



**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA  
INSTITUTO DE INVESTIGACION EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS  
ÁREA ANATOMÍA HUMANA**

**"PATRÓN DE INERVACIÓN DEL MÚSCULO MASETERO: UN ESTUDIO  
CADAVERÍCO DESCRIPTIVO"**

**José Manuel Hernández Caldera.**

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

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dr. Arnoldo Hernández Caldera**

**TUTORES ASOCIADOS**

**TM. William Aguilar Navarro**

**Dr. Rodrigo Hernández Quezada**

**Adscrito a Proyecto:** "PATRÓN DE INERVACIÓN DE LOS MÚSCULOS  
CRANEOMANDIBULARES HUMANOS, EVALUACIÓN MEDIANTE TINCIÓN DE SIHLER."

**Santiago - Chile  
2014**





**UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE ODONTOLÓGÍA  
DEPARTAMENTO DE ANATOMÍA HUMANA.**

**"PATRÓN DE INERVACIÓN DEL MÚSCULO MASETERO: UN ESTUDIO  
CADAVÉRICO DESCRIPTIVO"**

**José Manuel Hernández Caldera.**

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

**TUTOR PRINCIPAL**

**Prof. Dr. Arnoldo Hernández Caldera**

**TUTORES ASOCIADOS**

**TM. William Aguilar Navarro**

**Dr. Rodrigo Hernández Quezada**

**Adscrito a Proyecto:** "PATRÓN DE INERVACIÓN DE LOS MÚSCULOS  
CRANEOMANDIBULARES HUMANOS, EVALUACIÓN MEDIANTE TINCIÓN DE SIHLER."

**Santiago - Chile  
2014**

## **DEDICATORIA**

A toda mi familia, en especial a mis padres y hermanos, que con su inmenso amor y apoyo incondicional me han entregado todo en esta vida; a mis amigos y compañeros, quienes siempre confiaron en mí y a todos aquellos que de una u otra forma ayudaron que esto haya sido posible.

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias infinitas, principalmente a mis padres por todo su amor, esfuerzo y sacrificio, por inculcarme valores y principios fundamentales, por siempre creer en mí y confiar en mis capacidades, por todo lo que me han dado en la vida, por hacer que este largo camino haya sido posible, por entregarme fortaleza en los momentos más críticos y más importante aún por ayudarme a ser una mejor persona. Los amo para siempre. A mis hermanos Nicolás y Arnoldo por entregarme su inmenso cariño, por su guía en todo momento y por ser pilar esencial en mi vida. Al resto de mi familia, amigos y compañeros por todo su apoyo, a la Universidad de Chile por su formación académica y humana, a sus docentes por su gran compromiso, a los funcionarios y todas aquellas personas que permitieron que estos años fueran los mejores de mi vida; al departamento de Anatomía y Biología del Desarrollo de la Facultad de Medicina de la Universidad de Chile, a todo su cuerpo académico y especialmente a mis tutores de tesis por su excelente disposición, paciencia y ayuda. Orgulloso por las metas alcanzadas y por los objetivos cumplidos, de poder desarrollarme como persona en esta casa de estudios, por templar mi carácter y forjar las herramientas para las etapas que ahora comienzan. Muchas gracias.

## ÍNDICE

ÍNDICE.....	6
RESUMEN.....	8
INTRODUCCIÓN.....	9
MARCO TEÓRICO.....	11
1. ASPECTOS MORFOFUNCIONALES.....	11
1.1 Morfología.....	11
1.2. Rol en dinámica mandibular e influencia en la morfología craneofacial.....	13
2. ASPECTOS CLÍNICOS:.....	16
2.1 Hipertrofia maseterina y aplicación de toxina botulínica.....	16
2.2 Parálisis facial.....	18
3. TÉCNICA DE SIHLER.....	21
OBJETIVO GENERAL.....	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	27
MATERIALES Y MÉTODOS.....	28
RESULTADOS.....	34
1. N° DE TRONCOS PRINCIPALES.....	35
2. DISTRIBUCIÓN DEL TRONCO PRINCIPAL:.....	35
3. DISTRIBUCIÓN DE LOS RAMOS COLATERALES.....	36
4. UBICACIÓN DEL PUNTO MOTOR.....	37
5.COMUNICACIONES DE RAMOS COLATERALES.....	38
6. DESCRIPCIÓN DEL PATRÓN DE INERVACIÓN DEL MÚSCULO MASETERO. .....	38
DISCUSIÓN.....	41
CONCLUSIONES.....	47

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....48

## RESUMEN

**Introducción:** El propósito de este estudio descriptivo fue caracterizar el patrón de inervación al interior del músculo masetero otorgado por el nervio maseterino con una técnica anatómica distinta a la convencional, en donde se observa la distribución nerviosa intramuscular en los 3 sentidos del espacio luego de un protocolo de tinción denominado método de Sihler. Si bien se ha estudiado la posible distribución del nervio maseterino al interior del músculo masetero, no se han evidenciado con precisión las distintas variables que subyacen a la inervación de dicho músculo. Por esta razón se propone en el presente trabajo de investigación una descripción anatómica del patrón de inervación del músculo masetero, aportando información esencial tanto para la literatura morfológica del territorio máxilo-facial como para la terapéutica atingente al estudio.

**Metodología:** Se realizó la disección anatómica de 8 músculos maseteros de la región parótido-masetérica 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 9 zonas para su posterior análisis y se caracterizó el patrón de inervación mediante software computacional.

**Resultados:** Se obtuvieron 8 músculos disecados y teñidos adecuadamente. Se determinó el punto motor para todos ellos, estableciendo también la presencia de un único tronco principal que discurre en todos los casos en la misma dirección y sentido, encontrándose pequeñas variaciones en su trayecto. Se observó que existen ramos colaterales provenientes del tronco principal del nervio maseterino, que existe comunicación entre ellos y además que sufren arborización en su porción terminal. Se estableció un patrón de inervación común a todos los músculos a través de una descripción anatómica y un esquema representativo.

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

## INTRODUCCIÓN

El estudio morfológico del territorio maxilofacial es de suma importancia en el aspecto clínico, puesto que fija las bases para su posterior aplicación. De este modo el estudio de la anatomía ósea, muscular, articular, nerviosa y vascular es fundamental en el diagnóstico y tratamiento de una diversidad de condiciones clínicas y patológicas que afectan al territorio en cuestión.

Los componentes óseos del cuerpo se mantienen unidos y se mueven gracias a los músculos esqueléticos. Los músculos están constituidos por numerosas fibras o células musculares que están formadas a la vez por subunidades cada vez más pequeñas. (Manns 2013)

Es así como, el tejido muscular en conjunto con otra serie de tejidos, mediante la integración morfofuncional de éstos generan la interacción necesaria para llevar a cabo las diversas funciones.

La función del sistema masticatorio es en extremo compleja y requiere de una contracción coordinada de los diversos músculos agonistas y antagonistas de la cabeza y del cuello para mover la mandíbula con precisión y permitir un movimiento eficaz (Hernandez A 2012); dentro de ellos está el músculo masetero, el cual juega un rol fundamental en el correcto funcionamiento del sistema estomatognático. (Stephan 2010)

El músculo masetero es un músculo cráneo-mandibular ubicado en el tercio medio facial, específicamente en la región parótido-masetérica, su principal acción corresponde a la elevación de la mandíbula. En la bibliografía (Rouvière 2005) se señala que está constituido por 2 fascículos, uno superficial y otro profundo, con diferente orientación de sus fibras, por lo tanto distinta acción en las fases de la masticación. Otros autores (Latarjet 2004) señalan que el músculo masetero presenta 3 fascículos distinguibles, a saber; superficial, intermedio y profundo.

De este modo, el músculo masetero y sus relaciones, están estrechamente vinculados con una serie de patologías y condiciones clínicas en la región estomatognática, muchas veces competencia del odontólogo, así como otras en donde este aportará indirectamente, ya sea mediante la investigación científica o siendo parte de un equipo de trabajo. En el marco de la aplicación del conocimiento sobre el músculo masetero al ámbito clínico, se puede mencionar la parálisis facial, en la cual una de las opciones de tratamiento es utilizar el nervio maseterino para inervar un injerto muscular libre o bien realizando una coaptación directa de dicho nervio con el nervio facial ipsilateral (Hohman and Hadlock 2014). Otro caso es el de la hipertrofia maseterina, donde es necesario conocer con exactitud la neuroanatomía del músculo, ya sea para determinar con precisión el punto de aplicación de la toxina botulínica o cuando el tratamiento es de resorte quirúrgico y se ejecuta la neurectomía del nervio maseterino (Tepper and Cabret-Aymat 2014).

Por lo tanto, en ambas situaciones clínicas se hace necesario conocer el patrón de distribución nerviosa del nervio maseterino al interior del músculo debido a la evidente relación de esta con los procedimientos clínicos que se deben ejecutar en sus respectivos tratamientos.

Sin embargo el estudio anatómico de micro-dissección del recorrido del nervio maseterino imposibilita reconocer sus ramos colaterales más pequeños y su posible arborización y a la vez se pierden las relaciones del nervio con el músculo. De este modo se hace necesario poder establecer cuál es el patrón de distribución nerviosa al interior del músculo masetero y como este varía entre los distintos individuos mediante técnicas anatómicas que permitan la visualización y caracterización del nervio maseterino sin perder las relaciones con el músculo. Es así como en este estudio y mediante la técnica de tinción de Sihler, se pretende establecer las bases morfológicas del patrón de inervación del músculo masetero, para aplicar dicho conocimiento a las diversas condiciones clínicas en que este se ve involucrado,

## **MARCO TEÓRICO**

### **1. ASPECTOS MORFOFUNCIONALES.**

#### **1.1 Morfología.**

El masetero es un músculo corto, grueso y rectangular; clasificado como un músculo masticatorio del tipo cráneo-mandibular, ubicado en la región parótido-masetérica. Está constituido por 2 porciones, una superficial y más voluminosa, cuyo origen es en el borde inferior de los 2/3 anteriores del arco cigomático, insertándose esta en el ángulo de la mandíbula y en la zona inferior y lateral de la rama mandibular, y a su vez una porción profunda originada en el borde medial, inferior y posterior del arco cigomático con su inserción en la zona supero-lateral de la rama mandibular y en el proceso coronoides. (Rouvière 2005)

Es de suma importancia conocer de que manera el músculo masetero se relaciona con otras estructuras anatómicas de la región, ya que esto entrega diversos criterios de identificación ya sea clínicos o imaginológicos útiles tanto para el diagnóstico diferencial de distintas patologías que afectan a la región parótido-maseterina como para el tratamiento en dicha área.

