacją do 3.12 jest otrzymanie decyzji w sprawie proponowanych zmian [...]. W przypadku ich akceptacji skupię się na wprowadzeniu zmian do wersji 3.13, a jeśli zostaną odrzucone, prawdopodobnie nie będę się już tym zajmował.

W ocenie Autora ryzyko to można aktualnie ograniczyć głównie poprzez włączenie społeczności użytkowników tego języka programowania w propagowanie zalet, które wiążą się z tym przedsięwzięciem. Będąc wczesnymi użytkownikami *nogil Pythona* jako projekt *Dose-3D* aktywnie zaangażowaliśmy się w tę kampanię.

Opisany został szereg zalet *nogil* względem *implementacji referencyjnej*, dzięki którym tworzenie DAQ na potrzeby *Dose-3D* zostało w znacznej mierze uproszczone, a spostrzeżenia te znalazły się w oficjalnej dokumentacji proponowanych zmian w *nogil CPython* przygotowanej przez Sama Grossa [232].

Wracając do kwestii związanych z DAQ, na podstawie przedstawionych rozwiązań pokazano, że *Python* może z powodzeniem zostać zastosowany do budowy skomplikowanych systemów i to pomimo potencjalnych ograniczeń związanych z przetwarzaniem kodu bajtowego. W każdym przypadku kluczowym aspektem jest zrozumienie istoty wyzwań związanych z obsługą danego urzędnictwa oraz dobór odpowiednich narzędzi.

W tej chwili oprogramowanie DAQ dla *Neurostim-3* jest rozwiązaniem kompletnym, dzięki któremu możliwe jest prowadzenie pomiarów charakteryzujących sam ASIC, jak i eksperymentów biologicznych. Razem z *Aplikacją Serwerową* dostarczane jest m.in. narzędzie do wizualizacji sygnałów w trakcie pomiaru czy *Odtwarzacz Eksperymentów*, dzięki któremu można przeglądać zawartość zapisanych danych tak, jak gdyby był uruchomiony właściwy pomiar. Nie oznacza to jednak, że jest to oprogramowanie idealne i wykorzystujące pełnię możliwości *Neurostim-3*. Przede wszystkim charakterystyka badań elektrofizjologicznych może wymagać, aby poszczególne układy oraz ich kanały pracowały przy różnych i zmiennych parametrach

³⁸Oprogramowanie DAQ dla *Dose-3D* z założenia powinno być przenośne między tymi systemami operacyjnymi. Uruchomienie samego *nogil Pythona* w środowisku *Windows* stanowiło wyzwanie, gdyż kod źródłowy bibliotek oraz *Pythona* należało skompilować samodzielnie (w przeciwieństwie do *Linuxa*, dla którego Sam Gross udostępniał przygotowane moduły do pobrania). W tym procesie ogromną rolę odgrywał dobór narzędzi użytych do kompilacji, konfiguracja systemu, kolejność kompilacji oraz instalacji, wybór określonej wersji bibliotek. W jednym przypadku należało również dokonać zmian w kodzie biblioteki. Z uwagi na poziom komplikacji tej procedury dla platformy *Windows* zostało udostępnione repozytorium zawierające instalator *nogil Python* oraz archiwum, które zawiera działające biblioteki (jego zawartość należy skopiować do odpowiedniego folderu po zainstalowaniu tego interpretera *Pythona* [252]).

³⁹Oryginalnie: *My goal with the 3.12 port is just to get a decision [...]: if it's accepted I'll focus on getting the changes into 3.13 and if it's rejected I will probably not work on it further.* Z korespondencji z Samem Grosseem.

pracy (np. wzmocnienie, pasmo przenoszenia). Tego zaprezentowane oprogramowanie nie potrafi, a funkcjonalność ta wiąże się ściśle ze wspomnianym trybem próbkowania o zmiennej częstotliwości. Jego prawidłowa obsługa na etapie przygotowania strumieni bitów i opisu przebiegu eksperymentu, a później interpretacji wejściowych danych jest zadaniem wysoce nietrywialnym, mogącym stanowić przedmiot oddzielnego doktoratu. Pewne przygotowania do implementacji tego zadania zostały jednak już poczynione, czego efektem jest wersja aplikacji implementująca obsługę próbkowania o wysokiej częstotliwości, która wymagała dogłębnego zrozumienia komunikacji *Multipleksera Danych Analogowych* z ADC, w celu poznania maksymalnej osiągalnej częstotliwości próbkowania dla danej maski kanałów. Przyszła wersja oprogramowania DAQ do badań elektrofizjologicznych (o ile taka powstanie) mogłaby dodatkowo pokusić się o wykorzystanie *noil Pythona*⁴⁰.

Co się zaś tyczy *Dose-3D*, zaproponowane oprogramowanie należy w tym momencie traktować jako bazę do przeprowadzania pomiarów i przyszłego rozwoju projektu. Już teraz wiadomo, że *oprogramowanie układowe* FPGA ulegnie znacznej aktualizacji, skutkiem czego zmodyfikowana zostanie struktura modułów oraz kompozycja *Rejestrów*. Przez to część informacji, które znalazły się w tym rozdziale, może ulec dezaktualizacji. Co więcej, w ramach studenckiego projektu magisterskiego zostanie ulepszony sposób dystrybucji danych, które pochodzą z wątków *Łączenia Danych*. Projekt ten ma pozwolić na tworzenie aplikacji klienckich, które będą subskrybentami dowolnych danych pochodzących z DAQ, co umożliwi m.in. jednoczesny zapis czy analizę danych z wizualizacją w trakcie pomiaru.

⁴⁰Na ten moment nie zdecydowano się na aktualizację do *noil Python* ze względu na trzy powody:

- osiągnięta wydajność przetwarzania za pomocą wielu procesów jest całkowicie wystarczająca,
- wymagałoby to dokładnego przebudowania oprogramowania, które wiadomo, że działa poprawnie,
- występują problemy z instalacją bibliotek odpowiedzialnych za tworzenie GUI.

Rozdział 4

Badania – wyniki, analiza i omówienie

W rozdziale tym są zaprezentowane wyniki uzyskane za pomocą obu systemów sprzętowych. Pokazują one możliwości zaprojektowanego na ich potrzeby oprogramowania oraz charakteryzują implementowane przez nie tory przetwarzania danych. Ponadto, w przypadku *Neurostim-3*, dzięki współpracy z Instytutem Biologii Doświadczalnej im. Marcelego Nenckiego Polskiej Akademii Nauk w Warszawie, możliwe było przeprowadzenie serii eksperymentów ze szczurami, celem przetestowania tego urządzenia pod kątem zastosowań w badaniach tego typu i potencjalnego wdrożenia go do procedur eksperymentalnych. Natomiast dostęp do wysokoenergetycznej wiązki promieniowania rentgenowskiego, dzięki której możliwe było sprawdzenie *Dose-3D* w warunkach zbliżonych do terapeutycznych możliwy była dzięki współpracy z Narodowym Instytutem Onkologii w Krakowie.

Zapisane przez oba systemy dane były poddawane obróbce przez wyspecjalizowane dla konkretnego celu narzędzia zewnętrzne względem przedstawionych w poprzednim rozdziale DAQ.

4.1 System *Neurostim-3*

4.1.1 Oprogramowanie akwizycji danych

Kluczową funkcją oprogramowania DAQ jest zapewnienie stabilnej i wydajnej komunikacji z *Neurostim-3*. Protokół wymiany danych oparty jest o ciągły dwukierunkowy przesył danych konfiguracyjnych do ASIC oraz odbiór rejestrowanych przez niego próbek cyfrowych. Gdyby na którymkolwiek etapie przygotowania strumienia konfiguracyjnego lub interpretacji wejścia dochodziło do błędów, uwidoczniłoby się to od razu na etapie wizualizacji sygnałów. Błędy takie nie występowały nawet w czasie kilkudniowych (do czterech dni) ciągłych pomiarów testowych z wykorzystaniem opisywanego oprogramowania DAQ¹.

Do działania *Aplikacji Serwerowej* wymagane jest minimum 5 GB pamięci operacyjnej, z czego niemal 2 GB przestrzeni zarezerwowane jest na potrzeby buforów wejścia/wyjścia sterownika *NI-DAQmx* oraz pamięć współdzieloną. W zastosowaniach wykorzystujących do dwóch egzemplarzy ASIC, bez wizualizacji danych oraz z wyłączoną symulacją stanu ASIC wykorzystanie czterordzeniowego procesora pokroju *Intel Core i5-4590* [253] nie przekracza 25 %. W takich warunkach najbardziej intensywnym obliczeniowo procesem jest *Akwizycja z Demultiplikacją*, którego działanie wymaga $\sim 30\%$ czasu pojedynczego rdzenia. Wartość ta nie zależy jednakże od liczby działających ASIC, gdyż zawsze analizowane są dane ze wszystkich linii sygnałowych. Natomiast obsługa wszystkich ośmiu układów naraz, z pełną wizualizacją danych oraz symulacją stanu każdego z nich wymaga komputera z nowoczesnym 8- lub 12-rdzeniowym procesorem oraz 32 GB pamięci operacyjnej.

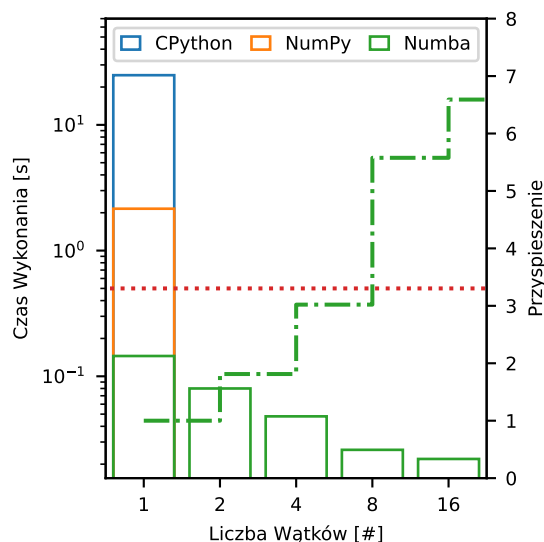
W oprogramowaniu DAQ dla systemu *Neurostim-3* występuje kilka wyzwań związanych z zapewnieniem wymaganej wydajności, z których główne to:

- deserializacja danych,
- efektywne budowanie strumienia bitów sterującego przebiegiem eksperymentu ze stymulacją elektryczną.

Z uwagi na format danych przekazywanych przez kartę pomiarową, należy dokonać ich konwersji do postaci zrozumiałej przez architekturę procesora. Zadanie to jakkolwiek trywialne, gdyż sprowadza się do wykorzystania kilku zagnieżdżonych pętli oraz elementarnych operacji bitowych, może nie być optymalnie wykonywane przez *interpreter CPython* (Listing 3.1). Aby zbadać wydajność deserializacji, przygotowano trzy wersje tej samej funkcji różniące się wykorzystanymi narzędziami. W podstawowej implementacji operacje arytmetyczne przekształcające surowe dane ADC były wykonywane wyłącznie w *interpreterze CPython*. Drugi sposób używał biblioteki *NumPy* [194] (ta przenosi większość operacji na danych do zoptymalizowanego kodu języka *C*). Natomiast trzecie podejście bazowało na bibliotece *Numba*, która dokonuje automatycznej kompilacji funkcji do postaci zoptymalizowanej dla aktualnej platformy sprzętowej. Został zmierzony czas przetwarzania losowych danych odpowiadających akwizycji przez wszystkie 512 kanałów systemu pomiarowego przez 0,5 s przez każdą z tych funkcji. Pomiary wykonano na komputerze wyposażonym w dwa procesory *Intel Xeon E5-2687W v2* [254], o łącznej liczbie 16 fizycznych rdzeni obliczeniowych pod kontrolą systemu

¹W wielu przypadkach pomiary dzielono na krótsze tylko z uwagi na późniejsze łatwiejsze zarządzanie kilkoma mniejszymi plikami.

operacyjnego *Windows Server 2019* (Rys. 4.1). Na ich podstawie widać, że dopiero kompilacja kodu przez *Numba* umożliwiła transformację danych w wymaganym przez system czasie². Implementacja oparta o *CPython* 40-krotnie przekracza dostępny limit, zaś *NumPy* poprawia ten wynik o rząd wielkości. Jednowątkowa wersja deserializacji wykorzystująca *Numba* kończy swoje działanie w $\sim 0,145\text{ s} < 0,5\text{ s}$, co jest w zupełności satysfakcjonującym wynikiem. Jednak można go jeszcze poprawić poprzez zrównoleglenie obliczeń, które jest umożliwiane przez tę bibliotekę. Potrafi ona podzielić zbiór danych między wątki, dzięki czemu każdy z nich pracuje na podstawie swojego podzbioru, a efekty działania każdego z wątków są ze sobą łączone przed zwróceniem ostatecznego wyniku. Podwojenie liczby wątków przyspiesza algorytm o czynnik $\sim 1,8$ do ośmiu wątków włącznie, co można uznać za satysfakcjonujący rezultat. Dalej dostrzegalne jest załamanie tej zależności, co najprawdopodobniej jest dość mocno związane z architekturą wykorzystanego do tego testu komputera oraz przypisywaniem zadań do poszczególnych rdzeni przez system operacyjny³.



Rys. 4.1: Czas deserializacji strumienia danych odpowiadającego akwizycji przez 0,5 s przez trzy różne wersje algorytmu. Budżet czasowy został zaznaczony czerwoną przerywaną linią. W przypadku implementacji *Numba* możliwy jest podział problemu na więcej wątków, dzięki czemu została zebrana informacja o względnym przyspieszeniu operacji dla danej liczby wątków względem operacji jednowątkowej.

Oprogramowanie DAQ dla *Neurostim-3* powinno być w stanie umożliwiać generowanie dowolnie złożonych przebiegów stymulacyjnych, o możliwie wysokiej intensywności rozumianej jako liczba impulsów, które mają zostać wygenerowane przez ASIC w jednostce czasu.

²Budżet czasowy na wykonywanie operacji przez poszczególne etapy potoku przetwarzania jest ściśle powiązany z długością strumienia danych sterujących przygotowywanego przez *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego*. Ten odpowiada działaniu *Neurostim-3* przez 0,5 s i jest to jednostka używana do określenia budżetu czasowego, który dawany jest procesom na odebranie, przetworzenie oraz przesłanie pakietu danych. W przypadku, gdy dany proces nie jest w stanie średnio spełnić tego warunku, będzie dochodziło do utraty danych, a nawet do zerwania komunikacji z *Neurostim-3*, z uwagi na brak lub przepełnienie w buforze danych karty.

³Każdy z użytych na potrzeby tego testu procesorów posiada osiem rdzeni fizycznych. Wymuszając podział na więcej niż osiem wątków, harmonogramowanie zadań w systemie musi przypisać część z nich do drugiego procesora, co wiąże się z kosztowną wymianą danych między jednostkami i ich synchronizacją.

Za tworzenie *Wyjściowego Strumienia Bitów* odpowiedzialny jest proces *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego*. Jego wydajność została sprawdzona za pomocą *Biblioteki Impulsów*. Protokół stymulacji zakładał generowanie standardowych impulsów dwufazowych o zbilansowanym ładunku trwających 250 μ s. Moment rozpoczęcia oraz kanał, na którym miał wystąpić impuls, wybierano pseudolosowo, a w każdej sekundzie testu w ten sposób miało się generować 20 000 tego typu zdarzeń. Odpowiada to hipotetycznemu eksperymentowi wykorzystującemu wszystkie kanały systemu, gdzie każdy z nich generowałby impulsy średnio co ~ 25 ms. Wszelkie programowe optymalizacje budowania *Wyjściowego Strumienia Bitów* zostały wyłączone, po to, aby mieć pewność, że każdy z impulsów był dodawany do niego pojedynczo. Dzięki temu przetestowano system w najmniej korzystnym scenariuszu. Wydajność *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego* została sprawdzona na komputerze z procesorem *Intel Core i5-4590* [253] z czterema rdzeniami obliczeniowymi pod kontrolą systemu operacyjnego *Windows 7* dla czterech ustawień związanych z harmonogramowaniem zadań przez system operacyjny (Rys. 4.2):

Domyślny

Brak podpowiedzi dla systemu na temat możliwych optymalizacji.

Koligacja

Proces został przypisany do pierwszego rdzenia, zaś pozostałe procesy DAQ mogły działać na pozostałych rdzeniach procesora.

Priorytet

Priorytet procesu *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego* został zmieniony na *wysoki*, natomiast wszystkie pozostałe procesy DAQ działały z priorytetem *poniżej normalnego*.

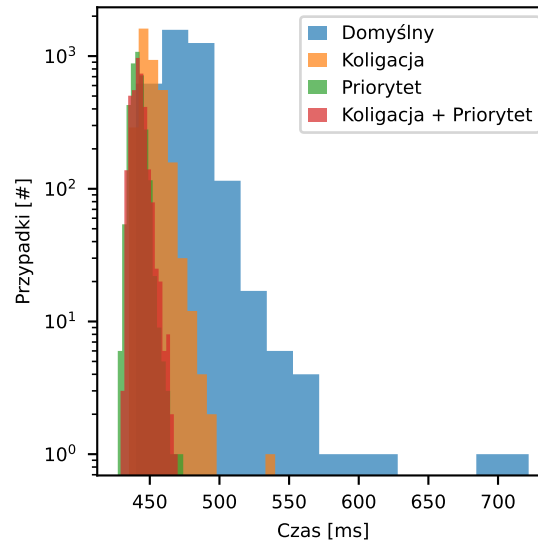
Koligacja + Priorytet

Oba powyższe zastosowane jednocześnie.

Każdy z testów trwał 30 min i za każdym razem wiązało się to z wygenerowaniem przez *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego* 168 GB danych. Pod uwagę brano czas przygotowania każdego 0,5 s pakietu oraz średnie obciążenie rdzenia procesora przez ten proces (Tab. 4.1).

W każdym przypadku oprogramowanie było w stanie nadążyć z produkcją danych na potrzeby *Neurostim-3* i to na komputerze wyposażonym w nie najnowszy procesor. Zgodnie z oczekiwaniami brak wskazówek dla systemu operacyjnego w zakresie obsługi procesów po skutkowało najgorszymi wynikami. W takich warunkach 3% pakietów zostało utworzonych w czasie dłuższym niż wynosi 0,5 s budżet czasowy. Nie stanowiło to jednak zagrożenia dla transmisji, gdyż pakiety są produkowane z wyprzedzeniem na kolejne 4 s działania DAQ. Nie powinno dojść zatem do zagłodzenia procesu *Generacji* w przypadku sporadycznych spadków wydajności. Wydajność *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego* polepsza się po przypisaniu go do konkretnego rdzenia lub nadaniu mu wyższego priorytetu. W porównaniu do ustawień standardowych zmniejsza to średni czas przygotowania pakietu od 5% do 7%, ale przede wszystkim w znacznym stopniu zmniejsza szerokość rozkładów. Jednoczesne przypisanie koligacji i priorytetu badanemu procesowi nie dało zauważalnej poprawy względem sytuacji,

gdy została zastosowana jedynie zmiana priorytetu. Na podstawie powyższych stwierdza się, iż oprogramowanie bez dodatkowych optymalizacji na poziomie systemu operacyjnego zapewnia ciągłą obsługę do 20 000 zdarzeń stymulacyjnych w każdej sekundzie eksperymentu.



Rys. 4.2: Wydajność działania procesu *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego* w teście wysokiego obciążenia zdarzeniami stymulacyjnymi (20 kHz). Pokazane rozkłady zostały uzyskane dla różnych kombinacji parametrów harmonogramowania procesów przez system operacyjny. Pomimo sytuacji, gdy czas tworzenia danych dla *Neurostim-3* przekraczał 0,5s każdy z testów został zaliczony, gdyż proces tworzy je z odpowiednim wyprzedzeniem (buffer pozwala umieścić do 4s danych). Zmiana trybu harmonogramowania procesów przede wszystkim wpływa pozytywnie na powtarzalność otrzymywanych czasów przygotowania strumieni (zmniejsza się szerokość rozkładów). Dodatkowo można liczyć na zysk wydajności do 7%. Zaadaptowane z [85].

Tab. 4.1: Wydajność *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego* w teście wysokiego obciążenia impulsami. Zaadaptowane z [85].

	Opcje harmonogramowania			
	Domyślne	Koligacja	Priorytet	Koligacja + Priorytet
μ_t [ms]	474	450	441	442
σ_t [ms]	15,3	7,5	4,2	4,7
Wykorzystanie rdzenia procesora [%]	97	100	92	100

Wydajność *Wizualizacji* jest stosunkowo trudna do oszacowania, gdyż zależy m.in. od:

- liczby wizualizowanych kanałów oraz długości danych do rysowania,
- parametru decymacji,
- zastosowanej filtracji danych.

Na podstawie licznych przeprowadzonych rejestracji (testowych i rzeczywistych eksperymentów) można stwierdzić, że interaktywna wizualizacja przebiega satysfakcjonująco dla użytkownika nawet podczas akwizycji ze wszystkich 512 kanałów przy wyłączonej zaawansowanej filtracji danych i parametrze decymacji ustawionym na 20. Gdy jednak takie parametry są niewystarczające, nic nie stoi na przeszkodzie, aby uruchomić większą liczbę *Wizualizatorów* (również działających na odrębnych komputerach, dzięki wysyłaniu danych poprzez *Serwer Danych TCP/IP* oraz *UDP/IP*) pokazujących tylko pewne podzbiory danych np. z jednego MEA.

4.1.2 Charakterystyka sprzętu

Weryfikacja działania oraz testy jakości przetwarzania danych przez *Neurostim-3* zostały przeprowadzone wyłącznie z wykorzystaniem funkcjonalności oferowanych przez samo urządzenie. Oznacza to, że wszystkie sygnały, z wyjątkiem eksperymentów biologicznych, w przypadku których dodatkowo posługiwano się *Zewnętrznymi Generatorami Bodźców Czuciowych*, były nie tylko odczytywane, ale też generowane przez ASIC. W pomiarach testowych znaczącą rolę odgrywała możliwość przechwytywania zwrotnego wygenerowanych impulsów prądowych tzw. *Ground Input* (Rys. 3.8). Zgodnie z tą procedurą wygenerowane przebiegi, zamiast trafić na zewnątrz układu do MEA, są kierowane do rezystora łączącego wejście wzmacniacza z uziemieniem. Uzyskany w ten sposób spadek napięcia na rezystorze stanowi napięciowy sygnał testowy i podlega przetwarzaniu. Odczytana amplituda takiego sygnału dana jest Równ. (3.2) (zakładając, że jest to idealny sinus o częstotliwości w paśmie przenoszenia filtru wzmacniacza). Natomiast wykorzystanie opcji *Voltage Follower* usuwa z toru przetwarzania wzmocnienie oraz filtrację sygnałów, skutkiem czego ASIC w minimalnym stopniu zniekształca sygnały analogowe.

Według założeń projektowych *Neurostim-3* oferuje kilka teoretycznych poziomów wzmocnień $K \in \{100, 150, 200, 250, 300, 400, 500\} \frac{V}{V}$ oraz dostosowanie filtracji pasmowoprzepustowej w zakresie <1 Hz do 20 kHz – parametry te zostały poddane weryfikacji. Do testów mających na celu charakteryzację analogowego toru przetwarzania sygnałów przez *Neurostim-3* wykorzystano w sumie trzy egzemplarze ASIC. Każdemu z nich przypisano jedną z etykiet *v3*, *v4_1* albo *v4_2* celem ułatwienia ich identyfikacji:

- *v3*, czyli pochodzący z pierwszej produkcji, zainstalowany na AB pokazanym na Rys. 2.7;
- *v4_1* oraz *v4_2* wyprodukowane w późniejszym okresie, względem *v3* powinny cechować się możliwością ustawienia niższej częstotliwości granicznej filtru górnoprzepustowego $\sim 0,3$ Hz, co może być istotne w badaniach LFP⁴.

AB z ASIC na czas testów umieszczane były w uziemionym metalowym pudełku ekranującym, dzięki czemu ograniczono wpływ tła elektromagnetycznego, które inaczej mogłoby zaburzyć otrzymywane wyniki.

⁴Częstotliwość graniczna filtru jest regulowana wartością rezystancji w sprzężeniu zwrotnym wzmacniacza. Element ten został zaprojektowany jako tranzystor, gdzie dla ASIC z drugiej produkcji została zmniejszona szerokość kanału względem pierwotnego projektu. Spowodowało to zwiększenie rezystancji dla tego samego napięcia bramki i w konsekwencji zmniejszenie częstotliwości granicznej filtru górnoprzepustowego.

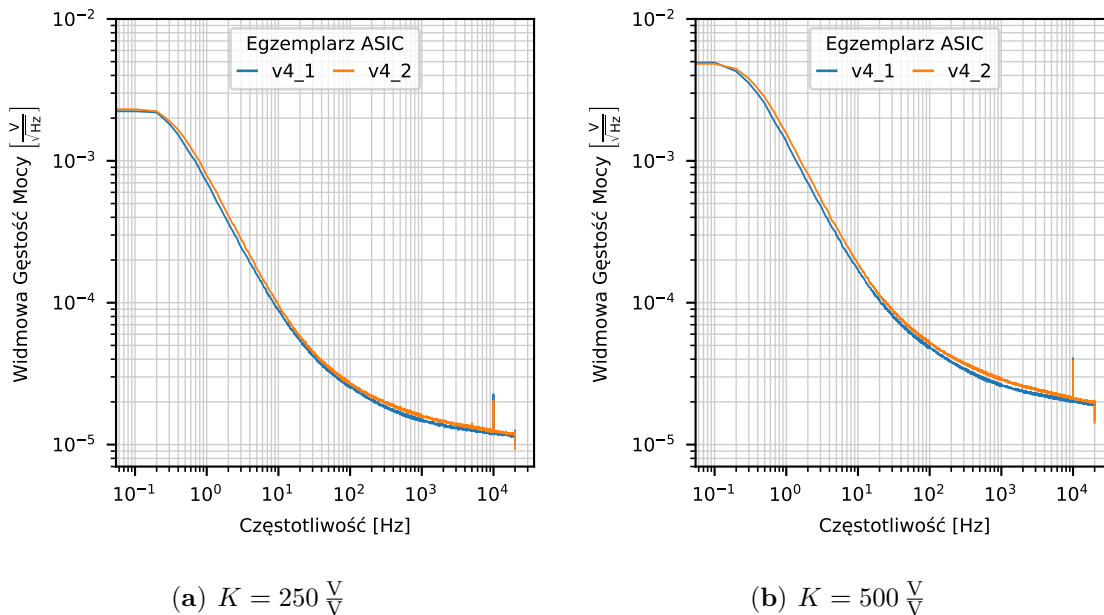
4.1.2.1 Szумы

Sygnały neuronalne z uwagi na ich stosunkowo niską amplitudę od $50\ \mu\text{V}$ dla AP do $10\ \text{mV}$ w przypadku LFP są podatne na szумы oraz zakłócenia. Odpowiedni projekt elektroniki odczytu pozwala ograniczyć te pierwsze, do tego stopnia by przetworzony przez układ sygnał był odróżnialny od szumu. Dla ustalonej wartości wzmacnienia widmowa gęstość mocy (ang. *Power Spectral Density, PSD*) szumu powinna, zgodnie z teorią, być malejącą funkcją częstotliwości [73]. Szумы generowane przez ASIC były mierzone przy wyłączonej stymulacji prądowej w trybie zwrotnego przechwytywania (czyli z uziemionym wejściem wzmacniacza). Wysyłane do sprzętu były wyłącznie puste RTDF, na podstawie których działał jedynie odczyt analogowy. Dzięki temu możliwe było oszacowanie PSD szumów generowanych przez analogowy tor odczytu *Neurostim-3*. Przy danym ustawieniu wartości wzmacnienia włączone były jednocześnie wszystkie kanały a sam pomiar prowadzony był przez 3 h. Następnie dla każdego kanału zostały policzone periodogramy [255] PSD szumu w zakresie częstotliwości od $0,1\ \text{Hz}$ do $20\ \text{kHz}$ wykorzystując do tego celu algorytm Welch [256]. Procedura ta dokonuje estymacji PSD sygnału w przekrywających się ciągłych blokach danych pochodzących z kanału. Finalne oszacowanie PSD następuje poprzez uśrednienie wszystkich policzonych periodogramów dla tego kanału. W porównaniu do tradycyjnej metody, dla której periodogramy generowane są bez przykrywania, tak policzone PSD powinno szybciej dążyć do właściwej zależności (albo osiągnąć porównywalne rezultaty przy krótszym pomiarze). Do obliczeń PSD szumu posłużono się funkcją `welch()` z pakietu obliczeniowego *SciPy* [257]. Każdy periodogram liczony był dla 10 s bloków, a parametr przekrywania ustawiony był na wartość 0,5 – tym sposobem kolejne bloki zawierały 5 s danych z poprzedniego. Na wejściu dla każdego kanału i wzmacnienia sygnału wspomniana funkcja otrzymywała co najmniej tyle próbek, ile odpowiada zbieraniu danych przez nie krócej niż 10 000 s (dla częstotliwości próbkowania $40\ \text{kHz}$ oznacza to minimum 4×10^8 próbek cyfrowych). W efekcie, każda krzywa PSD została policzona na podstawie przynajmniej 2000 periodogramów. Pomiar został przeprowadzony dla dwóch wspomnianych wcześniej ASIC tj. `v4_1` oraz `v4_2`, przy maksymalnym zakresie przenoszenia filtra pasmowo-przepustowego (Rys. 4.3).

Zmierzone wyjściowe PSD szumów (tj. bez korekty wynikającej ze wzmacnienia) wykazuje dość dobrą jednorodność w obrębie ASIC i jest większe dla wyższej wartości wzmacnienia sygnału w kanale. PSD szumu maleje ze wzrostem częstotliwości, a poza pasmem przenoszenia filtra pasmowoprzepustowego podobna do szumu różowego (tj. $1/f$) charakterystyka ulega znacznej dystorsji. Widoczne jest to szczególnie dla niskich częstotliwości, gdzie ze względu na ustawienia, z jakimi były testowane `v4_1` oraz `v4_2` można wnioskować, że częstotliwość graniczna filtra górnoprzepustowego występuje w okolicy $0,3\ \text{Hz}$ (zgodnie z projektem). W prezentowanych danych nie widać wpływu częstotliwości $50\ \text{Hz}$, co świadczy o dobrej separacji elektroniki od warunków zewnętrznych.

W każdym z badanych przypadków obserwuje się nieoczekiwany punktowy skok PSD szumu dokładnie dla częstotliwości $10\ \text{kHz}$ dla niemal wszystkich kanałów. Z uwagi na fakt, że efekt ten występuje dokładnie dla $1/4$ częstotliwości próbkowania danych, przypuszcza się, że piki te wynikają z cyfrowego przetwarzania sygnałów, które odbywa się już po opuszczeniu

sygnału z *Neurostim-3*. Widoczne anomalie w obwiedniach PSD między 10 Hz a 1 kHz są efektem działania 11. kanału w każdym z nich, co może mieć związek z budową wewnętrzną ASIC.



Rys. 4.3: Zakresy PSD szumu wszystkich kanałów dla układów *Neurostim-3* v4_1 oraz v4_2. Linia ciągłą w każdym przypadku pokazano przebieg PSD szumu dla 33. kanału każdego ASIC. Teoretyczny poziom wzmacnienia: $250 \frac{V}{V}$ (a), $500 \frac{V}{V}$ (b). Pomiary dokonano dla maksymalnego pasma przenoszenia sygnałów wejściowych.

Na podstawie otrzymanych charakterystyk PSD dla każdego kanału obliczono całkowite sumy w dwóch przedziałach częstotliwości:

- 0,5 Hz do 1000 Hz,
- 0,3 kHz do 10 kHz,

zgodnie ze wzorem [258]⁵:

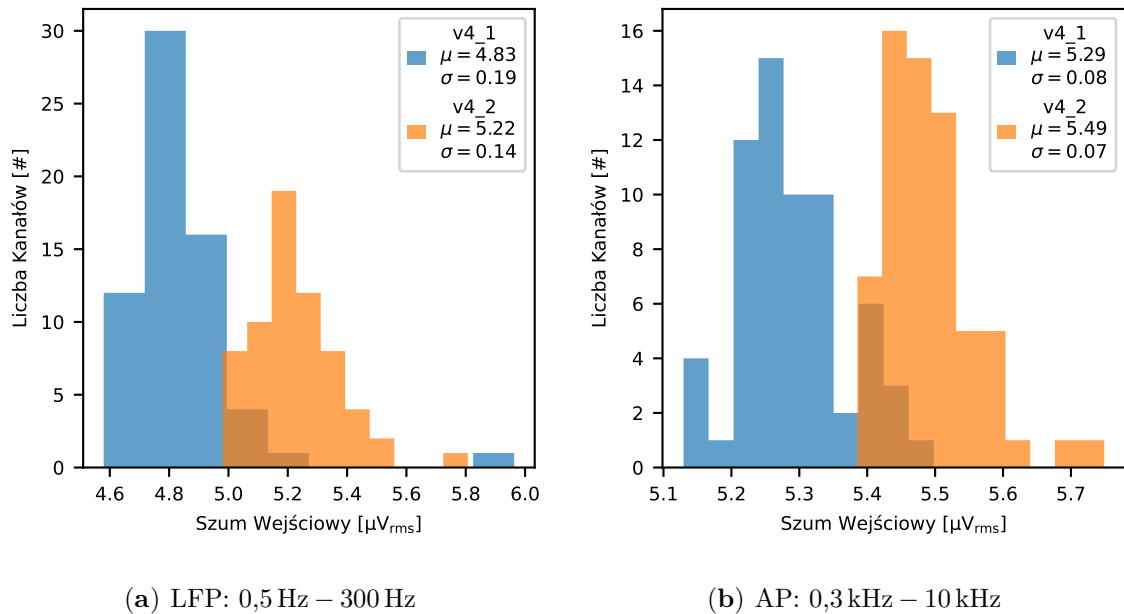
$$v_{in,rms} = \frac{\sqrt{\int_{f_1}^{f_2} PSD^2(f) df}}{K}, \quad (4.1)$$

celem określenia jakości zaprojektowanej elektroniki w pasmach pokrywających odpowiednio zakres LFP oraz AP⁶. Rozkłady parametrów szumów zostały ujęte na Rys. 4.4. Otrzymane wartości są zbliżone do siebie między egzemplarzami ASIC. Średnio większe szумы wejściowe odnotowano dla AP: $5,29 \mu V_{RMS}$ (v4_1) i $5,49 \mu V_{RMS}$ (v4_2), podczas gdy dla LFP było to $4,83 \mu V_{RMS}$ (v4_1) i $5,22 \mu V_{RMS}$ (v4_2). W porównaniu z systemem *Neuropixels*, dla identycznie zdefiniowanych pasm, są to wartości niższe (odpowiednio $6,36 \mu V_{RMS}$ oraz $10,32 \mu V_{RMS}$ [259]). Trzeba jednak zaznaczyć, że w pomiarach *Neurostim-3* zmierzono szумы własne elektroniki, podczas gdy dla *Neuropixels* znane są te wartości z uwzględnieniem dodatkowego szumu elektrochemicznego, który pogarsza charakterystykę. Uzyskane w tym pomiarze wartości są odpowiednie do rejestracji sygnałów zewnątrzkomórkowych, gdyż obserwowany w tkankach szum tła wynikający z ich aktywności biologicznej jest rzędu $\sim 10 \mu V_{RMS}$ [260].

⁵Wzmacnienie K w pasmie przenoszenia filtra jest stałe.

⁶Przyjęte na potrzeby tych rozważań wartości podyktowane są chęcią porównania parametrów szumów między *Neurostim-3* a *Neuropixels* [259].

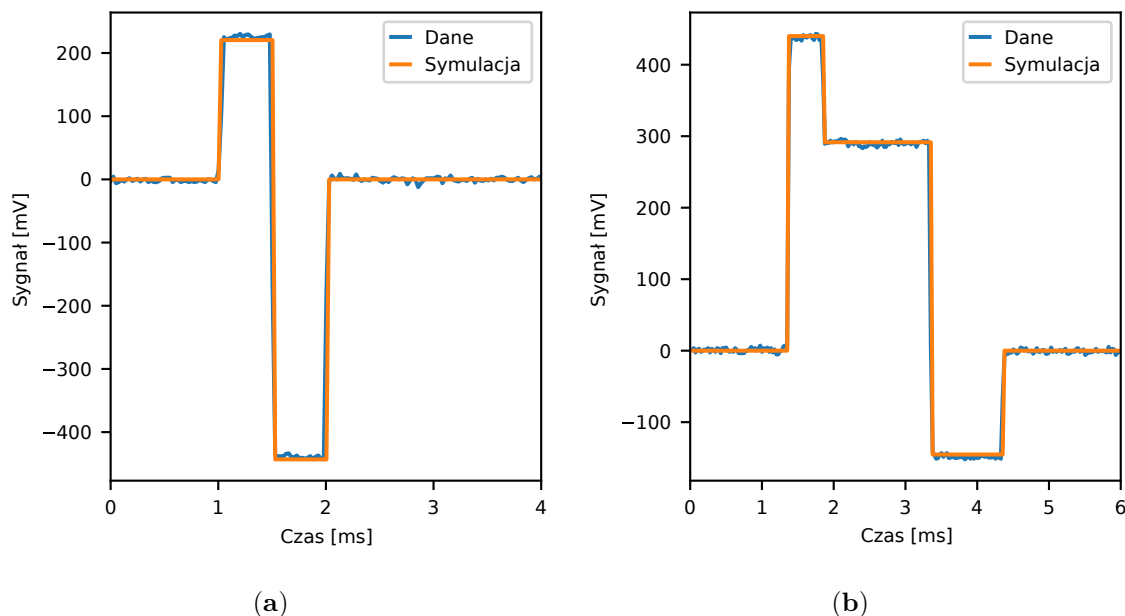
Szum ten zależy również od gęstości przestrzennej i powierzchni elektrod MEA wykorzystywanych w pomiarze [57]. Na tej podstawie jakość odczytywanych sygnałów przez system Neurostim-3, w przeciwieństwie do rozwiązań aktywnych takich jak np. *Neuropixels*, będzie w pewnym stopniu zmienna i zależna od doboru sond w eksperymencie.



Rys. 4.4: Rozkłady parametrów szumów wejściowych w pasmie LFP (a) oraz AP (b) dla układów Neurostim-3 z drugiej produkcji v4_1 oraz v4_2.

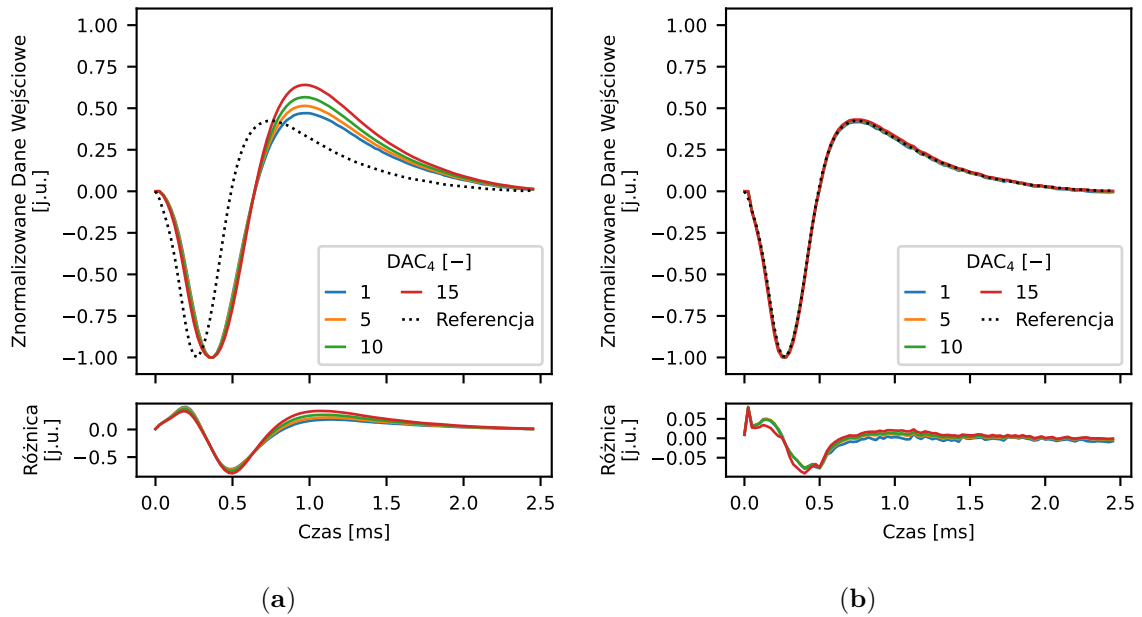
4.1.2.2 Stymulacja prądowa

Neurostim-3 jako urządzenie, o którym w pewnym sensie można myśleć jako o wielokanałowym generatorze sygnałów prądowych o dowolnym przebiegu, powinno wytwarzać te sygnały w sposób przewidywalny. Impulsy powinny być obserwowane na kanale i w chwili, która jest zgodna z definicją protokołu stymulacji przygotowanego przez użytkownika. Aby sprawdzić poprawność zachowania, ASIC v3 generował impulsy o dowolnym kształcie i długości oraz dokonywał ich odczytu w trybie przechwytywania zwrotnego. Jednocześnie uruchomiony był *Symulator Neurostim-3*, który analizował *Wyjściowe Strumienie Bitów* przede wszystkim pod kątem sygnałów prądowych, jakie powinny być wytworzone przez każdy z kanałów. Porównanie otrzymanych w ten sposób sygnałów z ich symulacją zostało przedstawione na Rys. 4.5.



Rys. 4.5: Przykładowe przebiegi wygenerowane przez układy stymulujące zintegrowane z *Neurostim-3*, oraz ich programowa symulacja na podstawie analizy *Wyjściowego Strumienia Bitów*. Poziom bazowy kanału został odjęty z danych dla lepszej widoczności oraz bezpośredniego porównania z symulacją. Zaadaptowane z [85].

