



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
ASIGNATURA DE ANATOMÍA**

**“PATRÓN DE INERVACIÓN DEL DISCO ARTICULAR DE LA ARTICULACIÓN
TEMPOROMANDIBULAR HUMANA: ESTUDIO CADAVÉRICO”**

Andrés Ignacio Rosa Valencia

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL:

**Prof. Dr. Arnoldo
Hernández**

TUTORES ASOCIADOS:

Prof. Dr. Alberto Rodríguez

Dr. Jorge Lemus Espinoza

Adscrito a proyecto: “Patrón de inervación de los músculos craneomandibulares humanos. Evaluación mediante tinción de Sihler.

SANTIAGO - CHILE 2014



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLOGÍA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
ASIGNATURA DE ANATOMÍA**

**“PATRÓN DE INERVACIÓN DEL DISCO ARTICULAR DE LA ARTICULACIÓN
TEMPOROMANDIBULAR HUMANA: ESTUDIO CADAVÉRICO”**

Andrés Ignacio Rosa Valencia

**TRABAJO DE INVESTIGACIÓN
REQUISITO PARA OPTAR AL TÍTULO DE
CIRUJANO-DENTISTA**

TUTOR PRINCIPAL:

**Prof. Dr. Arnoldo
Hernández**

TUTORES ASOCIADOS:

Prof. Dr. Alberto Rodríguez

Dr. Jorge Lemus Espinoza

Adscrito a proyecto: “Patrón de inervación de los músculos craneomandibulares humanos. Evaluación mediante tinción de Sihler.

SANTIAGO - CHILE 2014

AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a todos quienes han participado en mi proceso de formación.

A Marcela, Isadora y Jorge, por todo.

A Jaime, por enseñarme a tener vocación para vivir la vida.

A Valentina, mi compañera.

A Iván y Nico.

A Tatiana, por el apoyo incondicional.

A Julio, Mabel y familia, por abrirme las puertas.

A mis primos queridos.

A mis amigos, Matías, David, Cristian, Ignacio, Diego, Andrés, Marco, Nicolás, Soledad, Fernanda, Pablo M, Pablo S, Francisca, Constanza, Sebastián y Jose.

A mis profesores.

A Arnoldo, guía y amigo.

Al equipo de Anatomía Humana de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Por haber hecho esto posible.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
MARCO TEÓRICO	2
OBJETIVO GENERAL.....	14
MATERIAL Y MÉTODOS	15
RESULTADOS	21
DISCUSIÓN.....	27
CONCLUSIONES	32
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	34

RESUMEN

Introducción: El propósito de este estudio descriptivo fue caracterizar el patrón de inervación del disco articular de la articulación temporomandibular. Aunque se ha identificado la existencia de terminales nerviosos sensitivos en el disco articular y que se reconocen los troncos nerviosos potencialmente implicados en su inervación, el modo en que se distribuyen las estructuras al interior del disco permanece desconocido. Por esta razón se propone en este estudio una descripción anatómica del patrón de inervación discal, aportando información esencial tanto para la literatura anatómica como para la terapéutica en trastornos temporomandibulares.

Metodología: Se realizó la disección anatómica de 8 discos articulares de las articulaciones temporomandibulares del lado derecho de cadáveres conservados. Los discos fueron sometidos al método de tinción de Sihler y luego observados bajo lupa estereoscópica y transiluminación. Se realizó fotografía estandarizada dividiendo arbitrariamente el disco en 5 zonas y se caracterizó el patrón de inervación mediante software computacional.

Resultados: Se obtuvieron 8 discos articulares disecados y teñidos adecuadamente. Se observó presencia de estructura nerviosa en todas las zonas del disco articular con excepción de la zona central o de trabajo. Las estructuras nerviosas discurren como tronco único o múltiple en dirección antero-posterior con un número variable de colaterales por las zonas lateral y medial del disco, comunicando la zona anterior con la posterior con arborización variable. Se estableció un patrón de inervación común a todos los discos a través de una descripción anatómica y un esquema.

Conclusiones: Es posible identificar un patrón de inervación común en los discos articulares estudiados.

INTRODUCCIÓN

La articulación temporomandibular (ATM) corresponde al conjunto de estructuras que establecen una relación entre la porción escamosa del hueso temporal, específicamente la fosa mandibular, y la cabeza del proceso condilar de la mandíbula

Corresponde a la única articulación que trabaja en conjunto con su opuesta de forma sincrónica, y sus características histológicas reflejan su grado de especialización, permitiéndole realizar movimientos complejos asociados a una capacidad amortiguadora de fuerzas (Manns 2013).

El disco articular de la ATM corresponde a una estructura fibrocartilaginosa interpuesta entre estas superficies articulares y es afectado, bajo ciertas circunstancias, por procesos patológicos de etiología y sintomatología diversa llamados trastornos temporomandibulares (TTM) que pueden alterar su posición y morfología.

A pesar de que se reconocen a nivel macroscópico los troncos nerviosos que están potencialmente implicados en la inervación del disco articular, la identificación y caracterización del patrón de distribución nerviosa al interior del disco articular es aún desconocida al igual que su comportamiento en sobrecargas articulares y su asociación a la sintomatología observada en estos TTM.

Ante esta problemática, se hace necesario conocer el patrón de distribución de los nervios que participan en la inervación al interior del disco articular. El estudio anatómico de microdissección del trayecto de estos nervios imposibilita reconocer sus ramos colaterales más pequeños y a la vez impide reconocer las relaciones del nervio con la estructura, por lo que deben utilizarse técnicas anatómicas que permitan la visualización y caracterización de los nervios sin perder las relaciones con el disco. En respuesta a esto, la técnica de tinción de Sihler permite la tinción de las estructuras nerviosas y a la vez la translucidez del tejido a estudiar, revelando de este modo el patrón de inervación del disco articular (Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011).

MARCO TEÓRICO

1. ANATOMÍA Y ROL EN LA DINÁMICA MANDIBULAR

La articulación temporomandibular corresponde al conjunto de estructuras que establecen una relación entre la porción escamosa del hueso temporal, específicamente la fosa mandibular, y la cabeza del proceso condilar de la mandíbula. La ATM se clasifica como una articulación bicondílea doble ya que el cóndilo temporal y el mandibular participan del complejo articular, subdivididos por una estructura estabilizadora fibrocartilaginosa llamada disco articular. De este modo se establecen dos subarticulaciones, una supradiscal y otra infradiscal (Moore 2002, Lataryet 2004, Rouvière 2005).

El disco articular corresponde a una estructura fibrosa interpuesta entre las superficies articulares de la ATM, de forma ovalada, alargado transversalmente, cóncava por su cara inferior y cóncavo-convexa por su cara superior.

Topográficamente el disco ha sido subdividido en zonas anterior, media, posterior, siendo la zona media o “de trabajo” la porción más delgada, avascular y no inervada. La zona anterior tiene aproximadamente 2 mm de grosor y no varía su dimensión en las porciones lateral y medial mientras que la zona media tiene aproximadamente 1 mm de grosor y se adelgaza hacia lateral. La zona posterior tiene aproximadamente 2.7mm siendo la de mayor grosor aunque se adelgaza hacia su aspecto lateral (Wurgaft 2003, Manns 2013).

La anatomía del disco articular se encuentra en directa relación con la morfología de las superficies articulares y con la función articular desarrollada en el crecimiento y desarrollo, de tal manera que cuando su forma se altera en el adulto, lo hace de manera irreversible. Su morfología está diseñada para compensar las incongruencias entre las superficies articulares tanto en reposo como en funcionamiento (Ohnuki, Fukuda et al. 2006, Sakar, Calisir et al. 2013).

El disco articular de la ATM cumple la función de disminuir la fricción y atenuar las cargas entre ambas superficies articulares (Manns 2013).

El disco articular se relaciona hacia superior con la fosa mandibular y la eminencia articular de la porción escamosa del hueso temporal. La fosa mandibular es dividida por la fisura timpanoescamosa y solo es articular en su porción anterior.

Hacia inferior se relaciona con la cabeza del proceso condilar de la mandíbula, que es una estructura elíptica de dimensiones medio-lateral mayor que antero-posterior. Su superficie articular es convexa.

Hacia posterior se relaciona con zona retrodiscal, la cual es muy vascularizada y se orienta como una banda superior de tejido elástico que fija el disco a su cápsula articular tras la lámina timpánica y una banda inferior de tejido rico en fibras colágenas que ancla el disco al margen posterior de la superficie articular del proceso condilar de la mandíbula. Esto conforma la banda posterior del disco, la cual actuará como elemento de anclaje o de adhesión posterior (Bag, Gaddikeri et al. 2014).

Hacia anterior se relaciona con el ligamento capsular y con el músculo pterigoideo lateral. El ligamento capsular forma la cápsula articular que rodea la articulación temporomandibular asegurando la unión de las superficies articulares y limitando sus movimientos (Sencimen, Yalcin et al. 2008).

Revistiendo la cápsula articular por el interior de las cavidades articulares y enfrentándose al disco se encuentra la membrana sinovial, que genera y mantiene el líquido sinovial. La función del líquido sinovial es lubricar y aportar a los requerimientos metabólicos del disco articular. La nutrición del disco se realiza por difusión de nutrientes a través de la matriz extracelular, provenientes de los capilares sanguíneos de la membrana sinovial y del tejido retrodiscal, y de aquellos suspendidos en el líquido sinovial (Cuccia, Caradonna et al. 2013).

El músculo pterigoideo lateral corresponde a un músculo que posee dos cuerpos los cuales cumplen funciones diferentes. El haz inferior del músculo se extiende desde la superficie externa de la lámina lateral del proceso pterigoides del esfenoides hacia posterior, superior y lateral llegando a insertarse en el cuello del proceso condilar de la mandíbula, en la fosita pterigoídea. Su función, en contracción bilateral es la protrusión mandibular, y en contracción unilateral genera

un movimiento lateral contralateral de la mandíbula. Se ha descrito acción en conjunto con los depresores mandibulares en apertura. El haz superior se extiende desde la superficie infratemporal del ala mayor del hueso esfenoides hasta insertarse en el cuello del proceso condilar de la mandíbula, abarcando parte de la cápsula y disco articular en su porción anterior. Su función es principalmente en cierre mandibular en conjunto con los elevadores ayudando al disco a reposicionarse en cierre y sostener al complejo disco-condilar adaptado sobre el vertiente posterior de la eminencia articular en el momento del cierre oclusal final (Wongwatana, Kronman et al. 1994, Moore 2002, Wurgaft 2003, Lataryet 2004, Rouvière 2005, Manns 2013).

