MOTORISTEN YKSIKÖIDEN EROTTELU MATEMAATTISILLA LUOKITTELUMENETELMILLÄ DIFFERENTIAALISESTA ELEKTROMYOGRAFIASTA

Timo Koskinen

Biomekaniikan pro gradu-tutkielma Kevät 2019 Liikuntatieteellinen tiedekunta Jyväskylän yliopisto Ohjaajat: Vesa Linnamo, Liikuntatieteellinen tiedekunta Harri Piitulainen, Liikuntatieteellinen tiedekunta ja Neurotieteen ja lääketieteellisen tekniikan laitos, Aalto-yliopisto

TIIVISTELMÄ

Timo Koskinen (2019). Motoristen yksiköiden erottelu matemaattisilla luokittelumenetelmillä differentiaalisesta elektromyografiasta. Liikuntatieteellinen tiedekunta, Jyväskylän yliopisto, biomekaniikan pro gradu-tutkielma, 71 s.

Aktiopotentiaaliksi kutsuttu jännitteen muutos ajan funktiona on tunnettu biosähköinen impulssi. Kirjallisuuskatsauksessa pyrittiin löytämään ne motorisen yksikön aktiopotentiaalin voimakkuuteen, muotoon ja kestoon vaikuttavat tekijät, jotka selittäisivät riittävän luotettavasti erot kahden tai useamman motorisen yksikön välillä. Tällöin yksiköt olisivat identifioitavissa sen tuottaman yksilöllisen impulssin muodon eli jännitteen aikafunktion perusteella.

Koska kaikkien aktiivisten motoristen yksiköiden tuottamat biosähköiset impulssit tai oikeammin sähkökentät summautuvat mittaelektrodissa, motoristen yksiköiden erottaminen (so. dekompositiointi) täytyy suorittaa sulautetulla ohjelmoinnilla, digitaalisen signaalinkäsittelyn ja matemaattisten algoritmien avulla. Tämän tutkielman yhteydessä luotiin algoritmi, jolla differentiaalinen sEMG-signaali (surface ElectroMyoGram) purettiin erillisiin MUAP-jonoihin (Motor Unit Action Potential) ja jolla ne analysoitiin automaattisesti ja nopeasti, tavallisella kannettavalla tietokoneella ja MATlab-sovelluksella.

Tutkimuksessa päädyttiin kokeilemaan simuloitua HDsEMG-signaalia (High Density surface EMG) bipolaarisen pinta-EMG-signaalin sijaan. Näytteet simuloivat monikanavaisen 10x9-matriisianturin tuloksia isometrisestä 10% MVC-suorituksesta (Maximum Voluntary Control). Tutkimusalgoritmi muodosti differentiaalisignaalin, josta luokittelufunktio erotti motoriset yksiköt.

Yhtenä ongelmana oli määritellä, kuinka moneen ryhmään aktiopotentiaalit tulee jakaa. Valitettavasti tämän ongelman ratkaisuun ei ole olemassa suoraa menetelmää. Ratkaisua täytyy hakea epäsuorasti, käyttäen apuna soveltuvia tunnuslukuja. Tämän tutkimusaineiston kohdalla päädyttiin 25 klusteriin.

Tutkielman tulosten perusteella lupaavin tutkituista menetelmistä oli K-medoids-klusterointi neliöllisellä eukleidisellä (Squared Euclidean) samankaltaisuusmitalla. Tässä funktiossa jokainen medoidi eli klusterikeskipiste edustaa ryhmän keskiarvoa. Alun perin kehitetty algoritmi oli varsin helppo mukauttaa noudattamaan tätä luokittelumenetelmää. Valitettavasti yhdenkään klusterointimenetelmän luotettavuusrajoja tai muitakaan laadullisia parametrejä ei pystytty tässä tutkimuksessa määrittelemään, koska yksiäkään soveltuvia referenssituloksia ei saatu aineistoon eivätkä simuloitujen näytteiden syttymisajat korreloineet differentiaalisen bipolaarisignaalin kanssa. Selitys jälkimmäiseen voi olla, että matriisianturin keskelle syotetyt AP-aallot osuvat molempiin bipolaarisiin antureihin yhtäaikaa eikä differentiaalia synny - mutta tämän lopullinen todentaminen vaatisi hieman jatkotutkimusta.

Avainasanat: aktiopotentiaali, alfamotoneuroni, motorinen yksikkö, MUAP, sEMG, HDsEMG, dekompositiointi, tiedon luokittelu, k-means, k-medoids, wavelet-muunnos, MATlab

ABSTRACT

Timo Koskinen (2019). Decomposition of Motor Units from Differential Electromyography by using Mathematical Clustering Methods. Faculty of Sport and Health Sciences, University of Jyväskylä, Biomechanics, Master's thesis, 71 pp.

So-called Action Potential in neuron is a temporal change in voltage, and well known as a bioelectric impulse. Starting point of the literature review was to find all factors which induce amplitude, shape and duration of a certain Motor Unit discharge, and to define differences between two or more Action Potentials. Then Motor Unit Action Potential train decomposition could be done by comparing the temporal voltage change, i.e. by comparing the shape of an action potential.

Because all the Motor Unit Action Potentials, that are active, are merged in a detection electrod, i.e. an electrode detects the sum of electric fields of electric charges. Due to the merged MUAP trains, the decomposition has to be performed by embedded software by means of Digital Signal Processing and mathematical algorithms. Novel decomposition algorithm was created during the study. It decomposes differential sEMG signal into separate MUAP trains and computes variables. All this takes place fast and autonomously without human operator, just a common laptop and MATlab application is needed.

Instead of physiological bipolar sEMG signal, the study was done to simulated HDsEMG signals, which were provided by Ales Holobar and Harri Piitulainen. The signals simulated high density multichannel 10x9 matrix like results from isometric 10% MVC performance. Differential signals were reconstructed and further decomposed MUAP trains by the study algorithm.

One problem was to determine, how many groups of action potentials should be clustered. Unfortunately, there is no direct method for solving this problem. The solution must be applied indirectly, using the appropriate parameters and the key figures. For these signals, 25 clusters were found.

Based on the results, the most promising method studied was k-medoids clustering function that uses Squared Euclidean similarity measure. In this method, each medoid represent averages of the cluster. The algorithm originally developed was quite easy to adapt to this classification method.

Unfortunately, none of the reliability limits of the clustering method or other qualitative parameters could be defined in this study, because none relevant reference results were found for the study and the firing times of the simulated samples did not correlate with the differential bipolar signal. The explanation for the latter may be that the AP waves fed to the center of the matrix sensor arrive at both bipolar sensors simultaneously and no differential occurs - but the verification would require some further research.

Key words: action potential, alpha motor neuron, motor unit, MUAP, sEMG, HDsEMG, decomposition, data clustering, k-means, k-medoids, wavelet transformation, MATlab

KÄYTETYT LYHENTEET

AP	aktiopotentiaali (Action Potential)
ATP	adenosiinitrifosfaatti (C10H16N5O13P3)
DSP	digitaalinen signaalinkäsittely (Digital Signal Processing)
EMG	elektromyografia (Electromyography)
HDsEMG	suuritiheyksinen monikanavainen pinta-EMG (High Density sEMG)
IAP	solunsisäinen aktiopotentiaali (Intracellular Action Potential)
MU	motorinen yksikko (Motor Unit)
MUAP	motorisen yksikön aktiopotentiaali (Motor Unit Action Potential)
sEMG	pinta-EMG (surface EMG)
TMP	transmembraanipotentiaali (Transmembrane Potential), lepopotentiaali

SISÄLTÖ

1 JOHDANTO
2 YKSILÖLLINEN MOTORINEN YKSIKKÖ7
2.1 Solukalvo9
2.2 Solukalvon sähköiset ominaisuudet13
2.3 Yksilöllinen motorinen yksikkö21
2.4 Signaalin käsittely27
3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS
4 TUTKIMUSMENETELMÄT
4.1 Tutkittavat näytteet
4.2 Signaalien esiprosessointi41
4.3 Aktiopotentiaalit
4.4 Ryhmien määrä43
5 TULOKSET
5.1 Ryhmien määrä45
5.2 Jako muotojen mukaan
5.3 Syttymisvälit
6 POHDINTA
7 JOHTOPÄÄTÖKSET64
8 LÄHTEET

1 JOHDANTO

Tutkimuksen tarkoituksena oli kehittää digitaalista signaalinkäsittelyä ja matemaattisia menetelmiä tehokkaasti hyödyntävä algoritmi, jolla differentiaalisesta EMG-signaalista voitaisiin erotella yksittäisten motoristen yksiköiden aktivaatiohetket. Menetelmän tuli olla mahdollisimman yksinkertainen, nopea ja automaattinen. Automatisointi poissulkisi potentiaalisen virhelähteen. Tutkimushypoteesina oli, että nykyiset analogisen differentiaalisignaalin näytteenotto- ja digitaalimuunnosmenetelmät ovat riittävät motoristen yksikköjen erotteluun.

Luurankolihaksen aktiopotentiaalin toimintaperiaate ja sähkökemialliset ominaisuudet on tunnettu jo vuosikymmeniä. Samoin elektromyografinen (EMG) ilmaisumenetelmä on yleisesti hyväksytty ja ns. vakioitunut. Liikuntatutkimus on hyödyntänyt elektromyografista signaalinilmaisumenetelmää mm. lukuisissa lihasaktiivisuustutkimuksissa. Varsin tarkasti tunnettuja ovat myös hermosolun viejähaarakkeen eli aksonin, synapsin ja lihassolun anatomia ja biofysikaalinen toiminta. Oleellisesti vähemmälle huomiolle on jäänyt yksittäinen motorinen yksikkö, sen tuottaman informaation hyödyntäminen. Tähän on epäilemättä syynä se, että helppoa ja edullista menetelmää, jolla MU:t voidaan tunnistaa, ei ole löydetty. Hyvälle, "standardoidulle" identifioimismenetelmälle olisi varmasti käyttöä sekä akateemisissa että kliinisissä tutkimuksissa, kuten myös tutkimuslaitteiden ja kaupallisisten sovellusten kehittämisessä.

Oma lähtökohtani oli löytää kirjallisuudesta ja fysiikasta motorisen yksikön aktiopotentiaalin voimakkuuteen, muotoon ja kestoon vaikuttavat tekijät. Mikäli nämä tekijät selittäisivät riittävän luotettavasti erot kahden tai useamman aktiopotentiaalin välillä, yksittäiset motoriset yksiköt olisivat siten identifioitavissa, kyseisten impulssien voimakkuus-aika-ominaisuuksien perusteella.

Prosessoinnin nopeus- ja laatuvaatimus edellyttää, että tallennetun EMG-näytteen signaalinkäsittelyn tulee olla matemaattisiin algoritmeihin perustuva ja että algoritmin tulee olla riittävän kevyt ollakseen tavallisen PC:n prosessoitavissa.

2 YKSILÖLLINEN MOTORINEN YKSIKKÖ

Neurofysiologian alalla on pitkään tutkittu lihasten biosähköistä aktiivisuutta. Niin kutsutun Hennemanin kokoperiaatteen mukaan ne neuronit, joilla on pienet, hitaasti johtavat aksonit ja jotka hermottavat hitaasti supistuvia, väsymistä kestäviä lihassäikeitä, näyttävät rekrytoituvan ennen sellaisia neuroneja, joilla on isot, nopeasti johtavat aksonit ja jotka hermottavat nopeita, helposti väsyviä lihassäikeitä (Henneman ym. 1965a; Henneman ym. 1965b; Henneman ym. 1965c). Tätä aksonin kokoperiaatteeseen perustuvaan sääntöä pidetään edelleen luotettavana, ainakin isometrisillä lihastyötavoilla. Hennemanin hypoteesin jälkeen on selvinnyt, että lihaksen voimantuottoa pystytään hienosäätämään valjastamalla eli rekrytoimalla lisää motorisia yksiköitä (MU) ja kasvattamalla supistumiskäskyjen tuottonopeutta (so. rekrytointitaajuutta). Knight ja Kamen (2005) ovat puolestaan esittäneet, että syvemmällä nelipäisessä reisilihaksessa sijaitsevista lihassoluista suurempi osa on hitaita, kun taas suuremmat ja nopeammat sijaitsisivat lihaksen pintaosissa. Hennemanin kokoperiaate jakaa aksonit ja lihassolut karkeasti kahteen. Alan Lloyd Hodgkin tutki jo aiemmin mm. aktiopotentiaalin syttymistä ärsyttämällä (kalmarin) aksonia eri amplitudisilla ja eri taajuisilla sähköärsykkeillä (Hodgkin 1948.). Niin kutsuttu Hodgkinin luokittelu jakaa neuronit (ja aksonit ja aktiopotentiaalit) kolmeen, sen mukaan, miten ne reagoivat syttymisärsykkeeseen. Hodgkinin kuvaamaa toiminnallisuutta kutsutaan usein Hodgkin-Huxley-malliksi. Sekä Hodgkin että Huxley palkittiin vuonna 1963 Nobelin fysiologian ja lääketieteen palkinnolla.

Nisäkkäiden aivojen biosähköisiä signaaleja tutkimalla on havaittu, että aivokuoren neuroverkkojen aktiopotentiaalit syttyvät varsin eri tavoin. Eugene Izhikevichin (1999) mukaan Hodgkinin luokittelu selittää näistä vain osan. Tässä tutkielmassa ei onneksi keskitytä syttymisärsykkeen tuottamiseen aivokuorella vaan ymmärtämään motorisen toimintaviestiketjun toista päätä eli viestin vastaanottimen puoleista päätä; hermo-lihasliitoksia ja niihin kytkeytyneitä lihassolukalvoja. Mainituista lähteistä oleellisinta on tietää, että aktiopotentiaalit voivat esiintyä jaksollisina aktiopotentiaaleina (periodic spiking), jaksollisina aktiopotentiaaliryppäinä (periodic bursting) tai vaikka kaksoispulsseina, muita mahdollisia variaatioita poissulkematta.

8

Keskityn kirjallisuuskatsauksessani pääasiassa niihin elektrofysiologisiin tekijöihin, joiden välityksellä keskushermosto ohjaa lihassolun supistumista. En kuvaa solun hermo- ja lihassolukalvon polarisoitumisen ja depolarisoitumisen (so. aktiopotentiaalin purkautumisen ja varautumisen) yksityiskohtia, koska ne on kuvattu monessa oppikirjassa vaan keskityn löytämään elekrofysiologisia yhtäläisyyksiä diskreettiin elektroniikkaan nähden, motoristen yksiköiden simuloinnin ja tunnistamisen helpottamiseksi.

2.1 Solukalvo

Solukalvossa on rakenteita, jotka synnyttävät potentiaalieron, läpäisevät virtaa ja varastoivat sähköisesti varautuneita hiukkaisia (Enoka 2008, 178). Kaikkien solujen sisä- ja ulkopuolen välillä vallitsee sähköjännite (Nienstedt ym. 2009, 68). Kaikkein olennaisin biosähköinen prosessi esiintyy solukalvotasolla (Towe 2003, 375). Tämä prosessi siirtää määrättyjä sähköisiä varauksia solun sisältä ulos ja ulkopuolelta sisään. Prosessi on aktiivinen eli se tarvitsee toimiakseen energiaa (so. ATP). Kaikki elävät solut on päällystetty plasmakalvolla, joka toimii kuorena sytoplasman ja solunulkoisen tilan välillä (Molleman 2003, 5). Plasmakalvo on rakentunut pääasiassa fosfolipideistä. Fosfolipideillä on polarisoitunut "pää" ja rasvaiset "hännät". Veteen joutuessaan fosfolipidit järjestäytyvät automaattisesti siten, että niistä muodostuu kalvomainen kaksikerrosrakenne. Koska rasvaiset, lipofiiliset hännät hylkivät vettä ja hydrofiiliset päät suosivat vettä, fosfolipidimolekyylit järjestäytyvät kahteen riviin, häntäosat toisiaan vastaan, päiden suuntautuessa rivistöstä ulos (kuva 1). Jotta aktiivinen prosessi voi siirtää varauksia solukalvon läpi, kalvossa on myös muita molekyylirakenteita. Biosähköisen toiminnan kannalta tärkeimmät ovat ionipumput ja jänniteohjatut portit. Proteiinirakenteet mahdollistavat myös monet muut tärkeät toiminnallisuudet. (Molleman 2003; Enoka 2008). Ionien jakaminen ja vaihtaminen on varsin samanlaista eri solutyyppien, elinten ja jopa eläinlajien välillä (Molleman 2003, 7).



KUVA 1. Fosfolipidien kaksikerrosrakenne (Molleman 2003).

Solukalvoilla esiintyvän biosähköisen prosessin kuljettamat sähköiset varaukset ovat yleisimmin seuraavat: natrium (Na⁺), kalium (K⁺), kalsium (Ca²⁺), magnesium (Mg²⁺), kloridi (Cl⁻) ja bikarbonaatti (HCO₃⁻) (Molleman 2003; Towe 2003). Näistä kalvopotentiaalin kannalta oleellisimmat ovat natrium ja kalium, molemmat positiivia ioneja. Molekyyliä kutsutaan ioniksi, kun se saa tai luovuttaa yhden tai useamman elektronin - eli se varautuu sähköisesti. Esimerkiksi, kun natrium-atomi luovuttaa yhden elektronin, siitä tulee positiivinen natrium-ioni (Na⁺), kun kalsium luovuttaa kaksi elektronia, siitä tulee positiinen Ca²⁺-ioni ja kun kloridi vastaanottaa yhden elektronin, siitä tulee negatiivinen Cl⁻-ioni. Positiivisia ioneja kutsutaan kationeiksi ja negatiivisia anioneiksi (Myers 2006, 240).

Neuronit kommunikoivat toistensa kanssa lähettämällä ja vastaanottamalla sähkökemiallisia signaaleja, joita kutsutaan aktipotentiaaleiksi (Wallisch ym. 2014, 403). Varausten pumppaaminen kalvon vastakkaiselle puolelle, pienemmästä väkevyydestä suurempaan saa aikaan vajeen luovuttavassa elektrolyytissä. Syntyy potentiaaliero. Kalvon erottamaa potentiaalieroa voi verrata joko patteriin (Towe 2003, 374) tai pienikokoiseen akkuun (kuva 3). Haettaessa vertausta elektroniikan puolelta, tilanne muistuttaa eniten kondensaattoria, jossa varaus ladataan eristävän kerroksen molemmin puolin. Tähän vertaukseen on päätynyt myös Enoka (2008, 174-177). Toki kondensaattori toimii monissa laitteissa patterin tavoin, ja sen asemesta.

Solukalvon ionipumput koostuvat suurista makromolekyyleistä - tehtävään erikoistuneista proteiineista (Enoka 2008, 178). Natriumionit ja kaliumionit pumpataan saman ionipumppurakenteen läpi, joka toimii kuten kääntöportti. Läpäisysuhde on 3:2, natrium suhteessa kaliumiin. Aktiivisen prosessin seurauksena solukalvolle muodostuu potentiaalinen epätasapaino, sisäpuolen ollessa negatiivisempi. (Towe 2003, 375). Ionipumpun toimintaperiaate havainnollistuu kuvasta 2.



Na⁺/K⁺ pump

KUVA 2. Solukalvon natrium-kaliumionipumppu (Molleman 2003).

