

MFN: 00001

UNIVERSIDAD DE VALPARAISO
FACULTAD DE ODONTOLOGIA
ESCUELA DE ODONTOLOGIA
VALPARAISO

**" MODELO EXPERIMENTAL DE REINERVACION DE
MUSCULO MASETERO DE RATA POR NERVIIO FACIAL ;
COMPROVACION HISTOLOGICA "**

Seminario para optar al Título de **Cirujano Dentista.**

Profesor Guía :

Dra. Gloria Ruiz Muñoz.
Prof. Titular Cátedra de Histología
Facultad de Medicina.

Profesores Colaboradores :

Dr. Pedro Gorgollón C.
Prof. Adjunto Cátedra de Histología
Facultad de Medicina.

Dr. Gustavo Niklander K.
Prof. Auxiliar Cátedra de Histología
Facultad de Medicina.

Prof. Raúl Ladrón de Guevara M.
Docente Departamento de Fisiología
Facultad de Medicina.

Srta. Sonia Díaz A.
Ayudante técnico Cátedra de Histología
Facultad de Medicina.

Profesor Informante :

Dr. Juan Manuel Villaseñor. c
Prof. Titular Cátedra de Cirugía oral y
Traumatología Maxilo Facial.

Alumnos :

Paulo Martínez A.
Oscar Rodríguez L.
Rodrigo Rodríguez M.



Agosto de 1991.

AGRADECIMIENTOS

Al concluir el presente trabajo, hay una certeza que se hace aún más fuerte en nuestro interior, y es que mucho podrá la ciencia observar, experimentar, comprobar, para luego concluir y formular leyes aceptadas e integradas al intelecto humano. Pero existe La Verdad Suprema, que se manifiesta hasta en el más pequeño detalle de una muestra histológica. Y es que todo tiene su explicación en la presencia inmanente de Dios, que actúa y se manifiesta a todo nivel. A El agradecemos la posibilidad de conocerle a través de la ciencia, y por medio de El también agradecemos y reconocemos la disciplina formativa de aquellos que, incansablemente, nos ayudaron y entregaron de sí para hacer posible que este trabajo llegue a buen término.

PAULO, OSCAR Y RODRIGO.

INDICE

CAPITULO I

<u>INTRODUCCION, HIPOTESIS DE TRABAJO, MARCO TEORICO</u>	<u>PAGINA</u>
- INTRODUCCION.....	1
- HIPOTESIS DE TRABAJO.....	5
- MARCO TEORICO :	
A) DESCRIPCCION ANATOMICA DEL MUSCULO MASETERO EN HUMANOS.....	6
A1) DESCRIPCCION ANATOMICA DE LA REGION MASETERINA.....	8
B) DESCRIPCCION ANATOMICA DEL NERVIO FACIAL EN HUMANOS.....	9
C) DESCRIPCCION ANATOMICA DEL NERVIO TRIGEMINO EN HUMANOS.....	12
D) ANATOMIA COMPARADA ENTRE HUMANO Y RATA.....	16
E) HISTOLOGIA BASICA DE FIBRA MUSCULAR ESTRIADA O VOLUNTARIA.....	22
F) ESTRUCTURA FINA DEL SARCOPLASMA.....	26
G) TEORIA DE LA CONTRACCION MUSCULAR POR DESLIZAMIENTO MUSCULAR DE FILAMENTOS.....	30
H) HISTOLOGIA BASICA DE LA FIBRA NERVIOSA.....	37

I) PLACA MOTORA (UNION MIONEURAL).....	41
--	----

CAPITULO II

MATERIAL Y METODOS

	<u>PAGINA</u>
A) OBJETIVO DEL TRABAJO.....	44
B) DISEÑO EXPERIMENTAL.....	45
C) MATERIALES EMPLEADOS.....	47
D) FICHA CLINICA.....	50
E) PROTOCOLO QUIRURGICO.....	51
F) PROTOCOLO FISIOLÓGICO.....	55
G) PROTOCOLO DE PERFUSION.....	56
H) PROTOCOLO HISTOLOGICO.....	58

CAPITULO III

RESULTADOS, CONCLUSIONES Y DISCUSION.

	Página
A) RESULTADOS HISTOLOGICOS.....	81
B) RESULTADOS FISIOLÓGICOS.....	87
C) CONCLUSION Y DISCUSION HISTOLOGICA	89
- ANEXOS.....	94
- BIBLIOGRAFIA.....	122

CAPITULO I

INTRODUCCION, HIPOTESIS Y MARCO TEORICO.

INTRODUCCION

En el territorio maxilofacial de seres humanos, es frecuente que por procedimientos quirúrgicos, accidentes traumáticos, o patologías clínicas, se produzcan secuelas que lleven a una pérdida de la sensibilidad y o motilidad de la zona.

