



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
ÁREA DE ANATOMÍA HUMANA**

**PATRÓN DE INERVACIÓN DEL MÚSCULO PTERIGOIDEO MEDIAL
HUMANO EN CADÁVERES AL APLICAR EL MÉTODO DE SIHLER**

Marco Solar Altamirano

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

**TUTOR PRINCIPAL
Prof. Dr. Arnoldo Hernández Caldera**

TUTORES ASOCIADOS

**Dr. Jorge Lemus
Dr. Rodrigo Hernández**

Adscrito a Proyecto PRI-ODO Nº 2015/05

**Santiago – Chile
2016**



UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE ODONTOLÓGIA
INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN
EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS
ÁREA DE ANATOMÍA HUMANA

**PATRÓN DE INERVACIÓN DEL MÚSCULO PTERIGOIDEO MEDIAL
HUMANO EN CADÁVERES AL APLICAR EL MÉTODO DE SIHLER**

Marco Solar Altamirano

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

TUTOR PRINCIPAL

Prof. Dr. Arnoldo Hernández Caldera

TUTORES ASOCIADOS

**Dr. Jorge Lemus
Dr. Rodrigo Hernández**

Adscrito a Proyecto PRI-ODO N° 2015/05

**Santiago – Chile
2016**

DEDICATORIA

A mis padres, por su infinito amor, trabajo y sacrificios todos estos años.

Pilares fundamentales de mi vida.

Gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí y convertirme en lo que soy.

Gracias por haberme acompañado siempre.

A mis hermanos, fuentes de admiración y cariño.

Por ser guías para vivir la vida.

A todos ustedes,

Marco

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis es la culminación de muchas horas de duro, pero muy satisfactorio trabajo. Al igual que cualquier proyecto de considerable magnitud, no habría sido posible sin la ayuda de muchas personas, con cuyo talento y dedicación he contraído una gran deuda.

A la gloriosa Universidad de Chile, por seguir siendo un estandarte en estos tiempos, donde pareciera que todo puede ser reducido a su valor de mercado. Por mantener sus valores, espíritu de servicio y calidad humana.

Al equipo de Anatomía Humana de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile, docentes y funcionarios, por su entrega gratuita y desinteresada todo este tiempo.

A Arnoldo Hernández Caldera, docente guía, cuyo ingenio, colaboración, inagotable paciencia, comprensión y amistad llevó a completar este trabajo con exaltación y empeño.

A mi familia, por siempre creer en mí.

A María Ignacia Sarquis, por su inagotable cariño y apoyo incondicional.

A mis queridos amigos, por compartir este viaje.

A todos ustedes, Muchas gracias.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	8
I. INTRODUCCIÓN	9
ASPECTOS MORFOLÓGICOS	13
1. Características Generales	13
2. Inervación.....	15
3. Arquitectura Interna.....	18
4. Dinámica Mandibular.....	19
TÉCNICA DE SIHLER.....	21
1. Breve historia y descripción de la técnica.....	22
2. Ventajas de la técnica de Sihler	23
3. Desventajas de la técnica de Sihler	24
II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	25
1. HIPÓTESIS	26
2. OBJETIVO GENERAL.....	26
3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	26
III. METODOLOGÍA	26
1. Diseño	26
2. Universo y muestras.....	27
3. Autorización.....	27
4. Variables recolectadas y operacionalización (obtención de muestras)	27
5. Etapas de la técnica de Sihler	29
a. Fijación:.....	29
b. Maceración y despigmentación:.....	29
c. Descalcificación:.....	29
d. Tinción:	30
e. Destinción:	30
f. Neutralización:	30
g. Aclaramiento:	30
h. Transparencia:	30
6. Plan de Análisis.....	31

IV. RESULTADOS	33
1. Ubicación del punto motor del tronco nervioso principal	34
2. Presencia de troncos nerviosos principales por zona topográfica	36
3. Presencia y distribución de ramos colaterales por zona topográfica.....	39
4. Comunicación y arborización de los ramos nerviosos.....	42
5. Descripción del patrón de inervación intramuscular del músculo pterigoideo medial.....	46
V. DISCUSIÓN	48
VI. CONCLUSIONES	54
VII. BIBLIOGRAFÍA	55
VIII. ANEXOS	61
ANEXO N°1	62
ANEXO N°2.....	62
ANEXO N°3.....	63

RESUMEN

Introducción: El objetivo del presente estudio fue describir el patrón de inervación del músculo pterigoideo medial.

Metodología: Se realizó la disección anatómica de 8 músculos pterigoideos mediales de la región infratemporal del lado derecho de cadáveres conservados. Los músculos fueron sometidos al método de tinción de Sihler y luego observados bajo lupa estereoscópica y transiluminación. Se realizó fotografía estandarizada dividiendo arbitrariamente el músculo en 3 zonas topográficas para su posterior análisis y se caracterizó el patrón de inervación mediante software computacional.

Resultados: Se obtuvieron 7 músculos pterigoideos mediales teñidos adecuadamente. Se observó la presencia de dos troncos nerviosos principales que siguen la misma dirección. Se apreciaron además ramos colaterales en las 3 regiones establecidas y se registró el patrón de arborización terminal. Se estableció un patrón de inervación común a todos los músculos a través de una descripción anatómica y un esquema representativo.

Conclusiones: Existe un patrón de inervación común para los músculos estudiados, encontrándose pequeñas variaciones entre ellos.

I. INTRODUCCIÓN

El estudio morfológico de las estructuras cráneo faciales permite el adecuado análisis de una serie de condiciones clínicas y patológicas que afectan al macizo facial. Una correcta comprensión de la anatomía ósea, muscular, articular, nerviosa y vascular es fundamental para lograr establecer un correcto diagnóstico, pronóstico y plan de tratamiento.

Los músculos masticadores corresponden a una familia particular de músculos que comparten un origen embriológico común y cuya función está estrechamente ligada a la dinámica mandibular. Se clasifican ya sea por su función, en elevadores, estabilizadores y depresores; como también por sus orígenes e inserciones en músculos craneomandibulares e hiomandibulares (Latarjet and Liard 2004, Rouvière and Delmas 2005). El primer subgrupo se encuentra integrado por cuatro pares de músculos, masétero, temporal, pterigoideo lateral y medial; siendo responsables de la elevación, cierre y protrusión mandibular. Corresponden a músculos multipenados y de gran área de sección transversal, lo que determina su capacidad de generar fuerzas de elevada magnitud. A su vez, el subgrupo hiomandibular se encuentra conformado por los músculos milohioideo y el vientre anterior del digástrico , encargados específicamente de la apertura oral o depresión mandibular (Freese 2013).

La dinámica del aparato locomotor humano se encuentra ampliamente descrita (Nigg and Herzog 2007), lo que difiere del conocimiento que manejamos del sistema masticatorio humano. Muchas razones son atribuibles a la dificultad para realizar un análisis confiable. En primer lugar, encontramos una gran cantidad de músculos involucrados que presentan diferentes formas y tamaños, haciendo imposible determinar, inequívocamente, la manera en que cooperan para realizar una determinada tarea (Wood 1987, Lund 1991, Hannam and McMillan 1994). En segundo lugar, tienen una compleja arquitectura interna y sus acciones no pueden ser determinadas a partir de su orientación general (Schumacher 1961, Van Eijden, Korfage et al. 1997). Tercero, la relación entre la mandíbula y la base de cráneo se lleva a cabo a través de un complejo sistema

articular (Wish-Baratz, Hershkovitz et al. 1996). Las superficies articulares se encuentran separadas por un disco articular fibrocartilaginoso que es capaz de moverse, en mayor o menor medida, libremente entre ellas, lo que podría influir en los movimientos mandibulares (Rees 1954, Isberg and Westesson 1998).

Además de la complejidad estructural del sistema, existen importantes limitaciones en el diseño y obtención de datos en estudios experimentales de la función masticatoria. Existen dos pares de músculos, pterigoideo medial y lateral, que se encuentran en las profundidades de la fosa infratemporal, ocultos detrás de estructuras óseas lo que dificulta el acceso a mediciones basadas en electromiografía (Moller 1966). Muchos movimientos mandibulares son relativamente pequeños, lo que dificulta aún más el diseño de estudios que logren medir las propiedades relevantes apropiadamente.

El patrón de contracción muscular habitual de los músculos masticatorios durante la dinámica mandibular consiste en un infinito número de combinaciones de contracciones isotónicas e isométricas. A lo menos, veinte porciones musculares pueden ser activadas en forma independiente evitando la fatiga del sistema (Xu, Yuasa et al. 1994, Koolstra 2002). La activación de porciones musculares independientes dentro de un mismo músculo ha sido demostrada en variados músculos craneomandibulares y por diferentes autores (Blanksma and Van Eijden 1995, Yamaguchi, Rikimaru et al. 2006, Guzmán-Venegas, Picand et al. 2015). En conjunto con la gran área de inserción de algunos de estos músculos, se generan líneas de acción particulares dependiendo de la dirección y posición de cada una de ellas respecto al centro de gravedad de la mandíbula (Koolstra, 2002).

Múltiples autores han querido establecer el patrón de inervación de los músculos masticatorios humanos y el modo en que las estructuras nerviosas acceden a ellos. Davies y colaboradores en el año 2012 determinaron el patrón de inervación intramuscular del músculo pterigoideo lateral mediante la realización de micro disección anatómica y modelado 3D. Reconocen que esta técnica produce distorsión en el recorrido intramuscular del nervio, imposibilita reconocer sus ramos colaterales más pequeños e impide establecer las relaciones espaciales

entre el nervio y el músculo. Algunos músculos han demostrado un reclutamiento diferencial de sus unidades motoras en relación a la ubicación y naturaleza de la función motora realizada, lo que implica una compartimentalización neuromuscular (Guzmán-Venegas, Picand et al. 2015).

En contraste con los demás músculos masticadores, el músculo pterigoideo medial ha sido objeto de escasas investigaciones a nivel anatómico y funcional. Su disposición en espacios anatómicos profundos lo ha transformado en un músculo difícil de analizar. El músculo pterigoideo medial muestra una organización interna de múltiples capas y dos porciones claramente diferenciadas. La pequeña área de origen combinada junto a una amplia zona de inserción resultan en variadas fibras musculares y direcciones. Esto sugiere una gran versatilidad del músculo pterigoideo medial durante la función, estabilizando la mandíbula (Hannam and McMillan 1994).

Sakamoto y Akita, el año 2004, realizaron la descripción más detallada que se conozca del nervio mandibular y sus múltiples ramos a nivel de la fosa infratemporal, incluyendo la inervación del músculo pterigoideo medial. El tronco principal del nervio pterigoideo medial se origina de la cara medial del tronco común del nervio mandibular, y penetra por la región posterosuperior del músculo entre dos láminas tendinosas de inserción. Una vez dentro del músculo el nervio se divide en ramos terminales. De acuerdo a la distribución intramuscular el nervio principal divide al músculo en una zona anteromedial y una posterolateral, inervándolas desde la cara lateral y medial, respectivamente. Sin embargo, este estudio no establece un patrón de inervación intramuscular claro.

Estudios posteriores no han indagado en la inervación del músculo pterigoideo medial. Por ende, determinar el patrón de inervación intramuscular, troncos nerviosos principales, distribución espacial y arborización de sus ramos terminales, podría sentar las bases para la realización de estudios posteriores que determinen la función muscular en su totalidad (Hannam and Wood 1981). El tratamiento de múltiples condiciones patológicas que afectan al músculo pterigoideo medial o a las estructuras vecinas en la región pterigofaríngea, así como también la evaluación electromiográfica, requieren de una detallada

descripción del patrón de inervación muscular por lo que se hacen necesarios los estudios que permitan establecer fehacientemente la manera en la que se distribuyen las fibras nerviosas intramuscularmente.

ASPECTOS MORFOLÓGICOS

1. Características Generales

El músculo pterigoideo medial es grueso y cuadrilátero, se ubica topográficamente en la fosa infratemporal, medial al músculo pterigoideo lateral y envuelto por la fascia interpterigoidea. Se dirige de forma oblicua desde la fosa pterigoidea hasta la cara medial del ángulo de la mandíbula (**Figura 1**) (Rouvière and Delmas 2005). Muestra una organización interna de múltiples capas y dos porciones claramente diferenciables. Las fibras más anteriores del músculo se originan en la parte más baja y lateral de la fosa pterigoidea y la tuberosidad del maxilar, mientras que las fibras más posteriores nacen de la parte más alta y medial de la misma fosa. El trayecto de las fibras toma una dirección inferior, lateral y posterior hasta alcanzar la cara medial del borde basilar mandibular (van Eijden, Koolstra et al. 1995).

La parte anterior del músculo (**Figura 1**) se encuentra fijada a la porción postero-inferior de la tuberosidad del maxilar y al proceso piramidal del hueso palatino, a través de un fuerte cono tendinoso dirigido hacia inferior, lateral y ligeramente hacia posterior. Un cuerpo carnoso discurre en la misma dirección que las fibras tendinosas, insertándose en la zona antero-medial del ángulo mandibular (El Haddioui, Bravetti et al. 2007). La porción carnosa del músculo constituye el cuerpo de un cono de base inferior cuya inserción termina en la cara medial del ángulo mandibular.

La parte posterior es difícil de diferenciar de la anterior, siendo ésta más brillante a la vista, se origina completamente en la fosa pterigoidea, y dirige sus fibras más hacia posterior, donde se insertan en la cara medial de la rama mandibular, a través de la alternancia de fibras musculares y láminas tendinosas (El Haddioui, Bravetti et al. 2007).