El músculo masetero se relaciona hacia lateral y posterior por intermedio de su fascia con la prolongación anterior de la glándula parótida y su respectivo conducto excretor, además con distintas estructuras vasculares, nerviosas y musculares como lo son la arteria facial, los músculos cigomáticos mayor y menor, risorio y platisma. (Rouvière 2005).

Hacia medial, mediante su porción profunda, el masetero se relaciona con la cara lateral de la rama mandibular, lugar donde el músculo se relaciona superiormente con la incisura mandibular por donde accede el nervio y arteria maseterina; en la zona media se relaciona tanto con el proceso coronoides de la mandíbula como con el tendón terminal del músculo temporal y el cuerpo adiposo de la mejilla. (Rouvière

2005)

Hacia anterior, solo se relaciona con el cuerpo adiposo de la mejilla, tejido que lo separa del músculo buccinador y de los vasos faciales. Hacia posterior el músculo masetero se relaciona con la articulación témporo-mandibular y con parte de la celda parotidea. (Rouvière 2005)

Respecto a la inervación del músculo masetero y su origen embriológico, es importante mencionar que al ser una estructura muscular derivada del primer arco faríngeo, es inervado por su correspondiente nervio craneal, siendo para este el nervio trigémino (V), que es un nervio mixto con origen aparente en la cara anterior del puente (Latarjet 2004). Desde este punto el trigémino discurre hacia anterior y lateral para situarse en la superficie antero-superior de la porción petrosa del hueso temporal; en este sitio el nervio se divide en sus 3 ramos: oftálmico (V1), maxilar (V2) y mandibular (V3); siendo este ultimo el único ramo con componente motor. El componente motor del nervio trigémino proviene de una pequeña raíz, originada en el núcleo motor; encargada de inervar los músculos masticatorios. (Moore 2002)

El nervio mandibular pasa desde la fosa craneal media a través del agujero oval hacia la fosa infratemporal, donde inmediatamente se divide en un tronco anterior del cual se desprende el tronco temporomaseterino, dando origen este al nervio maseterino el cual accede al músculo masetero a través de la incisura mandibular. (Latarjet 2004)

Con respecto a la irrigación del músculo masetero es necesario señalar que como se trata de un músculo masticatorio esta va a depender fundamentalmente de ramas colaterales de la arteria carótida externa, en este caso la arteria facial y ramas terminales de la arteria carótida externa, las cuales son las arteria temporal superficial y arteria maxilar.(Rouvière 2005)

La arteria facial se desprende de la cara anterior de la arteria carótida externa, es una arteria flexuosa en la cual se describen 3 curvas; una de sus ramas colaterales

y la encargada de la irrigación del músculo masetero es la arteria maseterina inferior, la cual nace un poco por encima del borde inferior de la mandíbula. Desde aquí se dirige oblicuamente hacia superior y posteriormente por la cara lateral del músculo masetero, donde termina. (Rouvière 2005)

La arteria temporal superficial, rama terminal de la carótida externa, nace a nivel del cuello del proceso condilar de la mandíbula. De esta se desprende la arteria transversa de la cara, la cual a su vez se divide en 2 ramas; la rama superficial que discurre por la cara lateral del músculo masetero entre el ducto parotideo y el arco cigomático, la cual da algunas ramas ascendente y descendentes para el músculo; y por otro lado la rama profunda o arteria maseterina profunda, que perfora al masetero cerca de su borde posterior y que discurre entre los fascículos superficial y profundo del músculo. (Rouvière 2005)

La arteria maxilar es la rama terminal de la bifurcación medial o profunda de la carótida externa; esta arteria da 15 ramas en total, 14 colaterales y 1 terminal. De estas, la encargada de la irrigación del musculo masetero es la arteria maseterina, la cual es la que otorga en forma principal la irrigación a dicho músculo. La arteria maseterina pasa por la incisura mandibular llegando a la cara profunda del masetero y distribuyéndose así en todo el músculo. (Rouvière 2005)

## **1.2. Rol en dinámica mandibular e influencia en la morfología craneofacial**

La función del sistema masticatorio es en extremo compleja y requiere de la contracción coordinada de los diversos músculos de la cabeza y del cuello para mover la mandíbula con precisión y permitir un movimiento eficaz. Los movimientos y posiciones de la mandíbula están gobernados básicamente por la actividad contráctil coordinada y sincronizada de los músculos masticatorios. (Manns 2013)

Estos músculos con sus respectivos comandos nerviosos representan a los verdaderos motores del sistema estomatognático y son responsables directos del

control de la dinámica mandibular y articular. (Koolstra 2002)

Respecto a la función que el músculo masetero desempeña en la dinámica mandibular, se señala que su principal función es la de elevar la mandíbula; algunos autores atribuyen a la porción superficial cierta actividad durante la protrusión mandibular y retrusión en su porción profunda. (Manns 2013) (Jeffrey 1988)

Los músculos de la masticación juegan un papel importante en la determinación de la morfología cráneo facial, es así como el esqueleto facial y las características de los músculos de la masticación están estrechamente vinculados. Las dimensiones de los músculos de la masticación varían según las tipologías esqueléticas verticales y transversales de los sujetos en cuestión. (Enlow 1992)

Para el estudio de esta correlación se ha utilizado la tomografía computarizada, que es un método excelente para la observación y análisis cuantitativo de la morfología de los músculos de la masticación. También es posible utilizar Resonancia Magnética aunque las estructuras musculares son menormente visualizadas; varios estudios han demostrado que los resultados obtenidos con la tomografía axial computarizada son comparables a los de la RM. (Azaroual, Fikri et al. 2014)

Las dimensiones del músculo masetero están estrechamente relacionadas con el ancho bicigomático, por lo tanto estas dimensiones (espesor, longitud, ancho) determinaran así una fuerte correlación con las dimensiones esqueléticas transversales; es decir un aumento del desarrollo muscular del masetero, es acompañado secundariamente por una mayor dimensión en sentido transversal del esqueleto facial.(Frugone R 2010)

Se ha determinado que individuos braquicéfalos y de cara corta presentan un mayor grosor maseterino; otra relación existente es entre el grosor muscular

maseterino y la fuerza masticatoria, siendo ambas directamente proporcionales. Estudios señalan que individuos con pequeña fuerza masticatoria máxima poseen caras largas y ángulos mandibulares obtusos , mientras que individuos con elevada fuerza masticatoria máxima presentan rotación mandibular anterior, altura facial anterior pequeña y un ángulo mandibular cerrado. (Menendez, Bernal et al. 2014)

Además es posible establecer una relación entre las dimensiones del músculo masetero y su relación con el hueso maxilar, observándose que a medida que el masetero se hace más grande, la región anterior del maxilar tiende a desplazarse hacia abajo, con relación a la base del cráneo, mientras que la región posterior tiende a desplazarse hacia arriba, esto sugiere que el maxilar tiende a girar en sentido horario con el aumento de tamaño del músculo masetero, mientras que la mandíbula gira en sentido antihorario. (Uchida, Motoyoshi et al. 2011)

## **2. ASPECTOS CLÍNICOS:**

### **2.1 Hipertrofia maseterina y aplicación de toxina botulínica**

La hipertrofia maseterina se define como un crecimiento excesivo y benigno de la masa muscular. La mayoría de los casos se presentan de forma bilateral y simétrica, pero la asimetría no es inusual. La ocurrencia unilateral también puede verse cuando los pacientes tienden a masticar o apretar mayoritariamente en un lado. (Ahn and Kim 2007) Su etiología es multifactorial y se ha atribuido a factores como el bruxismo crónico, hiperfunción maseterina, parafunciones y microtraumas entre otros; presenta como principal problema el componente estético, muchas veces acompañado de dolor. Ocurre con mayor frecuencia entre los asiáticos y se asocia con características étnicas (por ejemplo, la prominencia del ángulo mandibular) y hábitos dietéticos. Se presenta también en algunos casos de manera congénita, pero la hipertrofia maseterina adquirida es mucho más frecuente. (Hu, Kim et al. 2010)

El diagnóstico no puede basarse únicamente en los hallazgos clínicos, es por ello que existe en la literatura recomendaciones que permitan precisar el diagnóstico de pacientes que presentan hipertrofia maseterina benigna bilateral, entre ellas se encuentran el uso de diferentes técnicas radiográficas como la tomografía computarizada (TC), la resonancia magnética (gold standard para confirmar sospecha clínica) o la radiografía convencional con un menor impacto; la biopsia muscular, el análisis morfométrico, la medición ecográfica y el uso de electromiografía. (Bas, Ozan et al. 2010)

El tratamiento tradicional de la hipertrofia maseterina involucra la resección quirúrgica parcial del músculo masetero, osteotomía de reducción o modelado del ángulo mandibular y otros procedimientos quirúrgicos como la neurectomía del nervio maseterino (Al-Ahmad and Al-Qudah 2006). Sin embargo, existen

comúnmente complicaciones postoperatorias asociadas con estos procedimientos, como el sangrado, edema, hematomas, lesiones en el nervio facial y trismus. Tales complicaciones han estimulado el desarrollo de terapias más conservadoras, como el ajuste oclusal, férula interoclusal, restauraciones dentales y otros procedimientos para corregir contactos prematuros y maloclusiones; terapia de relajación, farmacoterapia con ansiolíticos, antidepresivos y relajantes musculares; prevención de hábitos parafuncionales con aparatos ortopédicos. Sin embargo, ninguno de ellos ha sido particularmente exitoso. Es así, como nace una alternativa al tratamiento de esta condición, basada en la aplicación de toxina botulínica tipo A, siendo este método el más aceptado actualmente por ser menos invasivo, más conservador y reversible. (Hu, Kim et al. 2010)