En clínica, sin embargo, se ha observado una casuística no determinada de pacientes, que en condiciones similares, han recuperado parcial, o totalmente las funciones alteradas.

Ya que la denervación traumática de ciertos territorios es un hecho de ocurrencia en cirugía oral y maxilofacial, hemos propuesto un diseño experimental sencillo para comprobar la reinervación del músculo masetero, luego de su denervación quirúrgica. La técnica quirúrgica consistió en el implante del nervio facial seccionado en el músculo masetero, practicando un bolsillo en el músculo. Se introdujeron variables en la técnica de implantación, que modificaron la profundidad del implante.

El modelo experimental propuesto presenta varias ventajas, como por ejemplo la similitud anatomofuncional de los nervios involucrados: maseterino, rama del nervio maxilar inferior, a su vez rama del trigémino (V par craneano), y facial (VII par craneano), denervado y reinervante respectivamente. Además, el nervio facial se encuentra cercano al músculo masetero (lo cruza superficialmente) lo que permite

que la técnica se realice sin mayores factores traumáticos para el nervio a implantar.

Los eventos de regeneración y crecimiento nerviosos en el caso de nuestro modelo experimental, así como en todos los fenómenos del desarrollo en el organismo humano, están avalados y condicionados en gran manera por la presencia de un factor hormonal : Factor de Crecimiento Nervioso (F C N). Este factor, omnipresente en todo proceso regenerativo o de recuperación, fue empleado para estudiar el crecimiento del nervio facial seccionado en ratas. (Chen 1989). El crecimiento fue examinado una a cinco semanas después de la cirugía. Los animales tratados con F C N demostraron a las cinco semanas un sobrecrecimiento en calibre y gran densidad de distribución del crecimiento axonal a las tres y cinco semanas. Hubo casos de regeneración temprana (tres semanas) en que el perfil de crecimiento mostró más fascículos y menos axones que los controles pre operatorios. En los estados avanzados (cinco semanas), el número de fascículos fué reducido y el número de axones fue mayor. (Chen Y-S. Wang Bennett L.T and Coker, 1989).

Se ha comprobado también la velocidad de crecimiento en la regeneración del nervio facial seccionado en ratas, encontrándose un rango de 2 a 5 mm. al día, lo cual se midió a partir del transporte axonal de una proteína radiomarcada. (Tetzlaff W, and Bisby ,1989). Con este estudio logró establecer, además, que a pesar de que la lesión o amputación del nervio facial induce una reducción en la síntesis de proteínas en los cuerpos celulares, este hecho no afecta los eventos de

crecimiento y regeneración. Lo anterior permite inferir que el rango de crecimiento de los neurofilamentos en la regeneración axonal no estaría gobernado por la síntesis de proteínas en el cuerpo celular, sino por interacciones con otros materiales del citoesqueleto. (Tetzlaff W. and Bisby, 1989).

Además de los eventos de regeneración nerviosa, sería importante considerar algunas circunstancias que estarían condicionando la recuperación del músculo masetero después de su atrofia, producto de la denervación previa a la reinervación.

Otros antecedentes muestran el efecto de la administración de una dieta de grano fino sobre el músculo masetero de rata. Mediciones morfológicas e histoquímicas mostraron una disminución en el diámetro de fibras extra e intrafusales, sobre todo en animales jóvenes (20 días después del destete). No hubo, en cambio, una diferencia significativa en el diámetro de fibras intermedias entre ratas controles y tratadas. La actividad de la succino deshidrogenasa fue disminuida en fibras extra e intrafusales en los animales tratados. (Maeda y Col., Acta Anat. 1987).

Se conoce que las neuronas del S.N.C tienen una escasa capacidad de regeneración de sus axones, posterior a una lesión. En cambio las neuronas del S.N.Periférico tienen una mayor potencialidad de crecimiento axonal (Maldonado et Al 1984). Estas diferencias guardan relación también con la distinta composición histológica de los microambientes celulares y a diferencias en las respuestas frente a

lesiones de células no neuronales : Astrocitos, Microglia , Macrófagos del tejido conjuntivo. (M. Schwartz et Col 1989).

Existen, antecedentes suficientes para considerar una multiplicidad de factores que podrían estar condicionando favorablemente una recuperación post denervación.

En nuestro diseño experimental, los efectos de la denervación y reinervación fueron evaluados mediante observación histológica, de crecimiento del nervio implantado comprobándose posteriormente la efectividad de la reinervación mediante algunas pruebas fisiológicas.

HIPOTESIS DE TRABAJO.

Mediante la técnica quirúrgica aplicada a nuestro modelo experimental, lograremos la denervación del músculo masetero de rata de su nervio maseterino y su posterior reinervación a partir del implante del cabo proximal del nervio facial seccionado.