Durante los movimientos mandibulares, la zona media de trabajo del disco se encuentra dispuesta entre la cabeza mandibular del cóndilo mandibular y el tubérculo articular, mientras que hacia lateral y medial el disco se encuentra completamente adherido a la cápsula articular (Fujita, Iizuka et al. 2001, Bhutada, Phanachet et al. 2008, Davies, Charles et al. 2012, Imanimoghaddam, Madani et al. 2013).

Se ha descrito que la inervación de la ATM, y por tanto del disco, depende fundamentalmente de ramos nerviosos dependientes del nervio mandibular. De este modo la porción posterior del disco recibe inervación sensitiva por parte del nervio auriculotemporal, la porción anterior es inervada directamente a nivel sensitivo y propioceptivo por fibras nerviosas del nervio maseterino, además de filetes nerviosos provenientes del nervio temporal profundo posterior aportando a nivel sensitivo (Moore 2002, Davidson, Metzinger et al. 2003, Kim, Kwak et al. 2003, Lataryet 2004, Rouvière 2005, Asaki, Sekikawa et al. 2006, Anagnostopoulou, Venieratos et al. 2008, Arai and Sato 2011).

S. Asaki, 2006, identificó por primera vez terminaciones nerviosas libres de tipo sensitivas mielinizadas y no mielinizadas al interior del parénquima de discos articulares de la ATM en adultos responsables de la propiocepción del disco, mediante tinción de plata y microscopio electrónico de transmisión (Asaki, Sekikawa et al. 2006).

A pesar de que se reconocen a nivel macroscópico los troncos nerviosos que están potencialmente implicados en la inervación del disco articular, la identificación y caracterización del patrón de distribución nerviosa al interior del disco articular es aún desconocida al igual que su comportamiento en sobrecargas articulares y su asociación a la sintomatología observada en estos TTM (Leher, Graf et al. 2005, Kim 2014, Lee, Lin et al. 2015).

Ante esta problemática, se hace necesario conocer el patrón de distribución de los nervios que participan en la inervación del disco articular.

Existen variados métodos para analizar y visualizar la distribución nerviosa al interior de una estructura anatómica; dentro de ellos el más comúnmente utilizado corresponde a la microdissección anatómica, esta técnica tiene como limitantes el estudio acabado y preciso de los ramos nerviosos menores, terminales y sus comunicaciones (Shiozaki, Abe et al. 2007, Salinas, Jackson et al. 2009).

La reconstrucción computarizada por otro lado permite la adquisición de imágenes de cortes seriados anatómicos o histológicos; estas imágenes son digitalizadas y reconstruidas para obtener una representación en 3D de la muestra a estudiar. Este método es muy complejo y no muy preciso debido a la distorsión durante el corte de tejidos, problemas con la tinción, orientación de las muestras y la reconstrucción propiamente tal (Radlanski, Lieck et al. 1999, Matsuo, Takeda et al. 2013, Kurobe, Hakkakian et al. 2014).

Las técnicas de tinción permiten identificar el recorrido nervioso al utilizar compuestos químicos específicos afines con las estructuras nerviosas, con diferente grado de contraste y rendimiento variado. Aquí encontramos las tinciones de plata y la técnica de Silher (Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011, Yang, Won et al. 2012)

2. ASPECTOS HISTOLÓGICOS

El disco articular está constituido por tejido conectivo fibroso denso con bandas de colágeno tipo I orientadas al azar, con excepción de la zona media donde se encuentran organizados según la función.

La zona anterior está formada por tejido fibroso denso. Las fibras de colágeno tipo I corren en todas las direcciones y se insertan en la zona anterior de la cápsula relacionándose con las fibras musculares estriadas del músculo pterigoideo lateral. El tejido fibroso denso del disco se interrelaciona en esta zona con el tejido conectivo laxo vascularizado de la cápsula articular (Ohta, Suwa et al. 1993, Chan, Lin et al. 2004).

La zona media o “de trabajo” está formada por tejido fibroso denso, más delgado, y con gruesas bandas de colágeno tipo I. Es posible encontrar islotes de tejido cartilaginoso entre las bandas de colágeno que aumentan su resistencia, los que coinciden en ubicación con las zonas que reciben mayor carga.

La zona posterior está formada por tejido fibroso denso con bandas de colágeno tipo I orientadas de acuerdo a la distribución de fuerzas en los movimientos articulares. Ocasionalmente pueden encontrarse zonas de tejido conectivo laxo vascularizado y algunos islotes de tejido cartilaginoso (Radlanski, Lieck et al. 1999, Chan, Lin et al. 2004).

La zona retrodiscal está formada por tejido laxo muy vascularizado. Posee bandas de colágeno tipo I y gruesas fibras elásticas (Moore 2002, Wurgaft 2003, Chan, Lin et al. 2004, Almeida, Baioni et al. 2008, Manns 2013).

3. ASPECTOS EMBRIOLÓGICOS

Las estructuras asociadas a la ATM se forman alrededor de las 8 semanas de desarrollo a partir de una zona de tejido mesenquimático entre la rama de la mandíbula y la porción escamosa del hueso temporal en desarrollo. Este tejido se condensará en el centro para formar el disco articular y en la zona externa para formar la cápsula articular con su membrana sinovial. Además este bloque da origen al músculo pterigoideo lateral (Wurgaft 2003, Manns 2013).

Al 3er mes de vida aparece el cartílago del cóndilo mandibular sobre la rama mandibular que luego se convertirá en hueso por osificación endocondral. Al mismo tiempo aparecen en la zona hendiduras aisladas provenientes del aumento de matriz extracelular amorfa que se unirán formando una cavidad continua ocupada por líquido sinovial dando origen al compartimiento infradiscal. Una semana después se forma el compartimiento supradiscal de la misma forma y queda estructurado el disco primitivo (Wurgaft 2003).

A medida que avanza el proceso de gestación, las células mesenquimáticas del disco primitivo se diferencian en fibroblastos que sintetizan colágeno tipo I para dar origen al tejido fibroso compacto característico del disco en el adulto (Wright and Moffett 1974, Wurgaft 2003).

Una vez que los distintos componentes de la ATM están constituidos, estos no varían más allá del tamaño (Moore 2002, Nozawa-Inoue, Amizuka et al. 2003, Chan, Lin et al. 2004, Giambartolomei, Brunotto et al. 2011, Manns 2013, Gu, Wu et al. 2014) (Wurgaft 2003).

4. ALTERACIONES DE LA POSICIÓN DISCAL Y CAMBIOS MORFOLÓGICOS DEL DISCO

La relación estructural y morfológica entre el disco, las superficies articulares de la ATM y el musculo pterigoideo lateral, puede verse alterada y modificada al exceder su límite funcional generando los llamados trastornos temporomandibulares, que corresponden al conjunto de patologías de etiología diversa que afectan la articulación temporomandibular (Botteron, Verdebout et al. 2009, Manfredini 2009).

En relación a los TTM encontramos las alteraciones del complejo disco-condilar, dentro de ellas las llamadas luxaciones discales con y sin reducción, donde el disco varía su posición normal entre las distintas estructuras en función determinando en ciertas ocasiones alteraciones en la biomecánica como impotencia funcional, ruidos articulares y dolor. Esto implica una modificación de la zona de recepción de cargas del disco articular y a largo plazo la modificación irreversible de su morfología (Al-Harthy, Al-Bishri et al. 2010, Akhter, Morita et al. 2011).

Otras alteraciones corresponden a las adherencias, donde el disco articular puede quedar pegado a alguna de las superficies articulares debido a una carga estática prolongada o a un déficit de lubricación. A pesar de que suelen ser situaciones pasajeras, de persistir pueden determinar un cambio en la morfología discal por procesos de desgaste físico (Campos, Macedo Sobrinho et al. 2008).

Existen además procesos degenerativos de las estructuras de la articulación temporomandibular que llevan a la pérdida de la morfología normal, y en el caso del disco articular, a la alteración de sus zonas fisiológicamente preparadas para resistir cargas (Wongwatana, Kronman et al. 1994, Liu, Yamagata et al. 2000, Bakke, Moller et al. 2005, Manfredini 2009, Cai, Jin et al. 2011, Roh, Kim et al. 2012, Imanimoghaddam, Madani et al. 2013, Naeije, Te Veldhuis et al. 2013).

La sintomatología asociada a los TTM es variable entre los distintos individuos, y en general corresponde a impotencia funcional y dolor, el cual puede ser cervical, mandibular, articular, craneosinusal, cefalea, otalgia o dolor facial. Esta

sintomatología puede presentarse aislada o en forma combinada tanto en la ATM, como en músculos craneomandibulares, cervicales y estructuras asociadas. Sin embargo muchos de estos cuadros pueden presentarse asintomáticos. La sintomatología no se asocia al nivel de daño de la patología temporomandibular. (Leher, Graf et al. 2005, Kim 2014, Lee, Lin et al. 2015).

5. FUNDAMENTOS DE LA TECNICA DE SIHLER

La técnica de Sihler fue introducida por el Dr. Charles Sihler en 1895 para dilucidar la distribución de los terminales nerviosos de órganos de serpientes y ratas a través de la identificación de husos neuromusculares(Won, Kim et al. 2011).

Desde 1990 el protocolo de tinción de Sihler fue modificado en variadas ocasiones y comenzó a utilizarse para dilucidar el patrón de inervación de la mucosa de órganos y músculos primero en animales. Luego y progresivamente se utilizó en el estudio de tejidos humanos(Won, Kim et al. 2011).

Esta técnica tiene como propósito lograr transparentar el tejido muscular mientras tiñe de color violeta el patrón nervioso intramuscular, permitiendo identificarlo más fácilmente sin la disrupción estructural que provocaría la disección quirúrgica. La muestra a estudiar debe ser sometida a varias etapas, que corresponden a fijación, maceración y despigmentación, descalcificación, tinción, desteñido, neutralización, aclaramiento y transparencia (Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011, Yang, Won et al. 2012). El fundamento químico de cada una de las etapas del protocolo de tinción se detalla a continuación.

a) Fijación:

El proceso de fijación tiene como objetivo estabilizar las estructuras celulares, principalmente las proteínas. Debido a esto se producen cambios en su estructura ya que sufren un proceso de denaturación.