La toxina botulínica tipo A es una poderosa neurotoxina producida por el organismo anaerobio *Clostridium botulinum*. Cuando la toxina botulínica tipo A es inyectada al interior del músculo esta causa interferencia con el mecanismo de neurotransmisión, específicamente BTX-A se une a la placa motora colinérgica inhibiendo temporalmente la liberación de acetilcolina produciendo parálisis selectiva y como consecuencia atrofia muscular. (Fedorowicz, van Zuuren et al. 2013)

La atrofia del músculo masetero se observa entre las 2-4 semanas posterior a la aplicación de 50U de toxina botulínica siendo necesario en la mayoría de los casos repetir este procedimiento entre 4-6 meses posterior a la primera intervención. (Ahn and Kim 2007). La fuerza a la masticación se debilitó notablemente a principios de la etapa de post-inyección, pero se recuperó poco a poco después de 3 semanas. (Fedorowicz, van Zuuren et al. 2013)

En la actualidad, la BTX-A es la toxina biológica más venenosa; sin embargo, su quimio-denervación causada por un bloqueo de la acetilcolina en la unión neuromuscular es temporal y el nervio se recuperará entre 3 a 6 meses posterior a la inyección. Por lo tanto, la mayor limitación de la terapia de toxina botulínica es

que el efecto del tratamiento desaparece progresivamente. A diferencia de la escisión quirúrgica de tejido muscular que reduce el número real de las células musculares, la toxina botulínica tipo A sólo reduce volumen muscular temporalmente. Por lo tanto, los pacientes tienen a ser informados acerca de la tasa de recurrencia después del procedimiento. (Andrade and Deshpande 2011)

El punto de aplicación ideal y preciso varía entre diferentes autores; pero todos ellos coinciden en una zona de seguridad donde no se debe puncionar a nivel del arco cigomático ni en el ángulo mandibular, eludiendo de esta forma estructuras nerviosas, vasculares y principalmente evitando daños a nivel de la glándula parótida; además el sitio de punción debe ser donde se encuentra la hipertrofia maseterina, comúnmente presentada en la zona anteroinferior y medioinferior del músculo masetero.(Kim NH 2005)

Para evitar los efectos adversos secundarios a la inyección de la toxina botulínica tales como inflamación, hematomas, cefaleas, debilidad muscular, xerostomía y una posible toxicidad sistémica o local; es necesario conocer detalladamente las estructuras anatómicas implicadas en la punción de BTX-A en el músculo masetero y de esta forma evitar dichas complicaciones y realizar un tratamiento más seguro y efectivo.(Hu, Kim et al. 2010)

## **2.2 Parálisis facial**

La parálisis facial corresponde a una condición clínica de tipo neurológica en donde la transmisión nerviosa del componente funcional del nervio facial se ve interrumpido y/o alterado, pudiendo ser de origen periférica o central (Linder, Abdelkafy et al. 2010). La primera o también denominada parálisis facial de Bell, se le atribuyen diversos factores etiológicos; entre ellos: traumas, iatrogenia, asociación con virus varicela zoster (VVZ), aparición congénita, por presencia de neoplasias tanto malignas como benignas, infecciones, lesiones al sistema nervioso central, enfermedades otológicas, asociada a diversos síndromes, entre otros

(Hohman and Hadlock 2014). Se produce una parálisis ipsilateral en el lado en que se encuentra la lesión nerviosa. Se caracteriza por una asimetría facial en reposo y con una carencia de expresión. Por otro lado, la parálisis facial central es causada por la interrupción de las fibras nerviosas que unen la corteza cerebral con el núcleo del nervio facial en la cara opuesta al lado donde se encuentra la lesión. Se caracteriza por una parálisis de la mitad inferior de la cara, afectando a la contracción voluntaria de los músculos implicados y no los movimientos involuntarios (ej. sonrisa). (Cattaneo, Sacconi et al. 2010)

Esto determina una serie de impotencias funcionales para las personas afectadas por esta condición y por supuesto una implicancia en la estética no menor con su respectiva afección en el ámbito psicológico.(Ho A 2012); por lo tanto la parálisis del nervio facial es una condición discapacitante en el ámbito biopsicosocial del paciente.

El tratamiento de la parálisis facial es diverso, pero todos ellos enfocados principalmente a la restauración de la función protectora de los párpados para prevenir la exposición corneal, la reconstrucción de la incontinencia oral del labio inferior y la restauración de la sonrisa. Dichos objetivos pueden ser conseguidos con diversas técnicas clínicas y procedimientos quirúrgicos, entre ellos la utilización de un colgajo muscular libre neurotizado con neurorrafia al nervio facial, neurorrafia facial ipsilateral, injerto facial cruzado, transposiciones nerviosas o transferencias musculares (Plast. 2011). Aunque se han hecho varios intentos para encontrar un procedimiento quirúrgico ideal para conseguir la reanimación facial, no existe aún un tratamiento ideal que haya sido desarrollado; puesto que el abordaje quirúrgico depende de la etiología, la edad del paciente y el estado o momento de la parálisis, además del estado general de salud del afectado y de la experiencia del cirujano.(Bianchi, Ferri et al. 2014)

La atrofia de los músculos de la mímica facial resulta de su denervación, es un proceso lento y constante que comienza con el inicio de la parálisis y se convierte en irreversible en 3 a 4 años. Después de este tiempo, la reinervación de los músculos de la mímica usando un injerto de nervio facial debe ser considerada inútil y otros procedimientos, como el trasplante neuromuscular, se prefieren para la animación.(Bianchi, Ferri et al. 2014)

El propósito de estos procedimientos es proporcionar una reinervación motora rápida, segura, y fiable de los músculos de la mímica, impidiendo así su atrofia. Para este propósito, el nervio hipogloso ha sido considerado como el nervio de elección (Wan, Zhang et al. 2014), aunque varios autores han propuesto el nervio maseterino como una buena alternativa o una mejor solución. Este nervio es más cercano que el hipogloso a los ramos del nervio facial y se puede suturar directamente sin la necesidad de injerto.(Meng and Bianchi-Berthouze 2013)

Más importante aún, es que el nervio maseterino proporciona un impulso más fuerte, que es eficaz después de 2 a 4 meses. Además, la morbilidad relacionada con el uso de esta técnica es muy baja y no hay interferencia con la función masticatoria, mientras que en la lengua se ha documentado un deterioro luego del uso del nervio hipogloso. (Sforza, Frigerio et al. 2012)

El uso del nervio maseterino en la reanimación facial ha sido principalmente descrito para ser utilizado en procedimientos quirúrgicos como la inervación de trasplantes neuromusculares o coaptación directa con el nervio facial (Bianchi, Copelli et al. 2010). Así su mayor indicación según la literatura es en la reinervación de trasplantes neuromusculares, especialmente en los pacientes con síndrome de Moebius. (Bianchi, Copelli et al. 2010) (Plast. 2011)

Este nervio asegura una rápida y fuerte reinervación con resultados fiables y predecibles (Biglioli, Frigerio et al. 2012). Además, los pacientes suelen aprender a controlar su activación, logran las contracciones faciales al morder y en algunos

casos, se ha reportado la activación espontánea y emocional de las expresiones .(Sforza, Frigerio et al. 2012)

La razón de utilizar esta técnica está representada por la posibilidad de obtener una reanimación rápida y predecible del tercio inferior de la cara (la más importante para la estética) y para completar la rehabilitación facial, una vez ya hecho el injerto de nervio facial transversal que proporciona reinervación del tercio medio y superior facial sin necesidad de procedimientos secundarios (Biglioli, Bayoudh et al. 2013). Además, el impulso potente asegurado por la coaptación maseterina permite una adecuada contracción y simetría de la comisura oral con la del lado sano.

Cuando se desea utilizar el músculo masetero como músculo donante para la reinervación facial, ya sea para aprovechar el componente motor del nervio maseterino para la neurorrafia con los ramos distales del nervio facial o como fuente de axones para inervar un injerto muscular, se debe tener en consideración los aspectos morfológicos nerviosos del músculo, así como también para el tratamiento de la hipertrofia maseterina, ya sea con toxina botulínica o de manera quirúrgica; es por ello que estudios más acabados del masetero y su inervación se hacen fundamentales para el desarrollo de nuevas técnicas clínicas y/o procedimientos quirúrgicos y a su vez para el desarrollo en el campo de la fisiología muscular con su respectivo enfoque terapéutico.

### **3. TÉCNICA DE SIHLER**

Existen variados métodos para analizar y visualizar la distribución del patrón nervioso al interior de un músculo. Dentro de estos el más comúnmente 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 tejidos, problemas con la tinción, orientación de las muestras y la reconstrucción propiamente tal.

La técnica de Sihler fue inicialmente introducida por el Dr. Charles Sihler en 1895 para dilucidar la distribución de los terminales nerviosos de órganos de serpientes y ratas, pero ha sido poco valorada por los anatomistas. Esta técnica ha sido modificada a lo largo de los años por varios autores, siendo posterior a 1990 más ampliamente utilizada en tejidos humanos para dilucidar el patrón de inervación de la mucosa de órganos y músculos (Mu and Sanders 2010). El protocolo más comúnmente utilizado en la actualidad es el modificado por Liem y Douwe van Willigen (Liem and Douwe van Willigen 1988, 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 (Yu, Liu et al. 2010).

Para una mejor comprensión de esta técnica es imprescindible mencionar cuál es el fundamento químico de cada una de las etapas del protocolo de tinción, el cual se detalla a continuación: (Lewkowicz 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).