Posteriormente, este modelo experimental será evaluado mediante técnicas histológicas de observación directa al microscopio de luz. Las muestras obtenidas serán sometidas a diferentes métodos de tinción, algunos de ellos específicos para tejido nervioso.

Además se recurrirá a una comprobación de la reinervación a través de una prueba fisiológica de registro de contracción muscular.

MARCO TEORICO.

A) DESCRIPCION ANATOMICA DEL MUSCULO MASETERO EN HUMANOS.

Músculo corto, grueso de forma cuadrilátera, situado en la cara externa de la rama ascendente del maxilar inferior. Presenta dos caras (externa e interna) ; cuatro bordes (superior , inferior, anterior y posterior).

Está constituido por dos fascículos, claramente visibles : fascículo superficial y fascículo profundo. El fascículo superficial o antero externo es el más importante de los dos. Se inserta por arriba en los 2/3 anteriores del borde inferior del arco cigomático. Esta inserción de origen se hace por medio de una aponeurosis muy gruesa y resistente que se extiende sobre la cara externa del músculo y se prolonga hasta su parte media ,donde termina en forma de lengüeta más o menos afilada, pero siempre muy irregular. Las fibras constitutivas del fascículo superficial se dirigen oblicuamente de arriba abajo de delante a atrás para terminar en el ángulo del maxilar, así como en la porción inferior de la cara externa de la rama ascendente. El fascículo profundo se sitúa por dentro del anterior del que sobresale por detrás. Las fibras se insertan en el borde inferior y en la cara interna del arco cigomático (ambos fascículos forman un ángulo de 40 a 45°), finalmente van a insertarse en la cara externa de la rama del maxilar.

Se encuentran separados por una masa de tejido conjuntivo laxo más o menos rico en grasa (por arriba) y más abajo se fusionan para tomar inserción común con el maxilar.

El músculo es irrigado por arterias superficiales y arterias profundas. Entre las superficiales están la maseterina inferior, rama de la arteria facial, que sube por la cara superficial del músculo hasta el arco cigomático ; la transversal de la cara da múltiples ramas que irrigan la cara externa del músculo y en su curso da un ramo profundo.

Entre las arterias profundas se encuentran la arteria maseterina , rama de la maxilar interna y que acompaña al nervio maseterino. El ramo profundo de la transversal de la cara es importante ya que penetra en el masetero cerca de su borde posterior, camina entre el fascículo superficial y el profundo, y se distribuye por el interior del músculo.

La inervación está dada por el nervio maseterino, ramo del nervio maxilar inferior, que pasa por la escotadura sigmoídea, y se desliza entre los dos fascículos entregando filetes nerviosos.

AT DESCRIPCION ANATOMICA DE LA REGION MESETERINA

Tiene forma de cuadrilátero, alargada en sentido vertical y se relaciona con la región temporal por arriba ; con la región parotídea por atrás ; con la región geniana por adelante ; con la región suprahióidea por abajo.

PLANOS SUPERFICIALES DE REGION MASETERINA

-Piel :

-Tejido celular subcutaneo : Capa rica en grasas. En esta capa se encuentran la arteria transversal de la cara, el nervio facial (rama temporo facial y cérvico facial).

B) DESCRIPCION ANATOMICA DEL NERVIO FACIAL EN HUMANOS.

Ramas :

- Intrapetrosas.
- Extrapetrosas.

Ramas terminales :

- Temporo facial.
- Cervico facial.

Rama temporo facial :

Esta rama nace en el interior de la parótida, de la cual sale y se dirige hacia arriba y adelante en busca del cuello del cóndilo del maxilar inferior. Aquí recibe el nervio aurículo temporal (uno o varios ramos anastomóticos) y se divide en tres o cuatro ramas, los cuales se dividen a su vez hasta resolverse en una multitud de filetes divergentes cada vez más delgados. Estos filetes se anastomosan con ramas terminales del trigémino (suborbitario) :

a.- Filetes temporales :

Región temporal, músculo auricular anterior y los pequeños músculos del pabellón de la oreja, músculos del hélix, del trago y del antitrigo.

b.- Filetes frontales :

Músculo frontal.

c.- Filetes palpebrales :

Superciliar y el orbicular.

d.- Filetes nasales :

Cigomático mayor, menor, canino, elevador propio del labio superior, elevador común del ala de la nariz y labio superior, piramidal, triangular de la nariz, mirtiforme y dilatador de las ventanas nasales.

f.- Filetes bucales superiores :

Músculo buccinador y la mitad superior del orbicular de los labios.

