

# **HERMON ÄRTYVYYDEN MÄÄRITTÄMINEN THRESHOLD TRACKING - MENETELMÄLLÄ**

LuK-tutkielma

Tuukka Partanen  
LuK-tutkielma  
Syksy 2023  
Fysiikan tutkinto-ohjelma  
Oulun Yliopisto

# SISÄLLYS

1	JOHDANTO .....	2
2	HERMOSOLUN BIOFYYSIIKKA .....	3
	2.1 Sensorinen neuroni.....	3
	2.2 Motorinen neuroni ja motorinen yksikkö .....	4
	2.3 Solukalvon rakenne.....	5
3	POTENTIAALIN MUODOSTUMINEN.....	7
	3.1 Ionikanavat.....	7
	3.2 Aktiopotentiali .....	8
4	POTENTIAALIEN MITTAAMINEN NONINVASIIVISESTI .....	11
	4.1 Mittauslaitteisto.....	11
	4.2 Mittauselektrodit .....	11
	4.3 Hermon stimulointi ja potentiaalın havaitseminen .....	11
5	THRESHOLD TRACKING -MENETELMÄ .....	13
	5.1 Mittauslaitteisto.....	13
	5.2 Toimintaperiaate .....	14
	5.3 Mittauskonfiguraatioita.....	15
6	YHTEENVETO.....	18
	LÄHTEET.....	19

# 1 JOHDANTO

Neurofysiologisilla tutkimuksilla saadaan tietoa hermoston toiminnasta. Tietoa voidaan saada neuronien ionikanavien toiminnasta ja kalvopotentiaaleista (1). Tyypillisimpiä kliinisiä neurofysiologisia tutkimuksia ovat esimerkiksi hermoratatutkimus eli elektroneuromyografia (ENMG), jossa tutkitaan ääreishermostojen ja lihasten toimintaa sekä aivosähkökäyrä eli elektroencefalografia (EEG), jossa tutkitaan aivojen sähköistä toimintaa. Näiden lisäksi on kehitelty monia erilaisia menetelmiä ja tutkimuksia, joita voidaan käyttää kliinisen neurofysiologian tutkimuksissa. Esimerkiksi herätevastetutkimuksissa tutkitaan ärsykkeiden tuottamia vasteita motorisissa tai sensorisissa neuroneissa. Yleensä kliinisten neurofysiologisten mittausten avulla saadaan tietoa hermostojen johtumisnopeuksista ja hermostojen eristekerroksesta, myeliinikuoresta, muttei niinkään tietoa hermosolukalvojen ominaisuuksista. Yksi vähemmän tunnettu menetelmä on threshold tracking (suom. ärtyvyyskynnysmittaus), jolla saadaan enemmän tietoa solukalvojen ominaisuuksista, erityisesti solukalvojen aktivaatioherkyyksistä.

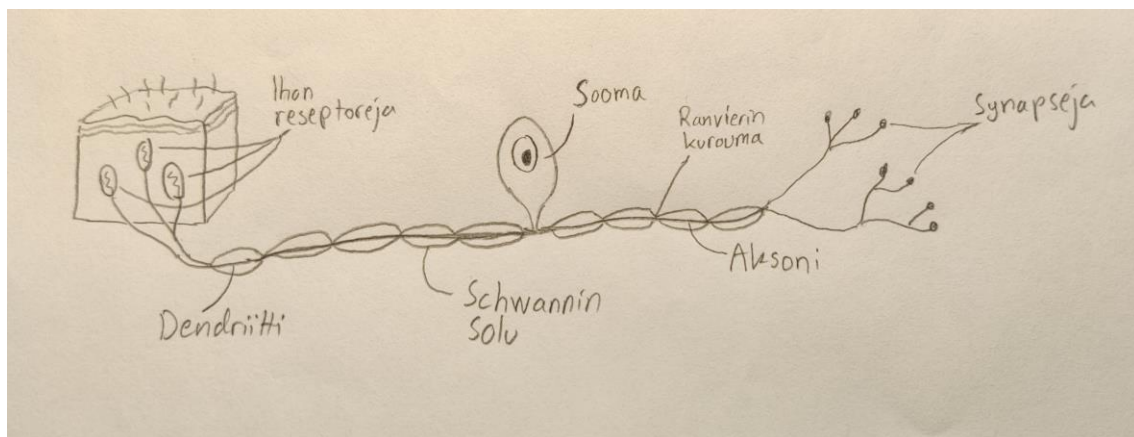
Toisin sanoen threshold tracking -menetelmällä voidaan noninvasiivisesti sekä paikallisesti tutkia mahdollisia hermoston solukalvopotentiaalimuutoksia, jotka indikoivat yleensä muutoksia hermoston solukalvon ionikanavien toiminnassa. (2)

Solukalvon mittaamisen haasteena on ollut yksittäisen toiminnallisen yksikön eristäminen ja sen mittaaminen elektrodeilla noninvasiivisesti. Ratkaisuna tähän threshold tracking -menetelmässä hyödynnetään summa-aktiopotentiaalin (compound action potential, CAP) aktivaatioherkyyttä. Se käyttäytyy samalla tavalla kuin yksittäisen toiminnallisen yksikön, aksonin, tuottaman aktiopotentiaalin aktivaatioherkkyys. Menetelmän avulla voidaan määrittää ärtyvyyskynnysarvot sekä motorisille että sensorisille hermoille. Menetelmällä voidaan havaita eroja hermoston toiminnassa normaalin ihmisen ja esimerkiksi neuropatiasta kärsivän ihmisen välillä. (2)

## 2 HERMOSOLUN BIOFYSIKKA

Hermokudos koostuu hermosoluista eli neuroneista ja hermotukisoluista eli gliasoluista. Hermosolujen jatkeet eli hermosyyt/viejähaarakkeet ovat usein kimpuissa, jotka muodostavat hermoja. Hermot voivat olla joko myelinisoituja tai myelinisoitumattomia (3). Neuronin mahdollistaa solujen välisen kommunikoinnin välittämällä informaatiota eteenpäin hermoimpulssien, eli aktiopotentiaalien avulla. Gliasolut eivät osallistu suoranaisesti informaation kuljettamiseen, vaan niiden yhtenä tärkeänä tehtävänä on huolehtia neuronien kyvystä välittää hermoimpulsseja eteenpäin (4). Hermosoluja voidaan eritellä niiden morfologian perusteella uni-, bi-, multi- ja pseudounipolaareiksi neuroneiksi (5).

### 2.1 Sensorinen neuroni

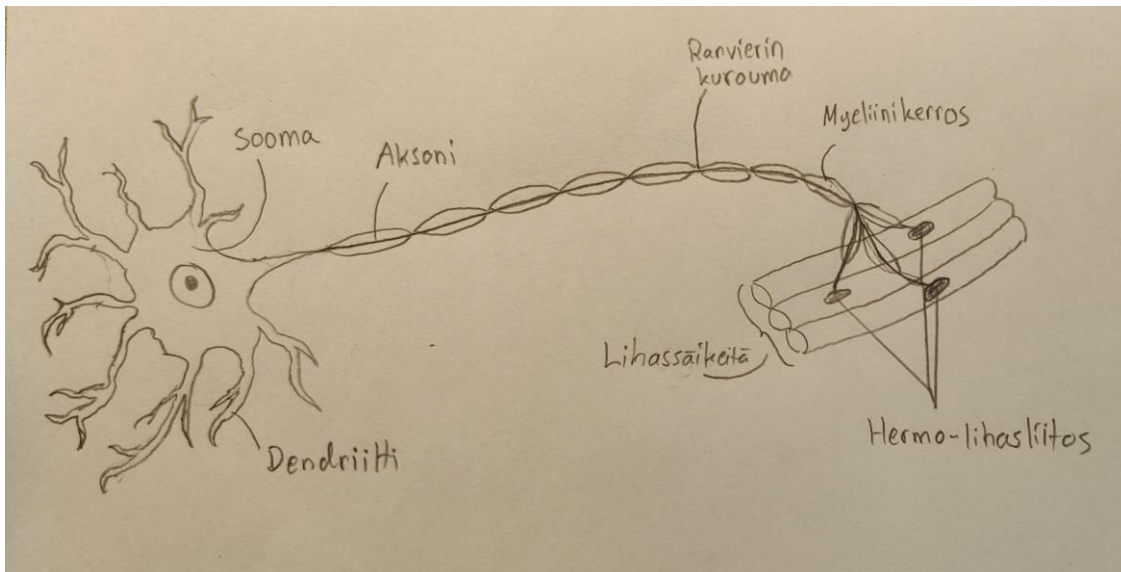


Kuva 1. Sensorinen neuroni. Ihon reseptorit havaitsevat ärsyksen ja tuottavat vastesignaalin, joka lähtee etenemään dendriittiä eli tuojahaaraketta pitkin. Neuronin keskuksen, sooman, kohdalla ärsyke välittyy tuojahaarakkeelta aksonille eli viejähaarakkeelle. Aksoni välittää signaalin kohdesolulle synapsien välityksellä. Kuva ei ole mittakaavassa.