**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.

**Maceración y despigmentación:** Este es un proceso mediante el cual los tejidos se someten a agentes alcalinos con gran potencial osmótico, estos permiten la salida de líquidos tisulares y su posterior reemplazo por el agente macerante, lo que trae como consecuencia un cambio en la morfología de la muestra, es decir, ablandamiento, aclaramiento y decoloración del tejido.

Para este trabajo los tiempos estandarizados de maceración permiten la mantención de estructuras más densas como son los nervios, que presentan en su capa externa un tejido conectivo denso denominado epineuro, este mantiene la estructura conservada. Tiempos prolongados de maceración alteran los tejidos de manera irreversible.

**Descalcificación:** Este procedimiento permite retirar el calcio presente en las estructuras a estudiar, particularmente el tejido muscular posee una elevada concentración de calcio. En la técnica de Sihler, la muestra es teñida con una solución en la que está presente la hematoxilina, la cual es altamente afin con el calcio, que es un componente basófilo y al estar presente en el tejido muscular se generan precipitados inespecíficos de colorante, por lo tanto, este procedimiento de descalcificación se utiliza para aumentar la especificidad de la técnica.

**Tinción:** El principio fundamental de este procedimiento es la tinción de la mielina presente en el tejido nervioso. La mielina es una estructura de dicho tejido que rodea y aísla eléctricamente a los axones, además de ser 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.

**Desteñido:** Debido a que el proceso de tinción tiñe todas las estructuras indistintamente, es necesario realizar un procedimiento de decoloración selectiva, el que consiste en someter 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.

**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 lograda del tejido nervioso.

**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 varias ventajas, las cuales se describen a continuación: (Mu and Sanders 2010)

- 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, su punto motor, sus ramificaciones, número y diámetro del o los troncos nerviosos principales.
- La estructura tridimensional de un órgano entero 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 dicha estructura.
- Pueden ser delimitados los compartimentos neuromusculares al interior de un músculo.
- Muestras sobre destañadas 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.

Por lo otro lado, la técnica de Sihler presenta las siguientes limitaciones: (Mu and Sanders 2010)

- 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 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.
- La técnica de tinción de Sihler es un proceso que requiere alta demanda de tiempo y alta calidad técnica.

## **OBJETIVO GENERAL**

Caracterizar la distribución nerviosa al interior del músculo masetero humano en individuos cadavéricos mediante la tinción de Sihler.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

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

## **MATERIALES 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 evaluada correspondió a músculos maseteros obtenidos de cadáveres humanos conservados; el tamaño muestral por estructura se estableció por conveniencia, siendo este de 8. Los músculos fueron obtenidos entre los cadáveres humanos disponibles en el Programa de Anatomía y Biología del Desarrollo que cumplían 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 registrándose la formula dentaria. Los antecedentes obtenidos de ambos exámenes fueron registrados en una ficha ad-hoc previamente confeccionada (ANEXO 2), en donde se consideró adicionalmente el número identificador del cadáver y el sexo.

Para la obtención de los músculos se procedió a realizar la disección cadavérica del lado derecho de las regiones superficiales de la cara y luego de la región parótido-masetérica. 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. El límite superior de la incisión preauricular se continuó hacia anterior siguiendo la emergencia del pelo, mientras que la inferior se continuo tomando como referencia el borde anterior del 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 parotideo 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 estudio.

Los maséteros 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 sigue un estricto protocolo subdividido en 8 etapas, las que en su totalidad demorarán aproximadamente entre 3 y 4 meses, dependiendo del grosor y tamaño de la pieza a estudiar. Las etapas se detallan a continuación:(Mu and Sanders 2010)

- **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 DESPIGMENTACIÓN:** Los tejidos fijados deberán ser lavados en un chorro de agua durante 1 hora, posteriormente serán 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.

- **DESCALCIFICACIÓN:** Una vez macerado y despigmentado el tejido deberá ser lavado suavemente en un chorro de agua durante 1 hora. Posteriormente el tejido será 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, deberá ser lavado en un chorro de agua durante 30 minutos, posteriormente este será 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 deberá realizarse durante 4 semanas, la solución debe cambiarse 1 o 2 veces durante este tiempo.
- **DESTENIR:** El órgano teñido deberá ser lavado durante 30 minutos bajo un chorro de agua, posteriormente este deberá ser desteñido utilizando solución de Sihler I. A modo de Ejemplo para desteñir laringe y faringe humana se necesitarán 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 deberá ser neutralizada con una solución de carbonato de litio al 0,05%. La muestra deberá 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 deberá ser examinado cada 30 minutos.

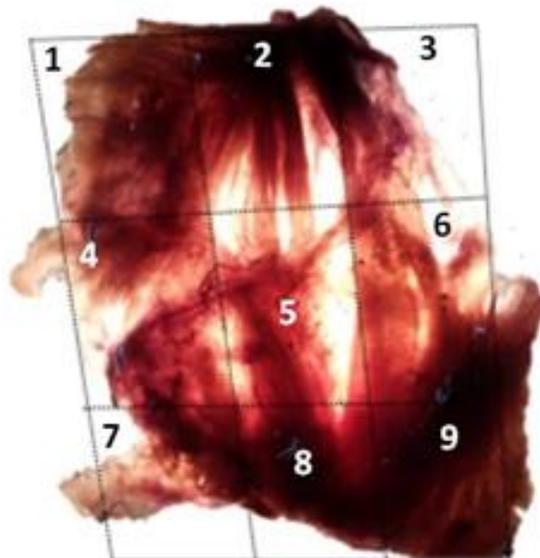
- **ACLARAMIENTO:** La muestra deberá ser lavada suavemente bajo un chorro de agua durante 1 hora. Posterior a esto los tejidos deberán ser clareados en glicerina acuosa a diferentes concentraciones (40, 60 y 80%, por 24 hrs cada una o glicerina acuosa al 50% durante 3 a 5 días.
- **TRANSPARENCIA:**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

**Tabla 1: Etapas técnica de Sihler**

<b>Nº</b>	<b>PROCEDIMIENTO</b>	<b>SOLUCION</b>	<b>TIEMPO</b>	<b>ASPECTO AL FINALIZAR</b>
<b>1</b>	Fijación	Formalina neutralizada al 10%	4 semanas	
<b>2</b>	Maceración y despigmentación	KOH acuoso	4 semanas	Muestra comienza a blanquearse y los nervios pueden verse como pequeñas fibras de color blanco
<b>3</b>	Descalcificación	Solución Sihler I	3 a 4 semanas	
<b>4</b>	Tinción	Solución Sihler II	4 semanas	Todas las estructuras nerviosas, serán observadas de un color azul violeta oscuro
<b>5</b>	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.
<b>6</b>	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.
<b>7</b>	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
<b>8</b>	Transparencia	Glicerina con timol		

Al finalizar esta etapa los músculos sometidos al método de Sihler, fueron fotografiados, utilizando para ello una cámara fotográfica digital marca Nikon modelo d3100. Se procedió a estandarizar la toma fotográfica, la cual se describe a continuación: La estructura en estudio fue posicionada sobre un negatoscopio dispuesto de forma horizontal y cuya fuente lumínica corresponda a luz blanca.. La fotografía se realizó posicionando la cámara a 30 centímetros de la superficie del negatoscopio, y sobre ella una regla de 20 cm con el objetivo de extrapolar medidas durante el análisis de las fotografías. Para el análisis de las estructuras nerviosas más finas, estas fueron 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 maseteros fueron divididos topográficamente de forma arbitraria en 9 porciones, a saber: (1) Antero-superior, (2) Medio-superior, (3) Pósterio-superior, (4) Media-anterior, (5) Media-central, (6) Media-posterior, (7) Antero-inferior, (8) Medio-inferior, (9) Pósterio-inferior (*ver figura 1*), registrándose las siguientes variables:



**Figura 1:** Muestra de músculo masetero sometida a método de Sihler, se observa la división topográfica establecida.

1. Número de troncos principales.
2. Distribución de cada uno de estos troncos en las regiones topográficas previamente establecidas.
3. Presencia y distribución topográfica de los ramos colaterales.
4. Comunicación y arborización de los ramos nerviosos.
5. Ubicación del punto motor del tronco principal.

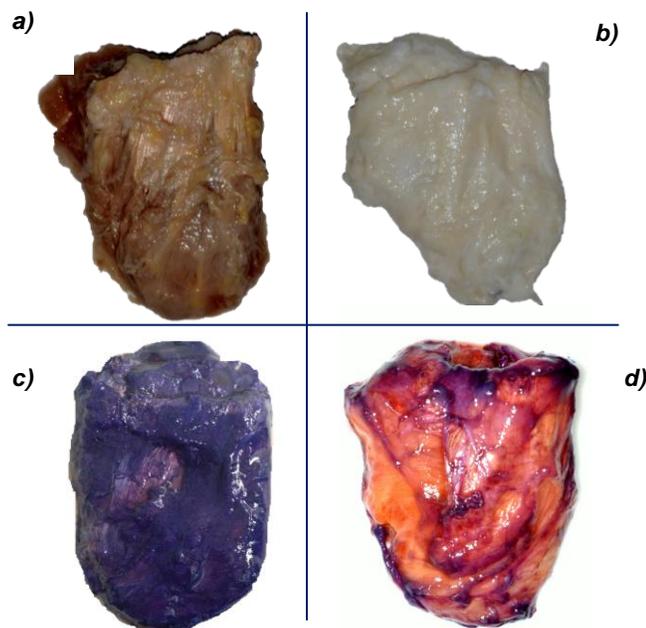
Se confeccionaron esquemas que representan la distribución nerviosa encontrada en cada una de las estructuras y se agruparon según similitud del patrón encontrado. Por otro lado se tabuló la información obtenida del análisis y se realizó estadística simple de los hallazgos obtenidos.

## RESULTADOS

Para el presente estudio, de un total de 12 individuos cadavéricos conservados y pertenecientes al programa de Anatomía y Biología 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, a su vez 7 de ellos eran desdentados parciales y 1 desdentado total.