Kummankin alkuaineen ionit pyrkivät takaisin tasoittamaan oman molekyylin potentiaalieron. Lähteestä riippuen vetovoimaksi kuvataan joko magneettikenttää (Molleman 2003) tai sähkökenttää (Towe 2003; Enoka 2008; Merletti 2012). Joka tapauksessa fosfolipidien kaksikerrosrakenteeseen kohdistuu hyvin suuri voima. Vaikka osa ioneista vuotaa takaisin, Na-K-ionipumppu huolehtii kalvojännitteen vakioimisesta omalla reseptoripohjaisella säätelyjärjestelmällään. Kalvojännitteen vakiopotentiaalitilaa kutsutaan transmembraanipotentiaaliksi (TMP) - lepäävässä hermo- tai lihassolussa myös lepopotentiaaliksi (Nienstedt ym. 2009, 68). Niin kauan kuin tällä ionipumpulla on happea ja ATP:a se huolehtii aktiopotentiaalin ylläpitämisestä. Energiametabolialla on selkeästi tärkeä rooli solun neuraalisen aktivaation ja elektrolyyttitasapainon säätelyssä (Moritani ym. 2004, 16).



KUVA 3. Kalvop otentiaali varaa solukalvon kondensaattorin tavoin (Molleman 2003).

Useimmat molekyylit polarisoituvat ulkoisen sähkökentän vaikutuksesta. Ainakin eläinkunnan fosfolipidien kaksikerrosrakenteen lipofiiliset ja hydrofiiliset voimat (kuva 3) kestävät kalvojännitteen muodostaman sähkökentän polarisoivan eli tässä tapauksessa rakennetta hajottavan vaikutuksen. (Fraden 2004, 44-47; Molleman 2003, 15-16). Näin järjestäytyneiden fosfolipidien hyvät dielektriset ominaisuudet kestävät myös läpilyönnin, joka olisi hyvin mahdollista, koska sähkökentän kentänvoimakkuus on erittäin suuri (10⁷ V/m) (Towe 2003, 375).

Ionit vuotavat sähkökentän vaikutuksesta (ja sen voimakkuuden mukaan) kalvon läpi ja palaavat aktiivisen pumppausprosessin avulla takaisin. Vuotovirtausta vastustaa solukalvon läpäisevyys eli konduktanssi – tai tässä tapauksessa läpäisemättömyys eli resistanssi. Ionit vuotavat ionikanavien kautta. Jo aiemmin mainittiin, että jänniteohjatut ionikanavat ovat biosähköisen toiminnan kannalta olennaisia. Yksisuuntaisen portin toiminta perustuu konduktanssin muuttumiseen sähkökentän muutoksen mukaan (kuva 4). Tämän lisäksi ionikanavat ovat selektiivisiä ionityypin mukaan. Kunkin ionikanavan läpäisee vain sopivan kokoinen ja oikean merkkisen sähkövarauksen omaava ioni. Aktiopotentiaali perustuu pääasiassa natrium- ja kalium-ionikanavien toimintaan. (Towe 2003, 376).



KUVA 4. Mahdollinen Na⁺-kanavan rakenne (Ilmoniemi 2016).

Huomioitavaa ionikanavan toiminnassa on, että kun se avautuu, se pysyy pääsääntöisesti avoinna muutamia millisekunteja ennen kuin kanava sulkeutuu uudestaan. Jotkut

jänniteohjatut kanavat vaativat sulkeutumisen jälkeen useita millisekunteja avautuakseen uudelleen, johtuen yhden tai useamman prosessin aiheuttamasta kanavan inaktivaatioista. (Enoka 2008, 179).

2.2 Solukalvon sähköiset ominaisuudet

Kalvopotentiaali. Transmembraanipotentiaali on todettavissa sähköisesti varautuneiden molekyylien konsentraatioerojen avulla, solukalvon molemmin puolin. Molekyylit pyrkivät virtaamaan korkeammasta konsentraatiosta matalampaan lämpöliikkeen vaikutuksesta. Solukalvon rakenne hidastaa diffuusiovirtojen läpäisevyyttä. Kun ionipumput kompensoivat täsmälleen vuotovirtauksen, saavutetaan kyseisen alkuaineen ionien osalta tasapaino. Kunkin ionityypin synnyttämä potentiaaliero voidaan laskea konsentraatioerojen ja Nernstin yhtälön avulla. Nernstin yhtälöä voidaan soluympäristössä yksinkertaistaa ja muuttaa se kymmenkantaiseen logaritmiin (Malmivuo & Plonsey 2014, kaava 3.22). Enoka (2008, 180) ilmoittaa yksinkertaistetun yhtälön huoneenlämpötilassa (+20 °C) - mainitsematta kuitenkaan lämpötilasta tai lämpötilariippuvuudesta mitään.

KAAVA 1. Yksinkertaistettu Nernstin yhtälö (+37 °C), mV (millivoltti).

$$E_{ion} = -61 \cdot \log \frac{c_i}{c_o}$$

Transmembraanipotentiaali saadaan laskemalla yhteen kunkin ionityypin elektrokemialliset potentiaalierot. TMP:ksi ilmoitetaan lähteistä riippuen; -50...-80 mV (Molleman 2003), -70 mV (Camougis 1970), -70 mV (Merletti 2012), -70 mV (Towe 2003), -65 mV (Enoka 2008), jne. Toiset ovat ilmoittaneet potentiaalieroon hieman vaihteluväliä – siihen voikin olla syytä, jos halutaan huomioida muutkin kuin lihas- ja hermosolut, eri nisäkkäiden solut ja solun ympäristöolosuhteet, kuten lämpötila. Lisäksi on viitteitä siitä, että edellä mainittujen tekijöiden lisäksi lepopotentiaaliin vaikuttaisivat ikä ja jotkut hormonit, kuten adrenaliini (Malyukin ym. 2008), sekä pH kapasitanssin muutoksen kautta (Naumowicz & Figaszewski 2014). Myös pulssitettu sähkökenttä, jota hyödynnetään mm. langattomissa tiedonsiirtojärjestelmissä, voi (suurilla lähetystehoilla) hyvin mahdollisesti vaikuttaa

lepopotentiaaliin (Jiahui ym. 2009; Barati ym. 2011). Onkin syytä suhtautua varauksellisesti TMP:n absoluuttiseen suuruuteen. Tasapainossa olevaa varaustilaa kutsutaan paitsi transmembraanipotentiaaliksi, kalvopotentiaaliksi ja lepopotentiaaliksi, mutta myös nollavirtaiseksi potentiaaliksi.

KAAVA 2. Solukalvon kalvopotentiaali Goldman-Hodgkin-Katzin yhtälöllä, V (volttia).

$$E_{m} = \frac{RT}{F} \ln \frac{P_{K} [K^{+}]_{\text{out}} + P_{Na} [Na^{+}]_{\text{out}} + P_{Cl} [Cl]_{\text{in}}}{P_{K} [K^{+}]_{\text{in}} + P_{Na} [Na^{+}]_{\text{in}} + P_{Cl} [Cl]_{\text{out}}}$$

jossa R on universaali kaasuvakio, T on lämpötila (kelvinasteina), F on Faradayn vakio, P_{ioni} on kyseisen ionin permittiivisyys, [ioni]_{out} kyseisen ionityypin ulkoinen konsentraatio (mol/m³) ja [ioni]_{in} ionityypin sisäinen konsentraatio (mol/m³). Permittiivisyys kuvaa tässä sähkökentän voimakkuutta kyseisellä ionityypillä, kaksikerrosrakenteen läpi. Kalvopotentiaali on kaavassa määritelty solun ulko- ja sisäpuolen välillä. Konsentraatiot löytyvät taulukosta 1.

TAULUKKO 1. Solunulkoiset ja solunsisäiset ionikonsentraatiot	(Karam 2	2012).
---	----------	--------

Ioni	Solunulkoinen	konsentraatio	Solunsisäinen	konsentraatio
	[mMol/l]		[mMol/l]	
Na ⁺	120		12	
\mathbf{K}^+	5		130	
Cl-	125		5	
Ca ²⁺	2		0	

Sähkönjohtavuus. Fosfolipidien kaksikerrosrakenne on erittäin hyvä eriste. Tämä johtuu siitä, että kaksikerrosrakenteeseen vaikuttavat voimat pyrkivät estämään muiden molekyylien tunkeutumisen rakenteen sisään. Välissä ei siis ole sähköä johtavia varauksenkuljettajaioneja. Yhden lähteen mukaan puhtaan kaksikerrosrakenteen sähkönjohtavuus eli konduktanssi on $g=10^{-13} 1/(\Omega m^2)$ (Niebur 2008). Molleman ilmoittaa konduktanssiksi 2...500 pS (Siemens) (Molleman 2003, 141). Huomioitavaa on, että kaksikerrosrakenteen sähkönjohtavuus on eri ionityyppien sähkönjohtavuuksien summa (g^{tot} = g^K + g^{Na} +g^{Cl}), vrt. resistanssien rinnankytkentä. Ne harvat lähteet, jotka yleensä ilmoittavat sähkönjohtavuudelle lukuarvoja, antavat arvon yksittäisen ionityyppin mukaan. Vaikka kaksikerrosrakenne on erinomainen eriste niin varaukset vuotavat ionikanavien kautta. Tällöin konduktanssi määräytyykin ionikanavan sähkönjohtavuuden mukaan.

Kapasitanssi. Levymäisen kaksikerrosrakenteen kapasitanssiin vaikuttavat pinta-ala (A), jolla varaukset sijaitsevat, kaksikerrosrakenteen paksuus (d), sen dielektrinen vakio (κ) ja sähkövakio (ϵ_0 , ϵ_0 =8,8542 x 10⁻¹² C²/Nm²). Näistä pinta-ala ja paksuus voivat muuttua paitsi proteiinirakenteiden aktiivisen toiminnan aiheuttaman venymisen ja taipumisen vuoksi (Andersen & Koeppe 2007) myös lihaksen lämpötilan (mm. Garcia-Manyes 2005) ja paineen (mm. Anglin & Conboy 2008) muutoksesta. Lihaksen lämmetessä, sen ulkoisen ja sisäisen paineen muuttuessa lihastyön aikana, kapasitanssin määritteleminen käy yhä vaikemmaksi. Fosfolipidien kaksikerrosrakenteen paksuus vaihtelee normaalijakauman mukaisesti välillä 2,5...3,5 nm (Andersen & Koeppe 2007, 16). Toinen lähde mainitsee rakenteen paksuudeksi 8 nm (Wood 2012, 4). Solun pinta-ala riippuu solutyypin ja lihassolulla sen aktiivisuustaustan mukaan. Wikipedian mukaan luurankolihasten lihassolut ovat (sylinterin muotoisia) pituudeltaan muutamista millimetreistä aina 15 senttimetriin saakka, ja leveydeltään 10-100 μm levyisiä (Wikipedia 2016). Enoka (2008, 205) ilmoittaa pituudeksi 1...400 mm ja paksuudeksi 10...60 μm (ympyrän kaari π d => lihassäikeen leveys 31...188 μm).

KAAVA 3. Levyrakenteen kapasitanssi, F (faradi).

$$C = \frac{\kappa \varepsilon_0 A}{d}$$

Dielektrisen vakion absoluuttisesta suuruudesta ei ole päästy yksimielisyyteen. Gerami & Bruinsma (2009, 198) on päätynyt siihen, että se on luokkaa 10...20. Niebur (2008) puolestaan antaa kapasitanssille likimääräisen arvon pinta-alaa kohti 0,01 F/m². Esimerkiksi 5 senttimetrin pituisen ja 30 µm:n levyisen lihassolun kapasitanssiksi Nieburin likimäärä antaa 15 nF. Vastaavasti sama pinta-ala, 3 nm:n rakennepaksuus ja dielektrinen vakio 10 antavat kapasitanssiksi 44 nF. Näiden laskelmien perusteella solukalvon dielekrisyys voi hyvin olla Gemanin ja Bruisman arviota pienempi, jopa puolet pienempi.

Sähkövaraus. Kapasitanssin perusteella voidaan arvioida solukalvolle varastoituneen energian määrä (sähkövaraus C, coulombi). Sähkövaraus (Q) on solunsisäisen ja solunulkoisen varaustilanteen potentiaaliero (E_m) kertaa kaksikerrosrakenteen kapasitanssi (C).

KAAVA 4. Solukalvon sähkövaraus, C (coulombi).

$$Q = E_m C$$

elektronisessa mallissa 5) Sähkövirta. Solukalvon (kuva on havainnollistettu kalvojännitteeseen eniten vaikuttavat biofysikaaliset tekijät. Ionit vuotavat sähkökentän vaikutuksesta (ja sen voimakkuuden mukaan) kalvon läpi ja palaavat aktiivisen pumppausprosessin avulla takaisin. Ionit vuotavat ionikanavien kautta, jotka on kuvattu yhdellä vuotovirralla (I_{Leak}). Fosfolipidien kaksikerrosrakenne muodostaa kapasitanssin (C_m). Ionipumput kuvataan jännitelähteillä (E). Vuotovirtaa ja pumppausprosesseja vastustaa solukalvon läpäisevyys eli konduktanssi (g). Aiemmin todettiin, että natrium- ja kalium-ionikanavien konduktanssi riippuu sähkökentän voimakkuudesta (ja ajasta). Tässä elektronisessa mallissa riippuvuutta kuvataan säädettävällä konduktanssilla. (Kirjallisuudessa esitetyt mallit eivät sähköteknisesti välttämättä toimi, mutta se ei ole niissä se pääasia.)



KUVA 5. Solukalvon elektroninen malli (Wikibooks, 2016). Malli perustuu nk. Hodgkin-Huxleyn solukalvomalliin.

Diskreetin ionin virta $I_{ion}=g_{ion}(V_m-E_{ion})$. Tasapainotilassa kondensaattori on lautautunut täyteen (q=cu) ja solussa vallitsee $I_{Na+}+I_{K+}+I_{Cl-}+I_{Leak}=0$ (Kirchhoffin virtalain mukaan). Toisin sanoen solukalvon läpi kulkee toisiaan kompensoivat ionivirrat $g_{Na}(V_m-E_{Na})+g_K(V_m-E_K)+g_{Cl}(V_m-E_{Cl})+g_{Leak}(V_m-E_{Leak})=0$, koska ionipumppujen säätöjärjestelmät pyrkivät tasaamaan vuotovirtojen aiheuttaman jännitehäviön. Tasapainotilassa kalvon yli vallitsee tasainen TMP.

Tasapaino muuttuu herätteen eli aktiopotentiaalin saapuessa. Solukalvon varaustila muuttuu

dq=i(t)dt eli virta ajanhetkellä t on $\frac{dq}{dt}$ (varauksen aikaderivaatta). Tämän ja kaavan 4 voi

yhdistää, jolloin
$$i(t) = C_m \frac{dV_m}{dt}$$

Niin sanotusta Hodgkin-Huxley-mallista (kuva 5) esiintyy lukuisia piirrosvariantteja, samoin mallin matemaattiseksi muodostetusta yhtälöstä. Ne pyrkivät periaatteissaan kuvaamaan samaa biologisen neuronin aksonimallia, enemmän tai vähemmän täydellisenä. Kaava 5 kuvaa yhden version Hodgkin-Huxley-mallista.

KAAVA 5. Hodgkin-Huxley-mallin matemaattinen yhtälö. Vastaa kokeellisesti todettuja, jänniteanturilla mitattuja tuloksia (Hodgkin-Huxley, 1952).

$$I = C_m \frac{dV_m}{dt} + g_{Na} m^3 h (V_m - E_{Na}) + g_K n^4 (V_m - E_K) + g_l (V_m - V_l), \text{ jossa}$$

 g_n on ionin n konduktanssin maksimiarvo. m, h ja n ovat hyvin pieniä lukuja. Ne saavat käytännössä arvon 0...1. Huomaa, että alaviite l kuvaa muuttujaa "kaikki muut", mutta voisi hyvin olla avattuna erikseen Cl⁻-ionille ja vuotovirtakanavalle. Tällöin ryhmä kaikki muut saisivat äärettömän pienen lukuarvon (eli ionivirran), kuten käytännössäkin on.

Suuri-impedanssisella jänniteanturilla mitattaessa, kunkin jänniteohjatun ionikanavan aikaderivaatta noudattaa omaa aikavakiota τ (tau) ja e-kantaista logaritmia. Vuoden 1952 neljännessä artikkelissaan (edition 117) Hodgkin ja Huxley antavat näille omat laskentakaavat. Kukin ionikanava noudattaa muotoa $m=m_{\infty}-(m_{\infty}-m_{0})e^{-t/\tau_{m}}$. Kaava tuo läheisesti mieleen RC-piirin diskreetin elektroniikan puolelta. Siellä kondensaattori noudattaa varautuessa funktiota $V_{c}(t)=V_{0}(1-e^{-t/RC})$. Tämän perusteella edellä esitettyä solukalvon elektronista mallia voi pitää hyvänä, koska solukalvo varautuu kondensaattorin (C_m) tavoin saaden latausvirtansa ionipumppujen erillisvirtojen kautta ja ionipumppujen aikavakioiden määräämässä tahdissa.

Hodgkin-Huxley-mallin julkaisun jälkeen tätä nk. konduktanssipohjaista mallia on yritetty parannella useita kertoja. Näistä voidaan mainita mm. Connor-Stevens (1971) ja Morris-Lecar (1981), joissa alkuperäiseen malliin on lisätty lisätoiminnallisuus/-toiminnallisuuksia (Skinner 2006). Parannelluista malleista tunnetuin lienee FitzHugh-Nagumo (kts. esim. Izhikevich & FitzHugh 2006), joka on yksinkertaistettu elektroninen piirimalli Hodgkin-Huxley-aksonimallista (kuva 6). Tämän mallin hyvänä puolena on, että sitä vastaava sähköinen kytkentä todella tuottaa aktiopotentiaalia vastaavan jännitepurkauksen (so. tunnelidiodin negatiivista resistanssiominaisuutta hyödyntävä oskillaattori).



Kuva 6. FitzHugh-Nagumon aksonimallin mukainen elektroninen piiri (Izhikevich & FitzHugh 2006).



KUVA 7. Aktiopotentiaali (Iberri 2007) solukalvon yli mitattuna jännitteenä.

Edellä todetut mallit olettavat, että mittapiste sijaitsee aksonin pinnalla. Simuloitaessa ihon pinnalta mitattua lihassäikeen kalvopotentiaalia, se täytyy projisoida solukalvolta iholle. Tässä voidaan käyttää apuna geometriaa (kaava 6).

KAAVA 6. Solunsisäisen aktiopotentiaalin projisointi pisteeseen (x_0,y_0) (Dimitrova & Dimitrov, 2006).

$$\phi(x_0, y_0) = C \int_{-\infty}^{\infty} \frac{\delta V_i}{\delta x} \frac{\delta(1/r)}{\delta x} dx$$
, jossa

 $C = \frac{\sigma_i}{\sigma_e} \cdot \frac{d^2}{16}$, jossa σ_i ja σ_e muodostavat suhteen solunsisäisen ja solunulkoisen konduktiivisuuden välillä, d on säikeen/solun halkaisija ja $\delta V_i(x)/\delta x$ AP-profiilin voimakkuus säikeen suuntaisesti. Pythagoraan lauseen mukaisesti $r = \sqrt{(x_0 - x)^2 + y_0^2}$, jolloin

$$\delta(1/r)$$

r kertoo etäisyyden solukalvolta mittapisteeseen. Termi δx ilmaisee, että AP:n jännite on kääntäen verrannollinen lihassolun/aksonin ja mittapisteen väliseen etäisyyteen.