Sensoriset neuronit vastaavat aistitun tiedon välittämisestä keskushermostolle. Sensoriset neuronit ovat tyypillisesti pseudounipolaareja neuroneita, joissa solukeskus eli sooma sijaitsee neuronin keskiosassa. Kuvassa 1 on esitetty kaaviokuva sensorisesta hermosolusta, joka välittää ihon aistinreseptoreilta saatua sähköistä informaatiota keskushermostolle. Informaatio etenee tuojahaaraketta eli dendriittiä pitkin viejähaarakkeelle eli aksonille, joka välittää informaatiota seuraavalle solulle synapsien välityksellä. Aksonia ympäröi Schwannin solut, joiden tuottama myeliinikerros toimii sähköisenä eristeenä ja parantaa aktiopotentiaalien johtumista haarakkeissa. Schwannin solut ympäröivät haarakkeita jaksoittain, jolloin sähköinen impulssi etenee hypäyksittäin niiden yli Ranvierin kuroumissa. (6)

## 2.2 Motorinen neuroni ja motorinen yksikkö

Motorinen yksikkö on neuromuskulaarisen järjestelmän perusyksikkö. Se muodostuu yhdestä motorisesta neuronista aksoneineen ja niihin synapsien kautta kytkeytyneistä lihassäikeistä. Mitä useampaa lihassäiettä aksoni hermottaa, sitä isompi motorinen yksikkö on. Esimerkiksi pienimmissä yksiköissä aksoni hermottaa vain muutamia lihassäikeitä, kuten ulkoisissa silmänliikuttajalihaksissa. Suurissa yksiköissä aksoni voi hermottaa jopa muutamaa tuhatta lihassäiettä. Esimerkiksi pohjelihakseen kuuluva suuri kaksoiskantalihas on suuri motorinen yksikkö, jonka on tuotettava paljon voimaa ja säilytettävä tasapainoa. (7)



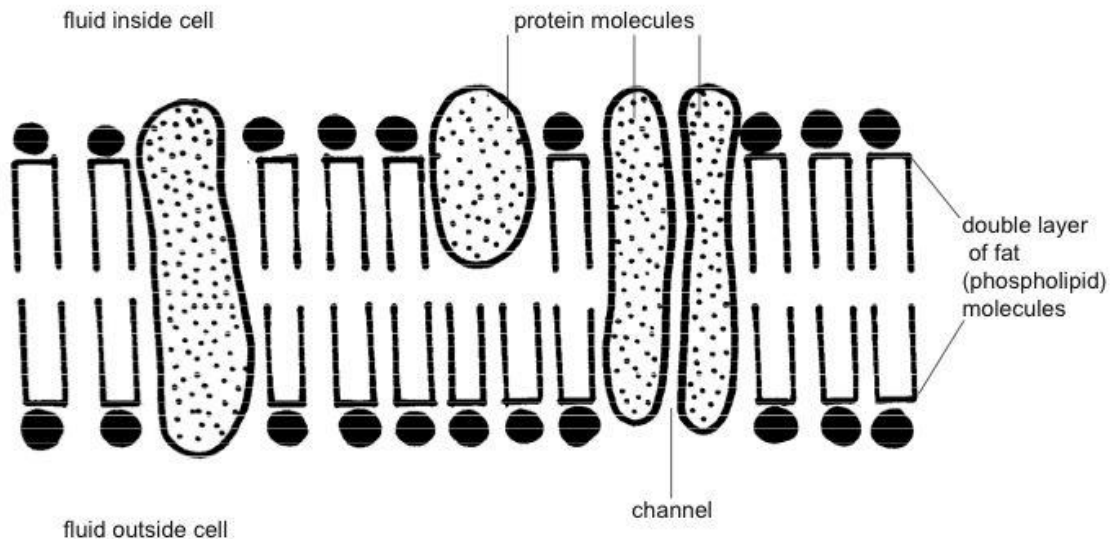
Kuva 2. Motorinen yksikkö. Motorisen neuronin soomasta lähtee myeliinitupellinen aksoni, joka välittää sähköisen informaation lihassolulle hermo-lihasliitoksen kautta. Kuva ei ole mittakaavassa.

Motoriset neuronit vastaavat sähköisen informaation välittämisestä keskushermostosta lihaksille, rauhasille ja muille elimille. (8) Morfologialtaan motoriset neuronit ovat multipolaareja neuroneita, joissa on useita dendriittejä ja yksi aksoni. Kuvassa 2 on kaaviokuva motorisesta neuronista, jonka sooma sijaitsee selkäytimen etusarvessa. Sooma saa sähköisen informaation tuojahaarakkeilta eli dendriiteiltä ja välittää sähköisen informaation aksonin välityksellä lihassolulle hermo-lihasliitoksen välityksellä. Sähköinen informaatio välittyy lähes samanaikaisesti kaikille motorisen yksikön lihassäikeille, jolloin lihassäikeet supistuvat käytännössä samanaikaisesti yhtenä kokonaisuutena. (7)

Lihassäikeiden yhdenaikainen supistuminen saa aikaan ihon pinnalta tai supistumiskohtaan läheisyydestä mitattavan signaalin, jota kutsutaan summa-aktivaatiopotentiaaliksi (engl. compound muscle action potential, CMAP). Summa-aktivaatiopotentiaali syntyy, kun yksittäisten lihassäikeiden solukalvoilla muodostuvat aktiopotentiaalit summautuvat keskenään sekä ajallisesti että avaruudellisesti. (9)

## 2.3 Solukalvon rakenne

Hermosolua ympäröi noin 5–8 nm:n paksuinen solukalvo, joka ylläpitää solun homeostasiasia. Solukalvo säätelee aineiden kulkeutumista sekä solun sisälle että solusta ulos. (10)



Kuva 3. Solukalvon rakenne. Solukalvo koostuu kaksoislipidikalvosta, jonka läpäisee erilaiset kalvoproteiinit. (11)

Kuvassa 3 on havainnollistettu solukalvon rakennetta. Solukalvo muodostuu kaksoislipidikalvosta, jossa lipidimolekyylit ovat orientoituneet siten että niiden hydrofobiset päät osoittavat kalvon sisälle ja hydrofiiliset päät ulospäin. Suurin osa (noin 75 %) kalvon lipideistä on fosfolipidejä ja osa lipideistä (noin 20 %) on kolesterolia. (10)

Solukalvon läpäisee erilaiset kalvoproteiinit, joiden tehtävänä on säädellä kalvon läpäisevyyttä, informaation kulkua ja muun muassa kalvon sähköisiä ominaisuuksia.