De cada uno de los individuos seleccionados se obtuvo una muestra de músculo masetero de la región parótido-masetérica del lado derecho mediante el método de disección anatómica; todas las muestra fueron obtenidas por el mismo examinador previamente alineado en dicho método con expertos en disección anatómica .

Se realizo la técnica de tinción de Sihler a las 8 muestras obtenidas siendo exitoso el proceso en el 100% de los tejidos obtenidos (figura 2), logrando con ello transparentar el musculo y teñir las estructuras nerviosas . Del registro fotográfico de los músculos maseteros tanto macroscópico como mesoscópico se estableció lo siguiente:



**Figura 2:** Imágenes macroscópicas de músculo masetero en sus distintas etapas sometido a método de Sihler. **a)** Muestra conservada en formalina **b)** Músculo al final del protocolo de maceración. **c)** Músculo teñido con solución de Sihler II. **d)** Músculo desteñido con solución de Sihler I

## 1. N° DE TRONCOS PRINCIPALES.

Se registro el número de troncos principales de cada músculo, siendo para las 8 muestras estudiadas (100%) un único tronco principal. ( figura 3)



*Figura 3: Visión lateral de tres muestras distintas del músculo masetero sometido al método de Sihler; Se destaca con un asterisco (\*) presencia de un único tronco principal dirigiéndose desde superior a inferior y desde anterior a posterior.*

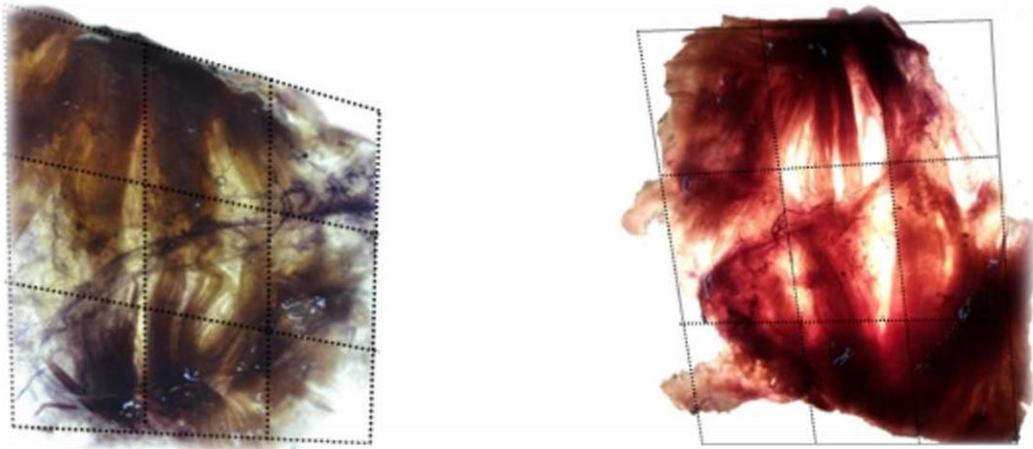
## 2. DISTRIBUCIÓN DEL TRONCO PRINCIPAL:

Con respecto a la distribución del tronco principal por las zonas topográficas previamente establecidas, se observó el recorrido del nervio maseterino por dichas zonas en la totalidad de los músculos (8). En el 25% (2) de las muestras obtenidas, el nervio maseterino se distribuyó por las regiones 3-5-4-7, mientras que en el 75% (6) de los músculos analizados, el nervio maseterino se distribuyó por las regiones 3-5-4 . (tabla 2 y figura 4)

Tabla 2: Recorrido por zonas topográficas del tronco principal

Músculo	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	M8
Zonas topográficas	3-5-4	3-5-4	3-5-4-7	3-5-4	3-5-4	3-5-4	3-5-4-7	3-5-4

**Figura 4:** Recorrido del tronco principal del nervio maseterino en 2 muestras (A y B) de músculo masetero sometido a método de Sihler



**A:** Visión lateral del músculo masetero sometido a método de Sihler, división topográfica, se observa recorrido del tronco principal por zonas 3-5-4-7

**B:** Visión lateral del músculo masetero sometido a método de Sihler, división topográfica, se observa el recorrido del tronco principal por zonas 3-5-4

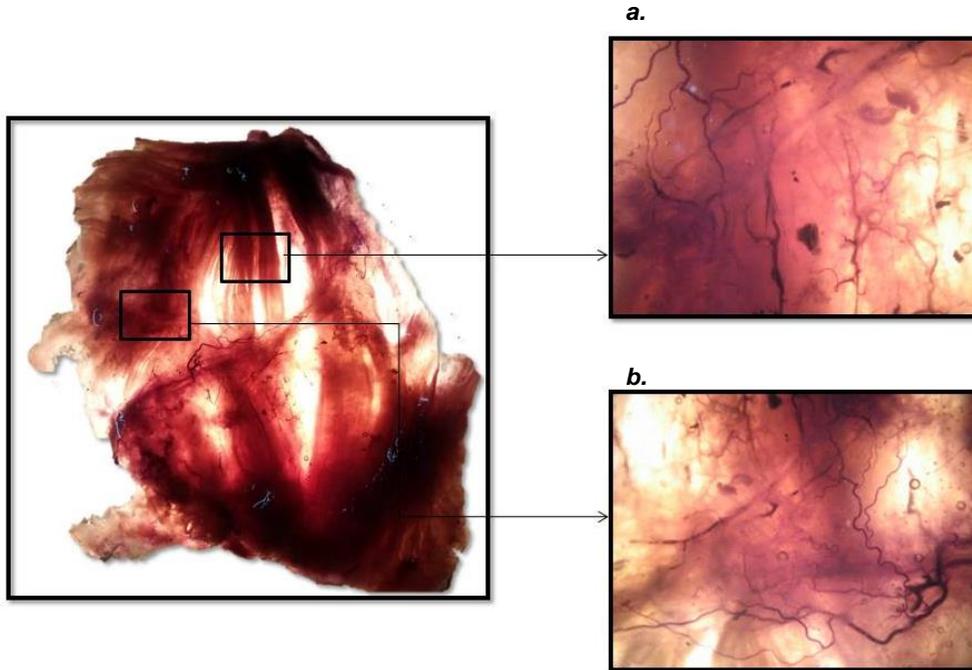
### **3. DISTRIBUCIÓN DE LOS RAMOS COLATERALES**

Se analizó la distribución de ramos colaterales y se registró su presencia por cada zona topográfica establecida; se observó que en todas las subdivisiones de 5 de los 8 músculos estudiados (62,5 %), se encuentran ramos colaterales provenientes del tronco principal del nervio maseterino; en 2 muestras (25%) no fue posible observar con precisión la distribución nerviosa de cada una de las áreas y en 1 muestra (12,5%) no se pudo observar la presencia y distribución de ramos colaterales en ninguna de las zonas topográficas (tabla 3 - figura 5)

**Tabla 3: DISTRIBUCIÓN DE RAMOS COLATERALES POR AREA TOPOGRÁFICA DEL MÚSCULO MASETERO**

Muestra	M1	M2	M3	* M4	* M5	M6	M7	M8
AREA TOPOGRAFICA	1-2-3-4- 5-6-7-8-9	1-2-3-4- 5-6-7-8-9	1-2-3-4- 5-6-7-8-9	1-3-4-7-9	3-4-7-9	Sin observar	1-2- 3-4- 5-6-7-8-9	1-2-3-4- 5-6-7-8-9

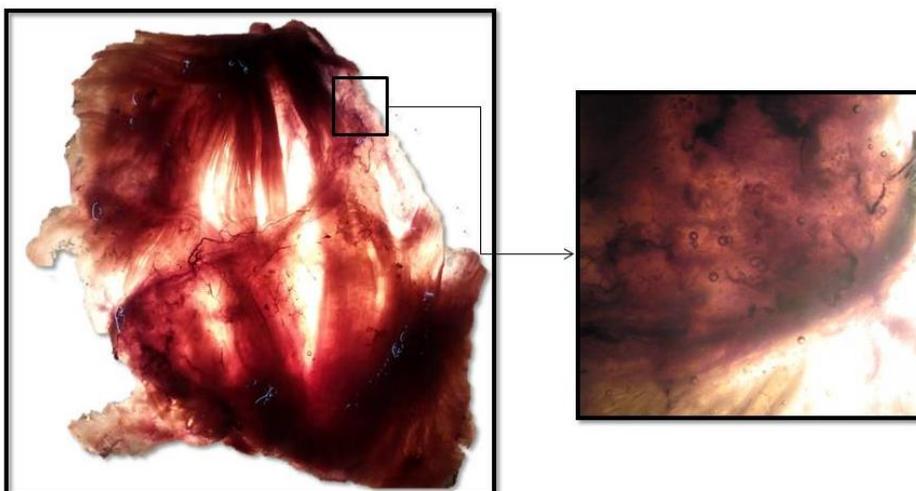
\*: Músculos donde no fue posible observar todas las regiones topográficas



**Figura 5:** Músculo masetero sometido a método de Sihler **a)** Imagen lupa estereoscópica 12x; se observa la presencia de ramos colaterales ascendentes provenientes del tronco principal del nervio maseterino desde la región topográfica nº 5 y su patrón de distribución en las zonas topográficas nº2 y nº3. **b)** Imagen lupa estereoscópica 12x; se observa la emergencia de ramos colaterales ascendentes y descendentes desde el tronco principal hacia las