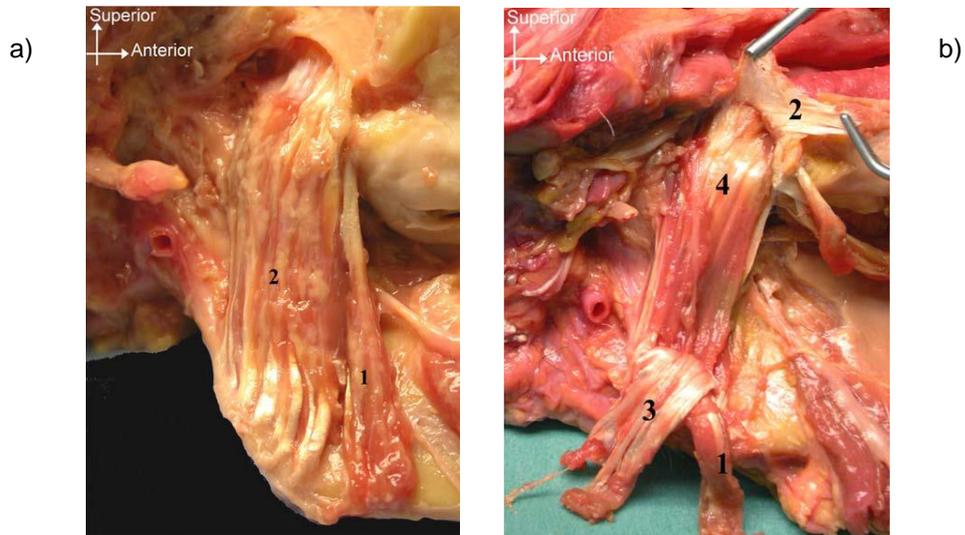


Figura 1. a) Vista general medial del músculo pterigoideo medial. 1. Porción anterior músculo pterigoideo medial. 2. Porción posterior músculo pterigoideo medial (El Haddioui, Bravetti et al. 2007). b) Vista medial del músculo pterigoideo medial mostrando su cuarta capa (4), disecado siguiendo los diferentes tendones internos que lo convierten en un músculo multipenado. Las capas 1 y 3 han sido retraídas inferiormente y la capa 2 superiormente. (El Haddioui, Bravetti et al. 2007).

Anatómicamente, se han descrito siete capas alternadas de músculo-tendón que se extienden de anterior hacia posterior, lo que explica que este músculo pueda ser particularmente fuerte y tenga un protagonismo en el ciclo masticatorio (Hsu, Shiau et al. 2001). Estudios basados en la observación de imágenes proporcionadas por resonancia magnética nuclear, confirman la existencia de una correlación anatómica entre los músculos masetero y pterigoideo medial, a través de una banda transversa sub angular (Yamaguchi, Itoh et al. 2011). Adicionalmente, se han reportado manojos de fibras musculares entre ambos músculos pterigoideos (Sakamoto and Akita 2004).

Desde una vista frontal, la angulación del músculo pterigoideo medial, la orientación de sus sitios de origen e inserción y la cercanía de sus tabiques intramusculares, ofrecen una limitada geometría que permita variar el ángulo de tracción. Sin embargo, visto lateralmente, el origen relativamente vertical, la disposición anteroposterior del músculo y una amplia zona de inserción en el ángulo mandibular, sugieren la presencia de angulaciones divergentes de fibras

musculares que podrían suponer distintas acciones del músculo en función (Hannam and McMillan, 1994). Aún se desconoce si la contracción diferencial del músculo se lleva a cabo, y de ser así, cuáles serían los compartimientos neuromusculares existentes. Los registros electromiográficos son particularmente difíciles de efectuar en este músculo, lo que limita esta técnica de medición.

2. Inervación

Los músculos masticatorios se desarrollan a partir del mesodermo del primer arco faríngeo. Este hecho explica que en su conjunto estén inervados por el nervio trigémino (V), estructura que acompaña su migración. Específicamente, el músculo pterigoideo medial se encuentra inervado por el nervio del mismo nombre, proveniente del tronco posterior del ramo mandibular.

El nervio trigémino emerge de la cara lateral del puente a través de dos raíces, una motora y una sensitiva. Es un nervio mixto, sensitivomotor, que inerva por un lado a los músculos de la masticación y, además, proporciona la sensibilidad a la cara, órbita, cavidades nasales y a la cavidad oral (Latarjet and Liard 2004, Rouvière and Delmas 2005, Moore, Agur et al. 2009). El nervio trigémino se compone de tres ramos principales, que son los nervios Oftálmico (V1), Maxilar (V2) y Mandibular (V3).

El nervio mandibular es el único ramo sensitivomotor. Su raíz sensitiva es gruesa, nace del borde anterolateral del ganglio trigeminal, posteriormente a la raíz maxilar, y la pequeña raíz motora inferior a ambas. Atraviesan el agujero oval donde las dos raíces llegan a unirse por primera vez. A pocos milímetros de la salida del agujero, el nervio se divide en dos troncos terminales, uno anterior y otro posterior. El nervio ingresa a la fosa infratemporal, lateral a la fascia interpterigoidea y medial al músculo pterigoideo lateral y la fascia pterigotemporomandibular. En su cara medial se encuentra estrechamente relacionado con el ganglio ótico. El tronco posterior entrega cuatro ramos terminales; el tronco común de los nervios de los músculos pterigoideo medial, tensor del velo del paladar y tensor del tímpano, el nervio auriculotemporal, el

nervio alveolar inferior, y el nervio lingual (Rouvière and Delmas 2005, Moore, Dalley et al. 2013).

El tronco principal del nervio pterigoideo medial se origina de la cara medial del tronco común de V3, y penetra por la región posterosuperior del músculo entre dos láminas tendinosas de inserción (Sakamoto and Akita 2004). Una vez dentro del músculo el nervio se divide en ramos terminales. De acuerdo a la distribución intramuscular el nervio principal divide al músculo en una zona anteromedial y una posterolateral, invirtiéndolas desde la cara lateral y medial, respectivamente (**Figura 2**).

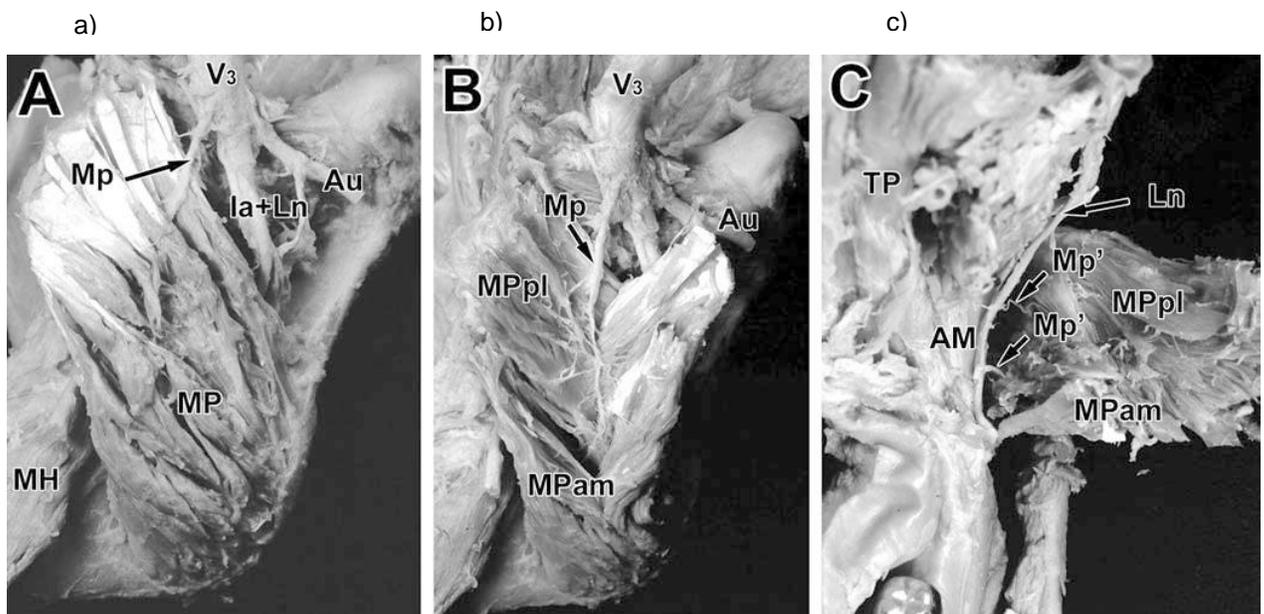


Figura 2. Músculo pterigoideo medial, inervación y relaciones. Aspecto medial (a, b) y anterior (c). A, pterigoideo medial (MP) inervado por el nervio homónimo desde su cara medial (Mp). B, músculo pterigoideo medial dividido por el nervio (Mp) en una porción anteromedial (MPam) y una posterolateral (MPpl). C, pequeño filete nervioso del nervio lingual inervando la porción MPpl desde la cara lateral. AM, ramilletes musculares del músculo temporal. Au, nervio aurículo temporal. Ia, nervio alveolar inferior. V3, nervio mandibular (Sakamoto and Akita 2004).

El nervio lingual en múltiples ocasiones se relaciona estrechamente con la cara posterolateral a través de filetes nerviosos comunicantes, y en el 40% de las disecciones realizadas por Sakamoto, lo perfora. Aún es desconocido el papel que podría desempeñar el nervio lingual en la función del músculo pterigoideo medial.

Textos clásicos detallan la posición y forma de entrada del nervio al músculo pterigoideo de dos maneras principalmente. En primer lugar, su entrada a través de múltiples ramos en la parte superior del borde posterior del músculo y en parte en la superficie medial; en segundo lugar, el nervio penetra el músculo en uno o múltiples ramos por la superficie medial en la parte posterosuperior del mismo (Paturet , Testut, Jacob et al. 1921, Hovelacque 1927, Pernkopf and Ferner 1963, Friedmann 1974, Rouvière and Delmas 2005, Sobotta, Putz et al. 2006, Quain, Schafer et al. 2010).

Terada y Sato, 1979, disecaron cinco cadáveres para establecer el patrón de inervación intramuscular del músculo. Observaron que la forma de acceso del nervio es variable, pero siempre por la cara medial, confirmando lo expresado en los textos clásicos. Identificaron cuatro ramos nerviosos principales dentro del músculo (**Figura 3.**), distribuidos de forma variable siguiendo un patrón común (Terada and Sato 1982).

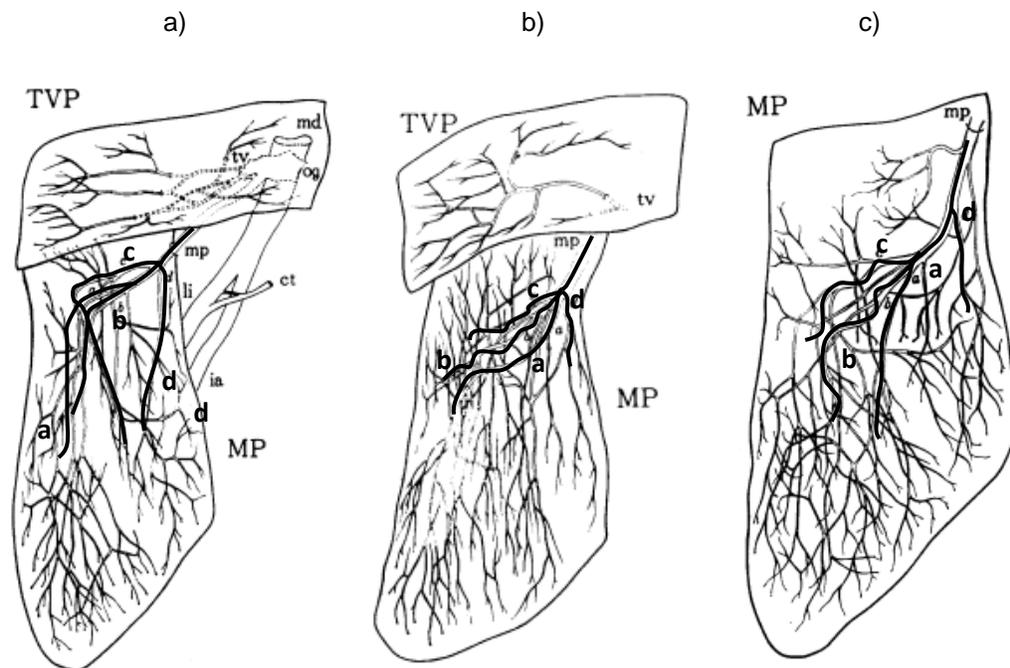


Figura 3. Distribución intramuscular del nervio para el músculo pterigoideo medial y tensor del velo del paladar. Las letras a - d, indican los cuatro ramos nerviosos principales y las variaciones encontradas en sus recorridos (Terada y Sato, 1982). Adaptado por Marco Solar.

3. Arquitectura Interna

Los músculos pterigoideos humanos presentan un complejo diseño arquitectónico. La fuerza de contracción que un músculo puede producir depende de la longitud, sección de área transversal y velocidad de acortamiento de los sarcómeros. El músculo pterigoideo lateral presenta una forma de abanico con largas fibras musculares y una pequeña área de sección transversal, mientras que el pterigoideo medial se considera un músculo multipenado de fibras cortas y una gran área de sección transversal (Hannam and McMillan 1994, Van Eijden, Korfage et al. 1997).

Los músculos cuyas fibras corren oblicuamente respecto de la línea de contracción se denominan músculos penados (semejan una pluma). Podemos encontrar músculos unipenados, bipenados o multipenados. La diferencia entre ellos radica en la posición del tendón y la relación entre él y las fibras musculares. Así, un músculo unipenado tendrá un solo tendón que discurre por uno de los márgenes laterales del músculo; uno bipenado, en el centro de él, y uno multipenado será la suma de varios bipenados (Van Eijden, Korfage et al. 1997).

La descripción más detallada de la arquitectura interna del músculo pterigoideo medial fue proporcionada por Schumacher en 1961. En ella describe al menos seis aponeurosis con relaciones variables unas de otras, siguiendo de manera general la organización interna descrita para el músculo masetero (Schumacher 1961). Es decir, forman tabiques intercalados desde superior formando un arreglo multipenado de fibras cortas. Al igual que sus homólogos maseteros, los tabiques tendinosos no siempre son paralelos, incluso algunos se extienden solamente dos tercios de la longitud total del mismo (Van Eijden, Koolstra et al. 1995).

La arquitectura estructural del músculo proporciona la generación de máxima tensión en un espacio anatómico reducido, y su disposición genera que la fuerza sea realizada en tres dimensiones a lo largo de al menos dos ejes principales, uno situado en sentido anterior y orientado hacia arriba, medial y adelante; y otro, posterior orientado hacia arriba, medial pero más anterior. Los

numerosos tendones internos le entregan al músculo el mayor grado de penación entre los músculos de la masticación (Schumacher, 1961., Hannam and McMillan, 1994; van Eijden et al, 1997).

4. Dinámica Mandibular

La función del sistema masticatorio es compleja. Es necesaria una contracción coordinada de los diversos músculos de la cabeza y el cuello para mover la mandíbula con precisión y permitir un funcionamiento eficaz. El sistema de control neuromuscular, regula y coordina las actividades de todo el sistema masticatorio, siendo la neuroanatomía y la fisiología conocimientos esenciales para comprender la dinámica mandibular y su patología (Okeson 2013).