Rama cervico facial :

Recibe anastomosis del plexo cervical superficial y al llegar al ángulo del maxilar se divide en tres o cuatro ramas :

a.- Filetes bucales inferiores (motor) :

Risorio de Santorini, músculo buccinador y la mitad inferior del orbicular de los labios.

b.- Filetes mentonianos (motor):

Triángular de los labios, cuadrado de la barba y borla de la barba, anastomosándose para formar el plexo mentoniano con las ramificaciones del nervio mentoniano (rama del dentario inferior).

c.- Filetes cervicales : (motor)

Región suprahióidea, cutáneo del cuello.

C) DESCRIPCION ANATOMICA DEL NERVIO TRIGEMINO

V par de los nervios craneanos. Es un nervio mixto que da la sensibilidad de la cara y también la actividad motora de los músculos de la cara (algunos).

Origen real :

Nace en la cara inferior de la protuberancia anular, por dos raíces cuya disposición es idéntica a los nervios raquídeos : una raíz relativamente muy voluminosa, extensa o posterior, sensitiva ; y una raíz anterior, más delgada, motora.

I.- Raíz sensitiva o trigémino sensitivo :

El trigémino tiene bajo su dependencia la sensibilidad cutánea de la cara, la mayor parte de las mucosas bucal y lingual y el globo ocular. Se forma por tres raíces, una inferior, una media (termina en el núcleo medio), y una superior (se fusiona con la raíz inferior cerca del núcleo masticador).

Núcleos de terminación de las fibras sensitivas del trigémino :

Las fibras sensitivas periféricas nacidas del ganglio de Gasser, una vez que han recorrido el trayecto vienen a terminar, llegadas

ya a los centros, alrededor de elementos celulares que forman una larga columna de sustancia gris en la que los autores han querido reconocer dos núcleos : el núcleo gelatinoso (bulbo espinal) que , se extiende del cuello del bulbo hasta el tercio inferior de la protuberancia ; y el núcleo medio (núcleo sensitivo pónico de Dejerine, continua al precedente).

II.- Raíz motora o trigémino motor :

La pequeña raíz del trigémino, exclusivamente motora, se dirige a los músculos masticatorios (el temporal , el mesetero , los pterigoídeos internos y externos, milohioídeo, el vientre anterior del digástrico o depresor de la mandíbula. Se distinguen dos núcleos de origen : el núcleo principal y el núcleo accesorio. El núcleo principal es más conocido como el núcleo masticador.

Origen aparente :

El trigémino nace en el lado externo de la cara ventral de la protuberancia, en el momento en que ésta se confunde con los pedúnculos cerebelosos medios. La raíz pequeña o motora, situada primero por dentro de la raíz sensitiva, pasa por debajo de ella, cruzándola en dirección oblicua hacia delante y afuera.

Ramas Terminales del Trigémino

Primera rama :

Nervio Oftálmico y ganglio oftálmico . Esta rama está destinada a la órbita y en ella se divide dando origen a tres ramas terminales : el nasal , el frontal y el lagrimal.

Segunda rama :

Nervio maxilar superior y ganglio esfenopalatino . Esta rama se dirige a la fosa ptérigomaxilar y allí se divide y da sus ramas colaterales y terminales. Este nervio tiene la función de inervar sensitivamente a las mucosas nasales, mucosas del seno maxilar, mucosa de la cavidad oral (lo que corresponde al maxilar superior), velo del paladar , dientes del maxilar superior, labio superior , ala de la nariz, párpado inferior, y también da algunos ramos motores a los músculos del velo del paladar, al periostafilino interno, al ácidos de la campanilla, al palatogloso y al faringoestafilino.

Tercera rama :

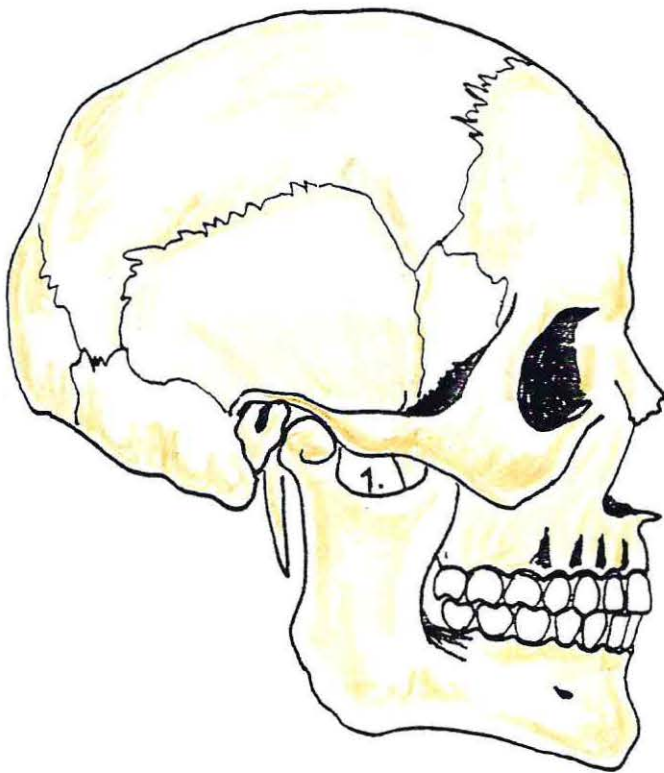
Nervio maxilar inferior y ganglio Oticó . Está constituido por dos raíces : una sensitiva y una motora. Este nervio da dos ramas terminales, una rama interna que dará origen a los nervios

pterigoideo interno y auriculotemporal ; y una rama externa que dará origen al nervio temporal profundo medio, al nervio temporomaseterino y el nervio temporobucal.