Rasvaliukoiset eli poolittomataineet, kuten kaasut  $O_2$ ,  $N_2$  ja  $CO_2$  kulkeutuvat itsenäisesti solukalvon läpi. Mutta vesiliukoiset eli pooliset aineet tarvitsevat proteiinipohjaisen kulkureitin kalvon läpi. Poolisia aineita ovat muun muassa ionit tai erikokoiset molekyylit. Proteiinipohjaisten kulkureittien tehtävänä on muun muassa ylläpitää solun ionitasapainoa ja talteen ottaa ravinteita solun ulkopuolelta endosytoosilla tai poistaa solusta tarpeettomia tai myrkyllisiä aineita eksosytoosilla solun ulkopuolelle. (10)

Ionien ja molekyyliden kalvokuljetus solukalvon läpi jaetaan kuljetusluonteen perusteella joko aktiiviseen tai passiiviseen kuljetukseen. Jaottelun perusteena on kuljetuksessa käytetty energia. Passiivisessa kuljetuksessa ei tarvita erityistä energianlähdettä, vaan siinä vesiliukoinen aine kulkee diffuusion avulla pitoisuusgradientin suuntaisesti suuremman pitoisuuden puolelta

pienemmän pitoisuuden puolelle. Sähkövarauksellisen aineen, kuten ionien liikkeeseen solukalvolla vaikuttaa pitoisuusgradientin lisäksi sähköinen kalvopotentiaali ( $V_m$ ), joka on seurausta kalvon eri puolilla olevasta varuserosta. (10)

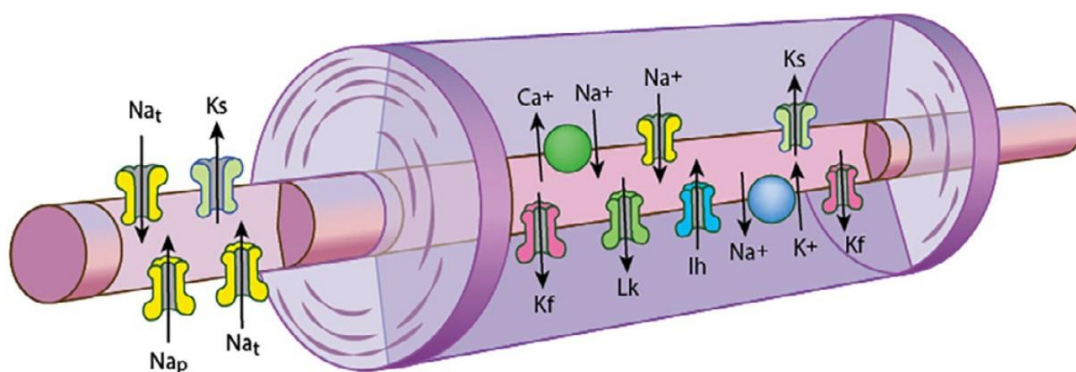
### 3 POTENTIAALIN MUODOSTUMINEN

Solukalvon läpäisee ionien siirtoon erikoistuneet proteiinimolekyylit eli ioninkuljetusproteiinit. Ioninkuljetusproteiineja ovat ionikanavat ja primäärisen sekä sekundäärisen aktiivisen kuljetuksen proteiinit. Ionikanavia on sekä portittuvia että ei-portittuvia. Portittuminen on mekanismi, jonka perusteella ionikanavat aukeavat tai sulkeutuvat. Portittuvat ionikanavat aukeavat jonkin ärsykkeen välityksellä, jonka mukaan ne voidaan jakaa muun muassa jännite-, ligandi- ja mekanoherkkiin ionikanaviin (12). Ionikanavien avautumisen seurauksena ionit pääsevät siirtymään kalvon läpi. Ionien liikkeeseen vaikuttaa siis ionikonsentraatiot solukalvon sisä- ja ulkopuolella, solukalvon potentiaali ja permeabiliteetti, joiden yhteisvaikutusta kutsutaan sähkökemialliseksi gradientiksi. (13), (10)

Solukalvon potentiaalin muodostumisen kannalta oleelliset kalvoproteiinit ovat jänniteherkät natrium- ja kaliumkanavat, ligandiriippuvaliset kanavat ja natrium-kaliumpumput. (6)

#### 3.1 Ionikanavat

Ionikanavat ovat solukalvon läpäiseviä kalvoproteiineja, jotka mahdollistavat ionien liikkeen solukalvon läpi. Solukalvon potentiaalin muodostumisen kannalta tärkeimmät ionit ovat kalium-, natrium-, kalsium- ja kloori-ionit.



Kuva 4. Myelinisoituneen hermon ionikanavia. Ranvierin kuroumissa on Na<sup>+</sup>-ioneja siirtäviä hetkellisesti (Na<sub>t</sub>) ja jatkuvammin (Na<sub>p</sub>) auki olevia Na<sup>+</sup>-ionikanavia ja hitaita K<sub>s</sub>-ionikanavia. Neuronin myelinisoituneella alueella on Na<sup>+</sup>-ionikanavia, Na<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>-ioninvaihtajia, K<sup>+</sup>-ioneja siirtäviä nopeita (K<sub>t</sub>) ja hitaita (K<sub>s</sub>)-ionikanavia, Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ionipumppuja, ionien vuotokanavia (Lk) ja kationien siirtäjäkanavia (I<sub>h</sub>). Kuva lainattu lähteestä (1)

Jänniteriippuvaisten ionikanavien toiminta perustuu solukalvon jännitteen muutoksiin. Kanavatyyppistä riippuen, solukalvon lepopotentiaalissa ne voivat olla vielä kiinni eivätkä päästä



ioneja läpi. Mutta solukalvon jännitteen muuttuessa riittävästi, esimerkiksi positiivisemmaksi, ne aukeavat ja ioneja pääsee virtaamaan niiden läpi. (14)

Jänniteriippuvaiset  $\text{Na}^+$  -kanavat vastaavat  $\text{Na}^+$  -ionien siirtämisestä solun ulkopuolelta solun sisäpuolelle. Jänniteriippuvaiset  $\text{K}^+$  -kanavat puolestaan vastaavat  $\text{K}^+$  -ionien siirtämisestä solun sisäpuolelta solun ulkopuolelle.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  -pumppu siirtää  $\text{Na}^+$  -ja  $\text{K}^+$  -ioneja siten, että jokaista solun sisälle siirtyvää kahta  $\text{K}^+$  -ionia kohti siirtyy kolme  $\text{Na}^+$  -ionia solun ulkopuolelle.  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  -ioninvaihtaja auttaa palauttamaan kalvopotentiaalin aktiopotentiaalin jälkeen poistamalla ylimääräiset  $\text{Ca}^{2+}$  -ionit solun ulkopuolelle.

$\text{Na}^+/\text{K}^+$  -pumppuja on tuhansittain neuronien solukalvolla ja ne ovat jatkuvasti aktiivisia.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  -pumppujen tehtävänä on huolehtia solukalvon lepopotentiaalista eli toisin sanoen  $\text{Na}^+$  - ja  $\text{K}^+$  -ionikonsentraatiogradientin ylläpidosta.  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  -pumppu käyttää energiakseen adenosiinifosfaattia (ATP) ja on arvioitu, että ne käyttävät noin 25 % ihmisen energiasta lepotilassa. (10)

Jänniteriippuvaisia ionikanavia on olemassa rakenteeltaan ja toiminnaltaan lukuisia erilaisia. Pelkästään jänniteriippuvaisilla  $\text{Na}^+$  -kanavilla on useita eri alatyyppejä, joiden ilmentyminen riippuu niiden roolista ja sijainnista hermossa. (15)

Myelinisoidussa hermossa  $\text{Na}^+$ -kanavien tiheys on erittäin suuri Ranvierin kuroumissa, missä niiden muodostavat virrat voidaan jakaa hetkellisiin (engl. transient,  $\text{Na}_t$ ) ja pysyviin (engl. persistent,  $\text{Na}_p$ ) natriumvirtoihin.  $\text{Na}_t$ -virrat käsittävät jopa 98 %  $\text{Na}^+$  -ionien kokonaisvirrasta. Loput 2 % ovat  $\text{Na}_t$ -ionivirtaa, joka muodostuu, kun natriumkanavat ovat osittain auki ja vain osin inaktivoituneena. Näin pääsee muodostumaan pieni ja tasainen taustavirta. (16), (17)

$\text{K}^+$ -kanavat voidaan puolestaan jakaa hitaisiin ( $\text{K}_s$ ) ja nopeisiin ( $\text{K}_f$ ) -kanaviin. Hitaita  $\text{K}_s$  -kanavia esiintyy eniten Ranvierin kuroumissa ja ne ovat avoinna lepopotentiaalin aikana, jolloin ne osallistuvat esimerkiksi lepopotentiaalin ylläpitoon. Nopeat  $\text{K}_f$ -kanavat ilmentyvät pääosin neuronin myelinisoiduneella alueella. Ne myös rajoittavat uuden aktiopotentiaalin syntyä heti edellisen aktiopotentiaalin jälkeen (1). Aktiopotentiaalista tarkemmin seuraavassa luvussa.