Huomioitavaa kaavassa 6 on, että se ei huomioi aikaa. Kaava kertoo jännitteen tai potentiaalieron (voltteina) suhteen x-akselin yksikköpituutta kohti – toisin sanoen sähkökentän voimakkuuden (V/m) mittapisteestä (x_0, y_0) mitattuna. Käytännössä aktiopotentiaali etenee solukalvoa pitkin eli kentän voimakkuus (φ) muuttuu ajan funktiona, jolloin mittaaminen tehdään suhteessa aikaan.

Mittaus- ja simulointitulokset eivät yleensä ole aktipotentiaalin osalta yhtäpitäviä. Mittaustuloksiin vaikuttavat mm. bipolaarianturin fyysiset mitat ja operaatiovahvistimen vahvistus. Simuloinnissa on liki mahdotonta ottaa huomioon solun ja anturin välinen sähkönjohtavuus sekä eri kudosten ja niiden välisten rajapintojen vaikutukset. Absoluuttiseen mittaustulokseen (kuva 7) ei pidäkään pyrkiä vaan huolehtia elektrodin ja ihon välisestä sähkönjohtavuudesta, jolloin mitattava signaali pysyy vahvistimen dynaamisella alueella, jotta signaali saadaan kokonaisuudessaan talteen.

2.3 Yksilöllinen motorinen yksikkö

Luurankolihassolut aktivoituvat (myelinisoituneen) aksonin kautta saapuvan, alfamotoneuronin lähettämän, pulssin avulla. Saapuessaan lihakseen, jokainen hermosäie jakaantuu useisiin myelinisoitumattomiin hermopäätteisiin. Ne (toisaalla terminä "impulssit") ärsyttävät useita lihassäikeitä päätelevyissä olevien hermolihasliitosten kautta. Jos impulssi on riittävän voimakas, aktiopotentiaali lähtee leviämään kaikki-tai-ei-mitäänperiaatteella hermosäiettä pitkin, molempiin suuntiin. Päätelevy sijaitsee noin puolessa välissä lihassolun pituusakselia. Aktiopotentiaalin pituuteen (lihassolun pinnalla) vaikuttaa sen kestoaika ja aktiopotentiaalin leviämisnopeus. (Dimitrova & Dimitrov 2006, 1397)

Pulssi ja impulssi. Edellisessä, kuten laajalti muuallakin, sekoittuvat helposti käsitteet sähköinen purkaus, pulssi ja impulssi. Lääketieteessä pulssi tarkoittaa sykettä. Sähkötekniikassa pulssi on jännitteen tai virran äkillinen muutos, digitaalitekniikassa taas heräte tai binaarinumero. Fysiikasta tuttu impulssi on mekaanisen voiman ja vaikutusajan tulo. Signaalinkäsittelyssä impulssi voidaan syöttää siirtotiehen ja tutkia sillä siirtotien vaikutusta signaaliin. Matematiikassa käytetään käsitettä yksikköimpulssi. Yksikköimpulssi on äärettömän lyhyt ja äärettömän voimakas suure, jonka integraalin arvo on 1. Yksikköimpulssia ei reaalimaailmassa esiinny, mutta sopii lineaaristen se aikainvarianttijärjestelmien (so. LTI-järjestelmien) ominaisuuksien tutkimiseen. Monessa yhteydessä tulee vastaan, että impulssilla on myös suunta eli se on vektori. Sen määrä voidaan laskea integroimalla suure sen vaikutusajan yli. Aktiopotentiaalina ilmenevä sähköinen purkaus on näin ollen sekä pulssi että impulssi.

Aksoni kiinnittää päätejälkansa lihassäikeen synapsiin (kuva 8). Hermon aktiopotentiaalin saapuessa synapsiin, siitä vapautuu asetyylikoliinia, joka leviää myofibrilleihin ja sarkomeereihin solukalvoja ja mikrotubuluksia pitkin. Asetyylikoliini avaa lihassolun jänniteohjatut ionikanavat. Ionikanavien avautuessa Na⁺ - ja K⁺-ionit vapautuvat solukalvon läpi, matalampaan ionitiheyteen. Tämä tuo esille kyseisessä motorisessa yksikössä aktiopotentiaalin ja lihas supistuu. Toisin kuin sähköjohdossa, jossa virta kulkee elektronien liikkeen avulla, elektrolyyteissä ja fosfolipidien kaksikerrosrakenteessa virta kulkee ionien avulla (Enoka 2008, 174).



Copyright © Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings,

KUVA 8. Motorinen yksikkö (Shapiro, 2009).

Motoriset yksiköt. Alfamotoneuronin hermottamien lihassäikeiden määrä vaihtelee. Yksi motorinen yksikkö (MU) voi hermottaa päätejalkojensa avulla muutamasta kymmenestä säikeestä pariin tuhanteen lihassäikeeseen (mm. Rangayyan 2015, 14). Mitä hienomotorisempaa työtä MU:n tulee hallita, sitä pienempi määrää lihassoluja supistuu. Vastaavasti paljon voimaa vaativa työ edellyttää hyvin suurta määrää supistuvia lihassoluja.

Vaikka motoristen yksiköiden lihassäikeet eroavat sekä pituudeltaan että päätelevyn ja solun päätteen (kiinnityspisteen sijainnin ja -tavan), säikeiden halkaisijoiden ja siitä johtuvan solunsisäisen aktiopotentiaalin (IAP) leviämisnopeuden suhteen, histokemialliset ja biomekaaniset ominaisuudet ovat identtiset kunkin MU:n jokaisessa lihassäikeessä. Jos solukalvon parametrit ovat samat jokaisessa lihassäikeessä, solun sisäiset aktiopotentiaalit voidaan katsoa olevan identtiset aikatasossa, riippumatta lihassäikeen paksuudesta. Näin on myös tulosignaali, kaikille MU:n lihassäikeille (AP:n ensimmäinen aikaderivaatta). Tällöin motorisen yksikön voidaan katsoa olevan lineaarinen aikasiirtymäinvarianttijärjestelmä, jonka yhteisimpulssivaste on yksittäisien lihassolujen (n kpl) impulssivasteiden summa. (Dimitrova & Dimitrov 2006, 1407)

Toisin sanoen kunkin motorisen yksikön impulssivaste on osiensa summaimpulssi (MUP) – riippumatta kyseisen MU:n hermottamien lihassolujen, päätelevyjen ja päätehaarojen määrästä, fyysisistä mitoista tai liitoskohtien paikoista. Tällöin jokainen MU tuottaa oman, yksilöllisen ja ainutlaatuisen biosähköisen pulssin. Näin jännitteen voimakkuus ajan funktiona on yksilöllinen. Yksittäinen motorinen yksikkö on siten identifioitavissa sen tuottaman aktiopotentiaalin muutoksen muodon perusteella. Kuvan 9 yläosa kuvaa hyvin summaimpulssin muodostumisen.

Kaikkien aktiivisten motoristen yksiköiden tuottamat biosähköiset pulssit (tai oikeammin sähkökentät) summautuvat mittaelektrodissa. Kuvan 9 alaosa kuvaa EMG:n ilmaiseman summavasteen muodostumista. Kuvassa on sinänsä virhe, koska summautuminen tapahtuu elektrodissa. Tästä johtuen eri yksiköiden tuottamat signaalit ovat jännitetasoltaan erilaiset – riippuen niiden etäisyydestä anturiin nähden. Normaalit SMUAP:t (single MUAP:t) ovat tavallisesti kaksi- tai kolmifaasisia, kestoltaan 3..15 ms, amplitudiltaan 100...300 μ V, ja esiintyvät 6...30 /s taajuudella (Rangayyan 2015, 15). (Lääketiede käyttää termejä monofaasi, bifaasi ja trifaasi (yksivaiheinen, kaksivaiheinen ja kolmivaiheinen) kuvaamaan jännitekäyrän poikkeamia virtuaalisesta nollajännitetasosta.)

Valitettavasti mitta-anturit ilmaisevat myös muiden lihasten tuottamat aktiiviset pulssit. EMG:ssä näkyykin usein muiden lihasten tuottamia "häiriöitä". Onneksi kehon kudokset ja niiden rajapinnat vaimentavat sähkökenttiä melko tehokkaasti.



KUVA 9. Motorisen yksikön summavaste (ylempi kuva) ja motoristen yksiköiden summavaste EMG:ssä (alempi kuva). (Rasheed ym. 2010)

Tässä yhteydessä tulee huomata, että sekä MU:n anatomia että mittapisteen paikka eivät ole muuttumattomia eli MU:n identifiointi voidaan tehdä vain suhteessa mittaustapahtumaan. Ihon pinnalle kiinnitettävän mitta-anturin paikka muuttuu raajan liikkuessa, suhteessa päätelevyihin. Myöhemmin tehtävässä mittauksessa anturia on vaikea saada täsmälleen samaan paikkaan kuin aiemmassa mittauksessa. Myös motorisen yksikön anatomia muuttuu biologisten muutosten johdosta (so. päätejalkojen määrä, kiinnittymiskohdat, kudosvauriot, uusiutuminen yms.). MUAP-profiili muuttuu, mutta yksiköt eroavat edelleen suhteessa toisiinsa.

Syttymistiheys. Alfa-motoneuronin synnyttämät purkaukset rytmittävät motorisen yksikön supistuspulssit noin 10..30 kertaan sekunnissa. Nämä yksittäiset syttymispulssit eivät korreloi muiden motoristen yksiköiden kanssa, mutta ne muodostavat yhdessä sujuvan ja kitkattoman lihassupistuksen. Kädellisten lajien luurankolihasten voimantuotto muodostuu

joko vaihtelemalla aktiopotentiaalipurkausten taajuutta tai muuttamalla aktiivisten motoristen yksiköiden määrää. (Murray-Smith 2006, 2582)

Dynaamisissa suorituksissa, kuten käveleminen, juokseminen tai kyykistyminen, jalkalihakset aktivoituvat vain lyhyeksi aikaa. Siksi motoristen yksiköiden täytyy syttyä synkronisoidusti aikavälein tuottaakseen lyhyin tai tarvittavan lihasvoiman. Taustaprosessista riippumatta, kaikki MUAP:t näkyvät (tällöin) lyhyessä aikaikkunassa. On olemassa useita prosesseja, jotka muodostavat MUAP-ryppään (so. tarkasteltavassa aikaikkunassa). Motoriset yksiköt voivat synkronoitua yhteisessä motoneuronialtaassa (Farina & Negro 2015) taikka aktivaatiot kasautua jonkin laukaisevan tekijän vaikutuksesta, kuten vaikkapa maahan törmäävän jalkakontaktin seurauksena (Maurer ym. 2013). Ensimmäistä aktivaatiota seuraavissa syttymisissä voidaan havaita aaltoilevaa jaksollisuutta (Piper rhythm). Näin ollen (syttymisten) ryppäytyminen voi olla keskushermoston aikaan saamaa. (von Tscharner 2019, 345)

Motorisen yksikön sähkövaraus. Motorisen yksikön päätehaarat kytkevät lihassolut rinnakkain (kts. kuva 10). Matemaattisesti ilmaistuna MU:n kokonaisvaraus on osavarausten summa (kaava 7). Ja koska Q=CU niin MU:n kokonaiskapasitanssi on jokaisen siihen kytkeytyneen lihassolun (kaksikerrosrakenteisen solukalvon) muodostaman kapasitanssin yhteenlaskettu summa (kaava 8). Mutta toisin kuin kondensaattori, joka ei pura varaustaan eristekerroksen läpi vaan palauttaa varaukset tulosuuntaan, solukalvon jänniteohjatut ionikanavat avautuvat ja laskevat varaukset kalvon läpi, korkeammasta ionitiheydestä matalampaan.



KUVA 10. Motorinen päätelevy ja varausten rinnankytkentä.

KAAVA 7. Motorisen yksikön kokonaisvaraus.

$$Q_{tot} = Q_1 + Q_2 + Q_3 + \dots + Q_n = \sum_{k=1}^n Q_k$$

KAAVA 8. Motorisen yksikön kokonaiskapasitanssi.

$$C_{tot} = C_1 + C_2 + C_3 + \dots + C_n = \sum_{k=1}^n C_k$$

Edellisestä voisi päätellä, että mitä lukuisampi määrä lihassoluja tai mitä pinta-alaltaan laajemmat solukalvot (eli lihassäikeet), sitä korkemman jännitepulssin motorinen yksikkö synnyttää. Näin ei välttämättä ole, koska varauksen purkautuminen riippuu sitä purkavien ionikanavien määrästä. Kuten aiemmin todettiin, virta on varauksen aikaderivaatta eli i(t)=dq/dt, jolloin varausten takaisinvirtauksen nopeus säätelee jännitteen muutosta ja kestoa. Mitattu, korkea aktiopotentiaali voi siten kertoa joko suuresta varauksesta tai nopeasta purkausajasta. (Mitattuun AP:n korkeuteen ja varauksen purkautumisen kestoon voi vaikuttaa myös usea mittausjärjestelmästä johtuva tekijä, kuten digitalisointi eli A/D-muunnos ja laskostuminen, transienttien kytkeytyminen, diskreetit komponentit jne.)

2.4 Signaalin käsittely

Aika- ja taajuustason ongelmat. EMG-signaalia tarkastellaan pääasiassa kahdessa ulottuvuudessa; suhteessa aikaan tai suhteessa taajuusinformaatioon. Molemmissa ulottuvuuksissa tutkitaan biosähköisen potentiaalienergian muutoksia eli signaalin amplitudin vaihtelua. Molemmissa on myös heikkouksia. Lihasaktiivisuutta tutkittaessa aikatasossa, näemme EMG:n piikkiviidakkona. Viidakko on joko harvempi tai tiheämpi riippuen siitä, mitä ajankohtaa suorituksesta tarkastellaan. Kun samaa signaalia tutkitaan taajuustasossa, näemme spektrissä signaalin sisältämät taajuuskomponentit, mutta menetämme informaation siitä, millä ajanhetkellä jokin muutos on tapahtunut (so. lokaalisointiongelma). Kumpaakin tarkastelutasoa voisi tietysti parantaa pienentämällä tutkittavaa aikaikkunaa, mutta samalla siirtyisimme kuvasarjoihin ja menettäisimme näkyvyyden kokonaissuoritukseen. Emme näkisi metsää puilta, kuten kansanviisaus asian ilmaisisi. Aktiotentiaalien summautumista käsittelen myöhemmin tässä kappaleessa, kohdassa aktiopotentiaalien tunnistaminen.

Aikatason esitys on usein riittävän hyvä, mutta syvempää analyysiä se ei mahdollista. Digitaalisen signaalinkäsittelyn kustannusten laskettua, Fourier-muunnos on nykyään helppo toteuttaa. Näin aikatason informaation saa helposti taajuustasoon ja tutkittavasta signaalista merkittävää lisäinformaatiota. Mutta riippumatta siitä, mitä DFT- tai FFT-muunnoksen algoritmivarianteista käyttääkään, näemme signaalista edelleen vain yhden puolen – signaalin kaksiulotteisessa avaruudessa. Vaikka pystyisimme määrittelemään signaalista kaikki taajuuskomponentit, emme tiedä, millä hetkellä ne esiintyvät (Valens 1999, 4). Ajoitusongelman lisäksi FT (Fourier Transform) olettaa, että signaali on jaksollinen (säännöllinen ja sinimuotoinen) eikä siinä esiinny epäjatkuvuuksia. Hyvä analyysimenetelmä, jota tarvitaan, mutta tästäkin voisi parantaa. Parempaan analyysiin tarvittaisiin menetelmä, joka sisältää samanaikaiset tiedot sekä ajan että taajuuden funktiona - aika- ja taajuustason yhdistelmä kolmiulotteisessa avaruudessa.

Lokaalisointiongelmaan on esitetty useita ratkaisumalleja: Short-Time Fourier-muunnos (STFT), Gabor-muunnos (aikaikkunoitu Fourier-muunnos), Wigner-Ville-jakauma (WVD), ja lopulta Wavelet-muunnos (Daubechies, Chui ja Cohen vuonna 1992, Abry ja Flandrin

vuonna 1996, jne.). Wavelet-muunnos on osoittautunut tehokkaaksi menetelmäksi hallita aika-taajuustason paikallistamisia ja epäjatkuvuusongelmia. WT (Wavelet Transform) joko skaalaa signaali-informaation aikatasossa tai siirtää informaation aika-taajuustasoon, jotka taas mahdollistavat hetkellisiä muutoksia hallitsevien tekijöiden määrittämisen. (Martin-Gonzales & Garcia-Manso 2012, 94)

Tasomuunnosten avulla muutostekijät voidaan helposti poimia talteen tai vaihtoehtoisesti poissulkea - eli suodattaa (kuten esim. kohinanpoistossa).

Signaalin purkaminen. Yrityksiä purkaa EMG-signaali erillisiin motorisiin yksiköihin on tehty harvakseltaan, mutta pitkään (mm. De Luca, Stashuk ja McGill jo 1970-luvulta lähtien). Luurankolihasten MUAP:ien matemaattisesta purkamisesta ovat olleet kiinnostuneita etenkin hermostollisten sairauksien tutkimusmenetelmistä kiinnostuneet henkilöt (viimeisimpinä mm. Dobrowolski, Wierzbowski & Tomczykiewicz 2012; Kalwa & Patil 2015). Helpoimmin toteutettavina analogisina erottelumenetelminä ovat olleet usean samanaikaisen lanka-anturin ja monikanavaisen pinta-anturin käyttäminen. Biosähköisissä monikanavajärjestelmissä pisimmälle ovat päässeet sydämen rytmin ja aivosähkön kuvantamismenetelmät (EKG ja EEG). Sama kehitys on pätenyt digitaalisen signaalinkäsittelyn mahdollisuuksia hyödyntäviin tutkimusmenetelmiin. Ulkopuolisen taloudellisen tuen aikaansaama, tutkimusmenetelmäkehityksen etumatka tullee kuitenkin supistumaan signaalinkäsittelyprosessorien ja matemaattisten algoritmien kehittymisen sekä merkittävästi lisääntyneen tiedon vastikkeettoman jakamisen myötä.

Signaalin purkamisella pyritään vastaamaan lokaalisointiongelmaan, erottelemalla ja ajoittamalla MUAP-jonot. Luurankolihasten EMG:n purkamisesta on julkaistu artikkeleita harvakseltaan. Tuoreimpina digitaalisen signaalinkäsittelyn ja algoritmikehityksen alustoina on esitetty hahmontunnistusta, erilaisia tilastollisia menetelmiä, keinoälyä, matriisilaskentaa, klusterointia (eli luokittelua), wavelet-muunnoksia, ja ennen kaikkea näiden yhdistelmiä (mm. De Luca ym. 2006; Rasheed ym. 2007, 2008 ja 2010; Parsaei & Stashuk 2011 ja 2013; Dobrowolski ym. 2012; Kamali ym. 2014; Boschmann & Platzner 2014; Puttasakul 2014; Yousefi ym. 2015; Chen & Zhou 2016). Tämän tutkielman toisena tavoitteena on ollut haastaa jo esitetyt (yksikanavaiset, monikanavaiset, neula-anturi-,

ohjatun oppimisen ja keinoälyn) menetelmät yrittämällä kehittää edullinen ja sujuva algoritmi, jolla motoristen yksiköiden tuottamat pulssijonot yksilöidään, todennäköistä jatkoanalyysia varten.