El nervio maseterino se originará del nervio temporo meseterino . Este nervio , el maseterino, suministrará algunos ramos a la articulación temporo mandibular, luego penetra en la escotadura sigmoidea de la rama del maxilar inferior para ir a inervar tanto motora como sensitivamente al músculo masetero, por el cual se distribuye.

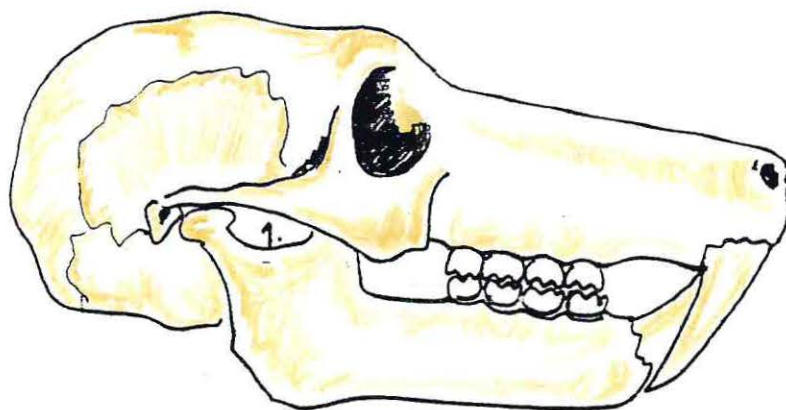
Las ramas terminales del maxilar inferior son : el dentario inferior (que va hacia los dientes y mucosas del maxilar inferior) ; y el nervio lingual (que va hacia la lengua).

D) ANATOMIA COMPARADA ENTRE HUMANO Y RATA.



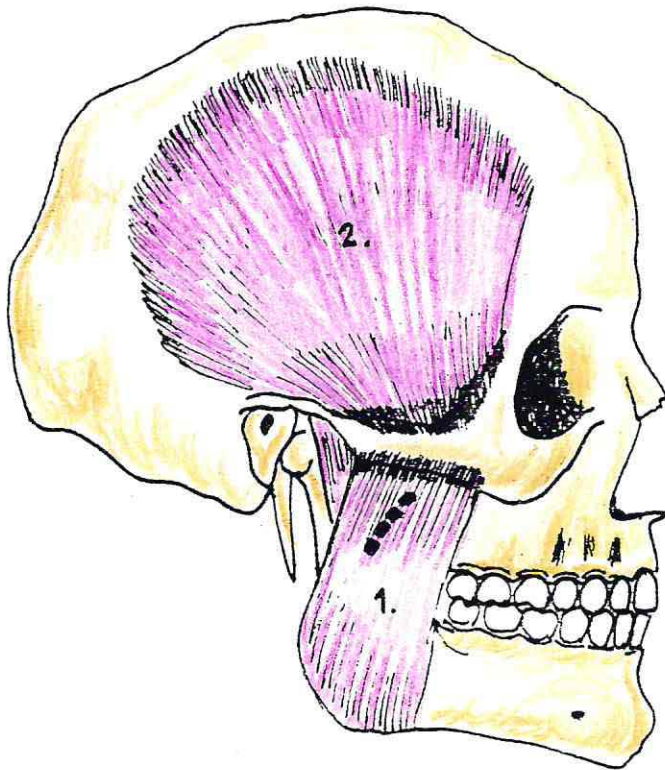
A

Fig. 1 : 1 ; A : Plano óseo Humano
1 : Escotadura Sigmoidea.



B

Fig 1 : 1 : B Plano óseo Rata.
1 : Escotadura sigmoídea.