#### **4. UBICACIÓN DEL PUNTO MOTOR**

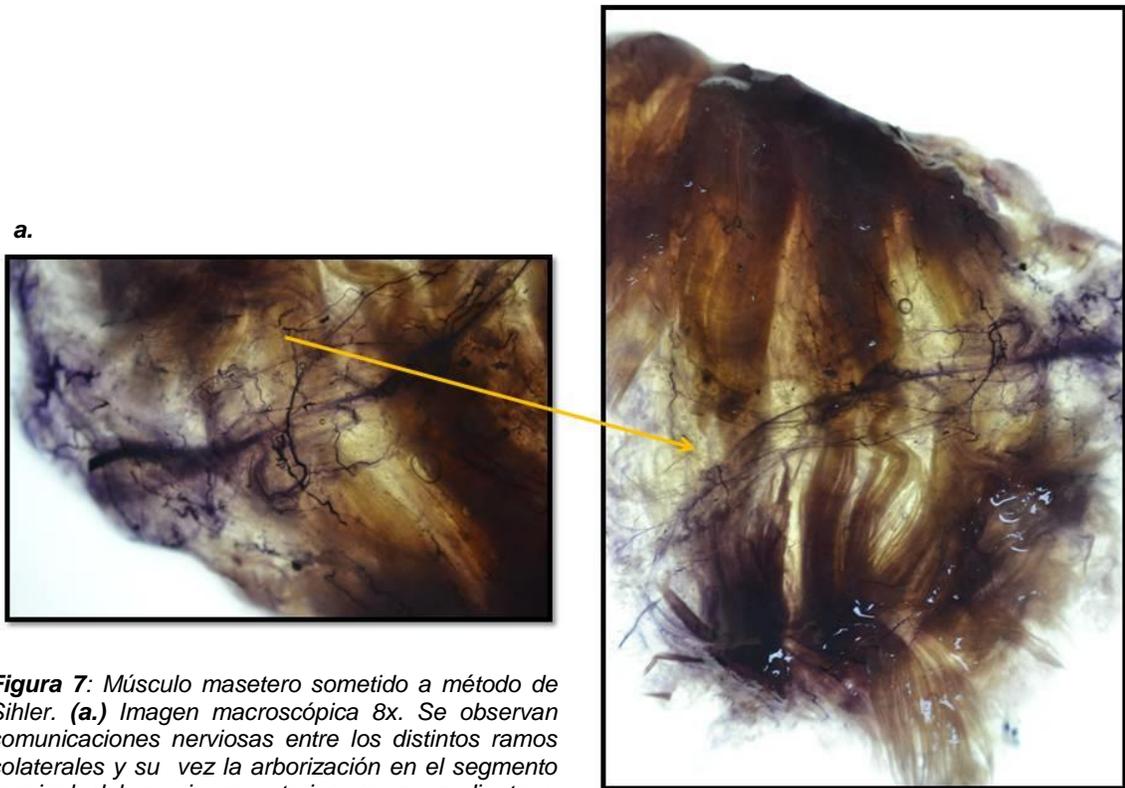
Se identifico la zona topográfica donde se encuentra el punto motor del nervio maseterino en las 8 muestras estudiadas; siendo para todas ellas (100%) la zona nº3 la subdivisión en donde ingresa el nervio maseterino al músculo masetero. (figura 6)



**Figura 5:** Músculo masetero sometido a método de Sihler; se observa el punto de ingreso del nervio maseterino al músculo, correspondiente a la región topográfica nº3. **a)** imagen lupa estereoscópica aumento 18x; músculo masetero región antero-superior

## **5.COMUNICACIONES DE RAMOS COLATERALES**

Del análisis de los ramos colaterales del nervio maseterino se determinó que existen comunicaciones nerviosas entre estos y a su vez sufren un patrón de arborización en su porción terminal. (figura 7)



**Figura 7:** *Músculo masetero sometido a método de Sihler. (a.) Imagen macroscópica 8x. Se observan comunicaciones nerviosas entre los distintos ramos colaterales y su vez la arborización en el segmento terminal del nervio maseterino correspondiente a zona topográfica nº7*

## **6. DESCRIPCIÓN DEL PATRÓN DE INERVACIÓN DEL MÚSCULO MASETERO.**

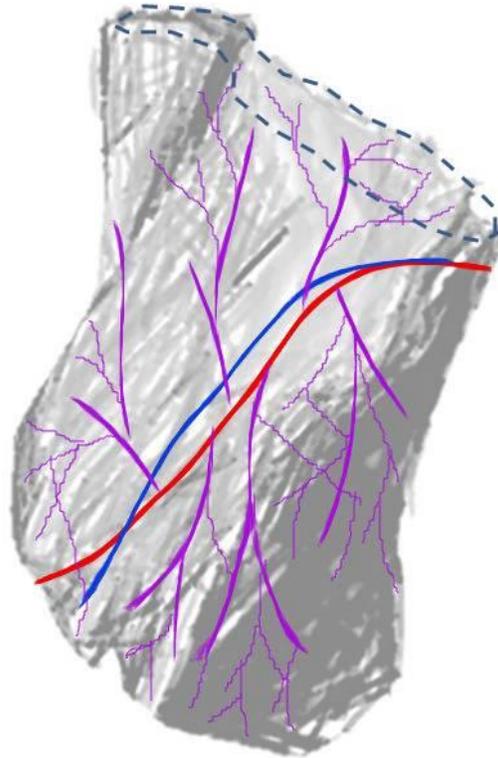
En base al análisis de los resultados obtenidos y al estudio más acabado de los puntos anteriormente expuestos, se propone un patrón de inervación para el músculo masetero, el cual se describe a continuación: (figura 8)

*El nervio maseterino accede (punto motor) al músculo masetero por la zona más anterior y superior de este (región topográfica 3), observándose un único tronco principal, discurriendo en todos los casos entre los fascículos superficial y profundo del músculo. A su vez, la dirección y sentido del tronco principal es la misma para todos los músculos, siendo esta de anterior a posterior y de superior a inferior recorriendo de forma oblicua las zonas topográficas 3-5-4, observándose una pequeña variación en el punto terminal del nervio maseterino, esta es, ya sea por la zona más inferior de la región topográfica 4 o bien por la zona más superior de la región topográfica 7.*

*Con respecto a la ramificación del nervio maseterino se evidencio la existencia de un ramo colateral principal, emergente del tronco principal del nervio maseterino en la región topográfica nº3, con la misma dirección y sentido que el tronco principal, pero discurriendo en forma superficial al músculo.*

*Se observó que existen ramos colaterales menores en todas las zonas topográficas establecidas provenientes del tronco principal , los cuales no tienen un patrón repetido de orientación, discurriendo entre el músculo en los 3 sentidos del espacio. Estos ramos colaterales se comunican entre ellos, formado redes nerviosas y hacia su porción más terminal se observa la arborización que sufren cada uno de ellos.*

*Además se estableció que la mayoría de los ramos colaterales perforantes, tanto superficiales como profundos, emergen de la región topográfica nº5, determinándose también que dicha zona es la más densamente inervada; contrariamente a esto se observó que las regiones topográficas con menor presencia de ramos nerviosos son la nº1 y nº9, zonas más distantes al trayecto del tronco principal. La inervación de las capas más superficiales del músculo está a cargo principalmente de los filetes nerviosos desprendidos en la zonas topográfica zona nº6 y nº4.*



**Figura 8:** Esquema propuesto de patrón de inervación del músculo masetero; rojo: tronco principal, azul: ramo colateral principal, morado: ramos colaterales, su comunicación y arborización.

## 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 (Blanksma, van Eijden et al. 1997, Matsunaga, Usui et al. 2009, Mu and Sanders 2010, Mu and Sanders 2010, Won, Kim et al. 2011, Yang, Won et al. 2012).

En el presente estudio y en respuesta a la falta de conocimiento neuroanatómico del músculo masetero, se intentó describir el patrón de inervación intramuscular del masetero utilizando la técnica de Sihler, que permite ver el recorrido intramuscular de los nervios, logrando transparentar el tejido muscular mientras tiñe de color violeta el patrón nervioso, permitiendo identificarlo más fácilmente sin la disrupción estructural que provocaría la disección quirúrgica.(Mu and Sanders 2010)

Es importante señalar que la bibliografía y literatura biomédica es muy escasa respecto al uso del método de Sihler en estructuras máxilo-faciales humanas, más aún en músculos cráneo-mandibulares, competencia por excelencia del odontólogo general y especialista.

Respecto a la inervación del músculo masetero, varios autores han descrito el trayecto del nervio maseterino desde la fosa infratemporal hasta la incisura mandibular (Cheng, Audolfsson et al. 2013) (Hontanilla, Marre et al. 2014) (Kaya, Apaydin et al. 2014) y para su localización en el espesor del músculo han utilizado parámetros topográficos en donde se podría encontrar al nervio maseterino con mayor probabilidad, pero ninguno de ellos ha realizado la descripción anatómica del patrón de inervación intramuscular de dicho nervio con un método que permita su visualización y así poder precisar su recorrido en los 3 sentidos del espacio.

Es así como las características anatómicas del nervio maseterino han sido el foco de muchos estudios con el objetivo de aumentar el conocimiento sobre su patrón de ramificación desde la incisura mandibular hasta sus divisiones terminales, lo que hasta ahora no se ha establecido. (Cotrufo, Hart et al. 2011)

En este estudio se ha pretendido establecer este patrón de distribución nerviosa intramuscular del nervio maseterino con el objetivo de ser útil en el tratamiento de parálisis faciales en que se requiera utilizar al nervio maseterino como donante para la reinervación facial ya sea con neurorrafia al nervio facial o para inervar un injerto muscular libre (Win and Tzafetta 2014), así como también en aquellos casos donde se desean conocer con mayor exactitud qué zonas del músculo están más densamente inervadas, como es en el caso del tratamiento para la hipertrofia maseterina, ya sea en forma quirúrgica o para establecer la zona más precisa de inyección de toxina botulínica y para cualquier otro fin que se necesite saber con exactitud dicho patrón, como es el caso de punciones anestésicas al músculo masetero entre otras.

En el caso del tratamiento de la parálisis facial y en base a los resultados obtenidos en el presente estudio, se pretende discutir cual sería la o las zonas con mayor tasa éxito para este tratamiento, así como también las zonas de mayor riesgo, considerando los distintos aspectos clínicos y anatómicos. De esta forma, se debe tener en consideración que una de las complicaciones de usar el nervio maseterino como nervio donante para la reinervación facial es la pérdida de la función del músculo masetero (Bianchi, Ferri et al. 2014) y en base a lo observado en este trabajo, la sección de nervio maseterino no debiese realizarse en la *zona topográfica n°3*, ya que en dicha zona se encuentra el punto motor del tronco principal, lo que traería como consecuencia una denervación del resto del músculo y por lo tanto una alteración funcional de este.