El músculo pterigoideo medial junto con el músculo masetero forman el cabestrillo muscular que soporta la mandíbula en el ángulo mandibular. Cuando sus fibras se contraen, se eleva la mandíbula y los dientes entran en contacto. A su vez, cuando el músculo se activa bilateralmente aporta junto con el pterigoideo lateral en la protrusión mandibular, mientras que la activación unilateral, produce movimientos de mediotrusión hacia el lado contrario.

Se activa de manera máxima en los movimientos de máxima intercuspidad (MIC) cuando los esfuerzos se dirigen en sentido vertical y anterior. Cuando realizamos movimientos hacia la derecha o izquierda indistintamente en MIC, los músculos temporal anterior y posterior, masetero superficial y profundo ipsilaterales mantienen una fuerte actividad, mientras que sus homólogos contralaterales disminuyen su actividad al mínimo. Al contrario sucede en el pterigoideo medial y lateral, encontrándose fuerte actividad en el lado contralateral. A su vez, en el lado ipsilateral, aumenta la actividad del músculo pterigoideo mientras mayor sea el desplazamiento anterior de la mandíbula. Esto explica en parte la razón por la que se considera al pterigoideo medial un estabilizador de la mandíbula (Wood 1987, Koolstra, Van Eijden et al. 1990). Este

movimiento lateral sería especialmente importante durante los movimientos de trituración de los alimentos los cuales requieren de un control fino.

El papel del pterigoideo medial en el control postural de la mandíbula y en el control direccional de la fuerza de la masticación, sostienen firmemente un grado de versatilidad biomecánica tan sofisticada como la encontrada en el músculo masetero, pero esta característica aún no ha sido confirmada (Hannam y Mc Millan 1994).

Las contracciones musculares se asocian con una fuerza que se expresa mediante tres variables independientes: su magnitud, su punto de aplicación y finalmente su orientación. Las dos últimas están determinadas por la línea de acción de cada músculo, definida por la geometría del sistema (Van Eijden, Korfage et al. 1997)(**Figura 4**).

Actualmente, la acción muscular no puede ser determinada solamente a partir de la orientación general de sus fibras, ya que estudios recientes han demostrado la existencia de compartimentos neuromusculares, definidos como pequeñas porciones musculares inervadas por un ramo nervioso primario, que tendrían una activación selectiva y un rol específico en la contracción muscular (Guzmán-Venegas, Picand et al. 2015). Aún no se ha determinado la totalidad del patrón de inervación del músculo pterigoideo medial. Por este motivo, establecer la distribución nerviosa al interior del músculo, sentará las bases neuroanatómicas que permitirán realizar futuros estudios tanto electrofisiológicos como clínicos, que aportarán en el esclarecimiento de la función muscular y sus consecuencias en la patología disfuncional.

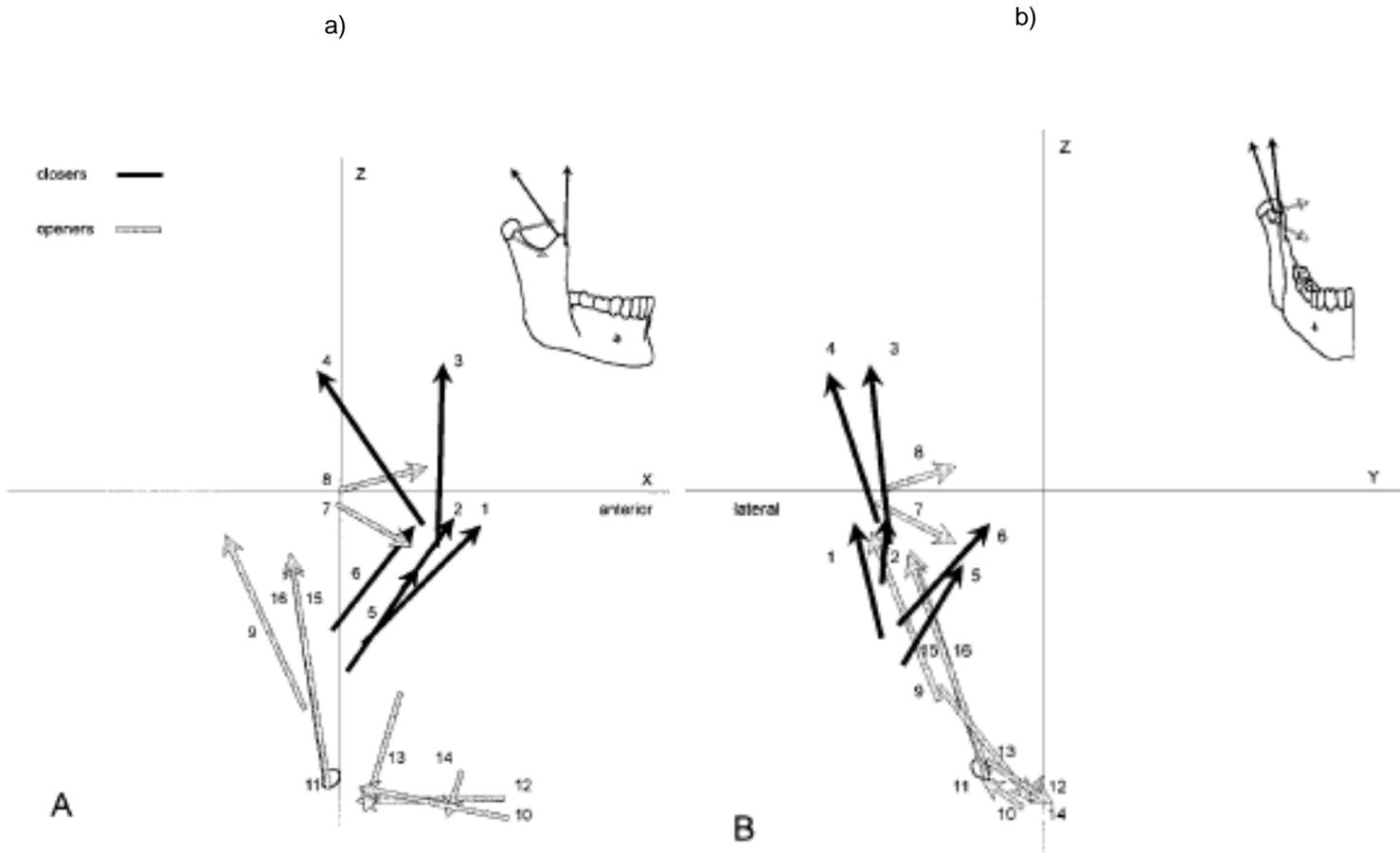


Figura 4. Orientación espacial de las líneas de acción de los músculos elevadores y depresores mandibulares en el plano sagital (a) y frontal (b). 1. Masetero superficial. 2. Masetero profundo. 3. Temporal anterior. 4. Temporal posterior. 5. Pterigoideo medial anterior. 6. Pterigoideo medial posterior. 7. Pterigoideo lateral inferior. 8. Pterigoideo lateral superior. 9. Digástrico posterior. 10. Digástrico anterior. 11. Tendón intermedio del digástrico. 12. Genihioideo. 13. Milohioideo posterior. 14. Milohioideo anterior. 15. Estilohioideo lateral. 16. Estilohioideo medial (Van Eijden, Korfage et al. 1997).

TÉCNICA DE SIHLER

1. Breve historia y descripción de la técnica

La técnica de tinción de Sihler, es una técnica de estudio introducida el año 1895 por el Dr Charles Sihler para identificar husos neuromusculares en reptiles (Sihler 1895). Con el paso de los años la técnica perdió relevancia, y no fue hasta el año 1937, que fue modificada para estudiar la inervación del riñón, útero, y los ovarios humanos por Wharton (Wharton 1937). En 1988 Liem y Van Willigen y, posteriormente, Wu y Sanders en el año 1992, modificaron nuevamente la técnica para estudiar la distribución de tejido nervioso periférico. Desde entonces, se ha transformado en la mejor técnica disponible para dilucidar la totalidad de los patrones nerviosos de los músculos esqueléticos de mamíferos, mucosa y piel (Wharton 1937, Liem and Van Willigen 1988, Wu, Sanders et al. 1994, Mu and Sanders 2010).

Esta técnica permite la visualización de la distribución nerviosa dentro de los tejidos blandos sin necesidad de una disección extensa ni la preparación de porta objetos, a diferencia de los enfoques tradicionales. El patrón de distribución intramuscular de los nervios es difícil de observar a través de la manipulación manual, debido a la disminución gradual de los mismos hacia el extremo terminal de los músculos (Won, Kim et al. 2011).

Existen variados métodos para analizar y visualizar la distribución del patrón nervioso al interior de un músculo. Dentro de estos el más utilizado corresponde a la disección y microdisección anatómica. Esta técnica tiene como limitantes el estudio acabado y preciso de los ramos nerviosos menores, terminales y sus comunicaciones. Otro método es la reconstrucción computarizada, que 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 producida durante la disección seriada de los tejidos, problemas con la tinción, orientación de la muestras y la reconstrucción propiamente tal.

La técnica de Sihler tiene como propósito lograr transparentar el tejido muscular mientras tiñe de color violeta el patrón nervioso intramuscular (**Figura 5**),

lo que permite identificarlo fácilmente sin la interrupción estructural que provocaría la disección quirúrgica (Yu, Liu et al. 2010).

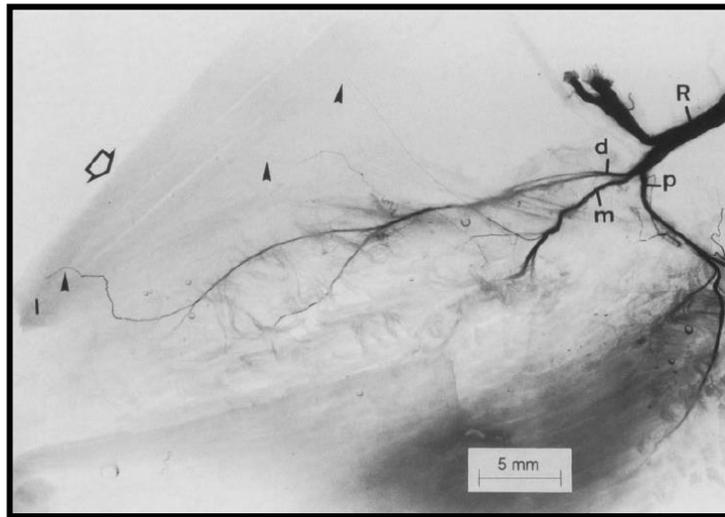


Figura 5. Músculo triceps sometido al método de tinción de Sihler. Se visualiza el punto motor, troncos principales, dirección de las fibras nerviosas en relación al músculo y sus ramos terminales (Yu, Liu et al. 2010).

2. Ventajas de la técnica de Sihler

La técnica de Sihler presenta varias ventajas, las cuales se describen a continuación: (Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011)

- Permite observar el patrón de inervación intramuscular de cualquier estructura muscular sin la necesidad de realizar disección manual.
- Es posible precisar el patrón de ramificación y distribución intramuscular del nervio. 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, su punto motor, sus ramificaciones, número y diámetro del o los troncos nerviosos principales.
- Nervios enteros pueden ser mapeados sin interrupción. Mientras los tejidos se vuelven transparentes la tinción se va uniendo a los ramos nerviosos más pequeños, incluso a pequeños plexos. No requiere la preparación de

cortes o láminas.

- La estructura tridimensional de un órgano entero puede ser preservada, permitiendo 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 dicha estructura.
- Pueden ser delimitados los compartimentos neuromusculares al interior de un músculo.
- Muestras sobre desteñidas 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.

3. Desventajas de la técnica de Sihler

Por lo otro lado, la técnica de Sihler presenta las siguientes limitaciones:
(Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011)

- No permite la distinción entre neuronas sensitivas y motoras en las muestras, dado que es selectiva para la vaina de mielina que recubre el axón.
- 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 desaparece gradualmente.
- 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.

- Comparado con otros métodos experimentales, requiere alta demanda de tiempo y es dependiente de la experiencia del operador.

II. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

1. HIPÓTESIS

Existe un patrón de inervación común al interior del músculo pterigoideo medial humano en cadáveres al aplicar el método de Sihler.

2. OBJETIVO GENERAL

Establecer el patrón de inervación al interior del músculo pterigoideo medial humano en cadáveres al aplicar el método de Sihler.

3. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Realizar disección anatómica de la región infratemporal en cabezas humanas conservadas.
2. Visualizar las estructuras nerviosas al interior del músculo pterigoideo medial mediante la técnica de Sihler.
3. Graficar la distribución de las estructuras nerviosas al interior del músculo pterigoideo medial mediante fotografías digitales estandarizadas.
4. Evaluar el patrón de distribución nerviosa según división topográfica del músculo pterigoideo medial mediante software computacional.

III. METODOLOGÍA

1. Diseño

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 dependiente del Instituto de Ciencias Biomédicas (ICBM) de la misma facultad.

2. Universo y muestras

La unidad de muestra a evaluar correspondió a músculos pterigoideos mediales obtenidos de cadáveres humanos conservados. El tamaño muestral se estableció por disponibilidad al momento de realizar el estudio, siendo este de ocho músculos. Los músculos fueron obtenidos entre los cadáveres humanos existentes en el Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo que cumplían con los criterios de inclusión. Los criterios de selección aplicados se detallan a continuación:

- Cadáveres de hombres y mujeres entre 18 y 70 años de edad.
- Integridad estructural del territorio máxilo-facial.
- Ausencia de deformaciones externas evidentes.

3. Autorización

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**).

4. Variables recolectadas (obtención de muestras)

Una vez seleccionados los cuerpos se procedió a realizar el examen intraoral registrándose la formula dentaria y la existencia de mesa oclusal

posterior. Los antecedentes obtenidos fueron registrados en una ficha ad-hoc previamente confeccionada (**Anexo 2**), donde se consideraron adicionalmente el número identificador del cadáver y el sexo. Para la obtención de las estructuras a estudiar se procedió a realizar la disección cadavérica de la región infratemporal en cadáveres a los que previamente se les extirpó los músculos temporal, masetero, pterigoideo lateral, cápsula y disco articular para estudios previos. Este procedimiento se describe a continuación:

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 realizó siguiendo el contorno del borde basilar manteniendo una distancia de 1 centímetro en relación a él, hasta la línea media facial. Mediante disección roma y aguda, y desde posterior hacia anterior, se procedió a disecar el plano cutáneo, obteniendo 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.

