



Estudo do Nervo e da Placa Motora

1. INTRODUÇÃO

Uma junção neuromuscular é a junção entre a parte terminal de um axônio motor com uma placa motora, que é a região da membrana plasmática de uma fibra muscular (o sarcolema) onde se dá o encontro entre o nervo e o músculo permitindo desencadear a contração muscular.

Na junção neuromuscular o neurotransmissor utilizado é a acetilcolina. A fibra nervosa ramifica-se no final, para formar a placa terminal, que se invagina para dentro da fibra muscular, mas repousa inteiramente na parte externa da membrana.

2. OBJETIVOS:

Esta aula objetiva estudar as propriedades dos nervos e suas conexões com os tecidos musculares, os potenciais de repouso e de ação, a lei da integridade do nervo e a excitabilidade nervosa.

3. MATERIAL:

A) Material biológico:

- Rã (*Rana sp.*).

B) Reagentes e equipamentos:

- Estimulador **(1)**

- Material cirúrgico e linhas.

- Seringa (3 ml).

- Cloreto de sódio.

- Lamparina.

- Pistola de Dubois – Reymond **(2)**.

- Flaxedil.

- Vidro de relógio.

- Ringer.

4. PROCEDIMENTOS CIRÚRGICOS:

A) TRANSMISSÃO NEURO - MUSCULAR. AÇÃO DO CURARE.

1. Destrua o sistema nervoso central do animal.
2. Segure a rã com a mão esquerda, flexionando a cabeça com o indicador;
3. Localize a articulação atlo-occipital, situada no centro da linha imaginária que tangencia o bordo inferior da mancha timpânica;
4. Seccione a medula com um bisturi;
5. Introduza o estilete (sentido caudal) no canal medular e gire o estilete várias vezes para destruir toda a medula ;
6. Dirija a ponta do estilete cranialmente e, com movimentos de lateralidade destrua o encéfalo. O animal ficará completamente imóvel;
7. Isole os dois nervos ciáticos , sem tirar completamente a pele da região para manter o saco linfático dorsal;
8. Faça uma ligadura numa das patas deixando livre o nervo ciático correspondente (observar o desenho);

5. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS:

1- **Estimular**, isoladamente, o nervo ciático e o músculo gastrocnêmio de ambas as patas;

2- **Injetar** 2 ml de Flaxedil (galamina) no saco linfático dorsal e esperar 60 minutos;

3. **Excitar** com estímulo isolado o nervo da pata com a ligadura e depois o músculo;

4- **Excitar** com estímulo isolado o nervo da pata sem a ligadura e depois o músculo.

B) POTENCIAL DE REPOUSO E POTENCIAL DE AÇÃO.

1- Preparação do animal: A rã é imobilizada por destruição do sistema nervoso central que é feita igual ao experimento anterior.

2- Preparação da pata galvanoscópica :

Pata galvanoscópica, como o nome indica, compreende uma pata posterior da rã, escorchada, seccionada acima do joelho e que conserva o nervo ciático tão longo quanto possível .

1. Após a destruição do SNC da rã, coloca-se sobre uma placa de cortiça e faz-se uma incisão circular da pele em redor da coxa.
2. Mantém-se com a mão esquerda o segmento anterior do animal e arranca-se, com auxílio de uma pinça-dente-de-rato na mão direita, a pele dos membros posteriores da rã.
3. Retira-se a pele com uma tração vigorosa, mas com cuidado, destacando as aderências quando necessárias.
4. Destaca-se por meio de pinça e tesoura as aderências da pele com o ânus, retirando-se toda a pele até a altura dos membros anteriores.

NOTA IMPORTANTE:

O tecido muscular exposto pela retirada da pele não deverá entrar em contato com a superfície externa da pele ou mesmo com o local onde esta estava tocando. Isto porque a superfície externa da pele secreta substâncias que são tóxicas aos tecidos internos e que podem tornar o músculo impróprio para as experiências. Portanto, uma vez retirada a pele deve-se trocar a placa. Deve-se também manter o tecido exposto constantemente umedecido com a solução de Ringer, para evitar que se torne seco.

Procede-se agora a dissecação do ciático em todo o comprimento, desde a articulação do joelho até a bacia, ao nível das raízes pelos quais emergem do canal raquidiano.

1. Para isso deita-se a rã sobre o ventre, de maneira que fique exposta a face posterior da coxa escorchada;
1. Percebem-se dois interstícios musculares longitudinais, um externo que separa o vasto externo do tríceps, do bíceps femoral, e um interno que separa o bíceps do semi-membranoso.
2. No fundo deste interstício interno, entre o bíceps e o semi-membranoso encontram-se o nervo ciático e os femorais .
3. Com os dois bastões de vidro pontiagudos, procede-se o afastamento dos músculos e isola-se o ciático na maior extensão possível.