Por otro lado, cuando se requiera realizar la coaptación del nervio maseterino con los ramos distales del nervio facial, sería adecuado el abordaje quirúrgico en la zona topográfica nº4, ya que en base a los resultados obtenidos, en el 100% de las muestras el tronco principal del nervio transcurrió por esta región y además donde finalizaba en la mayoría de los casos (62,5 %) su recorrido, lo que asegura una óptima capacidad contráctil y con el beneficio de su cercanía a los ramos del nervio facial, lo que facilita el procedimiento quirúrgico (Henstrom 2014)

Es también fundamental reconocer las zonas del músculo que se encuentran más densamente inervadas, que en el caso del presente estudio resultó ser la zona topográfica nº5; donde se observa el tronco principal, ramos colaterales y arborización de estos mismos. Al poseer esta zona una mayor cantidad de axones y fibras nerviosas mielinizadas, asegura al clínico éxito en el tratamiento desde el punto de vista de las unidades motoras funcionales (Borschel, Kawamura et al. 2012), utilizando al nervio maseterino proveniente de dicha zona para la reinervación de colgajos musculares libres. A diferencia de esto, las zonas con menor presencia de inervación se observó que fueron las regiones topográficas nº1 y nº9; por lo que no es aconsejable realizar el abordaje quirúrgico en dichos sitios.

Respecto a la hipertrofia maseterina, se hace fundamental conocer el patrón de inervación intramuscular del masetero para sus distintos tratamientos, ya sea en la resección quirúrgica del músculo masetero, la neurectomía del nervio maseterino y la terapéutica más en boga actualmente, la aplicación de toxina botulínica (BTX), resorte en muchos casos del odontólogo. (Costa 2014)

En el protocolo de inyección de toxina botulínica utilizado actualmente, se ha establecido por varios autores una zona de seguridad para el sitio de punción, respetando de esta forma la anatomía del músculo (Kaya, Apaydin et al. 2014) (Fedorowicz, van Zuuren et al. 2013) (Hu, Kim et al. 2010), concordante con la descripción realizada en este estudio. Esta zona de seguridad, está limitada a realizar la inyección en las zonas del músculo masetero donde se ha documentado que se

produce la hipertrofia maseterina, dichas zonas son la región antero-inferior y media-inferior del músculo (Andrade and Deshpande 2011) (Bas, Ozan et al. 2010) (Al-Ahmad and Al-Qudah 2006). A su vez, se establece que la punción no debe realizarse en el borde superior del músculo masetero, zona correspondiente a las regiones topográficas n<sup>o</sup>1, n<sup>o</sup>2 y n<sup>o</sup>3 del presente estudio, debido a que en dichos sitios no se produce la condición clínica y además por el potencial daño a estructuras vasculares y al conducto excretor de la glándula parótida. Así mismo, la punción tampoco debería realizarse en el borde posterior del músculo por el posible daño a la glándula parótida y a los diversos ramos del nervio facial; esta zona correspondería a las regiones topográficas n<sup>o</sup>4 y n<sup>o</sup>7 (ángulo mandibular) de este trabajo.

Dicho lo anterior y en comparación con los resultados obtenidos por el único estudio (Kim, Hong et al. 2010) que ha utilizado tinción de Sihler para la localización del nervio maseterino y su aplicación en el protocolo clínico de toxina botulínica, se propone en nuestro estudio una división topográfica del músculo en 9 zonas, a diferencia de las 6 establecidas por Kim Da-Hye (Kim, Hong et al. 2010), con el objetivo de facilitar al clínico la localización de cada una de ellas tras la palpación manual del músculo y a su vez para establecer sitios más precisos para la punción.

Se postula como sitio ideal de punción la zona más inferior de la región topográfica n<sup>o</sup>5 o bien la zona más superior de la región topográfica n<sup>o</sup>8, región V para Kim Da-Hye (Kim, Hong et al. 2010), ya que en dichas zonas, como se observo en los resultados y en concordancia con el estudio anteriormente nombrado, se encuentran densamente inervadas, presentando la mayor cantidad de ramos perforantes superficiales, además de ser zonas equivalentes al sitio donde se ha descrito que se produce la hipertrofia maseterina. Todo esto con el fin de evitar complicaciones post operatorias, aumentar el éxito de la terapia y mejorando con esto el pronóstico del tratamiento; es decir, el presente estudio aporta con sus resultados a la evidencia teórica para el lugar de aplicación de BTX en la práctica clínica.

Por otro lado, se desea evidenciar las limitaciones del método experimental del presente estudio y proponer futuras modificaciones e implicancias del mis

Se propone aumentar el tamaño muestral ( $n$ ) del trabajo, de esta forma los datos y resultados obtenidos adquieren mayor relevancia, ya que pueden ser extrapolables a nuestra población. Incluir además, una serie de criterios de inclusión para segmentar los resultados y disminuir la variación entre los distintos individuos y con esto también minimizar el sesgo del estudio.

Respecto a la obtención de la muestra de músculo masetero, y bajo nuestra experiencia es aconsejable retirar su fascia, ya que esta impide muchas veces observar con claridad el espesor del músculo en las distintas etapas del método de Sihler, lo que genera confusión visual al momento del análisis. Hemos observado que la fascia maseterina actúa como barrera mecánica impidiendo de esta forma la correcta penetración de los reactivos en el espesor del músculo. Esto genera alteración en el protocolo de tinción, evitando un adecuado análisis de la estructura tal como sucedió con la muestra M6, en donde no se pudo identificar con exactitud la presencia de ramos colaterales y su arborización.

Se postula como fase clave del método de Sihler la maceración y despigmentación, ya que una adecuada maceración permite mantener la morfología muscular, con esto compensar los distintos grosores dentro del músculo y a su vez obtener una óptima consistencia y translucidez para asegurar el éxito en los pasos posteriores.

El protocolo de Sihler establecido, no funcionó óptimamente para todas las muestras; por lo que no se obtuvo el rendimiento ideal en 3/8 músculos, esto se debe a que el músculo masetero posee una morfología diferente en cuanto a tamaño, grosor y constitución a las estructuras previamente estudiadas con dicho método (Yang, Gil et al. 2015) (Won, Yang et al. 2014) (Yang, Won et al. 2013) (Mu and Sanders 2010, Won, Rha et al. 2012). Para futuros estudios se propone establecer un protocolo específico de cada una de las etapas del método de Sihler para músculo masetero, calibrando previamente cada muestra y categorizándola según tamaño, grosor y peso, con esto conseguir una estandarización de la técnica,. Es importante señalar que existe un alto componente subjetivo en la inspección visual de cada una de las etapas,

lo que dificulta también el procedimiento.

Si bien los hallazgos obtenidos en esta investigación representan un avance en el conocimiento anatómico, es importante que se generen futuras investigaciones en el ámbito de la morfología máxilo-facial, puesto que esto fija las bases teóricas para la aplicación clínica en las distintas terapias, muchas veces estrechamente vinculadas al quehacer del odontólogo. Específicamente, faltan estudios concluyentes acerca del patrón de inervación del músculo masetero y su relación con las distintas condiciones clínicas en que se ve involucrado. Una buena vía para dicho objetivo, es la utilización de técnicas anatómicas precisas como el método de Sihler, que permitan un detallado análisis y arrojen resultados fehacientes, considerando además los progresos alcanzados en el presente estudio.

La anatomía del músculo masetero ha sido bien caracterizada en textos de anatomía clásica (Frank H. Netter 2003, Latarjet 2004, Rouvière 2005) tal y como se ha descrito en el presente estudio; sin embargo, los patrones de inervación y la distribución de los ramos del nervio maseterino en el músculo no están bien estudiados, lo que trae como consecuencia un déficit de conocimiento por las limitantes que presenta el estudio morfológico de la técnica anatómica convencional. Es por esto, y con fin de contribuir al desarrollo de las disciplinas biomédicas, que el presente estudio se realizó utilizando el método de Sihler; una técnica anatómica más precisa (Mu and Sanders 2010), que aporta más información sobre las estructuras nerviosas del tejido a estudiar, con las ventajas ya evidenciadas anteriormente; todo esto para fijar las bases morfológicas del músculo masetero y su relación con el nervio maseterino . De esta forma, contribuir con ello a la aplicación de este conocimiento para el tratamiento de las distintas condiciones patológicas o en las diversas técnicas clínicas en que está implicado el músculo masetero, ya sea en el ámbito quirúrgico, estético, funcional, en la aplicación del estudio electromiográfico y en el desarrollo de la neurociencia, aportando nuevos conocimientos y en la clarificación de controversias.

## CONCLUSIONES

- La técnica de Sihler permite visualizar el patrón de inervación del nervio maseterino al interior del músculo masetero en los 3 sentidos del espacio.
- El músculo masetero esta inervado por un único tronco principal correspondiente al nervio maseterino.
- El trayecto del tronco principal del nervio maseterino presenta una dirección y sentido bien definidos, esto es, de anterior a posterior y de superior a inferior entre la porción superficial y profunda del músculo.
- El nervio maseterino accede al músculo masetero por la zona topográfica nº3, correspondiente a la porción antero-superior del músculo.
- Existen ramos colaterales del nervio maseterino que se comunican al interior del músculo masetero, ramificándose hacia su porción más terminal.
- Existe un patrón de inervación común para los músculos estudiados, existiendo pequeñas variaciones entre ellos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Ahn, K. Y. and S. T. Kim (2007). "The change of maximum bite force after botulinum toxin type a injection for treating masseteric hypertrophy." Plast Reconstr Surg **120**(6): 1662-1666.