Zgodnie z otrzymanymi danymi stwierdza się, że generowanie impulsów prądowych działa zgodnie z oczekiwaniami dając rezultaty, które pokrywają się z symulacją działania ASIC. Zdarzenia obserwowane są na właściwych kanałach w odpowiednim momencie oraz cechują się pożądanym kształtem. Można jednak na podstawie tych wyników dojść do wniosku, że zaprezentowane impulsy mogły zostać w jakiś sposób zoptymalizowane bądź też zaprogramowane wewnętrznie w ASIC. Aby pokazać, że *Neurostim-3* jest zdolny do generowania prawdziwie dowolnych przebiegów o złożonej charakterystyce, za jego pomocą był generowany sygnał, który przypomina zewnątrzkomórkowe AP. Referencyjny przebieg otrzymano poprzez filtrację górno-przepustową zarejestrowanej wcześniej aktywności mózgu i dokonano ekstrakcji 2,5 ms danych, które zidentyfikowano jako AP. Następnie przebieg ten został przybliżony za pomocą 255 dyskretnych poziomów dostosowując wartości DAC_7 oraz I_{pol} (Tab. 3.1) w RTDF w wybranym losowo kanale. DAC_4 używany był do skalowania stymulacji w taki sposób, aby odczytywana amplituda impulsu po teoretycznym (tj. zgodnym z założeniami projektowymi) wzmacnieniu o czynnik $250 \frac{V}{V}$ przyjęła wartość między 0,066 V a 1 V, gdy włączony jest odczyt w trybie przechwytywania zwrotnego ($DAC_{10} = 48$, Równ. (3.2)). Impuls o danej amplitudzie powtarzano 1000-krotnie co 1 s. Dla porównania wpływu filtracji dolnoprzepustowej pomiar przeprowadzono dwukrotnie na ASIC v3 przy minimalnym oraz maksymalnym położeniu częstotliwości granicznej. Otrzymane sygnały dla tych samych ustawień uśredniono i znormalizowano względem ich ekstremum. Dzięki temu ich kształty mogą być porównywane ze sobą bezpośrednio oraz z sygnałem referencyjnym (Rys. 4.6).



Rys. 4.6: Znormalizowane odpowiedzi analogowego toru przetwarzania danych na stymulację za pomocą impulsu przypominającego kształtem złożony charakter zewnątrzkomórkowego AP. Wzmocnienie sygnału wejściowego wynosiło $250 \frac{\text{V}}{\text{V}}$. Amplituda impulsów była sterowana za pomocą $\text{DAC}_4 \in \{1, 5, 10, 15\}$, co przekładało się na amplitudy widziane przez ADC między 66 mV a 1 V. Częstotliwość graniczna filtra dolnoprzepustowego została skonfigurowana na minimalną (a) oraz maksymalną (b) dostępną wartość. Dolne części każdego z wykresów obrazują różnice między odczytanymi znormalizowanymi przebiegami a *Referencją*. Zaadaptowane z [85].

Porównanie otrzymanych w ten sposób krzywych z sygnałem referencyjnym (czarna linia przerywana) pokazuje, że różnice obserwowanych kształtów są bardzo niewielkie, gdy pasmo przenoszenia jest maksymalne (Rys. 4.6b), co potwierdza gotowość do generowania złożonych przebiegów niezależnie od ich kształtów oraz amplitudy. Natomiast przy maksymalnej filtracji dolnoprzepustowej, która wg. założeń projektowych powinna cechować się częstotliwością graniczną w okolicach 1 kHz otrzymane sygnały zostały odpowiednio zniekształcone (Rys. 4.6a), co jest spodziewanym wynikiem. Widoczne jest to szczególnie w postaci opóźnienia ekstremum względem sygnału referencyjnego. Ponadto im wyższa amplituda sygnału wejściowego, sterowana za pomocą DAC_4 , tym bardziej kształt dodatniej fazy znormalizowanego impulsu odbiega od referencyjnego.

Zaprezentowane przykłady stymulacji zdają się potwierdzać gotowość układu *Neurostim-3* do generowania dowolnie złożonych przebiegów. Dzięki temu planowanie eksperymentu nie musi ograniczać się jedynie do impulsów prostokątnych. Pod tym względem możliwości eksperymentalne od strony technicznej są ograniczone jedynie przez maksymalną amplitudę prądu, która może zostać wygenerowana przez kanał i wynosząca $15 \mu\text{A}$ ⁷.

⁷W eksperymentach biologicznych ważną rolę odgrywa również gęstość prądu stymulacyjnego [91]. Dobierając MEA o odpowiednio zwartej dystrybucji elektrod i generując impulsy jednocześnie przez grupę przylegających do siebie elektrod (tzw. klaster), zwiększa się gęstość prądu, a przez to możliwa jest poprawa wydajności stymulacji elektrycznej rozumiana jako prawdopodobieństwo wywołania aktywności neuronalnej w odpowiedzi na wygenerowany bodziec.

4.1.2.3 Filtracja sygnałów

Zdolność urządzenia elektronicznego do rejestracji sygnałów o maksymalnej możliwej dynamice amplitudowej oraz częstotliwościowej jest jednym z najważniejszych czynników warunkujących przydatność danego rozwiązania. W przypadku badań elektrofizjologicznych ważne jest przenoszenie zarówno wysokoamplitudowych, ale wolnozmiennych LFP, jak i AP, które rejestrowane zewnątrzkomórkowo, cechują się o wiele niższymi amplitudami, przy tym ich struktura częstotliwościowa jest złożona.

Pomiary pasma przenoszenia sygnałów przeprowadzono wykorzystując do tego generator *Sygnałów Prostokątnych* zaimplementowany w DAQ. Z jego pomocą *Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego* tworzył ciągły dwufazowy symetryczny sygnał o częstotliwości 0,1 Hz i amplitudzie prądu 92 nA. Kolejne kanały ASIC testowano osobno z wykorzystaniem przechwytywania zwrotnego przez 5000 s każdy. Dzięki czemu do analizy były do dyspozycji dane pochodzące z 500 okresów. Testy przeprowadzono dla trzech teoretycznych ustawień wzmocnienia tj. $100 \frac{V}{V}$, $250 \frac{V}{V}$ oraz $500 \frac{V}{V}$.

Dane zebrano dla v3 oraz v4_1. W pierwszym przypadku akwizycja przebiegała z ustawieniami filtracji przy minimalnych dostępnych ustawieniach wartości częstotliwości granicznych. Natomiast zachowanie v4_1 zmierzono przy maksymalnym możliwym paśmie przenoszenia filtru pasmowoprzepustowego. Aby uzyskane w ten sposób wyniki dla filtru dolnoprzepustowego miały sens, pomiar tego układu przeprowadzono z wykorzystaniem trybu próbkowania o wysokiej częstotliwości 1 MHz.

Z danych, które zostały zarejestrowane w każdym kanale, można odzyskać informacje na temat parametrów pracy toru analogowego – w szczególności wartości częstotliwości granicznych filtru. Zaimplementowany w *Neurostim-3* filtr pasmowoprzepustowy jest filtrem drugiego rzędu, dla którego funkcja przenoszenia w dziedzinie transformaty Laplace'a [261] przedstawia się następująco:

$$K(s) = K_0 \frac{sT_H}{(1 + sT_H)(1 + sT_L)}, \quad (4.2)$$

gdzie T_H oraz T_L są to stałe czasowe charakteryzujące odpowiednio część górno- oraz dolnoprzepustową filtru, zaś K_0 odpowiada za wzmocnienie. Aplikowany sygnał wejściowy, którym jest ciągłym symetrycznym prostokątem o częstotliwości 0,1 Hz z dobrym przybliżeniem można zastąpić funkcją schodkową Heaviside'a $\pm H(t)$, dla której reprezentacja w dziedzinie transformaty Laplace'a dana jest przez [262]:

$$\gamma(t) = \pm H(t), \quad (4.3)$$

$$\mathcal{L}\{\gamma(t)\} = \pm \frac{1}{s}. \quad (4.4)$$

Mając do dyspozycji Równ. (4.2) oraz Równ. (4.4) odpowiedź filtru na sygnał wejściowy zapisuje się jako [261]:

$$Y(s) = \gamma(s) K(s) = \pm \frac{1}{s} \frac{sK_0T_H}{(1 + sT_H)(1 + sT_L)} = \pm \frac{K_0}{T_L} \times \frac{1}{\left(\frac{1}{T_H} + s\right)\left(\frac{1}{T_L} + s\right)}, \quad (4.5)$$

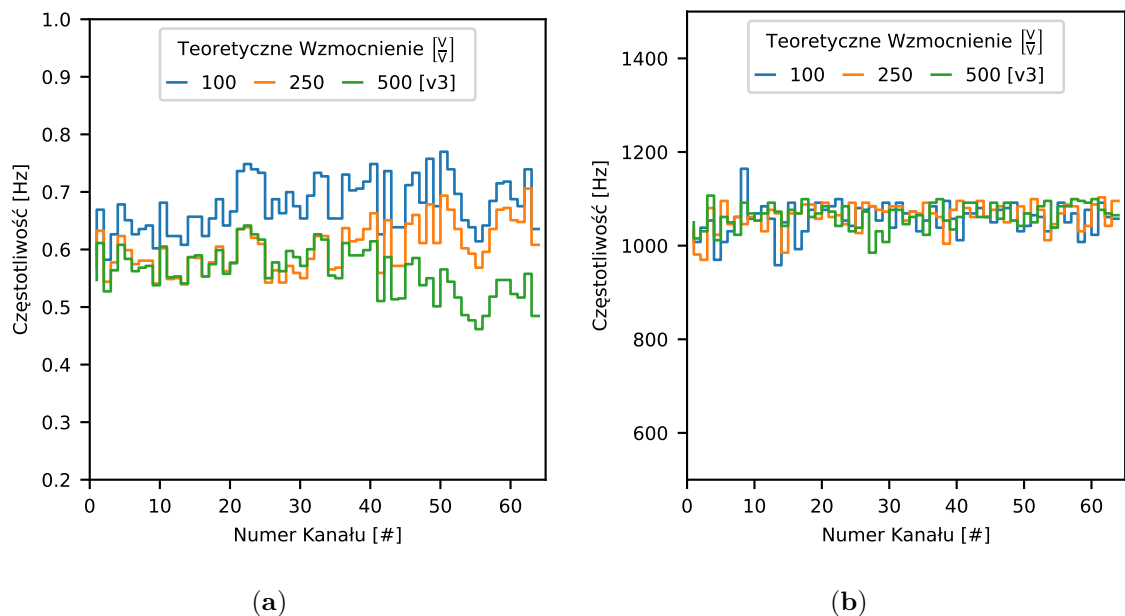
co po zastosowaniu odwrotnej transformaty Laplace'a, w dziedzinie czasu wyraża się poprzez liniową kombinację dwóch funkcji:

$$Y(t) = \pm \frac{K_0 T_H e^{-\frac{t}{T_L}}}{T_L - T_H} \mp \frac{K_0 T_H e^{-\frac{t}{T_H}}}{T_L - T_H}. \quad (4.6)$$

Odpowiedź toru analogowego na wejściowe sygnały uśredniano i obliczano wartość bezwzględną. Dzięki temu Równ. (4.6) ulega uproszczeniu do:

$$Y(t) = \frac{K_0 T_H}{T_L - T_H} \left(e^{-\frac{t}{T_L}} - e^{-\frac{t}{T_H}} \right) \quad (4.7)$$

i w takiej formie zostało wykorzystane na potrzeby procedury dopasowującej parametry krzywej T_H , T_L do uśrednionych danych. Na potrzeby tych obliczeń wykorzystano możliwości biblioteki *lmfit* [263], a wyniki zostały zaprezentowane na Rys. 4.7 oraz Rys. 4.8 odpowiednio dla układu v3 oraz v4_1. W przypadku tego pierwszego ASIC częstotliwość graniczna filtru górnoprzepustowego wynosi od 0,5 Hz do 0,7 Hz (Rys. 4.7a) w zależności od ustawionego wzmocnienia i kanału. Dodatkowo można zauważyć, że charakterystyka przenoszenia tego filtru jest kombinacją liniową składowej niezależnej oraz zależnej od wzmocnienia. Natomiast filtr dolnoprzepustowy wydaje się nie mieć podobnej zależności od wzmocnienia i średnio najniższa możliwa częstotliwość graniczna wynosi ~ 1050 Hz (Rys. 4.7b). Widoczne rozbieżności między kanałami wynikają przede wszystkim z nieidealności technologii produkcji (ang. *mismatch*).



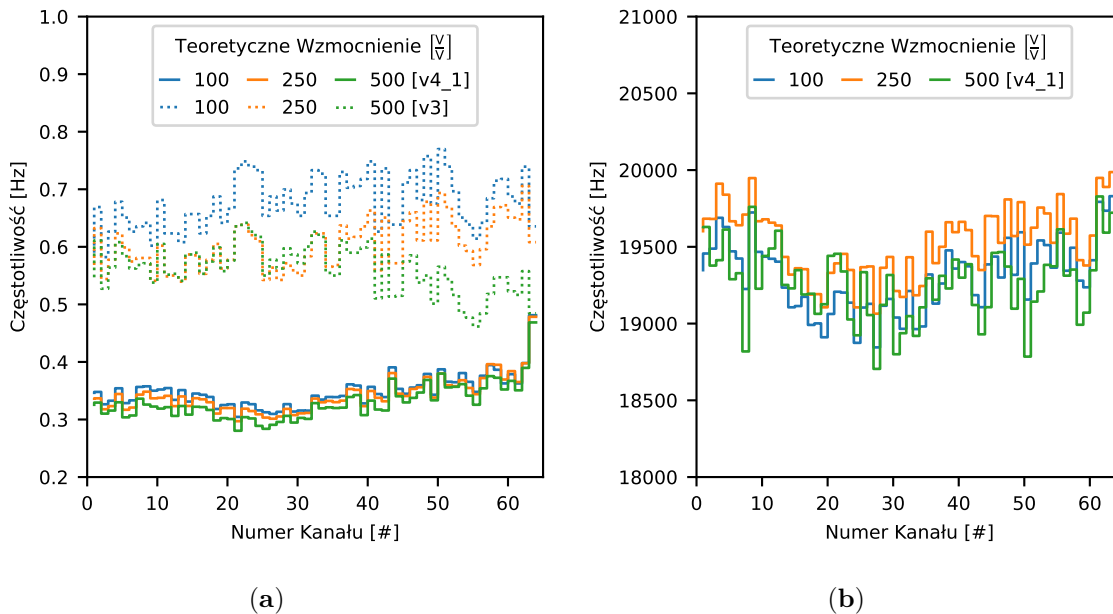
Rys. 4.7: Minimalne zmierzone częstotliwości graniczne filtru górnoprzepustowego (a) i dolnoprzepustowego (b) dla różnych parametrów wzmocnienia sygnału wejściowego na przykładzie układu v3. Zaadaptowane z [85].

ASIC v4_1, który pochodzi z drugiej produkcji cechuje się natomiast dość znaczącym obniżeniem częstotliwości granicznej filtru górnoprzepustowego w porównaniu z v3 do poziomu

$\sim 0,35$ Hz (Rys. 4.8a). Biorąc pod uwagę drobne zmiany w projekcie układu, które w zamierzeniu miały poszerzyć pasmo przenoszenia sygnałów, należy uznać, że się to udało. W przypadku ASIC v4_1 nie uwidacznia się również zależność filtracji od przyjętego wzmocnienia.

Nowe możliwości uzyskane dzięki próbkowaniu o wysokiej częstotliwości pozwoliły otrzymać pełną informację o maksymalnej częstotliwości granicznej filtra dolnoprzepustowego⁸. Na tej podstawie można stwierdzić, że wartość ta wynosi od 19 kHz do 20 kHz (Rys. 4.8b).

Podsumowując układ *Neurostim-3* pod względem zakresu częstotliwości przenoszonych sygnałów nadaje się zarówno do pomiarów AP, jak i LFP (ze wskazaniem na ASIC z nowej produkcji, gdy w eksperymencie biologicznym ważna jest przede wszystkim składowa LFP).



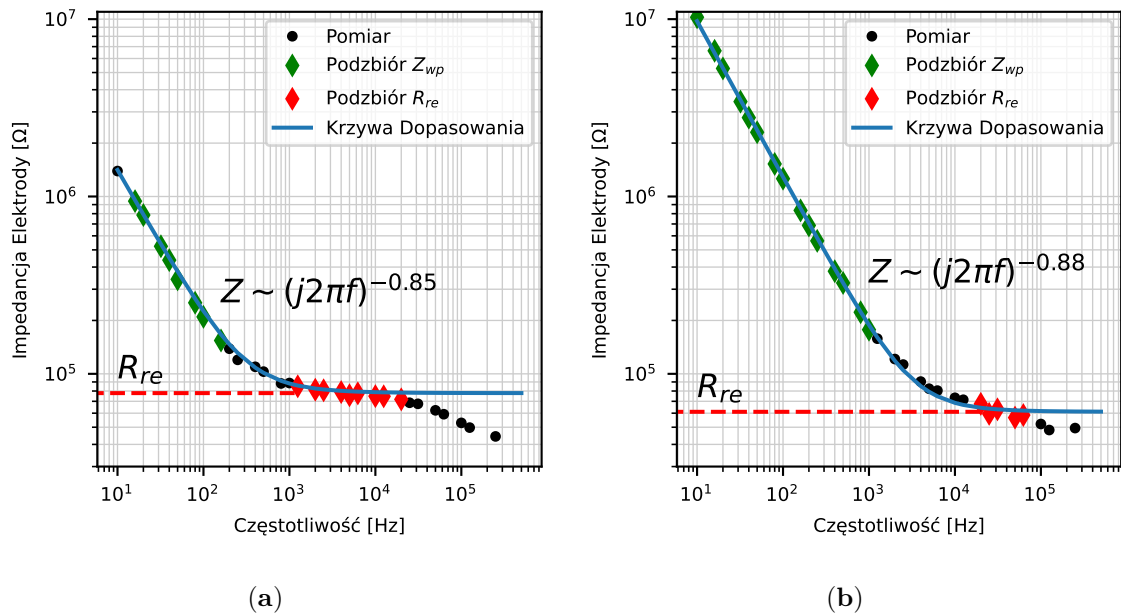
Rys. 4.8: (a) Porównanie charakterystyki filtra górnoprzepustowego dla układu v4_1 oraz v3 (odpowiednio linia pełna i przerywana). (b) Maksymalna częstotliwość graniczna filtra dolnoprzepustowego zmierzona dzięki użyciu pomiaru w trybie próbkowania o częstotliwości 1 MHz.

4.1.2.4 Pomiar impedancji elektrod

Tryb próbkowania o wysokiej częstotliwości może być przydatny również do celów charakteryzacji impedancji elektrod MEA w roztworze soli fizjologicznej w szerokim zakresie częstotliwości. Pomiar tego typu wykonano dla MEA *NeuroNexus A4x8* [264], której elektrody zostały zmodyfikowane poprzez elektrodepozycję złota, w celu zmniejszenia impedancji za pomocą urządzenia *NanoZ* [265]. ASIC działał w trybie wtórnika napięcia (*Voltage Follower* – wyłączona filtracja i wzmocnienie), po to, aby odczytywane wartości nie były zniekształcane oraz aby umożliwić rejestrację dla niskich i wysokich częstotliwości w jednym pomiarze, przy jednakowych ustawieniach. Oprogramowanie DAQ dla kilku wybranych kanałów generowało po kolei ciągle sygnały prostokątne o częstotliwościach między 10 Hz a 250 kHz o amplitudzie prądu wyjściowego 5 nA. Po zakończeniu akwizycji dane były analizowane pod kątem

⁸Przy próbkowaniu tradycyjnym tj. 40 kHz występowały znaczne trudności w dopasowaniu parametrów krzywych i maksymalne raportowane częstotliwości oscylowały wokół 14 kHz.

głównych składowych widma FFT, których wartości były dzielone przez amplitudę prądu stymulacyjnego. W ten sposób otrzymano krzywe impedancji $Z(f)$. Dla nich starano się dopasować matematyczny model impedancji, by odczytać parametr β oraz rezystancję rozproszoną elektrolitu R_{re} (Rys. 1.10). Przykładowe wyniki tych pomiarów dla dwóch elektrod zostały pokazane na Rys. 4.9.



Rys. 4.9: Krzywe impedancji dwóch elektrod MEA zmierzone za pomocą systemu *Neurostim-3* w trybie próbkowania wysokiej częstotliwości. Dopasowanie modelu impedancji było możliwe jednak tylko w pewnym zakresie częstotliwości, z uwagi na to, że w każdym przypadku obserwowane jest dwukrotne załamanie charakterystyki, czego nie da się wytłumaczyć za pomocą zastosowanego przybliżenia.

Z uwagi na zaobserwowane w wynikach wielokrotne załamanie charakterystyki $Z(f)$, którego nie przewiduje prosty model impedancji (Rys. 1.10), starano się odnaleźć najlepsze możliwe dopasowanie. W zaprezentowanych przypadkach udało się to wykonać w szerokim zakresie częstotliwości sygnału dla dwóch elektrod. Wytypowane zostały punkty pomiarowe odpowiadające dominującemu wpływowi elementu pojemnościowego Z_{wp} oraz rozproszonej rezystancji elektrolitu R_{re} . Na tej podstawie zostały wygenerowane krzywe dopasowania – z dobrym przybliżeniem pokrywają one zakres częstotliwości od 10 Hz do 20 kHz. Otrzymane dla nich współczynniki $\beta \in \{0,85; 0,88\}$ zawierają się w zakresie, który jest zgodny z doniesieniami raportowanymi przez literaturę [79].

4.1.2.5 Liniowość i jednorodność wzmocnienia

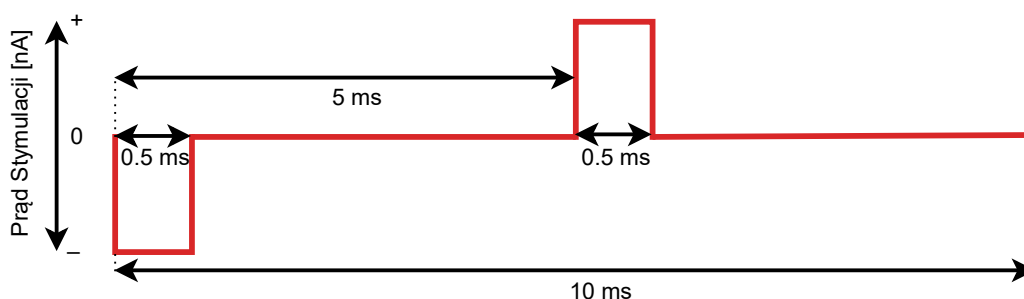
Liniowość odpowiedzi na wejściowy sygnał w szerokim zakresie amplitud i jednorodność tego zachowania między kanałami ma bezpośredni wpływ na jakość zebranych danych biologicznych. Taki sam sygnał wejściowy powinien skutkować statystycznie powtarzalną odpowiedzią układu analogowego.

Charakterystyka toru przetwarzania sygnałów analogowych układu *Neurostim-3* została sprawdzona na podstawie odpowiedzi na specjalnie przygotowany sygnał prostokątny o zmiennej amplitudzie prądu. ASIC został skonfigurowany w taki sposób, aby pasmo przenoszenia filtru pasmowoprzepustowego było jak najszersze. Kanały ASIC scharakteryzowano dla wszystkich możliwych ustawień wzmocnienia K , w taki sposób, aby maksymalna amplituda napięcia po wzmocnieniu nie przekraczała 1 V. Uzyskano to poprzez utrzymywanie iloczynu DAC_{10} z K na stałym poziomie równym 12 000 (Tab. 4.2).

Tab. 4.2: Pary parametrów teoretycznego wzmocnienia K oraz DAC_{10} używane w pomiarach charakteryzujących analogową odpowiedź *Neurostim-3*.

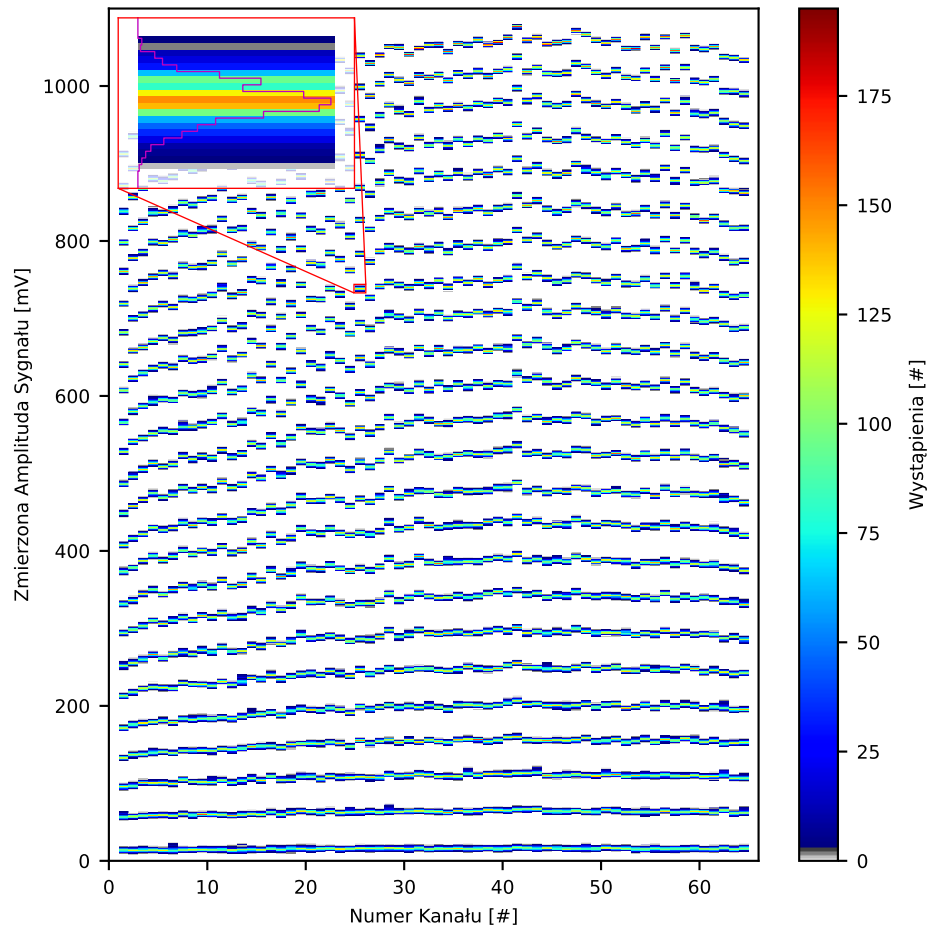
K [V/V]	100	150	200	250	300	400	500
DAC_{10}	120	80	60	48	40	30	24

Protokół stymulacji w trybie przechwytywania zwrotnego zakładał stymulowanie kolejnych kanałów ASIC za pomocą coraz większych amplitud prądu. Ramki RTDF były budowane w taki sposób, że $\text{DAC}_4 = 15$, natomiast DAC_7 przyjmował wartości z zakresu od 2 do 127 z krokiem równym 5. Dzięki temu na pojedynczą serię pomiarową składało się 26 amplitud. Pojedyncze zdarzenie stymulacyjne trwało 10 ms i zbudowane było z dwóch sygnałów prostokątnych takich, jak zostało to przedstawione na Rys. 4.10. Każde takie zdarzenie dla każdego kanału, amplitudy i wzmocnienia powtarzane było 1000-krotnie. W danym momencie stymulowany był pojedynczy kanał. We wszystkich tego typu testach brał udział układ v3.



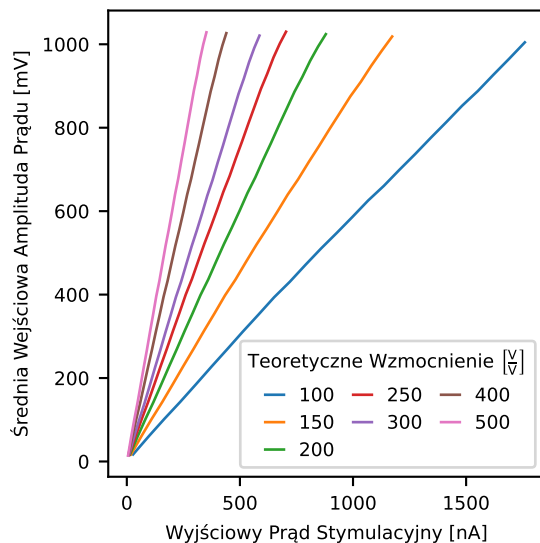
Rys. 4.10: Pojedynczy okres sygnału stymulacyjnego wykorzystywanego do celu charakteryzacji analogowej odpowiedzi *Neurostim-3*. Obie fazy prądu są jednakowej amplitudy, która wynika z kombinacji wartości DAC_{10} , DAC_7 oraz DAC_4 . Zaadaptowane z [85].

Dane zebrane na Rys. 4.11 przedstawiają histogram odpowiedzi każdego z kanałów ASIC na stymulację prądową od 11 nA do 649 nA z krokiem 28 nA dla teoretycznego wzmocnienia $K = 250 \frac{\text{V}}{\text{V}}$. Typowa szerokość rozkładu odpowiedzi wynosi 10 mV. Warto jednak zaznaczyć, że dla amplitud prądu przekraczających 600 nA (co odpowiada amplitudzie napięcia po wzmocnieniu ~ 825 mV) rozkłady stają się coraz węższe z uwagi na wysycanie się wzmacniacza. Można również zauważyć, że skrajne kanały ASIC zachowują się nieco inaczej niż kanały centralne i cechują się niższym wzmocnieniem.



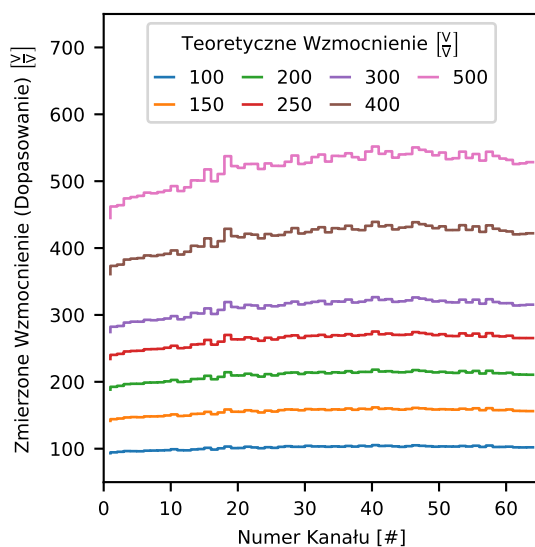
Rys. 4.11: Zmierzony rozkład amplitud sygnału odczytanego przez *Neurostim-3* ze wzmocnieniem $K = 250 \frac{\text{V}}{\text{V}}$ w odpowiedzi na impulsy prądowe o amplitudach od 11 nA do 649 nA z krokiem 28 nA. Każdy impuls powtarzany był 1000 razy dla wszystkich 64 kanałów ASIC. W lewym górnym rogu pokazany został powiększony histogram dla przykładowego kanału i amplitudy wejściowej. Zaadaptowane z [85].

Z rozkładów takich jak na Rys. 4.11 obliczono wartości średniej zarejestrowanej amplitudy dla każdego kanału i wzmocnienia. Otrzymane zależności zarejestrowanej amplitudy sygnału w funkcji prądu stymulacji są liniowe w szerokim zakresie niezależnie parametru wzmocnienia. Przykładowa charakterystyka dla jednego z kanałów została pokazana na Rys. 4.12.



Rys. 4.12: Średnia odczytana amplituda prądu przez przykładowy kanał w funkcji prądu stymulacyjnego dla różnych ustawień wzmocnienia. Zaadaptowane z [85].

Do tak otrzymanych krzywych dla wszystkich kanałów dopasowano proste i na tej podstawie dokonano oszacowania realnego wzmocnienia w każdym z kanałów ASIC na podstawie ich współczynnika nachylenia (Rys. 4.13). Przy danym ustawieniu parametru K w ASIC, właściwe wzmocnienie jest systematycznie niższe dla początkowych kanałów i osiąga maksimum w okolicy 50. kanału. Podobnie jak w przypadku filtra górnoprzepustowego dla tego egzemplarza ASIC (Rys. 4.7) obserwowana zależność jest złożeniem dwóch funkcji. Kształt krzywych jest zachowany dla wszystkich wzmocnień, zmianie ulega jedynie ich skala. Nie jest to zachowanie optymalne, gdyż najbardziej pożądana byłaby jednorodność wzmocnień między kanałami dla danego ustawienia (w takim przypadku otrzymane krzywe powinny być funkcjami stałymi).



Rys. 4.13: Zmierzona wartość wzmocnienia dla wszystkich kanałów ASIC na podstawie zależności między średnią odpowiedzią a amplitudą wymuszenia. Zaadaptowane z [85].

4.1.3 Eksperymenty biologiczne *in vivo*

System *Neurostim-3* był użyty w serii eksperymentów biologicznych badających aktywność w układzie czuciowym (dotykowym) a w szczególności połączenia kory czuciowej i odpowiednich jąder wzgórza. Wszystkie badania z udziałem zwierząt zostały przeprowadzone zgodnie z wytycznymi zawartymi w dyrektywie 2010/63/EU [104] i zatwierdzonymi przez *International Commission on Ethical Guidelines for the Use of Animals in Research* w Warszawie (na podstawie protokołu 794/2018 zaakceptowanego 5.12.2018 r.). Zwierzęta były poddawane znieczuleniu ogólnemu, w którego trakcie ich stan był monitorowany, a czynności życiowe podtrzymywane. Głowa gryzoni była unieruchamiana w aparacie stereotaktycznym, a w czaszce wykonywano otwory, które umożliwiały wprowadzenie do mózgu sond podłączonych do gniazd znajdujących się na AB zamocowanych na mikromanipulatorach. Podczas eksperymentu rejestrowano sygnały spontaniczne oraz odpowiedzi neuronalne wywoływane we wzgórzu i w korze przez naturalne bodźce dotykowe, oraz stymulacje elektryczne.

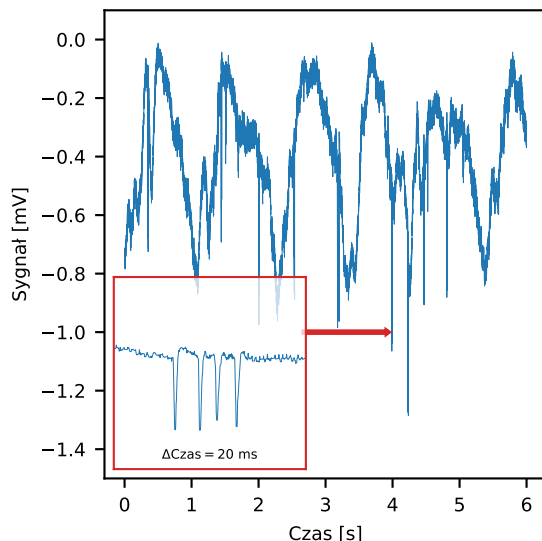
Do eksperymentów wykorzystano komercyjnie dostępne MEA firmy *NeuroNexus* [266, 267] oraz sondy opracowane w zespole prof. Sotirisa Masmanidisa (Department of Neurobiology and California Nanosystems Institute) [56] w różnych dostępnych konfiguracjach [55]. Przed użyciem każda z matryc została zmodyfikowana poprzez elektrodopozycję złota na powierzchni elektrod celem zmniejszenia ich impedancji [268] z wykorzystaniem urządzenia *NanoZ* [265]. W zaprezentowanych niżej pomiarach użyto *Neurostim-3* ASIC, które pochodziły z pierwszej oraz drugiej produkcji, ale były to egzemplarze inne niż te, dla których wyniki zostały zaprezentowane w poprzedniej podsekcji. Urządzenia były konfigurowane w taki sposób, aby przenosić możliwie najszerszy zakres sygnałów biologicznych – w szczególności oznacza to, że częstotliwość graniczna filtra górnoprzepustowego była ustawiana na minimalną wartość celem rejestracji wolnozmiennych sygnałów LFP.

Odczytane przez *Neurostim-3* dane były obserwowane w trakcie trwania pomiaru dzięki wbudowanemu w DAQ narzędziu do wizualizacji, co pozwoliło na bieżącą weryfikację lokalizacji elektrod, jakości rejestrowanego sygnału oraz dokonywanie wstępnej selekcji przypadków do późniejszej analizy. Wszelkie raportowane amplitudy sygnałów są wartościami przed ich wzmocnieniem przez analogowy tor przetwarzania *Neurostim-3*.

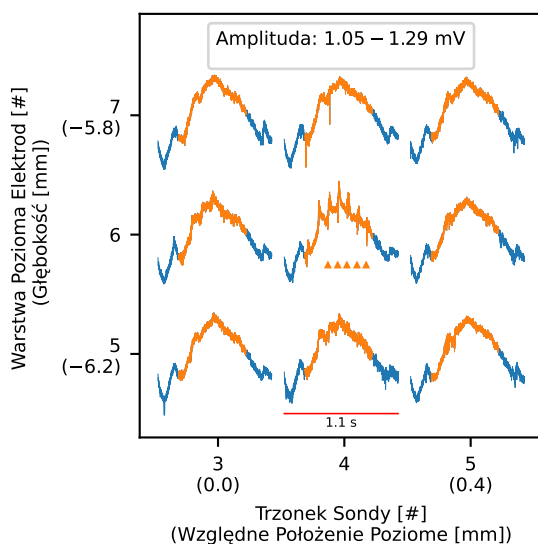
4.1.3.1 Aktywność spontaniczna

Pierwszym testem, który jest w stanie potwierdzić poprawność implantacji MEA oraz działanie DAQ jest rejestracja tzw. aktywności spontanicznej, czyli występującej naturalnie bez aplikowania zewnętrznych bodźców. Jeden z wielu przykładów, który został odczytany przez *Neurostim-3* został pokazany na Rys. 4.14. Sygnały te zostały zarejestrowane we wzgórzu za pomocą *NeuroNexus A8x8* MEA (Rys. 4.16) i składają się z wolnych oscylacji LFP z nałożonymi na nie AP. Te występują w pakietach po kilka impulsów trwających ~ 10 ms. Zbliżenie na jeden z takich pakietów zostało zaprezentowane w lewym dolnym rogu Rys. 4.14. Na innym obszarze pokrywanym przez tę sondę w tym pomiarze zostały zarejestrowane tzw. wrzeczona

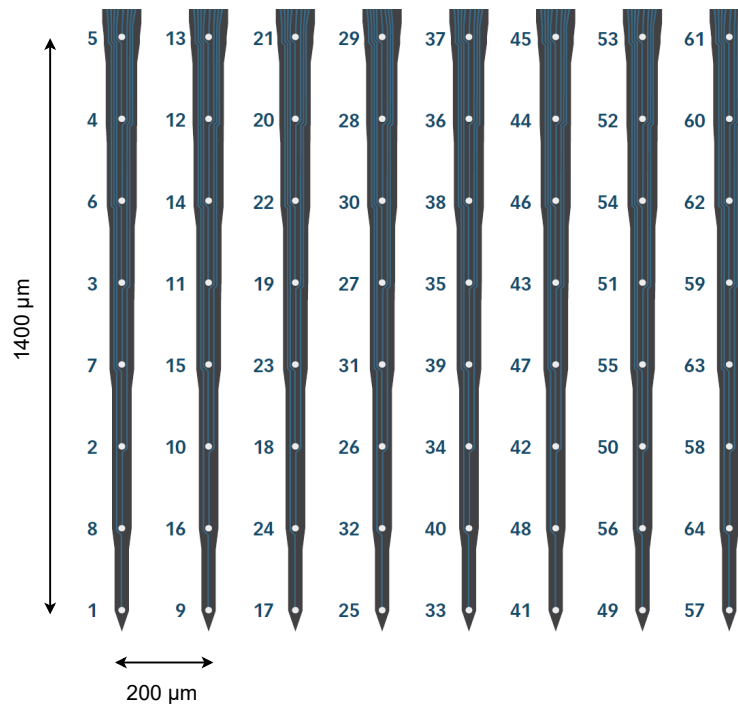
senne (ang. *sleep spindles*) widoczne jako krótkotrwałe oscylacje charakterystyczne dla śpiącego mózgu [269]. W tym konkretnym przypadku widoczne były one najbardziej dla elektrody położonej 6 mm pod powierzchnią mózgu we wzgórzu na 4. trzonku sondy (Rys. 4.15).



Rys. 4.14: Zapis spontanicznej aktywności przy użyciu *Neurostim-3* z *NeuroNexus A8x8* MEA we wzgórzu uśpionego szczura. Dane dla jednej z elektrod pokazujące kompozycję LFP oraz AP. Rysunek wewnętrzny przedstawia powiększony obraz wskazywany czerwoną strzałką na głównym wykresie (20 ms rejestracji). Są to szybkie seryjne wyładowania AP.



Rys. 4.15: Zapis spontanicznej aktywności przedstawiający wrzeciona senne na dziewięciu sąsiednich elektrodach. Oscylacje o częstotliwości występowania ~ 12 Hz (pomarańczowa część przebiegów) nakładają się na LFP i stosunkowo duży szum – ten wynikał najprawdopodobniej z problemów z ekranowaniem stanowiska pomiarowego; w eksperymentach przeprowadzanych później efekt ten nie był już tak widoczny. Początki każdego tego typu zdarzenia zostały zaakcentowane znacznikami. Położenia elektrod wynikają z wykorzystanej *NeuroNexus A8x8* MEA, gdzie 64 elektrody rozłożone są regularnie na siatce 8×8 i pokrywają obszar $1,4 \text{ mm} \times 1,4 \text{ mm}$. Głębokość została podana względem powierzchni mózgu zwierzęcia. Podany zakres amplitud dotyczy przedstawionych przebiegów. Zaadaptowane z [85].