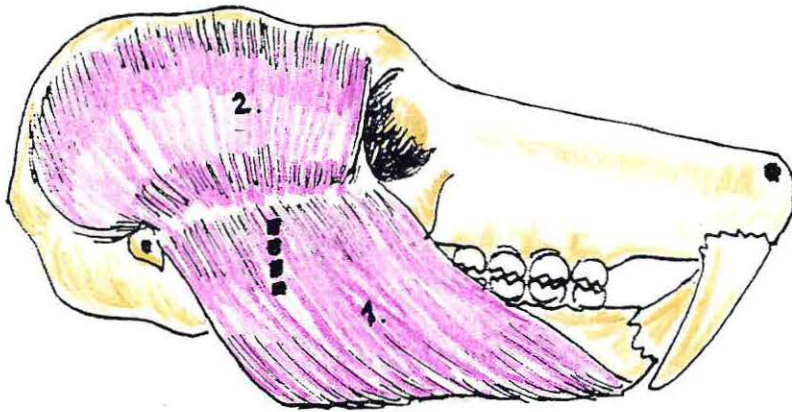
A

Fig 1 : 2 : A

Plano óseo - muscular de humano, línea entrecortada representa al nervio masetérino que cruza escotadura sigmoídea para inervar el músculo masetero.

1 : Músculo masetero.

2 : Músculo temporal .



B

Fig 1 : 2 : B

Plano óseo - muscular de Rata, línea entrecortada representa al nervio masetérino que cruza escotadura sigmoídea para inervar el músculo masetero.

1 : Músculo masetero.

2 : Músculo temporal.

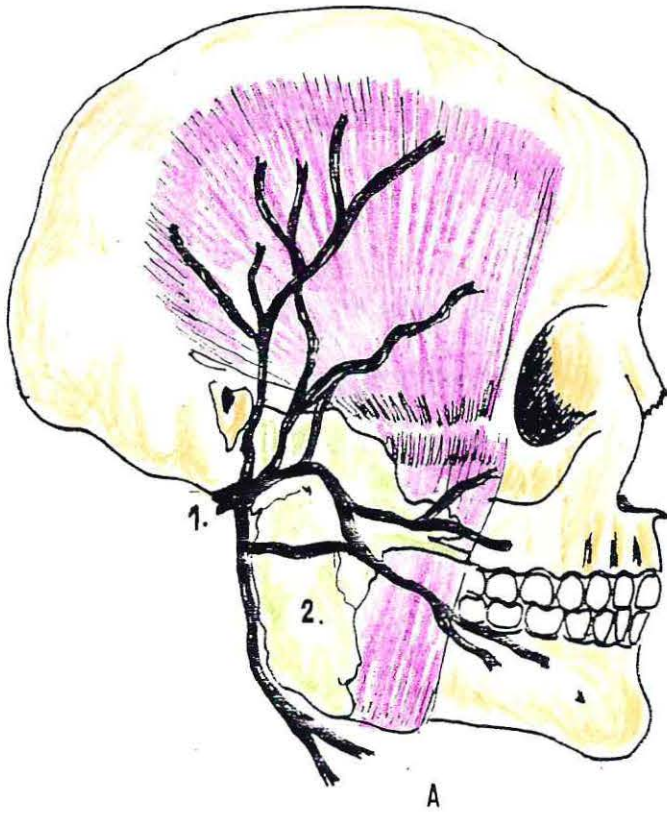
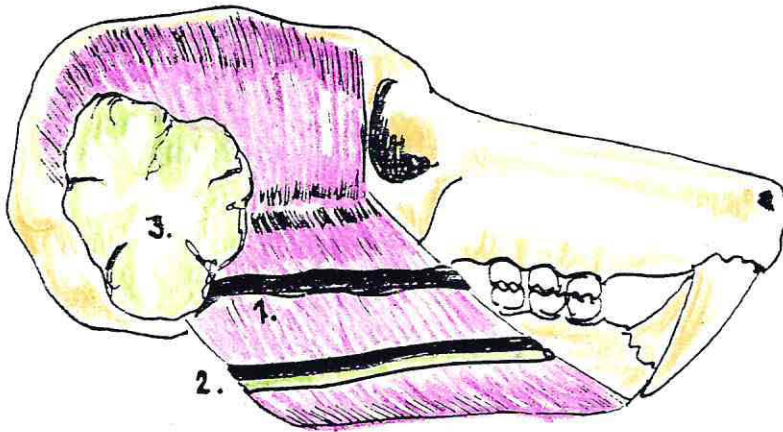


Fig 1 : 3 : A :

- 1 : Porción extrapetrosa del facial.
- 2 : Glándula parótida.



B

Fig 1 : 3 : B :

- 1 : Nervio facial.
- 2 : Nervio facial acompañado de conductos excretores salivales.
- 3 : Glándula lagrimal extraorbitaria.

E) HISTOLOGIA BASICA DE FIBRA MUSCULAR ESTRIADA O VOLUNTARIA.

El músculo estriado o voluntario forma los órganos que conocemos como músculos, cuya contracción mueve el cuerpo.

Son voluntarios porque se contraen por acción del S.N. a voluntad. Sus fibras presentan bandas transversales claras y oscuras, llamadas estrías, que se observan con el microscopio óptico.