A continuación, se llevó a cabo la exéresis de las estructuras parótida y nervio facial, con el fin de exponer el musculo masetero, el cual fué desinsertado para su análisis. Una vez realizado esto, se procedió a eliminar la rama mandibular para descubrir la región infratemporal, con la correspondiente disección de los elementos nerviosos y vasculares de ella. Se disecó la articulación temporomandibular desde superficial a profundo, a modo de exponer la cavidad articular y visualizar el disco articular. Posteriormente, se desinsertó el músculo pterigoideo lateral, en conjunto con el disco articular, previamente liberado. Para realizar la disección del músculo pterigoideo medial, primero, se liberó su inserción a nivel del ángulo mandibular para, posteriormente, realizar la disección de su porción pterigoidea comenzando a nivel del ala lateral del proceso pterigoideo por su cara medial. Luego se eliminó dicho tejido óseo para exponer en su totalidad la fosa pterigoidea. Finalmente se realizó la disección y obtención del resto del músculo.

Los músculos pterigoideos mediales obtenidos fueron sometidos al protocolo de tinción de Sihler, cuyo objetivo final es la tinción de las estructuras nerviosas, con la mantención de la integridad del tejido, ya que este se hace transparente eliminando la necesidad de microdissección nerviosa. La tinción de Sihler sigue un estricto protocolo subdividido en ocho etapas, las que en su totalidad demoraran aproximadamente entre tres y cuatro meses, dependiendo del grosor y tamaño de la pieza a estudiar.

5. Etapas de la técnica de Sihler

Las diferentes etapas de la técnica de Sihler se detallan a continuación:

a. Fijación:

El órgano o tejido a estudiar se fijó en formalina no neutralizada al 10% durante 1 mes. La formalina fue cambiada 1 vez a la semana o cada vez que esta se volvió turbia.

b. Maceración y despigmentación:

Los tejidos fijados fueron lavados en abundante agua durante 1 hora, posteriormente fueron colocados en la solución de 3% de Hidróxido de Potasio Acuoso (3% v/v peróxido de hidrógeno en 100 mL 3% w/v KOH) durante 4 semanas; la solución fue cambiada cada 1 o 2 días hasta que el tejido quedó blanqueado y translúcido. El tiempo de maceración depende del tamaño de la muestra, pudiendo durar algunos días o semanas enteras.

c. Descalcificación:

Una vez macerado y despigmentado el tejido fue lavado suavemente en abundante agua durante 1 hora. Posteriormente el tejido fue ubicado en la tinción de Sihler I (1 volumen de ácido acético glacial, 1 volumen de glicerina y 6 volúmenes de hidrato cloral acuoso al 1%), con el objetivo de descalcificar el órgano. La solución fue cambiada 2 veces a la semana. Esta etapa duró entre 3 a 4 semanas.

d. Tinción:

El músculo descalcificado, fue lavado en abundante agua durante 30 minutos. Posteriormente se tiñó con la solución de Sihler II (1 volumen de Hematoxilina de Ehrlich, 2 volúmenes de glicerina y 6 volúmenes de hidrato cloral acuoso al 1%). La tinción se llevó a cabo durante 4 semanas, la solución fue cambiada 1 o 2 veces durante este tiempo.

e. Destinción:

El músculo teñido fue lavado durante 30 minutos bajo un chorro de agua, posteriormente se procedió al desteñido utilizando la solución de Sihler I. Cuando la solución se volvía azul o púrpura, esta fue cambiada.

f. Neutralización:

Posterior a la destinción 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 fue lavada durante 60 minutos bajo un abundante chorro de agua y luego neutralizada con un movimiento de agitación durante 1 o 2 horas. El músculo fue examinado cada 30 minutos.

g. Aclaramiento:

La muestra fue lavada suavemente bajo un chorro de agua durante 1 hora. Posterior a esto los tejidos fueron 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.

h. Transparencia:

La muestra clareada fue preservada en glicerina al 100% con unos pocos cristales de timol. Esta solución debe ser cambiada cada 6 meses.

Tabla 1. Etapas de la técnica de Sihler

Nº	PROCEDIMIENTO	SOLUCION	TIEMPO (Aprox)	ASPECTO FINALIZAR	AL
1	Fijación	Formalina neutralizada 10%	no al 4 semanas		
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, serán 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			

(Liem and Van Willigen 1988, Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011)

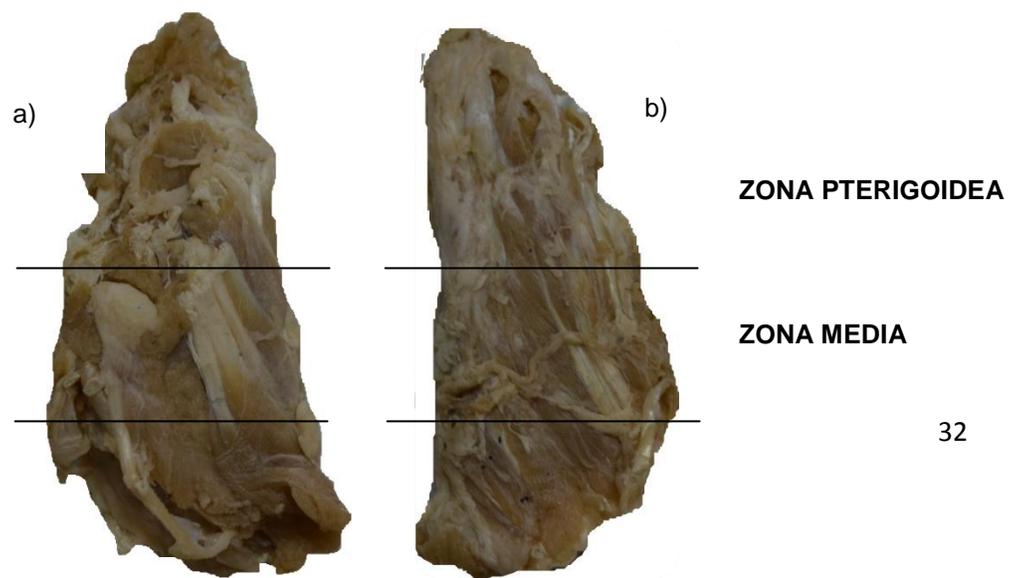
6. Plan de Análisis

Los músculos pterigoideos sometidos al método de Sihler fueron fotografiados con una cámara fotográfica digital marca Nikon D3100. Se procedió a estandarizar la toma fotográfica como se describe a continuación. La estructura en estudio fue posicionada sobre un negatoscopio dispuesto de forma horizontal y

cuya fuente lumínica correspondió a luz blanca. La fotografía se realizó con la cámara en una posición fija a 30 centímetros de la superficie del negatoscopio. Para el análisis de las estructuras nerviosas más finas, estas fueron visualizadas y fotografiadas bajo una lupa estereoscópica 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 tales efectos, se dividió arbitrariamente el músculo topográficamente en tres regiones; pterigoidea o superior, media y mandibular o inferior, registrándose las siguientes variables (**Figura 6**):

1. Ubicación del punto motor del tronco principal
2. Presencia de troncos principales por zona topográfica
3. Presencia y distribución de ramos colaterales por zona topográfica
4. Comunicación y arborización de los ramos nerviosos



Se confeccionaron esquemas que representan la distribución nerviosa encontrada en cada uno de los músculos pterigoideos mediales 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.

IV. RESULTADOS

De un total de 12 individuos cadavéricos conservados, fueron seleccionados 6 cadáveres según los criterios de inclusión establecidos, de los cuales 5 correspondían a individuos de sexo masculino y 1 de sexo femenino. De cada uno de los cadáveres seleccionados se obtuvo una muestra de músculo

pterrigoideo medial de la región infratemporal mediante el método de disección anatómica. Todas las muestras fueron obtenidas por el mismo examinador previamente calibrado.

Se realizó la técnica de tinción de Sihler a las 8 muestras obtenidas siendo exitoso el proceso en 7 de ellas (**Figura 7**), lo cual logró transparentar el músculo y teñir las estructuras nerviosas. La muestra número cuatro sufrió daños irreversibles en el proceso de maceración por lo que tuvo que ser descartada. Del registro fotográfico de los músculos pterigoideos mediales tanto macroscópico como mesoscópico se estableció lo siguiente.

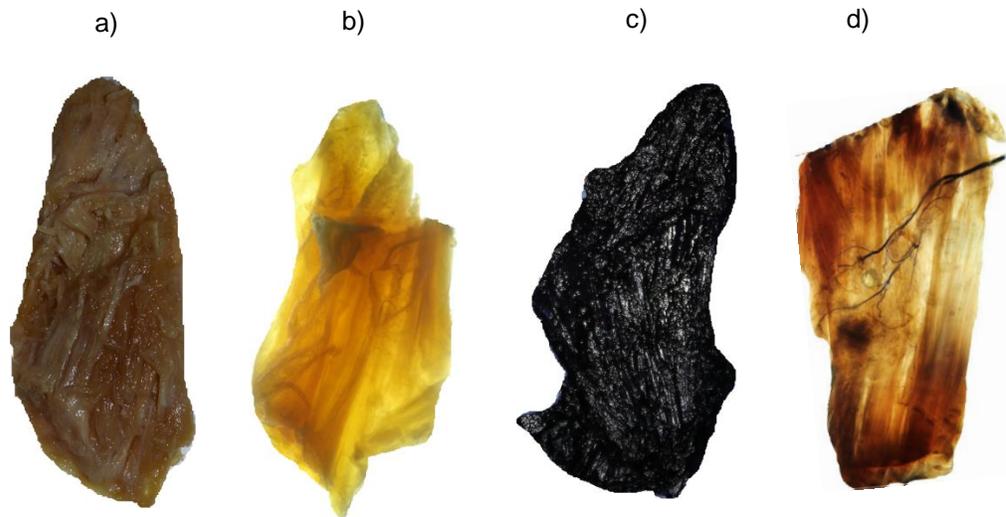


Figura 7. Fotografías macroscópicas del músculo pterigoideo medial en distintas etapas sometidos al método de tinción de Sihler. a) Muestra fijada en formalina. b) Muestra descalcificada. c) Muestra teñida con hematoxilina de Ehrlich's. d) Muestra desteñida con los ramos nerviosos teñidos en su totalidad.

1. Ubicación del punto motor del tronco nervioso principal

En la totalidad de las muestras se identificó el punto motor del nervio pterigoideo medial por la cara medial del músculo. Este se encontró dispuesto tanto en el sector pterigoideo como en la zona media; no se observaron en la zona mandibular. Se identificó para las muestras estudiadas que el punto motor del

nervio pterigoideo medial se encuentra en la zona pterigoidea ingresando por su cara medial en la mayoría de las muestras, mientras que en el resto de los músculos este ingresa por la zona media de su cara medial. (**Tabla 2**)(**Figura 8-9**)

Tabla 2. Ubicación del punto motor en músculo pterigoideo medial por zona topográfica.

MUESTRA	ZONA PTERIGOIDEA	ZONA MEDIA	ZONA MANDIBULAR
1	-	+	-
2	+	-	-
3	-	+	-
4	*	*	*
5	-	+	-
6	+	-	-
7	+	-	-
8	+	-	-

(* Muestra 4 descartada).

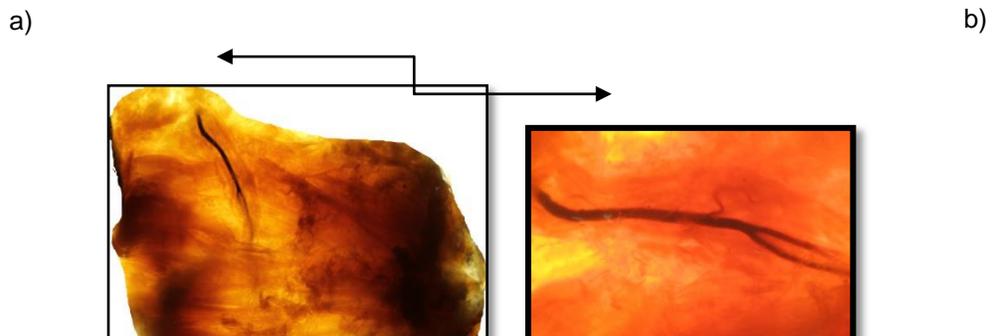


Figura 8. Visión medial del músculo pterigoideo medial sometido a método de Sihler. a) Fotografía macroscópica del músculo donde se observa la entrada del nervio en la zona pterigoidea. b) Fotografía con lupa estereoscópica, aumento 8x en zona de punto motor a nivel de la zona pterigoidea.

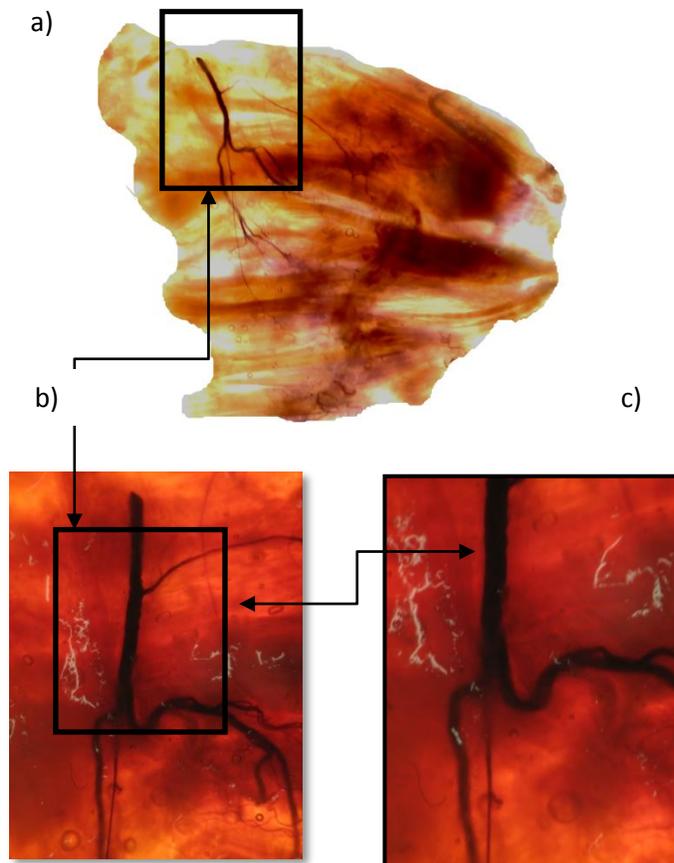


Figura 9. Muestra 7 sometida a tinción de Sihler. a) Punto motor en zona pterigoidea dividiéndose en dos ramos principales. b) Aumento 8x, presencia de ramos colaterales desde el inicio. c) Aumento 12x, se puede observar el calibre del nervio pterigoideo.