Al-Ahmad, H. T. and M. A. Al-Qudah (2006). "The treatment of masseter hypertrophy with botulinum toxin type A." Saudi Med J **27**(3): 397-400.

Andrade, N. N. and G. S. Deshpande (2011). "Use of botulinum toxin (botox) in the management of masseter muscle hypertrophy: a simplified technique." Plast Reconstr Surg **128**(1): 24e-26e.

Azaroual, M. F., M. Fikri, R. Abouqal, H. Benyahya and F. Zaoui (2014). "Relationship between dimensions of muscles of mastication (masseter and lateral pterygoid) and skeletal dimensions: study of 40 cases." Int Orthod **12**(1): 111-124.

Bas, B., B. Ozan, M. Muglali and N. Celebi (2010). "Treatment of masseteric hypertrophy with botulinum toxin: a report of two cases." Med Oral Patol Oral Cir Bucal **15**(4): e649-652.

Bianchi, B., C. Copelli, S. Ferrari, A. Ferri, C. Bailleul and E. Sesenna (2010). "Facial animation with free-muscle transfer innervated by the masseter motor nerve in unilateral facial paralysis." J Oral Maxillofac Surg **68**(7): 1524-1529.

Bianchi, B., C. Copelli, S. Ferrari, A. Ferri and E. Sesenna (2010). "Facial animation in patients with Moebius and Moebius-like syndromes." Int J Oral Maxillofac Surg **39**(11): 1066-1073.

Bianchi, B., A. Ferri, S. Ferrari, C. Copelli, A. Magri, T. Ferri and E. Sesenna (2014). "Cross-facial nerve graft and masseteric nerve cooptation for one-stage facial reanimation: principles, indications, and surgical procedure." Head Neck **36**(2): 235-240.

Biglioli, F., W. Bayouth, V. Colombo, M. Pedrazzoli and D. Rabbiosi (2013). "[Double innervation (facial/masseter) on the gracilis flap, in the middle face reanimation in the management of facial paralysis: a new concept]." Ann Chir Plast Esthet **58**(2): 89-95.

Biglioli, F., A. Frigerio, V. Colombo, G. Colletti, D. Rabbiosi, P. Mortini, E. Dalla Toffola, A. Lozza and R. Brusati (2012). "Masseteric-facial nerve anastomosis for early facial reanimation." J Craniomaxillofac Surg **40**(2): 149-155.

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.

Borschel, G. H., D. H. Kawamura, R. Kasukurthi, D. A. Hunter, R. M. Zuker and A. S. Woo (2012). "The motor nerve to the masseter muscle: an anatomic and histomorphometric study to facilitate its use in facial reanimation." J Plast Reconstr Aesthet Surg **65**(3): 363-366.

Cattaneo, L., E. Sacconi, P. De Giampaulis, G. Crisi and G. Pavesi (2010). "Central facial palsy revisited: a clinical-radiological study." Ann Neurol **68**(3): 404-408.

Costa, L. E., 2nd (2014). "The dentist, botox, and injectable fillers." J Esthet Restor Dent **26**(1): 1-4.

Cotrufo, S., A. Hart, A. P. Payne, A. Sjogren, A. Lorenzo and S. Morley (2011). "Topographic anatomy of the nerve to masseter: an anatomical and clinical study." J Plast Reconstr Aesthet Surg **64**(11): 1424-1429.

Cheng, A., T. Audolfsson, A. Rodriguez-Lorenzo, C. Wong and S. Rozen (2013). "A reliable anatomic approach for identification of the masseteric nerve." J Plast Reconstr Aesthet Surg **66**(10): 1438-1440.

Enlow (1992). Crecimiento Maxilofacial, editorial interamericana Mcgraw Hill,.

Fedorowicz, Z., E. J. van Zuuren and J. Schoones (2013). "Botulinum toxin for masseter hypertrophy." Cochrane Database Syst Rev **9**: CD007510.

Frank H. Netter, M. D. (2003). Atlas de Anatomía Humana.

Frugone R, H. A., Valenzuela H, Retamal V. (2010). "Masseter muscle dimensions measured by ultrasound per sex." Revista Facultad Odontología Universidad Antioquia **22**(1): 7-13.

Henstrom, D. K. (2014). "Masseteric nerve use in facial reanimation." Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg **22**(4): 284-290.

Hernandez A, F. R., Valenzuela H, Retamal V (2012). "Masseter muscle deep measured by ultrasound per facial index related to sex." International Journal of Morphology **30**(3): 164-169.

Ho A, S. A., Klassen A, Cano S, Pusic A, Laeken N. (2012). "Measuring quality of life and patient satisfaction in facial paralysis patients: A systematic review of patient reported outcome measures." Plast. Reconst. Surg. **130**: 90.

Hohman, M. H. and T. A. Hadlock (2014). "Etiology, diagnosis, and management of facial palsy: 2000 patients at a facial nerve center." Laryngoscope **124**(7): E283-293.

Hontanilla, B., D. Marre and A. Cabello (2014). "Masseteric nerve for reanimation of the smile in short-term facial paralysis." Br J Oral Maxillofac Surg **52**(2): 118-123.

Hu, K. S., S. T. Kim, M. S. Hur, J. H. Park, W. C. Song, K. S. Koh and H. J. Kim (2010). "Topography of the masseter muscle in relation to treatment with botulinum toxin type A." Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod **110**(2): 167-171.

Jeffrey, O. (1988). Tratamiento de oclusión y afecciones temporomandibulares.

Kaya, B., N. Apaydin, M. Loukas and R. S. Tubbs (2014). "The topographic anatomy of the masseteric nerve: A cadaveric study with an emphasis on the effective zone of botulinum toxin A injections in masseter." J Plast Reconstr Aesthet Surg **67**(12): 1663-1668.

Kim, D. H., H. S. Hong, S. Y. Won, H. J. Kim, K. S. Hu, J. H. Choi and H. J. Kim (2010). "Intramuscular nerve distribution of the masseter muscle as a basis for botulinum toxin injection." J Craniofac Surg **21**(2): 588-591.

Kim NH, C. J., Park RH, Park JB. (2005). "The use of botulinum toxin A in aesthetic mandibular contouring." Plast Reconstr Surg **115**: 919-930.

Koolstra, J. H. (2002). "Dynamics of the human masticatory system." Crit Rev Oral Biol Med **13**(4): 366-376.

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.

Latarjet, 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.

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.

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

Linder, T. E., W. Abdelkafy and S. Cavero-Vanek (2010). "The management of peripheral facial nerve palsy: "paresis" versus "paralysis" and sources of ambiguity in study designs." Otol Neurotol **31**(2): 319-327.

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.

Menendez, L., V. Bernal, P. Novellino and S. I. Perez (2014). "Effect of bite force and diet composition on craniofacial diversification of Southern South American human populations." Am J Phys Anthropol **155**(1): 114-127.

Meng, H. and N. Bianchi-Berthouze (2013). "Affective State Level Recognition in Naturalistic Facial and Vocal Expressions." IEEE Trans Cybern.

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.

Plast., K. M. (2011). " Facial reanimation using the Masseter-to-facial nerve transfer." Reconstr. Surg. **127**: 1909.

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

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.

Sforza, C., A. Frigerio, A. Mapelli, F. Mandelli, F. V. Sidequersky, V. Colombo, V. F. Ferrario and F. Biglioli (2012). "Facial movement before and after masseteric-facial nerves anastomosis: a three-dimensional optoelectronic pilot study." J Craniomaxillofac Surg **40**(5): 473-479.

Stephan, C. N. (2010). "The human masseter muscle and its biological correlates: A review of published data pertinent to face prediction." Forensic Sci Int **201**(1-3): 153-159.

Tepper, D. and T. P. Cabret-Aymat (2014). "La toxina botulinica tipo A (Botox)." Headache **54**(4): 789-790.

Uchida, Y., M. Motoyoshi, T. Shigeeda, A. Shinohara, Y. Igarashi, M. Sakaguchi and N. Shimizu (2011). "Relationship between masseter muscle size and maxillary morphology." Eur J Orthod **33**(6): 654-659.

- Wan, H., L. Zhang, D. Li, S. Hao, J. Feng, J. P. Oudinet, M. Schumacher and S. Liu (2014). "Hypoglossal-facial nerve "side"-to-side neuroorrhaphy for persistent incomplete facial palsy." J Neurosurg **120**(1): 263-272.
- Win, T. S. and K. Tzafetta (2014). "Power and coordination for facial reanimation - dual innervation of free gracilis transfer using masseteric nerve and cross-facial nerve graft." Plast Reconstr Surg **134**(4 Suppl 1): 13.
- 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.
- Won, S. Y., D. W. Rha, H. S. Kim, S. H. Jung, E. S. Park, K. S. Hu and H. J. Kim (2012). "Intramuscular nerve distribution pattern of the adductor longus and gracilis muscles demonstrated with Sihler staining: guidance for botulinum toxin injection." Muscle Nerve **46**(1): 80-85.
- Won, S. Y., H. M. Yang, H. S. Woo, K. Y. Chang, K. H. Youn, H. J. Kim and K. S. Hu (2014). "Neuroanastomosis and the innervation territory of the mental nerve." Clin Anat **27**(4): 598-602.
- Yang, H. J., Y. C. Gil and H. Y. Lee (2015). "Anatomy of facial and trigeminal nerve branches associated with the corrugator supercilii muscle: microdissection and modified sihler staining." Dermatol Surg **41**(1): 87-93.
- Yang, H. M., S. Y. Won, H. J. Kim and K. S. Hu (2013). "Sihler staining study of anastomosis between the facial and trigeminal nerves in the ocular area and its clinical implications." Muscle Nerve **48**(4): 545-550.
- 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.
- Yu, D. Z., A. T. Liu, R. S. Dang, C. S. Zhang, J. L. Zhang, G. Chen, J. Yi, T. Han and H. Jiang (2010). "Intramuscular innervations of muscle flaps that are commonly used in clinical settings." Surg Radiol Anat **32**(7): 637-646.

## ANEXO 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 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

## ANEXO 3



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