El músculo está constituido por fascículos musculares, a su vez el fascículo está constituido por fibras musculares, a su vez, la fibra muscular está formada por Miofibrillas (fig 2 - 1). Todo músculo esquelético se encuentra encerrado en una vaina de tejido conectivo : El Epimisio. A partir de las capas más profundas de esta vaina de tejido conectivo, se originan tabiques denominados PERIMISIO que envuelven cada fascículo muscular o un grupo de éstos. Finalmente, desde el perimisio se extienden hacia el interior pequeñas fibrillas de tejido conectivo, el ENDOMISIO, que rodean a cada fibra muscular.

La distribución variable de las miofibrillas en el sarcoplasma origina imágenes distintas en la sección transversal . Cuando la fibrillas se distribuyen con regularidad, en cuanto a los fascículos, encontramos un punteado fino y uniforme en el corte transversal, ordenadas en imágenes regulares de distribución de fibrillas que corresponden a los campos de COHNHEIM .

Las miofibrillas presentan zonas claras y oscuras, alternadas de modo regular, creándose estriaciones. Las estriaciones son causadas por la diversa densidad que muestran las miofibrillas a lo largo de su recorrido. Estas estriaciones regulares denominadas banda A y banda I (fig 2 -1), deben su definición a investigaciones realizadas con microscopia de luz polarizada.

La banda A o Anisotropa, es claramente birrefringente y aparece brillante en el campo oscuro de un microscopio de polarización porque la sustancia que se encuentra en esta banda se presenta con una orientación definida, produciéndose doble refracción. Por tanto esto indica una disposición molecular regular y geométrica. La tinción oscura de las bandas A en las fibras relajadas se deben a la presencia de filamentos gruesos de Miosina.

La banda I o Isotrópica, es apenas o nada birrefringente, lo que sugiere que las propiedades de la luz son iguales en todas las direcciones y que posee una sustancia con una disposición molecular más al azar. Las bandas I se tiñen de color claro porque sólo contienen filamentos delgados de actina.

Así , en cada miofibrilla hay unidades sucesivas con densidades o propiedades de coloración que se repiten y se denominan SARCOMEROS. El Sarcómero es la porción de una miofibrilla limitada por dos bandas Z sucesivas y constituye la unidad contráctil de la miofibrilla. Cada miofibrilla está formada por miofilamentos de actina y miosina.(fig. 2 - 1 E).

Los filamentos de actina y miosina difieren en sus dimensiones y composición química. Los filamentos más gruesos, Miosina, de 100 \AA de diámetro y $1,5 \text{ Micrón}$ de longitud son paralelos y separados aproximadamente 450 \AA . Estos filamentos ligeramente más gruesos en el centro se adelgazan hacia ambos extremos. Los filamentos de actina, más finos, miden 50 \AA de diámetro y se extienden aproximadamente 1 Micrón en ambas direcciones a partir de la línea Z y de esta manera constituyen la banda I. No se limitan a esta banda, sino que se extienden alguna distancia hacia las bandas A adyacentes. La profundidad a que penetran los extremos de filamentos de Actina en el interior de la banda A varía con el grado de contracción.

La banda H se define como la región central de la banda A, donde penetran los filamentos de Actina.

La línea M, finas conexiones transversas que se alinean en el punto medio de la banda A, dan lugar a una mayor densidad transversal.

La línea Z, es la interrelación de los filamentos de Actina. Los filamentos de Actina que se aproximan a la línea Z desde el lado opuesto no están alineados. (fig. 2 : 1).