### 3.2 Aktiopotentiaali

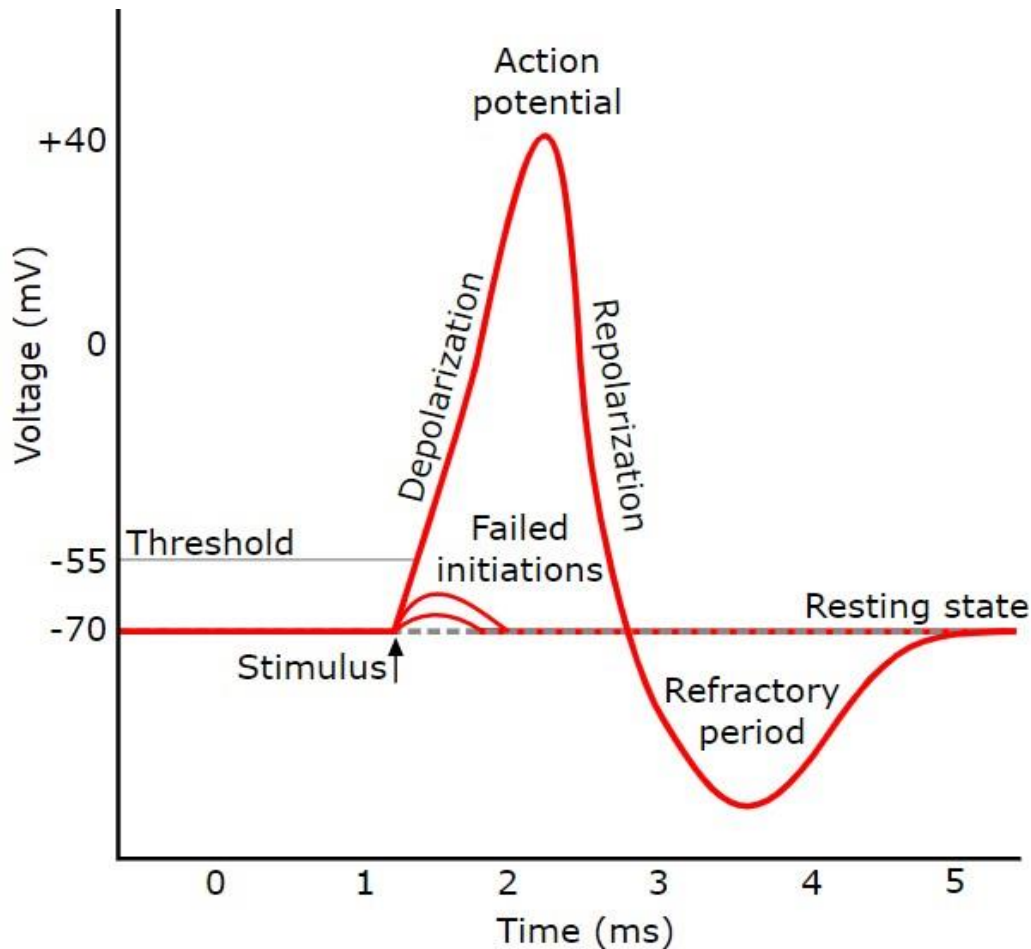
Hermoimpulssin eteneminen hermosolussa perustuu sähköisesti varautuneen solukalvon toimintaan. Aksonien ja neuronien tehtävänä on kuljettaa sähköistä informaatiota eteenpäin, joka perustuu aktiopotentiaalien tuottamiseen. Aktiopotentiaalissa solukalvopotentiaali muuttuu hetkellisesti positiiviseksi esimerkiksi ulkoisen ärsyksen johdosta. Tällöin solukalvolle muodostuu

paikallinen virtapiiri, joka saa myös solukalvon viereisen kohdan potentiaalin ylittämään ärsykekyynnyksen. Aktiopotentiaalin etenemisnopeus myeliinitupellisissa soluissa voi olla jopa 100 m/s ja nopeus on verrannollinen aksonin halkaisijaan. (4)

Aktiopotentiaali toimii niin kutsutulla ”kaikki tai ei mitään” periaatteella. Aina kun kalvopotentiaali muuttuu positiivisemmaksi, eli depolarisoituu, riittävän paljon ylittääkseen tietyn kynnyspotentiaalin, aktiopotentiaali muodostuu aina suurin piirtein samalla voimakkuudella ja aaltomuodolla. Mikäli tämä solukalvon kynnyspotentiaali ei ylity, jää depolarisaatio paikalliseksi ja jännite palautuu lepopotentiaaliin. (18)

Kynnyspotentiaali, joka kalvopotentiaalin on ylitettävä, on seurausta jänniteriippuvaisten  $\text{Na}^+$ -kanavien toiminnasta. Jänniteriippuvaliset  $\text{Na}^+$ -kanavat ovat kiinni lepopotentiaalissa (neuroneissa yleensä n. -70 mV luokkaa). Riittävän suuren depolarisaation seurauksena  $\text{Na}^+$ -kanavat aukeavat, jolloin  $\text{Na}^+$ -ioneja virtaa solun sisäpuolelle. Toisin sanoen, kun solukalvon potentiaali ylittää  $\text{Na}^+$ -kanavien aktivaatiopotentiaalin eli kynnysarvon (threshold), syntyy lisädepolarisaatiota, joka saa myös viereiset ionikanavat aukeamaan, johtaen lopulta ”kaikki tai ei mitään” -ilmiöön ja aktiopotentiaalin syntyyn. Kynnysarvoksi kutsutaan minimipotentiaalia, joka riittää juuri ja juuri aktivoimaan yhden hermosolun aktiopotentiaali (6). Aktiopotentiaalin huippuarvo saavutetaan noin +40 mV:ssa, jolloin  $\text{Na}^+$ -kanavat sulkeutuvat ja jänniteriippuvaliset  $\text{K}^+$ -kanavat aukeavat (14). Kalvopotentiaalin huippuarvon saavuttamisen jälkeen kalvopotentiaali alkaa pienenemään, kun jänniteriippuvaisten  $\text{K}^+$ -kanavien kautta  $\text{K}^+$ -ionit virtaavat ulos solusta. Kalvopotentiaali laskee repolarisaation aikana alle lepopotentiaalin, kuten kuvasta 5 huomataan. Tällöin  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -pumppu huolehtii kalvopotentiaalin palauttamisesta lepopotentiaaliin siirtämällä samaan aikaan kaksi  $\text{K}^+$ -ionia solun sisälle ja kolme  $\text{Na}^+$ -ionia solun ulkopuolelle. Tätä tapahtumaa kutsutaan hyperpolarisaatioksi.