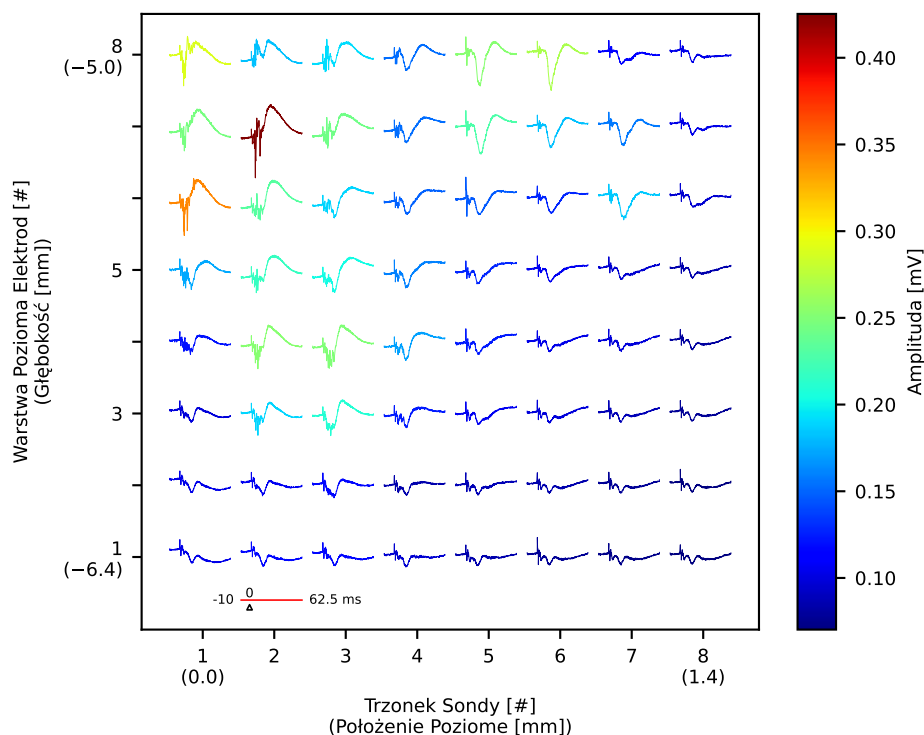
Rys. 4.16: Schemat *NeuroNexus A8x8* MEA. Numery widoczne obok elektrod to ich identyfikatory nadane przez producenta. 64 elektrody irydowe o średnicy $13,3\ \mu\text{m}$ rozłożone są na regularnej siatce o boku $0,2\ \text{mm} \times 0,2\ \text{mm}$ po osiem elektrod na każdym trzonku. Trzonki numerowane są od 1 do 8 od lewej do prawej. Zaadaptowane z [267].

4.1.3.2 Polowe potencjały wywołane stymulacją dotykową

Dzięki obecności na IB *Wejść Testowych* dla zewnętrznych sygnałów możliwe jest zapisywanie (równoległe do danych elektrofizjologicznych) informacji o czasie wystąpienia różnych zdarzeń, które są wyzwalane poza *Neurostim-3*. Między innymi można zapisywać czasy wystąpienia bodźców zmysłowych i badać pobudzenie, jakie wyzwalają one w mózgu badanego zwierzęcia. Fale potencjału polowego wzbudzone przez bodźce określone są mianem potencjałów wywołanych (ang. *Evoked Potential, EP*). Umieszczenie MEA we wzgórzu oraz obszarze kory, które są odpowiedzialne za przetwarzanie informacji o dotyku (tzw. kora baryłkowa [270]), powinno umożliwić rejestrację aktywności mózgu w odpowiedzi na stymulację wibrysu (włosów czuciowych, dzięki którym gryzonie w normalnych warunkach zdobywają informacje na temat otaczającej je przestrzeni [271]).

Powtarzalna stymulacja wibrysu jest możliwa np. za pomocą stymulatora piezoelektrycznego, który pod wpływem przyłożonego do niego napięcia ulega odkształceniu. Tego typu pobudzanie było stosowane dla wibrysu szczura znajdujących się po lewej stronie głowy gryzonia, zatem spodziewano się zarejestrować odpowiedź w prawej półkuli. Stymulację zastosowano 100-krotnie celem ekstrakcji średniego EP na każdym z kanałów *Neurostim-3* z osobna. Przykładowe EP ze wzgórza pokazano na Rys. 4.17, a z kory na Rys. 4.18 (także w tym przypadku posłużono się MEA *NeuroNexus A8x8* (Rys. 4.16)). Otrzymane wyniki są typowe dla badanych struktur [272, 273]. Występująca różnica amplitud sygnału między wzgórzem a korą wynika z wewnętrznej budowy tych struktur mózgu. Ta pierwsza złożona jest z niewielkich neuronów

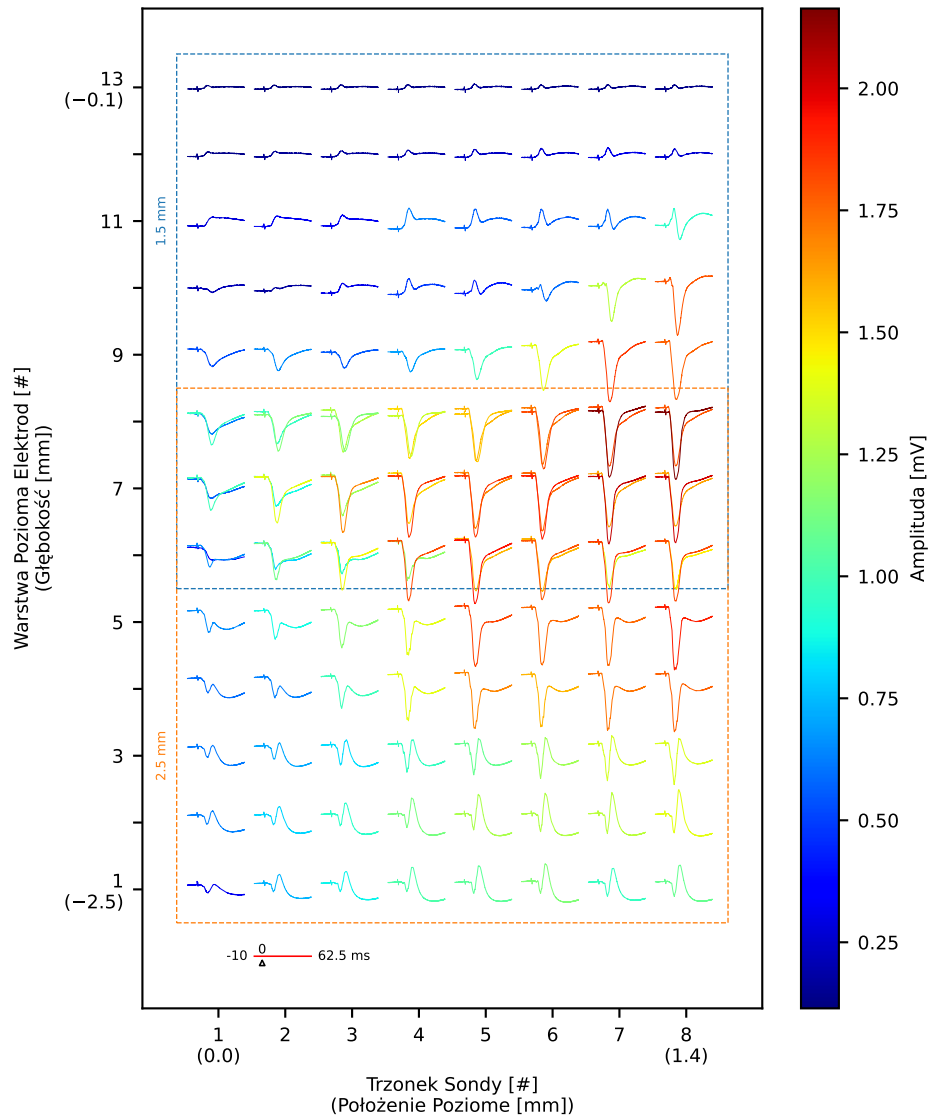
ziarnistych, podczas gdy tą drugą tworzą komórki piramidalne odpowiedzialne za generowanie LFP o wysokiej amplitudzie [274]. Są one także odpowiedzialne za zależną od głębokości źródła sygnałów polarność obserwowanych fal potencjału polowego [275].



Rys. 4.17: Średnia odpowiedź ($n = 100$) tkanki mózgu w obszarze wzgórzowym na stymulację wibrys dla 64 elektrod MEA. Wartość maksymalnej amplitudy (mierzonej między ekstremalnymi wychyleniami dodatnimi i ujemnymi fal EP) jest odwzorowywana poprzez kolor zgodny ze skalą. Największa amplituda oraz najmniejsze opóźnienie odpowiedzi wskazują, że elektrody, które znajdują się w lewym górnym rogu rysunku, znajdowały się w obszarze wzgórza, który odpowiadał za przetwarzanie informacji z dużych wibrys. W pozostałej części zarejestrowanych danych widoczne są fale EP o znacznie mniejszej amplitudzie. Pokazane średnie przebiegi zawierają 62,5 ms odpowiedzi po bodźcu poprzedzone przez 10 ms danych przed wystąpieniem sygnału wzbudzającego ruch stymulatora piezoelektrycznego. Sygnał ten był równolegle przekierowywany do IB i służył do identyfikacji *online* i *offline* momentów wystąpienia bodźców. Zaadaptowane z [85].

Z uwagi na dość niewielki obszar mózgu pokrywany przez zastosowane elektrody $1,4 \text{ mm} \times 1,4 \text{ mm}$ (Rys. 4.16), stymulacja wibrys została wykonana dwukrotnie, tak aby pokryć pełną głębokość kory czuciowej mózgu szczura ($>2 \text{ mm}$ [276]). Najpierw rejestrowano sygnały z górnych warstw kory mózgu, a w następnym kroku MEA została włożona o 1 mm głębiej i powtórzono procedurę stymulacji. Oba pomiary powinny pokryć wspólny obszar tkanki mózgu o wielkości $0,4 \text{ mm} \times 1,4 \text{ mm}$ (tj. trzy rzędy elektrod) – dla nich zaobserwowano podobne średnie LFP występujące w tych samych lokalizacjach. Przebiegi nie są identyczne, gdyż charakter odpowiedzi na rejestrowane bodźce jest zmienny w czasie [277, 278]. Ponadto, ze względu na lepkość tkanek trudno jest precyzyjnie trafić dokładnie w to samo miejsce po przesunięciu MEA⁹.

⁹Należy też pamiętać, że MEA jest ciałem obcym w tkance mózgu, który narusza jego strukturę, potencjalnie doprowadzając do przesunięcia lub uszkodzenia komórek oraz połączeń między nimi.



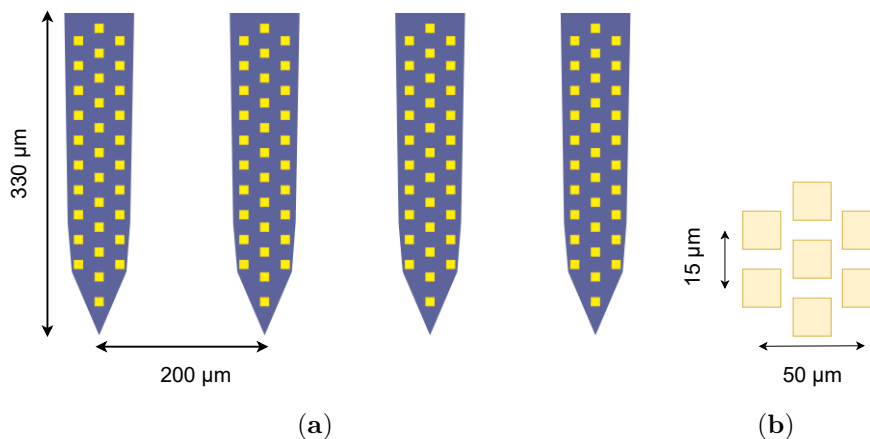
Rys. 4.18: Średnia odpowiedź ($n = 100$) tkanki mózgu w obszarze kory mózgu na stymulację wibrys. Wartość maksymalnej amplitudy (mierzonej między ekstremalnymi wychyleniami dodatnimi i ujemnymi fal EP) jest odwzorowywana poprzez kolor zgodny ze skalą. Ze względu na rozciągłość przestrzenną kory, akwizycja była przeprowadzana dwukrotnie: raz dla położenia czubków trzoneków sondy na głębokości 1,5 mm pod powierzchnią mózgu szczura, a drugi raz 2,5 mm. Można zauważyć, że w efekcie przesunięcia trzy różne poziomy elektrod powinny odczytywać sygnały z podobnych obszarów kory (obszar przekrywania się został zaznaczony). Mimo że przeprowadzone odczyty nie były jednoczesne, średnie wartości sygnałów są ze sobą porównywalne. Każda z pokazanych średnich 62,5 ms odpowiedzi poprzedzona jest 10 ms danych przed wystąpieniem sygnału synchronizacyjnego. Zaadaptowane z [85].

4.1.3.3 Polowe potencjały wywołane stymulacją elektryczną generowaną przez Neurostim-3

W kolejnym z eksperymentów wykorzystano MEA *Masmanidis Lab 128K* o 128 elektrodach (Rys. 4.19) [55]¹⁰. W porównaniu z wcześniej zaprezentowanym modelem *NeuroNexus*

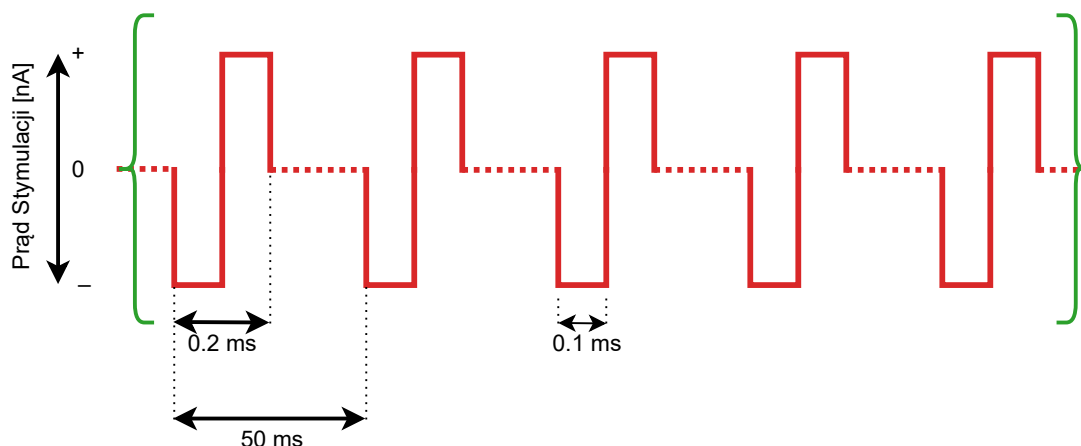
¹⁰Ze względów konstrukcyjnych wymagały one współpracy ze 128-kanalowymi AB (Rys. 2.8) oraz 512-kanalowymi IB (Rys. 2.4).

A8x8 (Rys. 4.16) oprócz podwojonej liczby elektrod cechuje się ich większym zagęszczeniem. Na jednym trzonku odległości między elektrodami wynoszą $15\ \mu\text{m}$ oraz $25\ \mu\text{m}$ odpowiednio w pionie i w poziomie. Dzięki temu w istotny sposób powiększona zostaje rozdzielczość przestrzenna pomiaru, jednak za cenę pokrycia mniejszej powierzchni tkanki.



Rys. 4.19: Schemat *Masmanidis Lab 128K* MEA. (a) 128 elektrod o powierzchni $\sim 100\ \mu\text{m}^2$ rozłożone są po 32 sztuki na każdym z czterech trzonków. Odległość między trzonkami wynosi $200\ \mu\text{m}$, zaś rozpiętość elektrod w pionie to $330\ \mu\text{m}$. Elektrody rozdystrybuowane są w trzech kolumnach. Zaadaptowane z [55]. (b) Powiększenie fragmentu sondy z oznaczeniem odległości między indywidualnymi elektrodami. Na takie siedmioelektrodowe klastry elektrod podawano impulsy elektryczne generowane przez urządzenie *Neurostim-3*.

MEA umieszczono w korze mózgu szczura w taki sposób, że trzonki ułożone były prostopadle do jej powierzchni a ich czubki znajdowały się na głębokości $1\ \text{mm}$ pod powierzchnią (najwyżej położone elektrody były jeszcze w *IV* warstwie, a dolne w warstwie *Va* kory mózgu). Eksperyment miał na celu pobudzenie aktywności komórek nerwowych w korze za pomocą wspieranej przez *Neurostim-3* stymulacji elektrycznej. Zdarzenia stymulacyjne były generowane w klastrach siedmiu sąsiadujących ze sobą elektrod (Rys. 4.19b) i każde takie zdarzenie składało się z pięciu identycznych impulsów aplikowanych co $50\ \text{ms}$ (Rys. 4.20). Każdy pojedynczy impuls był prostym sygnałem dwufazowym o zbilansowanym ładunku i czasie trwania $200\ \mu\text{s}$. Zastosowano amplitudy z przedziału od $0,5\ \mu\text{A}$ do $4\ \mu\text{A}$. Kolejne zdarzenia były generowane co $2\ \text{s}$, za każdym razem w innym klastrze. Dla każdego klastra łączna liczba aplikacji zdarzenia o danej amplitudzie wynosiła 10 – odpowiedź na nie (potencjał połowy wywołany elektrycznie (ang. *Electrically Evoked Potential, EEP*)) po ostatnim impulsie składowym była uśredniana dla każdego z kanałów MEA. W celu redukcji artefaktu stymulacyjnego, wejścia sygnału REC_e (Tab. 3.1) we wszystkich kanałach były odłączane na czas stymulacji i uaktywniane zaraz po jej ustaniu.

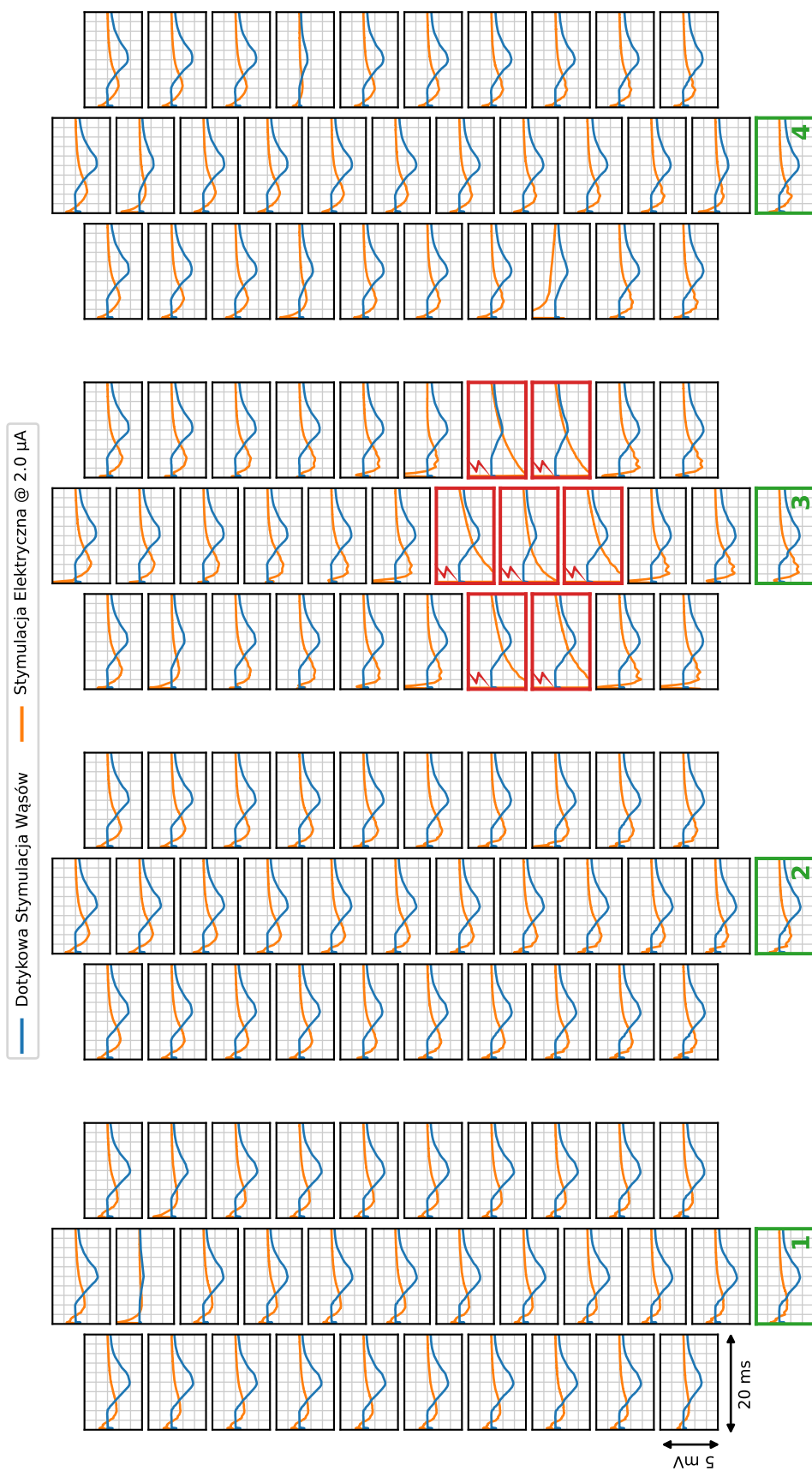


Rys. 4.20: Protokół stymulacji wykorzystywany w eksperymencie. Pojedyncze zdarzenie stymulacyjne w siedmioelektrodowym klastrze (Rys. 4.19b) złożone było z pięciu identycznych impulsów dwufazowych. Każdy z nich trwał 0,2 ms, a każda z jego faz 0,1 ms. Kolejny impulsy w zdarzeniu były opóźnione względem poprzedniego o 50 ms. Zdarzenia w klastrze o identycznej amplitudzie prądu stymulacji były powtarzane 10-krotnie.

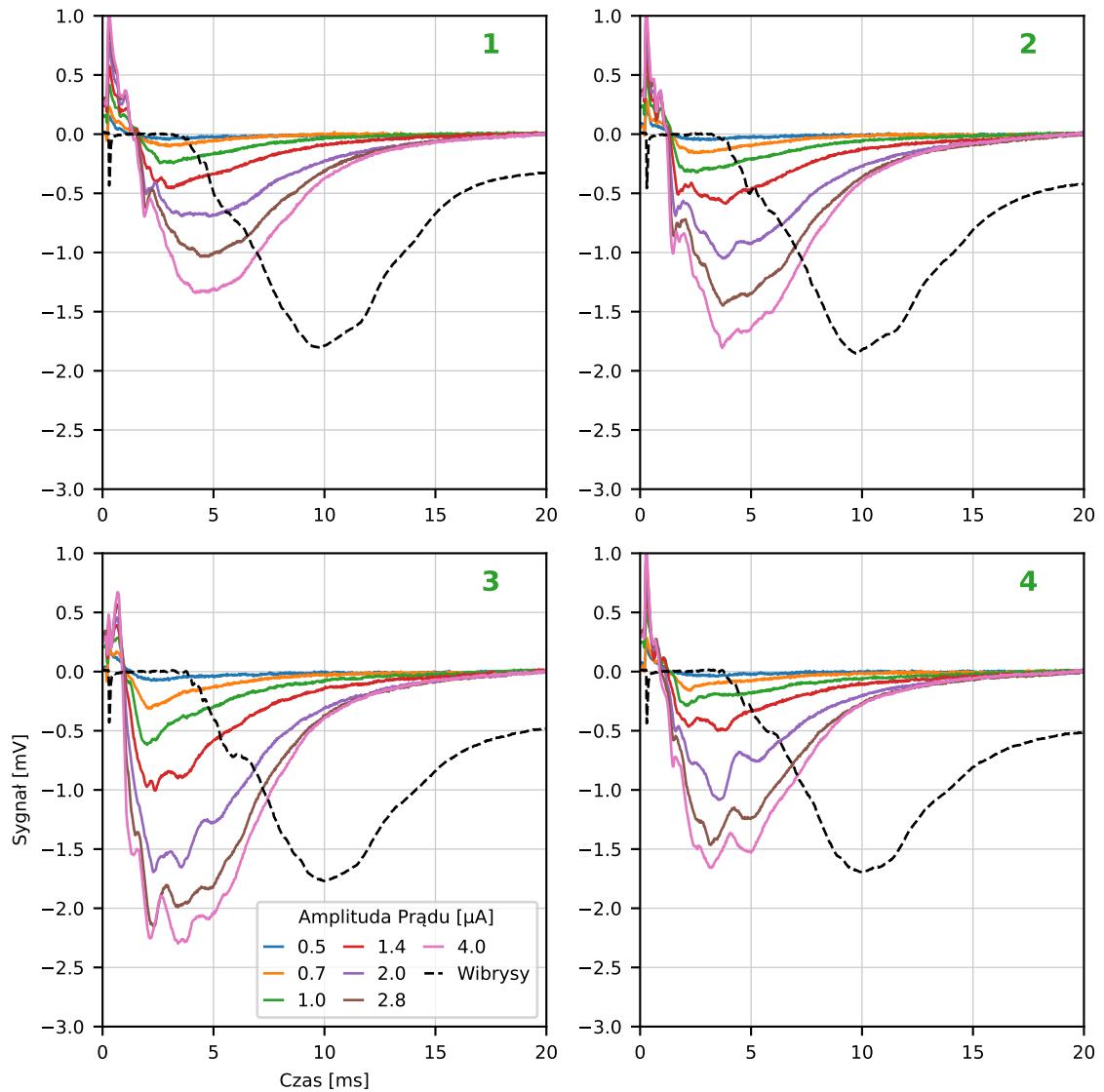
Jako dane kontrolne wykorzystano rejestrację aktywności w odpowiedzi na dotykową stymulację wibrys po lewej stronie głowy szczura (rejestracje EP prowadzono z prawej półkuli). Mapa zarejestrowanych przebiegów uśrednionych w reakcji na zewnętrzną (EP) oraz wewnętrzną (EEP) stymulację dla przykładowej amplitudy prądu i klastra elektrod została pokazana na Rys. 4.21.

Opóźnienie obserwowanej reakcji układu zależy od typu stymulacji. W przypadku naturalnego poruszenia wibrys odpowiedź w korze mózgu pojawia się później (~ 5 ms) niż przy stymulacji elektrycznej (~ 2 ms, Rys. 4.21). Jest to wynik spodziewany i związany z tym, że stymulacja elektryczna jest zdarzeniem lokalnym, bezpośrednio działającym na neurony w obszarze obejmowanym przez MEA, podczas gdy sygnał neuronalny indukowany w wyniku pobudzenia wibrys musi przejść szereg połączeń między neuronami kolejnych pięter drogi czuciowej, zanim jego efekt da się zauważyć w korze mózgu. Obserwowane amplitudy odpowiedzi na stymulację wibrys osiągają ~ 2 mV, co jest zgodne z wcześniej uzyskanym wynikiem dla podobnego położenia względem powierzchni mózgu (Rys. 4.18).

Odpowiedzi na maksymalny bodziec prądowy osiągają amplitudę podobną do potencjału wywołanego poruszeniem wibrys. Na przebiegu głównej ujemnej fali potencjału widać też szybkie, drobne zafalowania. Najprawdopodobniej odpowiadają one wysokoczęstotliwościowym oscylacjom (ang. *High Frequency Oscillations, HFO*) odzwierciedlającym fluktuacje potencjału błonowego komórek piramidalnych związanym z synaptycznym wpływem szybko-wyładowujących się (ang. *fast spiking*) interneuronów hamujących [279], synchronizowanych poprzez synapsy elektryczne [280]. Moc tych oscylacji wzrasta nieliniowo wraz ze wzrostem siły i złożoności bodźca (np. liczby dotykanych wibrys) i występują one głównie w warstwie V i VI oraz II [280, 281]. Przedstawione obserwacje zgadzają się z tym opisem – HFO pojawiły się przy stymulacji elektrycznej $\geq 1,4 \mu\text{A}$, głównie na elektrodach położonych najgłębiej w tkance (Rys. 4.19, Rys. 4.22).



Rys. 4.21: Średnie odpowiedzi w LFP zarejestrowane w korze mózgu szczura za pomocą 128-elektrodowej MEA wywołane przez dotykową stymulację wibryś oraz przez stymulację elektryczną realizowaną za pomocą dwufazowych impulsów prądowych o amplitudzie 2 μA . Klaster, w którym zachodziła stymulacja elektryczna, został zaznaczony czerwonym obramowaniem.

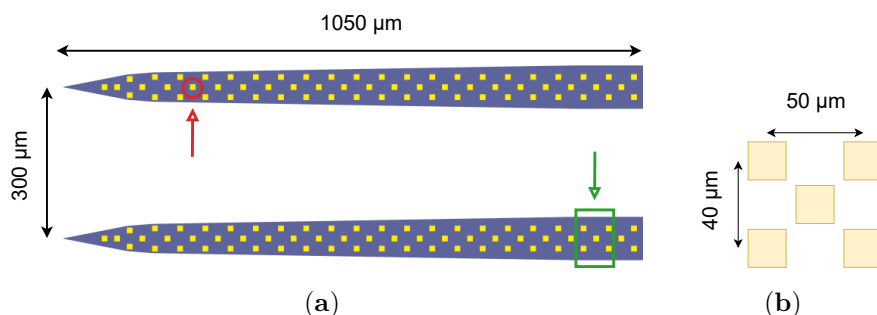


Rys. 4.22: Średnie odpowiedzi zarejestrowane przez najgłębiej położone elektrody dla testowanych amplitud prądu. Zakres odpowiedzi rośnie wraz z amplitudą wymuszenia. Przy $1,4 \mu\text{A}$ zaczynają być widoczne HFO. Dodatkowo czarna przerywana linia odpowiada uśrednionej odpowiedzi odczytanej przez elektrodę na stymulację dotykową wibrysy. Oznaczenia elektrod oraz klastra stymulującego zgodnie z Rys. 4.21.

4.1.3.4 Potencjały czynnościowe wywołane stymulacją elektryczną generowaną przez Neurostim-3

W kolejnym eksperymencie *in vivo* wykorzystano MEA Masmanidis Lab 128AN z siatką elektrod na dwóch trzonkach, na długości $\sim 1 \text{ mm}$ (Rys. 4.23a). Matrycę tę umieszczono w lewej półkuli mózgu zwierzęcia w taki sposób, że czubek trzonków MEA znajdował się na głębokości $1,7 \text{ mm}$ pod powierzchnią kory mózgu, czyli w warstwie VI [274]. Neurostim-3 generował impulsy stymulacyjne w klastrach składających się z pięciu sąsiednich elektrod (Rys. 4.23b). W jednym momencie wszystkie elektrody w klastrze generowały identyczny impuls dwufazowy o zbilansowanym ładunku trwającym $200 \mu\text{s}$, którego amplitudę można przybliżyć wyrażeniem

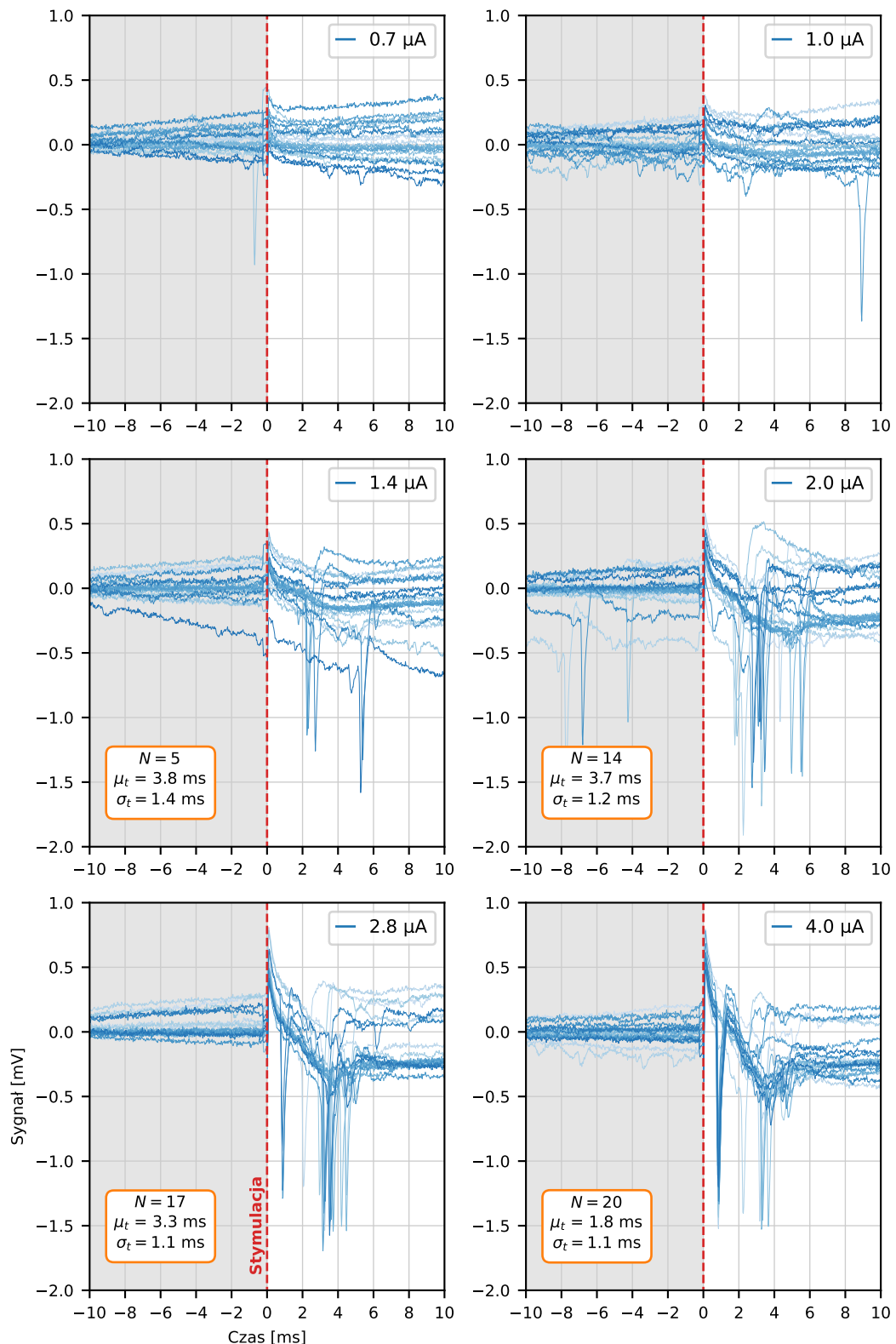
$I = 2^{N/2}$, gdzie $N \in \mathbb{N} \wedge 1 \leq N \leq 7$. Każde zdarzenie danego rodzaju powtarzano 20-krotnie, w celu zebrania statystyki dotyczącej efektywności generowania AP przez system.



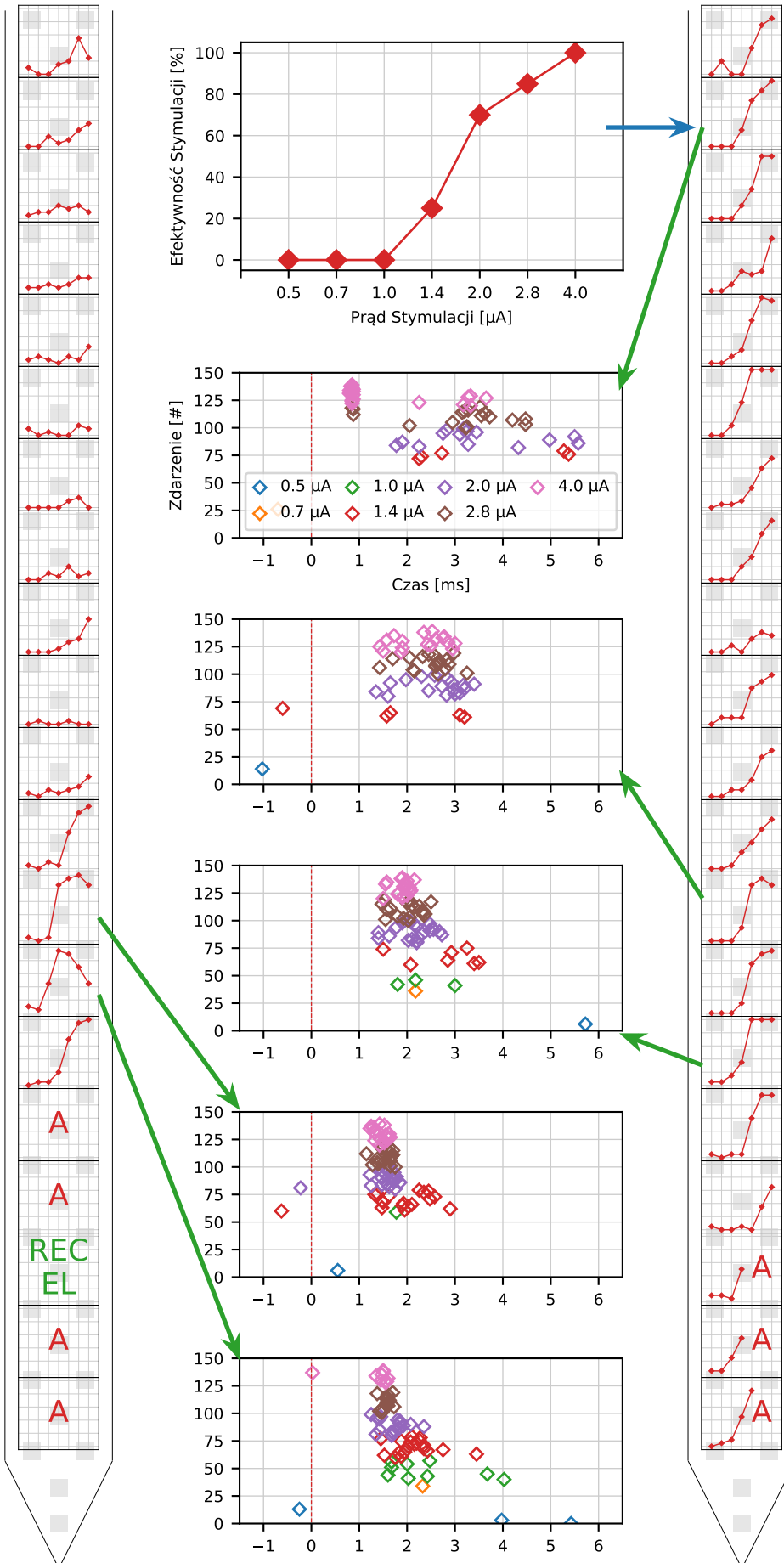
Rys. 4.23: (a) Schemat Masmanidis Lab 128AN MEA. 128 elektrod o powierzchni $\sim 100 \mu\text{m}^2$ każda rozłożone są po 64 sztuki na każdym z dwóch trzonków. Trzonki oddalone są od siebie o 300 μm , a zasięg elektrod na dłuższym boku wynosi 1050 μm . Elektrody rozdzielone są w trzech kolumnach. Za pomocą czerwonego okręgu oraz strzałki zaznaczono elektrodę testową, na której obserwowano wysoką aktywność AP w odpowiedzi na aplikowany protokół stymulacji. Na kolejnym rysunku (Rys. 4.24) pokazano odpowiedzi iglicowe rejestrowane na tej elektrodzie po stymulacji klastra elektrod oznaczonego zieloną strzałką oraz prostokątem w tym samym kolorze. (b) Klaster pięcioelektrodowy. Zaadaptowane z [55].

Na podstawie wizualizacji danych *online* w trakcie eksperymentu wytypowano elektrodę, dla której zaobserwowano wyraźną aktywność AP w odpowiedzi na zastosowany protokół stymulacji (elektroda objęta czerwonym okręgiem na Rys. 4.23a). Odpowiedzi neuronalne zarejestrowane przez tę elektrodę dla różnych amplitud prądu stymulacji na jednym z klastrów, zaznaczonym na Rys. 4.23a, zebrane zostały na Rys. 4.24. Fragmenty sygnału zostały wyrównane względem zakończenia zdarzenia stymulacyjnego (czas zero na rysunkach). Na obserwowanym kanale widoczne były AP o amplitudzie rzędu 1 mV zarówno przed, jak i po bodźcach. Impulsy $I = 0,7 \mu\text{A}$ AP nie wzbudzały aktywności neuronalnej. Dla $I = 1 \mu\text{A}$ obserwuje się jedynie pojedynczy, zapewne spontaniczny, AP > 9 ms po impulsie stymulującym. Dopiero od amplitudy $1,4 \mu\text{A}$ można powiedzieć, że stymulacja prowadzi do pobudzenia neuronu/ów. Zarejestrowane potencjały czynnościowe są skorelowane ze zdarzeniami – liczba iglic w oknie czasowym po bodźcu jest wyraźnie większa niż przed nim.

W okresie między 2 ms a 6 ms zaobserwowano iglice wyzwalane w wyniku pobudzenia synaptycznego. Wzrost amplitudy pobudzenia zwiększał ich liczbę oraz zmniejszał rozrzut ich latencji. Stymulacja impulsami $2,8 \mu\text{A}$ wzbudziła również bezpośrednie pobudzenie rejestrowanego neuronu. Pojawiły się iglice o bardzo małym (1 ms) i bardzo powtarzalnym opóźnieniu. Ich liczba znacznie wzrosła przy impulsie $4 \mu\text{A}$. W pokazanym przykładzie widzimy też efekt kolizji iglic wzbudzanych bezpośrednim działaniem pola elektrycznego na ciało komórki (lub jej wypustki) a pobudzeniem synaptycznym [282]. W próbach, w których nastąpiło szybkie bezpośrednie pobudzenie, nie pojawiają się już późniejsze iglice. Efektywność stymulacji widziana z punktu widzenia elektrody testowej została sprawdzona dla wszystkich stymulujących klastrów (Rys. 4.25). Policzone ją jako stosunek liczby przypadków (dla danego klastra stymulującego), dla których zidentyfikowano iglicę występującą nie później niż 6 ms po zakończeniu impulsu do wszystkich 20 zdarzeń stymulacyjnych o tych samych parametrach.



Rys. 4.24: Potencjały czynnościowe zarejestrowane przez elektrodę testową uzyskane po stymulacji w jednym z odległych klastrów na tej samej MEA dla różnych amplitud prądu. Położenie elektrody testowej oraz klastra stymulującego zgodnie z oznaczeniami na Rys. 4.23a. Dla impulsów o amplitudzie $\leq 1 \mu\text{A}$ obserwuje się jedynie aktywność spontaniczną. Przy wyższych wartościach efektywność stymulacji wzrasta, a czas wystąpienia AP jest bardziej przewidywalny. Statystyki latencji AP (podane w pomarańczowych ramkach) były liczone w oknie od zakończenia impulsu stymulacyjnego do 6 ms.



Rys. 4.25: Efektywność generowania AP (rejestrowanych przez centralną elektrodę klastra oznaczonego jako REC EL) przez stymulację we wszystkich klastrach 5-elektrodowych. Na krawędziach rysunku widoczny schemat sondy. Na tle poszczególnych klastrów narysowane są wykresy efektywności stymulacji REC EL. Ośie tych wykresów zgodne są panelem narysowanym w centrum rysunku (na górze), na którym pokazano kolejnym impulsie prądowym dla przykładowych klastrów. Pięć wykresów rastrowych przedstawia czas wystąpienia każdego z zarejestrowanych AP po każdym kolejnym impulsie prądowym dla przykładowych klastrów oznaczonych strzałkami na schemacie sondy. Impulsy o danej amplitudzie były powtarzane 20-krotnie, po czym zwiększono amplitudę. Dlatego położenie na osi pionowej identyfikuje AP w odpowiedzi na konkretny numer zdarzenia i jego amplitudę (dla ułatwienia amplitudy prądu mają przypisane kolory).