La fijación con formaldehído es uno de los métodos más utilizados. El principio químico fundamental es la unión de grupos aminos de las proteínas mediante el establecimiento de una estructura denominada puente metilénico. Esto permite evitar los fenómenos característicos de autólisis y posterior putrefacción que experimentan los tejidos que no son sometidos a un proceso de conservación.

b) Maceración y despigmentación

Es un proceso mediante el cual los tejidos se someten a agentes alcalinos con gran potencial osmótico que permiten la salida de líquidos tisulares y posterior

reemplazo por el agente macerante, ablandando, aclarando y decolorando el tejido. Los tiempos estandarizados de maceración permiten la mantención de las estructuras más densas como los nervios, los cuales están cubiertos por un tejido conectivo denso denominado epineuro. Tiempos prolongados de maceración alteran los tejidos de manera irreversible.

c) Decalcificación

Este procedimiento permite retirar de los tejidos el calcio presente en éstos. El tejido muscular estriado y el disco articular poseen una elevada concentración de calcio. El preparado se tiñe con una solución en la que está presente la hematoxilina, la cual es afín a este calcio que es un componente basófilo del tejido y de no ser retirado, generaría precipitados inespecíficos de colorante. Por lo tanto la decalcificación se realiza para aumentar la especificidad de la técnica.

d) Tinción

El principio fundamental de este procedimiento es la tinción de la mielina presente en el tejido nervioso. La mielina rodea y aísla eléctricamente a los axones nerviosos, y es rica en fosfolípidos. Los fosfoglicéridos y fosfoesfingolípidos son los principales lípidos estructurales de las membranas y de los axones del tejido nervioso. Las fosfatidilcolinas son comúnmente conocidas como lecitinas y corresponden a un fosfoglicérido unido a una colina, solubles en todos los solventes lipídicos, excepto la acetona. La fosfatidilcolina es uno de los principales constituyentes de las bicapas lipídicas de las membranas celulares y de la mielina del axón.

El principio de unión de la hematoxilina a la mielina es a través de un mordiente metálico que en este caso corresponde a aluminio. Éste es capaz de unirse covalentemente a algunos colorantes para formar los denominados complejos de coordinación, generando unión con la colina y a grupos hidroxilos adyacentes a través de dobles enlaces. Al ser una hematoxilina ácida, se obtiene un complejo metal colorante con mayor afinidad a los tejidos.

e) Decoloración

Debido a que el proceso de tinción tiñe todas las estructuras por igual, es necesario realizar un procedimiento de decoloración, el que consiste en someter a la muestra a baños de inmersión en la misma solución descalcificadora. La decoloración se produce fundamentalmente debido a que es una tinción regresiva, es decir, tiñe hasta un punto máximo y posteriormente puede diferenciarse y decolorar. La razón por la cual las estructuras nerviosas se decoloran más lento no es del todo clara, sin embargo se postula que es por la interacción covalente entre el colorante y la mielina. Tiempos prolongados de decoloración destiñen incluso las fibras nerviosas.

f) Neutralización

El Ph de la solución de Sihler es ácido y favorece la decoloración, por lo que se requiere de una etapa que permita neutralizar la muestra para estabilizarla y mantener la coloración de ésta.

g) Aclaramiento y transparencia

Este proceso le otorga a la muestra una densidad óptica que permita el adecuado paso de luz, para poder realizar adecuadamente el estudio de observación por transiluminación a lo largo del tiempo.

La técnica de Sihler presenta las siguientes ventajas:

- Permite observar el patrón de inervación de la muestra a estudiar sin interrupciones. Esto significa que preserva la integridad de los ramos nerviosos, incluyendo los plexos más densos y sus comunicaciones.
- Es posible precisar el patrón de ramificación y distribución intramuscular del nervio. Esto es que las estructuras nerviosas son teñidas azul oscuro o púrpura lo que permite localizar no solamente el recorrido intramuscular del nervio, sino que también su trayecto extramuscular, punto motor, ramificaciones, número y diámetro de el o los troncos principales.
- La estructura tridimensional de un órgano entero a estudiar puede ser preservada. Esto trae como consecuencia que las relaciones topográficas y

morfológicas entre los ramos nerviosos, vasos sanguíneos de mayor calibre, fascículos musculares y otras estructuras permanecen indemnes.

- Puede ser observada la organización nerviosa dentro de un órgano estructuralmente complejo. Esto permite analizar las diversas relaciones entre cada uno de los distintos nervios implicados en la inervación de dichas estructuras.
- Pueden ser delimitados los compartimentos neuromusculares de un músculo.
- Muestras sobredesteñidas o pobremente teñidas pueden someterse nuevamente al protocolo de tinción.
- Muestras antiguas que se encuentren fijadas en formalina pueden ser útiles para ser sometidas al protocolo de tinción de Sihler.
- Muestras teñidas pueden ser preservadas por mucho tiempo en glicerina pura.

La técnica de Sihler presenta las siguientes limitaciones:

- No es posible determinar la naturaleza del ramo nervioso al interior del músculo. Esto dice relación a que la técnica no discrimina el componente funcional de los nervios en cuestión.
- La relación entre los terminales nerviosos y el órgano efector no puede ser observada en detalle. Los terminales de las fibras nerviosas intramusculares se tiñen débilmente debido a que se vuelven más delgados y su vaina de mielina gradualmente desaparece.
- El éxito de la tinción depende del tamaño de la muestra. En general de un músculo más pequeño y más delgado se obtienen mejores resultados de tinción.
- La técnica de tinción de Sihler es un proceso que requiere una alta demanda de tiempo y alta capacidad técnica.

(Lewkowitz 1980, Lau, So et al. 1991, Korzhevskii and Otellin 1993, Salinas, Jackson et al. 2009, Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011, Yang, Won et al. 2012).

OBJETIVO GENERAL

Describir la distribución nerviosa en el disco articular de la articulación temporomandibular.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Observar y graficar la distribución de las estructuras nerviosas en el disco articular mediante fotografías digitales estandarizadas.
2. Describir el patrón de distribución nerviosa según división topográfica del disco articular mediante software computacional.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se procedió a realizar un estudio descriptivo transversal en las instalaciones del Laboratorio de Morfología de Cabeza y Cuello, ubicado en la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile y dependiente tanto del Instituto de Ciencias Odontológicas de la Facultad de Odontología como del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile.

La unidad de muestra a evaluar correspondió a discos articulares de la articulación temporomandibular obtenidos de cadáveres humanos conservados; el tamaño muestral por estructura se estableció por conveniencia, siendo este de 8. Los discos fueron obtenidos entre los cadáveres humanos disponibles en el Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo que cumplieron con los criterios de inclusión. Los criterios de selección aplicados fueron los siguientes:

- Cadáveres de hombres y mujeres mayores de 18 años de edad.
- Integridad estructural del territorio máxilo-facial.
- Ausencia de deformaciones externas evidentes.

Para la realización de este trabajo se contó con la debida autorización sanitaria y legal por parte de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, en relación al modo de obtención y conservación del material cadavérico humano (Anexo 1).

Una vez seleccionados los cuerpos se procedió a realizar el examen intraoral donde se registró la fórmula dentaria. Los antecedentes obtenidos fueron registrados en una ficha ad-hoc previamente confeccionada (Anexo 2), en donde se consideraron adicionalmente el número identificador del cadáver y el sexo.

Para la obtención de los discos a estudiar se procedió a realizar la disección cadavérica del lado derecho de las regiones superficiales de la cara y luego de la región infratemporal. Este procedimiento se describe a continuación:

Con una hoja bisturí nº15 se realizó una incisión vertical preauricular en el plano superficial, con límite inferior 1 cm bajo el borde basilar mandibular. El límite

superior de la incisión preauricular se continuó hacia anterior siguiendo la emergencia del pelo, mientras que la inferior se continuó inferiormente tomando como referencia el músculo esternocleidomastoideo. Se procedió entonces mediante disección roma y aguda y desde posterior hacia anterior a disecar el plano cutáneo, obteniendo finalmente la exposición de la región parótido-masetérica y geniana, observándose las estructuras parótida, masetero, músculos faciales, nervio facial, ducto parotídeo y ramas superficiales de la arteria facial y temporal superficial. Posterior a esto, se procedió a la exéresis de las estructuras parótida y nervio facial de modo tal de exponer el músculo masetero, el cual fue desinsertado para su posterior análisis. Una vez realizado esto, se procedió a cortar la rama mandibular, de modo tal de exponer la región infratemporal, con la correspondiente disección de los elementos nerviosos y vasculares de ella. Finalmente se disecó la articulación temporomandibular desde superficial a profundo, de modo tal de exponer la cavidad articular y visualizar el disco articular. Se procedió a desinsertar el resto de los músculos craneomandibulares y en el caso del pterigoideo lateral, este se obtuvo en conjunto con el disco articular, previamente liberado.

Los discos articulares obtenidos de la disección fueron sometidos a un protocolo de tinción llamada método de Sihler, cuyo objetivo final es la tinción de las estructuras nerviosas, con mantención de la integridad del tejido, ya que este se hace transparente y sin necesidad de microdisección nerviosa. La tinción de Sihler siguió un estricto protocolo subdividido en 8 etapas, las que en su totalidad demoraron aproximadamente entre 3 y 4 meses, dependiendo del grosor y tamaño de la pieza a estudiar (Ver tabla 1). Las etapas se detallan a continuación:

- **FIJACIÓN:** El órgano o tejido a estudiar debe ser fijado en formalina no neutralizada al 10% durante 1 mes. La formalina debe ser cambiada 1 vez a la semana o cada vez que esta se vuelva turbia.
- **MACERACIÓN Y DEPIGMENTACIÓN:** Los tejidos fijados deberán ser lavados en un chorro de agua durante 1 hora, posteriormente son colocados en la solución de maceración (KOH acuoso al 3%) durante 4

semanas; la solución debe ser cambiada cada 1 o 2 días hasta que el tejido se vuelva blanqueado y translucido.

- **DECALCIFICACIÓN:** Una vez macerado y despigmentado el tejido debe ser lavado suavemente en un chorro de agua durante 1 hora. Posteriormente el tejido es ubicado en la tinción de Sihler I (un volumen de ácido acético glacial, un volumen de glicerina y seis volúmenes de hidrato cloral acuoso al 1%), con el objetivo de decalcificar el órgano. La solución debe ser cambiada 2 veces a la semana. Esta etapa durará entre 3 a 4 semanas.
- **TINCIÓN:** El órgano o tejido descalcificado, debe ser lavado en un chorro de agua durante 30 minutos, posteriormente este es teñido con la solución de Sihler II (un volumen de hematoxilina Ehrlich, dos volúmenes de glicerina y seis volúmenes de hidrato cloral acuoso al 1%); la tinción debe realizarse durante 4 semanas, la solución debe cambiarse 1 o 2 veces durante este tiempo.
- **DESTINCIÓN:** El órgano teñido debe ser lavado durante 30 minutos bajo un chorro de agua, posteriormente este debe ser desteñido utilizando solución de Sihler I. A modo de Ejemplo para desteñir laringe y faringe humana se necesitaran para esta etapa de 3 a 4 horas, cuando la solución se vuelva azul o púrpura, esta deberá ser cambiada.
- **NEUTRALIZACIÓN:** Posterior al detenimiento de la muestra, esta se presenta ácida, por lo que debe ser neutralizada con una solución de carbonato de litio al 0,05%. La muestra debe ser lavada durante 60 minutos bajo un chorro de agua y luego neutralizada con un movimiento de agitación durante 1 o 2 horas; el órgano debe ser examinado cada 30 minutos.

