

آزمایش عصب و عضله اسکلتی ۱ قور باغه

هدف: ثبت انقباضات عضله گاستروکنمیوس قورباغه و بررسی اثر دما و تحریک با فرکانس بالا بر قدرت

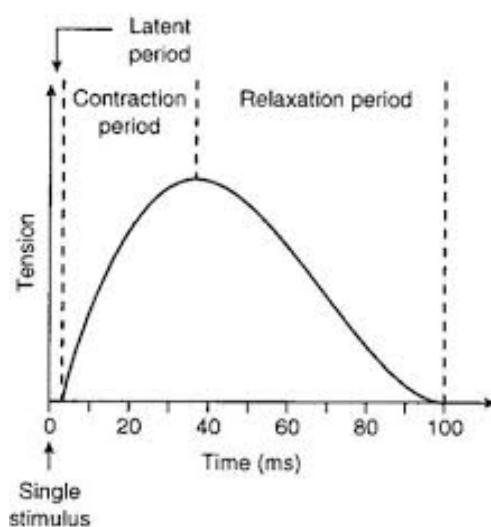
انقباضی و مدت انقباض

بطور کلی یک انقباض ساده عضلانی (Muscle Twitch) که در اثر یک تک تحریک ایجاد می شود، شامل قسمت‌های زیر است:

۱- زمان تاخیر (Latency)

۲- مرحله انقباض (Contraction phase)

۳- مرحله انبساط (Relaxation phase)



مواد و وسایل مورد نیاز:

- ۱- قورباغه
- ۲- سوزن مخصوص برای pith کردن
- ۳- پنس، قیچی، اسکالپل و نخ
- ۴- میز کوچک جراحی
- ۵- سنجاق ته گرد
- ۶- رینگر با درجه حرارت‌های مختلف
- ۷- دستگاه Power Lab
- ۸- ظرف مخصوص قرار دادن عضله

Power Lab System

این دستگاه که کاربردهای آموزشی و پژوهشی دارد و در زمینه های مختلف مانند فیزیولوژی، فارماکولوژی، بیوشیمی و غیره مورد استفاده قرار می گیرد، دارای دو بخش سخت افزاری و نرم افزاری می باشد. این سیستم انواع

مختلف سیگنال‌های مکانیکی و biopotential مانند ECG، EOG، EMG و EEG را از فرم آنالوگ به دیجیتال تبدیل و ثبت می‌نماید. در آزمایشگاه فیزیولوژی از این دستگاه برای آزمایش عصب-عضله و قلب و نیز اسپیرومتری استفاده می‌شود.

روش کار:

الف) تخریب مغز و نخاع:

جهت تخریب مغز و نخاع، قورباغه را در دست گرفته و یک خط فرضی بین دو چشم رسم کنید. سپس از زیر چشم‌ها دو خط فرضی دیگر رسم کنید تا همدیگر را در ناحیه تحتانی بصل‌النخاع قطع کنند (بطوریکه مثلث متساوی الاضلاع تشکیل شود). در این محل به نقطه نرمی می‌رسید که می‌توانید سوزن مخصوص را از آنجا وارد بصل‌النخاع نمایید. سپس سر حیوان را به طرف جلو خم نموده و سر سوزن را وارد آن کنید و با چند حرکت دورانی مغز حیوان را تخریب کنید. در صورتیکه تخریب مغز کامل انجام شده باشد، رفلکس پلک زدن مشاهده نمی‌شود. در صورت مشاهده رفلکس پلک زدن، آزمایش را دوباره تکرار کنید.

جهت تخریب نخاع سوزن را وارد فضای بین جمجمه و مهره اول کرده و این بار سوزن را به طرف نخاع هدایت کنید تا نخاع تخریب شود. در صورتیکه کار به درستی انجام شده باشد، رفلکس عقب کشیدن دست و پای حیوان از بین می‌رود. و دست و پای حیوان کامل شل می‌شود. به تخریب همزمان مغز و نخاع Double pith می‌گویند.

ب) آماده کردن عصب و عضله جهت انجام آزمایشات مربوطه

پس از تخریب مغز و نخاع، قورباغه را از طرف شکم روی تخته بخوابانید و با سنجاق ته گرد چهار دست و پای آن را به تخته ثابت کنید و مراحل ذیل را به ترتیب انجام دهید.