Signaalin puhdistaminen. Riippumatta ulottuvuudesta, jossa signaalia tarkastellaan, seuraavaksi se useimmiten suodatetaan (alipäästö tai kaistanpäästö, joskus myös ylipäästö) eli siitä poistetaan signaalin sisältämät kohinat ja mahdolliset korkeataajuiset häiriöt. Hyvin usein EMG:n kaistanpäästösuodattimena käytetään Butterworth-suodatinta, mutta joku toinen voi olla yhtä hyvä, päästökaistaltaan mahdollisimman tasainen ja jyrkkäreunaiset estokaistat. Digitaalinen signaalinkäsittely sallii erittäin hyvien suodattimien rakentamisen, joihin perinteisellä analogiaelektroniikalla ei koskaan päästä. Analogiaelektroniikka lisää signaaliin myös kohinaa. Eri kohinatyyppien nimityksiä ovat mm. taustakohina, lämpökohina (eli hiljainen kohina eli musta kohina), 50/60 Hz:n kohina (sähköverkosta), avaruuskohina, 1/f⁰-kohina eli valkoinen kohina, 1/f-kohina eli vaalenpunainen kohina (eli fraktaalikohina eli välkyntäkohina), 1/f²-kohina eli Brownian-kohina eli punainen kohina, sininen, violetti ja harmaa kohina, jne. Audio- ja radiotekniikassa käytetään hieman eri termejä kuin digitaalisessa signaalinkäsittelyssä. Kohinaa aiheuttaa myös anturin liitoskontakti ihon pinnalla (Chowdhury ym. 2013, 12435) sekä verenkierto. On oikeastaan makuasia, luokitellaanko koehenkilön pulssi kohinaksi vaiko satunnaiseksi häiriöksi, mutta on hyvä muistaa, että sekin voi EMG-signaalissa näkyä – etenkin ylävartalossa. Kohinaa voidaan poistaa matemaattisilla menetelmillä, digitaalisesti, joista voi mainita keskiarvoistuksen (signaali summautuu artmeettisesti, mutta kohina neliöllisesti (Kährä 2009, 27)), erilaiset tilastolliset menetelmät, kuten pienimmän neliösumman menetelmä (kätevää matriisialgoritmilla), Wigner-Ville-jakauma ja komponenttianalyysit, ja muunnosmenetelmät, kuten FIR- ja IIR-suodattimet sekä wavelet-muunnokset.

KAAVA 9. Mitattu lihasaktiivisuus.

$$EMG(t) = \sum_{k=1}^{m} MUAP_{k}(t) + n(t)$$

Lihaksen liike, lihassäikeiden liike ja anturin kiinnityksen liikkuminen aiheuttavat häiriöitä, ei kohinaa. (Chowdhury ym. 2013) -artikkelissa todetaan liikkeen aiheuttavan tavallisesti 1...10 Hz:n liikekohinan ja EMG:n amplitudin tasoisen jännitteen (Chowdhury ym. 2013, 12433). Tämän satunnaisen matalataajuisen häiriön lisäksi, nollan hertzin dc-komponentti voi aiheuttaa ongelmia signaalin prosessoinnissa - etenkin, jos se niin sanotusti ryömii (ts. dc-taso liikkuu aikatasossa). Sen poistamista voi harkita tai ainakin kokeilla. Tämä onnistuu digitaalisella ylipäästösuodatuksella (esimerkiksi FIR- tai IIR-suodatin). Satunnaisten häiriöiden poistaminen onkin sitten hankalampaa. Parhaimmillaan kohinanpoistomenetelmä hävittää myös satunnaiset häiriöt. Jos aktiopotentiaali peittyy osittain häiriön alle, sen loppuosa voidaan approksimoida. Omalla algoritmilla approksimointi onnistuu, mutta valmiin algoritmin puuttuessa, se täytyy tehdä käsin. Paras tapa on kuitenkin varmistaa jo mittaustilanteessa, että signaali on kelvollinen eikä sisällä ylimääräisiä häiriöitä.

Aktiopotentiaalien tunnistaminen. Jotta signaali voitaisiin jakaa motoristen yksiköiden mukaan, yksittäiset aktiopotentiaalit täytyy tunnistaa ohjelmallisesti ja jakaa ryhmiin eli luokitella. Aktiopotentiaalien tunnistaminen suoritetaan pääasiassa kahdella menetelmällä: liipaisutason määrittelyllä tai derivoivalla maksimintunnistuksella. Liipaisumenetelmällä aikatason signaaliin määritellään jännitetaso (trigger level), jonka ylittävä osa jännitteesta tulkitaan AP-piikiksi. Virtuaalisen nollatason (baseline) alittavalle EMG-signaalin osalle voidaan määritellä oma liipaisutasonsa, jonka alittavat jänniteet luokitellaan niin ikään piikeiksi. AP:n huippu sijaitsee likimääräisesti jännitetasoa leikkaavan aikaikkunan puolessa välissä. Ajankohdan voi toki määrittää tarkemminkin. Aktiopotentiaalit voidaan tunnistaa myös jännitetason derivoinnilla. Niin kauan kuin signaalin jännite nousee, piikin kohotessa, sen derivaatta on positiivinen ja kun se alkaa laskea, jännitteen derivaatta muuttuu negatiiviseksi. Taitekohdassa sijaitsee AP:n huippu eli piikin kärki. Tähänkin menetelmään on syytä lisätä joku jännitetaso, jotta aivan pienimmät signaalinvaihtelut eivät tulisi tulkituiksi aktiopotentiaaleiksi. Molempien menetelmien riskiksi jää, että kauempana mittaanturin kuuluvuusalueella sijaitseevat AP:t tulkitaan kohinaksi.

Piikkien ajallisen paikallistamisen jälkeen, ongelmaksi jäävät ainoastaan ne tilanteet, joissa kahden tai useamman MUAP:n jännitteet ovat ajallisesti hyvin lähekkäin (overlapping) tai jopa päällekkäin (superpositioning). Näiden ongelmatilanteiden käsittely, tässä nimenomaisessa asiayhteydessä, näyttää nostaneen esiin painavaa keskustelua, akselilla

Farina, Merletti, Enoka versus De Luca, Nawab, Kline, Chang (Farina ym. 2015). Limittäisyyttä eittämättä esiintyy, kun motoristen yksikköjen määrä ja otos on suuri tai kun halutaan tulkita aktiopotentiaalin muutoksia kynnysjännitettä matalammilla, lähellä lepopotentiaalia olevilla jännitearvoilla taikka tutkia solukalvon hyperpolarisaatiokäyttäytymistä. Valitettavasti kaksi viimeksi mainittua ominaisuutta peittyvät useimmiten kohinaan. Luonnollisesti näissä tilanteissa limittäisyys menettää merkityksensä. Signaalikohinasuhde (SNR, Signal to Noise Ratio) rajaa halutut tutkimusmahdollisuudet. Dynaamisissa suorituksissa superposition häiritsevän vaikutuksen todennäköisyys on huomattavasti suurempi. Käytännössä aktiopotentiaalit ovat superpositiossa koko mittaustapahtuman ajan, mutta kirjallisuudessa superpositioon viitataan usein vain päällekkäisten impulssien tapauksessa.

Aktiopotentiaalien tunnistamisen haastavin tapaus on tilanne, jossa kahden motorisen yksikön pulssit limittyvät tavalla, joka estää syntyneen pulssin luokittelemisen kumpaankaan motoriseen yksikköön.

KAAVA 10. Todennäköisyys joukko-opin mukaan.

$$P(A \cap B) = P(MUAP_1 \cap MUAP_2)$$

Kuvasta 7 voidaan karkeasti arvioida, että aktiopotentiaali on ajallisesti, varauksen purkautumisen laukaisevan kynnysjännitteen yläpuolelta, noin 1,5 ms pitkä. Tätä matalammat jännitteet peittyvät kohinaan, joten niitä ei nyt huomioida. Jos oletetaan, että kumpikin MUAP-jono purkautuu 20 kertaa sekunnissa, siitä seuraa, että todennäköisyydet joukon A ja joukon B esiintymisille ovat

$$P(A) = \frac{20 \cdot 1,5 \text{ ms}}{1000 \text{ ms}} = 0,03 \text{ ja} P(B) = \frac{20 \cdot 1,5 \text{ ms}}{1000 \text{ ms}} = 0,03$$

Kun toisistaan riippumattomien tapausten todennäköisyys $P(A \cap B) = P(A)P(B)$, niin $MUAP_1$ ja $MUAP_2$ aktiopotentiaalit leikkaavat toisiaan eli häiritsevät tunnistusta todennäköisyydellä $0,03 \cdot 0,03 = 0,0009$. Toisin sanoen 9 tunnistusta 10000 epäonnistuu,

kun tunnistukseen käytetään 1,5 ms aikaikkunaa.

Mittaustilanteessa bipolaarinen pinta-anturi voi löytää useammankin motorisen yksikön kuin nämä kaksi. Useampien motoristen yksiköiden tunnistusta häiritsevää vaikutusta voidaan arvioida laskemalla mahdollisten kombinaatioiden määrä nk. binomikertoimella.

KAAVA 11. Binomikerroin.

$$\binom{n}{k} = \frac{n!}{(n-k)!k!}$$

Jos oletetaan, että motorisia yksiköitä on "näkyvissä" kuusi kappaletta, ja kun tunnistusta häiritseväksi riittää kahden yksikön purkauksen päällekkäisyys niin mahdollisten kombinaatioiden määrä on silloin $\binom{n}{k} = \frac{6!}{(6-2)!2!} = 15$.

Näin ollen todennäköisyys sille, että kaksi kuudesta MUAP:sta sotkee aktiopotentiaalien tunnistusta, on $15 \cdot 0,0009 = 0,0135$. Tämä 1,35 % on tasan 13,5 epämääräistä purkausta tuhannesta aktiopotentiaalista. Vastaavasti 98,65 % purkauksista on edelleen tunnistettavissa. Todennäköisesti suurempikin joukko, jos luokittelumenetelmä sallii osittaisen lomittumisen luokittelun häiriintymättä.

Dynaamisissa suorituksissa, kuten käveleminen, juokseminen tai kyykistyminen, jalkalihakset aktivoituvat vain lyhyeksi aikaa. Siksi motoristen yksiköiden täytyy syttyä aikavälein lyhyin tai synkronisoidusti tuottaakseen tarvittavan lihasvoiman. Taustaprosessista riippumatta, kaikki MUAP:t näkyvät (tällöin) lyhyessä aikaikkunassa. On olemassa useita prosesseja, jotka muodostavat MUAP-ryppään. Motoriset yksiköt voivat synkronoitua yhteisessä motoneuronialtaassa (Farina & Negro 2015) taikka aktivaatiot kasautua jonkin laukaisevan tekijän vaikutuksesta, kuten vaikkapa maahan törmäävän jalkakontaktin seurauksena (Maurer ym. 2013). Ensimmäistä aktivaatiota seuraavissa syttymisissä voidaan havaita aaltoilevaa jaksollisuutta (Piper rhythm). Näin ollen (syttymisten) ryppäytyminen voi olla keskushermoston aikaan saamaa. (von Tscharner

2019, 345).

Päällekkäisyyksien todennäköisyys luonnollisesti kasvaa, jos tarkastellaan dynaamisia suorituksia. Näissä pulssijonot kerääntyvät ryppäiksi lyhyen aikavälin sisään (Maurer ym. 2013). Aktiopotentiaaliryppäät heikentävät erityisesti taajuustason tarkastelua, niiden modulaatiovaikutuksen vuoksi (von Tscharner 2019), mutta myös limittymisen ja päällekkäisyyden todennäköisyys kasvaa aikatasossa merkittävästi. Superposition häiritsevän vaikutuksen todennäköisyyden laskenta, aktiopotentiaalijonojen kasautuessa ryppäiksi, on monta kertaluokkaa haastavampaa ja jätetään tässä yhteydessä tekemättä, muun muassa MUAP-jonojen keskinäisen riippuvuuden tai riippumattomuuden määritysongelman vuoksi.

Aktiopotentiaalien luokittelu. Aktiopotentiaalit voidaan luokitella (eli klusteroida) useilla eri menetelmillä. Pois lukien tilastolliseen todennäköisyyteen pohjautuvat menetelmät, jotka edellyttänevät ohjattua oppimista (sumeaa logiikkaa), luokittelu perustuu yksin aktiopotentiaalien ryhmittelyyn jännitepurkausten samankaltaisuuksien mukaan. Aineisto jaetaan ryhmiin siten, että ryhmien sisällä havainnot ovat keskenään mahdollisimman samankaltaisia ja toisaalta ryhmien välillä mahdollisimman erilaisia (Holopainen 2012, 7). Muuttujat tulee valita niin, että mahdollisimman paljon informaatiota kiinnostuksen kohteena olevasta asiasta säilytetään (Holopainen 2012, 10) ja turha tieto ja toisto pyritään eliminoimaan (Holopainen 2012, 10).

Luokittelu ja todennäköisyysanalyysi. Tämä menetelmä lähtee siitä olettamuksesta, että yksittäisen MUAP-jonon aktiopotentiaalien purkausvälit eli nk. syttymisvälit noudattavat (esimerkiksi) normaalijakauman mukaista tilastollista todennäköisyyttä. Toisin sanoen, pulssit esiintyvät jonoissaan kyseisen hajonnan mukaisin aikavälein. Kun kunkin jännitepurkauksen muodot ryhmitellään ja kytketään kunkin MUAP-jonon hajontaoletukseen, saadaan ainakin Rasheed, Stashuk & Kamelin (2010, 868) mukaan varsin "vakuuttavasti oikea" ryhmittelytulos. Luokittelumenetelmän (k-means-algoritmin) ja todennäköisyysanalyysin (IDI-histogrammin (Inter-Discharge Interval)) yhdistelmästä ovat kirjoittaneet (Rasheed, S., Stashuk, D.W. & Kamel, M.S. 2007 ja 2010) ja (Parsaei, H. & Stashuk, D.W. 2012 ja 2013). Todennäköisyyksiin perustuvien intervallihistogrammien

34

(IDI, ISI, IPI, ym.) hankaluutena on, että motoristen yksiköiden purkausvälit vaihtelevat yksiköstä toiseen. Pulssien väliset intervallit eivät ehkä tarkalleen ole samat SMUAP:sta toiseen (Rangayyan 2015, 398). Todennäköisyyslaskenta voi sekä kasvattaa virheitä että monimutkaistaa algoritmia. Tämä ja algoritmiltä vaadittu ns. ohjatun oppimisen toiminnallisuus voivat selittää sitä, miksi yleisesti hyväksyttyä purkumenetelmää ei edelleenkään tältä pohjalta ole.

Komponenttianalyysi. Hierakkisiin luokitteluihin perustuvia komponenttianalyysimenetelmiä on useita. Tässä asiayhteydessä on julkaisuja pääasiassa kahdesta menetelmästä: pääkomponenttianalyysistä (PCA eli Principal Component Analysis) ja nk. itsenäisestä komponenttianalyysistä (tässä fastICA eli fast Independent Component Analysis). Muitakin menetelmiä kannattaisi toki kokeilla. Menemättä syvemmälle kumpaankaan menetelmään, voidaan todeta, että kumpikin on tilastollinen monimuuttujamenetelmä ja että kumpaakin käytetään aktiopotentiaalipulssien ryhmittelyyn eli klusterointiin pulssin muodon mukaan, että fastICA ilmeisesti omimmillaan suurissa monikanavaisissa ja on anturiverkkojärjestelmissä. FastICA:n on todettu olevan erittäin tehokas algoritmi, jonka on kehittänyt suomalainen Aapo Hyvärinen (Helsinki University of Technology). Varsin tuore tutkimus pinta-EMG-matriisin ja fastICA:n yhdistelmästä on julkaistu tammikuussa 2016 (Chen & Zhou 2016). Matriisianturin paremmasta erottelukyvystä huolimatta, keskityn tässä tutkielmassa vain kaksikanavaisiin järjestelmiin. EMG:n dekompositioinnista julkaistuissa artikkeleissa pääkomponenttianalyysiä ovat hyödyntäneet ainakin (Parsaei & Stashuk 2011), (Puttasakul, Sangworasil & Matsuura 2014) ja (Kalwa & Patil 2015). Pääkomponenttianalyysillä lajitelluista piikeistä tallennetaan esiintymisajankohdat, joiden perusteella voidaan muodostaa tutkimushetkellä aktiivisten motoristen yksiköiden syttymisjonot (eli SMUAP-jonot) tai hyödyntää aikaleimoja laskennallisiin menetelmiin.

Kuten arvata saattaa, jokainen luokittelumenetelmä jättää jälkeensä kasan epämääräisiä jännitepurkauksia. Tai, jos ollaan tarkkoja, ei jättäisi ellei käytännöllisintä olisi hylätä osa epämääräisistä purkauksista ja keskittyä vain muutamaan tai pariin-kolmeenkymmeneen aktiivisimpaan motoriseen yksikköön. Se, tulisiko yleisesti hyväksytyn mittausmenetelmän sallia yksittäisten tulosten hylkääminen vaiko ei, riippuu sovelluskohteesta ja jääköön siltä osin jatkossa nähtäväksi. Muun muassa De Luca käyttää "Precision Decomposition-tekniikassa" nk. interaktiivista editoria (De Luca jne 2006, 1651), jolla käyttäjä luokittelee

algoritmin hylkäämät AP:t manuaalisesti. Itse PD-tekniikka on hieman epämääräisesti kuvattu.

Kuvattujen menetelmien vertailu on hankalaa. Kolmesta interaktiivisesta sovelluksesta on tehty yksi vertailututkimus (Dai ym. 2015). Ohjelmistoina olivat EMGlab, Fuzzy Expert ja Montreal. Tutkimuksessa analysoitiin algoritmien tunnistamien SMUAP:ien määrää, ei MUAP-jonojen oikeellisuutta. Tutkimuksessa käytettiin sekä todellista että simuloitua intramuskulaarista EMG-signaalia. Merkittäviä laadullisia eroja ei löytynyt. Tosin mikään menetelmä ei osoittautunut täysin luotettavaksikaan. Useimmiten luotettavuuden arviointi on jäänyt artikkeleiden kirjoittajien käsiin. Muun muassa Dario Farina ja Roger M. Enoka (2011) peräänkuuluttavat menetelmän asianmukaista validointia, osoittaen sanansa De Lucalle. Tulosten laadun määrittäminen on osoittautunut hyvin hankalaksi.