- **ACLARAMIENTO:** La muestra debe ser lavada suavemente bajo un chorro de agua durante 1 hora. Posterior a esto los tejidos deben ser clareados en glicerina acuosa a diferentes concentraciones (40, 60 y 80%, por 24 hrs cada una o glicerina acuosa al 50% durante 3 a 5 días.
- **TRANSPARENCIA:** La muestra clareada debe ser preservada en glicerina al 100% con unos pocos cristales de timol. Esta solución debe ser cambiada cada 6 meses.

Tabla 1: Método tinción de Sihler

Nº	PROCEDIMIENTO	SOLUCION	TIEMPO	ASPECTO AL FINALIZAR
1	Fijación	Formalina neutralizada al 10%	no 4 semanas	La pieza obtiene una consistencia muy rígida, casi pétreo.
2	Maceración y despigmentación	KOH acuoso	4 semanas	Muestra comienza a blanquearse y los nervios pueden verse como pequeñas fibras de color blanco.
3	Descalcificación	Solución Sihler I	3 a 4 semanas	
4	Tinción	Solución Sihler II	4 semanas	Todas las estructuras nerviosas, son observadas de un color azul violeta oscuro.
5	Desteñido	Solución Sihler I	4 horas	Las muestras deben ser observadas por transiluminación, esta etapa debe ser detenida cuando los nervios adquieran un color azul oscuro o violeta.
6	Neutralización	Carbonato de litio	1 a 2 horas	El procedimiento debe ser detenido cuando el color de los nervios pasen de violeta a azul oscuro.
7	Aclaramiento	Glicerina acuosa a distintas concentraciones	3 a 4 días	Esta etapa debe ser detenida cuando los nervios pequeños puedan ser observados bajo el microscopio de disección.
8	Transparencia	Glicerina con timol		

(Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011, Yang, Won et al. 2012)

Al finalizar esta etapa los discos articulares sometidos al método de Sihler fueron fotografiados, utilizando para ello una cámara fotográfica digital marca Nikon D3100. Se procedió a estandarizar la toma fotográfica, la cual se describe a continuación; La estructura en estudio es posicionada sobre un negatoscopio dispuesto de forma horizontal y cuya fuente lumínica corresponda a luz blanca. La fotografía se realiza posicionando la cámara a 30 centímetros de la superficie del negatoscopio. Para el análisis de las estructuras nerviosas más finas, estas son visualizadas y fotografiadas bajo microscopio estereoscópico Zeiss Stemi DV4.

Las imágenes obtenidas fueron manejadas en cuanto al grado de saturación, luz y nitidez. Mediante el software Adobe Photoshop se realizó el análisis de las imágenes, para ello los discos articulares fueron divididos topográficamente en 5 regiones, a saber: anterior, posterior, lateral, medial y zona central, de forma arbitraria trazando una línea en el eje mayor del músculo pterigoideo lateral, luego una perpendicular que pasa por el centro de la zona central de trabajo identificada visualmente y trazando las bisectrices de los ángulos formados para definir las 4 zonas restantes (Ver figura 1) , registrándose las siguientes variables:

1. Presencia de estructuras nerviosas por zona topográfica.
2. Existencia de un ramo único o múltiples por zona topográfica
3. Dirección de los troncos nerviosos y ramos colaterales.
4. Comunicación y arborización de los ramos nerviosos.

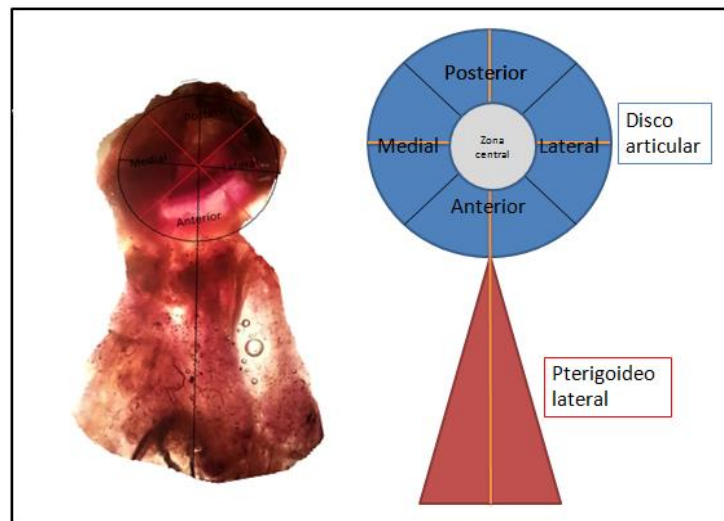


Figura 3: Visión inferior de disco articular y músculo pterigoideo lateral. Distribución topográfica propuesta de las zonas del disco articular. A la derecha esquema representativo de distribución topográfica.

Se confeccionaron esquemas que representan la distribución nerviosa encontrada en cada una de los discos y se agruparon según similitud del patrón encontrado. Por otro lado se tabuló la información obtenida del análisis del tejido como también de la información obtenida del examen intraoral. Se realizó estadística simple de los hallazgos obtenidos. Con los datos obtenidos confeccionó una descripción anatómica del patrón de distribución nerviosa al interior del disco articular.

RESULTADOS

Para el presente estudio, de un total de 12 individuos cadavéricos conservados y pertenecientes al programa de Biología y Anatomía del desarrollo dependiente del Instituto de Ciencias Biomédicas de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, fueron seleccionados 8 cadáveres según los criterios de inclusión establecidos, de los cuales 5 correspondían a individuos de sexo masculino y 3 de sexo femenino. Del 100%(8) de los cadáveres, el 87,5%(7) eran desdentados parciales y el 22,5%(1) desdentados totales.

Del proceso de disección anatómica se obtuvieron 8 muestras de discos articulares de la articulación temporomandibular del lado derecho. De los 8 discos articulares, 1 se encontraba con alteraciones de forma correspondiente a perforación discal preservando solo su zona anterior.

Se realizó el protocolo de tinción de Sihler en las 8 muestras de discos articulares (Ver figura 2), donde en 6 muestras se obtuvo el rendimiento visual para todas las zonas discales definidas previamente, en 1 muestra se obtuvo rendimiento solo para la zona anterior y en 1 muestra se obtuvo un rendimiento solo para las zonas anterior y posterior.

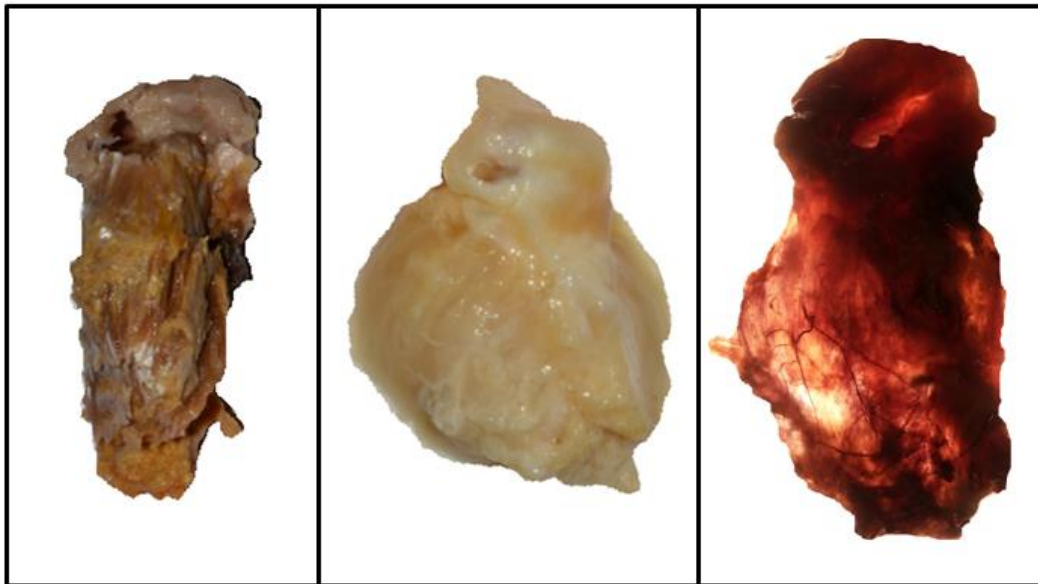


Figura 2: Fotografías macroscópicas del disco articular y pterigoideo lateral en las diferentes etapas del método de Sihler. A la izquierda las estructuras disecadas. Al centro las estructuras maceradas. A la derecha las estructuras desteñidas y fijadas.

1. DISTRIBUCION NERVIOSA POR ÁREA TOPOGRAFICA:

Del análisis de distribución nerviosa por área topográfica se registró lo siguiente: En la zona anterior, se observó en un 100%(8) de los discos presencia de estructuras nerviosas. En la zona lateral, de un 100%(7), se observó en un 85,7%(6) de los discos presencia de estructuras nerviosas. En la zona medial, de un 100%(7), se observó en un 85,7%(6) de los discos presencia de estructuras nerviosas. En la zona posterior, se observó en un 100%(7) de los discos presencia de estructuras nerviosas. En la zona media o de trabajo, no se encontraron estructuras nerviosas. (Ver tabla 2).

Tabla 2: Presencia de estructuras nerviosas por zona topográfica

	Zona anterior	Zona lateral	Zona medial	Zona posterior	Zona media
% de discos	100%(8)	85,7%(6)	85,7%(6)	100%(7)	0%(0)

2. PRESENCIA DE RAMOS UNICOS O MULTIPLES SEGÚN TOPOGRAFIA DEL DISCO.

Se analizó la existencia de un ramo único o de múltiples ramos en cada una de las zonas topográficas donde existió presencia de estructura nerviosa. En la zona anterior, un 50%(4) de los discos presentaron ramo único y un 50%(4) presentaron ramos múltiples. En la zona lateral, un 16%(1) de los discos presentaron ramo único y un 83,3% (5) presentaron ramos múltiples. En la zona medial, un 50%(3) de los discos presentaron ramo único y un 50% (3) presentaron ramos múltiples. En la zona posterior, el 100%(8) de los discos presentaron ramos múltiples (Ver tabla 3) (Ver figura 3).