2. Presencia de troncos nerviosos principales por zona topográfica

Al interior del músculo se observó la división del nervio pterigoideo medial en dos ramos principales, que se distribuyen en la porción anteromedial y posterolateral del músculo (**Figura 8**). Los ramos nerviosos principales originados a partir del nervio del músculo pterigoideo medial se dirigen de forma oblicua en el espesor del músculo y desde medial a lateral. De este modo, el músculo queda

subdividido en dos compartimentos neuromusculares lo que coincide con su división macroscópica.

En la mayoría de las muestras, los ramos nerviosos principales emergen en la zona media de la cara lateral del músculo y siguen un trayecto oblicuo desde anterior a posterior y de superior a inferior, de los cuales nacen diversos ramos colaterales (**Tabla 3**)(**Figura 10-11**).

Tabla 3. Presencia de troncos nerviosos principales por zona topográfica.

MUESTRA	ZONA PTERIGOIDEA	ZONA MEDIA	ZONA MANDIBULAR
1	+	++	+
2	++	++	-
3	++	++	+
4	*	*	*
5	+	++	-
6	++	++	+
7	++	++	-
8	++	++	++

(* Muestra 4 descartada)

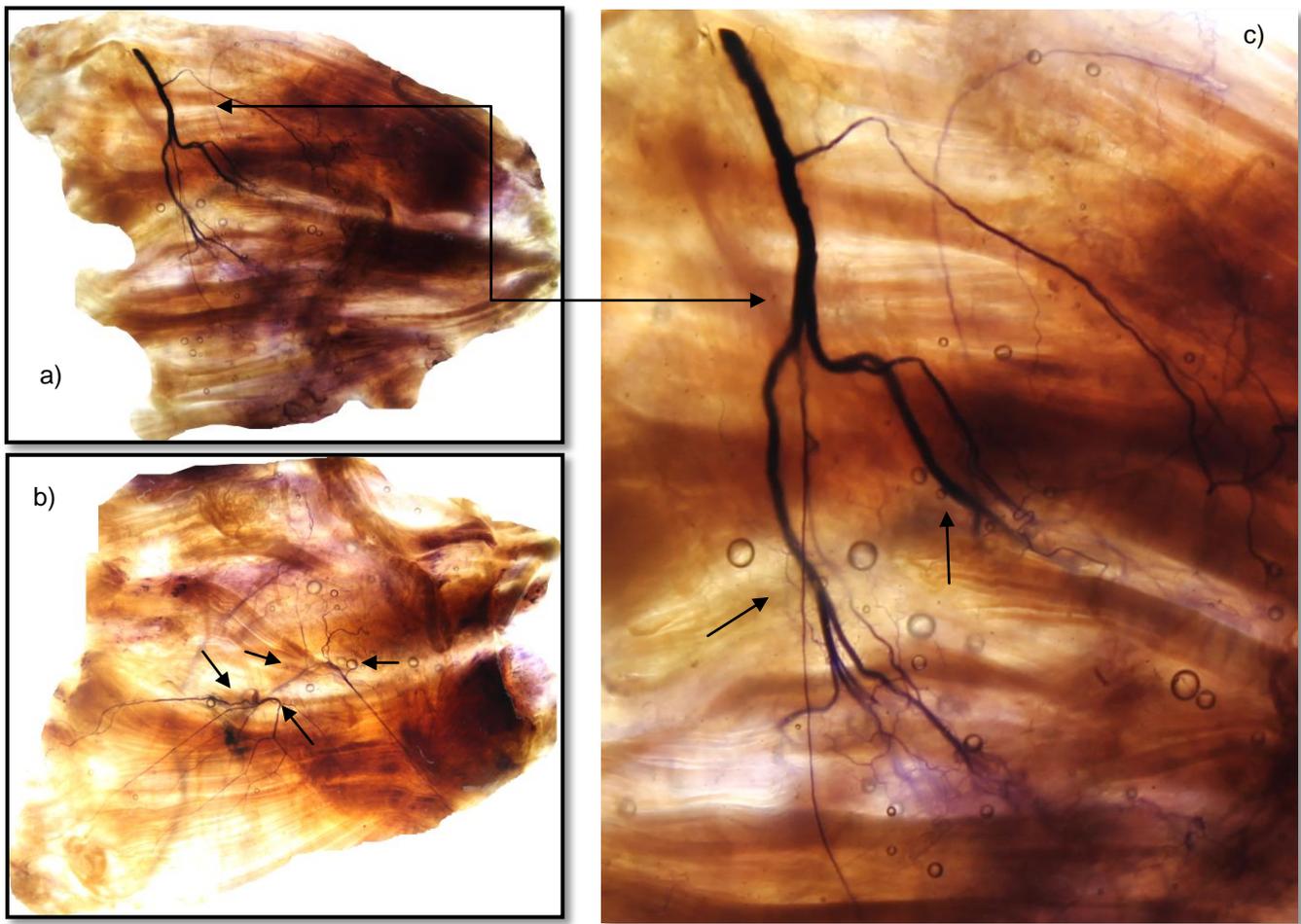


Figura 10. Muestra 7 sometida al método de Sihler. a) Visión general de la cara medial del músculo. Se observa el ingreso del nervio pterigoideo en la zona pterigoidea y su posterior bifurcación en dos ramos principales. b) Vista de la cara lateral del músculo, exhibe la profundidad que alcanza uno de los ramos principales. c) Nervio pterigoideo dividiéndose en dos troncos principales, dirigiéndose a distintas zonas del músculo. Se observa el grado de penetración del nervio en las fibras, siendo mayor en el tronco del lado izquierdo.

a)

b)



Figura 11. Muestra 8. a) Visión medial. Se observa la marcada presencia de dos ramos principales que discurren a través del músculo en forma oblicua. b) Visión lateral. Se muestra la relación de profundidad que presentan ambos ramos principales, uno de ellos atraviesa el músculo de medial a lateral completamente.

3. Presencia y distribución de ramos colaterales por zona topográfica

En todas las muestras y en cada una de las zonas topográficas se encontraron distribuidos ramos colaterales de algún tronco principal (**Tabla 4**). Cabe destacar el pequeño diámetro de muchos de esos nervios.

El nervio pterigoideo penetra el músculo cerca de su origen a nivel de la fosa pterigoidea, donde entrega dos troncos principales, uno de ellos se profundiza rápidamente para luego dirigirse hacia el extremo posterior del músculo. En su trayecto, origina múltiples ramos colaterales que inervan distintas secciones musculares hasta alcanzar la superficie lateral del músculo, donde se distribuyen en forma de abanico. Estos ramos colaterales originan a su vez múltiples ramos terminales (**Figura 12**).

Tabla 4. Distribución de ramos colaterales por zona topográfica.

MUESTRA	ZONA PTERIGOIDEA	ZONA MEDIA	ZONA MANDIBULAR
1	+	+	+
2	+	+	+
3	+	+	+
4	*	*	*
5	+	+	+
6	+	+	+
7	+	+	+
8	+	+	+

(* Muestra 4 descartada)

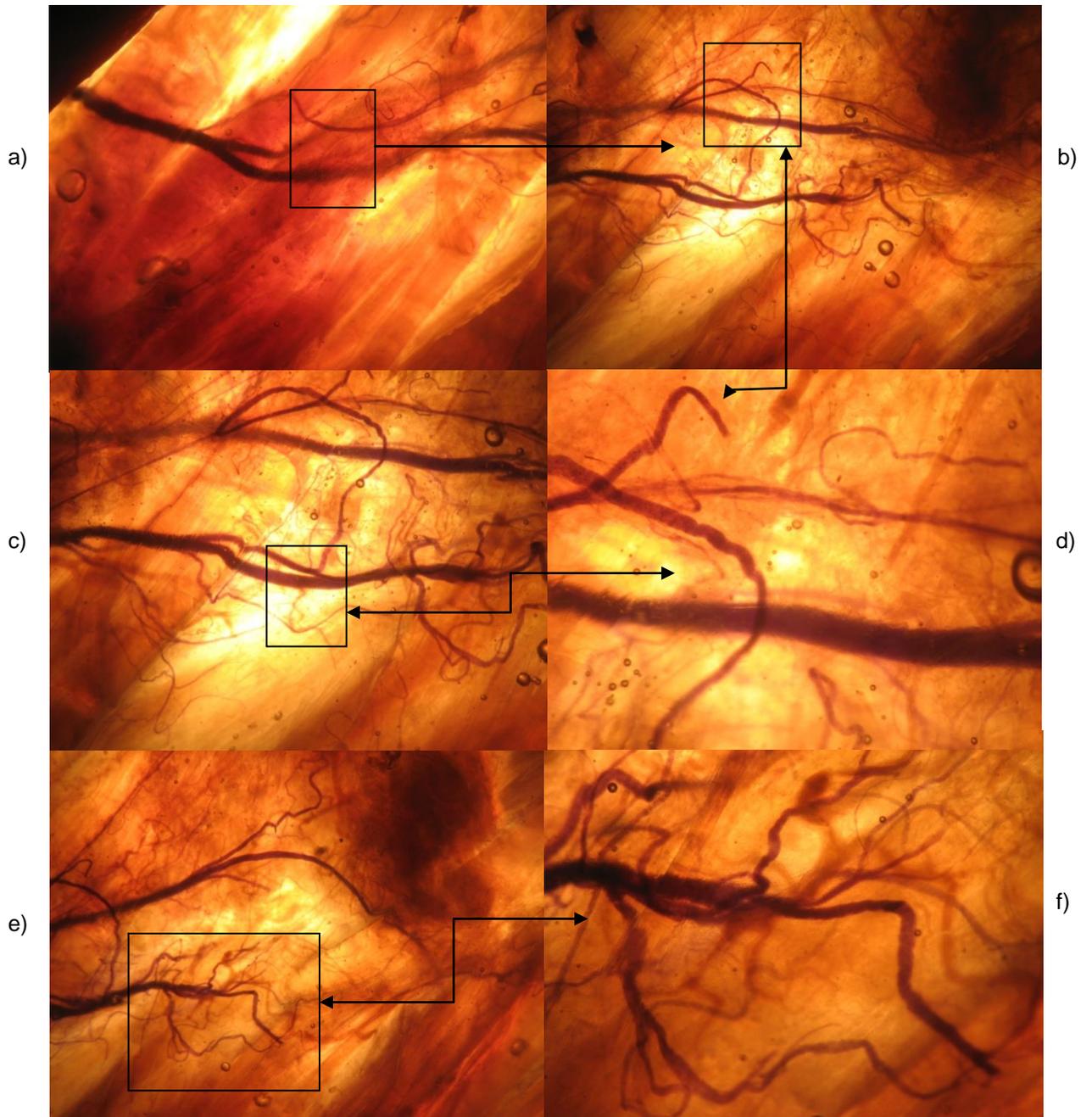


Figura 12. Distribución de ramos colaterales por zona topográfica. a) Punto motor. b) Ramos colaterales principales discurriendo por zona media, aumento 8x. c) Zona media, aumento 12x. d) Zona media, aumento 32x. Se advierte el grado de penetración de ambos ramos principales a este nivel. e) Zona mandibular, ramos colaterales terminales, aumento 8x. f) Ramificaciones terminales en la zona mandibular, 25x.

4. Comunicación y arborización de los ramos nerviosos

En relación a los ramos colaterales de los troncos principales del nervio pterigoideo medial, se determinó la presencia de comunicaciones nerviosas entre las diferentes muestras, y el patrón de arborización terminal en todas ellas.

Desde un punto de vista topográfico, encontramos que la zona pterigoidea presenta escasas comunicaciones entre ramos nerviosos. En la zona media, aumenta considerablemente la cantidad de comunicaciones, siendo mayor en la zona mandibular, donde se visualizan comunicaciones entre los ramos nerviosos principales, colaterales, e incluso, comunicantes de ramos ubicados en la cara medial del músculo con ramos presentes en la cara lateral del mismo **(Tabla 5)(Figura 13)**.

Desde una vista lateral, se logró visualizar en su cara lateral la distribución de los nervios en forma de "panal de abejas", desde donde emergen ramos colaterales menores que se distribuyen en forma de abanico por toda la cara del músculo. Este panal de abejas funciona como el centro de una red interconectada de ramos provenientes de los troncos nerviosos principales, que inervan la zona lateral del músculo **(Figura 14-15)**.

Tabla 5. Comunicaciones de ramos colaterales.