- پوست پای مورد نظر را شکاف داده تا حدی که این شکاف به نخاع برسد سپس پوست را از روی عضلات کاملاً کنار بزنید. به آرامی و به دقت عضله گاستروکنمیوس را پیدا کرده و اطراف تاندون آن را مشخص کنید. سپس از زیر تاندون نخعی به طول ۱۵ سانتی‌متر رد کرده و به دور تاندون گره بزنید و تاندون را از پشت گره و از بدن قطع نمائید، در حالیکه نخ به تاندون و عضله وصل باشد. در این حالت یک سر عضله در حالیکه نخ به تاندون آن وصل می‌باشد از بدن جدا شده است.

- در حین آزمایش، مدام از رینگر استفاده کنید تا عضلات خشک نشود. عضلات بالای ران را به آرامی کنار بزنید تا عصب سیاتیک پیدا شود. دقت کنید که عصب کشیده نشود.

عصب را به آرامی از بافت‌های اطراف جدا کنید تا به منشا عصب نزدیک نخاع برسید. در آنجا نیز نخعی به طول ۴ سانتی‌متر از زیر عصب رد کرده و آن را گره بزنید. سپس عصب را از نخاع قطع کنید در حالیکه نخ مربوطه را در دست دارید. بوسیله نخ آن را بالا نگه دارید و عصب را از بافت‌های اطراف بطور کامل جدا کنید تا به عضله گاستروکنمیوس برسید. مواظب باشید عصب زیاد کشیده نشود زیرا منجر به آسیب یا قطع شدن آن می‌شود.

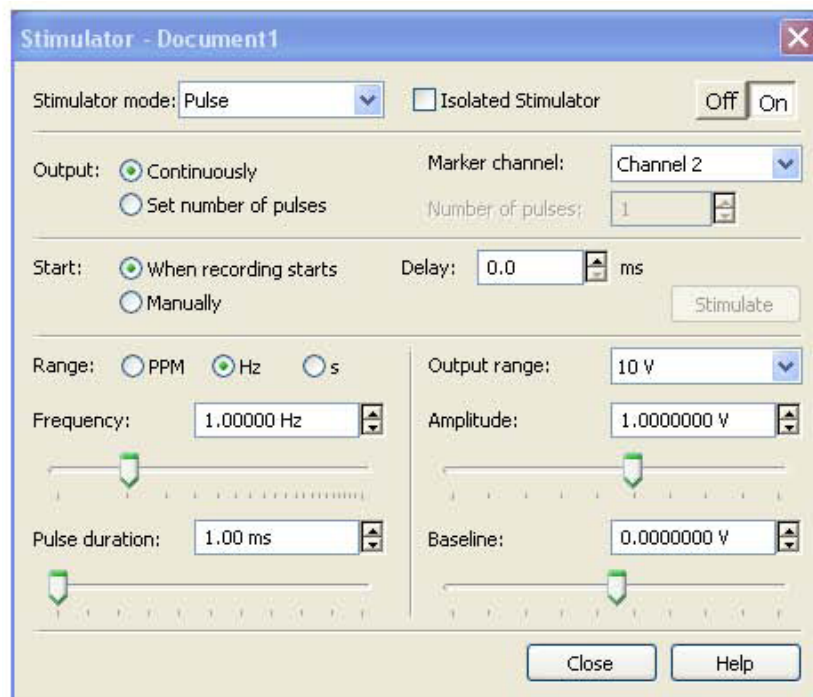
- عصب و عضله مربوط را توسط نخ‌های متصل به آنها در یک طرف قرار داده و با قیچی، طرف بالا و پائین ناحیه زانو را از بدن جدا کنید. دقت کنید که عصب از عضله جدا نشود و به محل ورود عصب به عضله آسیب نرسد. جهت اطمینان می‌توانید در این ناحیه مقداری از بافت‌های مجاور و یا حتی مفصل یا استخوان را نیز جدا نمائید. در هر مرحله باید از رینگر جهت مرطوب کردن عصب و عضله استفاده کنید.

آزمایش اول: رابطه شدت محرک با دامنه انقباضات

هدف: نشان دادن رابطه شدت محرک و پاسخ عضلانی است یعنی تغییرات دامنه انقباض عضلانی (Muscle Twitch) در ازای افزایش ولتاژ.

روش آزمایش:

۱- عصب و عضله را به آرامی درون ظرف مخصوص (bath) قرار دهید و روی هولدر مخصوص، آن را ثابت کنید.
۲- دستگاه power lab را کالیبره کرده و برای ثبت منحنی انقباض و فرکانس تحریک دو عدد کانال را باز کنید و به منظور تحریک عضله، از آیکن set up پنجره Stimulator را باز کرده و مشخصات تحریک را مشابه شکل تعریف کنید. بهتر است با باز کردن پنجره stimulator pad به مشخصات تحریک، دسترسی آسان داشته باشید.