Rys. 4.25 prezentuje, w jaki sposób kształtuje się efektywność stymulacji we wszystkich klastrach z zachowaną relacją położenia tych klastrów względem wybranej elektrody testowej REC EL. Stymulacja w sąsiedztwie REC EL skutkowała znacznymi artefaktami. Na lewym trzonku wyeliminowało to całkowicie dane pochodzące z pięciu klastrów (wliczając to klaster zawierający REC EL). Natomiast na drugim trzonku przekroczenie pewnej granicznej wartości amplitudy prądu stymulacji w przypadku trzech najgłębiej położonych klastrów uniemożliwiło ekstrakcję AP przez artefakty. Stymulacja na prawym trzonku była bardziej efektywna i dla większości rozpatrywanych klastrów jest niemalejącą funkcją amplitudy prądu. Przekroczenie bariery $1,4 \mu\text{A}$ zwiększało szansę zarejestrowania aktywności za pomocą REC EL.

Rastrowe wykresy pokazują charakterystykę czasową generacji iglic dla pięciu wybranych stymulujących klastrów (ich położenie w przestrzeni sondy zostało zaznaczone zielonymi strzałkami). Z reguły, im większa amplituda pobudzenia, tym odpowiedź układu jest lepiej zdefiniowana w czasie, ale rozkład czasowy iglic jest różny dla różnych miejsc stymulacji, ponieważ różne są mechanizmy jego wzbudzenia. Wynika to ze złożoności wewnętrznej sieci neuronalnej [283]. Można rejestrować iglice wzbudzone bezpośrednio przez impuls elektryczny w sąsiadujących z elektrodą neuronach lub ich dendrytach. Stymulacja może pobudzić akson danej komórki i antydromowo (tj. wstecznie) wywołać iglicę w jej ciele. Pole elektryczne może stymulować neurony, ale też przebiegające w korze pasma aksonów wzgórzowo-korowych lub korowo-korowych i może uruchamiać całą kaskadę kolejnych synaptycznych połączeń w kolumnie korowej i między nimi. Większość zaobserwowanych w przedstawionym teście iglic powstała w takim właśnie, synaptycznym, mechanizmie, o czym wnioskujemy na podstawie zachowanego rozrzutu opóźnień po bodźcu. Bezpośrednia lub antydromowa stymulacja komórki zazwyczaj ma bardzo ścisłą relację czasową z bodźcem – tak jak w przykładzie widocznym na Rys. 4.24. Odpowiednio zaplanowane schematy mikrostimulacji i analiza typu wywołanych odpowiedzi pozwalają na mapowanie połączeń badanej sieci [282, 284], szczególnie w przypadku badań *in vitro* opartych o MEA o przestrzennej, dwuwymiarowej siatce elektrod [285].

4.2 System *Dose-3D*

4.2.1 Oprogramowanie

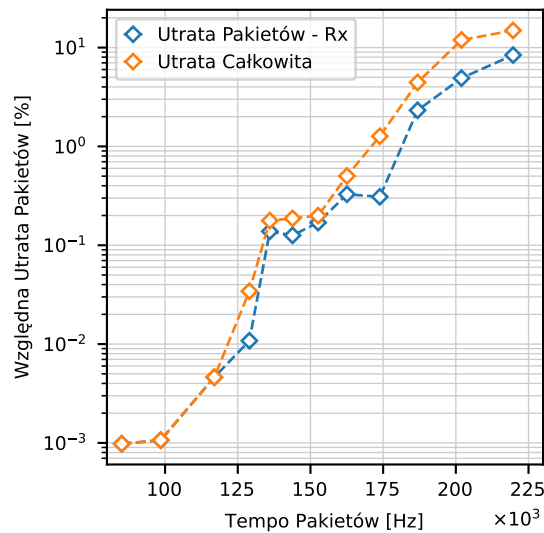
Na podstawie dotychczasowych doświadczeń można stwierdzić, że działanie przygotowanego oprogramowania DAQ w oparciu o *Scenariusze Pomiaru* oraz *nogil Pythona* było właściwym rozwiązaniem. Użytkownik systemu może zdefiniować przestrzeń badanych parametrów, po czym cały pomiar przeprowadzany jest automatycznie. W tym czasie następuje ciągły zapis danych potrzebnych do późniejszej analizy. Takie rozwiązanie sprawdza się zarówno w laboratorium testowym, jak i w pomiarach przeprowadzonych z wykorzystaniem wiązki wysokoenergetycznego promieniowania z akceleratora.

Od chwili adaptacji *nogil Pythona* do projektu nie stwierdzono żadnych problemów ze stabilnością aplikacji ani tym bardziej z integralnością danych. Problemy, jeżeli występowały, związane były z nieprzystosowaniem bibliotek zewnętrznych, co miało miejsce np. przy próbie uruchomienia równoległego zapisu do kilku plików na podstawie informacji generowanych przez różne *Jednostki Akwizycji Danych* [250]. Chcąc jednak oszacować czy wydajność oferowana przez oprogramowanie DAQ jest wystarczająca, przeprowadzono kilka testów pokazujących konkretne wartości, które można odnieść do wymagań stawianych przez sprzęt.

Z punktu widzenia całego systemu krytycznym momentem w całym potoku przetwarzania jest odczyt przychodzących pakietów z *Jednostki Akwizycji Danych*. Jeżeli odpowiedzialny za tę czynność wątek *Rx* (Rys. 3.20) nie odbierze pakietu, to ten przepadnie, a wraz z nim informacje, które ze sobą niósł (ze względu na używany protokół UDP/IP). Oszacowanie wydajności *Rx* wykonano używając do tego celu specjalnie przygotowaną wersję oprogramowania układowego FPGA. Zawierało ono dwa dodatkowe moduły zgodne z *XFCP*, których zadaniem było ciągle generowanie pakietów o definiowanej przez użytkownika identycznej długości tak, aby osiągnąć maksimum możliwości łącza 1 Gbit/s (im dłuższy pakiet, tym mniejsze *Tempo* przy zachowaniu identycznej przepływności danych przez łącze). Ze względu na cechy tych modułów maksymalna dostępna długość pakietu była ograniczona do 1400 B, co przekłada się na ich minimalne *Tempo* ~ 85 kHz. Wartość ta przewyższa oczekiwaną częstotliwość wysyłania pakietów docelowej *Jednostki Akwizycji Danych*, która jest określona przez szybkość konwersji danych analogowych przez wbudowany układ ADC (maksymalnie 53 kHz dla 8-bitowej rozdzielczości danych [163]). Pomiar dokonano dla pojedynczej *Jednostki Akwizycji Danych* obsługiwanej przez komputer wyposażony w procesor *Intel Core i9-10850K* [286] pod kontrolą systemu operacyjnego *Ubuntu Server 20.04 LTS* [287]. Oprogramowanie DAQ było uruchamiane na 60 s dla różnych długości pakietów między 500 a 1400 B. W tle równoległe działał program *tcpdump* [288], który umożliwia precyzyjny nasłuch ruchu sieciowego. Pozyskane przez to narzędzie informacje posłużyły do weryfikacji liczby pakietów, które zostały przesłane przez *Jednostkę Akwizycji Danych* do tego komputera. Uzyskane w ten sposób wartości zostały zaprezentowane na Rys. 4.26.

Zgodnie z oczekiwaniami, wzrost częstotliwości generowanych przez FPGA pakietów skutkuje coraz większymi problemami, aby oprogramowanie DAQ dotrzymało im kroku. Dla najniższego możliwego w tej konfiguracji *Tempa* odnotowano całkowitą utratę 50 pakietów. Jest to dobry rezultat, gdyż z punktu widzenia ogółu ich wkład i tak byłby nieznaczący ($< 10^{-3}$ %).

Ponadto, w zastosowaniach *MAROC 3A*, o których mowa w tej pracy, wykorzystuje się wbudowany w ASIC układ ADC, który zawsze pracuje w trybie najwyższej 12-bitowej rozdzielczości, co ogranicza maksymalne *Tempo* pakietów generowanych przez *Jednostkę Akwizycji Danych* do 8 kHz¹¹ [163]. Powyżej *Tempa Pakietów* 120 kHz wątki odpowiedzialne za przetwarzanie danych wejściowych (*Moduły Programowe*) nie nadążały już z przetwarzaniem tych danych, stąd *Utrata Całkowita* jest większa niż wynikałoby ze wskazań *tcpdump* oraz raportów wątku *Rx* po zakończeniu każdego z testów¹².



Rys. 4.26: Utrata wejściowych pakietów UDP/IP przez oprogramowanie DAQ w funkcji częstotliwości ich wysyłania. Wykres przedstawia dwie krzywe. *Utrata Pakietów - Rx* oznacza liczbę ramek, które nie zostały w żaden sposób zarejestrowane przez oprogramowanie. Natomiast *Utrata Całkowita* uwzględnia dodatkowo te pakiety, które były odczytane przez wątek *Rx*, ale musiały być porzucone wskutek przepełnienia buforów danych wejściowych modułów *XFCP*.

Trzeba mieć na uwadze, że rozpatrywana wydajność przetwarzania pakietów nie stosuje się do systemu jako całości złożonej z dowolnej liczby *Jednostek Akwizycji Danych* tylko dla każdej z nich osobno¹³. Dzieje się tak, ponieważ każda *Jednostka* ma przypisane własne drzewo wątków odpowiedzialne za utrzymanie z nią komunikacji oraz przetwarzanie danych (Rys. 3.20). Działanie każdego z tych drzew jest niezależne (z kilkoma wyjątkami) od pozostałych.

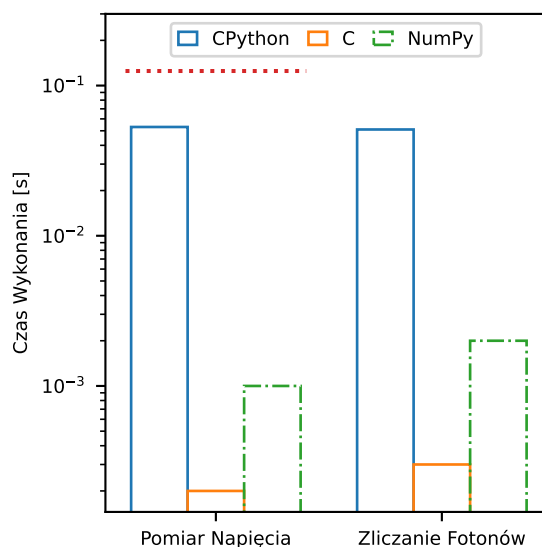
Drugim wrażliwym na wydajność przetwarzania elementem oprogramowania DAQ jest dekompozycja pakietów pochodzących z modułów typu *Dane* (Rys. 3.19). Ze względu na ograniczenia związane ze wsparciem *nogil Pythona* dla niektórych bibliotek, niemożliwe było wykorzystanie *Numba*, które mogłoby wykonać automatyczną translację kodu *CPython* bezpośrednio do postaci instrukcji maszynowych. Z uwagi na wcześniejsze doświadczenia w rozwiązaniu

¹¹Pakiety związane z dostępem do rejestrów oraz informacjami generowanymi przez *Zliczanie Fotonów* można zaniedbać. Te pierwsze wykorzystywane są głównie przed oraz po zakończeniu właściwego pomiaru, zaś te drugie aktualnie konfigurowane są w taki sposób, aby wysyłały pakiety ze stanami liczników *Zdarzeń* co 100 ms.

¹²Kolejki łączące *Rx* z *Modułami Programowymi XFCP* mogą przechowywać w danym momencie po 1000 elementów każda (Rys. 3.20). Jest to jedyne miejsce, w którym zastosowano tego typu restrykcje, a służy ono przede wszystkim zachowaniu stabilności komputera poprzez ograniczenie możliwości alokacji większej puli pamięci, niż wynika to z dostępnych zasobów.

¹³Zakładając wystarczającą wydajność infrastruktury sieciowej oraz możliwości obliczeniowe procesora.

docelowym postanowiono zaprogramować od podstaw te operacje w języku *C* jako skompilowaną bibliotekę funkcji. Takie rozwiązanie pozwala osiągnąć wysoką wydajność i działa w połączeniu z *nohil Pythonem*, jednak stanowi pewną przeszkodę, gdy dodatkowym celem jest zapewnienie działania niezależnego od platformy sprzętowej czy systemu operacyjnego. Średni czas przetwarzania 1000 pakietów zawierających dane z *Pomiaru Napięcia* oraz *Zliczania Fotonów* został zmierzony dla trzech różnych sposobów implementacji: kodu *CPython*, skompilowanej biblioteki *C* oraz z wykorzystaniem *NumPy*¹⁴. W przypadku *Zliczania Fotonów*, gdzie oczekiwana częstotliwość pakietów jest niewielka (aktualnie jest to 10 Hz) wydajność oprogramowania nie ma aż tak dużego znaczenia. Natomiast dla *Pomiaru Napięcia* niezbędne minimum, z którym musi sobie radzić to 8 kHz (wartość ta wynika z wydajności oraz rozdzielczości układu ADC). Otrzymane wyniki na komputerze wyposażonym w procesor *Intel Core i5 4690K* [289] zostały przedstawione na Rys. 4.27.



Rys. 4.27: Porównanie czasu potrzebnego do przeprowadzenia operacji dekodowania 1000 pakietów danych zawierających informacje z *Pomiaru Napięcia* oraz *Zliczania Fotonów* za pomocą trzech różnych implementacji. Dla *Pomiaru Napięcia* został wyznaczony budżet czasowy równy 125 ms wynikający z maksymalnej częstotliwości tego typu danych przy 12-bitowym próbkowaniu ADC. Wykorzystanie kompilowanej biblioteki funkcji języka *C* skutkuje ok. 500-krotnym przyspieszeniem operacji względem *CPython*, jednak wiąże się z koniecznością utrzymywaniem zewnętrznej zależności. Z drugiej strony ten sam algorytm oparty o możliwości biblioteki *NumPy* jest co prawda wolniejszy, ale z punktu widzenia użytkownika DAQ niezależny od platformy sprzętowej ani systemu operacyjnego.

Okazuje się, że każda z implementacji jest w stanie poradzić sobie z przetwarzaniem danych na bieżąco, przy czym biblioteka funkcji języka *C* działa zauważalnie najszybciej. Teoretycznie *CPython* spełnia swoje zadanie ($\sim 50 \text{ ms} < 125 \text{ ms}$) jednocześnie nie wprowadzając zależności od zewnętrznego kodu. Trzeba jednak mieć na uwadze, że komputer obsługujący jednocześnie 10 *Jednostek* będzie potrzebował minimum czterech rdzeni procesora dedykowanych w takim

¹⁴To ostatnie należy traktować jako wersję eksperymentalną, której poprawność działania nie została sprawdzona poprzez wdrożenie do wersji oprogramowania DAQ wykorzystywanej w pomiarach.

przypadku tylko do obsługi tego zadania. Kompromisem między wydajnością a prostotą utrzymania kodu może być w tym przypadku implementacja oparta o *NumPy*. Prawdopodobnie, po przeprowadzeniu dodatkowych testów, w przyszłości oprogramowanie DAQ będzie wykorzystywało właśnie te wersje dekodowników.

4.2.2 Charakterystyka sprzętu

Sygnaly, które są przekazywane do *MAROC 3A*, są przez niego wzmacniane, a następnie dzielone między dwa działające równolegle podsystemy tj. *Zliczanie Fotonów* oraz *Pomiar Napięcia*. Ten pierwszy odpowiedzialny jest za rejestrację *Zdarzeń*, natomiast drugi umożliwia odczyt napięcia po kształtowaniu sygnału, które to *Zdarzenie* mogło wywołać. W części z opisywanych pomiarów wykorzystano wejście testowe (*Ctest*). Umożliwia ono sprawdzenie charakterystyki działania ASIC na podstawie sygnałów o dobrze zdefiniowanych własnościach wytwarzanych przez zewnętrzny generator.

4.2.2.1 Próg odpowiedzi na sygnał wejściowy

Efektywność generowania zdarzeń przez *MAROC 3A* zależy w dużej mierze od wartości progu dyskryminacji ustawianego za pomocą 10-bitowego DAC. Wartość ta jest zamieniana na napięcie, względem którego porównywany jest sygnał widziany przez *Zliczanie Fotonów*. W przypadku, gdy ten przewyższa zdefiniowany próg, *MAROC 3A* generuje sygnał cyfrowy informujący odpowiedni moduł w FPGA, że zostało zarejestrowane *Zdarzenie*. W następstwie wartość licznika odpowiadającego temu kanałowi wzrasta. Aby móc rejestrować wszystkie *Zdarzenia* (również te, które wynikają z wygenerowania pojedynczego fotoelektronu w MA-PMT) wartość tego progu powinna być jak najmniejsza. Jednakże trzeba wziąć pod uwagę, że w przypadku zbyt niskiego progu *MAROC 3A* może generować fałszywe zliczenia na podstawie szumu. W skrajnych przypadkach obserwowana przez system wydajność detekcji będzie zerowa dla niskich DAC, gdy FPGA nie będzie w stanie wykrywać zbocza sygnału.

Charakterystyka układu wyzwiania została zmierzona w pomiarze jednoczesnym z wykorzystaniem trzech *Jednostek Akwizycji Danych* nazwanych: *M_15*, *M_16* oraz *M_17*¹⁵. *Scenariusz Pomiarowy* zakładał generowanie 1000 impulsów z częstotliwością 10 kHz, które były dystrybuowane równolegle do wszystkich *Jednostek*. Parametry tych sygnałów zostały dobrane w taki sposób, aby z punktu widzenia *MAROC 3A* otrzymywał on na wejście całkowity ładunek $C_{in} \in \{0,2,0,3,0,4,0,5\}$ pC. Najmniejsza z tych wartości odpowiada hipotetycznej sytuacji, gdy foton padający na powierzchnię katody MA-PMT wygeneruje pojedynczy elektron a sygnał ten zostanie wzmocniony $\sim 1,25 \times 10^6$ -krotnie. Wszystkie kanały w każdej z *Jednostek* pracowały z wejściowym wzmocnieniem jednostkowym (tj. bez korekty). Dla danego *podpomiaru* aktywny był tylko jeden *i*-ty kanał, dla którego zmieniano wartość progową DAC między

¹⁵Był to pierwszy pomiar wykorzystujący możliwości jednoczesnej obsługi wielu *Jednostek Akwizycji Danych*.

250 bit a 700 bit z krokiem co 1 bit¹⁶. Na podstawie zapisanych danych wygenerowano krzywe efektywności odpowiedzi w funkcji wartości progu DAC oraz ładunku wejściowego (Rys. 4.28).

We wszystkich przypadkach zmierzonych kanałów kształt krzywej przejścia od maksymalnej do minimalnej *Skuteczności Wyzwalania* jest dobrze określony, a szerokość przejścia to pojedyncze bity DAC. Dla coraz większej amplitudy sygnału wejściowego następuje zwiększenie krytycznej wartości DAC (wg. producenta *MAROC 3A* zależność ta powinna być liniowa). Do tych krzywych dopasowano funkcję błędu, dzięki czemu możliwe było określenie położenia wartości DAC granicznego oraz szerokości rozkładu σ (przykład dla *M_15* Rys. 4.29).

Ze względu na brak korekty wzmocnienia, która wzięłaby pod uwagę niejednorodności między kanałami, rozkład wartości granicznych DAC jest stosunkowo szeroki. Dla $C_{in} = 0,5 \text{ pC}$ jest to niemal 100 jednostek DAC. Ponadto rozkłady te przekrywają się, co oznacza, że np. wartość DAC = 500 dla części kanałów pozwoli zarejestrować sygnały $C_{in} = 0,5 \text{ pC}$ natomiast inne pomina te o amplitudzie 0,4 pC. Własność ta nie stanowi większego problemu, gdy celem jest akwizycja wszystkich *Zdarzeń*. W takim przypadku właściwą wartość progu dla pomiarów wykorzystujących pełen tor pomiarowy z MA-PMT powinno się ustalić na minimalną możliwą, która nie generuje fałszywych *Zdarzeń* z uwzględnieniem wartości wzmocnienia MA-PMT dla danego napięcia zasilania (Równ. (1.14)). W praktyce wartość ta mieści się między ~ 260 , a ~ 290 dla każdej *Jednostki Akwizycji Danych*¹⁷. W tym drugim przypadku, gdy ważna jest jednoznaczna detekcja *Zdarzeń* o amplitudzie nie mniejszej niż zadany próg przez wszystkie kanały ASIC, konieczna jest korekta za pomocą wzmocnienia wejściowego. Trzeba mieć jednak świadomość, że kalibracja jednego z torów przetwarzania w *MAROC 3A* powoduje zmianę działania drugiego, przez to, że przedwzmacniacz jest przez nie współdzielony.

Ujmując to inaczej, wykorzystanie do odczytu sygnałów układ *MAROC 3A*, uniemożliwia jednoczesną kalibrację podsystemów *Zliczania Fotonów* oraz *Pomiaru Napięcia*.

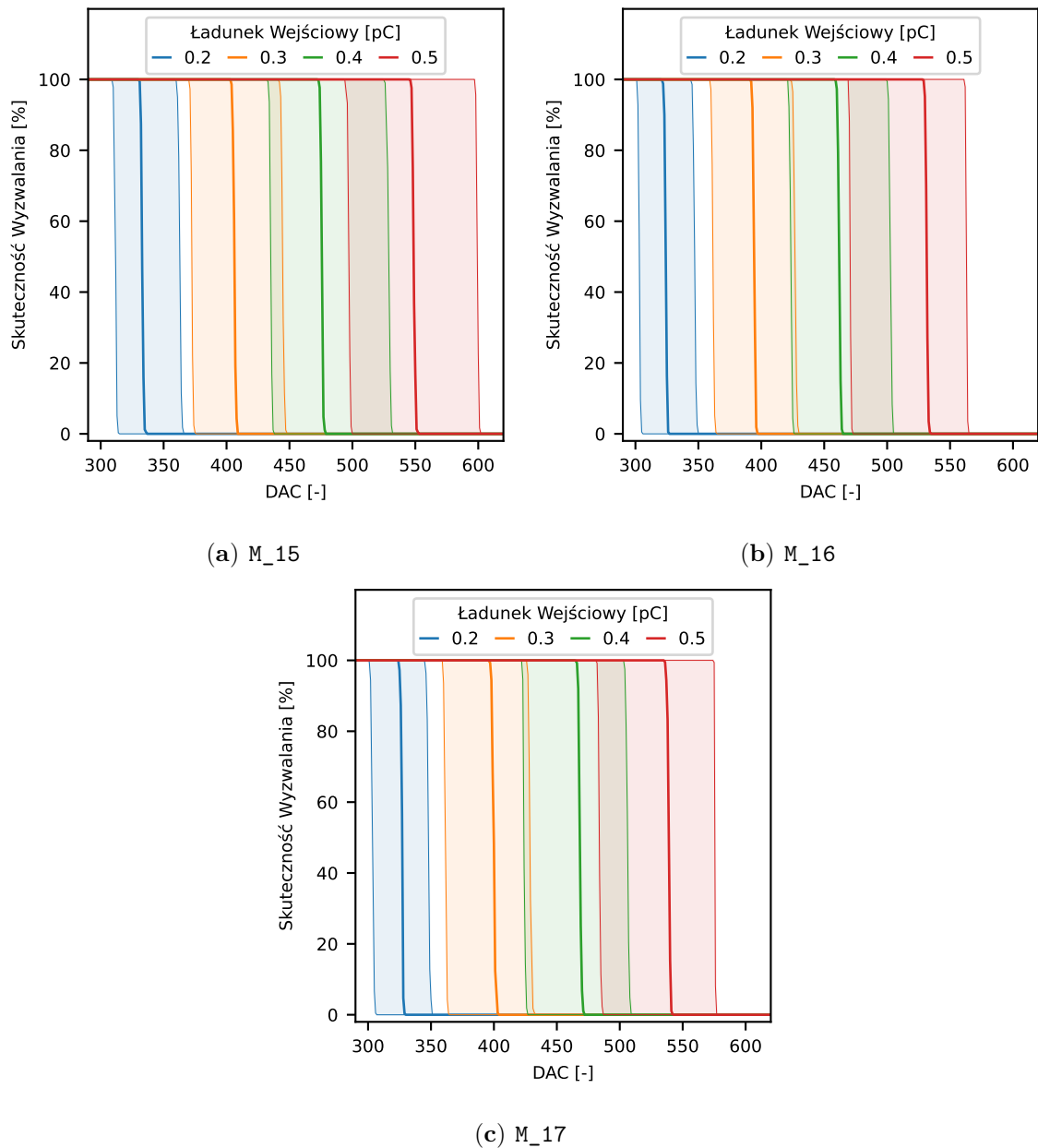
Zgodnie z tym, co pokazano na Rys. 4.29 rozmycie zbocza charakterystyki *Skuteczności Wyzwalania* rozumiane jako odchylenie standardowe dopasowania funkcji błędu wynosi mniej niż 2 bit DAC. Ponadto zachowanie to jest niezależne od *Ładunku Wejściowego*.

W formie uzupełniającej na Rys. 4.30 zaprezentowano profile oraz liniowość granicznej wartości DAC dla kanałów w funkcji *Ładunku Wejściowego* dla tej samej *Jednostki* tj. *M_15*. Kształt profili zostaje zachowany i skaluje się wraz z amplitudą sygnału wejściowego niemal liniowo w całym zbadanym zakresie (odstępstwa zaczynają być widoczne dla niektórych kanałów ASIC dla $C_{in} \geq 0,4 \text{ pC}$). W pewnym sensie cecha ta gwarantuje również powtarzalność otrzymywanych wyników dla tych samych warunków pomiarowych. Gdyby miało być inaczej,

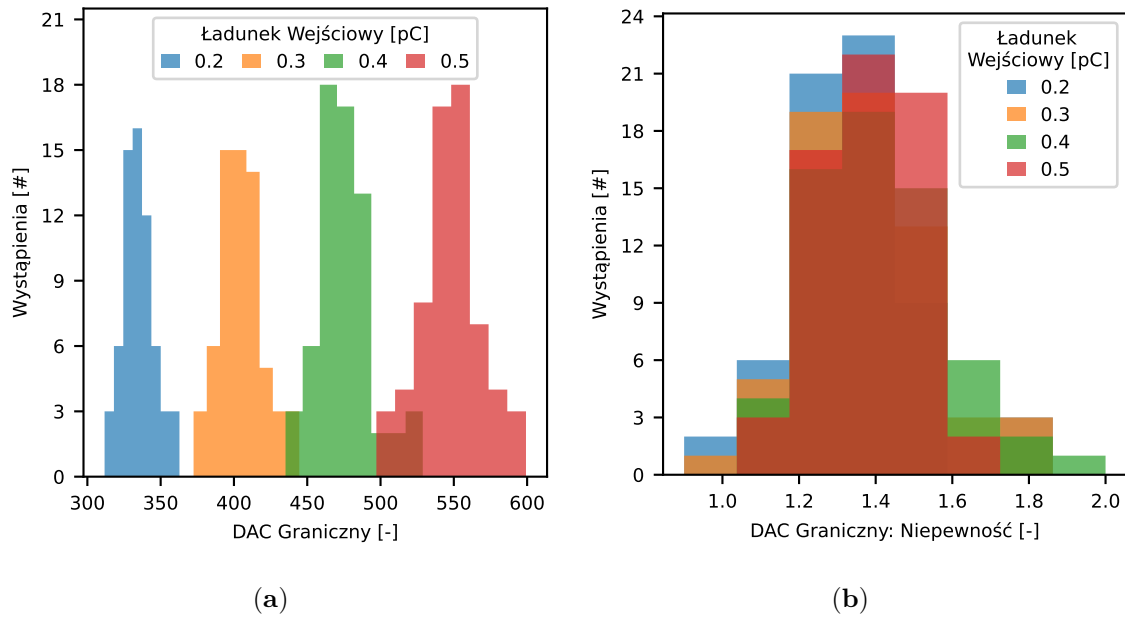
¹⁶Skutkuje to w sumie $4 \times 64 \times (700 - 250 + 1) = 115\,456$ iteracjami (*podpomiarami*), gdzie każda z nich, ze względu na procedury synchronizacyjne oraz opróżnianie buforów w oprogramowaniu DAQ, trwa $\sim 0,4 \text{ s}$ (przy czym 25 % tego czasu to rzeczywiste generowanie i zbieranie danych). W sumie cała procedura trwała ponad 12 h, aczkolwiek czas ten nie zależy od liczby testowanych równoległe *Jednostek*. W tego typu pomiarach, gdzie przestrzeń parametrów jest duża, a właściwy pomiar krótki (tj. $< 1 \text{ s}$), całkowity czas jest w dużej mierze determinowany przez *bezwładność systemu*. Składają na nią m.in. konieczność pełnej rekonfiguracji *MAROC 3A*, wysłanie żądań do generatora, odebranie i przetworzenie wszystkich pakietów danych oraz wyczyszczenie kolejek pakietów w odpowiednich modułach FPGA po to, aby pozostałe pakiety nie zostały zakwalifikowane jako przynależne do następnego *podpomiaru*.

¹⁷W projekcie domyślnie wartość tego parametru ustawiana jest na 280.

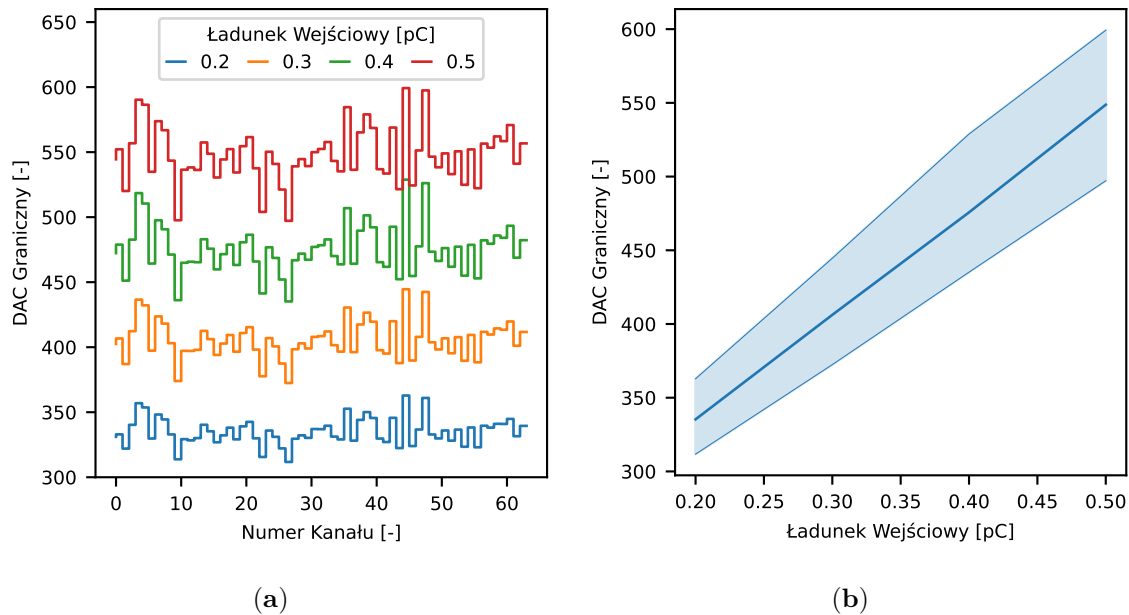
niepewności dopasowania funkcji błędu byłyby znacznie wyższe, zaś przedstawione profile zauważalnie różniłyby się od siebie.



Rys. 4.28: Skuteczność detekcji impulsów przez podsystem MAROC 3A odpowiedzialny za *Zliczanie Fotonów* w funkcji wartości progu wyzwalania DAC oraz ładunku wejściowego dla trzech *Jednostek Akwizycji Danych* działających równolegle ((a) – M_15, (b) – M_16, (c) – M_17). Na rysunkach pokazano zakresy krzywych detekcji wraz z trzema reprezentatywnymi przykładami dla każdej z amplitud *Ładunku Wejściowego*. Na wejście testowe MAROC 3A podawano impulsy prądowe o ładunku całkowitym 0,2 pC do 0,5 pC. *Skuteczność Wyzwalania* została określona jako stosunek liczby zarejestrowanych przez system *Zdarzeń* dla danych ustawień do liczby wygenerowanych impulsów.



Rys. 4.29: Histogramy parametrów dopasowania funkcji błędu do krzywych *Skuteczności Wyzwalania* dla *Jednostki Akwizycji Danych M_15*. Wartość oczekiwana (a), odchylenie standardowe wartości granicznej DAC nie zależy od amplitudy wejściowego sygnału (b).



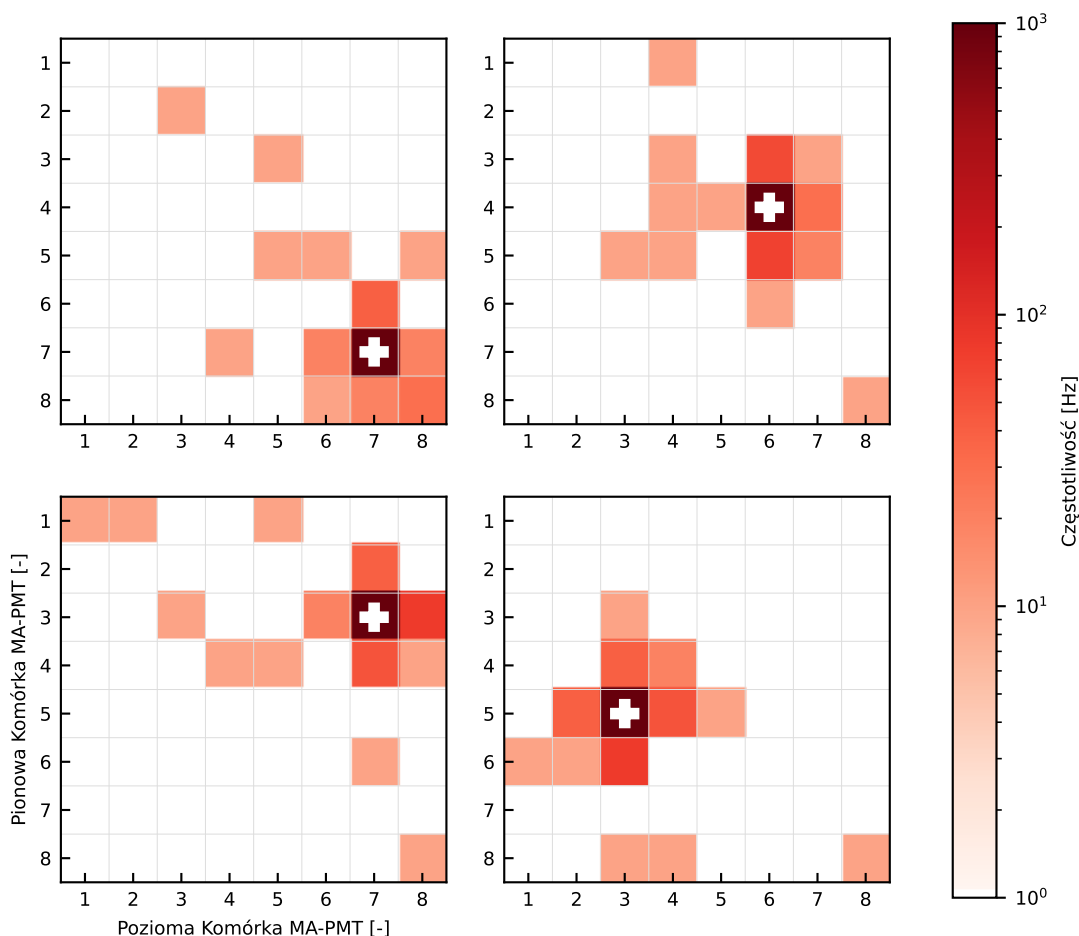
Rys. 4.30: Profil wartości granicznej DAC dla *Jednostki M_15* na podstawie parametrów dopasowania funkcji błędu do krzywych *Skuteczności Wyzwalania* dla kolejnych kanałów *MAROC 3A* (a), oraz liniowość tej charakterystyki w każdym z nich ((b), linie ograniczające zakres odpowiadają dwóm kanałom o skrajnej charakterystyce, zaś linia wewnętrzna odpowiada zachowaniu innego kanału tego samego ASIC).

4.2.2.2 Selektowność kanałów

Jedną z ważnych cech całego systemu *Dose-3D* ma być możliwość dyskryminacji przestrzennej odczytywanych sygnałów, do czego wymagana jest selektywność odpowiedzi w każdym z kanałów. Aby przekonać się, czy jest to możliwe zbudowano stanowisko pomiarowe wyposażone w *Jednostkę Akwizycji Danych* z MA-PMT, źródło światła laserowego 660 nm *PicoQuant LDH-D-C-660* [290] ze sterownikiem *PDL 800-D* [291]. Przemieszczanie się źródła światła po powierzchni MA-PMT zostało zrealizowane z użyciem statywu oraz precyzyjnego systemu pozycjonowania zbudowanego z urządzeń *8MTF* [292] i *8MT177* [293] firmy *Standa*, które były sterowane dodatkowym oprogramowaniem.

Jednostka została zmodyfikowana w taki sposób, aby w trakcie jej działania nie dochodziło do generowania światła z niepożądanych źródeł m.in przez diody na złączu *Ethernet*. Laser został wstępnie wypozycjonowany, w taki sposób, aby oś wiązki pokrywała się z geometrycznym środkiem kanału MA-PMT. Wielkość generowanej przez niego plamki na powierzchni fotokatody była porównywalna z rozmiarem pojedynczej komórki MA-PMT (2 mm × 2 mm [151]). W takiej konfiguracji strumień światła został dobrany tak, aby kanał, który był oświetlany bezpośrednio generował *Zdarzenia* z częstotliwością 1 kHz.

Całość została umieszczona w zamkniętej ciemni, dodatkowo przykrytej czarnym matowym materiałem. Przykładowe mapy ze *Zliczania Fotonów* uzyskane w wyniku oświetlania różnych kanałów zostały przedstawione na Rys. 4.31. Na ich podstawie można dojść do wniosku, że zbudowany w ten sposób system pomiarowy jest w stanie określić precyzyjnie kanał, w którym oczekuje się największej aktywności (kanały oznaczone krzyżem równoramiennym, które były oświetlane, dają maksymalną odpowiedź równą oczekiwanej liczbie zliczeń tj. 1 kHz). Można jednak zauważyć, że kanały sąsiednie także rejestrowały zliczenia. Wartości te nie przekraczały 7 % aktywności maksymalnej, przy czym jest to kilkukrotnie więcej niż podawane przez producenta MA-PMT przesłuchy wynoszące <1,5 % [151]. Zliczenia te wynikają zatem przede wszystkim z konstrukcji toru optycznego i wielkości plamki generowanej przez laser. *Zdarzenia* peryferyjne, czyli występujące w kanałach niebędących sąsiadami kanału centralnego to najprawdopodobniej zliczenia wynikające z rozproszenia światła laserowego od powierzchni fotokatody oraz innych obiektów znajdujących się w ciemni w trakcie pomiaru.



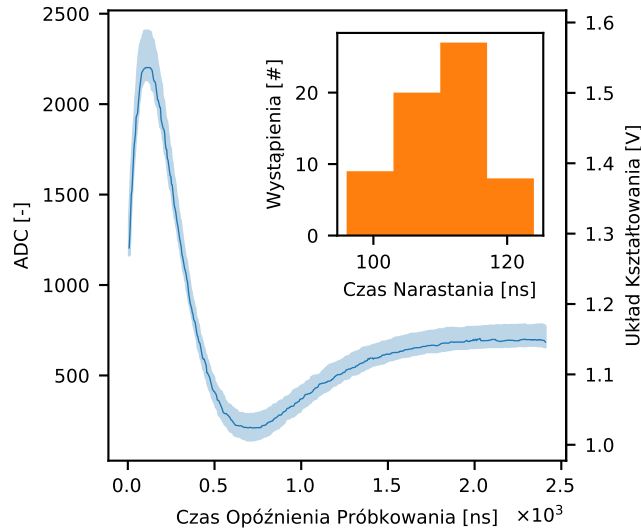
Rys. 4.31: Przykładowe mapy odpowiedzi systemu na naświetlanie poszczególnych komórek MA-PMT bezpośrednio za pomocą lasera o długości fali promieniowania 660 nm. Komórki centralne, leżące w osi wiązki, zaznaczone zostały za pomocą białych markerów. Moc strumienia światła laserowego została dostosowana w taki sposób, aby *Zliczanie Fotonów* dla komórki centralnej raportowało częstotliwość zdarzeń równą 1 kHz. Zaadaptowane z [294].

4.2.2.3 Sygnał analogowy generowany przez MAROC 3A

Kształtowanie sygnału w torze *Pomiaru Napięcia* układu MAROC 3A powinno umożliwić odzyskanie informacji o energii zarejestrowanego w detektorze promieniowania. Energia ta powinna być proporcjonalna do amplitudy sygnału na wyjściu układu kształtowania (Rys. 1.21). Ponadto położenie piku amplitudy powinno być niezależne od sygnału wejściowego (o ile zostanie przekroczona odpowiednia wartość progowa). Wyznaczenie położenia tego piku, a przy okazji kształtu krzywej kształtowania, otrzymuje się zmieniając czas opóźnienia próbkowania ADC dla kolejnych identycznych sygnałów wejściowych. Dla każdego kanału z osobna MAROC 3A *Jednostki* nazwanej M_6 generowany był sygnał *Ctest* o ładunku całkowitym 2 pC. W każdej iteracji zwiększano wspomniane opóźnienie o 4 ns^{18} . Rezultat tak przeprowadzonego

¹⁸Taka kwantyzacja wynika z częstotliwości zegara opóźnienia próbkowania, która jest ustalona na 250 MHz.

pomiaru, dla jednostkowego wzmocnienia wejściowego, został przedstawiony na Rys. 4.32¹⁹. Krzywe dla wszystkich 64 kanałów wyglądają podobnie z widocznym przerzutem poniżej *Poziomu Bazowego*, którego przywrócenie trwa $\sim 1,5 \mu\text{s}$ od osiągnięcia minimum. Maksimum odpowiedzi zachodzi średnio $\sim 110 \text{ ns}$ po zarejestrowaniu sygnału nadprogowego.