Vuonna 2011 julkaistiin tutkimus Convolution Kernel Compensation (CKC) -menetelmän (Marateb ym. 2011) tulosten luotettavuudesta. Tässä tutkimuksessa Marateb, McGill, Holobar, Lateva, Mansourian ja Merletti olivat verranneet CKC-metodin ja interaktiivisen EMGlab-menetelmän dekompositioimien (so. hajottamien / purkamien / erottelemien) motoristen yksiköiden samanlaisuutta. CKC-algoritmin signaalinilmaisuun käytetään monikanavaista, pinta-antureista koostuvaa, suuritiheyksistä anturimatriisia (HDsEMG). Antureiden välinen etäisyys oli tässä nimenomaisessa tutkimuksessa 8 mm ja antureiden kokonaismäärä 92. Aiemmissa CKC-menetelmän artikkeleissa on käytetty myös 60 kanavaista anturiverkkoa, pinnien välisen etäisyyden ollessa vain 3 mm. Tutkimuksessa verrattiin CKC:n tuloksia intramuskulaaristen (iEMG) antureiden tuloksiin, viidellä koehenkilöllä, 10 sekunnin aikaikkunassa, isometrisessä lihastyössä. CKC kykeni ilmaisemaan 2...30 MUAP-jonoa kustakin suorituksesta. Kun näitä verrattiin 1...5 intramuskulaarisesti ilmaistuun MUAP-jonoon, saatiin tulokseksi 91,5±5,8 %:n vastaavuus purkausten määrissä ja niiden ajoituksissa. Erittelemättä mahdollisia virhelähteitä, tulosten vastaavuus 85,7...97,3 % on sentään jotain konkreettista. Kyseisestä tutkimuksesta yhtenä vertailukohtana mainittakoon, että yhden isometrisen 20 sekunnin suorituksen tulosten visuaalinen tarkastus ja editointi CKC-menetelmällä kesti 20±10 minuuttia ja EMGlabia käyttäen 10 tuntia, molemmat kokeneiden operaattoreiden suorittamina.

Convolution Kernel Compensation-menetelmää on verrattu myös aiemmin mainittuun fastICA-algoritmiin (Chen ym. 2016). Molempien algoritmien yhteenlaskettu tunnistettujen motoristen yksikköjen määrä oli 1477. Näistä 969 oli sellaisia, jotka kumpikin menetelmä kykeni tunnistamaan. Kun näitä verrattiin, saatiin 97,85±1,85 % samanaikaista ajoitusta. Kustakin suorituksesta löytyi keskimäärin 10,6±4,3 yhdessä tunnistettua MUAP-jonoa. Mittausanturina oli 64-kanavainen matriisianturi. Aikaikkuna vaihteli 3,2...11,2 sekunnin välillä.

3 TUTKIMUKSEN TARKOITUS

Hermojen ja lihasten biosähköistä toimintaa mitataan elektromyografialla (EMG). Menetelmä on vakiintunut mittausmenetelmä lihasten aktiivisuustutkimuksissa, erilaisia lääketieteellisiä hermo- ja lihasvauriotutkimuksia unohtamatta. Tämän biosignaalin näytteenottoon käytetään useita erilaisia ratkaisuja. EMG voidaan mitata joko intramuskulaarisesti (neula- ja lanka-anturit) tai ihon pinnalta pintaelektrodein (mono-, bipolaari- ja matriisianturit). Yksinkertainen differentiaalinen bipolaarianturi on usein käytännöllisin ja vähäkohinaisin valinta. Elektrodeilla ilmaistu signaali siirretään vahvistimen ja A/D-muuntimen kautta tietokoneelle, jolla suoritetaan signaalin analysointi ja kuvantaminen. Lihasten aktivaatiotason ja aktivoitumisjärjestyksen ilmaisemiseen riittää varsin yksinkertainen matemaattinen algoritmi. Huomattavasti hankalampaa ja siksi vähemmälle huomiolle on jäänyt erillisten motoristen yksiköiden aktiivisuuden erottelu. Vähään huomioon on epäilemättä syynä se, että yhtään helppoa menetelmää ei ole löydetty. "Standardoidulle" menetelmälle olisi varmasti tässä tutkimuskohteessa käyttöä.

Tutkimuksen tarkoituksena oli kehittää digitaalista signaalinkäsittelyä ja valmiita matemaattisia menetelmiä tehokkaasti hyödyntävä algoritmi, jolla differentiaalisesta EMG-signaalista voitaisiin erotella yksittäisten motoristen yksiköiden aktivaatiohetket. Menetelmän tuli olla mahdollisimman yksinkertainen, nopea ja automaattinen. Automatisointi poissulkisi potentiaalisen virhelähteen. Tutkimushypoteesina oli, että nykyiset analogisen differentiaalisignaalin näytteenotto- ja digitaalimuunnosmenetelmät ovat riittävät motoristen yksikköjen erotteluun.

Kaikki tutkimuksessa tutkittavat luokittelumenetelmät löytyvät, yksityiskohtaisine algoritmin toteutuksen kuvauksineen ja tieteelle kuvattuine aineistoineen, valmiina funktioina MATlab-ohjelmiston kirjastosta. Niitä hyödynnetään niiltä osin, kun ne asiayhteyteen soveltuvat.

Lähdeaineistoksi valikoitui viisi simuloitua monopolaarista 10x9-matriisianturisignaalia, jotka oli saatu Ales Holobarilta Mariborin yliopistosta, Sloveniasta.

4 TUTKIMUSMENETELMÄT

Motoristen yksiköiden erotteleminen EMG-signaalista edellytti paitsi vaativaan matriisilaskentaan sopivaa ohjelmointiympäristöä myös tekijän perehtymistä sekä waveletmatematiikkaan että matemaattiseen tiedon luokitteluun. Algoritmien ohjelmointialustaksi valikoitui MathWorks-yhtiön numeerisen laskennan ohjelmointikieli ja ohjelmisto MATlab (versio R2015a toolbox 8.5.0 - win64), lähinnä ohjelmiston monipuolisuuden vuoksi. Tekijän ohjelmointitaidot alkoivat nollasta.

Alkuperäinen, digitaaliseksi muunnettua signaalia prosessoiva algoritmi, koostui kolmesta pääfunktiosta: kohinanpoisto, aktiopotentiaalien tunnistaminen ja aktiopotentiaalien lajittelu. Näistä kohinanpoisto osoittautui tarpeettomaksi simuloitujen signaalinäytteiden puhtaan laadun vuoksi. Käytännössä fysiologiset signaalit täytyy aina suodattaa, joten kohinanpoistofunktio on tarpeen, mikäli sillä analysoidaan fysiologisia mittaustuloksia. Näin ollen, tämän tutkimuksen tehtäväksi jäi aktiopotentiaalien lajittelu MUAP-jonoihin ja soveltuvimman klusterointimenetelmän määrittely. Tutkimuksen eri vaiheita varten luotiin omat tutkimusalgoritminsa.

Tuotettuihin algoritmeihin sisällytettiin seuraavat luokittelumenetelmät: k-means, kmedoids ja wavelet-klusterointi (MATlab R2015a toolbox 8.5.0 – win64). K-means ja Kmedoids edustivat nk. kombinatorisia luokittelumenetelmiä. Näistä K-means perustuu klusterien keskiarvojen laskentaan (Holopainen 2012). Kombinatoristen menetelmien lisäksi käytössä ovat nk. hierakkiset menetelmät, jotka yhdistelevät havaintopisteet toisiinsa muodostaen puumaisen rakenteen eli dendrogrammin. Tässä tutkielmassa waveletmuunnokset edustivat hierarkkista klusterointia. Matlab-ohjelmistossa on myös kolmas vaihtoehtoinen algoritmi, Gaussin sekamalli. Se mallintaa ryhmät normaalijakaumaa hyväksikäyttäen. Sekä neljäs vaihtoehto, neuroverkkoihin pohjautuva nk. itseohjautuva kartta. Kumpaakaan näistä kahdesta jälkimmäisestä ei tutkittu, koska ne eivät sopineet tämän tutkimuksen fokukseen. Kaikki tutkittavat luokittelumenetelmät löytyvät, yksityiskohtaisine algoritmin toteutuksen kuvauksineen ja tieteelle kuvattuine aineistoineen, valmiina funktioina MATlab-ohjelmiston kirjastosta. Rekontruoidun bipolaarisignaalin luokittelumenetelmien (MATlab-funtiot: k-means, kmedoids ja wavelet) samankaltaisuutta tutkittaisiin laskemalla korrelaatiot menetelmien ja niissä käytettyjen etäisyysmittojen välillä. Tuloksiin otettaisiin mukaan ne etäisyysmitat, jotka parhaiten soveltuisivat asiayhteyteen. Wavelet-klusterointimenetelmistä tutkittaisiin db2- ja Haar-muotoisten skaalaussuodattimien käyttöä, eri etäisyysmitoilla ja skaalaustasoilla. Korrelaatiot laskettaisiin eri luokittelumenetelmien erottamien motoristen yksiköiden välillä.

Ilkka Mellinin (2006,246) mukaan kahden välimatka-asteikollisen muuttujan parien muodostamaa jakaumaa voidaan karakterisoida havaintoarvojen kolmella tunnusluvulla: havaintoarvojen keskimääräistä sijaintia aritmeettisilla keskiarvoilla, havaintoarvojen hajaantuneisuutta tai keskittyneisyyttä keskihajonnoilla tai (otos-)variansseilla ja havaintoarvojen (lineaarista) riippuvuutta otoskovarianssilla ja Soveltuvimman luokittelumenetelmän otoskorrelaatiokertoimella. määrittelyssä tukeuduttaisiin näihin tunnuslukuihin.

4.1 Tutkittavat näytteet

Bipolaarisella pinta-EMG-anturilla mitattuja signaaleja oli käytettävissä runsaasti. Valitettavasti mitään niistä ei oltu analysoitu MUAP-jonoja erottelevalla menetelmällä, joten ne eivät kelvanneet referenssiksi. Invasiivisesti talteenotettuja näytteitä, joista oli jollain menetelmällä eroteltu MUAP-jonot, löytyi kahdesta lähteestä; Jouni Kallion väitöskirjan (Kallio 2013) tutkimusmateriaalista ja EMGlab-nimisen Matlab-sovelluksen verkkosivuilta. Ensin mainittu pohjautuu puoliautomaattiseen aktiopotentiaalien luokitteluun. Jälkimmäinen on vapaasti saatavilla oleva interaktiivinen ohjelmisto, joka on julkaistu jo vuonna 2005 (McGill 2005). Kuten todettua, molemmista lähteistä saatavat signaalit olivat intramuskulaarisia eivätkä sellaisenaan soveltuneet tämän tutkimuksen fokukseen. Jälkimmäisestä ei myöskään löytynyt näytteitä vastaavia tutkimustuloksia vaan ne olisi pitänyt tuottaa itse kyseistä ohjelmistoa käyttäen.

Harri Piitulaisen (Aalto yliopisto) avustuksella saatiin vihdoin pintaelektrodilla mitattuja ja automaattisella ohjelmistolla tutkittuja EMG-signaaleja. Näytteet oli mitattu loppuvuonna 2012 Aalto yliopiston toimesta aivosähkökäyrien mittaamiseen tarkoitetussa MEG Core-

suojatilassa. Näytteenottoon oli käytetty 60-kanavaista matriisianturia (HDsEMG, High Density surface EMG). Hopealla pinnoitettujen elektrodien välinen horisontaalien ja vertikaalinen etäisyys oli 3 mm. Elektrodit oli järjestetty 5 sarakkeeseen ja 13 riviin. Näistä 1., 2. ja viimeinen rivi olivat vajaita. Kunkin kanavan näytteenottotaajuus oli 2000 Hz. Analogiset monopolaarisignaalit oli vahvistettu 500-kertaiseksi, ylipäästösuodatettu 20 Hz:n ja alipäästösuodatettu 300 Hz:n rajataajuuksilla (3 dB pisteet). Digitaalikonversiot oli tehty 12-bittisellä A/D-muuntimella. Matriisianturi oli sijoitettu pitkittäin, mitattavan lihaksen syiden suuntaisesti. Näytedata oli otettu isometrisen suorituksen ajalta. Tutkittavia näytteitä oli käytettävissä kolme. Kustakin oli eroteltu nk. Convolution Kernel Compensationmenetelmää (CKC-menetelmää) käyttäen 10 MUAP-jonoa. Ensimmäinen näyte sisälsi syttymisaikatulokset 1515 aktiopotentiaalista. Näytteen kesto oli 14,2 sekuntia. Matriisianturin ulostuloista rekontruoitua bipolaarisignaalia tarkasteltaessa havaittiin, että sen sisältämät, aktiopotentiaaleja muistuttavat, aaltomuodot olivat aikatasossa noin 10 kertaa pidempiä kuin mitä aktiopotentiaalien pitäisi teorian mukaan olla. Rekonstruktio eli signaalin palauttaminen alkuperäiseksi analogiseksi oli epäonnistunut. Todennäköisin selitys tähän on nk. laskostuminen (aliasing). Laskostumista esiintyy, kun liian pienellä näytteenottotaajuudella (2000 Hz) taltioitua digitaalista signaalia yritetään palauttaa alkuperäiseksi. Tällöin D/A-konversio epäonnistuu eikä rekonsturointi onnistu luotettavasti. Toisin sanoen, palautuksen tulos ei vastaa alkuperäistä analogista signaalia. Tällä tavalla näytteistetty signaali sopii kyllä tutkittavaksi, mutta signaalin rekonstruktio on mahdotonta. Muita kahta näytettä ei tutkittu.

Edellä kuvattujen kahden näytteen sijaan päädyttiin kokeilemaan puhdasta simuloitua signaalia. HDsEMG-näytteenottoa vastaavat viisi simuloitua matriisisignaalia saatiin Ales Holobarilta Sloveniasta, edelleen Harri Piitulaisen avustuksella. Näytteet simuloivat 10x9matriisianturisignaaleja isometrisessä 10% MVC-suorituksessa. Simuloinnissa oli pyritty tuottamaan häiriöttömät, luonnollista anatomiaa (Farina ym. 2004), rekrytointijärjestyksiä ja syttymistiheyksiä (Fuglevand ym. 1993) vastaavat matriisisignaalit. Kukin viidestä matriisianturisignaalista oli simuloitu vastaamaan 262 aktiivista motorista yksikköä luonnollisen fysiologian kaltaisessa ympäristössä. Kunkin motorisen vksikön syttymisajankohdat olivat tiedossa. Tiedostoissa näytteenottotajuudeksi oli määritelty 4096 Hz, mutta nämä simuloidut signaalit sopivat yhtä hyvin muillekin taajuuksille. Tässä tutkimuksessa päädyttiin käyttämään 4 kHz:n näytteenottotaajuutta, yksinkertaisuuden

vuoksi. Tutkittavan isometrisen suorituksen kesto oli 16 sekuntia. Simuloitua näytteenottoa vastaavien anturipinnien välinen etäisyys ei ollut tiedossa. Ulostulosignaaleissa oli pientä matalataajuista aaltoilua, mutta muutoin ne olivat täysin kohinattomia.

4.2 Signaalien esiprosessointi

Koska tutkielman tarkoituksena oli luoda algoritmi differentiaalisen bipolaarianturisignaalin käsittelyyn, monikanavaisista HDsEMG-signaaleista täytyi rekonstruoida vastaava "analoginen" näyte. Bipolaariset napasignaalit saatiin summaamalla symmetrisesti 12 signaalia kumpaankin virtuaalielektrodiin - kuvan 11 mukaisella tavalla. Tutkittavaksi saatujen fysiologisten monikanavasignaalien anturipinnien keskipisteiden välimatkaksi tuli 21 mm, joka vastaa hyvin, yleisesti käytettyä napojen välistä 20 mm etäisyyttä. Lopullinen näytesignaali saatiin, aivan samoin kuin differentiaalivahvistimessa, laskemalla napasignaaleiden erotus. Matriisilaskentaan pohjautuvalla tiedonkäsittelysovelluksella edellä mainitut operaatiot oli varsin helppo toteuttaa, eikä edes A/D- tai D/A-muunnoksia tarvittu. Harmillisesti tämän matriisisignaalin matala näytteenottotaajuus aiheutti edellä kuvatun laskostumisongelman, yritettäessä palauttaa näyte alkuperäistä fysiologista vastaavaksi. Signaalit olivat muutoin erinomaisen hyviä, mutta rekonstruktio ei onnistunut. Valitettavasti nämäkin näytteet jouduttiin hylkäämään. Tästä eteenpäin käsiteltiin ja tässä työssä puhutaan vain simuloimalla tuotetuista signaaleista.

Simuloitujen signaalinäytteiden rekonstruoinnissa, bipolaarista differentiaalisignaalia vastaavaksi "fysiologiseksi" näytteeksi, meneteltiin samoin kuin edellä. Bipolaariset napasignaalit saatiin summaamalla symmetrisesti 12 signaalia kumpaankin virtuaalielektrodiin kuvan 11 mukaisella tavalla. Pinnien välinen simuloitu etäisyys ei ole tiedossa. oletettiin olevan riittävä selkeän differentiaalisignaalin mutta sen muodostamiseksi.



KUVA 11. Bipolaarisen anturin toteuttaminen matriisianturin pinneistä.

Simuloidut signaalit olivat erittäin puhtaita häiriöistä ja kohinoista. Niissä esiintyi vain hyvin matalataajuista aaltomuotoa, virtuaalisen nollatason "elämistä". Alkuperäiseen algoritmiin oli aiemmin luotu sekä FIR- että wavelet-suodattimet signaalin puhdistamiseksi. Tässä yhteydessä niitä ei tarvittu, mutta alustavat ajot muilla kohinaisemmilla signaaleilla osoittivat, että wavelet-muunnos ja wavelet-suodatus (DWT, Discrete Wavelet Transform) tuottivat FIR-suodatusta paremman lopputuloksen (db2- ja Haar-funktioilla). Tämä tukee aiempaa käsitystä samanaikaisen aika-taajuustason analyysin ja signaalinkäsittelyn (so. multiresoluution) edullisuudesta yksitasoisen signaalin suodatukseen nähden.

4.3 Aktiopotentiaalit

Tämä tutkimus päätyi käyttämään MUAP:sta vain selkeästi erotettavaa osaa pulssista. Alustavia esikokeiluja suoritettiin useita aikaikkunoilla 0,6...3,0 ms. Kokeillut aikaikkunat vastasivat likimäärin puolta pulssin huipun ja lepotason välisestä jännitetason vaihtelusta, simuloiduilla signaaleilla hieman enemmän. Pidempi aikaikkuna sekoitti aktiopotentiaalien luokittelua, muutaman limittymistilanteen muutettua klusterointimenetelmissä käytettyjen etäisyysmittojen tuloksia. Porrastamalla etäisyysmittojen painotusta, aikaikkunaa voidaan oletettavasti leventää ja potentiaalisten limittymisongelmien määrää entisestään pienentää. Tutkimusaineisto jaettaisiin kahteen osaan. Ensimmäiseen osaan valittaisiin mukaan vain puhtaita aktiopotentiaaleja. Puhtaita siinä mielessä, että niissä olisi mahdollisimman vähän epäjatkuvuuksia tai limittäisyyttä toisen aktiopotentiaalin kanssa. Kunkin näytteen jokainen aktiopotentiaali tutkittaisiin omalla algorimilla siten, että sekä nouseva "ramppi" että laskeva "ramppi" olisi puhdas epäjatkuvuuksista. Jokainen nousevan rampin mittapiste tuli olla edellistä korkeammalla ja vastaavasti jokainen laskevan rampin mittapiste edellistä matalammalla. Ensimmäistä aineistoa käytettäisiin soveltuvimman klusterointimenetelmän määrittelyssä. Jälkimmäiseen aineistoon otettaisiin mukaan kaikki tunnistettavat impulssit. Klusterointi siirtäisi epämääräisimmät aktiopotentiaalit omiin ryhmiinsä. Nämä ryhmät tulisi ottaa huomioon myös soveltuvimman klusterimäärän arvioinnissa. Jälkimmäistä aineistoa tarvittaisiin vain syttymisvälianalyysissä.