Tabla 3: Existencia de un ramo único o múltiples por zona topográfica

	Zona anterior	Zona lateral	Zona medial	Zona posterior	Zona media
% de discos con ramos únicos	50%(4)	16,6%(1)	50%(3)	0%(0)	-
% de discos con ramos múltiples	50%(4)	83,3%(5)	50%(3)	100%(8)	-

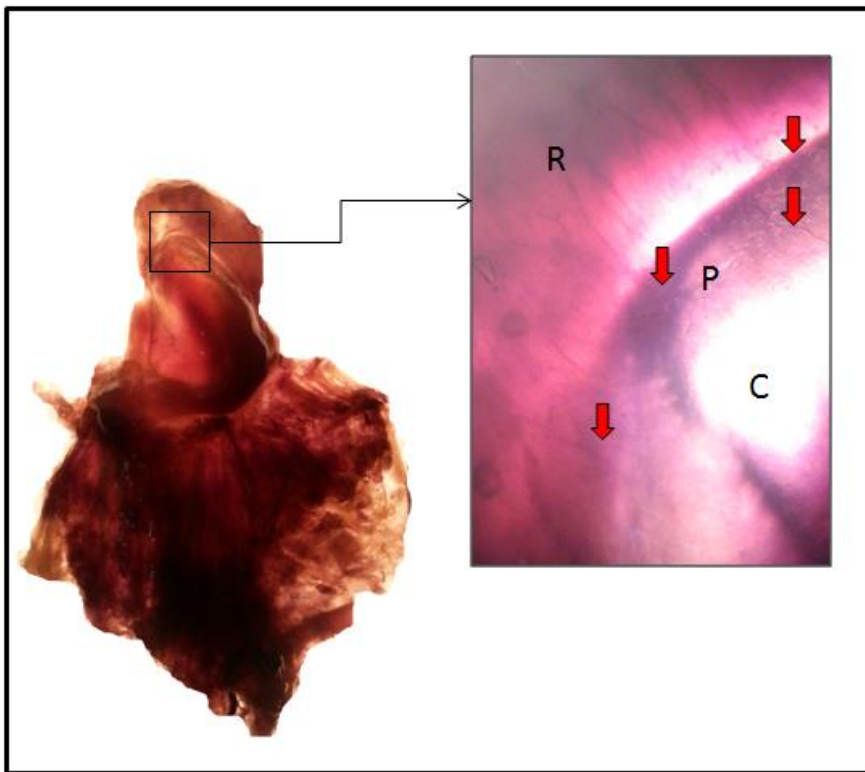


Figura 3: Fotografía macroscópica de disco articular y músculo pterigoideo lateral sometidos a método de Sihler. A la derecha aumento (X16) del disco articular en su zona posterior. R: Zona retrodiscal. P: Zona posterior. C: Zona central. Se observan ramos nerviosos múltiples llegando desde la zona retrodiscal hacia la zona posterior del disco articular. No se observan ramos nerviosos en la zona central o de trabajo.

3. DIRECCION DE LOS TRONCOS NERVIOSOS SEGÚN REGION TOPOGRAFICA.

Se analizó la dirección de los troncos nerviosos y sus ramos colaterales en cada una de las zonas topográficas con presencia de estructura nerviosa, donde el 100% de las zonas topográficas presentaron estructuras nerviosas discurriendo en dirección antero-posterior. En la zona anterior, el 100%(8) de los discos presentó estructuras nerviosas con dirección exclusiva antero-posterior. En la zona lateral,

un 33,3%(2) de los discos presentaron estructuras nerviosas con dirección exclusiva antero-posterior, un 16,6%(1) presentaron un componente medial y un 50%(3) presentaron un componente lateral. En la zona medial, un 33,3%(2) de los discos presentaron estructuras nerviosas con dirección exclusiva antero-posterior, un 33,3%(2) presentaron un componente medial y un 33,3%(2) presentaron tanto un componente lateral como uno medial. En la zona posterior, un 57,1% de los discos presentaron estructuras nerviosas con dirección exclusiva antero-posterior, un 14,2%(1) presentaron un componente medial y un 28,5%(2) presentaron tanto un componente lateral como uno medial (Ver figura 4).

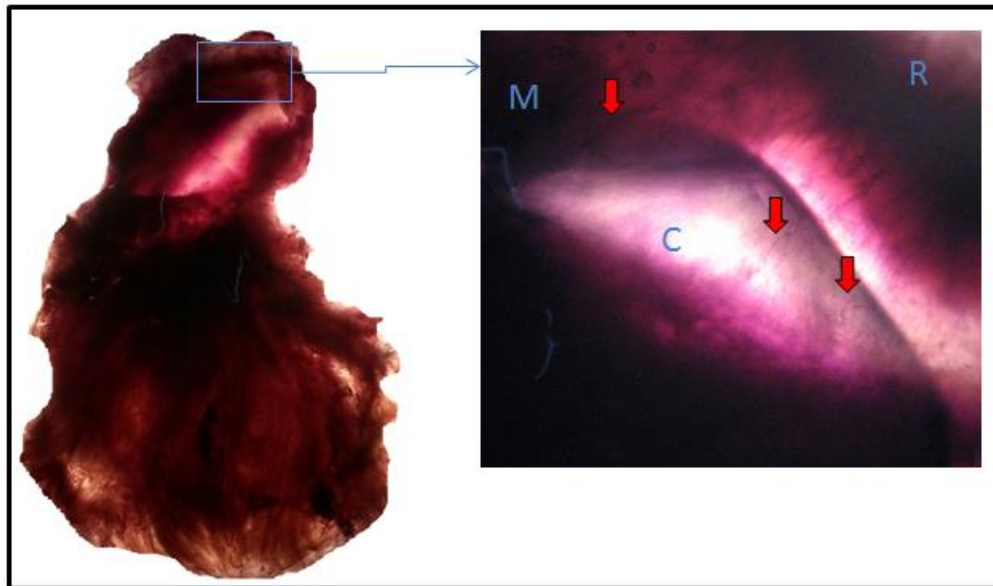


Figura 4: Fotografía macroscópica de disco articular y músculo pterigoideo lateral sometidos a método de Sihler. A la derecha aumento (X16) del disco articular en su zona posterior. M: Zona Medial. C: Zona central. R: Zona posterior. Se observa la presencia de ramos nerviosos viajando en sentido antero-posterior por la zona posterior del disco articular. En la zona medial se observan nervios viajando en dirección antero-posterior y medial hacia la zona anterior.

4. ARBORIZACION DE LOS RAMOS COLATERALES SEGÚN REGION TOPOGRAFICA DEL DISCO.

Con respecto a la comunicación y arborización de los ramos nerviosos presentes en las distintas zonas topográficas de los discos articulares, en la zona anterior y posterior, el 100%(8 y 7) de las zonas topográficas presentó estructuras nerviosas ramificadas. En la zona lateral y medial, el 66,6%(4) presentó estructuras nerviosas ramificadas (Ver figura 5).

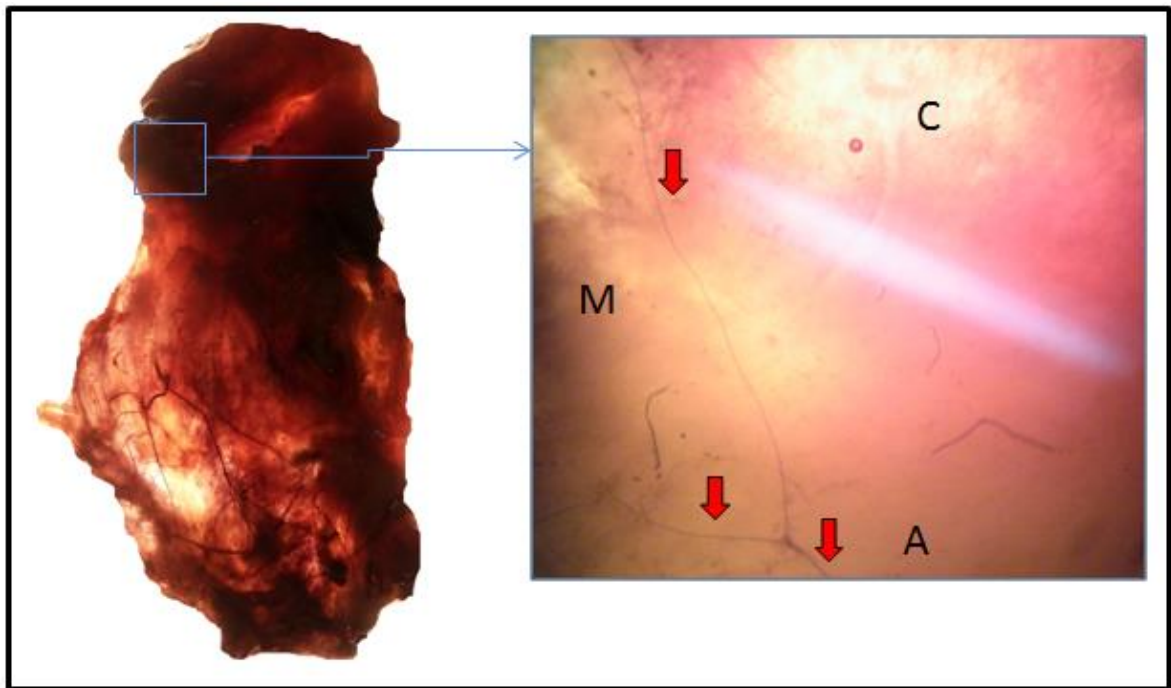


Figura 5 Fotografía macroscópica de disco articular y músculo pterigoideo lateral sometidos a método de Sihler. A la derecha aumento (X32) del disco articular en su zona medial. M: Zona Medial. C: Zona central. A: Zona anterior. Se observa una estructura nerviosa constituida por un ramo principal y 2 terminales. El ramo principal viaja en dirección antero-posterior y una de sus terminales se desvía hacia la zona media mientras que la otra discurre cruzando la zona media para alcanzar y comunicarse con nervios de la zona posterior.

5. DESCRIPCION ANATOMICA DEL PATRON DE DISTRIBUCION NERVIOSA DEL DISCO ARTICULAR.

Se propuso una descripción anatómica para el patrón de inervación del disco articular, siendo ésta “**Las estructuras nerviosas en el disco articular de la articulación temporomandibular se distribuyen en dirección antero-posterior. El entramado nervioso de la zona retrodiscal se comunica con ramos provenientes del músculo pterigoideo lateral a través de un ramo único o múltiples ramos que discurren por las zonas lateral y medial del disco. En su trayecto otorgan un número variable de fibras que alcanzan las inmediaciones de la zona central o de trabajo, la cual permanece no inervada**” (Ver figura 6).