Rys. 4.32: Obwiednia kształtu sygnału analogowego generowanego w torze *Pomiaru Napięcia* układu *MAROC 3A Jednostki Akwizycji Danych M_6*. Ciągła linia przedstawia kształt krzywej odpowiedzi dla jednego z kanałów. Dla identycznych ustawień wszystkich kanałów maksima są osiągnięte między 96 ns a 124 ns. Zaadaptowane z [294].

W tym miejscu warto zwrócić uwagę na dwie istotne własności. Po pierwsze przez to, że *Poziom Bazowy* jest niezerowy, właściwa amplituda odczytanego napięcia jest różnicą między wartością odczytanego piksu a *Poziomem Bazowym* tego kanału. Należy wziąć to pod uwagę, porównując ze sobą odpowiedzi uzyskiwane dla różnych sygnałów wejściowych, aby poprawnie zinterpretować relacje między nimi. Po drugie, ze względu na współdzielenie sygnału rozpoczęcia próbkowania ADC przez wszystkie kanały *MAROC 3A*, w pomiarach wykorzystywana jest jedna wartość dla całej *Jednostki Akwizycji Danych*. Uzyskuje się ją na podstawie średniego *Czasu Narastania* we wszystkich kanałach ASIC i zaokrągla do pełnych okresów zegara 4 ns.

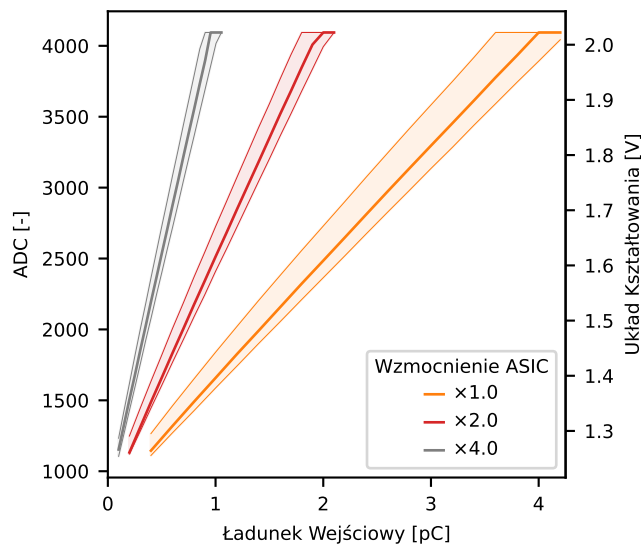
4.2.2.4 Liniowość wzmocnienia

Wykorzystując wejście sygnału *Ctest* egzemplarza *MAROC 3A M_7* sprawdzono liniowość odpowiedzi układu kształtowania w zależności od wzmocnienia oraz ładunku wejściowego C_{in} tak, aby wykorzystać pełen zakres dynamiczny 12-bitowego ADC wbudowanego w *MAROC 3A*. Przykładowe wyniki zostały zebrane na Rys. 4.33. Na ich podstawie można wysnuć

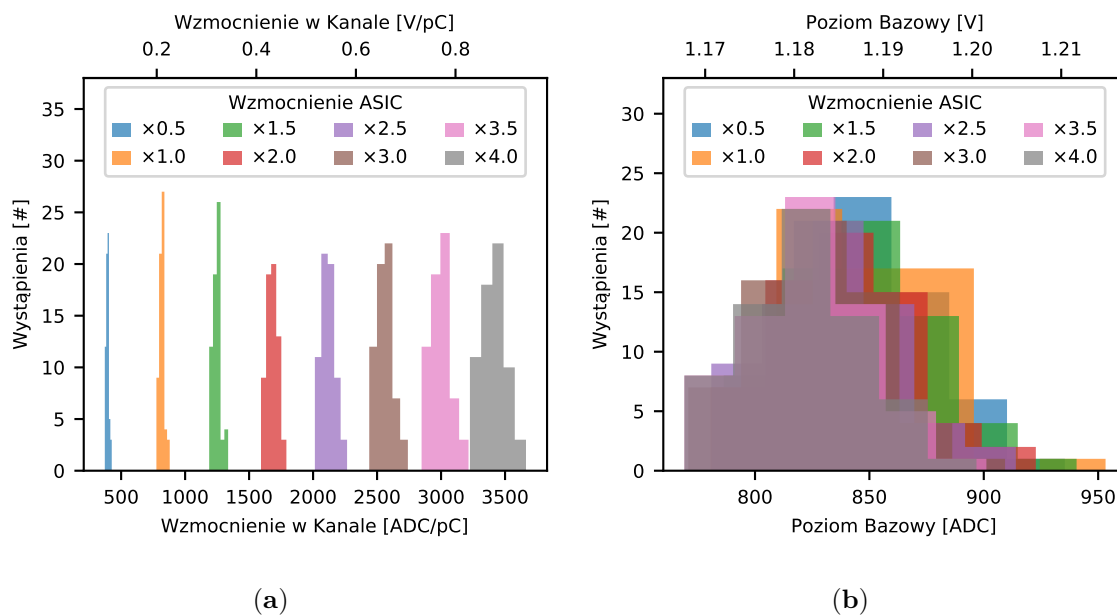
¹⁹Wartość napięcia wygenerowanego w układzie kształtowania sygnału A_V można odzyskać na podstawie odczytanego kodu A_{ADC} (po konwersji do wartości binarnej z reprezentacji w kodzie Gray'a). Dla rozdzielczości 12-bitowej odpowiednia formuła przedstawia się następująco [163]:

$$A_V = 2,57 \times 10^{-4} \frac{V}{ADC} A_{ADC} + 0,97 V. \quad (4.8)$$

wniosek, iż do napięcia wyjściowego 2V wszystkie kanały zachowują się liniowo. Powyżej tej granicy sygnał ulega wysyceniu i osiąga maksymalną wartość, która odpowiada maksymalnemu zakresowi 12-bitowego przetwornika ADC. Do przedstawionych danych dopasowano proste, pomijając punkty pomiarowe, dla których wartość napięcia $>2V$. Jakość odwzorowania danych przez te proste opisywana przez współczynnik determinacji wynosi $R^2 \geq 0,999$. Otrzymane rozkłady obliczonych parametrów zostały przedstawione na Rys. 4.34.



Rys. 4.33: Zakresy krzywych odpowiedzi toru *Pomiaru Napięcia* układu *MAROC 3A M₇* dla wszystkich 64 kanałów w funkcji *Ładunku Wejściowego C_{in}* oraz wzmocnienia. Linie wewnątrz każdego z zakresów dotyczą charakterystyki jednego z kanałów. Zaadaptowane z [294].



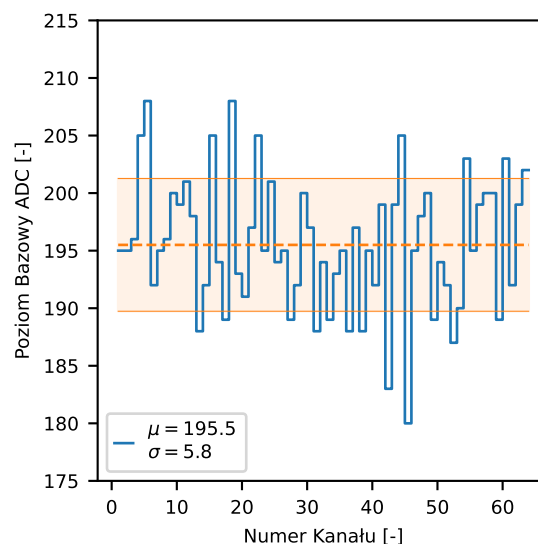
Rys. 4.34: Rozkłady współczynników kierunkowych prostych (a) oraz *Poziomu Bazowego* (b) wynikających z dopasowania do krzywych odpowiedzi układu *M₇* w zależności od wzmocnienia wejściowego sygnału. Zaadaptowane z [294].

W każdym przypadku ustawionego wzmocnienia wejściowego *MAROC 3A* stosunek odchylenia standardowego średniej do wartości średniej rozkładu wartości współczynnika kierunkowego wynikającego z dopasowania nie przekracza 3%. Ponadto rozkłady wartości *Poziomu Bazowego* otrzymanego na podstawie dopasowania prostych do danych w znacznej mierze się pokrywają dla wszystkich badanych wzmocnień sygnału na wejściu układu *MAROC 3A*. Dzięki tym własnościom możliwe jest wykonanie kalibracji toru *Pomiaru Napięcia* tj. umożliwienie obserwacji porównywalnej odpowiedzi na wszystkich kanałach *MAROC 3A* dla identycznego wymuszenia wejściowego.

4.2.2.5 Poziom bazy i kalibracja toru pomiaru napięcia

Poprawne określenie relacji między obserwowanymi sygnałami analogowymi wymaga znajomości *Poziomu Bazowego* danego kanału. Takiego pomiaru nie da się jednak przeprowadzić wprost, gdyż tor *Pomiaru Napięcia* układu *MAROC 3A* nie generuje *Zdarzeń* na podstawie takich sygnałów. To, co natomiast jest możliwe to odczyt wartości zwracanej przez ADC, gdy *Zdarzenie* zostało zarejestrowane przez inny kanał np. w pomiarze wykorzystującym *Ctest*²⁰. Ewentualnie możliwe jest również losowe generowanie wymuszonych sygnałów wyzwalających rozpoczęcie próbkowania ADC za pomocą FPGA. W takim przypadku nie istnieje konieczność wykorzystywania żadnego źródła sygnału wejściowego do *MAROC 3A*.

Dla egzemplarza *MAROC 3A* nazwanego M_19 określono jego *Poziomy Bazowe* jako najczęściej występujące kody ADC w danym kanale, gdy nie wykazywał on aktywności. Uzyskano je na podstawie 5000 pakietów danych dla każdego z kanałów otrzymanych w trakcie jednego z testów wykorzystujących wejście *Ctest* (Rys. 4.35). Pomiar ten wykonano dla kilku napięć zasilających MA-PMT między -800 V a -950 V i nie zauważono istotnych różnic (pojedyncze kanały wykazywały zmienność *Poziomu Bazowego* w obrębie dwóch sąsiednich wartości ADC).



Rys. 4.35: Profil *Poziomu Bazowego* dla 64 kanałów układu *MAROC 3A* M_19. Wartość minimalna i maksymalna wyrażona za pomocą kodu ADC wynosi odpowiednio 180 i 208. Obszar zaznaczony kolorem pomarańczowym obejmuje zakres wartości odpowiadający $\mu \pm \sigma$.

Od tej pory, jeżeli nie zaznaczono inaczej, wszystkie prezentowane wyniki zostały użyte z wykorzystaniem *Jednostki Akwizycji Danych M_19*.

Do pełnej kalibracji toru *Pomiaru Napięcia* oprócz znajomości *Poziomów Bazowych* konieczne jest również wyrównanie wzmocnień poszczególnych kanałów z uwzględnieniem efektów wprowadzanych przez *MAROC 3A* oraz *MA-PMT*. Procedurę tę przeprowadzono z użyciem pełnego toru przetwarzania sygnałów złożonego z *Jednostki Akwizycji Danych* oraz scyntylatora połączonych optycznie za pomocą światłowodu. Źródłem promieniowania pierwotnego był izotop ^{109}Cd wytwarzający promieniowanie fotonowe o energii $\sim 22\text{ keV}$ [295], które w objętości scyntylatora prowadziło do emisji kwantów światła widzialnego o długości fali 470 nm. Powstałe promieniowanie było przekierowywane do kolejnych komórek *MA-PMT* za pomocą manipulatora trójosiowego przesuwającego końcówkę światłowodu po powierzchni fotokatody²¹. *MA-PMT* było zasilane napięciem -950 V , a pomiar w każdym z 64 kanałów z jednostkowym wzmocnieniem wejściowym trwał 15 min. W rezultacie tego pomiaru uzyskano histogramy wystąpienia kodu ADC z uwzględnieniem *Poziomów Bazowych* (Rys. 4.36a). Do każdego z nich dopasowano rozkład normalny, na podstawie którego uzyskano położenie pików μ . Kanał, dla którego otrzymano maksymalną wartość odpowiadającą położeniu jego pików μ_{max} , został wybrany jako referencyjny, zaś współczynniki wzmocnienia wejściowego sygnału dla każdego kanału zostały obliczone jako:

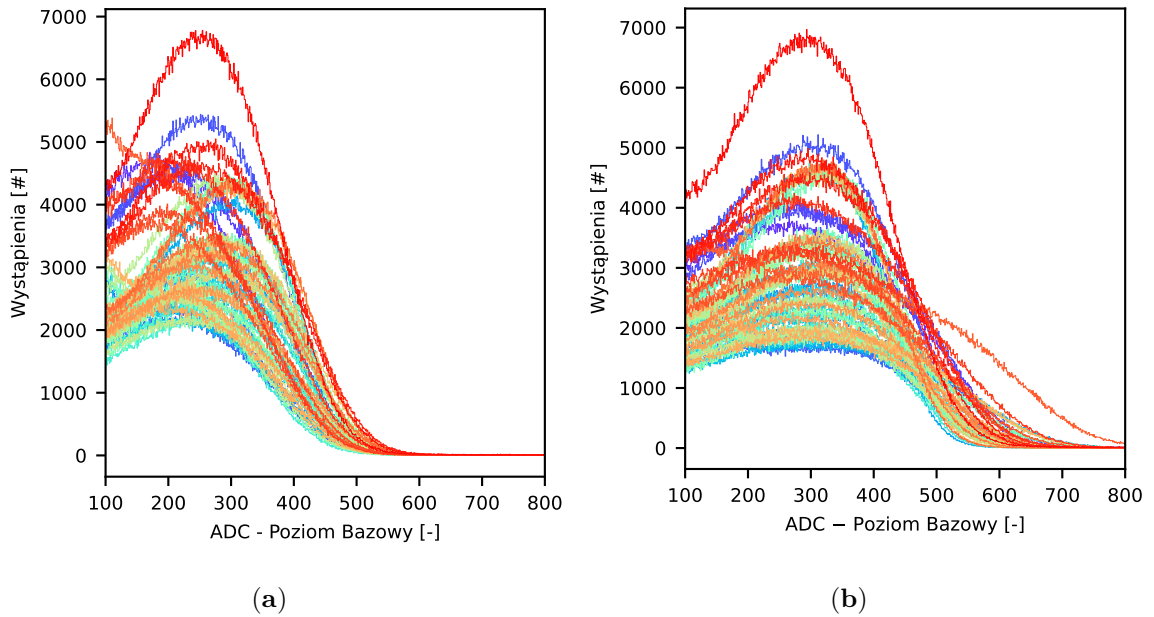
$$K_i = \frac{\mu_{max}}{\mu_i}. \quad (4.9)$$

Ze względu na kwantyzację wzmocnienia za pomocą 8-bitowego DAC współczynniki te były zaokrąglane do najbliższej możliwej wartości z krokiem 0,0156.

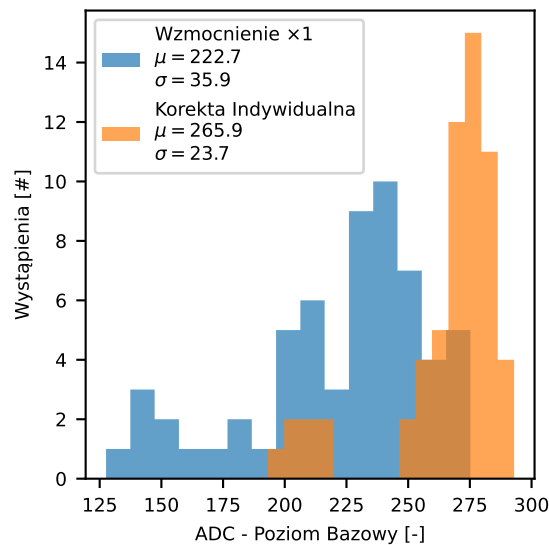
Wspomnianą wyżej procedurę pomiarową powtórzono – tym razem już z wykorzystaniem korekcji, w efekcie czego uzyskano skalibrowane widmo (Rys. 4.36b). Kalibracja w znacznym stopniu pozwoliła wyrównać położenie pików (Rys. 4.37, szerokość głównej części rozkładu wartości oczekiwanej amplitudy sygnału została zredukowana trzykrotnie) i jednocześnie ukazała problemy działania w sumie 11 kanałów tej *Jednostki*. Cztery najmłodsze kanały systemu nie odpowiadały na sygnały wejściowe – te kanały w dalszej części zostały całkowicie wyłączone. Natomiast w przypadku siedmiu pozostałych procedura dopasowująca rozkład normalny do widma nie była w stanie wykonać tego w jednoznaczny sposób, ze względu na kształt histogramu, który znacznie odbiegał od krzywej dzwonowej.

²⁰Wykrycie sygnału nadprogowego na którymkolwiek kanale *MAROC 3A* rozpoczyna konwersję poziomów sygnałów (po czasie wynikającym z ustalonego opóźnienia próbkowania) ze wszystkich 64 kanałów bez względu na stan ich *Układu Kształtowania*. *MAROC 3A* wysyła przy tym do FPGA informację cyfrową, które kanały spowodowały wygenerowanie tych danych. Przeszukując zapisane dane pomiarowe, można odnaleźć te ramki danych, dla których dany kanał zwrócił efektywnie wartości odpowiadające jego *Poziomowi Bazowemu*.

²¹Podobnie jak miało to miejsce w przypadku pomiaru *Zliczania Fotonów* z wykorzystaniem lasera.

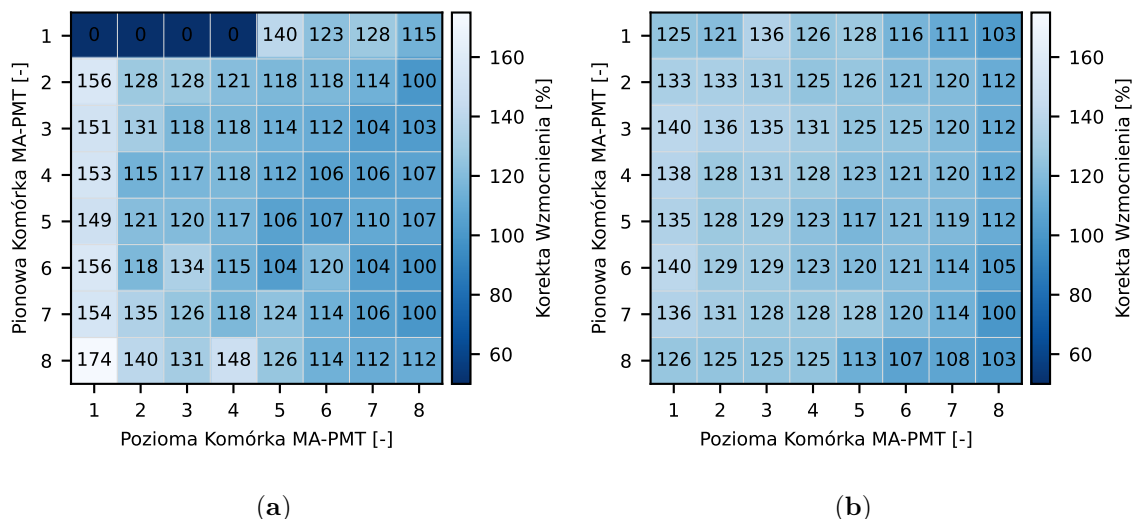


Rys. 4.36: Widma otrzymywane z *Pomiaru Napięcia* przed (a), oraz po (b) kalibracji wzmocnienia wejściowego sygnału przy wykorzystaniu izotopu ^{109}Cd jako źródła promieniowania pierwotnego padającego na scyntylicator. Widma te zostały wyrównane względem kanału, dla którego dopasowanie rozkładu normalnego do rozkładu kodów ADC w nieskalibrowanym pomiarze dało największą wartość średnią μ_{max} .



Rys. 4.37: Rozkład położenia pików średniej amplitudy w torze *Pomiaru Napięcia* przed i po kalibracji wzmocnienia wejściowego.

Porównanie otrzymanej w tej procedurze macierzy kalibracji całego toru pomiarowego z macierzą kalibracji właściwą dla samego MA-PMT (Rys. 4.38) prowadzi do wniosku, że informacja producenta jest jedynie wskazówką, czego można oczekiwać po danym egzemplarzu MA-PMT. Sam układ MAROC 3A jest odpowiedzialny za wprowadzanie dodatkowych niejednorodności wzmocnienia, co zostało pokazane wcześniej (Rys. 4.34). Wszelkie pomiary kalibracyjne powinny być zatem wykonywane wspólnie dla każdej pary MAROC 3A– MA-PMT.



Rys. 4.38: Macierz kalibracji wzmocnienia właściwa dla *Pomiaru Napięcia* za pomocą *Jednostki Akwizycji Danych M_19* (a), oraz macierz kalibracji wzmocnienia samego MA-PMT otrzymana od producenta (b) [296]. Podane wartości są wyrażone procentowo względem kanału charakteryzującego się maksymalnym wzmocnieniem własnym. Wartość 100% oznacza wzmocnienie jednostkowe, natomiast pozostałe wartości sugerują, jak wysokie powinno być wzmocnienie wejściowe każdego z kanałów. Cztery kanały systemu zostały wyłączone ze względu na nieprawidłowe działanie.

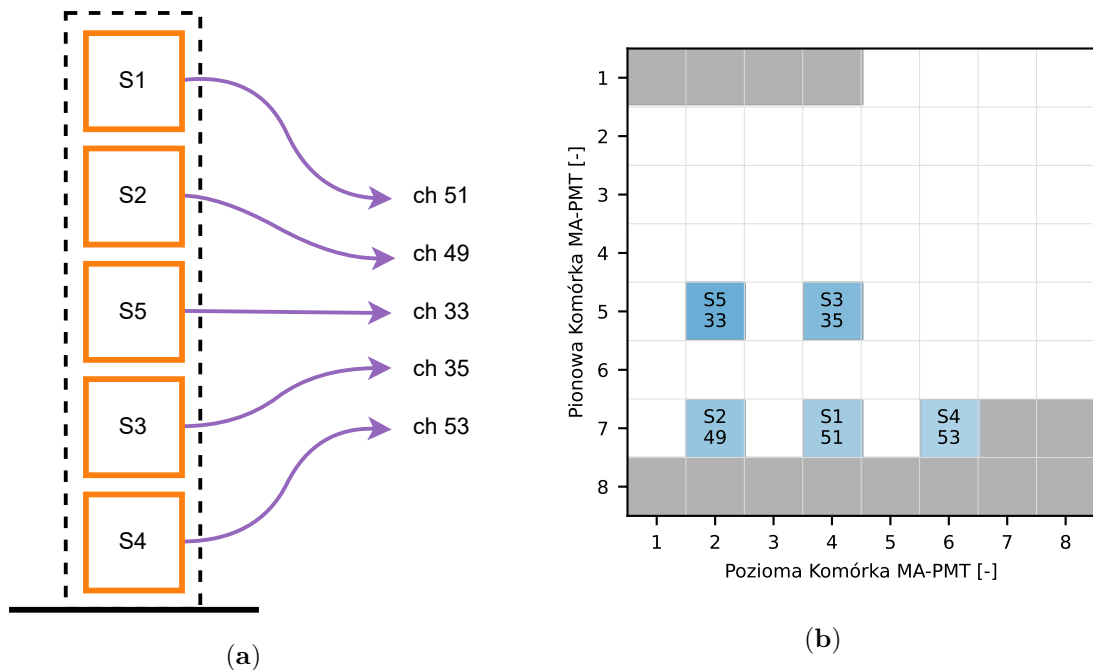
4.2.3 Testy prototypu systemu *Dose-3D* z wykorzystaniem akceleratora *TrueBeamTM* w Narodowym Instytucie Onkologii w Krakowie

Pełen tor pomiarowy składający się z prototypowego fantomu, światłowodów, *Jednostki Akwizycji Danych* oraz najnowszego oprogramowania DAQ został przetestowany w warunkach docelowych w Narodowym Instytucie Onkologii w Krakowie (Rys. 4.39). Źródłem promieniowania fotonowego był akcelerator *TrueBeamTM* pracujący w trybie 6 MV [133, 142]. Naświetlał on specjalnie do tego przygotowany fantom, będący stosiem pięciu kostek scyntylacyjnych [144], każda o boku 1 cm (Rys. 4.40). Wygenerowane w ich objętości fotony w wyniku absorpcji promieniowania rentgenowskiego były transportowane światłowodami do MA-PMT zamontowanego na *Jednostce Akwizycji Danych*. Każdy scyntylator był połączony z dokładnie jedną komórką MA-PMT, jednak tylko w przypadku trzech kostek uzyskano satysfakcjonujące połączenie mechaniczne (tj. S1, S2 oraz S3). Izolacja MA-PMT od światła otaczającego została zrealizowana za pomocą specjalnie do tego przygotowanych elementów wykonanych technologią druku 3D [297].

W opisywanych pomiarach wykorzystano *Jednostkę M_19*, której tor *Pomiaru Napięcia* został wcześniej skalibrowany (Rys. 4.37). Jest to urządzenie prototypowe, którego jednym z ograniczeń jest brak możliwości odczytu *Zdarzeń* z toru *Zliczania Fotonów* dziesięciu najstarszych kanałów *MAROC 3A*. Razem z wcześniej wykrytym problemem z czterema innymi kanałami, do pełnej dyspozycji zostało 50 źródeł sygnałów cyfrowych i 60 analogowych.



Rys. 4.39: Ułożenie prototypowego fantomu na stole do naświetlania TrueBeam™ (a), oraz jego połączenie z Jednostką Akwizycji Danych (b), która znajdowała się obok stołu poza bezpośrednim oddziaływaniem wiązki promieniowania z akceleratora. Elementy mechaniczne umożliwiające połączenie scyntylatorów z MA-PMT oraz zapewniające nieprzepuszczalność otaczającego światła zostały wykonane metodą druku 3D.

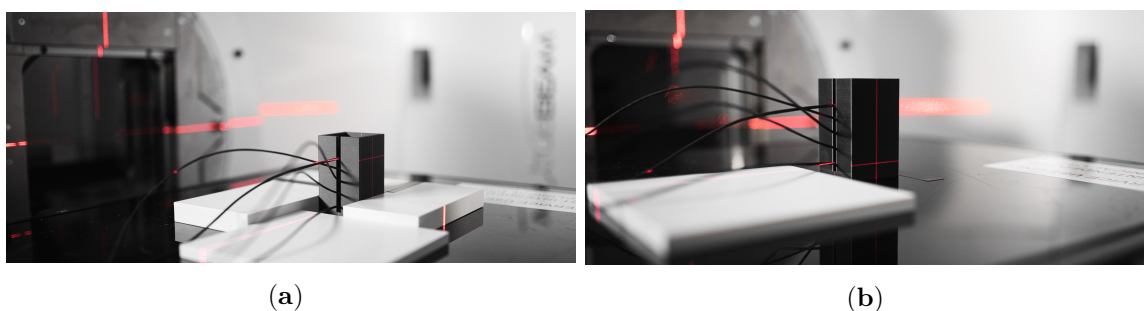


Rys. 4.40: Konfiguracja stosu plastikowych scyntylatorów prototypowego fantomu (a) oraz maska dostępnych kanałów (b). Do skonstruowania fantomu wykorzystano pięć sześciennych kostek scyntylatora plastikowego o boku długości 1 cm. Jedna ze ścianek każdego z nich miała podłączony światłowód, którego drugi koniec znajdował się przy powierzchni fotokatody MA-PMT nad odpowiednią komórką. Numer kanału MAROC 3A odpowiadający danemu fizycznemu położeniu w przestrzeni MA-PMT oblicza się jako $N_{ch} = 8(h - 1) + (v - 1)$, gdzie h oraz v to odpowiednio indeks pionowy, oraz poziomy komórki zgodny z oznaczeniami na rysunku. Scyntylatory S4 oraz S5 charakteryzowały się najmniej dokładnym mechanicznym i optycznym połączeniem z Jednostką Akwizycji Danych. Cztery kanały pomiarowe układu MAROC 3A były wyłączone permanentnie ze względu na problemy z ich działaniem. Dziesięć kolejnych nie umożliwia odczytu wartości ze Zliczania Fotonów, ponieważ używana w pomiarze prototypowa Jednostka nie posiada odpowiednich połączeń między MAROC 3A a FPGA do obsługi tej funkcjonalności. W sumie 14 kanałów Jednostki Akwizycji Danych było niesprawnych (zaznaczone kolorem szarym na mapie (b)).

4.2.3.1 Selektywność odpowiedzi w polu promieniowania akceleratora

Głowica akceleratora oraz MLC zostały ustawione w taki sposób, aby generowane promieniowanie trafiało selektywnie na pojedynczy sześcian scyntylatora (tj. oś promieniowania była równoległa do powierzchni stołu, na którym stał fantom, Rys. 4.41). Urządzenie *TrueBeamTM* pracowało z potencjałem przyspieszającym 6 MV, generując przy tym promieniowanie o mocy dawki 400 $\frac{\text{MU}}{\text{min}}$.

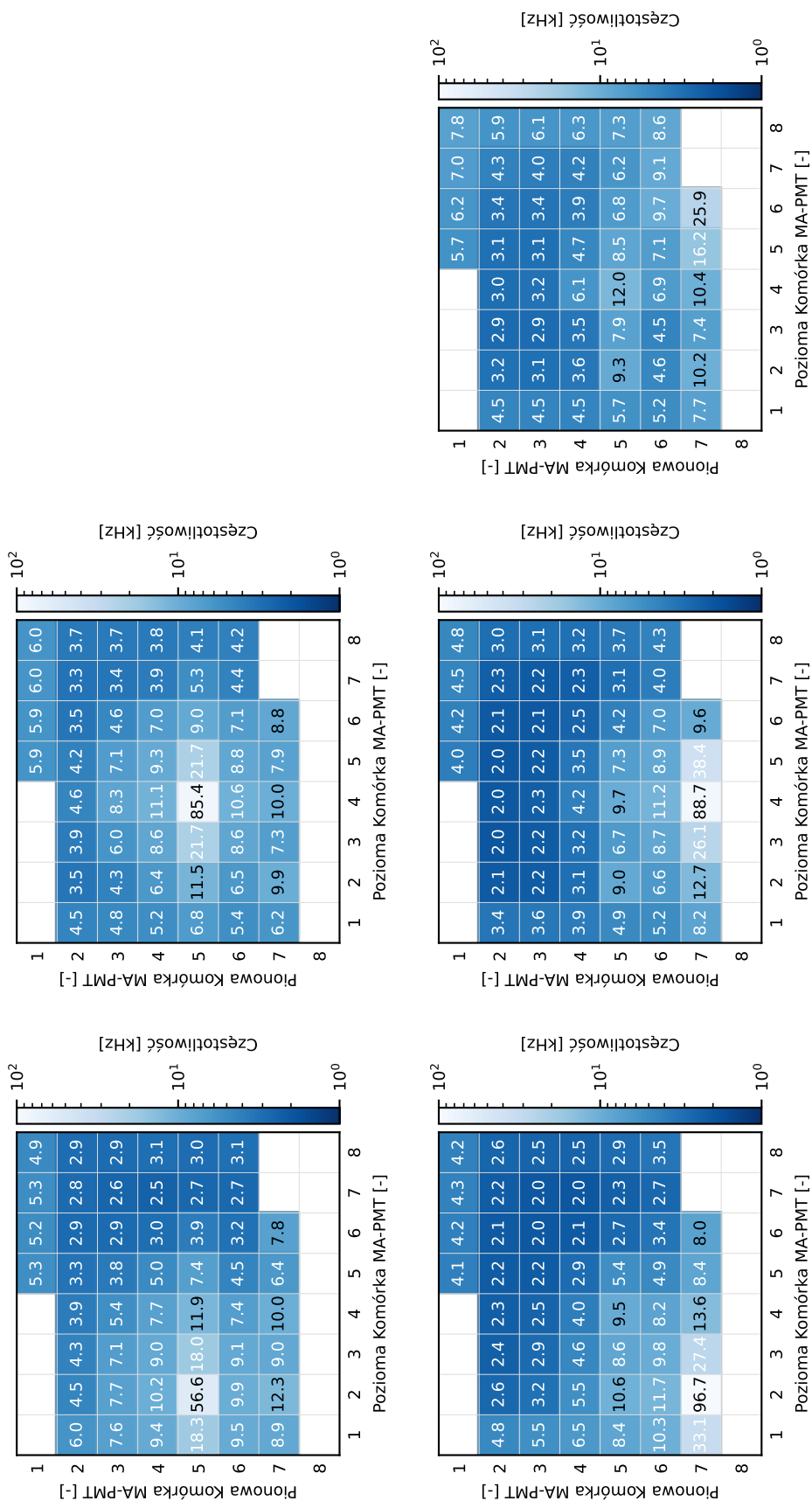
Naświetlanie pojedynczego scyntylatora trwało 60 s. Mapy średniej częstotliwości rejestracji *Zdarzeń z toru Zliczania Fotonów* przez system pomiarowy w przestrzeni MA-PMT zostały pokazane na Rys. 4.42. Dane służące do utworzenia każdej z tych map zostały zebrane przy naświetlaniu pojedynczego scyntylatora – tego, dla którego raportowana średnia częstotliwość zliczeń jest największa.



Rys. 4.41: Naświetlanie selektywne poszczególnych scyntylatorów składowych prototypowego fantomu. Głowica akceleratora została obrócona w taki sposób, aby wytwarzana przez nią wiązka promieniowania padała równoległe do płaszczyzny stołu. Dzięki temu wąskie pole uformowane przez MLC trafiało na wybraną kostkę. Światło lasera wskazuje położenie centrum osi wiązki, które koncentruje się na scyntylatorze S1 (a) oraz S4 (b).

Uzyskane obrazy potwierdzają wstępne wnioski związane z oczekiwaną wydajnością rejestracji przez scyntylatory S4 oraz S5. Brak odpowiedniego mechanicznego oraz optycznego połączenia między scyntylatorem a MA-PMT znacznie zmniejszył możliwość detekcji. Stosunkowo wiele zliczeń (do 43 % względem kanału centralnego) obserwowanych jest przez bezpośrednich sąsiadów komórki MA-PMT, która miała kontakt ze światłowodem. Jest to gorszy rezultat w porównaniu do podobnych wyników otrzymanych w laboratorium z wykorzystaniem światła laserowego (również pod względem *Zdarzeń* na kanałach peryferyjnych) (Rys. 4.31). Jednak w tamtym przypadku nie występował problem związany z montażem światłowodów. Na pewno jest to ten obszar całego projektu, który będzie wymagał dopracowania.

Ponadto pomimo selektywności naświetlania w otrzymanych mapach można zauważyć wpływ rozproszonego promieniowania w fantomie. Dla przykładu scyntylator S5 znajdujący się w środku stosu (Rys. 4.40) generował podczas bezpośredniego napromienienia *Zdarzenia* ze średnią częstotliwością 56,6 kHz (Rys. 4.42, lewy górny). W tym samym pomiarze S2, który był jednym z dwóch najbliższych sąsiadów S5 w fantomie, uzyskał 12,3 kHz. Jednocześnie w przestrzeni MA-PMT odpowiadające im kanały odczytowe były oddzielone rzędem komórek, do których nie był podłączony żaden światłowód, a każda z nich miała mniejszą częstotliwość *Zdarzeń* niż S2. Podobny efekt można dostrzec dla pozostałych par scyntylatorów, również niebędących bezpośrednimi sąsiadami w fantomie (np. S4–S2).

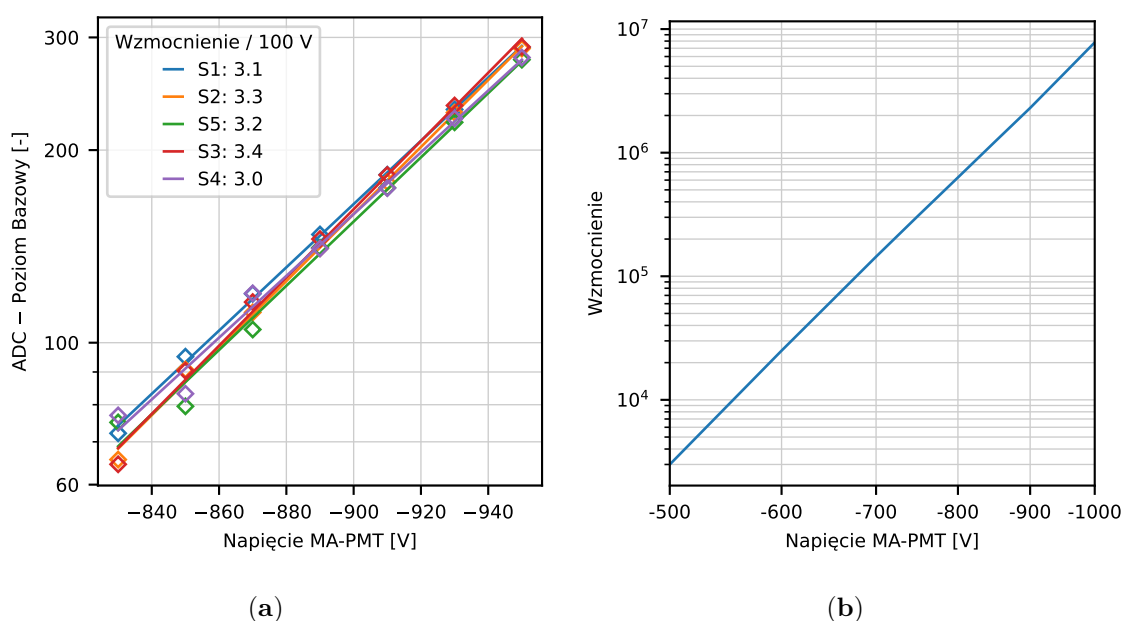


Rys. 4.42: Selektywność odpowiedzi toru *Zliczania Fotonów* przy naświetlaniu poszczególnych scyntylatorów osobno boczną wiązką promieniowania rentgenowskiego z akceleratora *TrueBeam™*. Pola białe to kanały, które zostały zidentyfikowane w fazie kalibracji jako niesprawne oraz te, dla których nie ma fizycznych połączeń między *MAROC 3A* a *FPGA*. Moc dawki promieniowania wynosiła $400 \frac{\text{MU}}{\text{min}}$, *MA-PMT* zasilane było napięciem -950 V .

4.2.3.2 Odpowiedź w funkcji napięcia zasilającego fotopowielacza

Amplituda sygnału odczytywanego przez *Pomiar Napięcia* w wyniku emisji elektronu z powierzchni fotokatody powinna charakteryzować się wzrostem potęgowym (Równ. (1.14)).

Wiązka promieniowania rentgenowskiego z akceleratora o mocy dawki $400 \frac{\text{MU}}{\text{min}}$ przy ustawieniu potencjału 6 MV padała prostopadłe do powierzchni stołu, na którym stał stos scyntylatorów. W ten sposób wysokoenergetyczne promieniowanie przechodziło w jednym pomiarze przez wszystkie sześciany. Zakres napięcia zasilania MA-PMT zmieniano od -830 V do -950 V . Do otrzymanego spektrum odpowiedzi z toru *Pomiaru Napięcia* w każdym z pięciu kanałów, do których były podłączone światłowody, dopasowano rozkład normalny. Uzyskane w ten sposób wartości średnie po odjęciu *Poziomów Bazowych* traktowano jako amplitudy odpowiedzi dla danego napięcia zasilania i wyrysowano je na Rys. 4.43a.



Rys. 4.43: Amplituda obserwowanego sygnału w funkcji napięcia zasilania MA-PMT ((a); markerami oznaczono dane, zaś linia tego samego koloru odpowiada prostej dopasowanej do nich metodą najmniejszych kwadratów). Porównanie z danymi katalogowymi producenta ((b), zaadaptowane z [151]).

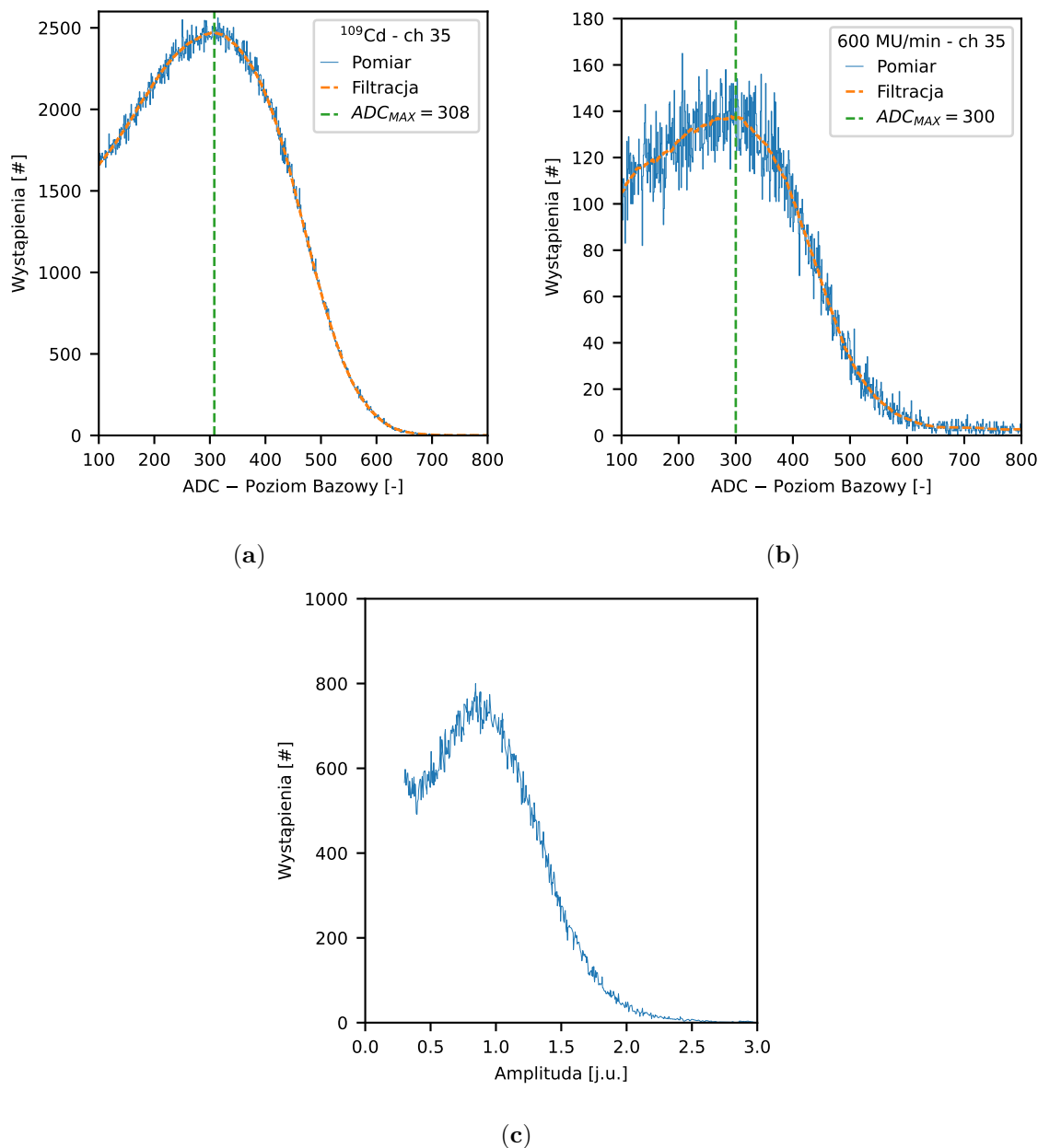
W wyniku przedstawionej procedury otrzymano rezultaty, które są bardzo zbliżone do siebie dla wszystkich pięciu kanałów niezależnie od jakości połączenia z fantomem. Zwiększenie różnicy potencjałów MA-PMT o 100 V prowadzi do 3 – 3,5-krotnego przyrostu amplitudy. Natomiast na podstawie noty katalogowej tego urządzenia wynika, że w zbadanym zakresie napięć można spodziewać się, że będzie to wartość bliższa 4 (Rys. 4.43b). Producent podaje w tym przypadku *zachowanie typowego urządzenia*, jednak nie specyfikuje, co to oznacza. Nie dostarcza również charakterystyki wzmocnienia danego egzemplarza po zakupie. Uznano zatem, że MA-PMT działa poprawnie, zgodnie z ogólną wiedzą dotyczącą fizycznych podstaw wzmocniania sygnałów przez tego typu urządzenia.