Kun aktiopotentiaali muodostuu, ei solukalvolla voi tapahtua uutta aktiopotentiaalia välittömästi edellisen jälkeen. Tätä viivettä peräkkäisten aktiopotentiaalien välillä kutsutaan refraktääriajaksi. Refraktääriajan aikana voi syntyä uusi aktiopotentiaali vain, jos soluun tuleva ärsyke on tavallista voimakkaampaa. Refraktääriajan takia solulla on tietty taajuus, jolla se voi muodostaa peräkkäisiä aktiopotentiaaleja. Tämä impulssitaajuus on harvoin suurempi kuin 200 Hz ja maksimissaan noin 500 Hz. (6)



Kuva 5. Aktiopotentiaalin kaaviokuvaaja. Solukalvon jännitteen muutos ajan funktiona. Sähköinen ärsyke (stimulus) saa kalvopotentiaalin kasvamaan eli depolarisoitumaan. Depolarisaatiota seuraa repolarisaatio, jolloin kalvopotentiaali laskee. Kalvopotentiaalin laskiessa alle lepojännitteen, puhutaan hyperpolarisaatiosta. Kalvolla ei voi syntyä uutta aktiopotentiaaleja ennen kuin natriumkanavien inaktivaatio on poistunut ja kalvon jännite on palautunut riittävästi kohti lepopotentiaalia. Tätä ajanjaksoa aktiopotentiaalissa kutsutaan refraktääriajaksi (refractory period). Refraktääriajan jälkeen kalvon jännite palautuu lepopotentiaaliin, mikäli uutta ärsykettä ei anneta. Kuva lainattu lähteestä (19)

Threshold tracking -menetelmällä mitataan summa-aktivaatiopotentiaaleja. Sensoristen hermojen tapauksessa mitataan cSNAP (compound sensory nerve action potential) -signaaleja ja motoristen hermojen tapauksessa CMAP (compound muscle action potential) -signaaleja. cSNAP:ksi kutsutaan yksittäisten sensoristen hermosäikeiden eri nopeuksilla johtavista säikeistä muodostuvaa aktiopotentiaalien summaa (20). CMAP:ksi kutsutaan puolestaan lihassäikeiden yhtäaikaista supistumista, joka syntyy useiden motoristen yksiköiden summa-aktivaatiopotentiaaleista. Summa-aktivaatiopotentiaali syntyy, kun aktivaatio on jossain kohtaa motorista yksikköä riittävän suuri ja saa aikaan aktiopotentiaalin solukalvolla (9).

## 4 POTENTIAALIEN MITTAAMINEN NONINVASIIVISESTI

Yksi keskeisimpiä kliinisen neurofysiologian mittausmenetelmistä on sensoristen ja motoristen hermojen elektroneuromyografia (ENMG) (7). Mittausmenetelmät voidaan jakaa invasiivisiin ja noninvasiivisiin mittauksiin, eli ihon alta tai ihon pinnalta tapahtuviin mittauksiin. Tässä työssä keskitytään noninvasiiviseen mittaustapaan, sillä threshold tracking –mittaus tapahtuu ihon pinnalle sijoitettavien tarraelektrodien avulla.

### 4.1 Mittauslaitteisto

Tyypillisesti noninvasiivisen neurofysiologisen mittauksen mittauslaitteistoon kuuluu stimulaattori, vahvistin, elektrodeja, tietokone, näyttö ja ohjausyksikkö (20). Stimulaattorin avulla tapahtuu esimerkiksi hermon sähköinen stimulointi ja vahvistimella vahvistetaan piensignaalien voimakkuutta. Vahvistimella hallitaan myös signaali-kohina-suhdetta eli suodatetaan häiriösignaaleja, eli kohinaa pois, jotta mitattava signaali saadaan paremmin näkyviin. Stimulaattori on yleensä vakiovirtastimulaattori, jolla voidaan tarkasti kontrolloida annettavaa sähköistä ärsykettä. Sekä stimulaattoriin että vahvistimeen kiinnitetään kaapeleilla mittauselektrodeja, jotka kiinnitetään ihon pinnalle. Lisäksi mittauksessa tarvitaan maadoituselektrodi, joka voi olla fysiologiseen keittosuolaliukseen liuotettu tarranauha tai kertakäyttöinen EKG/EMG -elektrodi. (7)

### 4.2 Mittauselektrodit

Neurofysiologisissa mittauksissa voidaan käyttää monenlaisia mittauselektrodeja, kuten neula- tai pintaelektrodeja. Noninvasiivisissa neurofysiologisissa tutkimuksissa mittaaminen tapahtuu ihon pinnalta pintaelektrodien avulla, jotka ovat sähköjohtavia levyjä. Elektrodimateriaaleina käytetään yleensä hopeaa, hopeakloridia tai ruostumatonta terästä (7). Elektrodien pinnalla on tyypillisesti elektrolyyttigeeliä tai huopatyyny, jotka on kostutettu fysiologisella keittosuolaliuksella.

Ihon ja elektrodin välillä tapahtuu sähkökemiallinen ioninvaihtoreaktio. Elektrodin metalli luovuttaa elektroneja ja iholla oleva elektrolyyttigeeli vastaanottaa elektroneja. (21)

### 4.3 Hermon stimulointi ja potentiaalinvaihtuminen

Ennen niin stimulointi- kuin rekisteröintielektrodien asettamista on tärkeää huolehtia siitä, että niiden kontakti ihoon on mahdollisimman hyvä. Ihoa tulee karhentaa ja poistaa kuollut ihokerros esimerkiksi ihoa karhentavan teipin avulla, jolloin mittauslaatuun vaikuttava ihoimpedanssi

minimoidaan. Lisäksi pintaelektrodin ja ihon rajapintaan tarvitaan elektrolyyttiainetta, joka voi olla valmiiksi elektrodin pinnalla tai erikseen levitettävää geeliä. Elektrolyyttigeeli parantaa sähkönjohtavuutta ihon ja elektrodin välillä. (7)

Hermon stimuloiminen voi tapahtua monella eri tavalla, kuten esimerkiksi sähkövirralla, paineella tai lämmöllä. Helpoin ja tehokkain tapa stimuloida hermoa on kuitenkin antaa pieniä sähköimpulsseja vakiovirtastimulaattorilla (6). Sähköimpulssien kesto on yleensä noin 0,1–0,2 ms ja sähkövirran voimakkuus vaihtelee 1–100 mA välillä. Toisinaan sähköimpulssin kesto voi olla myös pitempi, maksimissaan noin 1 ms.

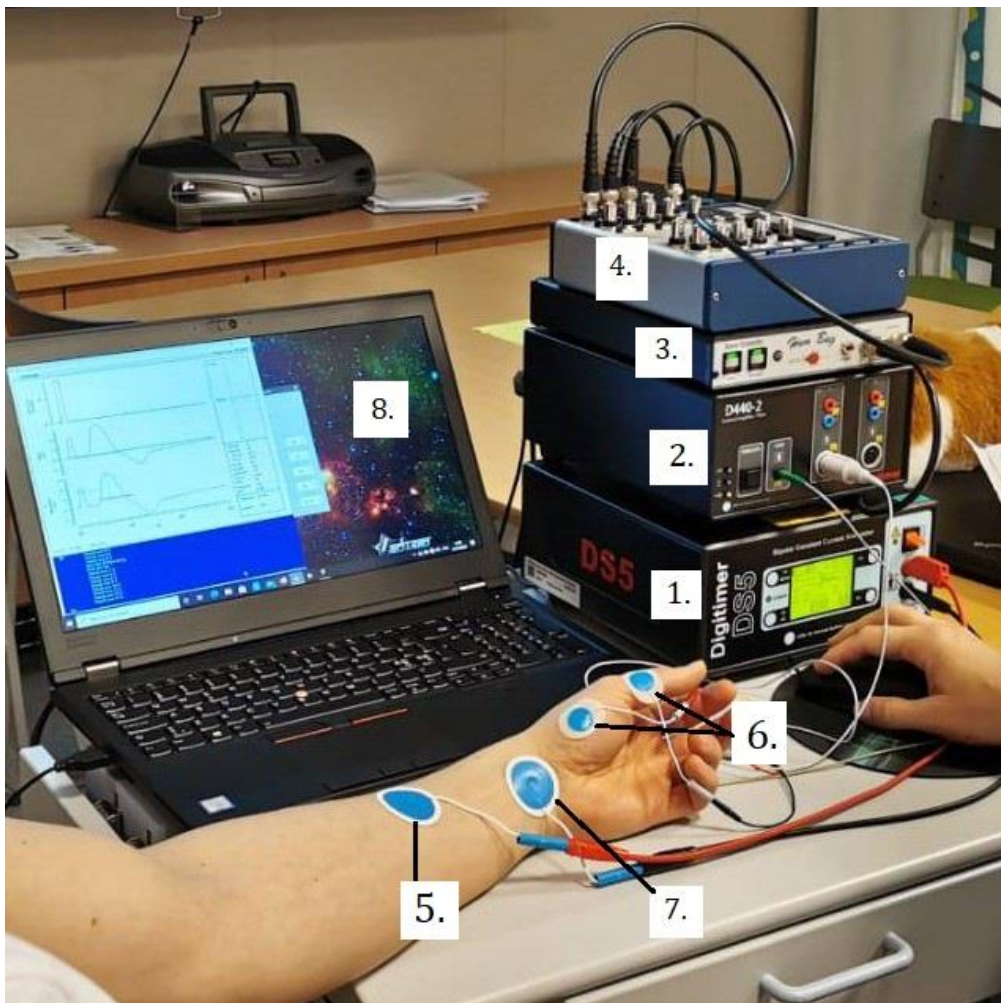
Ihon pinnalta mittaus tapahtuu niin kaukaa kohdehermo- tai lihassoluista, että mitattava signaali heijastaa suurten hermosolujoukkojen yhteistoimintaa. Lisäksi ihon pinnalta mitattaessa signaali on suodattunut ja signaali on usein taajuusriippuvaisesti vaimentunut. Tämän takia tarvitaan vahvistinta, jonka avulla havaittu heikko biosignaali kasvatetaan riittävän suureksi. Lisäksi vahvistin vaimentaa häiriöitä, jotta signaali-kohina-suhde olisi mitattavan biosignaalin kannalta optimaalinen. Lopulta signaali muutetaan analogisesta digitaaliseksi, eli suoritetaan A/D-muunnos. Muunnoksen tekee erillinen muunninyksikkö tai vahvistimen sisään rakennettu muunnin ja se lähetetään esimerkiksi näytölle visuaalisesti havaittavaan muotoon. (20)