Viime kädessä näytteenottotaajuus määrittelee sen, kuinka eroteltavia aktiopotentiaalit ovat toisiinsa nähden. Tässä aineistossa näytteenottotaajuus oli 4 kHz, jolloin erottelutarkkuus oli 0,25 millisekuntia. Tämä mahdollisti yhdentoista mittapisteen käyttämisen etäisyysmittojen laskennassa. Niin halutessaan, tätä voisi pitää raja-arvona.

4.4 Ryhmien määrä

Klusterointiin liittyvänä ongelmana on määritellä, kuinka moneen ryhmään aineisto tulee jakaa. Valitettavasti tämän ongelman ratkaisuun ei ole olemassa suoraa menetelmää. Ratkaisua täytyy hakea epäsuorasti. Tuloksia täytyy testata ja käyttää soveltuvia tunnuslukuja. Yksi tähän tähän tilanteeseen soveltuva tunnusluku on nk. Davies-Bouldinindeksi (DBI). Muita tunnettuja tunnuslukuja ovat Calinski-Harabasz-indeksi, Dunn-indeksi ja siluettiarvot, joista osa sopii asiayhteyteen, osa ei. Dendrogrammille voidaan laskea nk. Spearmanin järjestyskorrelaatiokerroin. Se kertoo, kuinka hyvin dendrogrammi onnistuu kuvaamaan valitun linkitysmenetelmän, etäisyysmitan ja aineiston yhdistelmää. Erittäin pelkistetysti sanoen, kuinka hyvin erottelumenetelmä ja aineisto vastaavat toisiaan.

Menetelmiin pyrittäisiin samaan eroja vertaamalla niitä sekä mahdollisimman häiriöttömillä impulsseilla että koko aineistolla. Lisäksi aineistosta pyrittäisiin tutkimaan, miten luokittelumenetelmien vaikutus näkyy motoristen yksiköiden syttymisvälituloksissa.

5 TULOKSET

Simuloituja matriisisignaalinäytteitä oli käytettävissä 5 kappaletta (Library1...Library5). Usein osa aktiopotentiaaleista peittyy kohinaan, mutta nämä matriisisignaalit olivat erittäin puhtaita, kohinattomia. Kustakin matriisisignaalista rekonstruoitiin bipolaarisignaalit, joista edelleen differentiaalisignaali, aiemmin kuvatulla tavalla. Differentiaaliset aktiopotentiaalit pystyttiin tunnistamaan jännitearvosta riippumatta. Differentiaalisista bipolaarisignaaleista paikallistettiin kaikki erotettavissa olevat impulssit (kuva 12). Niitä löytyi 5464...5887 kappaletta kunkin näytteen 16 sekunnin tutkimusjakson ajalta.



KUVA 12. Esimerkki ajallisesta paikantamisesta. Siniset neliöt kuvaavat algoritmin paikallistamat impulssit.

5.1 Ryhmien määrä

Aktiopotentiaaleihin liittyvä luokittelutehtävä havainnollistuu kuvassa 13. Sen vasemmanpuoleinen osakuva näyttää differentiaalisen bipolaarisignaalin aktiopotentiaalien hajonnan 5 ms aikaikkunassa. Vaikka osa aktiopotentiaalikuvioista olisikin ollut osittain lomittuneita, hajonta oli luokittelututkimusta varten riittävän suuri.



KUVA 13. Aktiopotentiaalien muotojen hajonta differentiaalisella bipolaarisignaalilla (vasen, 1560 kpl) ja käännetyllä matriisisignaalilla (oikea, matriisisignaali (6,5), 1312 kpl) näytteestä Library3.

Koska ensimmäiseksi kombinatoriseksi luokittelumenetelmäksi oli valittu niistä tunnetuin, K-means, sopivinta klusterimäärää tuli hakea nimenomainen menetelmä huomioiden. funktio Matlab-ohjelmistossa evalclusters, joka tuottaa muutaman on tunnuslukuvaihtoehdon tulokset helposti käsiteltävässä muodossa. Valitettavasti se myös karsii monia vaihtoehtoja. Evalclusters-algoritmin k-means-funktio käyttää oletuksena eukleidisen etäisyysmitan neliötä (so. squared Euclidean). Vastaavasti wavelet-ryhmittelyä varten tarvittava linkitysfunktio käyttää vakiona eukleidisen mitan ja nk. wardluokittelumenetelmän (so. minimum variance algorithm) yhdistelmää. Tähän yhteyteen olisi haluttu enemmän vaihtoehtoja, mutta se olisi edellyttänyt yhä enemmän omatoimista algoritmikehitystä. Tämä päätettiin jättää, vaikka tunnuslukujen, klusterointimenetelmien ja mitta-aineiston optimaalisimman ratkaisun iterointi olisi voinut tuottaa hyvän tuloksen.



KUVA 14. Davies-Bouldin-indeksi 2,5 ms aikaikkunalle. Kuvassa kiinteä viiva ja alempi pisteviiva kuvaavat k-means-klusteroinnin indeksiä ryhmien määrän funktiona, edellinen puhtaille aktiopotentiaalien muodoille (1-D) ja jälkimmäinen mitatuille 2-D-muodoille. Ylin pisteviiva kuvaa Euclidean-metriikan ja ward-linkitysmenetelmän kombinaatiota.

Kuvassa 14 on esitetty Library 3-näytteen DB-indeksit käyttäen 2,5 ms eli 11 näytepisteen aikaikkunaa, tasan aktiopotentiaalin huipun molemmin puolin. Jos luokittelu tehtäisiin kmeans-klusteroinnilla ja sqeuclidean-etäisyysmitalla ottaen huomioon vain AP:n muoto, indeksi antaisi sopivimmaksi ryhmien määräksi 7 kappaletta. Tämän yhdistelmän osalta indeksi on varsin yksiselitteinen.

Kuvan 14 punainen eli keskimmäinen katkoviiva simuloi tilannetta, joka vastaa lähinnä fysiologista mittaustulosta. Näissä aktiopotentiaalit vaihtelevat kaksiulotteisesti. Kuten kuvasta nähdään optimaalisimman klusterimäärän määrittelystä tulee huomattavasti hankalampaa. Tämä "simulointi" ei vastaa aivan todellista mittaustulosta, mutta mallintaa hyvin tilannetta, jossa anturin kiinnitys, kudosten sähkönjohtavuus ja anturin paikka eivät pysy vakiona.

Kuvan 14 kolmas indeksikäyrä antaisi tuloksiksi 4, 5, 2 ja 3, tässä järjestyksessä. Myös ryhmien määrät 13, 11 ja 12 voisivat tulla kyseeseen. Koko indeksi oli yhtä poikkeusta lukuunottamatta korkeammalla tasolla kuin vastaava k-means-tulos. Yhdessä nämä voisivat viitata siihen, että Euclidean-etäisyysmitta ja ward-erottelu eivät ehkä olekaan kovin hyvä vaihtoehto.

menetelmään Ward-linkityksen soveltuvuutta voidaan johonkin toiseen verrata tarkastelemalla sitä esimerkiksi dendrogrammin avulla. Kuvassa 15 on kuvattuna ward- ja average-erottelut eukleidiseen etäisyysmittaan yhdistettynä. Vasemman puoleinen kuva on edellisen testin tutkimusaineiston klusterointi dendrogrammin muotoon kuvattuna. Oikealla olevassa kuvassa on vastaava aineiston puurakenne, kun aktiopotentiaalien luokittelu tehtiin erottelemalla klusterit niiden keskiarvon mukaan. Kuvassa vaaka-akselilla on ryhmänumerot ja pystyakselilla eukleidinen etäisyys. Pystyakselit on skaalattu. Dendrogrammeista voidaan havaita, että ward-linkitys venyttää puurakennetta etäisyysmitan suuntaan, kun taas average-erottelu madaltaa rakennetta. Ero on tässä aineistossa varsin selkeä. Matlab-ohjeisto (Matlab 2019) antaa ymmärtää, että mitä korkeampi on vaakaviivojen väli, sitä epäjohdonmukaisemmin linkki jakaa alapuolellaan olevan aineiston. Tämän perusteella matalampi puurakenne olisi parempi.



KUVA 15. Dendrogrammit eukleidisella etäisyysmitalla ja ward-erottelulla (vasen) sekä averageerottelulla (oikea). Ryhmittelyaineistona puhtaat aktiopotentiaalit Library3-näytteestä.

Dendrogrammin voidaan ajatella kuvaavan sitä, kuinka johdonmukaisesti etäisyysmitan ja erottelun yhdistelmä löytää luonnollisia eroja mitta-aineistosta. Onneksi dendrogrammille voidaan laskea nk. Spearmanin järjestyskorrelaatiokerroin, jolla visuaalinen informaatio saadaan numeeriseen muotoon. Kuvassa 16 on esitetty edellisten dendrogrammien sekä kolmen muun erottelumenetelmän Spearmanin korrelaatiotulokset, kaikki samasta aineistosta. Nämä kolme muuta ovat nk. lähimmän naapurin menetelmä (single), kaukaisimman naapurin menetelmä (complete) ja painotettu keskiarvo (weighted). Centroid- ja mediaani-linkityksiä ei tällä aineistolla voinut suoraan laskea. Tuloksista voidaan löytää selkeät erot average- ja ward-linkitysten väliltä. Average antaa korrelaatiokertoimeksi 0,72 ja ward 0,51. Tulosten perusteella, näiden aktiopotentiaalien hierakkiseen luokitteluun, Euclidean-etäisyysmitan paras kumppani olisi average-linkitys.

Spearman correlation





KUVA 16. Spearmanin järjestyskorrelaatiokertoimet näytteestä Library3 erotetuille puhtaille aktiopotentiaaleille eukleidisella etäisyysmitalla.



Spearman correlation

average method

KUVA 17. Spearmanin järjestyskorrelaatiokertoimet average-erottelumenetelmälle viidellä eri etäisyysmitalla.

ajettiin järjestyskorrelaatiofunktiot kaikista Näytteelle Spearmanin soveltuvista etäisyysmitan ja linkitysmenetelmän kombinaatioista (25 kpl). Kuvassa 17 on kuvattu korkeimmat korrelaatiokertoimet saaneen average-erottelumenetelmän tulokset viidellä etäisyysmitalla. Cosine-linkitys jätettiin pois kuvasta. Euclidean ja Minkowski saivat saman korrelaatiotuloksen, so. 0,7201.

Edellä esitettyjen, Davies-Bouldin-indeksien, dendrogrammien ja Spearmanin järjestyskorrelaatiotulosten, perusteella K-means-klusteroinnissa ryhmiä tulisi olla seitsemän ja wavelet-klusteroinnissa neljä. Nämä edellyttäen, että samassa yhteydessä luokittelu suoritettaisiin sqeuclidean-mitalla K-means-funktiossa ja wavelet-funktiossa euclidean+average-yhdistelmällä.

5.2 Jako muotojen mukaan

Edellisessä tutkimuksessä käytetty puhtaiden aktiopotentiaalien aineisto syötettiin Kmeans-, wavelet- ja K-medoids-luokittelufunktioihin. Kukin kolme menetelmää edellyttää, että ryhmien määrä on etukäteen määrätty. K-means- ja K-medoids-funtioihin syötettiin jako seitsemään ja db4-wavelet-klusterointialgoritmiin jako kolmeentoista. Wavelet-tuloksia simuloitiin huolellisesti ennen varsinaista testiajoa, myös eri etäisyysmitta/linkityskombinaatioilla ja erimuotoisilla aallokkeilla. Nämä osoittivat selvästi, että pienemmällä klusterimäärällä, huomattavan suuri osa aineistosta kerääntyy yhteen ryhmään. Tämä olisi ollut varsin vääristynyt tulos, koska simuloitujen signaalien voitiin olettaa edustavan useampia suuria ryhmiä yhden massiivisen sijaan. Päätettiin pyrkiä tasamääräisempiin klustereihin silläkin uhalla, että ne ovat vääriä.



KUVA 18. Aktiopotentiaalit (1676 kpl) jaoteltuina seitsemään ryhmään K-medoids-menetelmällä ja euclidian+average-kombinaatiolla.

Kuvassa 18 on kuvattuna aktiopotentiaalien muodot jaoteltuna seitsemään luokkaan Kmedoids-menetelmällä. Alakuvista voi nähdä, kuinka impulssien muodot jakaantuvat ryhmien välillä. Tämä kuvaustapa kertoo visuaalisesti siitä, onko jako looginen eli kuinka impulssin muoto ja amplitudi määrittelevät jaon.

Useiden testiajojen perusteella wavelet-funktioista ei löytynyt yhtään muista aallokkeista ja etäisyysmitta/linkitys-kombinaatioista positiivisessa mielessä muita parempaa menetelmää. Wavelet-klusterointi kerää huomattavan suuren osan aineistosta ensimmäiseen klusteriin. Edellä mainittujen perusteella wavelet ei menetelmänä sopisi klusterointimenetelmäksi tähän asiayhteyteen. Asia havainnollistuu kuvassa 19.



Clustering

KUVA 19. Aktiopotentiaalien jakautuminen eri luokittelumenetelmien mukaan (Library 3, puhtaat aktipotentiaalit 1676 kpl).

Kuvaan 19 on koottu vertailu mainitun kolmen luokittelumenetelmän tulosten kesken. Aineistona oli edelleen samat puhtaat aktiopotentiaalit kuin edellisissä testeissä. Muutaman testiajon perusteella voitiin todeta, että K-means ja K-medoids jakavat nämä aktiopotentiaalit varsin samantapaisesti. K-medoids näyttää tuottavan määrällisesti tasaisemman jaon, ainakin kohtuullisella määrällä iterointikierroksia. Tämä voisi viitata Kmeans-luokittelumenetelmää parempaan suoritukseen – perustellen asiaa sillä, että ei ole syytä epäillä, että motoristen yksiköiden syttymisissä olisi ollut määrällisesti kovin suuria eroja tässä nimenomaisessa simuloimalla tuotetussa aineistossa.

Jotta luokittelumenetelmien välille saatiin metriikkaa, päädyttiin tutkimaan muodostettuja ryhmiä keskiarvojen ja varianssien avulla (kuvat 20 ja 21). K-means rakentaa ryhmät klusterikeskipisteiden (so. centroid) ympärille näytteiden keskimääräisen erilaisuusmitan mukaan, iteroimalla klusterikeskipisteiden paikkoja. Iterointikierroksia voi olla jopa satoja. K-medoids puolestaan pyrkii suoraan ryhmiin, joiden sisällä on mahdollisimman pieni mediaani (Holopainen 2012, 14). Iterointikierroksia tarvitaan vain muutama, alle kymmenen. Menetelmäero voi selittää, miksi jälkimmäisen funktion ryhmäkoon vaihtelu vaikutti testiajoissa pienemmältä. K-means-funktiossa iterointikierroksia olisi oletettavasti tarvittu paljon enemmän alussa oletuksena ollut sata. Mitään tätä tukevaa tilastoa havainnoista ei kuitenkaan ole.



KUVA 20. Keskiarvot ryhmien sisällä K-means- ja K-medoids-luokittelumentelmillä (Library 3, puhtaat impulssit).

Luokittelumenetelmien eroja voidaan tarkastella myös ryhmien sisäisten hajontojen avulla. Sitä, kuinka tiiviitä ja siten samanmuotoisia havainnot ovat, voidaan tarkastella laskemalla kunkin ryhmän sisäiset varianssit. Kuvassa 21 on esitetty ryhmien sisäiset varianssit graafisesti. Tässä ryhmät on esitetty samassa, impulssien lukumäärään perustuvassa, järjestyksessä kuin edellisessä kuvassa. Yhtä ryhmää lukuunottamatta (so. numero 6) K-means-menetelmä näytti tuottavan huomattavasti tiiviimpiä tai vähintään yhtä tiiviitä ryhmiä kuin K-medoids-klusterointialgoritmi.



KUVA 21. Varianssit ryhmien sisällä K-means- ja K-medoids-luokittelumentelmillä (Library 3, puhtaat impulssit).

Menetelmien välille voidaan saada lisämetriikkaa tutkimalla, kuinka suuren eron menetelmä kykenee saamaan aikaan klusterikeskipisteiden välille ja kuinka tiiviitä ryhmiä klusterikeskipisteiden ympärille muodostuu. Klusterikeskipisteet ovat tässä yhteydessä impulssin muotoisia, ei pisteitä vaan käyriä. Yksi tapa kuvata ja verrata visuaalisesti, kuinka paljon klusterikeskipisteet eroavat toisistaan ja menetelmien välillä, on piirtää niistä nk. glyyfit. Näissä klusterikeskipiste kuvataan täyden 360 asteen ympyrän muodossa, jossa etäisyys origosta on ainoa muuttuja (kuva 22). Etäisyysmitat poikkesivat tässä aineistossa hyvin vähän toisistaan, joka näkyi siinäkin, että menetelmien väliltä oli vaikea todeta visuaalisia eroja glyyfien muodoissa. Glyyfien pinta-alat voidaan laskea integroimalla ja

todeta niiden avulla hajonta ryhmien välillä. Mitä suurempi hajonta, sitä suurempaan eroon menetelmä kykenee ryhmien välillä. Tätä laskentaa voidaan hieman yksinkertaistaa summaamalla yhteen glyyfien säteiden pituudet kussakin ryhmässä ja laskemalla näiden varianssit. K-means menetelmällä centroidien varianssiksi tuli 5,70·10^-4. K-medoids-menetelmällä medoidien varianssiksi tuli 6,66·10^-4. Ero on 17 prosenttia (K-means-varianssista laskettuna). Tämän perusteella K-medoids-luokittelumenetelmä kykeni muodostamaan selkeästi suuremman eron ryhmien välille, tällä aineistolla.





KUVA 22. Klusterikeskipisteiden glyyfit (Library 3, puhtaat impulssit).

Klusterikeskipisteiden ympärille muodostuvien ryhmien tiiviyttä on kuvattu graafissa 23. Numeerisesti kuvattuna K-means-ryhmien keskihajonta oli 2,80·10^-10 ja K-medoidsryhmien 2,11·10⁻¹⁰. Näiden ero on 25 % (K-means-keskihajonnasta laskettuna). Ero on tässä vähintään yhtä selkeä kuin klusterikeskipisteiden eroja tutkittaessa. Ryhmien sisäisten hajontatulosten mukaan K-medoids-luokittelumenetelmä kykeni tuottamaan tiiviimpiä ryhmiä klusterikeskipisteidensä ympärille kun K-means-menetelmä, tällä aineistolla.



KUVA 23. Ryhmän sisäiset hajonnat (Library 3, puhtaat impulssit).

Ryhmän tiiviys oli tässä esitetty kahdella tavalla: hajontana näytepisteiden välillä ja hajontana etäisyysmittojen summien välillä. Näytepisteiden hajontoja tarkastellen (kuva 23), K-means näytti tuottavan tiiviimpiä ryhmiä. Etäisyysmitoista tarkastellen, K-medoids-luokittelu tuotti paremman lopputuloksen.