4.2.4 Analiza widma energetycznego uzyskiwanego w pomiarach

W dotychczasowych rozważaniach dotyczących toru *Pomiaru Napięcia* w systemie *Dose-3D* posługiwano się głównie wartością średnią amplitudy sygnału z układu kształtowania otrzymywaną na podstawie dopasowania rozkładu normalnego do danych. Jedynie przy okazji kalibracji *Jednostki Akwizycji Danych M_19* za pomocą radioizotopu zaprezentowano zbiorczo otrzymane widma, celem wizualizacji poprawności przeprowadzonej procedury (Rys. 4.36). Dla przypomnienia pomiar ten wykonywany był poprzez naświetlanie scyntylatora plastikowego monoenergetycznym promieniowaniem o energii ~ 22 keV pochodzącym z rozpadu ^{109}Cd . Drugi koniec światłowodu, podłączonego do scyntylatora, był przesuwany po powierzchni MA-PMT zasilanego napięciem -950 V, a ekspozycja każdego kanału trwała 15 min. Znając współczynnik konwersji promieniowania w scyntylatorze $\eta_s \simeq 7000 \frac{1}{\text{MeV}}$ [144] średnio każdy z kwantów promieniowania pierwotnego powinien wygenerować $\bar{N}_{out} \simeq 155$ fotonów. Kwanty te z punktu widzenia MA-PMT powinny być rozpoznawane jako jednoczesne, gdyż czas jego odpowiedzi ~ 2 ns [151] jest porównywalny z czasem wyświecania scyntylatora < 2 ns [144]. Uwzględniając wydajność kwantową MA-PMT (Rys. 1.20), odczytywana przez *MAROC 3A* amplituda sygnału powinna być proporcjonalna do średnio 31 fotoelektronów. Jak się jednak okazuje, kształt widma oraz jego położenie względem *Poziomu Bazowego* jest zbliżone do tego, jakie zarejestrowano na podstawie widma polienergetycznego z akceleratora *TrueBeamTM* (Rys. 4.44). Wykresy przedstawiają widma sygnału na podstawie ^{109}Cd (Rys. 4.44a) oraz ciągłego widma rentgenowskiego (Rys. 4.44b) dla tego samego kanału. W obu tych przypadkach częstotliwość rejestracji *Zdarzeń z Pomiaru Napięcia* jest zbliżona do 1 kHz.

Jedynym wyjaśnieniem obserwowanej sytuacji jest to, że każde z obserwowanych *Zdarzeń* odpowiada rejestracji pojedynczego fotonu. Teorię tę potwierdza widmo jednofotonowe dostarczone przez producenta MA-PMT (Rys. 4.44c), gdzie widoczny jest szeroki pik skoncentrowany w pobliżu progu detekcji.

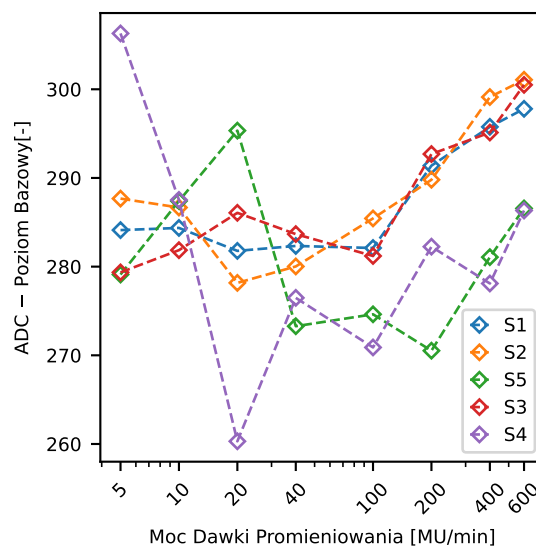
Powyższe oznacza, że w obecnym stanie podsystemu odpowiedzialnego za akwizycję i transport światła ze scyntylatorów nie jest możliwe otrzymanie widma spektrometrycznego. Cokolwiek nie będzie źródłem promieniowania pierwotnego, zawsze otrzyma się identyczne widmo związane z tym, że do powierzchni MA-PMT docierają pojedyncze fotony.



Rys. 4.44: Porównanie widm sygnału analogowego z toru *Pomiaru Napięcia* uzyskane dla *Jednostki Akwizycji Danych M_19* dla tego samego kanału z przykładowym referencyjnym widmem jednofotonowym. (a) Pomiar kalibracyjny pełnego toru pomiarowego z wykorzystaniem izotopu ^{109}Cd jako źródła promieniowania fotonowego. (b) Widmo amplitudowe otrzymane w wyniku naświetlania prototypowego fantomu wiązką promieniowania rentgenowskiego z akceleratora *TrueBeamTM*. (c) Przykładowe widmo sygnału wytwarzanego przez MA-PMT w wyniku wygenerowania pojedynczego fotoelektronu przez fotokatodę; zaadaptowane z [151]. Kolorem niebieskim narysowano histogramy sygnału, natomiast przerywana zielona linia pokazuje wartość amplitudy sygnału, która występowała najczęściej (dane wejściowe poddano filtracji algorytmem Savitzky'iego-Golay'a [298, 299], efekt pokazany pomarańczową linią przerywaną).

4.2.5 Odpowiedź w funkcji mocy dawki promieniowania rentgenowskiego generowanego w akceleratorze *TrueBeamTM*

Dla ustalonych parametrów pomiaru zmiana mocy dawki wysokoenergetycznego promieniowania z punktu widzenia *Jednostki Akwizycji Danych* powinna manifestować się wprost proporcjonalną zmianą liczby *Zdarzeń* przy zachowaniu identycznego widma energetycznego²². Akcelerator, podobnie jak w przypadku określenia charakterystyki wzmocnienia MA-PMT, nasświetlał cały fantom jednocześnie wiązką 6 MV prostopadłą do płaszczyzny stołu. Moc dawki była zmieniana od $5 \frac{\text{MU}}{\text{min}}$ do $600 \frac{\text{MU}}{\text{min}}$, a pomiar dla danej konfiguracji wiązki trwał 60 s. MA-PMT zasilane było napięciem -950 V . Wyniki dla toru *Zliczania Fotonów* oraz *Pomiaru Napięcia* zostały przedstawione na Rys. 4.45.



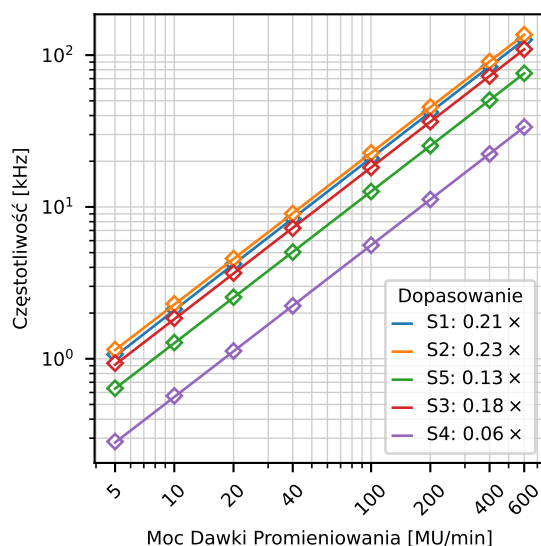
Rys. 4.45: Średnia amplituda odpowiedzi w funkcji zaabsorbowanej mocy dawki w scyntylatorze (od średniej wartości odczytanego ADC odjęto wartość poziomu bazowego w danym scyntylatorze). Punkty pomiarowe zostały połączone ze sobą dla łatwiejszego dostrzeżenia ewentualnych trendów. Dla mocy dawki promieniowania $\geq 100 \text{ MU/min}$ średnie amplitudy pików odpowiedzi nieznacznie rosną, co może być spowodowane długim czasem kształtowania sygnału w układzie *MAROC 3A* i w efekcie skutkujące nakładaniem się *Zdarzeń*.

Wynik otrzymany za pomocą toru *Pomiaru Napięcia* nie jest jednoznaczny. Zachowanie scyntylatorów *S4* oraz *S5* dla mocy dawki poniżej $40 \frac{\text{MU}}{\text{min}}$ można wytłumaczyć niską statystyką spowodowaną gorszym kontaktem mechanicznym i optycznym z MA-PMT, co utrudniało poprawne określenie średniej wartości położenia pików napięcia. Natomiast w przypadku pozostałych scyntylatorów tj. *S1*, *S2* oraz *S3* od mocy dawki $100 \frac{\text{MU}}{\text{min}}$ można próbować doszukiwać się rosnącego trendu amplitudy rejestrowanego średniego sygnału (wzrost $\sim 7\%$ między $100 \frac{\text{MU}}{\text{min}}$ do $600 \frac{\text{MU}}{\text{min}}$ dla *S3*). Może to oznaczać, że częstotliwość sygnałów jest na tyle duża, że układ kształtowania toru *Pomiaru Napięcia MAROC 3A* nie osiąga poziomu bazowego, zanim na jego wejściu pojawi się kolejny sygnał. W ten sposób mogłoby dochodzić do nakładania się impulsów i przekłamań odczytywanych danych. Jednakże znajomość szerokości

²²Spektrum promieniowania jest identyczne, zmianie ulega jedynie częstotliwość jego absorpcji w fantomie.

rozkładów dla przypadków jednofotonowych (na podstawie Rys. 4.44) nie pozwala stwierdzić tego jednoznacznie.

Z drugiej strony informacja z toru *Pomiaru Napięcia* nie będzie potrzebna do określenia dawki pochłoniętej, ponieważ uzyskano liniową zależność liczby *Zdarzeń* w torze *Zliczania Fotonów* co zostało zobrazowane na Rys. 4.46. Wynik ten został otrzymany w szerokim zakresie mocy dawek (tj. od 5 MU/min do 600 MU/min wykorzystywanych także podczas terapii pacjentów). Ponadto obserwacja ta dotyczy wszystkich napromienionych scyntylatorów, niezależnie od jakości interfejsów optycznych między fantomem a MA-PMT. Oczywiście, w każdym przypadku współczynniki kierunkowe dopasowanych prostych α_i do danych są różne, jednak wyrazy wolne β_i są bliskie zeru w granicy błędu. Szczegóły dotyczące parametrów dopasowania, ich niepewności oraz odwzorowania danych przez prostą, wyrażoną przez $1 - R^2$, gdzie R^2 jest współczynnikiem determinacji, przedstawia Tab. 4.3.



Rys. 4.46: Częstotliwość rejestracji *Zdarzeń* w kanałach w funkcji zaabsorbowanej dawki w scyntylatorze. Punktami zaznaczono dane, natomiast proste tego samego koloru zostały uzyskane poprzez dopasowanie metodą najmniejszych kwadratów.

Tab. 4.3: Parametry dopasowania prostych do danych otrzymanych w wyniku napromienienia scyntylatorów dawką o zmiennej mocy. W każdym przypadku odchylenie współczynnika determinacji R^2 od jedności nie przekracza 4×10^{-6} , co świadczy o proporcjonalności odczytywanej liczby zliczeń w funkcji mocy dawki promieniowania. Wartości wyrazów wolnych β_i są bliskie zeru w granicy błędu.

Scyntylator	$\alpha_i \left[\frac{\text{kHz} \times \text{min}}{\text{MU}} \right]$	$\beta_i [\text{kHz}]$	$1 - R^2$
S1	$0,2102 \pm 10^{-4}$	$-0,01 \pm 0,03$	$1,557 \times 10^{-6}$
S2	$0,2271 \pm 10^{-4}$	$0,01 \pm 0,04$	$2,113 \times 10^{-6}$
S5	$0,1263 \pm 10^{-4}$	$0,004 \pm 0,01$	$9,928 \times 10^{-7}$
S3	$0,182 \pm 10^{-4}$	$0,004 \pm 0,02$	$1,408 \times 10^{-6}$
S4	$0,056 \pm 10^{-4}$	$0,001 \pm 0,01$	$3,951 \times 10^{-6}$

Oznacza to, że wiedza dotycząca liczby Zdarzeń N_i , przy znajomości współczynnika proporcjonalności dla konkretnego kanału systemu α_i , jest wystarczająca do poznania depozytu energetycznego D_i .

$$D_i = \alpha_i N_i \quad (4.10)$$

Tym samym pokazano, że główne założenie projektu Dose-3D, czyli budowa wielokanałowego systemu do określenia przestrzennego rozkładu dawki na potrzeby radioterapii fotonowej jest jak najbardziej osiągalna.

4.3 Podsumowanie

Zaprezentowane w tym rozdziale wyniki stanowią jedynie wycinek danych zarejestrowanych przy pomocy obu opisywanych systemów. Oba systemy, *Neurostim-3* oraz *Dose-3D* oczekują na swoje pełne raporty techniczne, które dokonałyby ich charakterystyki w szerokim zakresie.

4.3.1 System *Neurostim-3*

Większość opisanych tutaj testów *Neurostim-3* została w międzyczasie przedstawiona w publikacji [85]. Ponadto, zostały one rozszerzone o dane dla ASIC z drugiej generacji (v4_1, v4_2) oraz o wybrane wyniki biologiczne, które zostały uzyskane przy użyciu pełnej (tj. 512-kanalowej) wersji systemu. Opisy eksperymentów ze zwierzętami uproszczono do opisu zjawisk zachodzących na tej samej MEA, głównie dlatego, że w ocenie Autora jest to wystarczające, aby ukazać możliwości *Neurostim-3* jako narzędzia do jednoczesnej rejestracji aktywności i stymulacji elektrycznej tkanki nerwowej. O ile testy laboratoryjne sprawdzające wydajność oprogramowania czy jakość przetwarzania danych analogowych przez poszczególne ASIC są dość przewidywalne i powtarzalne, tak nie można tego powiedzieć o eksperymentach ze zwierzętami. Nawet jeśli proces przygotowania zwierzęcia obejmujący jego uśpienie oraz implantację elektrod przejdzie bez zakłóceń, nie ma gwarancji, że uda się zaobserwować złożone sygnały w odpowiedzi na stymulację elektryczną (zwłaszcza między MEA umiejscowionymi w różnych strukturach mózgu). Przełożenie MEA w inne miejsce w mózgu też jest kłopotliwe, głównie przez nadmiarową ingerencję w tkankę. W praktyce stosowano jedynie zagłębienie elektrod, tak jak miało to miejsce w jednym z opisanych eksperymentów.

Opracowane oprogramowanie *Neurostim-3* pozwoliło na pracę zarówno w środowisku testowym, jak i na potrzeby pomiarów z gryzoniami, co należy uznać za sukces. Dzięki niemu zmierzono jakość przetwarzania sygnałów przez ASIC i ustalono, że jest on w stanie przesyłać sygnały z zakresu częstotliwości poniżej 1 Hz do 20 kHz (Rys. 4.7, Rys. 4.8), co pokrywa się pasmami LFP oraz AP. Omawiany sprzęt charakteryzuje się poziomem szumów porównywalnym lub lepszym od podobnych rozwiązań (Rys. 4.4). Ponadto oferuje kilka użytecznych poziomów wzmocnienia, jednak jego jednorodność między kanałami tego samego ASIC mogłaby być lepsza (Rys. 4.13). Podsystem odpowiedzialny za generowanie prądu stymulacyjnego jest zaawansowany i pozwala tworzyć w przewidywalny sposób przebiegi o dowolnym kształcie na którymkolwiek z kanałów (Rys. 4.6). W połączeniu z przygotowanym oprogramowaniem umożliwia to np. zbadanie krzywej impedancji elektrod przed ich implantacją (Rys. 4.9) oraz przede wszystkim na wywoływanie sztucznej aktywności mózgu (Rys. 4.22, Rys. 4.25). Zaprezentowane rezultaty biologiczne na podstawie rejestracji, stymulacji zewnętrznej oraz wbudowanej w *Neurostim-3* są w zgodzie z tym, co można znaleźć w literaturze.

Wszystko to w połączeniu z możliwością łączenia różnych MEA w jednym eksperymencie sprawia, że system *Neurostim-3* może stanowić wszechstronne narzędzie wykorzystywane w badaniach elektrofizjologicznych. Dane pozyskane z jego pomocą mają szansę poszerzyć wiedzę na temat mechanizmów przetwarzania informacji w mózgu.

4.3.1.1 Spostrzeżenia

Globalne spojrzenie na zaprezentowany system *Neurostim-3* do przeprowadzania badań elektrofizjologicznych poparte dotychczasowymi wrażeniami z jego użytkowania pozwala wyliczyć jego pewne cechy szczególne.

Po pierwsze *Neurostim-3* zapewnia duży poziom elastyczności w zakresie współpracy z pasywnymi sondami dostępnymi komercyjnie. Wystarczy przygotować AB wyposażone w odpowiednią liczbę ASIC oraz właściwe złącze, aby móc wykorzystać dany typ MEA w eksperymencie. Co więcej, z punktu widzenia IB nie ma znaczenia, jakiego typu AB są z nim połączone, dzięki czemu możliwe jest wykorzystywanie różnych konfiguracji w tym samym pomiarze (wiele najnowszych wielokanałowych systemów tego typu jest dedykowane obsłudze jednego konkretnego typu MEA). Niestety elastyczność *Neurostim-3* pod tym względem ma swoją cenę. Wykorzystanie złącz umożliwiających podłączenie MEA zwiększa masę i gabaryty AB. Pod tym kątem sondy aktywne cechują się znaczną przewagą, udostępniając w ręce badaczy narzędzie, dzięki któremu można badać aktywność mózgu zwierząt w trakcie ich normalnej aktywności ruchowej. Niestety AB o wymiarach porównywalnych z wielkością i niejednokrotnie masą samego zwierzęcia nie zapewniają takich możliwości.

Po drugie *Neurostim-3* gwarantuje synchroniczną pracę wszystkich kanałów – włącznie z *Wejściami Testowymi*, które są używane w roli sygnałów wyzwalających. Uzyskiwane jest to poprzez dystrybucję zegara przez IB do wszystkich AB (należy w tym miejscu dbać o jednakową długość kabli je łączących) oraz synchronizację odczytu próbek sygnałów wykonywaną przez ASIC. Dzięki temu dane, które są zapisywane, są łatwe w użyciu i nie wymagają korekty ze względu na przesunięcia czasu próbkowania. Dla przykładu sondy aktywne systemu *Neuropixels* zawierają 32 ADC, gdzie każdy z nich obsługuje grupę 12 kanałów – jednakże kanały w danej grupie nie są próbkowane jednocześnie [259].

Po trzecie, z uwagi na fakt, że każdy kanał ASIC zawiera własny układ wytwarzający prądy wyjściowe, możliwe jest generowanie dowolnie złożonych protokołów stymulacji (do intensywności generowania impulsów na poziomie ~ 20 kHz, Rys. 4.2). Jednakże wytwarzane pole elektryczne ma stosunkowo duży zasięg, a przez to uniemożliwia stymulację wybranych, konkretnych komórek. Tymczasem we współczesnej neurofizjologii do modulacji aktywności neuronalnej coraz częściej stosuje się metody korzystające z dobrodziejstw inżynierii genetycznej w tym tzw. *optogenetyki*. U podstaw działania optogenetyki leży modyfikacja neuronów, w taki sposób, aby produkowały białka (*opsyny*), które pod wpływem światła otwierają kanały lub uruchamiają pompy jonowe i depolaryzują (pobudzają) lub hiperpolaryzują (hamują) neurony [300, 301]. Technika ta stała się popularna ze względu na możliwość dokładnego celowania w konkretne populacje i typy neuronów, przy zachowaniu precyzji czasowej porównywalnej ze stymulacją elektryczną. Typowo, transmisja światła w głąb tkanki nerwowej odbywa się za pomocą światłowodów, których rozmiary ograniczają przestrzenną precyzję i zwiększają inwazyjność metody. Jednak pojawia się coraz więcej rozwiązań, w których mikrodiody LED integrowane są na matrycach MEA, co otwiera drogę do bardzo precyzyjnych komórkowo i przestrzennie ingerencji w aktywność neuronalną [302].

4.3.2 System *Dose-3D*

W przypadku systemu *Dose-3D* w tym rozdziale pokazano działanie jego poszczególnych podsystemów, które wpływają na to, jak system zachowuje się jako całość. Przygotowane oprogramowanie DAQ, mimo że wykorzystuje nieoficjalną wersję *CPythona* charakteryzuje się wystarczającą wydajnością oraz pełną stabilnością (Rys. 4.26, Rys. 4.27). Użycie *noگیl Cpythona* było podyktowane koniecznością zrównoleżenia dużej liczby operacji przy minimalizacji kosztu obliczeniowego związanego z komunikacją między tymi zadaniami. Na moment pisania tych słów, oprogramowanie obsłużyło kilka *Jednostek Akwizycji Danych* jednocześnie w wielogodzinnym pomiarze progu odpowiedzi toru *Zliczania Fotonów*, dzięki czemu potwierdzono poprawność akwizycji danych (Rys. 4.28).

Podstawowe parametry działania układu *MAROC 3A* takie jak np. liniowość wzmocnienia (Rys. 4.33) czy poprawność działania rejestracji *Zdarzeń* (Rys. 4.31, Rys. 4.42) zostały sprawdzone dla kilku egzemplarzy ASIC. Otrzymane wyniki pozwoliły wyznaczyć punkt pracy każdego z dwóch torów przetwarzania tj. *Zliczania Fotonów* oraz *Pomiaru Napięcia*. W szczególności możliwa była kompensacja wzmocnienia sygnału dla każdego kanału w pełnym torze pomiarowym (Rys. 4.37), dzięki czemu uzyskano kalibrację toru analogowego *Jednostki Akwizycji Danych*, która została wykorzystana w trakcie pilotażowego pomiaru w Narodowym Centrum Onkologii w Krakowie.

Przeprowadzone w tym ośrodku pomiary z wykorzystaniem terapeutycznej wiązki promieniowania rentgenowskiego pokazały, że wszystkie rejestrowane przez system *Zdarzenia* wynikają z detekcji pojedynczych fotonów (Rys. 4.44). W związku z tym informacje generowane przez tor analogowy systemu są niewystarczające dla celów stawianych przed projektem *Dose-3D*. Rekonstrukcja dawki pochłoniętego promieniowania w fantomie, jak pokazały pomiary (Rys. 4.46, Tab. 4.3), jest natomiast możliwa na podstawie informacji o liczbie *Zdarzeń* w każdym z kanałów systemu rejestrowanych przez *Zliczanie Fotonów*. Wszystko dzięki temu, że wielkości te można powiązać ze sobą za pomocą bardzo precyzyjnie wyznaczonego współczynnika proporcjonalności (Równ. (4.10)).

Oznacza to, że w sytuacji terapeutycznej, gdy fantom jest naświetlany promieniowaniem fotonowym, możliwe staje się precyzyjne określenie dawki w danym elemencie objętości (kanałe systemu pomiarowego). Wykorzystanie tego typu rozwiązań na etapie planowania i ewaluacji planu leczenia pacjentów ma szansę w przyszłości zwiększyć efektywność oraz skuteczność terapii nowotworowych.

4.3.2.1 Spostrzeżenia

System *Dose-3D* aktualnie znajduje się w fazie prototypu, a pomiary z wykorzystaniem pełnego toru przetwarzania oraz promieniowania z akceleratora *TrueBeam™* dopiero się rozpoczęły. W przeciwieństwie do fantomów na bazie materiału *PRESAGE™* [303–305] proponowane rozwiązanie składa się z wielu pojedynczych sześcianów scyntylacyjnych, do których wytworzenia wykorzystuje się ogólnodostępne materiały. Ma to tę zaletę, że w ten sposób zostają ograniczone koszty związane z budową samego fantomu, a jednocześnie możliwa jest jego reorganizacja przestrzenna. Dzięki temu te same elementy mogą być wykorzystywane

wielokrotnie. Z drugiej strony swoboda ta wymaga, aby każdy scyntylator był połączony z odpowiadającym mu kanałem odczytowym w *Jednostce Akwizycji Danych*. W takim przypadku należy zapewnić odpowiedni interfejs optyczny umożliwiający efektywny transport wytworzonych fotonów z objętości scyntyлятора do okienka wejściowego MA-PMT. Ten aspekt stanowi aktualnie największe wyzwanie w projekcie (Rys. 4.42) i wysiłki zespołu skoncentrowane są na tym zagadnieniu.

Pewną niewiadomą jest również odporność radiacyjna materiału scyntyacyjnego – im większa dawka, którą może pochłonąć materiał bez zmiany efektywności generowania fotonów, tym lepiej. Parametr ten bezpośrednio wpływa na użyteczność takiego fantomu w kontekście wielokrotnego użycia jego elementów i rekonfiguracji na potrzeby terapii różnych pacjentów. Odpowiednie próby porównujące działanie kostek po zaabsorbowaniu odpowiednich dawek są przewidziane w przyszłości. Nawet jeśli ich wynik okazałby się niesatysfakcjonujący, nie będzie to wiązało się z porażką całego projektu, gdyż parametry systemu odczytowego, na który składają się *Jednostki Akwizycji Danych* oraz oprogramowanie DAQ są zgodne z oczekiwaniami. W przypadku niewielkiej odporności radiacyjnej materiału będzie trzeba poszukiwać innych rozwiązań w tym zakresie. Za poziom odniesienia można np. uznać parametry, którymi cechuje się wspomniany wcześniej *PRESAGETM*. Ten zachowuje liniowość odpowiedzi do 100 Gy przy naświetlaniu wiązką fotonów o mocy dawki od 1 Gy/min do 6 Gy/min [305].

Podsumowanie

W prezentowanej rozprawie doktorskiej przedstawiono wyniki badań związane z działaniem dwóch systemów pomiarowych tj. *Neurostim-3* oraz *Dose-3D*. Celem tego pierwszego jest umożliwienie badań elektrofizjologicznych dużej skali z wykorzystaniem precyzyjnych protokołów stymulacji elektrycznej tkanki nerwowej. Ten drugi został zaś zaprojektowany jako alternatywa dla tradycyjnych metod ewaluacji przestrzennego rozkładu dawki w procesie planowania leczenia z wykorzystaniem teleradioterapii. Skupiono się na ewaluacji podstawowych parametrów charakteryzujących jakość przetwarzania danych, w kontekście realizacji zadań stawianych przed tymi systemami.

Pokazano, że układ elektroniczny będący sercem systemu *Neurostim-3* umożliwia niskosumową rejestrację sygnałów neuronalnych w szerokim paśmie częstotliwości tj. od $\sim 0,3$ Hz do ~ 20 kHz. Pozwala przy tym na generowanie niemal dowolnie złożonych wyjściowych impulsów prądowych, zdolnych do wywoływania sztucznej aktywności komórek nerwowych przez każdy z 64 kanałów ASIC. Teoretyczne możliwości, które oferuje *Neurostim-3*, zostały sprawdzone w praktyce, w serii pomiarów *in vivo* ze szczurami. Zarejestrowane sygnały odpowiadały typowej aktywności neuronalnej. Natomiast podsystem odpowiedzialny za stymulację elektryczną jest w stanie efektywnie pobudzać neurony dla impulsów o amplitudach $\geq 1,4$ μ A.

Wykorzystanie gotowych elementów takich jak *MAROC 3A* na potrzeby *Dose-3D* znacznie przyspieszyło proces projektowania całego systemu, ale wymagało dużo wysiłku związanego z koniecznością zrozumienia, w jaki sposób te urządzenia się zachowują. Zaprezentowano kroki, dzięki którym uzyskano kalibrację toru *Pomiaru Napięcia* dla danego zestawu *MAROC 3A-MA-PMT*. Dzięki czemu m.in. otrzymano potęgową zależność amplitudy rejestrowanych sygnałów w funkcji napięcia zasilania MA-PMT. Najważniejszy wynik, który definiuje zasadność całego projektu, związany jest jednak z możliwością zliczania zdarzeń wynikających z rejestracji fotonów wygenerowanych w objętości scyntylatorów, z których zbudowany jest fantom. Częstotliwość ich rejestracji jest wprost proporcjonalna do mocy dawki promieniowania pierwotnego. Oznacza to, że na podstawie dowolnej rejestracji, po przeprowadzeniu procedury kalibracji, da się zrekonstruować depozyt energii w każdym kanale systemu. Tym samym w przyszłości będzie możliwa ewaluacja planu radioterapii ze zwiększoną dokładnością względem aktualnie dostępnych metod opartych o symulacje numeryczne czy standaryzowane fantomy medyczne.

Jednak żaden z tych systemów nie umożliwiłby żadnych pomiarów bez odpowiednio przygotowanego do ich obsługi oprogramowania. Znaczną część czasu doktoratu poświęcono na zbudowanie DAQ, które byłyby w stanie efektywnie komunikować się ze sprzętem oraz przetwarzać generowane przez nie dane. Działanie *Neurostim-3* oraz *Dose-3D* w warstwie wymiany informacji z komputerem zarządzającym pomiarem jest diametralnie różne, przez co wymagało innego podejścia w zakresie architektury oprogramowania (choć pewne podstawowe podsystemy

są przez nie współdzielone). Poszukiwania optymalnych rozwiązań algorytmicznych poskutkowały nieoczywistym oparciem oprogramowania DAQ *Dose-3D* o nieoficjalne rozszerzenie *nogil CPython*, które umożliwia prawdziwie równoległe przetwarzanie wątków. Aktualnie zmiany proponowane przez *nogil CPython* są poddane konsultacjom społeczności skupionej wokół języka *Python*. Wiele wskazuje na to, że w przyszłości *implementacja referencyjna CPython* może zostać pozbawiona ograniczeń związanych z wielowątkowością – tym samym ułatwiając programistom projektowanie aplikacji.

W związku z powyższym można stwierdzić, iż cele badawcze postawione przed Autorem pracy zostały w pełni zrealizowane. Osiągnięte wyniki zaprezentowane w rozprawie potwierdzają poprawność i adekwatność postawionych przed Autorem celów badawczych.

Plany i możliwości rozwoju

Oba projekty realizują stawiane przez siebie cele podstawowe. W tym miejscu można się pokusić o przedstawienie kierunków, którymi mogłyby podążać celem dalszego rozwoju.

System *Neurostim-3*

Aktualnie ergonomia *Neurostim-3* jest ograniczona ze względu na tradycyjny przewodowy sposób połączenia AB z IB – ich liczba jest wielokrotnością wykorzystywanych w danym pomiarze ASIC. Tym samym obsługa ośmiu ASIC wymaga takiej samej liczby kabli, co przy ograniczonej ilości miejsca w pobliżu stanowiska pomiarowego w laboratorium może być problematyczne. Sytuacji nie poprawiają też podatne na uszkodzenie złącza. Biorąc to pod uwagę, projekt mógłby zyskać pod względem ergonomii, gdyby zdecydowano się na transmisję bezprzewodową sygnałów do IB. Taki ruch jednak w znaczny sposób komplikowałby synchronizację działania wszystkich ASIC, ponadto konieczne byłoby zastosowanie zasilania bateryjnego, które nie byłoby bez znaczenia pod kątem masy AB. Z drugiej strony samo wykorzystanie transmisji zdalnej nie rozwiązałoby problemu gabarytów urządzenia, przez co zakres wykorzystania *Neurostim-3* nadal ograniczałby się do eksperymentów z unieruchomionymi zwierzętami.

Co się zaś tyczy zmian w samym ASIC, dalszej poprawie mógłby ulec zakres filtra górnoprzepustowego (Rys. 4.8), w taki sposób, aby umożliwić rejestrację szerszego pasma LFP. W takim przypadku minimalna częstotliwość graniczna filtra powinna zostać przesunięta bliżej 0,1 Hz. Natomiast usprawnienia w zakresie stymulacji mogłyby objąć prace mające na celu ograniczenie artefaktu stymulacyjnego, który obecnie uniemożliwia odczyt sygnałów na elektrodach stymulujących oraz tych, które znajdują się w ich (nie tylko najbliższym) sąsiedztwie przez stosunkowo długi czas po zakończeniu impulsu (Rys. 4.25). Potencjalne przystosowanie *Neurostim-3* do obsługi stymulacji optoelektrycznej wymagałoby ponadto zwiększenia maksymalnego prądu stymulacji o rząd wielkości [302].

System *Dose-3D*

W tej chwili podstawowe prace w zakresie elektroniki odczytu zostały zakończone i główny nacisk został przeniesiony na budowę coraz bardziej złożonych fantomów oraz pomiary z wykorzystaniem promieniowania akceleratorowego. Tylko w okresie czterech miesięcy od rozpoczęcia opracowywania niniejszego manuskryptu dokonano postępu od fantomów *0-wymiarowych* (pojedynczy scyntylnator) przez *1-wymiarowe* (stos scyntylnatorów, zaprezentowane w pracy) po *3-wymiarowe* (sześciian złożony z $2 \times 2 \times 2 = 8$ scyntylnatorów). Rosnąca liczba obsługiwanych kanałów będzie prowadziła do konieczności wykorzystania więcej niż jednej *Jednostki Akwizycji Danych* w tym samym pomiarze. Oznacza to, że sygnały zegarowe wykorzystywane do znakowania zdarzeń powinny być zsynchronizowane dla wszystkich *Jednostek*, stąd w przyszłości planowana jest implementacja PTP.

Znając ostateczne wnioski płynące z działania *Dose-3D*, można by stwierdzić, że cała zbudowana architektura oprogramowania DAQ oraz optymalizacja wydajności w ramach *CPython* były na wyrost, gdyż akwizycja pakietów z częstotliwością < 1 kHz związanych ze *Zliczaniem Fotonów* nie jest szczególnie wymagająca dla nowoczesnych komputerów. W tym miejscu należy podkreślić, że niskopoziomowa część oprogramowania związana przede wszystkim z obsługą FPGA została zaprojektowana możliwie niezależnie od architektury sprzętu, który ten system ma obsługiwać. W przyszłości niewykluczone są zastosowania w innych systemach pomiarowych, których wymagania związane z wydajnością przetwarzania danych mogą być znacząco różne od tych, które stwarza *Dose-3D*.

Aktualnie niedogodnością pod kątem kontroli przebiegu pomiaru jest również ograniczona możliwość podglądu rejestrowanych danych. Obecnie są one prezentowane w postaci komunikatów wyświetlanych w oknie terminala. Znacznym ułatwieniem byłoby zatem udostępnienie narzędzia, które agreguje dane *online* i wizualizuje je w postaci predefiniowanych wykresów.

Bibliografia

- [1] G. C. Brown, „Living too long”, *EMBO Rep* **2014**, *16*, DOI 10.15252/embr.201439518.
- [2] Life expectancy at birth (years), [https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/life-expectancy-at-birth-\(years\)](https://www.who.int/data/gho/data/indicators/indicator-details/GHO/life-expectancy-at-birth-(years)), **2019**.
- [3] R. Rappuoli, „Vaccines: Science, health, longevity, and wealth”, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2014**, *111*, DOI 10.1073/pnas.1413559111.
- [4] C. M. C. Rodrigues, S. A. Plotkin, „Impact of Vaccines; Health, Economic and Social Perspectives”, *Frontiers in Microbiology* **2020**, *11*, DOI 10.3389/fmicb.2020.01526.
- [5] V. W. Greene, „Personal hygiene and life expectancy improvements since 1850: historic and epidemiologic associations”, *Am J Infect Control* **2001**, *29*.
- [6] J. Fairthorne i in., „Early Mortality and Primary Causes of Death in Mothers of Children with Intellectual Disability or Autism Spectrum Disorder: A Retrospective Cohort Study”, *PLoS One* **2014**, *9*, DOI 10.1371/journal.pone.0113430.
- [7] „Suicidality in family caregivers of people with long-term illnesses and disabilities: A scoping review”, *Comprehensive Psychiatry* **2021**, *110*, DOI 10.1016/j.comppsy.2021.152261.
- [8] Age and Cancer Risk, <https://www.cancer.gov/about-cancer/causes-prevention/risk/age>, **2021**.
- [9] N. Iragorri i in., „The Out-of-Pocket Cost Burden of Cancer Care—A Systematic Literature Review”, *Current Oncology* **2021**, *28*, DOI 10.3390/curroncol28020117.
- [10] The Costs of Cancer, spraw. tech., American Cancer Society Cancer Action NetworkSM, **2020**.
- [11] W. Z. Tkaczyk, *Fizjologia człowieka w zarysie*, 7 wyd., (red.: E. Michalska), Wydawnictwo Lekarskie PZWL, **2002**.
- [12] The Nobel Prize in Chemistry 1997, <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/1997/skou/facts/>.
- [13] J. C. Skou, „The influence of some cations on an adenosine triphosphatase from peripheral nerves”, *Biochimica et Biophysica Acta* **1957**, *23*, DOI 10.1016/0006-3002(57)90343-8.
- [14] *Neuroscience*, (red.: D. Purves i in.), Sinauer Associates, Inc., **2004**.
- [15] G. Buzsáki, C. A. Anastassiou, C. Koch, „The origin of extracellular fields and currents — EEG, ECoG, LFP and spikes”, *Nature Reviews Neuroscience* **2012**, *13*, DOI 10.1038/nrn3241.
- [16] A. Destexhe, C. Bedard, „Local Field Potential”, *Scholarpedia* **2013**, *8*, DOI 10.4249/scholarpedia.10713.
- [17] Y. Kajikawa, C. E. Schroeder, „How local is the local field potential?”, *Neuron* **2011**, *72*, DOI 10.1016/j.neuron.2011.09.029.
- [18] O. Herreras, „Local Field Potentials: Myths and Misunderstandings”, *Frontiers in Neural Circuits* **2016**, *10*, DOI 10.3389/fncir.2016.00101.
- [19] J. S. Allen, H. Damasio, T. J. Grabowski, „Normal neuroanatomical variation in the human brain: An MRI-volumetric study”, *American Journal of Physical Anthropology* **2002**, *118*, DOI 10.1002/ajpa.10092.
- [20] S. Herculano-Houzel, „Scaling of Brain Metabolism with a Fixed Energy Budget per Neuron: Implications for Neuronal Activity, Plasticity and Evolution”, *PLOS ONE* **2011**, *6*, DOI 10.1371/journal.pone.0017514.
- [21] R. Sarpeshkar, *Ultra Low Power Bioelectronics: Fundamentals, Biomedical Applications, and Bio-Inspired Systems*, Cambridge University Press, **2010**.
- [22] T. J. Vincent i in., „Longitudinal Brain Size Measurements in App/Ps1 Transgenic Mice”, *Magnetic Resonance Insights* **2010**, *4*, DOI 10.4137/MRI.S5885.
- [23] J. Speakman, „Measuring Energy Metabolism in the Mouse – Theoretical, Practical, and Analytical Considerations”, *Frontiers in Physiology* **2013**, *4*, DOI 10.3389/fphys.2013.00034.