## 5 THRESHOLD TRACKING -MENETELMÄ

Yleisimmin käytetyillä neurofysiologisilla mittauksilla, kuten elektroneurografialla (ENG) mitataan yleensä hermoratojen johtumiseen liittyviä ilmiöitä.

Threshold tracking on puolestaan menetelmä, jolla mitataan hermosolun solukalvon ärtyvyyssynnyksen ylittämiseen vaadittavan sähköisen ärsykkeen suuruutta. Tyypillisin mittausperiaate on esitetty kuvassa 6, jossa stimuloidaan keskihermoa sähköpulsseilla ja sähköinen vaste mitataan summa-aktivaatiopotentiaalina *abductor pollicis brevis* -lihaksesta, jota keskihermo hermottaa.

### 5.1 Mittauslaitteisto

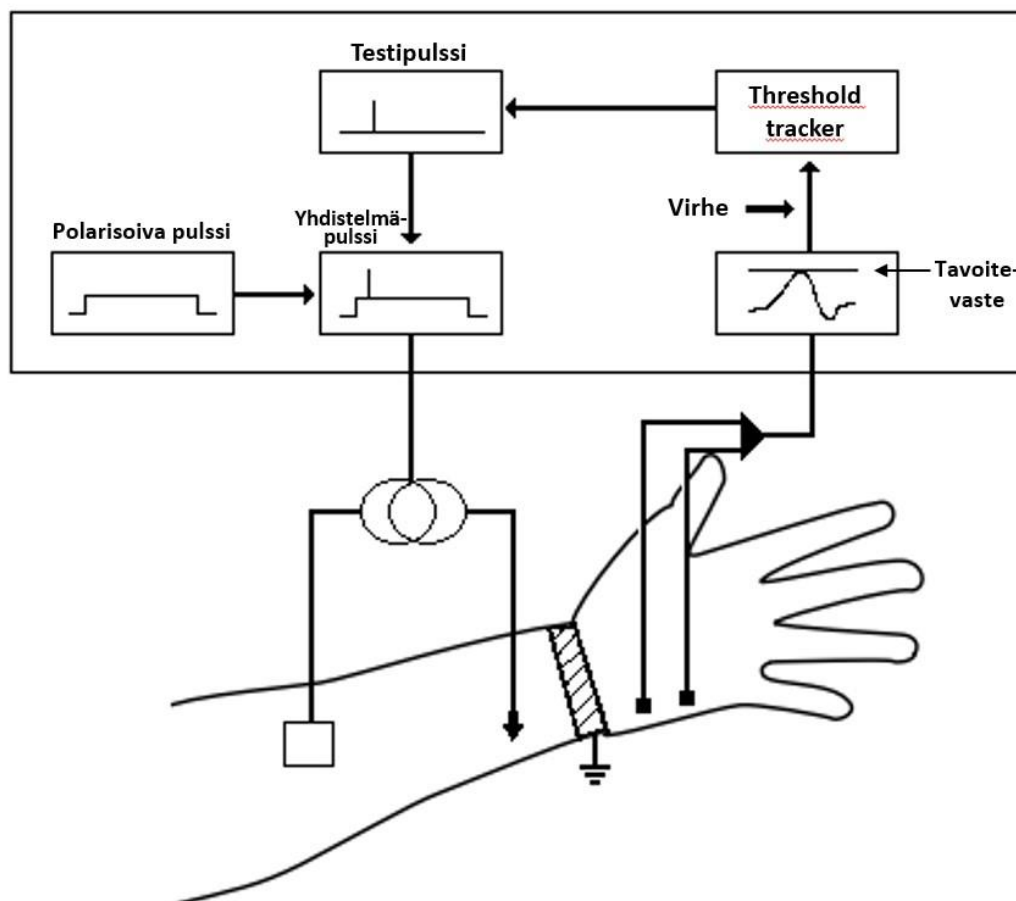


Kuva 6. Threshold tracking -mittauslaitteisto. Kuvassa on numeroitu 1–8 mittauslaitteiston eri osat  
1) Vakiovirtastimulaattori, 2) EMG-vahvistin, 3) Kohinan vaimennin, 4) A/D-muunnin, 5)

Stimulaattorielektrodi 6) Rekisteröintielektrodit, 7) Maadoituselektrodi, 8) Tietokone, johon on asennettu esimerkiksi QTRACK-ohjelma.

Threshold tracking -mittauslaitteistoon (Kuva 6) kuuluu ihoon kiinnitettäviä tarraelektrodeja, etäohjattu vakiovirtastimulaattori, vahvistin ja A/D-muunnin (22). Tarraelektrodit voivat olla tavallisia EKG-elektrodeja. Maadoituselektrodina voidaan käyttää myös keittosuolaliuokseen liuotettua tarranauhaa (20). Vakiovirtastimulaattorin avulla annetaan sähköpulsseja ja vahvistimella talletetaan hermo- ja lihasaktivaation potentiaaleja. Lisäksi laitteistoon kuuluu threshold tracker, eli käytännössä tietokone, johon on asennettu esimerkiksi QTRAC-ohjelma, joka sisältää useita mittaukselle tärkeitä ominaisuuksia (automaattikka ja tulosten analysointi). QTRAC-ohjelman avulla voidaan esimerkiksi säädellä annettavien testipulssien suuruutta kiinteistä pulssin muutoksista suhteellisiin pulssin muutoksiin. (2)

## 5.2 Toimintaperiaate



Kuva 7. Threshold tracking -mittauksen toimintaperiaate. Laatikon sisällä olevat toiminnot suoritetaan tietokoneen avulla. Hypothenar -lihaksesta mitataan summa-aktivaatiopotentiaali (CMAP), jota verrataan tavoitevasteeseen (30–40 % maksimivasteesta). Virhesignaalin avulla tietokoneohjelma säätelee testipulssin amplitudia. Testipulssi yhdistetään polarisoivaan pulssiin,

jota kutsutaan yhdistelmäpulsiksi. Yhdistelmäpulssi kohdistetaan kyynärhermoon ranteen kohdalta jännite-virta-muuntimen avulla. (Kuva on lainattu ja muokattu julkaisun (2) kuvasta 1 julkaisijan (John Wiley and Sons) myöntämällä luvalla; License Number 5641521209166)