NOTA IMPORTANTE:

Não esquecer que o nervo não deve ser tocado com instrumentos metálicos. É preciso dissecar com grande cuidado, para evitar trações nocivas.

1. Para subir a dissecação até as origens do nervo (raízes raquidianas 7^a, 8^a, 9^a), tomam-se como referência, na região pélvica os dois ossos ilíacos e, no meio do seu intervalo, a 10^a vértebra cóccix (na rã = hipostilo).
1. Com uma pinça levanta-se a extremidade posterior desta vértebra e, por meio de uma tesoura reta, seccionam-se os músculos periformes e ileococcigeos, incisando os tegumentos em toda a espessura, sempre paralelo ao osso até a sua articulação com a 9^a vértebra.
2. Rebate-se o hipostilo e, com uma tesoura corta-se ao nível da base. Deve-se ter a preocupação, nesta preparação, de não lesar os grandes vasos subjacentes ao osso: aorta abdominal e seus dois ramos de bifurcação (ilíacas).
3. Percebe-se então, além destes vasos, a direita e a esquerda, três filetes nervosos convergentes para baixo, que são as raízes dos ciáticos .
4. Ainda com bastões de vidro, disseca-se um dos grupos de raízes e. por baixo, passa-se um fio e atasse um nó, o mais alto possível. Toda a pata é sacudida por um forte abalo, que nasce em consequência da excitação mecânica do nervo. Repete-se o procedimento com a outra pata.
5. Secciona-se acima da ligadura e, exercendo uma leve tração sobre o segmento distal do nervo, por meio do fio, completa-se o isolamento até a extremidade inferior da coxa.
6. Rebate-se o nervo sobre a perna, aplica-se a superfície do gastrocnêmio e separa-se a perna da coxa por uma seção transversal praticada um pouco acima do joelho.
7. Colocar as patas galvanoscópicas numa superfície limpa e seca, cuidando sempre para manter úmido de Ringer a musculatura e o nervo ciático.

6. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS:

a. **Observar o potencial de repouso:** Pega-se uma pata galvanoscópica (pata A) e coloca-se o nervo de modo que um ponto toque numa parte integra do tecido e outra numa porção lesada. Observar.

b. **Observar o potencial de ação:**

- Colocar o ciático em alça da pata "A "sobre o gastrocnêmio da outra pata galvanoscópica (pata B).

- Excitar com estímulo elétrico o isquiático da pata " B ". Observar.

C) LEI DA INTEGRIDADE DO NERVO - PISTOLA DE DUBOIS - REYMOND.

A pistola de Dubois - Raymond consta de três eletrodos metálicos: o eletrodo do centro é de zinco, os outros dois são de cobre.

Cada eletrodo comunica-se com o interruptor da pistola, que permite estabelecer contato dos mesmos aos pares.

7. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS:

a. Colocar o nervo isquiático preparado previamente (pata galvanoscópica A) em relação com os três eletrodos;

b. Observar o desenho;

c) Apertar o interruptor que estabelece o contato do eletrodo número 1 de cobre mais próximo ao músculo com o número 2 de zinco. Depois proceder da mesma maneira, estabelecendo o contato do eletrodo número 3 de cobre e número 2 de zinco. Observar;

d. Passar um fio de linha sob o nervo, exatamente entre o eletrodo número 1 e o eletrodo número 2 de zinco. Apertar o interruptor que estabelece o contato dos eletrodos que ficam acima da ligadura (2 e 3). Observar;

e) Com um corte separar perfeitamente as duas extremidades do nervo ao nível da ligadura de tal modo que se suprima toda a continuidade física . Apertam-se os dois interruptores separadamente. Observar;

f) Restabelecer a continuidade física do nervo, pondo as duas extremidades em contato, pressionando-se sobre o interruptor que estabelece contato entre o eletrodo número 1 e número 2. Observar.

D) EXCITABILIDADE DO NERVO.

No interesse de utilizar a mesma preparação para os diversos estímulos , estes serão experimentados na ordem do que menos lesa ao mais lesivo, isto é, excitante elétrico, térmico, mecânico e químico. Será realizada na outra pata galvanoscópica (B).

8. PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS:

a. Excitante elétrico: estimular com o estimulador Harvard. Observar.

b. Excitante térmico: tocar o nervo da preparação com o estilete aquecido na sua porção mais distal. Observar.

c. Excitante mecânico: já na preparação da pata, ficou evidenciada a ação mecânica de uma ligadura feita na extremidade superior do isquiático. Observar.

d. Excitante químico: colocar NaCl num vidro de relógio e colocar a extremidade livre do isquiático da pata galvanoscópica. Observar.