MUESTRA	ZONA PTERIGOIDEA	ZONA MEDIA	ZONA MANDIBULAR
1	-	-	+
2	-	+	+
3	-	-	-
4	*	*	*
5	-	-	+
6	-	+	+
7	+	+	+
8	-	+	+

(* Muestra 4 descartada)

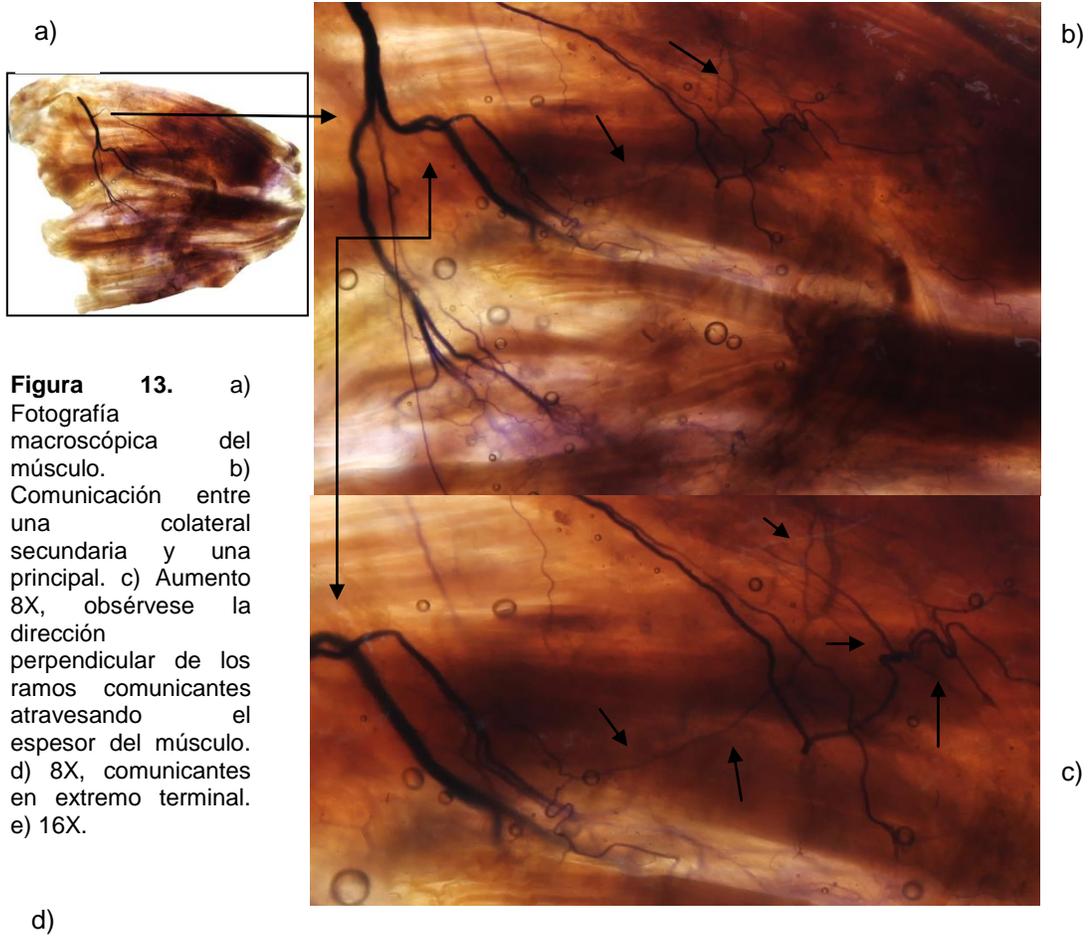
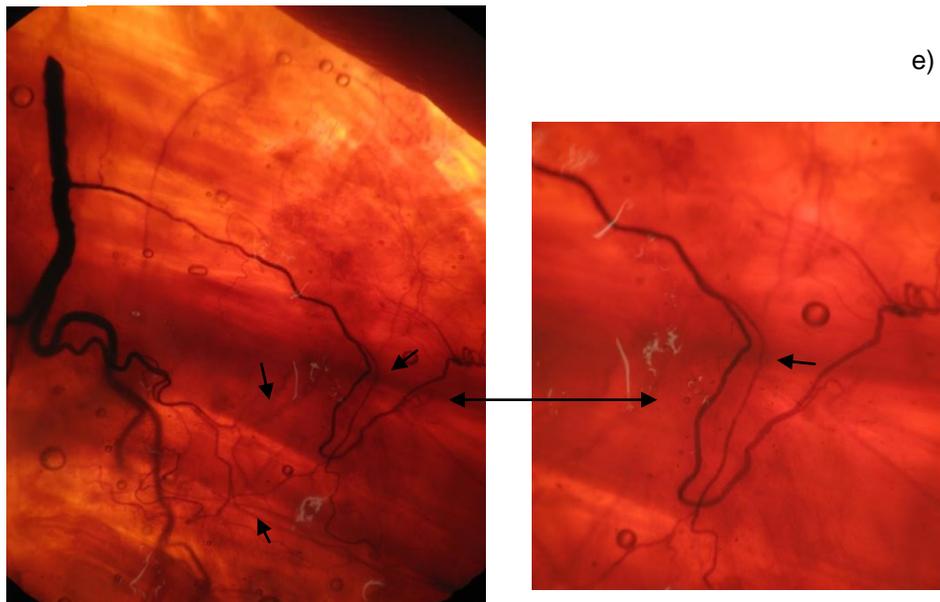


Figura 13. a) Fotografía macroscópica del músculo. b) Comunicación entre una colateral secundaria y una principal. c) Aumento 8X, obsérvese la dirección perpendicular de los ramos comunicantes atravesando el espesor del músculo. d) 8X, comunicantes en extremo terminal. e) 16X.



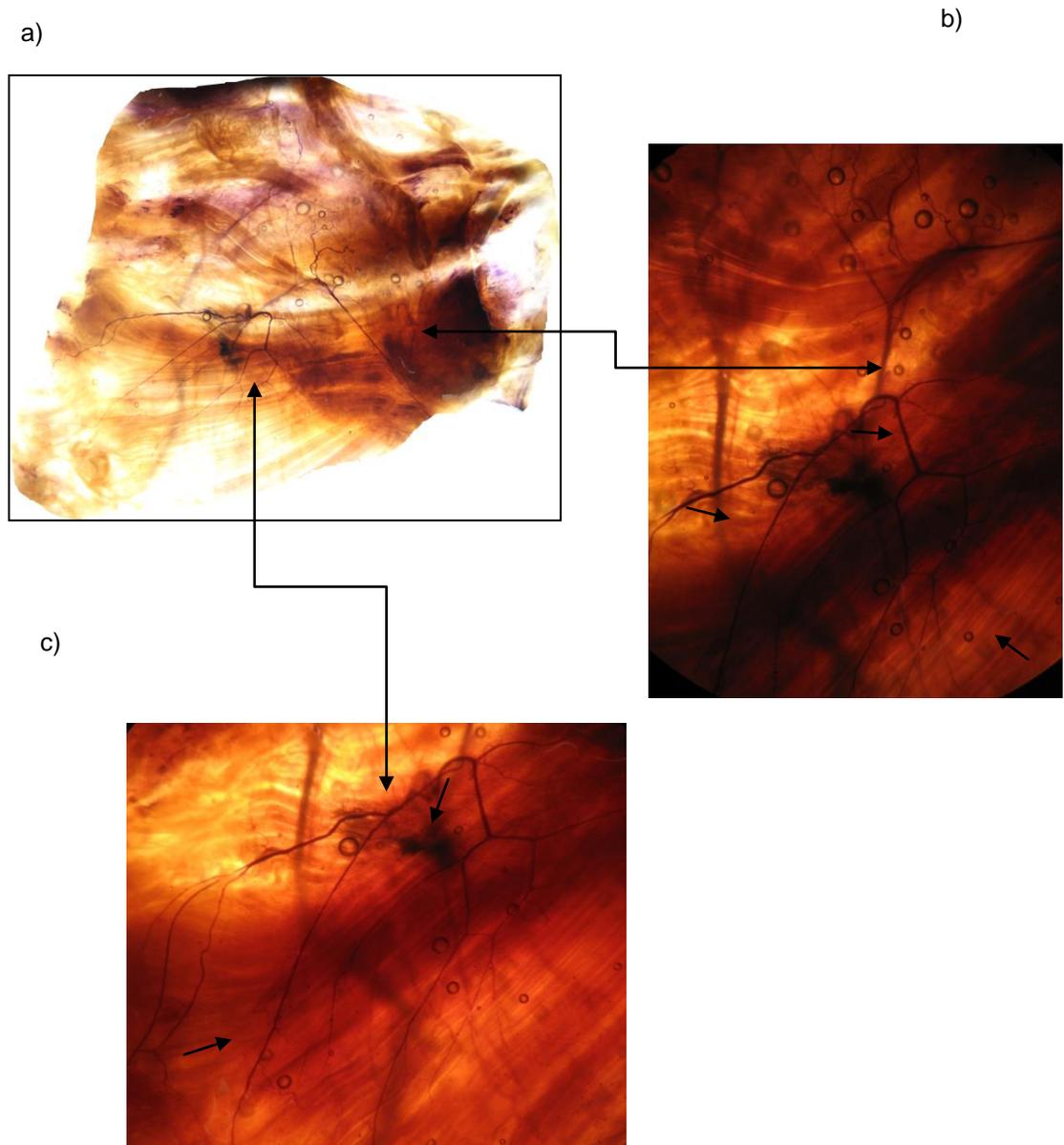


Figura 14. Visión lateral del músculo pterigoideo medial. a) Imagen macroscópica del músculo. b) Formación del "panal de abejas" en el centro de la cara lateral del músculo, aumento 8X. c) Comunicación entre ramos nerviosos a través de toda la cara lateral del músculo.

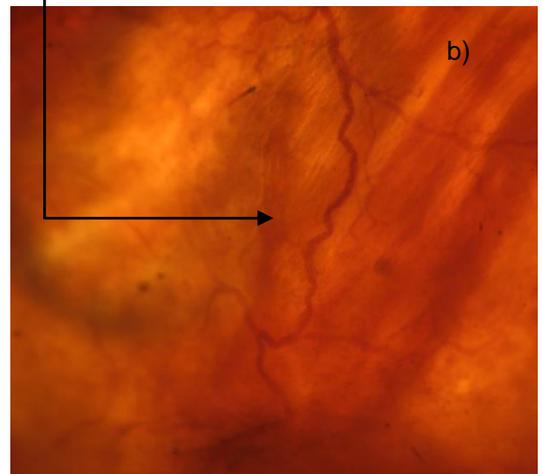
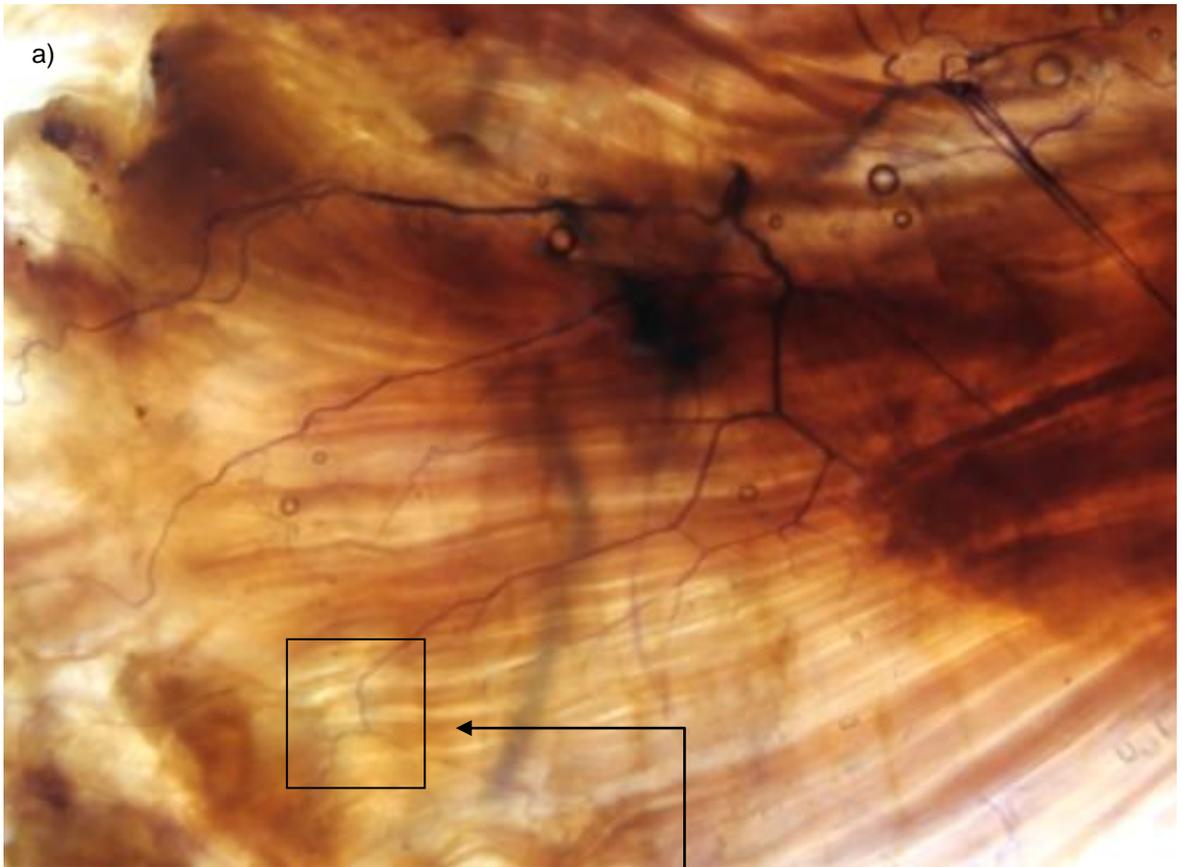


Figura 15. a) Patrón de arborización terminal del nervio pterigoideo en la cara lateral del músculo. b) Ramo nervioso terminal, aumento 32X. Se advierte la presencia de ramos nerviosos desprendiéndose del ramo terminal.

5. Descripción del patrón de inervación intramuscular del músculo pterigoideo medial

El músculo pterigoideo medial se encuentra inervado por el nervio proveniente del tronco común para los músculos pterigoideo medial, tensor del velo del paladar y tensor del tímpano del tronco posterior de V3.

Accede al músculo por su cara medial donde se encuentra su punto motor a nivel de la zona pterigoidea del músculo, cercano al ala lateral del proceso pterigoides. Dentro del músculo se divide rápidamente en dos ramos nerviosos principales que se dirigen de superior a inferior, de anterior a posterior, de profundo a superficial, y que lo recorre de forma oblicua en dos direcciones, una anteromedial y otra posterolateral.

Las fibras nerviosas del ramo principal anterior, discurren por la profundidad del músculo de forma oblicua a él. En el sector medio del músculo, estas fibras se profundizan, cambiando de dirección, y se hacen laterales hasta alcanzar la cara lateral del músculo en la misma zona topográfica. En su trayecto, emite ramos colaterales que inervan toda la zona anterolateral del músculo, desde la zona pterigoidea hasta la zona mandibular. Una vez en la cara lateral, proporciona múltiples ramos colaterales que se subdividen para formar los ramos terminales.

A su vez, el ramo principal posterior, se profundiza rápidamente en su origen a nivel pterigoideo. Transcurre por el espesor del músculo de forma oblicua a él, y se dirige más hacia posterior en relación al ramo principal anterior. En su emergencia en la cara lateral del músculo, las fibras del ramo principal se dividen en ramos terminales que se abren, formando una especie de abanico, y que se relacionan entre ellos a través de comunicantes, hasta llegar hasta a la periferia del músculo (**Figura 16**).