Threshold tracking -menetelmässä annetaan lyhytkestoisia (noin 1 ms) sähköpulsseja ihon pinnalta tutkittavaan hermoon. Sähköpulssin vaste mitataan summa-aktivaatiopotentiaalina siitä lihaksesta, jota hermo hermottaa. Kuvan 7 mukaisessa threshold tracking -mittauksessa kyynärhermoon kohdistetaan kestoltaan 1 ms sähköimpulssi, jonka vaste mitataan hypothenar -lihaksen CMAP-potentiaalina. Vasteen mukaan tietokoneohjelma säätää seuraavaksi annettavaa testipulssia. Aluksi tehdään testimittausarja, jossa hermolle annetaan portaittain kasvavia lyhyitä sähkövirtapulsseja niin kauan kunnes maksimaalinen CMAP-vaste on saavutettu. Tämän jälkeen tavoitevaste asetetaan noin 30–40 % maksimivasteesta ja aletaan portaittain pienentämään annettavia sähköpulsseja, kunnes tavoitevaste alitetaan. Seuraavaksi mittauksia jatketaan muuttamalla testipulsseja sen mukaan, alitetaanko vai ylitetäänkö tavoitevaste. Aina kun tavoitevaste ylitetään, testipulsseja pienennetään ja mikäli tavoitevaste alitetaan, niin testipulsseja suurennetaan. Näin saadaan määritettyä lepoaktivaatioherkkyys. Kun lepoaktivaatioherkkyys on määritetty, muutetaan hermon aktivaatioherkkyttä esimerkiksi antamalla lepoaktivaatioherkkyden ylittäviä (depolarisoivia) tai alittavia (hyperpolarisoivia) sähköpulsseja. Depolarisoivat pulssit lisäävät hermon ärtyvyyttä ja pienentävät kynnystä aktiopotentialin muodostamiselle. Hyperpolarisoivat pulssit puolestaan pienentävät hermon ärtyvyyttä kasvattaen aktivaatiokynnystä. (2)

Threshold tracking -menetelmä on tasapainoilua nopeuden ja tarkkuuden välillä. Vakioidut kahden prosentin suuruiset testipulssin muutokset ovat yleensä liian suuria lepoaktivaatioherkkyden tarkkaan määrittämiseen mutta puolestaan liian pieniä, jotta kalvon muutoksiin voitaisiin reagoida riittävän nopeasti. Vaihtoehtona vakioiduille testipulssin muutoksille voidaan käyttää suhteellisia testipulssin muutoksia, jotka QTRAC-ohjelma muodostaa määrittämällä havaitun vasteen ja tavoitevasteen välisen eron. Suhteellisten testipulssien muutosten avulla voidaan aktivaatioherkkyttä määrittää tarkemmin kuin vakioiduilla testipulsseilla. (2)

Tiivistetysti threshold tracking -menetelmä on automaattista ärsykkeen seuranta, jonka tavoitteena on selvittää, kuinka suuri ärsyke vaaditaan tavoitevasteen saavuttamiseen. Menetelmä soveltuu ionikanavien tutkimiseen, sillä hermon ärtyvyys on herkkä aksonien kalvopotentiaalien muutoksille.

### **5.3 Mittauskonfiguraatioita**

Threshold tracking -menetelmää voidaan käyttää niin motoristen kuin sensoristen aksonien solukalvojen herkkyksien määrittämiseen. Menetelmällä voidaan antaa erilaisia ärsykeitä



riippuen siitä mitä ominaisuuksia solukalvolta halutaan tutkia. Puhutaan erilaisista mittauskonfiguraatioista. Ärsykkeet voivat olla yksittäisiä pulsseja, pulssisarjoja, myös pulssien kesto voidaan muunnella tai voidaan antaa voimakkuudeltaan ärtyvyyskynnyksen alittavia sähkövirtoja. Eri mittauskonfiguraatioilla määritettyjä ärtyvyyskynnyksen muutoksia voidaan vertailla eri stimulointikohtien ja neuronien välillä tai yksittäisen hermosäikeen (engl. single-fiber preparations) ja tietokoneella luotujen mallinnusten välillä. (2)

Mittaamalla ainoastaan virtaa, jolla saavutetaan kalvon ärtyvyyskynnys, ei saada yleensä paljon informaatiota itsessään sillä ärtyvyyskynnyksen ylittävä virta vaihtelee yksilöllä ja yksilöiden välillä. Ärtyvyyskynnysmittaukset ovatkin mielekkäämpiä, kun käytetään jotain mittauskonfiguraatiota, jolla voidaan esimerkiksi vertailla kahta eri herkkyyssparametria. (23)

Esimerkiksi ärtyvyyden voimakkuus-kestoaikavakio (engl. strength-duration time constant, SDTC) voidaan määrittää antamalla ensin kestoltaan 1 ms kestävä ärsyke, jonka jälkeen ärsykeen kesto pienennetään asteittain (16). Tällöin havaitaan, että ärsykeen kesto lyhentämällä yhden toiminnallisen yksikön aktivoimiseen vaadittava sähkövirta kasvaa lineaarisesti ja kuvaajasta voidaan määrittää voimakkuus-kestovakio. Voimakkuus-kestovakion avulla voidaan havaita poikkeavuuksia myeliinitupellisten aksonien Ranvierin kuroumien ominaisuuksissa. Vakiota ei kuitenkaan voida yksin käyttää poikkeavuuksien määrittämiseen esimerkiksi lepopotentiaalini tai myelinisaation suhteen (2).

Threshold tracking -tekniikkaa voidaan käyttää myös antamalla pitkäkestoisia (50–500 ms) pulsseja, jotka ovat joko depolarisoivia tai hyperpolarisoivia ja voimakkuudeltaan sen verran heikkoja, etteivät ne riitä ylittämään kalvon kynnyspotentiaalia aktiopotentiaalini laukausemiseksi. Tätä kalvojen herkkyyttä tutkivaa mittauskonfiguraatiota kutsutaan nimellä threshold electrotonus. Termi electrotonus viittaa kalvopotentiaalini muutoksiin, jotka aiheutuvat depolarisoivista tai hyperpolarisoivista virtapulsseista (16). Threshold electrotonus -menetelmällä on havaittu muutoksia kalvoherkkyyksissä esimerkiksi diabeetikoilla ja ALS:a sairastavilla ihmisillä (2). Lisäksi tätä tekniikkaa voidaan hyödyntää esimerkiksi  $K^+$  -kanavien tutkimisessä (24).

Vaihtoehtoisesti aktivaatioherkkyyksien muutoksia voidaan mitata myös muuttamalla hermoympäristöä esimerkiksi iskemiällä, hyperventilaatiolla tai lääkeaineilla. Ihon lämpötilan tulee olla 32–34°C välillä, sillä ionikanavien ja -pumppujen kinetiikat ovat lämpötilariippuvaisia. (2)

Iskemiassa aksonin yläpuolelle asetetaan kiristyside, jolloin kudoksen verenkiertoon aiheutetaan häiriö, mikä johtaa hetkelliseen veren ja hapen puutteeseen kudoksessa. Kiristysidettä ei pidetä kiristettynä kuin muutaman minuutin ajan, jotta tutkimus ei tuota kipua eikä aiheuta kudonvaurioita. Iskemian myötä aksonin  $Na^+/K^+$  -pumppujen energiansaanti ja täten myös toiminta heikentyy. Tämän seurauksena aksoni depolarisoituu, sillä  $Na^+/K^+$  -pumpun tehtävänä on huolehtia

solukalvon lepopotentiaalista siirtämällä ylimääräisiä positiivisesti varautuneita  $\text{Na}^+$  -ioneja solun ulkopuolelle. Kun kiristysside aukaistaan, aksoni hyperpolarisoituu nopeasti  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  -pumppujen aktivoitumisen seurauksena. Iskemian vaikutuksia mitattaessa on havaittu, että latenssi eli johtumisaika on pitkittynyt noin 1 ms sekä depolarisaatiossa että hyperpolarisaatiossa. Havainto latenssin pitkittymisestä tarkoittaa myös, ettei impulssin hidas johtuminen johdu välttämättä demyelinisaatiosta. (2)