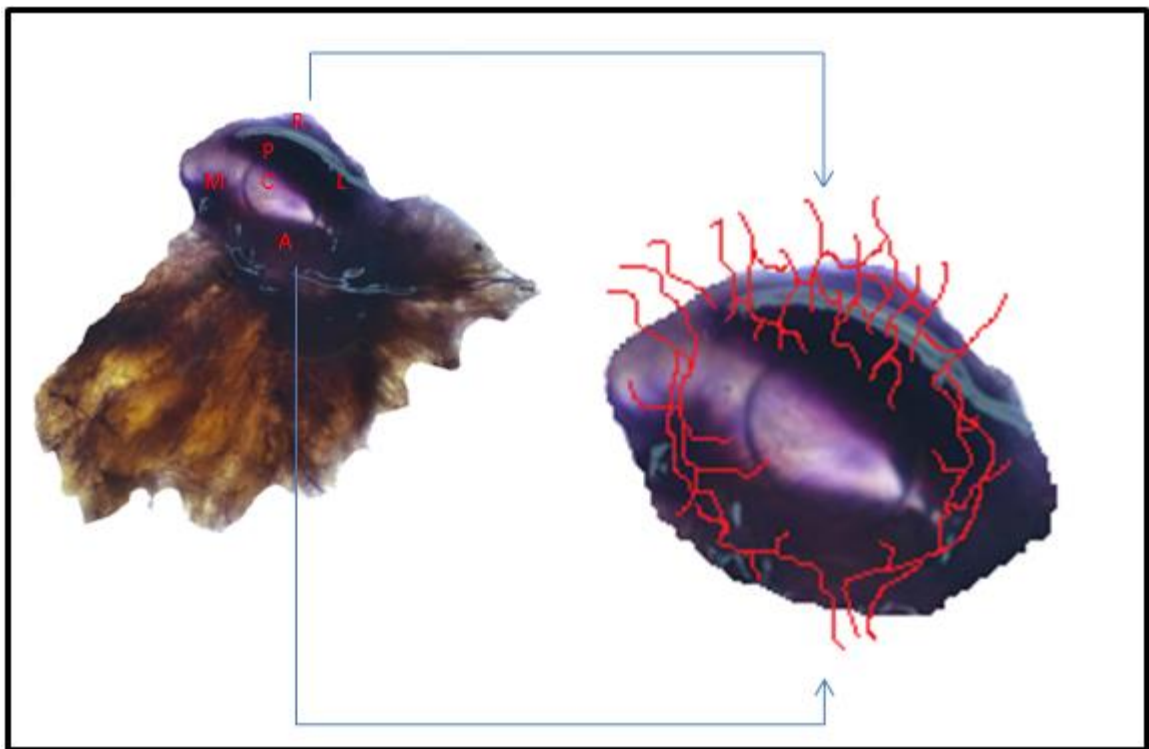


Figura 6: Fotografía macroscópica de disco articular y músculo pterigoideo lateral sometidos a método de Sihler. A la derecha el esquema propuesto del patrón de inervación del disco articular. M: Zona Medial. C: Zona central. A: Zona anterior. L: Zona lateral. R: Zona retrodiscal. P: Zona posterior.

DISCUSIÓN

El estudio de la inervación de estructuras anatómicas se ha realizado desde hace mucho tiempo. A la fecha, existen variados métodos que han sido utilizados por los autores para dilucidar los patrones de distribución nerviosa al interior de estructuras anatómicas, dentro de éstos, la macro y microdissección anatómica, la reconstrucción tridimensional desde cortes histológicos, los estudios electrofisiológicos y los métodos tincionales (Mu and Sanders 2010, Mu and Sanders 2010) Won, Kim et al. 2011, Yang, Won et al. 2012, (Blanksma, van Eijden et al. 1997, Matsunaga, Usui et al. 2009).

Uno de los métodos más comúnmente utilizado es la disección anatómica en cadáveres fijados en formalina o cadáveres frescos. La obtención de las muestras en este estudio se realizó mediante la macrodissección de cadáveres previamente seleccionados. La realización adecuada y minuciosa del proceso de disección permite mejorar los resultados de la posterior tinción de Sihler. Es necesario despejar en su totalidad el bloque anatómico a estudiar ya que ciertos tejidos actúan como barrera física dificultando la tinción. En este estudio, las muestras de disco que presentaron el proceso de tinción más dificultoso fueron aquellas donde la capsula articular no fue disecada por completo.

Otro aspecto a considerar es que los tejidos de acuerdo a su tipo y tamaño requieren diferentes tiempos en las diversas etapas (Al-Hoqail and Meguid 2008, Mu and Sanders 2010, Lee, Choi et al. 2011), y en este estudio la técnica de Sihler se realizó en el disco articular y músculo pterigoideo lateral como un solo bloque anatómico. Durante el proceso de maceración, los cambios en la estructura se hicieron evidentes en el músculo más que en el disco y en el proceso de tinción, fueron necesarios distintos tiempos para lograr una visualización óptima de las estructuras nerviosas, por lo que se sugiere para próximos estudios someter estas estructuras al método de Sihler por separado.

La microdissección no permite identificar la totalidad de los ramos nerviosos al interior de las estructuras anatómicas, ya que según variados autores es difícil diferenciar los ramos más pequeños de los vasos sanguíneos y tejido conectivo, además el proceso necesariamente daña la integridad de la estructura a estudiar

(Matsuo, Takeda et al. 2013, Mu and Sanders 2010). En ciertas estructuras anatómicas no es posible identificar el patrón de inervación a través de la microdissección anatómica, debido a que los ramos son muy finos y se encuentran organizados en plexos nerviosos (Shiozaki, Abe et al. 2007, Salinas, Jackson et al. 2009). La técnica de tinción de Sihler permitió en este estudio mantener la estructura fibrosa del disco articular revelando el recorrido nervioso al interior de la misma y sus relaciones (Won, Kim et al. 2011, Yang, Won et al. 2012). A pesar de que estudios anteriores sugerían el uso de microscopio para la correcta visualización de los resultados (Berteretche, Foucart et al. 2001, Asaki, Sekikawa et al. 2006, Benavides, Bilgen et al. 2009), las estructuras nerviosas encontradas en este estudio pudieron ser observadas a través de una lupa estereoscópica y transiluminación utilizando aumentos de X16 y X32.

La reconstrucción tridimensional de una estructura anatómica se logra a través de la obtención de cortes histológicos o anatómicos seriados procesados mediante un software computacional. La mayor ventaja de este método es la visualización detallada de las relaciones entre las diversas estructuras. Según Mu y Sanders, 2010, se han realizado muy pocos estudios utilizando esta técnica para determinar las relaciones nerviosas (Mu and Sanders 2010). Este método no siempre es preciso, debido a la distorsión generada a nivel de cortes, tinción, orientación y reconstrucción, además de la necesidad de operadores calibrados (Radlanski, Lieck et al. 1999, Matsuo, Takeda et al. 2013, Kurobe, Hakkakian et al. 2014). Debido a la falta de documentación y estandarización del uso de la técnica de tinción de Sihler en estructuras de tipo y tamaño semejante al disco articular, es necesaria la calibración de los operadores en esta técnica para la obtención de resultados óptimos. Estudios futuros debieran considerar la estandarización de la técnica para estructuras anatómicas craneomandibulares.

En ciertas estructuras anatómicas, el grosor de las mismas afecta la eficacia de la tinción de Sihler, debido a que la solución no penetra ni se fija con la misma intensidad en las distintas profundidades, por lo que la técnica obtiene su mayor rendimiento en muestras más pequeñas y más delgadas (Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011).

Los estudios electrofisiológicos, tales como la electromiografía y la estimulación nerviosa, se presentan como buenas herramientas para la diagnosis y terapéutica en medicina, sin embargo el uso en la determinación de trayectos nerviosos se restringe solo a ciertas estructuras, como por ejemplo el sistema de conducción autónoma del corazón (Bordas, Grau et al. 2010) y la evaluación de la función muscular masticatoria en individuos vivos. No es posible utilizar estas técnicas en muestras cadavéricas.

Las tinciones de plata se han utilizado ampliamente como método de estudio para la histología, sin embargo en estudios de trayectos nervios son poco específicas y carecen de predictibilidad. Es usual que se genere la tinción del bloque completo a estudiar, obstaculizando su análisis posterior (Korzhevskii and Otellin 1993, Boaro and Gregorio 1997). La técnica de tinción de Sihler no está exenta de problemas relacionados con la sobretinción, pero su característica de reversibilidad permite desteñir y reteñir las muestras afectadas. Debido a la especificidad de la técnica de Sihler para estructuras nerviosas, se obtiene un contraste óptimo mediante transiluminación (Yang, Won et al. 2012). En este estudio, algunas de las muestras experimentaron procesos de tinción irregulares debido a que el disco presenta en su estructura diversos grosores, por lo que el paso de la luz durante la transiluminación no fue uniforme.

La inervación de la articulación temporomandibular ha sido descrita por diversos autores (Moore 2002, Davidson, Metzinger et al. 2003, Kim, Kwak et al. 2003, Lataryet 2004, Rouvière 2005, Asaki, Sekikawa et al. 2006, Anagnostopoulou, Venieratos et al. 2008, Arai and Sato 2011). Sin embargo el patrón de inervación al interior del disco articular no está aún documentado.

Los hallazgos de S. Asaki, 2006, quien identificó terminaciones nerviosas libres de carácter sensitivo en el parénquima de discos articulares de ATM mediante cortes histológicos con tinción de plata y microscopio electrónico de transmisión, se corresponden y complementan con los resultados de este estudio (Asaki, Sekikawa et al. 2006). Se hace evidente la presencia de estructuras nerviosas al interior del disco articular de la ATM.

Confirmando lo expuesto por múltiples autores (Moore 2002, Davidson, Metzinger et al. 2003, Kim, Kwak et al. 2003, Lataryet 2004, Rouvière 2005, Asaki, Sekikawa et al. 2006, Anagnostopoulou, Venieratos et al. 2008, Arai and Sato 2011), la zona de trabajo, que se corresponde con la zona central en discos articulares sanos, en este estudio no se observa inervada. Las estructuras nerviosas discurren en sentido antero-posterior evitando la zona de trabajo, aunque se observaron ramos colaterales que en forma radial inervaban las inmediaciones de esta zona central. La zona retrodiscal por su parte presentó una alta densidad de estructuras nerviosas.

Las estructuras nerviosas observadas en el sector anterior del disco provienen muy probablemente del tronco temporobucal del nervio mandibular, el cual se encuentra aportando la inervación principal al músculo pterigoideo lateral. La arborización variable a través de ramos colaterales sugiere el aporte de los otros troncos nerviosos clásicamente descritos en la inervación de la ATM, aunque en este estudio no fue posible identificarlos. Estudios próximos podrían involucrar la cápsula articular en el proceso de tinción para revelar la disposición de los nervios circundantes y su relación con el disco articular.