5.3 Syttymisvälit

Purkausvälien vaihtelua voidaan havainnollistaa histogrammilla, jossa vaihtelu esitetään nk. tiheysjakaumana. Kuvissa 24 ja 25 on esitetty kahdeksan suurimman MUAP-jonon interdischarge intervallit (IDI:t, vanhempi nimitys ISI/inter-spike interval). Kuviin on liitetty tunnusluvut: keskiarvo, keskihajonta ja varianssi. Joku voi nyt huomauttaa, että





KUVA 24. Purkausvälien keskiarvot, keskihajonnat ja varianssit K-means-algoritmin tuottamissa MUAP-jonoissa (Library 3, 8 suurinta ryhmää). Pystyakselilla havaintojen määrä, vaaka-akselilla purkausvälit 3 ms leveissä "lokeroissa".



KUVA 25. Purkausvälien keskiarvot, keskihajonnat ja varianssit K-medoids-algoritmin tuottamissa

MUAP-jonoissa (Library 3, 8 suurinta ryhmää). Pystyakselilla havaintojen määrä, vaaka-akselilla purkausvälit 3 ms leveissä "lokeroissa".

Selkein ero menetelmien välillä oli, että K-means tuotti suurimpiin ryhmiin enemmän impulsseja pienemmillä aritmeettisilla keskiarvoilla ja suuremmilla variansseilla kuin Kmedoids. Ero on havaittavissa kuviin liitetyistä tunnusluvuista. Molemmat menetelmät tuottivat ryhmiä, joiden syttymisvälejä ei voinut pitää normaalijakutuneina vaan lähinnä eksponentiaalisesti jakautuneina. Tämä on nähtävissä jokaisen ryhmän histogrammissa. Myöskään syttymisvälien keskihajonnat eivät vastanneet (McGill & Marteb 2011) esittämää teoriaa. Keskihajonnat olivat kokoluokaltaan samansuuruisia vastaavan ryhmän keskiarvon kanssa.

Syttymisvälianalyysin perusteella menetelmiin ei löydetty suoraa paremmuusjärjestystä, mutta varianssitulosten voi tulkita viittaavan K-medoidsin parempaan soveltuvuuteen.

6 POHDINTA

Tutkimuksessa pyrittiin selvittämään, olisivatko jo pitkään käytössä olleet analogisen differentiaalisignaalin näytteenotto- ja digitaalimuunnosmenetelmät edelleen riittävät motoristen yksikköjen erotteluun. Tämä tutkimus antaa viitteitä siitä, että se voisi hyvin olla mahdollista. Motoriset yksiköt kyetään erottelemaan differentiaalisesta bipolaarisignaalista varsin toistettavasti. Tutkimuksen tulosten mukaan lupaavin menetelmä oli K-medoids-klusterointi neliöllisellä euklidisellä (Squared Euclidean) samankaltaisuusmitalla. Perinteisiä välimatka-asteikollisia muuttujia luonnehtivien tunnulukujen valossa mainittu menetelmä vaikuttaa varsin lupaavalta. Lisätutkimuksilla menetelmään voisi saada jopa numeeriset luotettavuusrajat – joka taas on yleisenä puutteena kaikissa tähän mennessä julkaistuissa tutkimuksissa.

Yrityksiä purkaa EMG-signaali erillisiin motorisiin yksiköihin on tehty harvakseltaan, mutta pitkään (mm. De Luca, Stashuk ja McGill jo 1970-luvulta lähtien). Luurankolihasten MUAP:ien matemaattisesta purkamisesta ovat olleet kiinnostuneita etenkin hermostollisten sairauksien tutkimusmenetelmistä kiinnostuneet henkilöt (viimeisimpinä mm. Dobrowolski, Wierzbowski & Tomczykiewicz 2012; Kalwa & Patil 2015). Tuoreimpina digitaalisen signaalinkäsittelyn ja algoritmikehityksen alustoina on esitetty hahmontunnistusta, erilaisia tilastollisia menetelmiä, keinoälyä, matriisilaskentaa, klusterointia (eli luokittelua), waveletmuunnoksia, ja ennen kaikkea näiden yhdistelmiä (mm. De Luca ym. 2006; Rasheed ym. 2007, 2008 ja 2010; Parsaei & Stashuk 2011 ja 2013; Dobrowolski ym. 2012; Kamali ym. 2014; Boschmann & Platzner 2014; Puttasakul 2014; Yousefi ym. 2015; Chen & Zhou 2016). Julkaisuja eri kehitysversioista on runsaasti. Luokittelu- ja todennäköisyysanalyysin yhdistelmä lähtee siitä olettamuksesta, että yksittäisen MUAP-jonon aktiopotentiaalien purkausvälit eli nk. syttymisvälit noudattavat (esimerkiksi) normaalijakauman mukaista tilastollista todennäköisyyttä. Toisin sanoen, pulssit esiintyvät jonoissaan kyseisen hajonnan mukaisin aikavälein. Kun kunkin jännitepurkauksen muodot ryhmitellään ja kytketään kunkin MUAP-jonon hajontaoletukseen, saadaan ainakin Rasheed, Stashuk & Kamelin (2010, 868) mukaan varsin "vakuuttavasti oikea" ryhmittelytulos. Luokittelumenetelmän (kmeans-algoritmin) ja todennäköisyysanalyysin (IDI-histogrammin (Inter-Discharge Interval)) yhdistelmästä ovat kirjoittaneet (Rasheed, S., Stashuk, D.W. & Kamel, M.S. 2007

ja 2010) ja (Parsaei, H. & Stashuk, D.W. 2012 ja 2013). Todennäköisyyksiin perustuvien intervallihistogrammien (IDI, ISI, IPI, ym.) hankaluutena on, että motoristen yksiköiden purkausvälit vaihtelevat yksiköstä toiseen. Pulssien väliset intervallit eivät ehkä tarkalleen ole samat SMUAP:sta toiseen (Rangayyan 2015, 398). Todennäköisyyslaskenta voi sekä kasvattaa virheitä että monimutkaistaa algoritmia. Tämä ja algoritmiltä vaadittu ns. ohjatun oppimisen toiminnallisuus voivat selittää sitä, miksi yleisesti hyväksyttyä purkumenetelmää ei edelleenkään tältä pohjalta ole.

Varsin tuore tutkimus pinta-EMG-matriisin ja fastICA:n yhdistelmästä on julkaistu tammikuussa 2016 (Chen & Zhou 2016). EMG:n dekompositioinnista julkaistuissa artikkeleissa pääkomponenttianalyysiä ovat hyödyntäneet ainakin (Parsaei & Stashuk 2011), (Puttasakul, Sangworasil & Matsuura 2014) ja (Kalwa & Patil 2015). Vuonna 2011 julkaistiin tutkimus Convolution Kernel Compensation (CKC) -menetelmän (Marateb ym. 2011) tulosten luotettavuudesta. Tässä tutkimuksessa Marateb, McGill, Holobar, Lateva, Mansourian ja Merletti olivat verranneet CKC-metodin ja interaktiivisen EMGlabmenetelmän dekompositioimien (so. hajottamien / purkamien / erottelemien) motoristen yksiköiden samanlaisuutta. CKC-algoritmin signaalinilmaisuun käytetään monikanavaista, pinta-antureista koostuvaa, suuritiheyksistä anturimatriisia (HDsEMG). Tutkimuksessa verrattiin CKC:n tuloksia intramuskulaaristen (iEMG) antureiden tuloksiin, viidellä koehenkilöllä, 10 sekunnin aikaikkunassa, isometrisessä lihastyössä. CKC kykeni ilmaisemaan 2...30 MUAP-jonoa kustakin suorituksesta. Kun näitä verrattiin 1...5 intramuskulaarisesti ilmaistuun MUAP-jonoon, saatiin tulokseksi 91,5±5,8 %:n vastaavuus purkausten määrissä ja niiden ajoituksissa. Erittelemättä mahdollisia virhelähteitä, tulosten vastaavuus 85,7...97,3 % on sentään jotain konkreettista. Kyseisestä tutkimuksesta yhtenä vertailukohtana mainittakoon, että yhden isometrisen 20 sekunnin suorituksen tulosten visuaalinen tarkastus ja editointi CKC-menetelmällä kesti 20±10 minuuttia ja EMGlabia käyttäen 10 tuntia, molemmat kokeneiden operaattoreiden suorittamina. Convolution Kernel Compensation-menetelmää on verrattu myös aiemmin mainittuun fastICA-algoritmiin (Chen ym. 2016). Molempien algoritmien yhteenlaskettu tunnistettujen motoristen yksikköjen määrä oli 1477. Näistä 969 oli sellaisia, jotka kumpikin menetelmä kykeni tunnistamaan. Kun näitä verrattiin, saatiin 97,85±1,85 % samanaikaista ajoitusta. Kustakin keskimäärin 10.6 ± 4.3 tunnistettua suorituksesta löytyi vhdessä MUAP-jonoa. Mittausanturina oli 64-kanavainen matriisianturi. Aikaikkuna vaihteli 3,2...11,2 sekunnin välillä.

Globaalin mittaustandardin kannalta tässä on liian vähän. Edes yhtenäistettyä validointimenetelmää ei ole olemassa. Tämä selittynee osaltaan sillä, että kullakin tutkijaryhmällä on omat tarpeensa. Joku uskoo lanka-anturiin, toinen monikanavamatriiseihin, kolmas pyrkii sälyttämään menetelmäänsä mahdollisimman tuoretta tietoa uusista mahdollisista ratkaisuista.

Tämän tutkielman tavoitteena on ollut haastaa jo esitetyt (yksikanavaiset, monikanavaiset, neula-anturi-, ohjatun oppimisen ja keinoälyn) menetelmät yrittämällä kehittää edullinen ja sujuva algoritmi, jolla motoristen yksiköiden tuottamat pulssijonot mitataan perinteisellä differentiaalisella bipolaarianturilla, ja josta eritellään yksittäiset MUAP-jonot, todennäköistä jatkoanalyysia varten.

Tutkimusaineistona oli viisi simuloitua monopolaarista 10x9-matriisianturisignaalia sekä niiden synnyttämiseen käytetyn 262 motorisen yksikön syttymisaikatiedot. Matriisisignaalit vastasivat HDsEMG-näytteenottoa isometrisessä 10% MVC-suorituksessa, mitattuna mainitulla suuritiheyksisellä matriisianturilla. Simuloinnissa oli pyritty tuottamaan häiriöttömät, luonnollista anatomiaa (Farina ym. 2004), rekrytointijärjestyksiä ja syttymistiheyksiä (Fuglevand ym. 1993) vastaavat matriisisignaalit.

Neula-, matriisidifferentiaalinen lanka-, ja bipolaarianturi ilmaisevat jännitekäyttäytymiseltään hieman erimuotoisia impulsseja. Lihas- ja hermosolukalvon yli vallitsee sähköjännitepotentiaali. Se muodostaa ympärilleen sähkökentän. EMGmittauksissa on se hankaluus, että emme voi mitata absoluuttista jännitettä, koska emme voi asettaa jokaisen mitattavan lihas- ja hermosolun sisä- ja ulkopuolille jännitettä mittaavia antureita. Näin ollen, emme kykene mittaamaan suoraan jännitettä vaan ilmaisemme ainoastaan sähkökentissä tapahtuvat muutokset. Sähkökentät ovat jatkuvassa superpositiossa ja niiden summa on erilainen riippuen siitä, missä avaruudellisessa kohtaa sitä tarkastelee. Mittausteknisesti sähkökentät summautuvat mitta-anturissa. Riippuen siitä, millaisella anturilla EMG ilmaistaan, tämä näkyy superposition tuloksena. Erilaisilla anturirakenteilla mitattuja signaaleja ei voi suoraan verrata keskenään. Menetelmänä sEMG rajaa anturin herkkyyden sopivaan jolloin sähkökenttien määrään samanaikaisia yksiköitä,

summautuminen ei aiheuta tältä osin kohtuuttomasti tulkintaongelmia.

Myös anturin ja siihen liitetyn jännite/virtavahvistimen yhdistelmän toteutus vaikuttaa siihen, millaiselta signaali kulloinkin näyttää. Lanka-anturi antaa taatusti erinäköisen tuloksen kuin matriisianturi. Vastaavasti matriisianturi ja differentiaalinen bipolaarianturi ilmaisevat sähkökenttien summautumiset aivan eri tavoin. Simuloiduista matriisignaaleista "mitatut" tulokset ovat aivan yhtä oikein riippumatta siitä, analysoidaanko signaalit matriisianturia vaiko differentiaalista bipolaarianturia vastaavalla järjestelyllä. Toki matriisianturin ja differentiaalisen bipolaarianturin välille on mahdollista laatia siirtofunktio, konvoluutiosuodatin, matemaattinen malli, joka huomioi sekä ilmaisimen fyysiset mitat että signaalien summautumiset.

Kun EMG-signaalia tarkastellaan ajan funktiona, siinä on huomattavan paljon epäjatkuvuuksia ja sinisignaaliin nähden epäsäännöllisyyksiä. Tämä koskee paitsi EMGsignaalia kokonaisuudessaan myös yksittäisiä aktiopotentiaaleja. Myös satunnaiset häiriöt häiritsevät tulosten tulkintaa, sotkemalla EMG-signaalin sisältöä. Usean motorisen yksikön aktivoituessa samanaikaisesti. lomittumiset luovat aktiopotentiaaleihin hankalia epäjatkuvuuksia. Nämä kaikki näkyvät taajuusvasteen levenemisenä taajuuskomponenttien ja näiden sekoitustulosten ympärillä. Fourier-muunnoksen teoriaa mukaellen, mitä säännönmukaisempi ja mitä vähemmän epäjatkuvuuksia signaalissa on, sitä puhtaampi on signaalin taajuusvaste. Tutkielmassa tarkasteltiin alustavasti myös EMG-signaalin analysointia autokorrelaatiofunktion avulla. Menetelmä vaikutti vähemmän kohinaherkältä ja siinä mielessä selektiivisemmältä kuin Fourier-muunnokset ainakin päätaajuuskomponentin lähiympäristössä. Tutkimuksen perusteella voitiin ajatella, että autokorrelaatio voisi hyvinkin olla käyttökelpoinen tapa kuvata EMG-signaalia. Tälle löytyy myös matemaattista perustelua. Autokorrelaatiofuntion ja Fourier-muunnoksen väliltä löytyy selkeä kytkös, nk Wiener-Khinchin-teoreema. Tehospektri on (yleistäen) autokorrelaatiofunktion Fourier-muunnos & Farina 2016. (Merletti 367). Otosautokorrelaatio voisi helpottaa jopa dynaamisten suoritusten eri vaiheiden kuvaamista. Eräs varsin luonteva tutkimuskohde olisi nk. Piper-rytmin synnyttämä aaltoileva jaksollisuus (kts. esim. von Tscharner 2019, 345). Nämä ovat luonnollisesti pohdintaa ja vaatisivat lisätutkimuksia.

Matemaattisten luokittelumenetelmien käyttöönoton hankaluus on siinä, että algoritmin kehittäjän tulee päättää klustereiden määrä etukäteen, jos ei nyt aivan suoraan niin sopivien apukeinojen avulla. Tutkijan tulee tuntea tutkittava aineisto varsin hyvin ja käyttää apunaan kyseiseen aineistoyhteyteen soveltuvia tunnuslukuja. Tehtävä ei ole helppo. Joku tunnusluku voi olla käyttökelpoinen tässä nimenomaisessa asiayhteydessä, tai sitten ei. Tutkielmassa päädyttiin ratkaisemaan klusterien määrä muutaman apukeinon (Davies-Bouldin-indeksien, dendrogrammien ja Spearmanin järjestyskorrelaatiotulosten) sekä intuition perusteella. Tähän nimenomaiseen asiayhteyteen ei valitettavasti löytynyt mitään sopivaa tieteellistä taustaa. Tässä tutkimuksessa olisi haluttu kokeilla enemmän tunnuslukuvaihtoehtoja, mutta se olisi edellyttänyt yhä enemmän omatoimista algoritmikehitystä. Nämä täytyy jättää mahdollisten lisätutkimusten varaan.

Tässä tutkielmassa pystyttiin löytämään metriikkaa tutkittavien klusterointimenetelmien välille. Wavelet-klusterointi putosi pois tutkimuksesta varsin varhaisessa vaiheessa. Samoin kävi monille aineistoa jakaville etäisyysmittavaihtoehdoille. Varsin tärkeäksi koettiin, miten suuren eron luokittelumenetelmä kykenee saamaan aikaan klusterikeskipisteiden välille ja kuinka tiiviitä ryhmiä klusterikeskipisteiden ympärille muodostuu. Klusterikeskipisteet olivat aktiopotentiaali-impulssien muotoisia, ei yksittäisiä koordinaatiston pisteitä vaan käyriä. Ryhmän tiiviyttä tutkittiin kahdella tavalla: hajontana näytepisteiden välillä ja hajontana etäisyysmittojen summien välillä. Tuloksissa nämä antoivat kaksi erilaista tulkintavaihtoehtoa. K-medoids-luokittelu oli parempi, kun tarkasteltiin menetelmiä etäisyysmittojen avulla. Samoin K-medoids tuotti suuremmat erot ryhmien välille, edelleen etäisyysmittojen mukaan tarkasteltuna. Syttymisvälianalyysin perusteella menetelmiin ei löydetty suoraa paremmuusjärjestystä, mutta varianssitulokset viittaavat K-medoids-menetelmän parempaan suorituskykyyn.

Vuonna 1969 julkaistun Clamannin artikkelin (1969) mukaan aktiopotentiaalien syttymisvälit noudattavat normaalijakaumaa 99 % luotettavuusrajoilla kunkin motorisen yksikön sisällä. Tuoreemmassa tutkimuksessa McGill ja Marteb (2011) toteavat vakiokuormituksessa olevan lihaksen MUAP-jonojen syttymisvälien muodostavan hyvin lähellä normaalijakaumaa olevan todennäköisyysjakauman, joissa keskihajonta olisi noin 10...25 % aritmeettisesta keskiarvosta. Tämän tutkielman tutkimusaineistona olleista simuloiduista signaaleissa ei vastaavia tuloksia löytynyt. Syttymisvälit eivät olleet

normaalijakautuneita. Niiden keskipoikkema oli toistuvasti samaa kokoluokkaa kuin ryhmän keskiarvo, riippumatta ryhmien lukumäärästä. Varsin todennäköinen selitys löytynee simuloidun signaalin ja differentiaalisen bipolaarisignaalin yhteensopimattomuudesta. Hieman tarkemmin, että matriisianturin keskelle syotetyt APaallot osuvat molempiin bipolaarisiin antureihin yhtäaikaa eikä differentiaalia synny - mutta tämän lopullinen todentaminen vaatisi jatkotutkimusta.

syttymisvälianalyysissä K-means-Tutkielman ja K-medoids-luokittelumenetelmien muodostamien impulssijonojen välisiä samankaltaisuuksia tutkittaessa nojauduttiin lähteeseen (Mellin 2006, 246). Purkausvälejä tarkasteltiin (normaalijakauman sijaan) kolmella parametrillä: sijaintia aritmeettisilla keskiarvoilla, hajaantuneisuutta keskihajonnoilla ja ryhmien lineaarista riippuvuutta otoskorrelaatiokertoimilla. Selkein ero luokittelumenetelmien välillä oli, että K-means tuotti suurimpiin ryhmiin enemmän impulsseja pienemmillä aritmeettisilla keskiarvoilla ja suuremmilla variansseilla kuin Kmedoids. McGill ja Marteb (2011) -tutkimustuloksen perusteella menetelmien välille ei voinut asettaa paremmuusjärjestystä. Sen sijaan K-medoids-menetelmän voi tulkita soveltuvammaksi tähän aineistoon varianssitulosten perusteella.