شکل ۱- مشخصات مربوط به ثبت تویج عضلانی

۳- الکترودها را در محل مخصوص تحریک عصب قرار دهید و با تغییر amplitude، آستانه تحریک عضله را پیدا کنید. برای این منظور از کمترین ولتاژ حدود ۵۰ میکرو ولت شروع کرده و عصب را تحریک نمائید. اگر پاسخی مشاهده نشد تدریجاً بر میزان ولتاژ اضافه کرده تا به پاسخ برسید این ولتاژ برابر با آستانه تحریک است. این ولتاژ را یادداشت کنید (فواصل بین هر تحریک باید لااقل ۱۰ ثانیه باشد و مرتب با رینگر شستشو داده شود).

۴- با افزایش تدریجی ولتاژ، عصب را تحریک کنید تا زمانیکه با افزایش ولتاژ هیچگونه تغییری در نیروی انقباضی یعنی دامنه انقباض مشاهده نگردد، این ولتاژ حداکثر تحریک است آن را یادداشت کنید (بطور مثال در شکل بالا این ولتاژ ۱ ولت بدست آمده است).

در این آزمایشات می توان از تحریک مستقیم عضله استفاده نمود در این صورت بایستی جای الکترودها عوض شود و در محل مربوط به تحریک عضله قرار گیرد.

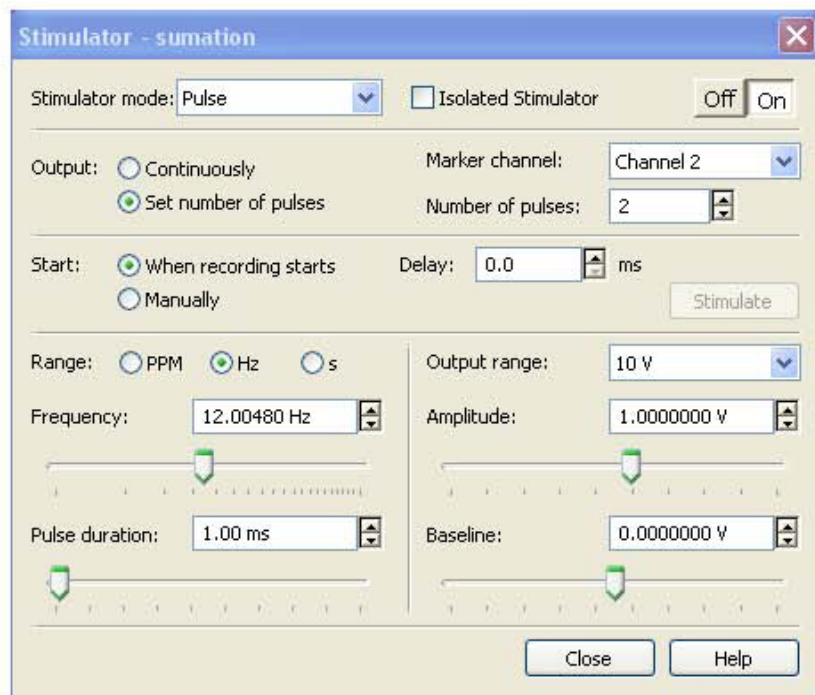
آزمایش دوم: انقباض ساده عضلانی

- ۱- الکتروودها را در محل مخصوص تحریک عصب قرار دهید.
 - ۲- پنجره stimulator نرم افزار پاورلب را از گزینه set up باز کنید.
 - ۳- ولتاژ را روی حداکثر و فرکانس را روی ۱ هرتز بگذارید تا بلندترین دامنه انقباض بدست آید.
 - ۳- یک انقباض ساده عضلانی را ثبت کنید.
 - ۴- چند قطره رینگر معمولی روی عضله بریزید.
 - ۵- چند قطره رینگر گرم ۳۵ درجه روی عضله بریزید و نتیجه را بررسی کنید.
 - ۶- چند قطره رینگر سرد ۱۰ درجه روی عضله بریزید و اثر آنرا مشاهده نمایید.
- منحنی مربوط به انقباض در دمای معمولی به این شکل است که زمان و سرعت منحنی در مرحله انقباض و انبساط (شل شدن) مساوی است.
- در محیط گرم تبادلات یونی و در نتیجه روند انقباض و انبساط سریعتر انجام می شود. سرعت و زمان انقباض و انبساط (تقریباً به یک اندازه) به ترتیب بیشتر و کمتر می شود.
- در محیط سرد برعکس تبادلات یونی و روند انقباض و انبساط ماهیچه کند انجام می شود. سرعت و زمان انقباض و انبساط بترتیب کمتر و طولانی تر می شود. بخصوص زمان شل شدن بیشتر طولانی می شود. به این دلیل که در سرما بازگشت یون کلسیم به شبکه سارکوپلاسمی کندتر انجام می شود.