- [24] V. Braitenberg, A. Schüz, *Anatomy of the Cortex: Statistics and Geometry*, Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH, **1991**.
- [25] A. H. Marblestone i in., „Physical principles for scalable neural recording”, *Front Comput Neurosci* **2013**, *7*, DOI 10.3389/fncom.2013.00137.
- [26] DigiCortex™, <http://www.dimkovic.com/>.
- [27] DigiCortex™ Large-Scale Biological Neural Network Simulation and Visualization Engine, http://www.dimkovic.com/distrib/DigiCortex_WhitePaper.pdf.
- [28] M. Seeck i in., „The standardized EEG electrode array of the IFCN”, *Clinical Neurophysiology* **2017**, *128*, DOI 10.1016/j.clinph.2017.06.254.
- [29] T. Kirschstein, R. Köhling, „What is the Source of the EEG?”, *Clinical EEG and Neuroscience* **2009**, *40*, PMID: 19715175, DOI 10.1177/155005940904000305.
- [30] C. Amo i in., „Analysis of Gamma-Band Activity from Human EEG Using Empirical Mode Decomposition”, *Sensors (Basel)* **2017**, *17*, DOI 10.3390/s17050989.
- [31] P. Kaplan, „The EEG in metabolic encephalopathy and coma”, *Journal of clinical neurophysiology : official publication of the American Electroencephalographic Society* **2004**, *21*.
- [32] The normal awake EEG, https://uploads-ssl.webflow.com/5e2b590ca27de6be81c64780/6019bc6397d2c104d02ba99b_5e5eac5557e964c7021d6de4_PDR%20Disappears%20with%20Eye%20opening.png.
- [33] H. Berger, „Über das Elektrenkephalogramm des Menschen”, *Archiv für Psychiatrie und Nervenkrankheiten* **1929**, *87*, DOI 10.1007/BF01797193.
- [34] R. Jung, W. Berger, „Fiftieth anniversary of Hans Berger’s publication of the electroencephalogram. His first records in 1924–1931”, *Arch Psychiatr Nervenkr (1970)* **1979**, *227*, DOI 10.1007/BF00344814.
- [35] P. A. Abhang, B. W. Gawali, S. C. Mehrotra w *Introduction to EEG- and Speech-Based Emotion Recognition*, (red.: P. A. Abhang, B. W. Gawali, S. C. Mehrotra), Academic Press, **2016**.
- [36] Y. Yin, P. Wang, P. R. N. Childs, „Understanding creativity process through electroencephalography measurement on creativity-related cognitive factors”, *Frontiers in Neuroscience* **2022**, *16*, DOI 10.3389/fnins.2022.951272.
- [37] W. D. Rooney i in., „Magnetic field and tissue dependencies of human brain longitudinal 1H2O relaxation in vivo”, *Magnetic Resonance in Medicine* **2007**, *57*, DOI 10.1002/mrm.21122.
- [38] R. Deichmann i in., „Fast T2-mapping with SNAPSHOT FLASH imaging”, *Magnetic Resonance Imaging* **1995**, *13*, DOI 10.1016/0730-725X(95)00004-Z.
- [39] Łukasz Gondek, M. Sikora, J. Czub, *Laboratorium Fizyki Fazy Skondensowanej*, Wydawnictwa AGH, **2014**.
- [40] N. K. Logothetis, „What we can do and what we cannot do with fMRI”, *Nature* **2008**, *453*, DOI 10.1038/nature06976.
- [41] Y. B. Sirotin, A. Das, „Anticipatory haemodynamic signals in sensory cortex not predicted by local neuronal activity”, *Nature* **2009**, DOI 10.1038/nature07664.
- [42] N. Jukovskaya i in., „What Does Local Functional Hyperemia Tell about Local Neuronal Activation?”, *Journal of Neuroscience* **2011**, *31*, DOI 10.1523/JNEUROSCI.3146-10.2011.
- [43] P. A. Bandettini w *Neural Correlates of Thinking*, (red.: E. Kraft, B. Gulyás, E. Pöppel), Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, **2009**.
- [44] J. V. Haxby i in., „Distributed and Overlapping Representations of Faces and Objects in Ventral Temporal Cortex”, *Science* **2001**, *293*, DOI 10.1126/science.1063736.
- [45] Ingenia Elition 3.0T X, <https://www.usa.philips.com/healthcare/product/HC781358/ingenia-elition-30t-x>.
- [46] Brochure Ingenia Elition 3.0T X MR system, https://www.documents.philips.com/assets/20180425/1cfe1b991484ed8a2b6a8cd00bbec65.pdf?_ga=2.257412418.850419467.1677837664-1837268895.1677837664.
- [47] L. Passamonti i in., „Effects of Acute Tryptophan Depletion on Prefrontal-Amygdala Connectivity While Viewing Facial Signals of Aggression”, *Biological Psychiatry* **2012**, *71*, DOI 10.1016/j.biopsych.2011.07.033.
- [48] G. S. Berns, A. M. Brooks, M. Spivak, „Functional MRI in Awake Unrestrained Dogs”, *PLOS ONE* **2012**, *7*, DOI 10.1371/journal.pone.0038027.

- [49] S. H. Hojjati, A. Ebrahimzadeh, A. Babajani-Feremi, „Identification of the Early Stage of Alzheimer’s Disease Using Structural MRI and Resting-State fMRI”, *Frontiers in Neurology* **2019**, *10*, DOI 10.3389/fneur.2019.00904.
- [50] R. G. Burciu i in., „Functional MRI of disease progression in Parkinson disease and atypical parkinsonian syndromes”, *Neurology* **2016**, *87*, DOI 10.1212/WNL.0000000000002985.
- [51] E. Neher, B. Sakmann, „Single-channel currents recorded from membrane of denervated frog muscle fibres”, *Nature* **1976**, *260*, DOI 10.1038/260799a0.
- [52] A. Segev, F. Garcia-Oscos, S. Kourrich, „Whole-cell Patch-clamp Recordings in Brain Slices”, *J Vis Exp* **2016**, DOI 10.3791/54024.
- [53] S. B. Kodandaramaiah i in., „Multi-neuron intracellular recording in vivo via interacting autpatching robots”, *eLife* **2018**, *7*, (red.: A. J. King), DOI 10.7554/eLife.24656.
- [54] J. Csicsvari i in., „Massively Parallel Recording of Unit and Local Field Potentials With Silicon-Based Electrodes”, *Journal of Neurophysiology* **2003**, *90*, PMID: 12904510, DOI 10.1152/jn.00116.2003.
- [55] Masmanidis Lab Probe Mapping, https://masmanidislab.neurobio.ucla.edu/images/microprobe_info.pdf.
- [56] L. Yang i in., „Open Source Silicon Microprobes for High Throughput Neural Recording”, *Journal of Neural Engineering* **2020**, *17*, DOI 10.1088/1741-2552/ab581a.
- [57] M. E. J. Obien i in., „Revealing neuronal function through microelectrode array recordings”, *Frontiers in Neuroscience* **2015**, *8*, DOI 10.3389/fnins.2014.00423.
- [58] M. E. J. Obien, U. Frey, „Large-Scale, High-Resolution Microelectrode Arrays for Interrogation of Neurons and Networks”, *Advances in neurobiology* **2019**, *22*, DOI 10.1007/978-3-030-11135-9_4.
- [59] K. Sahasrabudde i in., „The Argo: a high channel count recording system for neural recording in vivo”, *Journal of Neural Engineering* **2021**, *18*, DOI 10.1088/1741-2552/abd0ce.
- [60] J. J. Jun i in., „Fully integrated silicon probes for high-density recording of neural activity”, *Nature* **2017**, *551*, DOI 10.1038/nature24636.
- [61] N. A. Steinmetz i in., „Neuropixels 2.0: A miniaturized high-density probe for stable, long-term brain recordings”, *Science* **2021**, *372*, DOI 10.1126/science.abf4588.
- [62] L. Galvani, „Commentary on the Effect of Electricity on Muscular Motion”, *American Journal of Physics* **1954**, *22*, DOI 10.1119/1.1933610.
- [63] M. Maier, B. R. Ballester, P. F. M. J. Verschure, „Principles of Neurorehabilitation After Stroke Based on Motor Learning and Brain Plasticity Mechanisms”, *Frontiers in Systems Neuroscience* **2019**, *13*, DOI 10.3389/fnsys.2019.00074.
- [64] B. S. Wilson, M. F. Dorman, „Interfacing Sensors With the Nervous System: Lessons From the Development and Success of the Cochlear Implant”, *IEEE Sensors Journal* **2008**, *8*, DOI 10.1109/JSEN.2007.912917.
- [65] L. Gu i in., „A biomimetic eye with a hemispherical perovskite nanowire array retina”, *Nature* **2020**, *581*, DOI 10.1038/s41586-020-2285-x.
- [66] S. J. Groiss i in., „Deep brain stimulation in Parkinson’s disease”, *Ther Adv Neurol Disord* **2009**, *2*, DOI 10.1177/1756285609339382.
- [67] L. N. Ayton i in., „An update on retinal prostheses”, *Clin Neurophysiol* **2019**, *131*, DOI 10.1016/j.clinph.2019.11.029.
- [68] P. J. Allen, „Retinal prostheses: Where to from here?”, *Clinical & Experimental Ophthalmology* **2021**, *49*, DOI <https://doi.org/10.1111/ceo.13950>.
- [69] D. A. Henze i in., „Intracellular Features Predicted by Extracellular Recordings in the Hippocampus In Vivo”, *Journal of Neurophysiology* **2000**, *84*, DOI 10.1152/jn.2000.84.1.390.
- [70] F. Hashemi Noshahr, M. Nabavi, M. Sawan, „Multi-Channel Neural Recording Implants: A Review”, *Sensors* **2020**, *20*, DOI 10.3390/s20030904.
- [71] J. Chen i in., „Recent Trends and Future Prospects of Neural Recording Circuits and Systems: A Tutorial Brief”, *IEEE Transactions on Circuits and Systems II: Express Briefs* **2022**, *69*, DOI 10.1109/TCSII.2022.3171689.
- [72] H.-S. Lee i in., „High-density neural recording system design”, *Biomedical Engineering Letters* **2022**, *12*, DOI 10.1007/s13534-022-00233-z.
- [73] B. Trzpił-Jurgielewicz, W. Dąbrowski, P. Hottowy, „Analysis and Reduction of Nonlinear Distortion in AC-Coupled CMOS Neural Amplifiers with Tunable Cutoff Frequencies”, *Sensors* **2021**, *21*, DOI 10.3390/s21093116.

- [74] D. Luo, M. Zhang, Z. Wang, „A Low-Noise Chopper Amplifier Designed for Multi-Channel Neural Signal Acquisition”, *IEEE Journal of Solid-State Circuits* **2019**, *54*, DOI 10.1109/JSSC.2019.2913101.
- [75] A. Erofeev i in., „In Vivo Penetrating Microelectrodes for Brain Electrophysiology”, *Sensors* **2022**, *22*, DOI 10.3390/s22239085.
- [76] J. P. Neto i in., „Does Impedance Matter When Recording Spikes With Polytrodes?”, *Frontiers in Neuroscience* **2018**, *12*, DOI 10.3389/fnins.2018.00715.
- [77] H. S. Magar, R. Y. A. Hassan, A. Mulchandani, „Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS): Principles, Construction, and Biosensing Applications”, *Sensors* **2021**, *21*, DOI 10.3390/s21196578.
- [78] P. Hottowy, <https://winntbg.bg.agh.edu.pl/rozprawy/9769/full19769.pdf>, prac. dokt., Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie, **2006**.
- [79] P. Córdoba-Torres, T. J. Mesquita, R. P. Nogueira, „Relationship between the Origin of Constant-Phase Element Behavior in Electrochemical Impedance Spectroscopy and Electrode Surface Structure”, *The Journal of Physical Chemistry C* **2015**, *119*, DOI 10.1021/jp512063f.
- [80] M. H. Histed, V. Bonin, R. C. Reid, „Direct activation of sparse, distributed populations of cortical neurons by electrical microstimulation”, *Neuron* **2009**, *63*, DOI 10.1016/j.neuron.2009.07.016.
- [81] L. G. Nowak, J. Bullier, „Axons, but not cell bodies, are activated by electrical stimulation in cortical gray matter. I. Evidence from chronaxie measurements”, *Exp Brain Res* **1998**, *118*, DOI 10.1007/s002210050304.
- [82] L. E. Grosberg i in., „Activation of ganglion cells and axon bundles using epiretinal electrical stimulation”, *J Neurophysiol* **2017**, *118*, DOI 10.1152/jn.00750.2016.
- [83] H. Wang i in., „Development of a Non-invasive Deep Brain Stimulator With Precise Positioning and Real-Time Monitoring of Bioimpedance”, *Frontiers in Neuroinformatics* **2020**, *14*, DOI 10.3389/fninf.2020.574189.
- [84] U. R. Mohan i in., „The effects of direct brain stimulation in humans depend on frequency, amplitude, and white-matter proximity”, *Brain Stimulation* **2020**, *13*, DOI 10.1016/j.brs.2020.05.009.
- [85] P. Jurgielewicz i in., „Modular Data Acquisition System for Recording Activity and Electrical Stimulation of Brain Tissue Using Dedicated Electronics”, *Sensors* **2021**, *21*, DOI 10.3390/s21134423.
- [86] M. S. Lee i in., „Characterization of Ag/AgCl Dry Electrodes for Wearable Electrophysiological Sensing”, *Frontiers in Electronics* **2022**, *2*, DOI 10.3389/felec.2021.700363.
- [87] W. Liu i in., „A Real-Time Hardware Experiment Platform for Closed-Loop Electrophysiology”, *IEEE Transactions on Neural Systems and Rehabilitation Engineering* **2022**, *30*, DOI 10.1109/TNSRE.2022.3150325.
- [88] J. Buitengeweg, W. Rutten, E. Marani, „Extracellular stimulation window explained by a geometry-based model of the Neuron-electrode contact”, *IEEE Transactions on Biomedical Engineering* **2002**, *49*, DOI 10.1109/TBME.2002.804504.
- [89] D. Boinagrov i in., „Upper threshold of extracellular neural stimulation”, *J Neurophysiol* **2012**, *108*, DOI 10.1152/jn.01058.2011.
- [90] G. Schiavone i in., „Guidelines to Study and Develop Soft Electrode Systems for Neural Stimulation”, *Neuron* **2020**, *108*, DOI 10.1016/j.neuron.2020.10.010.
- [91] D. R. Merrill, M. Bikson, J. G. Jefferys, „Electrical stimulation of excitable tissue: design of efficacious and safe protocols”, *Journal of Neuroscience Methods* **2005**, *141*, DOI 10.1016/j.jneumeth.2004.10.020.
- [92] K. Kołodziej i in., „Modelling and Cancellation of the Stimulation Artifact for ASIC-based Bidirectional Neural Interface”, **2018**, DOI 10.23919/MIXDES.2018.8436947.
- [93] D. J. O’Shea, K. V. Shenoy, „ERAASR: an algorithm for removing electrical stimulation artifacts from multi-electrode array recordings”, *Journal of Neural Engineering* **2018**, *15*, DOI 10.1088/1741-2552/aaa365.
- [94] E. A. Brown i in., „Stimulus-Artifact Elimination in a Multi-Electrode System”, *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems* **2008**, *2*, DOI 10.1109/TBCAS.2008.918285.
- [95] A. Berényi i in., „Large-scale, high-density (up to 512 channels) recording of local circuits in behaving animals”, *Journal of Neurophysiology* **2014**, *111*, DOI 10.1152/jn.00785.2013.
- [96] Z. R. Kubska, J. Kamiński, „How Human Single-Neuron Recordings Can Help Us Understand Cognition: Insights from Memory Studies”, *Brain Sciences* **2021**, *11*, DOI 10.3390/brainsci11040443.
- [97] E. F. Chang, „Towards Large-Scale, Human-Based, Mesoscopic Neurotechnologies”, *Neuron* **2015**, *86*, DOI 10.1016/j.neuron.2015.03.037.

- [98] L. R. Hochberg i in., „Neuronal ensemble control of prosthetic devices by a human with tetraplegia”, *Nature* **2006**, *442*, DOI 10.1038/nature04970.
- [99] L. R. Hochberg i in., „Reach and grasp by people with tetraplegia using a neurally controlled robotic arm”, *Nature* **2012**, *485*, DOI 10.1038/nature11076.
- [100] F. R. Willett i in., „High-performance brain-to-text communication via handwriting”, *Nature* **2021**, *593*, DOI 10.1038/s41586-021-03506-2.
- [101] A. Chabuda i in., „Successful BCI communication via high-frequency SSVEP or visual, audio or tactile P300 in 30 tested volunteers”, *Acta Neurobiol Exp (Wars)* **2019**, *79*.
- [102] A. D. Maynard, M. Scragg, „The Ethical and Responsible Development and Application of Advanced Brain Machine Interfaces”, *J Med Internet Res* **2019**, *21*, DOI 10.2196/16321.
- [103] Rozporządzenie Parlamentu Europejskiego i Rady (UE) 2016/679 z dnia 27 kwietnia 2016 r. w sprawie ochrony osób fizycznych w związku z przetwarzaniem danych osobowych i w sprawie swobodnego przepływu takich danych oraz uchylenia dyrektywy 95/46/WE (ogólne rozporządzenie o ochronie danych), <https://eur-lex.europa.eu/eli/reg/2016/679/oj>.
- [104] Dyrektywa Parlamentu Europejskiego i Rady 2010/63/UE z dnia 22 września 2010 r. w sprawie ochrony zwierząt wykorzystywanych do celów naukowych, <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/PL/TXT/?uri=CELEX%3A02010L0063-20190626>.
- [105] J. Ferlay i in., *International Journal of Cancer* **2021**, *149*, DOI 10.1002/ijc.33588.
- [106] Cancer Tomorrow, https://gco.iarc.fr/tomorrow/en/dataviz/isotype?types=0&single_unit=500000.
- [107] Cancer, https://www.who.int/health-topics/cancer#tab=tab_1.
- [108] R. T. Khan i in., „Breast cancer risk associated with genes encoding DNA repair MRN complex: a study from Punjab, Pakistan”, *Breast Cancer* **2018**, *25*, DOI 10.1007/s12282-018-0837-9.
- [109] R. Baskar i in., „Biological response of cancer cells to radiation treatment”, *Front Mol Biosci* **2014**, *1*, DOI 10.3389/fmolb.2014.00024.
- [110] G. F. Knoll, *Radiation Detection and Measurement*, 4 wyd., (red.: J. Welter), John Wiley & Sons, **2010**.
- [111] R. D. Evans, *The Atomic Nucleus*, McGraw-Hill Publishing Company Ltd., **1955**.
- [112] Y. Yazaki, „How the Klein-Nishina formula was derived: Based on the Sangokan Nishina Source Materials”, *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci* **2017**, *93*, DOI 10.2183/pjab.93.025.
- [113] L. Polson, Compton Scattering in Python (Klein-Nishina Equation), <https://www.youtube.com/watch?v=BJUasLU9rCY>.
- [114] C. Grupen, B. Shwartz, *Particle Detectors*, 2 wyd., Cambridge University Press, **2008**.
- [115] W. C. Röntgen, „On a New Kind of Rays”, *Science* **1896**, *3*, DOI 10.1126/science.3.59.227.
- [116] Wilhelm Conrad Röntgen – Facts, <https://www.nobelprize.org/prizes/physics/1901/rontgen/facts/>.
- [117] A. M. Hernandez, J. M. Boone, „Tungsten anode spectral model using interpolating cubic splines: unfiltered x-ray spectra from 20 kV to 640 kV”, *Med Phys* **2014**, *41*, DOI 10.1118/1.4866216.
- [118] Types of X-ray tubes and high-voltage power supplies | Tech | Matsusada Precision, https://www.matsusada.com/column/xray_tube_ps.html.
- [119] A. Cudek, Akcelerator liniowy – Narodowe Centrum Promieniowania Synchrotronowego SOLARIS – Uniwersytet Jagielloński, <https://synchrotron.uj.edu.pl/akcelerator-liniowy>.
- [120] Where the web was born, <https://home.cern/science/computing/where-web-was-born>.
- [121] I. Raynova, Forty years since the first PET image at CERN, <https://home.cern/news/news/knowledge-sharing/forty-years-first-pet-image-cern>.
- [122] M. Vretnar, „Linear Accelerators”, *CAS – CERN Accelerator School: Advanced Accelerator Physics* **2014**, DOI 10.5170/CERN-2014-009.295.
- [123] Accelerating: Radiofrequency cavities, <https://home.cern/science/engineering/accelerating-radiofrequency-cavities>.
- [124] „1990 Recommendations of the International Commission on Radiological Protection”, *Ann ICRP* **1991**, *21*.
- [125] I. C. on Radiation Units, Measurements, *ICRU Report 50: Prescribing, Recording and Reporting Photon Beam Therapy*, Journal of the ICRU, **1993**.

- [126] I. C. on Radiation Units, Measurements, *ICRU Report 62: Prescribing, Recording and Reporting Photon Beam Therapy (Supplement to ICRU Report 50)*, Journal of the ICRU, **1999**.
- [127] K Hadad i in., „Accuracy Evaluation of Oncentra™ TPS in HDR Brachytherapy of Nasopharynx Cancer Using EGSnrc Monte Carlo Code”, *J Biomed Phys Eng* **2015**, 5.
- [128] PRIMO, <https://primoproject.net/primo/>.
- [129] Geant4, <https://geant4.web.cern.ch/>.
- [130] K. Kalecińska i in., „Medical imaging data analysis using 3D deep learning models towards improving the individual treatment plans”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment* **2023**, 1048, DOI 10.1016/j.nima.2022.167951.
- [131] ART Phantom Alderson Radiation Therapy, <https://rsdphantoms.com/wp-content/uploads/2022/04/ART-Phantom-Tech-Sheet.pdf>.
- [132] Treatment Locator, <https://www.varian.com/treatment-locator/map>.
- [133] TrueBeam, <https://www.varian.com/products/radiotherapy/treatment-delivery/truebeam>.
- [134] Z. Chang i in., „Commissioning and dosimetric characteristics of TrueBeam system: Composite data of three TrueBeam machines”, *Medical Physics* **2012**, 39, DOI doi.org/10.1118/1.4762682.
- [135] C. Glide-Hurst i in., „Commissioning of the Varian TrueBeam linear accelerator: A multi-institutional study”, *Medical Physics* **2013**, 40, DOI 10.1118/1.4790563.
- [136] Absorbed Dose Determination in External Beam Radiotherapy, spraw. tech., International Atomic Energy Agency, **2000**.
- [137] A. J. Cetnar, D. J. DiCostanzo, „The lifetime of a linac monitor unit ion chamber”, *Journal of Applied Clinical Medical Physics* **2021**, 22, DOI 10.1002/acm2.13463.
- [138] Varian TrueBeam, <https://sudentas.com/physics/varian-truebeam/>.
- [139] TrueBeam: A beam generation technology like no other, https://varian.widen.net/view/pdf/xmroqb4oc2/TrueBeam_ProductBrief_RAD10128A_April2010.pdf?u=wefire.
- [140] TrueBeam Frequently Asked Questions, https://www.holy-cross.com/assets/documents/2020_2021/truebeam-faqs-for-holy-cross.pdf.
- [141] Nowy Akcelerator w Zakładzie Radioterapii, <https://poliklinika.net/nowy-akcelerator-w-zakladzie-radioterapii-2/>,
- [142] Nowy akcelerator wysokoenergetyczny TrueBeam w NIO-PIB Oddziale w Krakowie, <https://nio-krakow.pl/nowy-akcelerator-wysokoenergetyczny-truebeam-w-nio-pib-oddziale-w-krakowie/>.
- [143] W. Yang i in., „The Study of Zinc Sulphide Scintillator for Fast Neutron Radiography”, *Physics Procedia* **2013**, 43, DOI 10.1016/j.phpro.2013.03.024.
- [144] Łukasz Kapłon i in., „Investigation of the light output of 3D-printed plastic scintillators for dosimetry applications”, *Radiation Measurements* **2022**, 158, DOI 10.1016/j.radmeas.2022.106864.
- [145] D. Kim i in., „Performance of 3D printed plastic scintillators for gamma-ray detection”, *Nuclear Engineering and Technology* **2020**, 52, DOI 10.1016/j.net.2020.05.030.
- [146] C. Papageorgakis i in., „Dose rate effects in radiation-induced changes to phenyl-based polymeric scintillators”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment* **2022**, 1042, DOI 10.1016/j.nima.2022.167445.
- [147] A. Hart i in., „Lead-doped scintillator dosimeters for detection of ultrahigh dose-rate x-rays”, *Physics in Medicine & Biology* **2022**, 67, DOI 10.1088/1361-6560/ac69a5.
- [148] R. T. Kouzes i in., „Investigations of degradation and encapsulation of plastic scintillator”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment* **2020**, 954, DOI 10.1016/j.nima.2019.01.018.
- [149] P. Jurgielewicz, <https://misio.fis.agh.edu.pl/media/misiofiles/bb857a6ad2dc47df3c5d4aae9a18a5cf.pdf>, prac. mag., Akademia Górniczo-Hutnicza im. Stanisława Staszica w Krakowie, **2018**.
- [150] Photomultiplier Tubes Basics and Applications, https://www.hamamatsu.com/content/dam/hamamatsu-photonics/sites/documents/99_SALES_LIBRARY/etd/PMT_handbook_v4E.pdf.
- [151] 64ch multianode PMT assembly H7546B, <https://www.hamamatsu.com/eu/en/product/optical-sensors/pmt/pmt-assembly/metal-package-type/H7546B.html>.

- [152] P. Hottowy i in., „An integrated multichannel waveform generator for large-scale spatio-temporal stimulation of neural tissue”, *Analog Integrated Circuits and Signal Processing* **2008**, 55, DOI 10.1007/s10470-007-9125-x.
- [153] P. Hottowy i in., „Properties and application of a multichannel integrated circuit for low-artifact, patterned electrical stimulation of neural tissue”, *J Neural Eng* **2012**, 9, DOI 10.1088/1741-2560/9/6/066005.
- [154] National Instruments 6537 DIO Manual, <https://www.ni.com/pdf/manuals/374373g.pdf>.
- [155] User's Guide DP1308A Programmable Linear DC Power Supply, https://rigol.com.pl/pl/p/file/54fedfbce114fd2ed236c415e51e29c8/DP1308A_UserGuide_EN.pdf.
- [156] Intan Technologies: RHD SPI Interface Cables and Cable Adapters, http://intantech.com/RHD_SPI_cables.html?tabSelect=RHDSPICables.
- [157] SCSI Cables and Connectors, <https://flylib.com/books/en/4.55.1.81/1/>.
- [158] Maxim Integrated MAX11190 Manual, <https://datasheets.maximintegrated.com/en/ds/MAX11190.pdf>.
- [159] Z. Zhong, „Overview of wire bonding using copper wire or insulated wire”, *Microelectronics Reliability* **2011**, 51, DOI 10.1016/j.microrel.2010.06.003.
- [160] M. Kopeć i in., „A reconfigurable detector for measuring the spatial distribution of radiation dose for applications in the preparation of individual patient treatment plans”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment* **2023**, 1048, DOI 10.1016/j.nima.2022.167937.
- [161] Fantom pomoże w radioterapii, <https://www.fnp.org.pl/fantom-pomoze-w-radioterapii/>, **2019**.
- [162] Oficjalna strona projektu Dose-3D, <https://dose3d.fis.agh.edu.pl/>.
- [163] MAROC3A, <https://www.weeroc.com/products/photomultipliers-read-out/maroc-3a>.
- [164] Mars AX3 Xilinx Artix-7 28nm FPGA Module, <https://www.enclustra.com/en/products/fpga-modules/mars-ax3/>.
- [165] High voltage power supply module C13890-15, <https://www.hamamatsu.com/eu/en/product/optical-sensors/pmt/accessory-for-pmt/high-voltage-power-supply/C13890-15.html>.
- [166] I2C-bus specification and user manual, <https://www.pololu.com/file/0J435/UM10204.pdf>.
- [167] User Datagram Protocol Multicast Transmission, <https://www.rfc-editor.org/rfc/rfc8085>.
- [168] IEEE Standard for a Precision Clock Synchronization Protocol for Networked Measurement and Control Systems (IEEE 1588-2019), <https://standards.ieee.org/ieee/1588/6825/>, **2019**.
- [169] NDT1470 – 4 Ch Reversible 8 kV/3 mA (8 W) NIM/Desktop HV Power Supply Module (USB/Ethernet/T.screen), <https://www.caen.it/products/ndt1470/>.
- [170] D. Ponikvar, „Wilkinson-type ADC with short conversion time and low clock frequency”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment* **1998**, 408, DOI 10.1016/S0168-9002(98)00219-8.
- [171] F. Gray, Pulse code communication, <https://www.freepatentsonline.com/2632058.html>, **1953**.
- [172] A. Forencich, XFPC library, <https://github.com/alexforencich/xfcp>.
- [173] Daisy-Chaining SPI Devices, <https://www.analog.com/media/en/technical-documentation/tech-articles/daisy chaining-spi-devices.pdf>.
- [174] G. van Rossum, A Brief Timeline of Python, <http://python-history.blogspot.com/2009/01/brief-timeline-of-python.html>, **2009**.
- [175] The top programming languages, <https://octoverse.github.com/2022/top-programming-languages>, **2022**.
- [176] Github language stats, https://madnight.github.io/githut/#/pull_requests/2022/4, **2022**.
- [177] PYPL PopularitY of Programming Language, <https://pypl.github.io/PYPL.html>, **2023**.
- [178] IronPython, <https://ironpython.net/>.
- [179] Jython, <https://www.jython.org/index>.
- [180] PyPy, <https://www.pypy.org/>.
- [181] Python Software Foundation, <https://www.python.org/psf-landing/>.
- [182] Global Interpreter Lock – Python Wiki, <https://wiki.python.org/moin/GlobalInterpreterLock>.
- [183] Glossary – Python documentation, <https://docs.python.org/3/glossary.html#term-global-interpreter-lock>.

- [184] Python Bytecode Instructions, <https://docs.python.org/3/library/dis.html#python-bytecode-instructions>.
- [185] J. Murphy, Every Python dev falls for this (name mangling), <https://www.youtube.com/watch?v=OhrEaA3N3lk>, **2022**.
- [186] G. van Rossum, H. Hsu, Oral History of Guido van Rossum, part 1, <https://www.computerhistory.org/collections/catalog/102738720>, transkrypt: <https://archive.computerhistory.org/resources/access/text/2018/07/102738719-05-01-acc.pdf>, **2018**.
- [187] G. van Rossum, H. Hsu, Oral History of Guido van Rossum, part 2, <https://www.computerhistory.org/collections/catalog/102738762>, transkrypt: <https://archive.computerhistory.org/resources/access/text/2018/07/102738761-05-01-acc.pdf>, **2018**.
- [188] G. van Rossum, PEP 483 – The Theory of Type Hints, <https://peps.python.org/pep-0483/>, **2014**.
- [189] G. van Rossum, J. Lehtosalo, Łukasz Langa, PEP 484 – Type Hints, <https://peps.python.org/pep-0484/>, **2014**.
- [190] mypy – Optional Static Typing for Python, <https://mypy-lang.org/>.
- [191] M. Shannon, Implementation plan for speeding up CPython, <https://github.com/markshannon/faster-cpython/blob/master/plan.md>, **2020**.
- [192] M. Shannon, PEP 659 – Specializing Adaptive Interpreter, <https://peps.python.org/pep-0659/>, **2021**.
- [193] J. Miller, A Team at Microsoft is Helping Make Python Faster, <https://devblogs.microsoft.com/python/python-311-faster-cpython-team/>, **2022**.
- [194] NumPy, <https://numpy.org/doc/stable/index.html>.
- [195] SciPy, <https://docs.scipy.org/doc/scipy/reference/>.
- [196] PyTorch, <https://pytorch.org/>.
- [197] Tensorflow, <https://www.tensorflow.org/>.
- [198] Numba, <https://numba.pydata.org/>.
- [199] D. Plummer, Modern C++: Unique Ptrs and Vectors, <https://www.youtube.com/watch?v=b8V-WIj1ScA>.
- [200] J. Murphy, unique_ptr: C++’s simplest smart pointer, <https://www.youtube.com/watch?v=Amjok55h68Y>.
- [201] <https://en.cppreference.com/w/cpp/container/vector>, `std::vector`.
- [202] `std::unique_ptr`, https://en.cppreference.com/w/cpp/memory/unique_ptr.
- [203] `std::shared_ptr`, https://en.cppreference.com/w/cpp/memory/shared_ptr.
- [204] M. Herlihy, N. Shavit, *The Art of Multiprocessor Programming*, Morgan Kaufmann, **2010**.
- [205] A. Williams, *C++ Concurrency in Action*, Manning Publication, **2019**.
- [206] Oficjalne repozytorium CPythona, https://github.com/python/cpython/blob/main/Python/ceval_gil.c.
- [207] Intel® Core™2 Duo Processor E6300, <https://www.intel.com/content/www/us/en/products/sku/27248/intel-core2-duo-processor-e6300-2m-cache-1-86-ghz-1066-mhz-fsb/specifications.html>, **2006**.
- [208] Xbox 360, https://en.wikipedia.org/wiki/Xbox_360.
- [209] PlayStation 3, https://en.wikipedia.org/wiki/PlayStation_3.
- [210] D. Beazley, Understanding the Python GIL, <https://www.youtube.com/watch?v=0bt-vMvM8s>, **2010**.
- [211] What’s New In Python 3.2, <https://docs.python.org/3/whatsnew/3.2.html>, **2011**.
- [212] G. van van Rossum, It isn’t Easy to Remove the GIL, <https://www.artima.com/weblogs/viewpost.jsp?thread=214235>, **2007**.
- [213] G. van Rossum, PyCon US, <https://youtu.be/EBRMq2Ioxsc?t=1954>, **2012**.
- [214] G. van van Rossum, L. Fridman, Will Python ever remove the GIL?, <https://www.youtube.com/watch?v=m4zDBk0zAUY>, **2022**.
- [215] L. Hastings, PyCon 2015 – Python’s Infamous GIL, <https://youtu.be/KVKufdTphKs>, **2015**.
- [216] Multiprocessing — Process-based “threading” interface, <https://docs.python.org/release/2.6/library/multiprocessing.html#module-multiprocessing>, **2008**.
- [217] Shared memory for direct access across processes, https://docs.python.org/3.8/library/multiprocessing.shared_memory.html, **2019**.

- [218] ArrayQueues, <https://github.com/portugueslab/arrayqueues>.
- [219] Python Synchronisation Manager, <https://docs.python.org/3/library/multiprocessing.html#multiprocessing-managers>.
- [220] L. Hastings, Removing Python's GIL: The Gilectomy – PyCon 2016, https://www.youtube.com/watch?v=P3AyI_u66Bw, **2016**.
- [221] L. Hastings, The Gilectomy How's It Going PyCon 2017, <https://www.youtube.com/watch?v=pLqv11ScGsQ>, **2017**.
- [222] J. Edge, Progress on the Gilectomy, <https://lwn.net/Articles/723514/>, **2017**.
- [223] J. Edge, A Gilectomy update, <https://lwn.net/Articles/754577/>, **2018**.
- [224] S. Gross, Python multithreading without the GIL, <https://groups.google.com/g/dev-python/c/Wleow8mm6fY>.
- [225] Łukasz Langa, S. Gross, Notes From the Meeting On Python GIL Removal Between Python Core and Sam Gross, **2021**.
- [226] S. Gross, Multithreaded Python without the GIL, <https://docs.google.com/document/d/18CXhDb1yngx-YXNBjNzfzZsDFosB5e6BfnXLlejD9l0/edit>, **2022**.
- [227] S. Gross, Keynote: Multithreaded Python without the GIL, <https://www.youtube.com/watch?v=900JcTp8dqE>, **2022**.
- [228] J. Choi, T. Shull, J. Torrellas, „Biased Reference Counting: Minimizing Atomic Operations in Garbage Collection”, PACT '18 **2018**, DOI 10.1145/3243176.3243195.
- [229] S. Gross, Multithreaded Python without the GIL (experimental rebase on 3.12), <https://github.com/colesbury/nogil-3.12>, **2023**.
- [230] S. Gross, Python Multithreading without GIL.
- [231] The Python Benchmark Suite, <https://github.com/python/pyperformance>.
- [232] S. Gross, PEP 703 – Making the Global Interpreter Lock Optional in CPython, <https://peps.python.org/pep-0703> (17.01.2023), **2023**.
- [233] PEP 703: Making the Global Interpreter Lock Optional, <https://discuss.python.org/t/pep-703-making-the-global-interpreter-lock-optional/22606/112>, **2023**.
- [234] Add mimalloc memory allocator, <https://github.com/python/cpython/issues/90815>, **2022**.
- [235] E. Snow, E. Elizondo, PEP 683 – Immortal Objects, Using a Fixed Refcount, <https://peps.python.org/pep-0683/>, **2022**.
- [236] S. Gross, Supported C API Extensions, <https://github.com/colesbury/nogil/wiki/Supported-C-API-Extensions>, **2023**.
- [237] J. Mainzer i in., RFC: Multi-Thread HDF5, spraw. tech., The HDF Group, **2021**.
- [238] Transmission Control Protocol, <https://tools.ietf.org/html/rfc761>.
- [239] IEEE SA – IEEE 488.2-1992, <https://standards.ieee.org/ieee/488.2/718/>.
- [240] PyQt5 Documentation, <https://www.riverbankcomputing.com/static/Docs/PyQt5/>.
- [241] Save variables from workspace to file – MATLAB save, <https://www.mathworks.com/help/matlab/ref/save.html>.
- [242] JSON Data Format Documentation, <https://www.json.org/json-en.html>.
- [243] Hierarchical Data Format 5 Documentation, <https://portal.hdfgroup.org/display/HDF5/HDF5>.
- [244] GZIP File Format Specification Version 4.3, <https://tools.ietf.org/html/rfc1952>.
- [245] S. Butterworth, „On the Theory of Filter Amplifiers”, *Wireless Engineer* **1930**, 7.
- [246] PyQtGraph, <http://www.pyqtgraph.org/>.
- [247] socket – Low-level networking interface, <https://docs.python.org/3/library/socket.html>.
- [248] M. C. Wang, „An Algorithm for Gray-to-Binary Conversion”, *IEEE Transactions on Electronic Computers* **1966**, EC-15, DOI 10.1109/PGEC.1966.264390.
- [249] Pandas – Python Data Analysis Library, <https://pandas.pydata.org/>.
- [250] P. Jurgielewicz, S. Gross, Unable to use multiple HDF files in separate threads (Pandas + Tables), <https://github.com/colesbury/nogil/issues/95>, **2023**.

- [251] M. Carlson, Python Ditches The GILs And Comes Ashore, <https://hackaday.com/2021/11/03/python-ditches-the-gils-and-comes-ashore/>, **2021**.
- [252] P. Jurgielewicz, nogil-support-installers, <https://github.com/pjurgielewicz/nogil-support-installers>, **2022**.
- [253] Procesor Intel® Core™ i5-4590, <https://www.intel.pl/content/www/pl/pl/products/sku/80815/intel-core-i54590-processor-6m-cache-up-to-3-70-ghz/specifications.html>.
- [254] Procesor Intel® Xeon® E5-2687W v2, <https://www.intel.pl/content/www/pl/pl/products/sku/76161/intel-xeon-processor-e52687w-v2-25m-cache-3-40-ghz/specifications.html>.
- [255] A. Schuster, „On the investigation of hidden periodicities with application to a supposed 26 day period of meteorological phenomena”, *Terrestrial Magnetism* **1898**, *3*, DOI 10.1029/TM003i001p00013.
- [256] P. Welch, „The use of fast Fourier transform for the estimation of power spectra: A method based on time averaging over short, modified periodograms”, *IEEE Transactions on Audio and Electroacoustics* **1967**, *15*, DOI 10.1109/TAU.1967.1161901.
- [257] SciPy Welch(), <https://docs.scipy.org/doc/scipy/reference/generated/scipy.signal.welch.html>.
- [258] D. L. Feucht w *Handbook of Analog Circuit Design*, (red.: D. L. Feucht), Academic Press, **1990**.
- [259] C. Mora Lopez i in., „A Neural Probe With Up to 966 Electrodes and Up to 384 Configurable Channels in 0.13 μm SOI CMOS”, *IEEE Transactions on Biomedical Circuits and Systems* **2017**, *11*, DOI 10.1109/TBCAS.2016.2646901.
- [260] E. Bharucha, H. Seprehrian, B. Gosselin, „A Survey of Neural Front End Amplifiers and Their Requirements toward Practical Neural Interfaces”, *Journal of Low Power Electronics and Applications* **2014**, *4*, DOI 10.3390/jlpea4040268.
- [261] J. Osiowski, *Zarys rachunku operatorowego*, Wydawnictwa Naukowo-Techniczne, **1981**.
- [262] *Handbook of Mathematical Functions: with Formulas, Graphs, and Mathematical Tables*, (red.: M. Abramowitz, I. A. Stegun), Dover Publications, **1965**.
- [263] Non-Linear Least-Squares Minimization and Curve-Fitting for Python, <https://lmfit.github.io/lmfit-py/>.
- [264] NeuroNexus 2021 Electrode Array Design Catalog, <https://neuronexus.com/files/catalog/2021-Probe-Catalog.pdf>.
- [265] NanoZ Electroplating Device, <https://white-matter.com/products/nanoz/>.
- [266] NeuroNexus Probe Mapping, <https://neuronexus.com/support/product-documentation/mapping/probe-mapping>.
- [267] NeuroNexus mapping A64 Package, <https://neuronexus.com/files/probemapping/64-channel/A64-Maps.pdf>.
- [268] J. E. Ferguson, C. Boldt, D. A. Redish, „Creating Low-Impedance Tetrodes by Electroplating with Additives”, *Sensors and Actuators. A Physical* **2009**, *156*, DOI 10.1016/j.sna.2009.10.001.
- [269] A. L. Laura M. J. Fernandez, „Sleep Spindles: Mechanisms and Functions”, *Physiological Reviews* **2020**, *100*, DOI 10.1152/physrev.00042.2018.
- [270] T. A. Woolsey, H. Van der Loos, „The structural organization of layer IV in the somatosensory region (S I) of mouse cerebral cortex: The description of a cortical field composed of discrete cytoarchitectonic units”, *Brain Research* **1970**, *17*, DOI 10.1016/0006-8993(70)90079-X.
- [271] M. Adibi, M. E. Diamond, E. Arabzadeh, „Behavioral study of whisker-mediated vibration sensation in rats”, *Proceedings of the National Academy of Sciences* **2012**, *109*, DOI 10.1073/pnas.1116726109.
- [272] E. Kublik, D. A. Świejkowski, A. Wróbel, „Cortical Contribution to Sensory Volleys Recorded at Thalamic Nuclei of Lemniscal and Paralemniscal Pathways”, *Acta Neurobiologiae Experimentalis* **2003**, *63*.
- [273] S. Łęski i in., „Extracting Functional Components of Neural Dynamics with Independent Component Analysis and Inverse Current Source Density”, *Journal of Computational Neuroscience* **2010**, *29*, DOI 10.1007/s10827-009-0203-1.
- [274] R. T. Narayanan, D. Udvary, M. Oberlaender, „Cell Type-Specific Structural Organization of the Six Layers in Rat Barrel Cortex”, *Frontiers in Neuroanatomy* **2017**, *11*, DOI 10.3389/fnana.2017.00091.
- [275] D. Barth, S. Di, „Laminar Excitability Cycles in Neocortex”, *Journal of Neurophysiology* **1991**, *65*, DOI 10.1152/jn.1991.65.4.891.
- [276] G. Paxinos, C. Watson, *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*, 6 wyd., Academic Press, **2007**.