Lopuksi algoritmin suoritusajasta, vertailukohdaksi muihin menetelmiin. Jos jätetään luokittelumenetelmien eroja vertailevat funktiot pois niin tämän tutkielman yhteydessä toteutettu algoritmi suoriutui kaikista tehtävistään automaattisesti 28 sekunnissa.

7 JOHTOPÄÄTÖKSET

Differentiaalisen bipolaarisignaalin luokittelumenetelmiä (MATlab-funtiot: k-means, kmedoids ja wavelet) tarkasteltiin monesta näkökulmasta. Klusterointifunktioiden ja niissä käytettyjen etäisyysmittojen väliltä etsittiin parhaiten aineistoon soveltuvin yhdistelmä. Wavelet-klusterointimenetelmistä tutkittiin db2- ja Haar-muotoisten skaalaussuodattimien käyttöä, eri etäisyysmitoilla ja skaalaustasoilla. K-means- ja K-medoids-funktioiden ja niiden yhteydessä käytettyjen etäisyysmittojen kombinaatioista määriteltiin korrelaatiot, luokittelumentelmien erottelemien motoristen yksiköiden välillä. MUAP-jonojen syttymissvälejä tarkasteltiin (normaalijakauman sijaan) kolmella parametrillä: sijaintia aritmeettisilla keskiarvoilla, hajaantuneisuutta keskihajonnoilla ja ryhmien lineaarista riippuvuutta otoskorrelaatiokertoimilla.

Varsin tärkeäksi koettiin, miten suuren eron luokittelumenetelmä kykenee saamaan aikaan klusterikeskipisteiden välille ja kuinka tiiviitä ryhmiä klusterikeskipisteiden ympärille muodostuu. Klusterikeskipisteet olivat aktiopotentiaali-impulssien muotoisia, ei yksittäisiä koordinaatiston pisteitä vaan käyriä. Ryhmän tiiviyttä tutkittiin kahdella tavalla: hajontana näytepisteiden välillä ja hajontana etäisyysmittojen summien välillä. K-medoids-luokittelu oli parempi, kun tarkasteltiin menetelmiä etäisyysmittojen avulla. Samoin K-medoids tuotti suuremmat erot ryhmien välille, edelleen etäisyysmittojen mukaan tarkasteltuna. Syttymisvälianalyysin perusteella menetelmiin ei löydetty suoraa paremmuusjärjestystä, mutta varianssitulokset viittaavat K-medoids-menetelmän parempaan suorituskykyyn. Tutkielman tulosten perusteella lupaavin tutkituista menetelmistä oli siten K-medoids-klusterointi neliöllisellä eukleidisellä (Squared Euclidean) samankaltaisuusmitalla.

Kaikki tutkittavat luokittelumenetelmät löytyvät, yksityiskohtaisine algoritmin toteutuksen kuvauksineen ja tieteelle kuvattuine aineistoineen, valmiina funktioina MATlab-ohjelmiston kirjastosta.

8 LÄHTEET

- Andersen, O.S. & Koeppe, R.E. 2007. Bilayer thickness and membrane protein function: an energetic perspective, Annual review of biophysics and molecular structure, volume 36, 107-130.
- Anglin, T.C. & Conboy, J.C. 2008. Lateral pressure dependence of the phospholipid transmembrane diffusion rate in planar-supported lipid bilayers, Biophysical journal, volume 95, 186-193.
- Boschmann, A. & Platzner, M. 2014. Towards robust HD EMG pattern recognition: Reducing electrode displacement effect using structural similarity, Conference proceedings : ... Annual international conference of the IEEE engineering in medicine and biology society, 4547-4550.
- Camougis, G. 1970. Nerves, muscles, and electricity: An introductory manual of electrophysiology, Meredith corporation, USA.
- Chen, M., Holobar, A., Zhang, X. & Zhou, P. 2016. Progressive FastICA Peel-Off and Convolution Kernel Compensation Demonstrate High Agreement for High Density Surface EMG Decomposition, Neural Plasticity, vol. 2016, article ID 3489540, 1-5.
- Chen, M. & Zhou, P. 2016. A novel framework based on fastICA for high density surface EMG decomposition, IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering, vol. 24, no. 1, 117-127.
- Chowdhury, R.H., Mamun, B.I.R., Alauddin Bin Mohd Ali, M., Bakar, A.A.A., Chellappan, K. & Chang, T.G. 2013. Surface electromyography signal processing and classification techniques, Sensors (Open Access <u>www.mdpi.com/journal/sensors</u>), vol. 13, 12431-12466.
- Clamann, H.P. 1969. Statistical analysis of motor unit firing patterns in a human skeletal muscle, Biophysical Journal, volume 9, issue 10, 1233-1251.
- Cram, J.R. & Kasman, G.S. 2011. Part I The basics of surface electromyography. Teoksessa Criswell E. (ed.) Cram's introduction to surface myography, 2nd edition, Jones and Bartlett Publishers, USA, 1-172.
- Dai, C., Christie, A., Bonato, P., McGill, K.C. & Clancy, E.A. 2015. Cross-comparison of three electromyogram decomposition algorithms assessed with experimental and simulated data, IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering,

volume 23, number 1, 32-40.

- De Luca, D.J., Adam, A., Wotiz, R., Gilmore, D. & Nawab, S.H. 2006. Decomposition of surface EMG signals, Journal of neurophysiology, volume 96, 1646-1657.
- Dimitrova, N.A. & Dimitrov, G.V. 2006. Electromyography (EMG) modelling. Teoksessa Metin Akay (ed.) Wiley encyclopedia of biomedical engineering, John Wiley & Sons Inc, USA, 1397-1415.
- Dobrowolski, A.P., Wierzbowski, M. & Tomczykiewicz, K. 2012. Multiresolution MUAPs decomposition and SMV-based analysis in the classification of neuromuscular disorders, Computer methods and programs in biomedicine, volume 107, 393-403.
- Enoka, R.E. 2008. Neuromechanics of human movement, 4th edition, Human Kinetics, USA, 171-302.
- Farina, D. & Enoka, R.M. 2011. Surface EMG decomposition requires an appropriate validation, Journal of neurophysiology, volume 105, 981-982.
- Farina, D. & Enoka, R.M. 2015. Reply to De Luca, Nawad, and Kline: the proposed method to validate surface EMG signal decomposition remains problematic, Journal on applied physiology, volume 118, 1085.
- Farina, D., Mesin, L., Martina, S. & Merletti, R. 2004. A surface EMG generation model with multilayer cylindrical description of the volume conductor, IEEE transactions on biomedical engineering, volume 51, number 3, 415–26.
- Farina, D. & Negro, F. 2015. Common synaptic input to motor neurons, motor unit synchronization, and force control, Exercise Sport Sciences Reviews, volume 43, 23– 33.
- Fraden, J. 2004. Handbook of modern sensors: physics, designs and applications, 3rd edition, Springer-Verlag, USA, 37-122.
- Fuglevand, A.J., Winter, D.A. & Patla, A.E. 1993. Models of recruitment and rate coding organization in motor-unit pools, Journal of Neurophysiology, volume 70, number 6, 2470–2488.
- Garcia-Manyes, S., Oncins, G. & Sanz, F. 2005. Effect of temperature on the nanomechanics of lipid bilayers studied by force spectroscopy, Biophysical journal, volume 89, 4261-4274.
- Gerami, R. & Bruinsma, R.F. 2009. Continuum theory of lipid bilayer electrostatics, the European journal of physics, edition 30, 197-204.
- Henneman, E., Somjen, G. & Carpenter, D.O. 1965. Functional significance of cell size in

spinal motoneurons, Journal of neurophysiology, volume 28, 560-580.

- Henneman, E., Somjen, G. & Carpenter, D.O. 1965. Relations between structure and function in the design of skeletal muscles, Journal of neurophysiology, volume 28, 581-598.
- Henneman, E., Somjen, G. & Carpenter, D.O. 1965. Excitability and inhibitibility of motoneurons of different sizes, Journal of neurophysiology, volume 28, 599-620.
- Hodgkin A. L. 1948. The local electric changes associated with repetitive action in a nonmodulated axon, Journal of physiology, volume 107, 165–181.
- Hodgkin, A.L. & Huxley, A.F. 1952. Currents carried by sodium and potassium ions through the membrane of the giant axon of lodigo, Journal of physiology, edition 116, 449-472.
- Hodgkin, A.L. & Huxley, A.F. 1952. Measurements of current-voltage relations in the membrane of the giant axon of lodigo, Journal of physiology, edition 116, 424-448.
- Hodgkin, A.L. & Huxley, A.F. 1952. A quantitative description of membrane current and its application to conduction and excitation in nerve, Journal of physiology, edition 117, 500-544.
- Hodgkin, A.L. & Huxley, A.F. 1952. The components of membrane conductance in the giant axon of lodigo, Journal of physiology, edition 116, 473-496.
- Holobar, A. & Zazula, D. 2008. On the selection of the cost function for gradient-based decomposition of surface electromyograms, 30th Annual International IEEE EMBS Conference, 4668-4671.
- Holopainen, T. 2012. Klusterointi hierakkisilla ja kombinatorisilla menetelmillä sovelluksena tilastomenetelmien peruskurssiaineisto. Pro gradu-tutkielma. Jyväskylän yliopisto, Matematiikan ja tilastotieteen laitos, 1-58.
- Iberri, D. 2007. Schematic of an action potential. <u>https://en.wikibooks.org/wiki/Sensory_Systems/Computer_Models/NeuralSimulation</u>. 7.4.2016.
- Ilmoniemi, R. Aivojen rakenne ja toiminta [Kurssisivut]. Helsingin yliopistollinen keskussairaala. BioMag-laboratorio. <u>http://www.biomag.hus.fi/braincourse/L3.html</u>. 1.6.2016.
- Izhikevich, E.M. 1999. Neural excitability, spiking and bursting, International journal of bifurcation and chaos, volume 10, 1171-1266.

Izhikevich, E.M. & FitzHugh, R. 2006. FitzHugh-Nagumo model.

Doi:10.4249/scholarpedia.1349. 7.11.2016.

- Jauhiainen, J. 2006. TL908Z Signaaliteoria, osa IV. Opetusmateriaali, Oulun seudun ammattikorkeakoulu, Tekniikan yksikkö, 56-73.
- Kallio, J. 2013. Motor unit activation and spinal excitability in young and elderly males during isometric and dynamic muscle actions. Ph.D. Thesis. University of Jyväskylä. Studies in Sport, Physical Education and Health 189. ISSN 0356-1070.
- Kalwa, S. & Patil, H.T. 2015. Neuromuscular disease classification by wavelet decomposition technique, IEEE ICCSP 2015 conference, 0602-0606.
- Kamali, T., Boostani, R. & Parsaei, H. 2014. A multi-classifier approach to MUAP classification for diagnosis of neuromuscular disorders, IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering, volume 22, nro 1, 191-200.
- Kamen, G & Gabriel, D.A. 2010. Essentials of electromyography, 1st edition, Human kinetics, USA, 1-228.
- Karam, D.W. 2012. Neuroscience: A Medical student's quide, Trafford publishing, USA, 67-82.
- Knight, C.A. & Kamen, G. 2005. Superficial motor units are larger than deeper motor units in human vastus lateralis muscle, Muscle nerve, volume 31, 475-480.
- Kährä, P. 2009. Luento 4: Menetelmiä SNR:n parantamiseksi, Electronics reseach laboratory, University of Helsinki, <u>http://electronics.physics.helsinki.fi/wp-</u> <u>content/uploads/2011/02/signaalikohinasuhteen parantaminen.pdf</u>. 14.12.2016.
- Mahdavi, F.A., Ahmad, S.A., Marhaban, M.H. & Akbarzadeh-T, M.-R. 2013. The utility of wavelet transform in surface electromyography feature extraction - a comparative study of different mother wavelets, International journal of biomedical and biological engineering, volume 7, nro 2, 107-112.
- Malmivuo, J. & Plonsey, R.. Web version of the book: Bioelectromagnetism Principles and applications of bioelectric and biomagnetic fields, Oxford University Press, New York, 1995. <u>http://www.bem.fi/book/</u>. 24.7.2015.
- Marateb, H.R., McGill, K.C., Holobar, A., Lateva, Z.C., Mansourian, M & Merletti, R. 2011. Accuracy assessment of CKC high-density surface EMG decomposition in biceps femoris muscle, Journal of neural engineering, volume 8(6): 066002. Published online 2011 Oct 6. doi: 10.1088/1741-2560/8/6/066002.
- Martin-Gonzales, J.M. & Garcia-Manso, J.M. 2012. Wavelet transforms in sport: Application to biological time series. Teoksessa Baleanu, D. (ed.) Wavelet transforms

and their recent applications in biology and geoscience, InTech, Kroatia, 93-102.

Matlab 2019. Matlab R2019a, Hierarchical clustering.

https://se.mathworks.com/help/stats/hierarchical-clustering.html. 1.5.2019.

- Maurer, C., von Tscharner, V. & Nigg, B.M. 2013. Speed-dependent variation in the Piper rhythm, Journal of Electromyography and Kinesiology, volume 23, 673–678.
- McGill, K.C., Lateva, Z.C. & Marateb, H.R. 2005. EMGLAB: An interactive EMG decomposition program, Journal of Neuroscience Methods, volume 149, 121–133.
- McGill, K.C. & Marateb, H.R. 2011.Rigorous a Posteriori Assessment of Accuracy in EMG Decomposition, IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering, volume 19, 54-63.
- Mellin, I. 2006. Tilastolliset menetelmät: Lineaarinen regressioanalyysi, Teknillinen korkeakoulu, Espoo, Suomi, 231-433.
- Merletti, R. & Farina, D. 2016. Surface Electromyography: Physiology, Engineering, and Applications, 1st edition, IEEE Press series in biomedical engineering, John Wiley & Sons Inc., USA, 1-593.
- Merletti, R. 2012. Part I. Teoksessa Barbero, M., Merletti, R., Rainoldi, A. Atlas of muscle innervation zones, Springer-Verlag, Italia, 1-79.
- Molleman, A. 2003. Patch Clamping. John Wiley & Sons, England, 5-42.
- Moritani, T., Stegeman, D. & Merletti R. 2004. Part I: Basic physiology and biophysics of EMG signal generation. Teoksessa Merletti, R. & Parker, P. Electromyography: physiology, engineering, and noninvasive applications, Institute for Electrical and Electronics Engineers Inc., Wiley-IEEE Press, USA, 1-25.
- Murray-Smith, D.J. 2006. Neuromuscular systems. Teoksessa Metin Akay (ed.) Wiley encyclopedia of biomedical engineering, John Wiley & Sons Inc, USA, 2580-2589.

Myers, R. 2006. The basics of physics, 1st edition, Greenwood press, USA, 229-254.

Nambur, P. 2015. Simulating neural spike trains.

https://praneethnamburi.wordpress.com/2015/02/05/simulating-neural-spike-trains/. 2.1.2018.

- Naumowicz, M. & Figaszewski, Z.A. 2014. The effect of pH on the electrical capacitance of phosphatidylcholine-phosphatidylserine system in bilayer lipid membrane, Journal of membrane biology, 247:361-369.
- Niebur, E. 2008. Electrical properties of cell membranes. Scholarpedia, 3(6):7166. 22.3.2016.

- Nienstedt, W., Hänninen, O., Arstila, A. & Björkqvist, S-E, 2009. Ihmisen fysiologia ja anatomia, 18th edition, Werner Söderström Oy, Finland, 68-69.
- Parsaei, H. & Stashuk , D.W. 2011. Adaptive motor unit potential train validation using MUP shape information, Medical engineering and physics, volume 33, 581-589.
- Parsaei, H. & Stashuk , D.W. 2012. Motor unit potential train validation and its application in EMG signal decomposition. Teoksessa Naik, G.R. (ed.) Applied Biological Engineering – Principles and Practise, InTeOp, 321-346.
- Parsaei, H. & Stashuk , D.W. 2013. EMG signal decomposition using motor unit potential train validity, IEEE transactions on neural systems and rehabilitation engineering, volume 21, nro 2, 265-274.
- Puttasakul, T., Sangworasil, M. & Matsuura, T. 2014. Feature extraction of wavelet transform coefficients for sEMG classification, the 7th 2014 biomedical engineering international conference, Fukuoka, 1-4.
- Rangayyan, R.M. 2015. Biomedical signal analysis, 2nd edition, IEEE Press, John Wiley & Sons Inc, USA, 1-672.
- Rasheed; S., Stashuk, D.W. & Kamel, M.S. 2007. A hybrid classifier fusion approach for motor unit potential classification during EMG signal decomposition, IEEE Trans actions Biomedical Engineering, volume 54, nro 9, 1715-1721.
- Rasheed; S., Stashuk, D.W. & Kamel, M.S. 2008. Fusion of multiple classifiers for motor unit potential sorting, Biomedical signal processing and control, nro 3, 229-243.
- Rasheed; S., Stashuk, D.W. & Kamel, M.S. 2010. Integrating heterogeneous classifier ensembles for EMG signal decomposition based on classifier agreement. IEEE Trans Inf Technol Biomed, volume 14, nro 3, 866-882.
- Shapiro, N. 2009. Motor Unit Recruitment Strategies During Deep Muscle Pain. <u>https://natchem.wordpress.com/2009/11/23/motor-unit-recruitment-strategies-during-deep-muscle-pain/</u>. 28.3.2016.

Skinner, F.K. 2006. Conductance-based models. Doi:10.4249/scholarpedia.1408. 7.11.2016.

- Towe, B.C. 2003. Part IV Bioelectricity. Teoksessa Kutz, M. (ed.) Standard Handbook of Biomedical Engineering and Design, McGraw-Hill, USA, 374-421.
- von Tscharner, Vinzenz 2019. A model computation of how synchronization and clustering of motor unit action potentials alter the power spectra of electromyograms, Biomedical signal processing and control, volume 47, 344-349.

Valens, C. 1999. A really friendly guide to wavelets.

http://agl.cs.unm.edu/~williams/cs530/arfgtw.pdf. 7.12.2016.

- Wallisch, P., Lusignan, M.E., Benayoun, M.D., Baker, T.I., Dickey, A.S. & Hatsopoulos, N.G. 2014. Matlab for neuroscientists, 2nd edition, Academic press, USA, 1-550.
- Veer, K. & Agarwal, R. 2015. Wavelet and short-time Fourier transform comparison-based analysis of myoelectric signals, Journal of Applied Statistics, volume 42, nro 7, 1591-1601. http://dx.doi.org/10.1080/02664763.2014.1001728.
- Wikipedia 2016. Muscle tissue. https://en.wikipedia.org/wiki/Muscle_tissue. 22.3.2016.
- Wood, A.W. 2012. Physiology, biophysics, and biomedical engineering, CRC press, USA, 1-736.
- Yousefi, H., Nabi, F. & Askari, S. 2015. Fuzzy clustering and feature selection analysis toward improved identification of MUAP in needle EMG signal, the 22nd Iranian conference on biomedical engineering (ICBME), Tehran, 172-177.