آزمایش سوم: جمع شدن (Summation) انقباض عضلانی مرکب (دو قلو)

- اگر عصب سیاتیک دو بار در یک فاصله زمانی خیلی کم تحریک شود، انقباض دومی با انقباض اولی جمع می شود و این انقباض مرکب که مجموعه دو انقباض پی در پی است ممکن است از یک انقباض ساده بزرگتر باشد البته این در صورتی است که از محرک حداکثر استفاده شود.
- دلایل زیادی برای جمع شدن انقباضات وجود دارد که به بعضی از آنها در زیر اشاره می شود:
- ۱- اگر عصب را با ولتاژ حداکثر تحریک نمائید، جمع شدن انقباضات (Summation) بوجود می آید و ویسکوزیته عضله در تحریک دوم کمتر از تحریک اول می شود، و به همین علت دامنه این انقباض بیش از انقباضی است که در اثر یک تک تحریک بدست می آید.
 - ۲- در جمع شدن انقباضات بدلیل اینکه عضله قبلاً تحریک شده بنابراین اثر محرک ثانویه افزایش می یابد (بطور مثال تجمع استیل کولین در فضای سیناپس عصب و عضله زیاد می شود). یعنی تسهیل (Facilitation) ایجاد می شود. بنا براین دیپولاریزاسیون از حد طبیعی بیشتر است
 - ۳- اگر مجموعه عصب و عضله مورد آزمایش قرار گیرد، ممکن است هنگامی که تحریک دوم وارد می شود هنوز مقداری کلسیم رها شده بین فیلامان های اکتین و میوزین عضله وجود داشته باشد که به کلسیمی که با تحریک دوم آزاد می شود اضافه می گردد، بنابراین شدت انقباض از یک تک انقباض (single twitch) بیشتر است.

روش آزمایش: از مرحله ۱ تا ۳ مانند آزمایش دوم عمل نمائید دستگاه پاور لب را مطابق شکل ۲ تنظیم نمایید. بطوری که بتدریج فرکانس را افزایش داده تا دو منحنی انقباض با یکدیگر یکی شوند معمولاً در فرکانسهای ۱۲ هرتز به بالا به منحنی مطلوب می رسید.



شکل ۲- مشخصات مربوط به ثبت تویچ عضلانی مرکب

آزمایش چهارم: تتانوس در عضله مخطط

هدف: مشاهده پاسخ عضلانی به تغییر فرکانس و ایجاد تتانوس در عضله می باشد.

روش آزمایش:

مانند آزمایش اول عمل کنید، بطوریکه **set up** دستگاه پاور لب مطابق شکل ۱ باشد (یعنی با ولتاژ حداکثر و به صورت تحریکات **continuously**) مضاف بر اینکه فرکانسها را بصورت ۲، ۵، ۱۰، ۱۵، ۲۰، ۳۰ تحریک در ثانیه افزایش دهید بین هر سری از فرکانسها یکی دو ثانیه توقف کرده و در صورت لزوم بافت را با محلول رینگر مرطوب نمایید.

نکاتی که در هنگام تشریح نباید فراموش کنید:

روپوش خود را به هیچ وجه در نیاورید.

حتما از دستکش ، ماسک و عینک استفاده کنید.

اگر احساس کردید دستکش دارای مشکل است، فوراً آن را عوض کنید.

وسایل تشریح اعم از قیچی ، پنس و سوزن پیت بعد از شستشو با دترجنت بایستی در فور ضدعفونی شوند.

پرسش:

- ۱- اگر بر میزان ولتاژ حداکثر بیفزائید و عضله را تحریک کنید دامنه انقباض افزایش نمی‌یابد، علت آن چیست؟
- ۲- آیا قانون همه یا هیچ در مورد عضله مخطط صدق می‌کند یا نه و علت آن چیست؟
- ۳- از چه ولتاژی برای جمع شدن انقباضات باید استفاده نمود؟
- ۴- جمع زمانی و جمع فضایی را توضیح دهید و مشخص کنید که پدیده جمع شدن در آزمایش فوق از نوع جمع زمانی است یا فضایی.