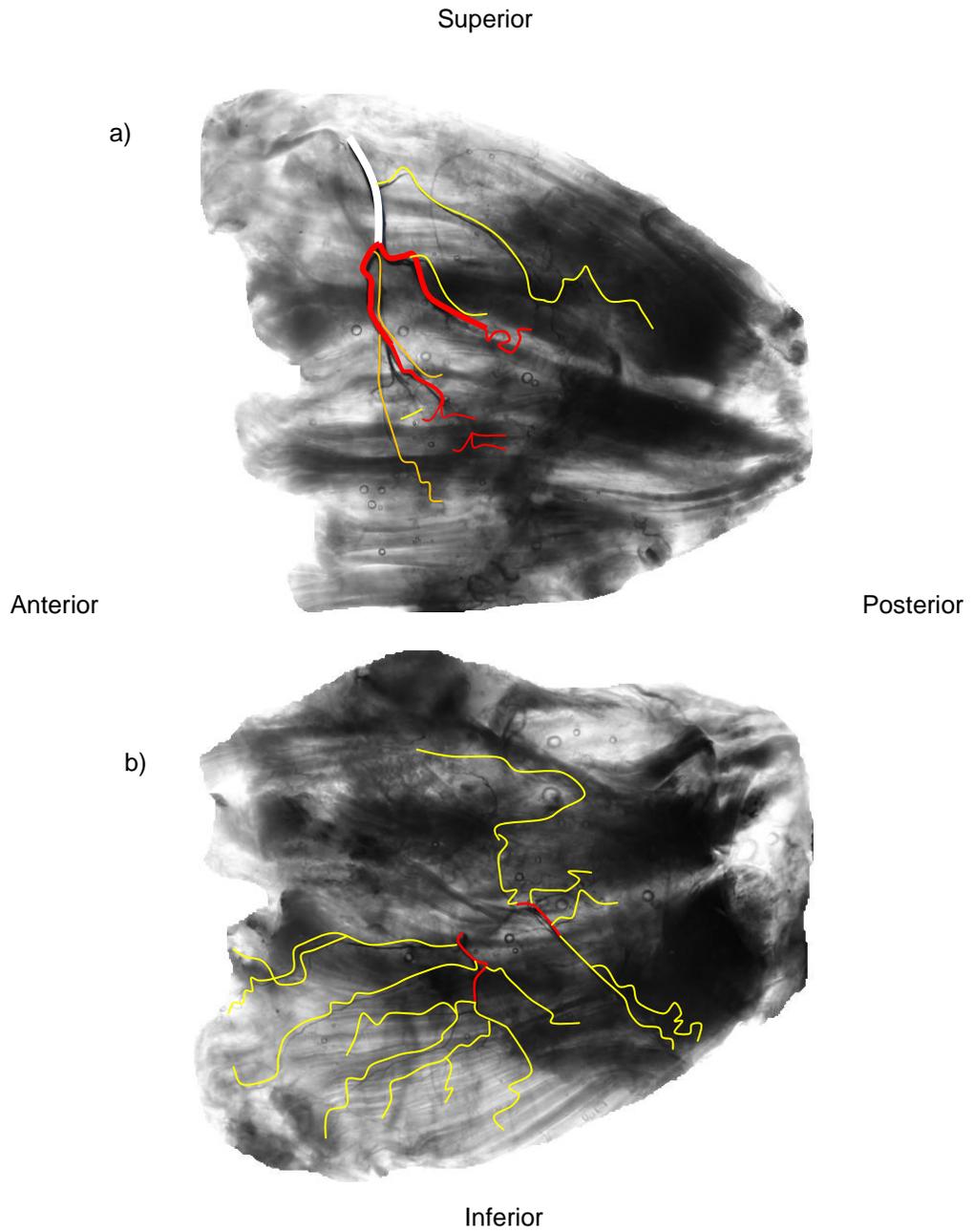


Figura 16. Esquema propuesto del patrón de inervación del músculo pterigoideo medial. a) Visión medial del músculo. Blanco: Punto motor del nervio pterigoideo medial. Rojo: Ramos nerviosos principales. Amarillo: Ramos colaterales y terminales. b) Visión lateral del músculo. Rojo: Ramos nerviosos principales. Amarillo: Ramos colaterales y terminales.

V. DISCUSIÓN

El estudio de la neuroanatomía ha sido materia de investigación a lo largo de la historia de la anatomía. Diversos métodos han sido desarrollados para tales efectos como lo son la macro y microdissección anatómica, la reconstrucción tridimensional apoyada con software computacional, estudios electrofisiológicos y métodos tincionales (Blanksma and Van Eijden 1995, Blanksma, Van Eijden et al. 1997, Matsunaga, Usui et al. 2009, Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011).

La macrodissección ha sido muy útil para visualizar el recorrido de los nervios desde el sistema nervioso central, establecer las relaciones de estos con estructuras anatómicas vecinas y describir los puntos de ingreso a sus órganos blanco.

La microdissección permite complementar la disección anatómica detallando la manera en la que los nervios y otras estructuras de pequeño calibre se distribuyen dentro de los tejidos. Sin embargo, esta técnica no ha permitido identificar la totalidad de los ramos nerviosos al interior de las estructuras anatómicas fidedignamente. Resulta muy difícil diferenciar los ramos más pequeños de los vasos sanguíneos y del tejido conectivo (Ducic, Dellon et al. 2006). Igualmente, los ramos nerviosos terminales son muy finos y muchas veces se encuentran organizados en plexos nerviosos (Salinas, Jackson et al. 2009, Matsuo, Takeda et al. 2013). Por otro lado, el proceso daña irreversiblemente la integridad estructural de la muestra (Mu and Sanders 2010) y se pierden las relaciones entre el músculo y los ramos nerviosos.

A su vez, la reconstrucción tridimensional mediante software computacional, permite la obtención de cortes histológicos o anatómicos seriados procesados posteriormente en la computadora. La mayor ventaja de este método es la visualización detallada de las relaciones entre las diversas estructuras. Sin embargo, no siempre es preciso, debido a la distorsión generada a nivel de cortes, tinción, orientación, reconstrucción propiamente tal y requiere de operadores

calibrados debido a la complejidad de la técnica (Radlanski, Lieck et al. 1999, Rosa Valencia 2014, Kurobe, Hakkakian et al. 2015).

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

Los métodos tincionales han utilizado la plata como agente encargado de teñir las estructuras. Ampliamente utilizados en histología, carecen de especificidad y predictibilidad a la hora de ser utilizados para visualizar estructuras nerviosas a nivel macroscópico. Es común que se genere la tinción completa de la muestra, obstaculizando su posterior análisis (Korzhevskiĭ and Otellin 1992, Boaro and Gregorio 1997).

La técnica de Sihler permite observar el recorrido intramuscular de los nervios, al teñirlos de color azul oscuro, al transparentar el músculo y permitir observar el patrón de inervación nervioso fácilmente mediante transiluminación. Al no ser necesaria la microdissección quirúrgica, la estructura tridimensional del músculo es preservada, y se conservan las relaciones topográficas y morfológicas entre los ramos nerviosos, vasos sanguíneos de mayor calibre y fascículos musculares (Mu and Sanders 2010).

Más de 100 años han transcurrido desde que Charles Sihler introdujera esta técnica para la tinción de husos neuromusculares (Sihler, 1895), y más de 50, desde que otros investigadores la hayan modificado para identificar la inervación del riñón, útero y el ovario en seres humanos; el pie y la pierna en los animales (Wharton 1937, Williams 1943). En los últimos 50 años, sólo unos pocos han utilizado este método en investigación (Freihofer 1966, Puzdrowski 1987, Liem and Van Willigen 1988, Drake, Li et al. 1993, Wu, Sanders et al. 1994, Lim, Pereira

et al. 2004, Doty, Cummins et al. 2009, Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011).

Gracias a la técnica de tinción de Sihler, se logró observar el patrón de distribución nerviosa intramuscular del músculo pterigoideo medial en su totalidad. Nuestro estudio demostró que la ubicación más frecuente del punto motor del nervio pterigoideo medial se ubica en la zona pterigoidea del músculo, seguido por la zona media, siempre por la cara medial, difiriendo con los resultados obtenidos por Terada y Sato, Sakamoto y Akita en el año 1982 y 2004, respectivamente, que lo ubican en la zona posterosuperior del músculo, y de los textos clásicos, que describen su ingreso por el borde posterior del músculo o en múltiples ramos por su cara medial (Paturet , Hovelacque 1927, Pernkopf and Ferner 1963, Rouvière and Delmas 2005, Sobotta, Putz et al. 2006).

En contraposición a lo publicado por Terada y Sato, Sakamoto y Akita, el presente estudio determinó que el nervio pterigoideo medial se divide en dos ramos nerviosos principales al interior del músculo, en la zona pterigoidea del mismo, y se distribuyen en sus dos porciones musculares constituyentes. Inicialmente, las investigaciones realizadas por Terada y Sato, propusieron que la división del nervio pterigoideo al interior del músculo generaba cuatro ramos nerviosos principales distribuidos aleatoriamente en el espesor del músculo, sin mencionar las ramificaciones producidas por cada uno de ellos ni la distribución de sus ramos nerviosos terminales de menor calibre (Terada and Sato 1982). A su vez, Sakamoto y Akita, describieron la presencia de un sólo tronco nervioso principal que divide al músculo en una porción anteromedial y una posterolateral (Sakamoto and Akita 2004) lo que difiere de lo observado por nosotros.

A la luz de los resultados obtenidos en este trabajo, se determinó el trayecto de los dos troncos principales a través del músculo pterigoideo medial, y además, donde estos emiten sus múltiples ramos colaterales en diferentes direcciones, hasta alcanzar la cara lateral del músculo en la zona media, donde aumenta la densidad de estructuras nerviosas. El grosor de las ramificaciones nerviosas disminuye conforme los ramos colaterales discurren en el espesor del músculo, lo que hizo necesario utilizar una lupa estereoscópica para visualizar los ramos

nerviosos terminales. La técnica de Sihler permitió describir el patrón de arborización de las fibras terminales del músculo pterigoideo medial, información que no fue obtenida en estudios anteriores.

En cuanto a la presencia de comunicaciones entre los distintos ramos nerviosos, determinamos la existencia de comunicaciones entre los troncos nerviosos principales, colaterales y entre ramos ubicados a ambos lados del músculo. Se observó un aumento progresivo de los ramos comunicantes a medida que estos se subdividían y proyectaban en el espesor del músculo, hasta conformar una red intercomunicada en la cara lateral. No se conoce con exactitud la función que cumplen las comunicaciones nerviosas dentro de este músculo. Sin embargo, identificar y localizar su ubicación precisa, permitiría en conjunto con futuros estudios, esclarecer tal interrogante. Para nosotros, tales comunicaciones sugieren que, si bien existen subunidades anatómicas bien definidas dentro del músculo, no son necesariamente independientes entre sí, y que su contracción se encuentra coordinada durante los movimientos masticatorios.

Es importante destacar, que ninguno de los estudios mencionados anteriormente detallan esta información. Además, la descripción anatómica del patrón de distribución nerviosa realizada por ellos no contempla su orientación en los tres sentidos del espacio, característica que fue posible visualizar por primera vez en nuestro estudio.

El patrón de inervación intramuscular del músculo pterigoideo medial identificado, sugiere la existencia de dos segmentos separados dentro del músculo. Esto reafirma el concepto de compartimentos neuromusculares debatido por múltiples autores (Chanaud and Macpherson 1990, Drake, Li et al. 1993, Sanders, Wu et al. 1994, Lau, Liu et al. 1995). En estudios anteriores los compartimentos neuromusculares fueron identificados mediante microdissección anatómica y cortes histológicos seriados (English and Letbetter 1982, Segal, Wolf et al. 1991, Segal 1992, Serlin and Schieber 1993, Ruitter, Haan et al. 1995).

Estudios realizados por Liu et al, 1997, sugieren que cada uno de los compartimentos neuromusculares pueden ser estimulados para funcionar de

manera independiente del resto (Liu, Kumar et al. 1997). Esto abre la posibilidad de que todos los músculos esqueléticos podrían subdividirse anatómicamente a un nivel submuscular en diferentes unidades anatómicas y funcionales. En el caso del músculo pterigoideo medial y mediante la descripción del patrón de inervación se pudo establecer la presencia de compartimentos neuromusculares, cuya función aún no ha sido determinada. Adicionalmente se ha determinado las diferentes isoformas de actina y miosina que estructuran la fibra muscular de los músculos masticatorios, lo que demuestra la compleja organización morfo funcional de ellos (Eriksson and Thornell 1983, Korfage, Brugman et al. 2000, Korfage and Van Eijden 2000, Korfage, Koolstra et al. 2005).

La literatura biomédica es muy escasa respecto al uso del método de Sihler en las estructuras máxilo-faciales, más aún, en los músculos cráneo mandibulares. La falta de un protocolo claro para su realización es una de las grandes desventajas de este estudio. Asimismo, los diferentes tiempos de maceración, descalcificación, tinción y destinción dentro de una misma muestra, dificultaron la tinción de todos los ramos nerviosos dentro de un mismo músculo.

El mecanismo mediante el cual sólo el tejido nervioso es teñido por la técnica de Sihler, aún es desconocido. Incluso en el documento original no se explica claramente (Sihler, 1895). Sin embargo, Liem y Van Willigen, 1988, demostraron que la tinción nerviosa se deba a que la mielina presente en el perineuro de los nervios se une a la hematoxicilina mediante enlaces de coordinación (Liem and Van Willigen, 1988).

Nuestro estudio coincide con informes anteriores (Freihofer 1966, Liem and Van Willigen 1988, Drake, Li et al. 1993, Wu, Sanders et al. 1994), que, si bien, el proceso es meticuloso y tedioso, los resultados aún están lejos de ser perfectos. Es muy importante para la obtención de buenos resultados, determinar con precisión el punto final de cada paso durante el proceso. A nuestro juicio, no existe un principio rector que guíe el término de cada etapa con exactitud. Por tanto el protocolo debe ser formulado considerando las características propias de cada muestra. La práctica repetida y la observación cuidadosa del proceso completo son necesarios para perfeccionar la técnica. A nuestro parecer, la etapa de

maceración y despigmentación en la fase de descalcificación son críticas dentro del proceso.

Si bien la técnica de Sihler es muy exigente y requiere de largos tiempos para su realización, es superior a la disección y la reconstrucción en tres dimensiones de cortes seriados (Liem and Van Willigen 1988, Wu and Sanders 1992, Gülekon, Peker et al. 2007) en la demostración de la ramificación nerviosa intramuscular.

Se sugiere para futuros estudios establecer un protocolo específico de la técnica de Sihler según el músculo a estudiar. Para ello, resultaría conveniente clasificar los músculos según tamaño, grosor, composición y peso. Así, se podrá estandarizar la técnica y obtener mejores resultados, ya que la inspección visual presenta un alto componente subjetivo. Si bien los hallazgos obtenidos en esta investigación representan un avance en el conocimiento neuroanatómico del músculo pterigoideo medial, es importante que se generen futuras investigaciones en el ámbito de la neurofisiología, fisiopatología y disciplinas asociadas para establecer los alcances clínicos de los mismos.

VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente estudio se presentan a continuación:

- La técnica de Sihler permite visualizar el patrón de inervación nerviosa del nervio pterigoideo medial al interior del músculo pterigoideo medial, en los tres sentidos del espacio, conservando la morfología del mismo.
- El nervio pterigoideo medial accede por la zona superior de la cara medial del músculo, dividiéndose en dos ramos nerviosos principales los que siguen un trayecto oblicuo de posterior hacia anterior, de arriba a abajo y de medial a lateral.
- El músculo pterigoideo medial se encuentra ampliamente inervado a través de ramos nerviosos colaterales originados a partir de los ramos principales, los que a su vez se encuentran comunicados entre sí.
- Existe un patrón de inervación intramuscular común para los músculos pterigoideos mediales, con ciertas variaciones en su arborización.

VII. BIBLIOGRAFÍA

Blanksma, N. and T. Van Eijden (1995). "Electromyographic heterogeneity in the human temporalis and masseter muscles during static biting, open\ close excursions, and chewing." J Dent Res **74**(6): 1318-1327.

Blanksma, N., et al. (1997). "Electromyographic heterogeneity in the human temporalis and masseter muscles during dynamic tasks guided by visual feedback." Journal of dental research **76**(1): 542-551.

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

Bordas, R., et al. (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.

Chanaud, C. and J. Macpherson (1990). "Functionally complex muscles of the cat hindlimb. III. Differential activation within biceps femoris during postural perturbations." Experimental brain research **85**(2): 271-280.

Davies, J., et al. (2012). "Lateral pterygoid muscle: A three-dimensional analysis of neuromuscular partitioning." Clin Anat **25**(5): 576-583.

Doty, R. L., et al. (2009). "Lingual distribution of the human glossopharyngeal nerve." Acta otolaryngologica **129**(1): 52-56.

Drake, W., et al. (1993). "A technique for displaying the entire nerve branching pattern of a whole muscle: results in 10 canine posterior cricoarytenoid muscles." The Laryngoscope **103**(2): 141-148.

Ducic, I., et al. (2006). "The clinical importance of variations in the surgical anatomy of the superficial peroneal nerve in the mid-third of the lateral leg." Annals of plastic surgery **56**(6): 635-638.

El Haddioui, A., et al. (2007). "Anatomical study of the arrangement and attachments of the human medial pterygoid muscle." Surgical and Radiologic Anatomy **29**(2): 115-124.

English, A. W. and W. D. Letbetter (1982). "A histochemical analysis of identified compartments of cat lateral gastrocnemius muscle." The anatomical record **204**(2): 123-130.

Eriksson, P.-O. and L.-E. Thornell (1983). "Histochemical and morphological muscle-fibre characteristics of the human masseter, the medial pterygoid and the temporal muscles." Archives of oral Biology **28**(9): 781-795.

Freese, A. M. (2013). Sistema estomatognático: fundamentos clínicos de fisiología y patología funcional, AMOLCA.

Freihofer, W. C. (1966). "The Sihler technique of staining nerves for systematic study especially of fishes." Copeia: 470-475.

Friedmann, I. (1974). The Ultrastructure of Sensory Organs, North-Holland Publishing Company.

Fuentes, A. D., et al. (2015). "Effect of natural mediotrusive contact on electromyographic activity of jaw and cervical muscles during chewing." Acta Odontologica Scandinavica **73**(8): 626-632.

Gülekön, N., et al. (2007). "Qualitative comparison of anatomical microdissection, Sihler's staining and computerized reconstruction methods for visualizing intramuscular nerve branches." Surgical and Radiologic Anatomy **29**(5): 373-378.

Guzmán-Venegas, R. A., et al. (2015). "Functional Compartmentalization of the Human Superficial Masseter Muscle." PloS one **10**(2): e0116923.

Hannam, A. and W. Wood (1989). "Relationships between the size and spatial morphology of human masseter and medial pterygoid muscles, the craniofacial skeleton, and jaw biomechanics." American journal of physical anthropology **80**(4): 429-445.

Hannam, A. G. and A. S. McMillan (1994). "Internal organization in the human jaw muscles." Critical Reviews in Oral Biology & Medicine **5**(1): 55-89.

Hannam, A. G. and W. W. Wood (1981). "Medial pterygoid muscle activity during the closing and compressive phases of human mastication." Am J Phys Anthropol **55**(3): 359-367.

Hovelacque, A. (1927). Anatomie des nerfs craniens et rachidiens et du système grand sympathique chez l'homme: avec 89 figures dans le texte et CXXI planches hors texte, O. Doin.

Hsu, C.-W., et al. (2001). "Measurement of the size and orientation of human masseter and medial pterygoid muscles." Proceedings of the National Science Council, Republic of China. Part B, Life sciences **25**(1): 45-49.

Isberg, A. and P.-L. Westesson (1998). "Steepness of articular eminence and movement of the condyle and disk in asymptomatic temporomandibular joints." Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology **86**(2): 152-157.

Koolstra, J., et al. (1990). "Computer-assisted estimation of lines of action of human masticatory muscles reconstructed in vivo by means of magnetic resonance imaging of parallel sections." Archives of oral Biology **35**(7): 549-556.

Koolstra, J. H. (2002). "Dynamics of the human masticatory system." Critical Reviews in Oral Biology & Medicine **13**(4): 366-376.

Korfage, J., et al. (2000). "Intermuscular and intramuscular differences in myosin heavy chain composition of the human masticatory muscles." Journal of the neurological sciences **178**(2): 95-106.

Korfage, J., et al. (2005). "Fiber-type composition of the human jaw muscles—(part 1) origin and functional significance of fiber-type diversity." Journal of dental research **84**(9): 774-783.

Korfage, J. and T. Van Eijden (2000). "Myosin isoform composition of the human medial and lateral pterygoid muscles." Journal of dental research **79**(8): 1618-1625.

Korzhevskii, D. and V. Otellin (1992). "[The use of a nucleolus silver-staining method in assessing the function of the protein-synthesizing apparatus of nerve cells]." Tsitologija **35**(10): 20-23.

Kurobe, N., et al. (2015). "Three-dimensional reconstruction of the lower limb's venous system in human fetuses using the computer-assisted anatomical dissection (CAAD) technique." Surgical and Radiologic Anatomy **37**(3): 231-238.

Latarjet, M. and A. R. Liard (2004). Anatomía Humana, Editorial Médica Panamericana.

Lau, H.-K., et al. (1995). "Fatigue reduction by sequential stimulation of multiple motor points in a muscle." Clinical orthopaedics and related research **321**: 251-258.

Liem, R. S. and J. D. Van Willigen (1988). "In toto staining and preservation of peripheral nervous tissue." Stain technology **63**(2): 113-120.

Lim, A. Y., et al. (2004). "Intramuscular innervation of upper-limb skeletal muscles." Muscle & nerve **29**(4): 523-530.

Liu, J., et al. (1997). "Modified Sihler's technique for studying the distribution of intramuscular nerve branches in mammalian skeletal muscle." The anatomical record **247**(1): 137-144.

Lund, J. P. (1991). "Mastication and its control by the brain stem." Critical Reviews in Oral Biology & Medicine **2**(1): 33-64.

MacDonald, J. and A. Hannam (1984). "Relationship between occlusal contacts and jaw-closing muscle activity during tooth clenching: Part I." The Journal of prosthetic dentistry **52**(5): 718-729.

Matsunaga, K., et al. (2009). "An anatomical study of the muscles that attach to the articular disc of the temporomandibular joint." Clinical Anatomy **22**(8): 932-940.

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

Moller, E. (1966). "The chewing apparatus. An electromyographic study of the action of the muscles of mastication and its correlation to facial morphology." Acta physiologica Scandinavica. Supplementum **280**: 1.

Moore, K. L., et al. (2013). Anatomia Con Orientacion Clinica, Lippincott Williams & Wilkins.

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

Nigg, B. M. and W. Herzog (2007). Biomechanics of the musculo-skeletal system, John Wiley & Sons.

Okeson, J. P. (2013). Tratamiento de oclusión y afecciones temporomandibulares + Evolve, Elsevier Health Sciences Spain.

Paturet, G (1951). Traité d'anatomie humaine: Ostéologie, arthrologie, myologie, Masson.

Pernkopf, E. and H. Ferner (1963). Atlante di anatomia sistematica e topografica dell'uomo, Piccin.

Puzdrowski, R. (1987). "The peripheral distribution and central projections of the sensory rami of the facial nerve in goldfish, *Carassius auratus*." Journal of Comparative Neurology **259**(3): 382-392.

Quain, J., et al. (2010). Quain's Elements of Anatomy V3, Part: The Nerves (1895), Kessinger Publishing.

Radlanski, R. J., et al. (1999). "Development of the human temporomandibular joint. Computer-aided 3D-reconstructions." European journal of oral sciences **107**(1): 25-34.

Rees, L. (1954). "The structure and function of the mandibular joint." Br Dent J **96**(6): 125-133.

Rosa Valencia, A. (2014). "Patrón de inervación del disco articular de la articulación temporomandibular humana:: estudio cadavérico."

Rouvière, H. and A. Delmas (2005). Anatomía humana: descriptiva, topográfica y funcional, Masson.

Ruiter, C., et al. (1995). "Physiological characteristics of two extreme muscle compartments in gastrocnemius medialis of the anaesthetized rat." Acta Physiologica Scandinavica **153**(4): 313-324.

Sakamoto, Y. and K. Akita (2004). "Spatial relationships between masticatory muscles and their innervating nerves in man with special reference to the medial pterygoid muscle and its accessory muscle bundle." Surgical and Radiologic Anatomy **26**(2): 122-127.

Salinas, N. L., et al. (2009). "Anatomical dissection and modified Sihler stain of the lower branches of the facial nerve." Plastic and reconstructive surgery **124**(6): 1905-1915.

Sanders, I., et al. (1994). "The innervation of the human posterior cricoarytenoid muscle: evidence for at least two neuromuscular compartments." The Laryngoscope **104**(7): 880-884.

Schumacher, G.-H. (1961). Funktionelle morphologie der kaumusculatur, G. Fischer.

Segal, R., et al. (1991). "Anatomical partitioning of three multiarticular human muscles." Cells Tissues Organs **142**(3): 261-266.

Segal, R. L. (1992). "Neuromuscular compartments in the human biceps brachii muscle." Neuroscience letters **140**(1): 98-102.

Serlin, D. and M. Schieber (1993). "Morphologic regions of the multitendoned extrinsic finger muscles in the monkey forearm." Cells Tissues Organs **146**(4): 255-266.

Sihler, C. (1895). "Über muskelspindeln und intramuskuläre nervenendigungen bei schlangen und fröschen." Archiv für Mikroskopische Anatomie **46**(1): 709-723.

Sobotta, J., et al. (2006). Atlas de anatomía humana: Cabeza, cuello, miembro superior. Vol. 1, Editorial Médica Panamericana.

Terada, S. and T. Sato (1982). "Nerve supply of the medial and lateral pterygoid muscles and its morphological significance." Okajimas folia anatomica Japonica **59**(4): 251-264.

Testut, L., et al. (1921). Précis-atlas de dissection des régions, Doin.

Van Eijden, T., et al. (1995). "Architecture of the human pterygoid muscles." Journal of dental research **74**(8): 1489-1495.

Van Eijden, T., et al. (1997). "Architecture of the human jaw-closing and jaw-opening muscles." The anatomical record **248**(3): 464-474.

Wharton, L. R. (1937). "A technique for studying the innervation of organs." The anatomical record **67**(4): 469-475.

Williams, T. W. (1943). "A technique for the gross differential staining of peripheral nerves in cleared vertebrate tissue." The anatomical record **86**(2): 189-195.

Wish-Baratz, S., et al. (1996). "Size and location of the human temporomandibular joint." American journal of physical anthropology **101**(3): 387-400.

Won, S.-Y., et al. (2011). "Clinical and anatomical approach using Sihler's staining technique (whole mount nerve stain)." Anatomy & cell biology **44**(1): 1-7.

Wood, W. W. (1987). "A review of masticatory muscle function." The Journal of prosthetic dentistry **57**(2): 222-232.

Wu, B., et al. (1994). "The Sihler stain: a technique for studying peripheral nerves in whole-mount specimens." Neuroscience Protocols. Elsevier; Amsterdam, The Netherlands: 94-050.

Wu, B.-L. and I. Sanders (1992). "A technique for demonstrating the nerve supply of whole larynges." Archives of Otolaryngology–Head & Neck Surgery **118**(8): 822-827.

Xu, J., et al. (1994). "Quantitative analysis of masticatory muscles using computed tomography." Dentomaxillofacial Radiology **23**(3): 154-158.

Yamaguchi, S., et al. (2011). "Quantitative analysis of masticatory activity during unilateral mastication using muscle fMRI." Oral Dis **17**(4): 407-413.

Yamaguchi, S., et al. (2006). "Overall activity of all masticatory muscles during lateral excursion." Journal of dental research **85**(1): 69-73.

Yu, D. Z., et al. (2010). "Intramuscular innervations of muscle flaps that are commonly used in clinical settings." Surg Radiol Anat **32**(7): 637-646.

VIII. ANEXOS

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 CRANEO-MANDIBULARES 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 N°2



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



Comité Institucional de Bioseguridad
Administración Conjunta Campus Norte
FDO N°49

Santiago, 20 de Enero de 2015.

C E R T I F I C A D O

El Comité Institucional de Bioseguridad (CIB) ha analizado el Proyecto de Investigación presentado al Concurso PRI-ODO 2014, titulado "**PATRÓN DE INERVACIÓN DE LOS MÚSCULOS CRANEOMANDIBULARES HUMANOS, EVALUACIÓN MEDIANTE TINCIÓN DE SIHLER.**" El Investigador Responsable de este proyecto es el Prof. Arnoldo Hernández Caldera, Académico del Instituto de Investigación en Ciencias Odontológicas.

El CIB certifica que el proyecto no requiere estar bajo su revisión y supervisión, ya que el protocolo a seguir para la tinción de Sihler se realizará en la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile. Por lo tanto, la evaluación, revisión y seguimiento del proyecto competen al Comité de Ética Humana y al Comité de Bioseguridad de dicha Facultad.

Se extiende el presente certificado a solicitud del Prof. Hernández para ser presentado a la Dirección de Investigación de la Facultad de Odontología de la Universidad de Chile.

Dr. Mario Chiong
Secretario

Dra. Carla Lozano M.
Presidenta