Threshold tracking -tekniikalla voidaan tutkia myös yksittäisiä motorisia yksiköitä. Yhden yksikön mittaaminen on kuitenkin aikaa vievää, sillä ärtyvyyskynnyksen spontaani vaihteluväli voi olla jopa 10 prosenttia. Tämän vuoksi yksittäisten toiminnallisten yksiköiden tutkiminen kliinisessä käytössä ei ole kovin käytännöllistä, vaan mittauksissa suositaan usean toiminnallisen yksikön, kuten summa-aktivaatiopotentiaalien mittaamista. (2)

## 6 YHTEENVETO

Kliinisessä lääketieteellisessä mielessä threshold tracking -menetelmä on yhä suhteellisen vähän tunnettu ja käytetty menetelmä neuropatioiden tutkimisessa. Yleisimmin neurologisissa tutkimuksissa käytetään esimerkiksi hermoratamittauksia ja hermo-lihastoimintatutkimuksia. Nämä menetelmät sopivatkin hyvin erilaisten neuropatioiden osoittamiseen. Threshold tracking -menetelmän etuna on, että se pureutuu tarkemmin eri neuropatioiden mekanismeihin ja sitä voidaan käyttää yhä enemmän diagnostisia neurologisia mittauksia täydentävänä tutkimuksena. Threshold tracking -menetelmän avulla saadaan tietoa esimerkiksi eri ionikanavien, energiarippuvaisten ionipumppujen ja ioninvaihtajien aktiivisuudesta solukalvolla impulssien johtumisprosessien aikana. Eli threshold tracking -menetelmällä saadaan lisätietoa etenkin eri neuropatioiden patofysiologiasta, jolloin voidaan muun muassa seurata sairauksien etenemistä ja arvioida annetun hoidon tehokkuutta. (16)

Threshold tracking -menetelmällä voidaan myös luoda mallinnuksia ja ennusteita solukalvojen funktioista aksonissa. Esimerkiksi threshold electrotonus -mittauskonfiguraatiolla on onnistuttu saamaan enemmän tietoa aksonien ionikanavista kuin millään muulla noninvasiivisella mittaustekniikalla. Sen avulla on onnistuttu esimerkiksi kehittämään matemaattisia malleja ihmisen aksonien toiminnasta. (2)

Rajoitteina threshold tracking -menetelmällä ovat mittaukset, joissa annetaan suuria impulssivirtoja. Esimerkiksi stimuloitaessa hermoa, jonka ärtyvyyskynnys on erityisen korkea, joudutaan stimuloivaa sähkövirtaa kasvattamaan. Tällöin on kuitenkin riski, että annettu sähköimpulssi stimuloi aksonin eri kohdasta kuin olisi tarkoitus ja havaittu summaaktivaatiopotentiaali ei vastaa tutkittavan kohdan ärtyvyyskynnystä (2). Lisäksi monen asiantuntijan eli klinikon ymmärrys threshold tracking -menetelmän taustalla olevasta biofysiikasta on verrattain heikkoa, jonka vuoksi menetelmää ei ole voitu hyödyntää tehokkaasti muussa kuin tutkimuskäytössä.

Threshold tracking -menetelmä on vielä verrattain vähän tunnettu neurofysiologinen mittausmenetelmä. Menetelmän avulla on kuitenkin onnistuttu tuomaan paljon lisätietoa neuropatioiden patofysiologiasta. Patofysiologian tunteminen auttaa kehittämään lääkinnällisiä menetelmiä neuropatioiden hoitoon, joten menetelmällä tehtävää tutkimusta on varmasti syytä jatkaa ja kehittää entisestään.

## LÄHTEET

1. Kiernan MC, Bostock H, Park SB, Kaji R, Krarup C, Krishnan A V., et al. Measurement of axonal excitability: Consensus guidelines. Vol. 131, *Clinical Neurophysiology*. Elsevier Ireland Ltd; 2020. 308–323 p.
2. Bostock H, Cikurel K, Burke D. *Muscle & nerve*. 1998. 137–156 p.
3. Nienstedt W, Hänninen O, Arstila A, Björkqvist SE. *Ihmisen fysiologia ja anatomia*. 18.-19. p. Helsinki: Sanoma Pro; 2016. 64–76 p.
4. Purves D. *Neuroscience*. 5th ed. Sinauer Associates; 2012. 1–9 p.
5. Types of neurons - Queensland Brain Institute - University of Queensland [Internet]. [cited 2022 May 22]. Available from: <https://qbi.uq.edu.au/brain/brain-anatomy/types-neurons>
6. Keynes RD, Aidley DJ, Huang CLH. *Nerve and muscle*. Fourth edition. Cambridge University Press; 2011. 2–7 p.
7. Partanen J, Cheour M. *Kliininen neurofysiologia*. Helsinki: Duodecim; 2006. 383–400 p.
8. Nervous System Intro [Internet]. [cited 2022 May 23]. Available from: <http://www.biologymad.com/nervoussystem/nervoussystemintro.htm>
9. Daube JR. *Clinical neurophysiology*. 2nd ed. Oxford ; New York: Oxford University Press; 2002. 237–238 p. (Contemporary neurology series).
10. Heino J, Vuento M. *Solubiologia*. 1st ed. WSOY; 2002. 145–159 p.
11. Lawson R. Wikimedia Commons. 2008 [cited 2023 Aug 29]. File:Anatomy and physiology of animals structure plasma membrane.jpg. Available from: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Anatomy\\_and\\_physiology\\_of\\_animals\\_structure\\_plasma\\_membrane.jpg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Anatomy_and_physiology_of_animals_structure_plasma_membrane.jpg)
12. Grant AO. Cardiac ion channels. *Circ Arrhythm Electrophysiol*. 2009 Apr;2(2):185–94.
13. Malmivuo J, Plonsey R. *Bioelectromagnetism: Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields*. Bioelectromagnetism: Principles and Applications of Bioelectric and Biomagnetic Fields. Oxford University Press; 2012. 1–506 p.
14. Kolb B, Whishaw IQ. *Fundamentals of human neuropsychology*. Eighth edition. New York, N.Y.: Worth Publishers; 2021. 93–98 p.
15. Yu FH, Catterall WA. Overview of the voltage-gated sodium channel family. *Genome Biol*. 2003 Feb 24;4(3):1–7.
16. Kiernan MC, Lin CSY. Chapter 15 - Nerve Excitability: A Clinical Translation. In: Aminoff MJ, editor. *Aminoff's Electrodiagnosis in Clinical Neurology (Sixth Edition)*. London: W.B. Saunders; 2012. p. 345–65.
17. Kiss T. Persistent Na-channels: Origin and function: A review János Salánki memory lecture. *Acta Biol Hung*. 2008;59:1–12.
18. Nienstedt W, Hänninen O, Arstila A, Björkqvist SE. *Ihmisen fysiologia ja anatomia*. 18.-19. p. Helsinki: Sanoma Pro; 2014.
19. Wikimedia Commons. File:Action potential.svg. [Internet]. 2022 [cited 2023 May 17]. Available from: [https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Action\\_potential.svg&oldid=697449565](https://commons.wikimedia.org/w/index.php?title=File:Action_potential.svg&oldid=697449565)

20. Mervaala E, Haaksiluoto E, Himanen SL, Jääskeläinen S, Kallio M, Vanhatalo S, et al. *Kliininen neurofysiologia*. 1. painos. Helsinki: Kustannus Oy Duodecim; 2019. 49–58, 425 p.
21. Salinet JL, Luppi Silva O. ECG Signal Acquisition Systems. *Developments and Applications for ECG Signal Processing: Modeling, Segmentation, and Pattern Recognition*. 2019 Jan 1;29–51.
22. McIllduff CE, Wainger BJ, Freeman RL, Samaan S, Yator I, Gutierrez H, et al. The threshold tracking nerve conduction study technique: Experience of clinical users unfamiliar with a research-grade neuronal excitability system. *Clin Neurophysiol Pract*. 2022 Jan 1;7:319–24.
23. Burke D, Kiernan MC, Bostock H. Excitability of human axons. *Clinical Neurophysiology*. 2001;112(9):1575–85.
24. Boë Rio D, Bostock H, Spescha R, Z'graggen WJ, Barnes S. Potassium and the Excitability Properties of Normal Human Motor Axons In Vivo. *PLoS One*. 2014;9(6).