Si bien el número de cadáveres utilizados no corresponde a una muestra representativa, este estudio fue capaz de proponer una descripción del patrón de inervación del disco a la literatura anatómica, de acuerdo a la visualización de tales estructuras a través del método de Sihler. Es posible afirmar que existe comunicación entre las múltiples estructuras nerviosas de la zona retrodiscal y ramos nerviosos provenientes del músculo pterigoideo lateral a través de las zonas laterales del disco. La directa relación nerviosa entre el disco articular y el músculo pterigoideo lateral sugiere, frente a evidencia controversial, un origen embriológico común.

Mediante este estudio no fue posible determinar el origen de las fibras nerviosas ya que no se realizó la disección, seguimiento y tinción de la mayoría de los troncos principales. La fibra nerviosa mielinizada se tiñe por completo, por lo que no es posible a través de este método identificar su tipo. Dentro de las fibras mielinizadas se encuentran la mayoría de las fibras, ya sean motoras, sensitivas o

autónomas. Las fibras C responsables de la transmisión de cierto tipo de dolor, son amielinizadas, siendo este tipo de fibra donde no tiene rendimiento la técnica de Sihler (Davies, Charles et al. 2012). Próximos estudios mediante esta técnica podrían incorporar bloques anatómicos mayores, realizando la disección y seguimiento de los troncos principales para clarificar el aporte de cada uno de estos troncos al patrón de inervación del disco.

La sintomatología asociada a los TTM se presenta de manera variable entre los distintos individuos y las diversas patologías. Estudios previos determinaron que existen terminales nerviosos libres de carácter sensitivo encargados de la propiocepción del disco articular, conducción de cambios de temperatura, dolor y presión (Asaki, Sekikawa et al. 2006). Este estudio reafirmó la presencia de estructuras nerviosas al interior del disco y determinó el patrón de inervación. Cuando existe alguna patología que afecta la morfología y posición del disco articular, afecta consecutivamente la zona receptora de cargas (Al-Harthy, Al-Bishri et al. 2010, Akhter, Morita et al. 2011). En estas situaciones podrían estar involucrados procesos de denervación y reinervación de las zonas topográficas, lo que generaría alteraciones sensitivas de naturaleza variable según la densidad de estructuras nerviosas en la zona topográfica discal involucrada. La continuidad de estructuras nerviosas en el disco articular, dada por la comunicación de la zona retrodiscal con la zona anterior del disco y pterigoideo lateral, podría estar relacionada con procesos de dolor referido entre las diversas estructuras al interior de la ATM.

Múltiples autores han estudiado la relación positiva existente entre los desplazamientos discales y el rol del músculo pterigoideo lateral (Fujita, Iizuka et al. 2001, Desmons, Graux et al. 2007, Gonzalez-Garcia 2009), y este estudio plantea la relación nerviosa directa entre ambas estructuras. Esto sugiere que la activación muscular postural y funcional podría implicar una respuesta discal importante de identificar en condiciones patológicas. Son necesarios estudios electromiográficos para determinar esta posible relación.

Davies y cols., 2012, analiza la inervación intramuscular del músculo pterigoideo lateral mediante análisis in situ y digitalización 3D, donde determina que el nervio

mayormente implicado en la inervación de este músculo corresponde al tronco temporobucal del ramo mandibular del nervio trigémino para gran parte de los cuadrantes, y con aportes del nervio maseterino, temporal profundo medio y posterior. El autor propone la activación muscular selectiva de cuadrantes dentro del músculo durante el ciclo masticatorio (Davies, Charles et al. 2012). Otros autores reafirman la participación de estos nervios en la inervación del pterigoideo lateral (Fujita, Iizuka et al. 2001, Desmons, Graux et al. 2007, Gonzalez-Garcia 2009). Debido a la inervación común, los nervios que alcanzan la zona anterior del disco y que se comunican con la zona posterior y retrodiscal podrían estar determinando movimientos del complejo disco-capsular independiente del movimiento condilar durante estas activaciones selectivas en funciones musculares específicas.

Si bien los hallazgos obtenidos en esta investigación representan un avance en el conocimiento anatómico, se requieren más estudios involucrando un número mayor de individuos, relacionando las diversas condiciones discales con la distribución nerviosa al interior del disco articular y así fortaleciendo las bases teóricas que apoyan la terapéutica diaria del odontólogo general y especialista.

CONCLUSIONES

- La técnica de tinción de Sihler permite observar fibras nerviosas en el disco articular de la ATM conservando la estructura discal.
- Existen fibras nerviosas en las distintas zonas topográficas del disco articular, a excepción de la zona central o de trabajo. La zona retrodiscal a su vez se encuentra ricamente inervada.
- Las fibras nerviosas al interior del disco tienen una dirección preponderantemente antero-posterior.
- Existe comunicación entre la zona retrodiscal y el músculo pterigoideo lateral a través de fibras nerviosas que discurren por las zonas lateral y medial del disco.
- Existe un patrón de inervación común para los discos articulares estudiados, con variaciones en su arborización.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Akhter, R., M. Morita, M. Esaki, K. Nakamura and T. Kanehira (2011). "Development of temporomandibular disorder symptoms: a 3-year cohort study of university students." J Oral Rehabil **38**(6): 395-403.

Al-Harthy, M., A. Al-Bishri, E. Ekberg and M. Nilner (2010). "Temporomandibular disorder pain in adult Saudi Arabians referred for specialised dental treatment." Swed Dent J **34**(3): 149-158.

Al-Hoqail, R. A. and E. M. Meguid (2008). "Anatomic dissection of the arterial supply of the lips: an anatomical and analytical approach." J Craniofac Surg **19**(3): 785-794.

Almeida, L. E., C. S. Baioni, A. P. Martins, S. R. Line, L. Noronha, P. C. Trevilatto, A. A. de Lima, M. A. de Oliveira Filho and S. A. Ignacio (2008). "Histologic and histomorphometric analysis of posterior region of the human temporomandibular disc." Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod **105**(4): e6-11.

Anagnostopoulou, S., D. Venieratos and M. Antonopoulou (2008). "Temporomandibular joint and correlated fissures: anatomical and clinical consideration." Cranio **26**(2): 88-95.

Arai, H. and I. Sato (2011). "Anatomical study of the human discomalleolar ligament using cone beam computed tomography imaging and morphological observations." Okajimas Folia Anat Jpn **88**(3): 89-101.

Asaki, S., M. Sekikawa and Y. T. Kim (2006). "Sensory innervation of temporomandibular joint disk." J Orthop Surg (Hong Kong) **14**(1): 3-8.

Bag, A. K., S. Gaddikeri, A. Singhal, S. Hardin, B. D. Tran, J. A. Medina and J. K. Cure (2014). "Imaging of the temporomandibular joint: An update." World J Radiol **6**(8): 567-582.

Bakke, M., E. Moller, L. M. Werdelin, T. Dalager, N. Kitai and S. Kreiborg (2005). "Treatment of severe temporomandibular joint clicking with botulinum toxin in the lateral pterygoid muscle in two cases of anterior disc displacement." Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod **100**(6): 693-700.

Benavides, E., M. Bilgen, B. Al-Hafez, T. Alrefae, Y. Wang and P. Spencer (2009). "High-resolution magnetic resonance imaging and diffusion tensor imaging of the porcine temporomandibular joint disc." Dentomaxillofac Radiol **38**(3): 148-155.

Berteretche, M. V., J. M. Foucart, A. Meunier and P. Carpentier (2001). "Histologic changes associated with experimental partial anterior disc displacement in the rabbit temporomandibular joint." J Orofac Pain **15**(4): 306-319.

Bhutada, M. K., I. Phanachet, T. Whittle, C. C. Peck and G. M. Murray (2008). "Regional properties of the superior head of human lateral pterygoid muscle." Eur J Oral Sci **116**(6): 518-524.

Blanksma, N. G., T. M. van Eijden, L. J. van Ruijven and W. A. Weijs (1997). "Electromyographic heterogeneity in the human temporalis and masseter muscles during dynamic tasks guided by visual feedback." J Dent Res **76**(1): 542-551.

Boaro, S. N. and E. A. Gregorio (1997). "Complete staining of nerve fiber and myoneural junctions with acetylthiocholine and silver." Biotech Histochem **72**(5): 240-242.

Bordas, R., V. Grau, R. B. Burton, P. Hales, J. E. Schneider, D. Gavaghan, P. Kohl and B. Rodriguez (2010). "Integrated approach for the study of anatomical variability in the cardiac Purkinje system: from high resolution MRI to electrophysiology simulation." Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc **2010**: 6793-6796.

Botteron, S., C. M. Verdebout, P. Y. Jeannet and S. Kiliaridis (2009). "Orofacial dysfunction in Duchenne muscular dystrophy." Arch Oral Biol **54**(1): 26-31.

Cai, X. Y., J. M. Jin and C. Yang (2011). "Changes in disc position, disc length, and condylar height in the temporomandibular joint with anterior disc displacement: a longitudinal retrospective magnetic resonance imaging study." J Oral Maxillofac Surg **69**(11): e340-346.

Campos, P. S., J. B. Macedo Sobrinho, I. M. Crusoe-Rebello, N. Pena, J. A. Dantas, A. C. Mariz and C. Oliveira (2008). "Temporomandibular joint disc adhesion without mouth-opening limitation." J Oral Maxillofac Surg **66**(3): 551-554.

Cuccia, A. M., C. Caradonna, D. Caradonna, G. Anastasi, D. Milardi, A. Favaloro, A. De Pietro, T. M. Angileri, L. Caradonna and G. Cutroneo (2013). "The arterial blood supply of the temporomandibular joint: an anatomical study and clinical implications." Imaging Sci Dent **43**(1): 37-44.

Chan, W. P., M. F. Lin, C. L. Fang and W. F. Lai (2004). "MRI and histology of collagen template disc implantation and regeneration in rabbit temporomandibular joint: preliminary report." Transplant Proc **36**(5): 1610-1612.

Davidson, J. A., S. E. Metzinger, A. P. Tufaro and A. L. Dellon (2003). "Clinical implications of the innervation of the temporomandibular joint." J Craniofac Surg **14**(2): 235-239.

Davies, J. C., M. Charles, D. Cantelmi, B. Liebgott, M. Ravichandiran, K. Ravichandiran and A. M. Agur (2012). "Lateral pterygoid muscle: a three-dimensional analysis of neuromuscular partitioning." Clin Anat **25**(5): 576-583.

Desmons, S., F. Graux, M. Atassi, P. Libersa and P. H. Dupas (2007). "The lateral pterygoid muscle, a heterogeneous unit implicated in temporomandibular disorder: a literature review." Cranio **25**(4): 283-291.

Fujita, S., T. Iizuka and W. Dauber (2001). "Variation of heads of lateral pterygoid muscle and morphology of articular disc of human temporomandibular joint--anatomical and histological analysis." J Oral Rehabil **28**(6): 560-571.