- [277] A. Arieli i in., „Dynamics of Ongoing Activity: Explanation of the Large Variability in Evoked Cortical Responses”, *Science* **1996**, *273*, DOI 10.1126/science.273.5283.1868.
- [278] P. Musiał, E. Kublik, A. Wróbel, „Spontaneous Variability Reveals Principal Components in Cortical Evoked Potentials”, *Neuroreport* **1998**, *9*, DOI 10.1097/00001756-199808030-00037.
- [279] M. S. Jones i in., „Intracellular Correlates of Fast (>200 Hz) Electrical Oscillations in Rat Somatosensory Cortex”, *Journal of Neurophysiology* **2000**, *84*, PMID: 10980023, DOI 10.1152/jn.2000.84.3.1505.
- [280] J. Kamiński, A. Wróbel, E. Kublik, „Gap junction blockade eliminates supralinear summation of fast (>200Hz) oscillatory components during sensory integration in the rat barrel cortex”, *Brain Research Bulletin* **2011**, *85*, DOI 10.1016/j.brainresbull.2011.04.006.
- [281] D. S. Barth, „Submillisecond Synchronization of Fast Electrical Oscillations in Neocortex”, *Journal of Neuroscience* **2003**, *23*, DOI 10.1523/JNEUROSCI.23-06-02502.2003.
- [282] J. Lipski, „Antidromic activation of neurones as an analytic tool in the study of the central nervous system”, *Journal of Neuroscience Methods* **1981**, *4*, DOI 10.1016/0165-0270(81)90015-7.
- [283] J. Lübke, D. Feldmeyer, „Excitatory signal flow and connectivity in a cortical column: focus on barrel cortex”, *Brain Structure and Function* **2007**, *212*, DOI 10.1007/s00429-007-0144-2.
- [284] K. Mitani i in., „Automated and parallelized spike collision tests to identify spike signal projections”, *iScience* **2022**, *25*, DOI 10.1016/j.isci.2022.105071.
- [285] P. Hottowy i in., „Mapping direct and indirect activation of cortical neurons by weak electrical pulses with massively parallel MEA-based electrical stimulation and recording”, *Frontiers in Cellular Neuroscience* **2018**, DOI 10.3389/conf.fncel.2018.38.00024.
- [286] Procesor Intel® Core™ i9-10850K, <https://www.intel.pl/content/www/pl/pl/products/sku/205904/intel-core-i910850k-processor-20m-cache-up-to-5-20-ghz/specifications.html>.
- [287] Ubuntu 20.04.6 LTS (Focal Fossa), <https://releases.ubuntu.com/focal/>.
- [288] tcpdump, <https://www.tcpdump.org/>.
- [289] Procesor Intel® Core™ i5-4690K, <https://www.intel.pl/content/www/pl/pl/products/sku/80811/intel-core-i54690k-processor-6m-cache-up-to-3-90-ghz/specifications.html>.
- [290] Picosecond Pulsed Sources – LDH Series – LDH-D-C-660, <https://www.picoquant.com/products/category/picosecond-pulsed-sources/ldh-series-picosecond-pulsed-diode-laser-heads#custom1>.
- [291] Picosecond Pulsed Drivers – PDL 800-D, <https://www.picoquant.com/products/category/picosecond-pulsed-driver/pdl-800-d-picosecond-pulsed-diode-laser-driver-with-cw-capability#description>.
- [292] Motorized XY Scanning Stage – Motorized Positioners & Controllers – Catalog – Opto-Mechanical Products – Standa, https://www.standa.lt/products/catalog/motorised_positioners?item=311.
- [293] Motorized Stage – Motorized Positioners & Controllers – Catalog – Opto-Mechanical Products – Standa, https://www.standa.lt/products/catalog/motorised_positioners?item=242.
- [294] P. Jurgielewicz i in., „A modular data acquisition system for reconstruction of radiation dose spatial distribution in radiotherapy treatment planning”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators Spectrometers Detectors and Associated Equipment* **2023**, *1045*, DOI 10.1016/j.nima.2022.167607.
- [295] S. Kumar, J. Chen, F. Kondev, „Cd109 Decay Radiation Results”, *Nuclear Data Sheets* **2016**, *137*.
- [296] Jednorodność wzmocnienia sygnału przez poszczególne kanały MA-PMT na podstawie pomiaru producenta, Dostęp na żądanie.
- [297] Prusa Research, <https://www.prusa3d.com/pl/>.
- [298] A. Savitzky, M. J. E. Golay, „Smoothing and Differentiation of Data by Simplified Least Squares Procedures.”, *Analytical Chemistry* **1964**, *36*, DOI 10.1021/ac60214a047.
- [299] Savitzky-Golay filter, https://docs.scipy.org/doc/scipy/reference/generated/scipy.signal.savgol_filter.html.
- [300] E. S. Boyden i in., „Millisecond-Timescale, Genetically Targeted Optical Control of Neural Activity”, *Nature Neuroscience* **2005**, *8*, DOI 10.1038/nn1525.
- [301] O. Yizhar i in., „Optogenetics in Neural Systems”, *Neuron* **2011**, *71*, DOI 10.1016/j.neuron.2011.06.004.
- [302] M. Vöröslakos i in., „HectoSTAR μ LED Optoelectrodes for Large-Scale, High-Precision In Vivo Opto-Electrophysiology”, *Advanced Science* **2022**, *9*, DOI 10.1002/adv.202105414.

- [303] J. Adamovics, M. J. Maryanski, „Characterisation of PRESAGETM: A new 3-D radiochromic solid polymer dosimeter for ionising radiation”, *Radiation Protection Dosimetry* **2006**, *120*, DOI 10.1093/rpd/nci555.
- [304] J. Jackson i in., „An investigation of PRESAGE® 3D dosimetry for IMRT and VMAT radiation therapy treatment verification”, *Physics in Medicine & Biology* **2015**, *60*, DOI 10.1088/0031-9155/60/6/2217.
- [305] Q.-u.-a. Shamsi i in., „Review on the feasibility of using PRESAGETM dosimeter in various radiotherapy techniques”, *Journal of Radiotherapy in Practice* **2021**, *20*, DOI 10.1017/S1460396920000163.
- [306] Bigjpg – AI Super-Resolution lossless image enlarging / upscaling tool using Deep Convolutional Neural Networks, <https://bigjpg.com/>.
- [307] Python Documentation, <https://docs.python.org/3/>.
- [308] HDF5 for Python, <https://docs.h5py.org/en/stable/>.
- [309] NI-DAQmx, <https://knowledge.ni.com/KnowledgeArticleDetails?id=kA00Z00000P8baSAC&l=pl-PL>.
- [310] NI-DAQmx Driver Download Page, <https://www.ni.com/pl-pl/support/downloads/drivers/download.ni-daqmx.html#348669>.
- [311] NI-VISA, <https://www.ni.com/visa/default.htm>.
- [312] NI-VISA Download, <https://www.ni.com/pl-pl/support/downloads/drivers/download.ni-visa.html#346210>.
- [313] PyVISA: Control your instruments with Python, <https://pyvisa.readthedocs.io/en/latest/>.
- [314] Psutil Documentation, <https://psutil.readthedocs.io/en/latest/>.
- [315] P. Jurgielewicz, Repozytorium oprogramowania Neurostim-3, https://git.plgrid.pl/projects/NEUROSTIM/repos/dvs-system/browse?at=refs%2Fheads%2FDVS4_Oversampling, dostęp na żądanie.
- [316] P. Jurgielewicz, Repozytorium oprogramowania Dose3D, <https://git.plgrid.pl/projects/TNDAQ/repos/daq-software-platform/browse>, dostęp na żądanie.
- [317] I. Schnell, bitarray: efficient arrays of booleans, <https://pypi.org/project/bitarray/>.
- [318] M. Scharrer, crccheck, <https://pypi.org/project/crccheck/>.
- [319] A. Forencich, python-vxll1, <https://pypi.org/project/python-vxll1/>.
- [320] Dataclasses JSON, <https://pypi.org/project/dataclasses-json/>.
- [321] PyYAML, <https://pypi.org/project/PyYAML/>.
- [322] Pandas, <https://pypi.org/project/pandas/>.
- [323] PyTables Documentation, <http://www.pytables.org/>.
- [324] PyTables, <https://pypi.org/project/tables/>.
- [325] inputtimeout, <https://pypi.org/project/inputtimeout/>.
- [326] C. Hjortlund, simple-watchdog-timer, <https://pypi.org/project/simple-watchdog-timer/>.

Dodatek A

Wykorzystane oprogramowanie

W przypadku niektórych rysunków/schematów/zdjęć pochodzących z cytowanych źródeł, a zawartych w niniejszym manuskrypcie, skorzystano z narzędzia do zwiększania rozdzielczości obrazu, działającego w oparciu o techniki uczenia maszynowego [306].

A.1 System *Neurostim-3*

Oprogramowanie DAQ działa pod kontrolą Windows 7 oraz 10 i korzysta z bibliotek, których lista wraz z numerem wersji jest zaprezentowana w Tab. A.1.

Tab. A.1: Lista zależności od oprogramowania dla projektu *Neurostim-3*.

Cel	Nazwa	Wersja	Referencje
Implementacja	<i>CPython</i>	3.8.3 64bit	[307]
Interfejs użytkownika	<i>PyQt5</i>	5.14	[240]
Tworzenie wykresów	<i>PyQtGraph</i>	0.11	[246]
Zapis danych	<i>HDF5</i>	1.8.14 64bit	[243]
	<i>h5py</i>	2.10	[308]
Komunikacja z urządzeniami	<i>NI-DAQmx</i>	18.1f1	[309, 310]
	<i>NI-VISA</i>	18.5	[311, 312]
	<i>PyVISA</i>	1.10	[313]
Pamięć współdzielona	<i>arrayqueues</i>	1.2.0b0	[218]
Przetwarzanie danych numerycznych	<i>NumPy</i>	1.18	[194]
	<i>SciPy</i>	1.4.1	[195]
Kompilacja do kodu maszynowego	<i>Numba</i>	0.49.1	[198]
Monitorowanie stanu systemu	<i>psutil</i>	5.7	[314]

Baza kodu liczy sobie ponad 12 000 linii, przygotowanego przez Autora. W liczbie tej nie zostały zawarte komentarze, pliki odpowiedzialne za budowanie interfejsu graficznego ani też

przygotowane skrypty do generowania spójnych opisów eksperymentów umożliwiającą ciągłą zmianę parametrów transmisji zgodną z trybem próbkowania o zmiennej częstotliwości. Ten ostatni sam składa się z ponad 2500 linii kodu, co stanowi ponad 20% *wielkości* całego aktualnego systemu, choć w rzeczywistości dokonuje on jedynie semantycznej oceny tego, czy dla aktualnego stanu układu dana akcja jest dozwolona, czy nie. Budowanie właściwego strumienia bitów sterującego *Neurostim-3* zgodnego z trybem próbkowania o zmiennej częstotliwości nie zostało zaimplementowane. Przytoczona wartość pokazuje tylko, jak bardzo skomplikowanym zadaniem będzie zbudowanie elastycznego oprogramowania dla tego sprzętu z uwzględnieniem wszelkich jego możliwości.

Źródła projektu dostępne są na żądanie [315].

A.2 System *Dose-3D*

Główne wyzwanie związane z oprogramowaniem dla systemu *Dose-3D* zostało opisane na łamach pracy i dotyczyło ograniczeń *CPythona* w zakresie przetwarzania współbieżnego. Dodatkowo oprogramowanie to powinno móc zostać uruchomione na systemie operacyjnym typu *Linux* (*Debian*, *Ubuntu*) oraz *Windows*. Ze względu na wykorzystanie innowacyjnej implementacji *CPythona*, która jest pozbawiona GIL na początku 2022 roku było to w znacznej mierze utrudnione. Głównie z powodu braku dostępu do wersji binarnych popularnych bibliotek zgodnych jednocześnie z *nogilem* oraz systemem operacyjnym *Windows*. Mimo licznych przeciwności na wielu etapach kompilacji bibliotek wprost z ich kodu źródłowego, po tygodniu udało się opanować ten proces i uruchomić pomiar z wykorzystaniem DAQ. Szczegółowa lista zależności od bibliotek zewnętrznych została zebrana w Tab. A.2.

W chwili, gdy pisane są te słowa oprogramowanie DAQ działa w oparciu o >11 000 linii kodu (w przeciwieństwie do *Neurostim-3* nie ma w tym przypadku podsystemu wizualizacji danych). Z uwagi na kooperatywną pracę członków zespołu *Dose-3D* nie wszystkie z nich są bezpośrednią zasługą Autora. Część podsystemów takich jak obsługa programowania *MAROC 3A*, czy konkretnych urządzeń zewnętrznych zgodnych ze standardami I2C oraz SCPI została zaproponowana przez współpracowników. Niemniej jednak za cały trzon oprogramowania, potok przetwarzania i implementację mechaniki *Scenariuszy Pomiaru* odpowiedzialny był Autor (~70% kodu).

Źródła projektu dostępne są na żądanie [316].

Tab. A.2: Lista zależności od oprogramowania dla projektu *Dose-3D*.

Cel	Nazwa	Wersja	Referencje
Implementacja	<i>CPython</i>	3.9.10 64bit (nogil)	[230]
Komunikacja z urządzeniami	<i>bitarray</i>	2.6.0	[317]
	<i>crccheck</i>	1.3.0	[318]
	<i>NI-VISA</i>	18.5	[311, 312]
	<i>PyVISA</i>	1.10	[313]
	<i>python-vxi11</i>	0.9	[319]
Obsługa danych numerycznych	<i>NumPy</i>	1.19.4	[194]
Konfiguracja	<i>dataclasses-json</i>	0.5.7	[320]
	<i>PyYAML</i>	5.3.1	[321]
Zapis i przetwarzanie danych	<i>pandas</i>	1.3.1	[249, 322]
	<i>tables</i>	3.6.1	[323, 324]
Inne	<i>inputtimeout</i>	1.0.4	[325]
	<i>simple-watchdog</i>	0.1.1	[326]

Dodatek B

Wkład Autora

Oba opisywane na łamach niniejszej pracy systemy pomiarowe są złożonymi układami, do których zaprojektowania i wytworzenia potrzebna jest rozległa wiedza z różnych dziedzin nauk podstawowych, technicznych oraz kompetencje organizatorskie związane z koniecznością pozyskania środków na ich realizację. Jako Autor tej pracy podejmuję się opisanie pewnych wybranych zagadnień związanych z podstawą działania i konstrukcją tych systemów, należy jednak podkreślić, że są one wynikiem pracy całych zespołów badawczych, a nie samego Autora.

Moja rola skupiała się głównie na zapewnieniu możliwości stabilnej komunikacji z wyprodukowanym sprzętem poprzez napisane od podstaw oprogramowanie, z uwzględnieniem potrzeb przyszłych użytkowników (choć w przypadku *Dose-3D* niektóre elementy, związane zwłaszcza z obsługą urządzeń dodatkowych, zostały przygotowane przez współpracowników). Miałem pełną dowolność w doborze wykorzystywanych narzędzi i technik, co przejawia się dobitnie w jednym z projektów. Gdy status oprogramowania już na to pozwolił, współuczestniczyłem w pomiarach z wykorzystaniem tych systemów, (współ)analizowałem pozyskane dane oraz prezentowałem je na międzynarodowych konferencjach.

W ramach dodatkowego wkładu w rozwój eksperymentalnych technik elektrofizjologicznych opracowałem również DAQ wraz z systemem automatycznego przygotowania opisu pomiaru na potrzeby testów prototypowego niskoszumowego wzmacniacza sygnałów neuronalnych *HiFiNeuroPre*. System ten został zaprojektowany na Wydziale Fizyki i Informatyki Stosowanej Akademii Górniczo-Hutniczej im. Stanisława Staszica w Krakowie w ramach równoległe powstającego doktoratu *Opracowanie wielokanałowego układu scalonego w technologii CMOS do rejestracji aktywności neuronalnej oraz jego aplikacja w funkcjonalnych badaniach mózgu*. Ponadto brałem również dwukrotnie udział w kampaniach pomiarowych, których celem była rejestracja aktywności mózgu myszy i szczurów za pomocą tego systemu – nie stanowi to jednak przedmiotu niniejszej rozprawy.

O ile nie podano inaczej wszystkie fotografie oraz wykresy zostały wytworzone/zrealizowane przez Autora.

Tab. B.1: Współautorstwo artykułów naukowych.

Lp	Tytuł	Autorzy	Czasopismo	DOI
1	A Modular Data Acquisition System for Reconstruction of Radiation Dose Spatial Distribution in Radiotherapy Treatment Planning	P. Jurgielewicz, M. Filipiek, T. Fiułowski, D. Kabat, K. Kalecińska, L. Kaplon, M. Kopeć, S. Koperny, D. Kulig, J. Moron, G. Moskał, A. Ruciński, P. Wiącek, T. Szumlak, B. Mindur	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research - Section A	https://doi.org/10.1016/j.nima.2022.167607 [294]
2	A Reconfigurable Detector for Measuring the Spatial Distribution of Radiation Dose for Applications in the Preparation of Individual Patient Treatment Plans	M. Kopeć, T. Fiułowski, P. Jurgielewicz, D. Kabat, K. Kalecińska, L. Kaplon, S. Koperny, D. Kulig, J. Moron, G. Moskał, A. Ruciński, P. Wiącek, B. Mindur, T. Szumlak	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research - Section A	https://doi.org/10.1016/j.nima.2022.167937 [160]
3	Medical Imaging Data Analysis Using 3D Deep Learning Models Towards Improving the Individual Treatment Plans	K. Kalecińska, T. Fiułowski, P. Jurgielewicz, D. Kabat, L. Kaplon, M. Kopeć, S. Koperny, D. Kulig, J. Moron, G. Moskał, A. Ruciński, P. Wiącek, B. Mindur, T. Szumlak	Nuclear Instruments and Methods in Physics Research - Section A	https://doi.org/10.1016/j.nima.2022.167951 [130]
4	Investigation of the Light Output of 3D-Printed Plastic Scintillators for Dosimetry Applications	L. Kaplon, D. Kulig, S. Beddar, T. Fiułowski, W. Górka, J. Hajduga, P. Jurgielewicz, D. Kabat, K. Kalecińska, M. Kopeć, S. Koperny, B. Mindur, J. Moron, G. Moskał, S. Niedźwiecki, M. Silariski, F. Sobczuk, T. Szumlak, A. Ruciński	Radiation Measurements	https://doi.org/10.1016/j.radmeas.2022.106864 [144]
5	Modular Data Acquisition System for Recording Activity and Electrical Stimulation of Brain Tissue Using Dedicated Electronics	P. Jurgielewicz, T. Fiułowski, E. Kublik, A. Skoczni, M. Szypulska, P. Wiącek, P. Hoffowy, B. Mindur	Sensors	https://doi.org/10.3390/s21134423 [85]

Tab. B.2: Uczestnictwo w konferencjach.

Lp	Nazwa Konferencji	Termin, Miejsce	Tytuł	Forma	Autorzy	Prezenter
1	The 11th Congress of Societas Humboldtiana Polonorum <i>Science in The Age of Globalization</i>	12-15.09.2019, Szczecin (Polska)	Scalable Real-Time DAQ System For Neural Signal Analysis	Poster	P. Jurgielewicz, B. Mindur, M. Szypulska, P. Hoffowy	+

2	14th International Congress of the Polish Neuroscience Society	28-30.08.2019, Katowice (Polska)	Microelectronic System for Low-artifact Electrical Stimulation and Recording of Brain Activity at up to 512 Electrodes	Poster	M. Szypliska, P. Wiącek, A. Skoczeń, I. Ahmed, T. Fiułowski, P. Jurgielewicz , K. Kolodziej, B. Mindur, T. Czerwiński, D. Wójcik, E. Kublik, W. Dąbrowski, P. Hottowy	-
3	FENS Regional Meeting 2021	25-27.08.2021, Kraków (Polska)	Novel Data Acquisition System for Measuring and Evoking Neural Activity Using Multi-Electrode Arrays and Dedicated Electronics	Poster (Poster)	P. Jurgielewicz , W. Dąbrowski, E. Kublik, K. Przywara, P. Hottowy, B. Mindur	+
4	43rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society	1-5.11.2021, Guadalajara (Meksyk)	Artifical Cancellation for Same-Electrode Stimulation and Recording	Poster (Online)	K. Przywara, P. Jurgielewicz , M. Szypliska, E. Kublik, B. Mindur, W. Dąbrowski, P. Hottowy	-
4	43rd Annual International Conference of the IEEE Engineering in Medicine and Biology Society	1-5.11.2021, Guadalajara (Meksyk)	Advancement of Data Acquisition System for Neural Activity Experiments Using Multi-Electrode Arrays	Poster (Online)	P. Jurgielewicz , M. Szypliska, P. Wiącek, P. Hottowy, B. Mindur	+
5	15th Pisa Meeting on Advanced Detectors	22-28.05.2022, La Biodola, Isola d'Elba (Włochy)	AC-Coupled CMOS Neural Amplifier Optimized for Low Level Distortions over Full Bandwidth	Poster (Online)	B. Trzpił-Jurgielewicz, W. Dąbrowski, P. Jurgielewicz , P. Wiącek, P. Hottowy	-
			A Modular Data Acquisition System for Reconstruction of Radiation Dose Spatial Distribution in Radiotherapy Treatment Planning	Poster	P. Jurgielewicz , M. Filipek, T. Fiułowski, D. Kabat, K. Kalecińska, Ł. Kapłon, M. Kopec, S. Koperny, D. Kulig, J. Moron, G. Moskal, A. Ruciński, P. Wiącek, T. Szumlak, B. Mindur	+
			A Reconfigurable Detector for Measuring the Spatial Distribution of Radiation Dose for Applications in the Preparation of Individual Patient Treatment Plans	Poster	M. Kopec, T. Fiułowski, P. Jurgielewicz , D. Kabat, K. Kalecińska, Ł. Kapłon, S. Koperny, D. Kulig, J. Moron, G. Moskal, A. Ruciński, P. Wiącek, B. Mindur, T. Szumlak	-
			Medical Imaging Data Analysis Using 3D Deep Learning Models Towards Improving the Individual Treatment Plans	Poster	K. Kalecińska, T. Fiułowski, P. Jurgielewicz , D. Kabat, Ł. Kapłon, M. Kopec, S. Koperny, D. Kulig, J. Moron, G. Moskal, A. Ruciński, P. Wiącek, B. Mindur, T. Szumlak	-

6	23rd International Workshop on Radiation Imaging Detectors	26-30.06.2022, Riva del Garda (Włochy)	Flexible Data Acquisition Software for Imaging of Radiation Dose Spatial Distribution for Radiotherapy Treatment Planning	Poster	P. Jurgielewicz , T. Fiurowski, D. Kabat, K. Kalecińska, L. Kaplon, M. Kopeć, S. Koperny, D. Kulig, J. Moroi, G. Moskal, A. Ruciński, P. Wiącek, T. Szumlak, B. Mindur	+
7	12th International Meeting on Substrate-Integrated Microelectrode Arrays	6-8.07.2022, Tybinga (Niemcy)	Modular Data Acquisition System of a Reconfigurable Detector for Measuring the Spatial Distribution of Therapeutic Radiation Dose	Poster	P. Jurgielewicz , T. Fiurowski, P. Jurgielewicz , D. Kabat, K. Kalecińska, L. Kaplon, S. Koperny, D. Kulig, J. Moroi, G. Moskal, A. Ruciński, P. Wiącek, T. Szumlak, B. Mindur	-
7	12th International Meeting on Substrate-Integrated Microelectrode Arrays	6-8.07.2022, Tybinga (Niemcy)	Microstimulation in the Rat Barrel Cortex Using Custom ASIC-Based 512-Channel System and High-Density Silicon Probes	Prezentacja	P. Jurgielewicz , M. Szypliska, P. Wiącek, A. Skoczeń, T. Fiurowski, W. Dąbrowski, B. Mindur, E. Kublik, P. Hottowy	+
8	FENS Forum 2022	9-13.07.2022, Paryż (Francja)	Low-Distortion CMOS Neural Preamplifier for High-Channel-Count Neuroelectronic Interfaces	Poster	B. Trzpił-Jurgielewicz, W. Dąbrowski, P. Jurgielewicz , E. Kublik, P. Wiącek, P. Hottowy	-
8	FENS Forum 2022	9-13.07.2022, Paryż (Francja)	Low-Amplitude Electrical Microstimulation of a Cortical Column in Rat Barrel Cortex with High-Density Silicon Probes	Poster	P. Jurgielewicz , M. Szypliska, P. Wiącek, A. Skoczeń, T. Fiurowski, W. Dąbrowski, B. Mindur, E. Kublik, P. Hottowy	+
			Low-Distortion and Low-Noise CMOS Amplifier for High-Channel-Count Neuroelectronic Interfaces	Poster	B. Trzpił-Jurgielewicz, W. Dąbrowski, P. Jurgielewicz , E. Kublik, P. Wiącek, P. Hottowy	-

Tab. B.3: Uczestnictwo w szkoleniach

Lp	Termin	Miejsce	Nazwa
1	13-22.01.2020	Walencja, Hiszpania	ISOTDAQ 2020 - International School of Trigger and Data Acquisition
2	4-17.09.2022	Kraków, Polska	CERN School of Computing 2022

Dodatek C

Spis rysunków

1.1	Schemat ideowy budowy neuronu	3
1.2	Przebieg potencjału błony komórkowej komórki nerwowej w odpowiedzi na otrzymany bodziec nadprogowy	3
1.3	Symulacja aktywności mózgu z wykorzystaniem oprogramowania <i>DigiCortex</i>	5
1.4	Standard rozmieszczenia elektrod w pomiarze EEG na powierzchni głowy dorosłego człowieka	6
1.5	Przykładowy zarejestrowany przebieg sygnału EEG	6
1.6	Aktywność mózgu człowieka w odpowiedzi na prezentowane mu obrazy	8
1.7	Fotografie reklamowe urządzenia <i>Phillips Ingenia Elition 3.0T</i>	8
1.8	Pasywna sonda o wysokiej gęstości elektrod	10
1.9	Schemat zastępczy impedancji elektrody w elektrolicie	13
1.10	Zależność impedancji elektrody od częstości sygnału	13
1.11	Symulacja artefaktu stymulacyjnego	16
1.12	Względne znaczenie trzech głównych typów oddziaływań promieniowania fotonowego z materią w funkcji jego energii oraz liczby atomowej ośrodka absorbującego	20
1.13	Symulacja widma lampy rentgenowskiej z anodą wykonaną z wolframu dla trzech przykładowych napięć przyspieszających	22
1.14	Zasada działania akceleratora liniowego na przykładzie elektronów	23
1.15	Uproszczony, schematyczny rzut dwuwymiarowy objętości definiowanych na potrzeby radioterapii, w celu przygotowania właściwego planu leczenia pacjenta	25
1.16	Schemat działania MLC	25
1.17	Wizualizacja techniczna komponentów składowych urządzenia <i>TrueBeamTM</i>	27
1.18	Fotografie systemu <i>TrueBeamTM</i> znajdującego się w Narodowym Instytucie Onkologii w Krakowie	28
1.19	Uproszczony schemat budowy i działania PMT	30
1.20	Czułość katody oraz wydajność kwantowa przykładowego MA-PMT dostępnego komercyjnie	32
1.21	Efekty działania toru akwizycji złożonego ze wzmacniacza ładunkowego oraz układu kształtowania	34
2.1	Schemat ideowy eksperymentu z użyciem systemu <i>Neurostim-3</i>	39

2.2	Architektura sprzętowa systemu pomiarowego <i>Neurostim-3</i>	40
2.3	Fotografia IB w wersji obsługującej do dwóch AB 64-kanalowych	42
2.4	Fotografia IB w wersji obsługującej do czterech AB 64- lub 128-kanalowych	43
2.5	Makrofotografia zamontowanego układu <i>Neurostim-3</i> na AB przed umieszczeniem go w miedzianej osłonie tłumiącej zakłócenia elektromagnetyczne	44
2.6	Potok przetwarzania danych zaimplementowany na AB	45
2.7	Jedna z możliwych konfiguracji AB z gniazdem do podłączenia MEA o maksymalnej liczbie 64 elektrod	46
2.8	Konfiguracja AB w wersji 128-kanalowej	47
2.9	Ideowy schemat pomiaru terapeutycznej dawki pochłoniętej przy wykorzystaniu urządzenia zbudowanego w ramach konsorcjum <i>Dose-3D</i>	49
2.10	Geometria prototypowej konfiguracji fantomu na bazie scyntylatorów plastikowych w systemie <i>Dose-3D</i>	50
2.11	Przepływ danych w systemie pomiędzy poszczególnymi komponentami	52
2.12	Fotografia pierwszej wersji <i>Jednostki Akwizycji Danych</i>	53
2.13	Zdjęcia jednych z pierwszych wydruków 3D prototypu <i>Jednostek Akwizycji Danych</i>	54
2.14	Uproszczony schemat działania układu <i>MAROC 3A</i>	55
2.15	Organizacja oprogramowania układowego na FPGA	57
3.1	Wykonanie kodu programu przez maszynę wirtualną <i>CPython</i>	64
3.2	Ilustracja <i>wyścigu o dane</i> w wyniku braku synchronizacji między wątkami	66
3.3	Przykład sekwencji blokad, które prowadzą do zakleszczenia	67
3.4	Kooperacja procesów	69
3.5	<i>Przeniesione zliczanie referencji</i> zaimplementowane w <i>nogil</i>	70
3.6	Schemat architektury systemu DAQ dla urządzenia <i>Neurostim-3</i>	77
3.7	<i>Moduły Dodatkowe Aplikacji Serwerowej</i>	78
3.8	Główne okno programu <i>Aplikacji Serwerowej</i>	79
3.9	Schemat generowania oraz akwizycji <i>Strumieni Bitów</i>	81
3.10	Przepływ <i>Danych Kanałów</i> w systemie	84
3.11	Uproszczony algorytm działania <i>Symulatora Neurostim-3</i>	85
3.12	Układ danych w tablicy <i>Dane & Symulacja</i>	86
3.13	GUI do wizualizacji danych eksperymentalnych w trakcie trwania pomiaru	87
3.14	Główne komponenty aplikacji do wizualizacji danych pomiarowych	88
3.15	Potok przetwarzania danych implementowany przez aplikację do wizualizacji danych pomiarowych w trakcie eksperymentu	89
3.16	Widok głównego okna <i>Aplikacji Serwerowej</i> w trybie próbkowania o wysokiej częstotliwości	92
3.17	Okno wizualizacji zdeserializowanych danych w trybie próbkowania o wysokiej częstotliwości	93
3.18	Przykład logicznej hierarchii modułów możliwej do zaimplementowania w FPGA z wykorzystaniem platformy <i>XFCP</i>	95

3.19	Ilustracja zależności między modułami <i>XFCP</i> zaimplementowanymi w oprogramowaniu układowym	96
3.20	Schemat działania oprogramowania DAQ w projekcie <i>Dose-3D</i>	101
3.21	Wysokopoziomowa część oprogramowania DAQ w postaci <i>Menadżera Pomiaru</i> wraz z zarządzanymi przez niego wątkami	103
4.1	Czas deserializacji strumienia danych odpowiadającego akwizycji przez 0,5s przez trzy różne wersje algorytmu	111
4.2	Wydażność działania procesu <i>Konstruktor Strumienia Stymulacyjnego</i> w teście wysokiego obciążenia zdarzeniami stymulacyjnymi	113
4.3	Zakresy PSD szumu wszystkich kanałów dla układów <i>Neurostim-3</i>	116
4.4	Rozkłady parametrów szumów wejściowych w pasmie LFP oraz AP dla układów <i>Neurostim-3</i> z drugiej produkcji	117
4.5	Przykładowe przebiegi wygenerowane przez układy stymulujące zintegrowane z <i>Neurostim-3</i> , oraz ich programowa symulacja na podstawie analizy <i>Wyjściowego Strumienia Bitów</i>	118
4.6	Znormalizowane odpowiedzi analogowego toru przetwarzania danych na stymulację za pomocą impulsu przypominającego kształtem złożony charakter zewnątrzkomórkowego AP	119
4.7	Minimalne zmierzone częstotliwości graniczne filtra górno- i dolnoprzepustowego dla różnych parametrów wzmocnienia sygnału wejściowego	121
4.8	Porównanie charakterystyki filtra górno- i dolnoprzepustowego dla układu <i>v4_1</i> oraz <i>v3</i>	122
4.9	Krzywe impedancji elektrod MEA zmierzone za pomocą systemu <i>Neurostim-3</i> w trybie próbkowania wysokiej częstotliwości	123
4.10	Pojedynczy okres sygnału stymulacyjnego wykorzystywanego do celu charakteryzacji analogowej odpowiedzi <i>Neurostim-3</i>	124
4.11	Zmierzony rozkład amplitud sygnału odczytanego przez <i>Neurostim-3</i> dla ustawienia wzmocnienia $K = 250 \frac{V}{V}$	125
4.12	Średnia odczytana amplituda prądu przez przykładowy kanał w funkcji prądu stymulacyjnego dla różnych ustawień wzmocnienia	126
4.13	Zmierzona wartość wzmocnienia dla wszystkich kanałów ASIC na podstawie zależności między średnią odpowiedzią a amplitudą wymuszenia	126
4.14	Zapis spontanicznej aktywności przy użyciu <i>Neurostim-3</i> z <i>NeuroNexus A8x8</i> MEA we wzgórzu uśpionego szczura	128
4.15	Zapis spontanicznej aktywności przedstawiający wrzeciona senne	128
4.16	Schemat <i>NeuroNexus A8x8</i> MEA	129
4.17	Średnia odpowiedź tkanki mózgu w obszarze wzgórzowym na stymulację wibrys dla 64 elektrod MEA	130
4.18	Średnia odpowiedź tkanki mózgu w obszarze kory mózgu na stymulację wibrys	131
4.19	Schemat sondy <i>Masmanidis Lab 128K</i> MEA	132
4.20	Protokół stymulacji wykorzystywany w eksperymencie	133

4.21 Średnie odpowiedzi w LFP zarejestrowane w korze mózgu szczura za pomocą 128-elektrodowej MEA	134
4.22 Średnie odpowiedzi zarejestrowane przez najbardziej wewnętrzne elektrody dla testowanych amplitud prądu	135
4.23 Schemat <i>Masmanidis Lab 128AN</i>	136
4.24 Potencjały czynnościowe zarejestrowane przez elektrodę testową uzyskane po stymulacji w jednym z odległych klastrów na tej samej MEA dla różnych amplitud prądu	137
4.25 Efektywność generowania AP przez stymulację w klastrach 5-elektrodowych w funkcji amplitudy prądu stymulacji	138
4.26 Utrata wejściowych pakietów UDP/IP przez oprogramowanie DAQ w funkcji częstotliwości ich wysyłania	141
4.27 Porównanie czasu potrzebnego do przeprowadzenia operacji dekodowania 1000 pakietów danych zawierających informacje z <i>Pomiaru Napięcia</i> oraz <i>Zliczania Fotonów</i>	142
4.28 Skuteczność detekcji impulsów przez podsystem <i>MAROC 3A</i> odpowiedzialny za <i>Zliczanie Fotonów</i> w funkcji wartości progu wyzwalania DAC oraz ładunku wejściowego	145
4.29 Histogramy parametrów dopasowania funkcji błędu do krzywych <i>Skuteczności Wyzwalania</i>	146
4.30 Profil wartości granicznej DAC na podstawie dopasowania funkcji błędu do krzywych <i>Skuteczności Wyzwalania</i> w zależności od kanału oraz liniowość tej charakterystyki w każdym z kanałów	146
4.31 Przykładowe mapy odpowiedzi systemu na naświetlanie poszczególnych komórek MA-PMT bezpośrednio za pomocą lasera	148
4.32 Obwód kształtu sygnału analogowego generowanego w torze <i>Pomiaru Napięcia</i> układu <i>MAROC 3A</i>	149
4.33 Zakresy krzywych odpowiedzi toru <i>Pomiaru Napięcia</i> układu <i>MAROC 3A</i> dla wszystkich 64 kanałów w funkcji <i>Ładunku Wejściowego C_{in}</i> oraz wzmocnienia	150
4.34 Rozkład współczynników kierunkowych prostych oraz <i>Poziomu Bazowego</i> wynikających z dopasowania do krzywych odpowiedzi	150
4.35 Profil <i>Poziomu Bazowego</i> dla 64 kanałów układu <i>MAROC 3A</i>	151
4.36 Widma otrzymywane z <i>Pomiaru Napięcia</i> przed oraz po kalibracji wzmocnienia wejściowego sygnału	153
4.37 Rozkład położenia pików średniej amplitudy w torze <i>Pomiaru Napięcia</i> przed i po kalibracji wzmocnienia wejściowego	153
4.38 Macierz kalibracji wzmocnienia właściwa dla <i>Pomiaru Napięcia</i> za pomocą <i>Jednostki Akwizycji Danych</i> oraz macierz kalibracji wzmocnienia samego MA-PMT otrzymana od producenta	154
4.39 Ułożenie prototypowego fantomu na stole do naświetlania <i>TrueBeamTM</i> oraz jego połączenie z <i>Jednostką Akwizycji Danych</i>	155

4.40	Konfiguracja stosu plastikowych scyntylatorów prototypowego fantomu oraz maska dostępnych kanałów	155
4.41	Naświetlanie selektywne poszczególnych scyntylatorów składowych prototypowego fantomu	156
4.42	Selektywność odpowiedzi toru <i>Zliczania Fotonów</i> przy naświetlaniu poszczególnych scyntylatorów osobno boczną wiązką promieniowania rentgenowskiego z akceleratora <i>TrueBeamTM</i>	157
4.43	Amplituda obserwowanego sygnału w funkcji napięcia zasilania MA-PMT oraz porównanie z danymi katalogowymi producenta	158
4.44	Porównanie widm sygnału analogowego z toru <i>Pomiaru Napięcia</i> uzyskane dla tego samego kanału z przykładowym referencyjnym widmem jednofotonowym .	160
4.45	Średnia amplituda odpowiedzi w funkcji zaabsorbowanej mocy dawki w scyntylatorze	161
4.46	Częstotliwość rejestracji <i>Zdarzeń</i> w kanałach w funkcji zaabsorbowanej dawki w scyntylatorze	162

Dodatek D

Spis tabel

1.1	Współczynniki wagowe promieniowania	24
3.1	Struktura podciągów 14-bitowych w RTDF.	74
4.1	Wydajność <i>Konstruktora Strumienia Stymulacyjnego</i> w teście wysokiego obciążenia impulsami	113
4.2	Pary parametrów teoretycznego wzmocnienia K oraz DAC ₁₀ używane w pomiarach charakteryzujących analogową odpowiedź <i>Neurostim-3</i>	124
4.3	Parametry dopasowania prostych do danych otrzymanych w wyniku napromieniowywania scyntylatorów dawką o zmiennej mocy	162
A.1	Lista zależności od oprogramowania dla projektu <i>Neurostim-3</i>	185
A.2	Lista zależności od oprogramowania dla projektu <i>Dose-3D</i>	187
B.1	Współautorstwo artykułów naukowych.	190
B.2	Uczestnictwo w konferencjach.	190
B.3	Uczestnictwo w szkoleniach	192

Dodatek E

Spis skrótów

AB	ASIC Board 38–47, 59, 88, 91, 114, 127, 131, 165, 170, 194
ADC	Analog-Digital Converter 12, 41, 44–47, 55, 56, 58, 75, 83, 91, 98, 100, 108, 110, 119, 140–142, 148–153, 161, 165
AP	Action Potential 3–5, 9, 11, 12, 14, 15, 89, 90, 115–120, 122, 127, 128, 136–139, 164, 195, 196
ASIC	Application Specific Integrated Circuit 12, 33, 34, 38, 43–45, 47, 50, 56, 57, 73–75, 78–80, 82–85, 90–92, 97, 99, 107, 110, 111, 114–118, 120–122, 124–127, 141, 143, 144, 146, 149, 164–166, 169, 170, 195
BCI	Brain-Computer Interface 16
BMI	Brain-Machine Interface 16, 17
CTV	Clinical Target Volume 24
DAC	Digital-Analog Converter 56, 74, 75, 105, 143–146, 152, 196
DAQ	Data Acquisition System 49–51, 61, 76, 77, 83, 85, 86, 94, 95, 99–104, 106–112, 120, 122, 127, 140–144, 154, 166, 167, 169–171, 185, 186, 189, 194–196
DSP	Digital Signal Processing 90
EEG	Electroencephalography 4–7, 16, 193
EEP	Electrically Evoked Potential 132, 133
EP	Evoked Potential 129–131, 133
FFT	Fast Fourier Transform 90, 91, 123
fMRI	Functional Magnetic Resonance Imaging 7
FPGA	Field-Programmable Gate Array 50–55, 57, 58, 94–101, 106, 108, 140, 143, 144, 151, 152, 155, 157, 171, 194

GC	Garbage Collector 65, 68–71
GIL	Global Interpreter Lock 62, 66–71, 106, 186
GTV	Gross Tumor Volume 24
GUI	Graphical User Interface 79, 83, 85–87, 89–92, 107, 108, 194
HDF	Hierarchical Data Format 5 85, 104
HFO	High Frequency Oscillations 133, 135
I2C	Inter-Integrated Circuit 51, 58, 95, 97, 186
IB	Interface Board 38–46, 59, 77, 79, 82, 83, 86, 88, 91, 129–131, 165, 170, 194
ICRP	International Commission on Radiological Protection 24
IM	Internal Margin 24
ITV	Internal Target Volume 24, 25
IV	Irradiated Volume 25
JSON	JavaScript Object Notation 82
LFP	Local Field Potential 4, 12, 35, 39, 114–117, 120, 122, 127, 128, 130, 134, 164, 170, 195, 196
LHC	Large Hadron Collider 23
MA-PMT	Multianode PhotoMultiplier Tubes 31, 32, 50, 51, 53–56, 98, 103, 105, 143, 144, 147, 148, 151–162, 167, 169, 193, 196, 197
MEA	Multi-Electrode Arrays 9–11, 14, 16, 35, 37–39, 41, 44–47, 59, 74, 87, 88, 90, 114, 117, 119, 122, 123, 127–137, 139, 164, 165, 194–196
ML	Machine Learning 26
MLC	Multi-Leaf Colimator 25–27, 156, 193
MRI	Magnetic Resonance Imaging 7
MU	Monitor Unit 27
PCB	Printed Circuit Board 38, 39, 42–44, 46, 47, 50, 51, 53, 54, 99
PET	Positron Emission Tomography 23
PMT	PhotoMultiplier Tubes 30–33, 193
PSD	Power Spectral Density 115, 116, 195
PTP	Precision Time Protocol 51, 52, 171

PTV	Planning Target Volume 24, 25
RTDF	Real-Time Data Frame 73–76, 80–82, 84, 85, 90, 115, 118, 124, 199
SCPI	Standard Commands for Programmable Instruments 77, 78, 80, 186
SM	SyncManager 80
SUM	Set-Up Margin 25
TCP/IP	Transmission Control Protocol 76, 77, 83–86, 88, 104, 114
TV	Treated Volume 25
UDP/IP	User Datagram Protocol 51, 52, 57, 76, 77, 84–86, 88, 89, 94, 99, 100, 114, 140, 141, 196
WHO	World Health Organization 18