Giambartolomei, L. A., M. N. Brunotto and M. E. de Ferraris (2011). "Human temporomandibular joint disc: anatomy and measurements in prenatal development." Acta Odontol Latinoam **24**(1): 98-103.

Gonzalez-Garcia, R. (2009). "Arthroscopic myotomy of the lateral pterygoid muscle with coblation for the treatment of temporomandibular joint anterior disc displacement without reduction." J Oral Maxillofac Surg **67**(12): 2699-2701.

Gu, S., W. Wu, C. Liu, L. Yang, C. Sun, W. Ye, X. Li, J. Chen, F. Long and Y. Chen (2014). "BMPRIA mediated signaling is essential for temporomandibular joint development in mice." PLoS One **9**(8): e101000.

Imanimoghaddam, M., A. S. Madani and E. M. Hashemi (2013). "The evaluation of lateral pterygoid muscle pathologic changes and insertion patterns in temporomandibular joints with or without disc displacement using magnetic resonance imaging." Int J Oral Maxillofac Surg **42**(9): 1116-1120.

Kim, H. J., H. H. Kwak, K. S. Hu, H. D. Park, H. C. Kang, H. S. Jung and K. S. Koh (2003). "Topographic anatomy of the mandibular nerve branches distributed on the two heads of the lateral pterygoid." Int J Oral Maxillofac Surg **32**(4): 408-413.

Kim, S. G. (2014). "Clinical treatment for symptoms associated with temporomandibular disorder." J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg **40**(4): 153-154.

Korzhevskii, D. E. and V. A. Otellin (1993). "[The use of a nucleolus silver-staining method in assessing the function of the protein-synthesizing apparatus of nerve cells]." Tsitologiya **35**(10): 20-23.

Kurobe, N., L. Hakkakian, M. Chahim, V. Delmas, M. Vekemans and J. F. Uhl (2014). "Three-dimensional reconstruction of the lower limb's venous system in human fetuses using the computer-assisted anatomical dissection (CAAD) technique." Surg Radiol Anat.

Lataryet, M. R. L., A. (2004). Anatomia Humana. Buenos Aires, Argentina, Ed. Medica Panamericana.

Lau, K. C., K. F. So and E. Y. Cho (1991). "Morphological changes of retinal ganglion cells regenerating axons along peripheral nerve grafts: a Lucifer Yellow and silver staining study." Restor Neurol Neurosci **3**(5): 235-246.

Lee, C. F., M. C. Lin, H. T. Lin, C. L. Lin, T. C. Wang and C. H. Kao (2015). "Increased risk of tinnitus in patients with temporomandibular disorder: a retrospective population-based cohort study." Eur Arch Otorhinolaryngol.

Lee, S. H., T. H. Choi, S. W. Kim, L. Xu, C. H. Sohn, K. H. Han, D. G. Son, J. H. Kim and J. W. Rhie (2011). "An anatomical study of the saphenous nerve, artery, and artery perforators within the thigh using cadaveric dissection." Ann Plast Surg **67**(4): 413-415.

Leher, A., K. Graf, J. M. PhoDuc and P. Rammelsberg (2005). "Is there a difference in the reliable measurement of temporomandibular disorder signs between experienced and inexperienced examiners?" J Orofac Pain **19**(1): 58-64.

Lewkowicz, S. J. (1980). "A rapid method for visualising nerve terminal innervation in human muscle using an acetylcholinesterase method combined with silver staining." J Neurol Sci **47**(3): 419-424.

Liu, Z. J., K. Yamagata, K. Kuroe, S. Suenaga, T. Noikura and G. Ito (2000). "Morphological and positional assessments of TMJ components and lateral

pterygoid muscle in relation to symptoms and occlusion of patients with temporomandibular disorders." J Oral Rehabil **27**(10): 860-874.

Manfredini, D. (2009). "Etiopathogenesis of disk displacement of the temporomandibular joint: a review of the mechanisms." Indian J Dent Res **20**(2): 212-221.

Manns, A. (2013). Sistema Estomatognático. Fundamentos clínicos de fisiología y patología funcional, Amolca.

Matsunaga, K., A. Usui, K. Yamaguchi and K. Akita (2009). "An anatomical study of the muscles that attach to the articular disc of the temporomandibular joint." Clin Anat **22**(8): 932-940.

Matsuo, T., Y. Takeda and A. Ohtsuka (2013). "Stereoscopic three-dimensional images of an anatomical dissection of the eyeball and orbit for educational purposes." Acta Med Okayama **67**(2): 87-91.

Moore (2002). Anatomía con orientación clínica.

Mu, L. and I. Sanders (2010). "Human tongue neuroanatomy: Nerve supply and motor endplates." Clin Anat **23**(7): 777-791.

Mu, L. and I. Sanders (2010). "Sihler's whole mount nerve staining technique: a review." Biotech Histochem **85**(1): 19-42.

Naeije, M., A. H. Te Veldhuis, E. C. Te Veldhuis, C. M. Visscher and F. Lobbezoo (2013). "Disc displacement within the human temporomandibular joint: a systematic review of a 'noisy annoyance'." J Oral Rehabil **40**(2): 139-158.

Nozawa-Inoue, K., N. Amizuka, N. Ikeda, A. Suzuki, Y. Kawano and T. Maeda (2003). "Synovial membrane in the temporomandibular joint--its morphology, function and development." Arch Histol Cytol **66**(4): 289-306.

Ohnuki, T., M. Fukuda, A. Nakata, H. Nagai, T. Takahashi, T. Sasano and Y. Miyamoto (2006). "Evaluation of the position, mobility, and morphology of the disc by MRI before and after four different treatments for temporomandibular joint disorders." Dentomaxillofac Radiol **35**(2): 103-109.

Ohta, Y., F. Suwa, L. Yang, M. Wang and H. Wang (1993). "Development and histology of fibrous architecture of the fetal temporomandibular joint." Okajimas Folia Anat Jpn **70**(1): 1-5.

Radlanski, R. J., S. Lieck and N. E. Bontschev (1999). "Development of the human temporomandibular joint. Computer-aided 3D-reconstructions." Eur J Oral Sci **107**(1): 25-34.

Roh, H. S., W. Kim, Y. K. Kim and J. Y. Lee (2012). "Relationships between disk displacement, joint effusion, and degenerative changes of the TMJ in TMD patients based on MRI findings." J Craniomaxillofac Surg **40**(3): 283-286.

Rouvière, H. D., A (2005). Anatomía Humana descriptiva, topografica y funcional. Barcelona, España, Editorial Masson.

Sakar, O., F. Calisir, G. Marsan and E. Oztas (2013). "Evaluation of the effects of temporomandibular joint disc displacement and its progression on dentocraniofacial morphology in symptomatic patients using posteroanterior cephalometric analysis." Cranio **31**(1): 23-31.

Salinas, N. L., O. Jackson, B. Dunham and S. P. Bartlett (2009). "Anatomical dissection and modified Sihler stain of the lower branches of the facial nerve." Plast Reconstr Surg **124**(6): 1905-1915.

Sencimen, M., B. Yalcin, N. Dogan, A. Varol, K. M. Okcu, H. Ozan and Y. S. Aydintug (2008). "Anatomical and functional aspects of ligaments between the malleus and the temporomandibular joint." Int J Oral Maxillofac Surg **37**(10): 943-947.

Shiozaki, K., S. Abe, H. Agematsu, S. Mitarashi, K. Sakiyama, M. Hashimoto and Y. Ide (2007). "Anatomical study of accessory nerve innervation relating to functional neck dissection." J Oral Maxillofac Surg **65**(1): 22-29.

Stratmann, U., K. Schaarschmidt and P. Santamaria (1996). "Morphometric investigation of condylar cartilage and disc thickness in the human temporomandibular joint: significance for the definition of osteoarthrotic changes." J Oral Pathol Med **25**(5): 200-205.

Won, S. Y., D. H. Kim, H. M. Yang, J. T. Park, H. H. Kwak, K. S. Hu and H. J. Kim (2011). "Clinical and anatomical approach using Sihler's staining technique (whole mount nerve stain)." Anat Cell Biol **44**(1): 1-7.

Wongwatana, S., J. H. Kronman, R. E. Clark, S. Kabani and N. Mehta (1994). "Anatomic basis for disk displacement in temporomandibular joint (TMJ) dysfunction." Am J Orthod Dentofacial Orthop **105**(3): 257-264.

Wright, D. M. and B. C. Moffett, Jr. (1974). "The postnatal development of the human temporomandibular joint." Am J Anat **141**(2): 235-249.

Wurgaft, R. a. M., M. A (2003). Desarrollo y estructura de la articulación temporomandibular. Santiago, Chile, Servimpres Ltda.

Wurgaft, R. M., M (2003). Desarrollo y estructura de la articulación temporomandibular. Santiago.

Yang, H. M., S. Y. Won, J. G. Lee, S. H. Han, H. J. Kim and K. S. Hu (2012). "Sihler-stain study of buccal nerve distribution and its clinical implications." Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol **113**(3): 334-339.



ANEXO N°1



UNIVERSIDAD DE CHILE – FACULTAD DE MEDICINA
 Instituto de Ciencias Biomédicas
 Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo



CONSTANCIA

El que suscribe, Prof. Miguel Soto Vidal, académico Jefe de Laboratorio de Anatomía del Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, deja constancia de que los órganos y tejidos empleados en el presente trabajo (**PATRON DE INNERVACIÓN DE LOS MÚSCULOS CRANEOMANDIBULARES HUMANOS. EVALUACIÓN MEDIANTE TINCIÓN DE SIHLER**), son extraídos de cadáveres provenientes de donantes voluntarios, debidamente documentados, los cuales forman parte del Programa de Donación de Cuerpos, para los fines expresos que señala la legislación y disposiciones reglamentarias vigentes estipuladas para estos efectos. La manipulación y procedimientos empleados se encuentran en conformidad con las normas sanitarias y de bioseguridad dispuestas para el trabajo tanto con piezas cadavéricas fijadas como frescas.

Se extiende la presente constancia para los fines propios de la investigación con muestras cadavéricas.

*Prof. Asist. Miguel Soto Vidal, M.Cs.
 Académico Jefe Laboratorio Anatomía
 Encargado Programa Donación de Cuerpos*

Santiago, 20 Agosto de 2014.-



ANEXO Nº2

Ficha proyecto de investigación: **PATRON DE INNERVACIÓN DE LOS MÚSCULOS CRANEOMANDIBULARES HUMANOS, EVALUACIÓN MEDIANTE TINCIÓN DE SIHLER.**

1. Datos generales

- a. Número de paciente:.....
- b. Sexo:.....

2. Examen intraoral

- a. Formula dentaria completa: SI NO (Hasta °1 Molar)
- b. Tipo de desdentamiento: PARCIAL TOTAL