ORGANIZACION DEL MUSCULO ESQUELETICO

MUSCULO ESQUELETICO

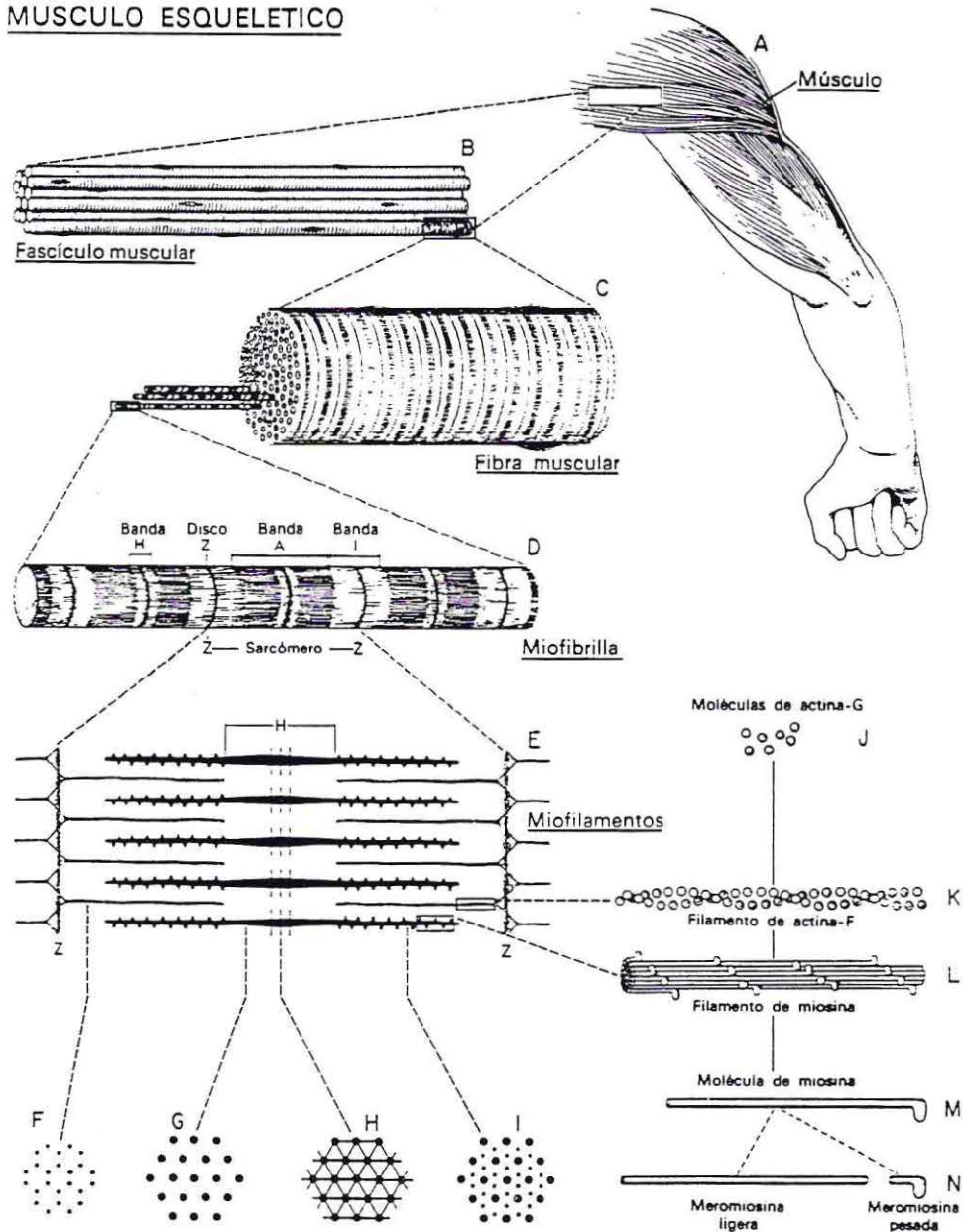


Fig 2 -1 ;

Representación esquemática de la organización del músculo esquelético, desde el nivel macroscópico hasta el nivel molecular ; F , G , H e I son cortes transversales a los niveles señalados (dibujo de Sylvia Colard Keene).(Bloon - Fawcett).

F) ESTRUCTURA FINA DEL SARCOPLASMA.

El sarcoplasma es el citoplasma de la célula muscular y en ella podemos encontrar : el pequeño complejo de Golgi , que se encuentra cerca de muchos de los núcleos y no aparece especialmente activo ; las Mitocondrias abundan en los núcleos y por debajo del sarcolema, además hay un número considerable de ellas situado en estrechas hendiduras entre las miofibrillas ; el retículo Sarcoplasmático, que es un sistema continuo de sarcotúbulos que se extiende por todo el sarcoplasma y forma una tupida red canalicular alrededor de cada miofibrilla. este organelo corresponde al retículo endoplasmático en otros tipos de células, pero en el músculo está en gran manera desprovisto de ribosomas asociados y presenta un patrón repetitivo. Esta altamente especializado y diferenciado localmente presentando una relación constante con las bandas particulares de las miofibrillas estriadas. Los túbulos del retículo situados por encima de las bandas A tienen una orientación predominantemente horizontal, pero se anastomosan libremente en la región de la banda H a intervalos regulares por todo lo largo de las miofibrillas. Los sarcotúbulos longitudinales confluyen con canales orientados transversalmente de mayor calibre llamados CISTERNAS TERMINALES. En aposición estrecha con las cisternas terminales corre un tenue elemento intermedio, el túbulo transverso, llamado comúnmente TUBULO T. Estas tres estructuras transversales asociadas (cisternas terminales y el túbulo T) constituyen las llamadas

TRIADAS DEL MUSCULO ESQUELETICO. La luz del túbulo T no se abre en las cisternas adyacentes. Su membrana limitante se continúa con el sarcolema y su luz se comunica con el espacio extracelular en la superficie celular. (Fig. 2 -2).

RETICULO SARCOPLASMÁTICO

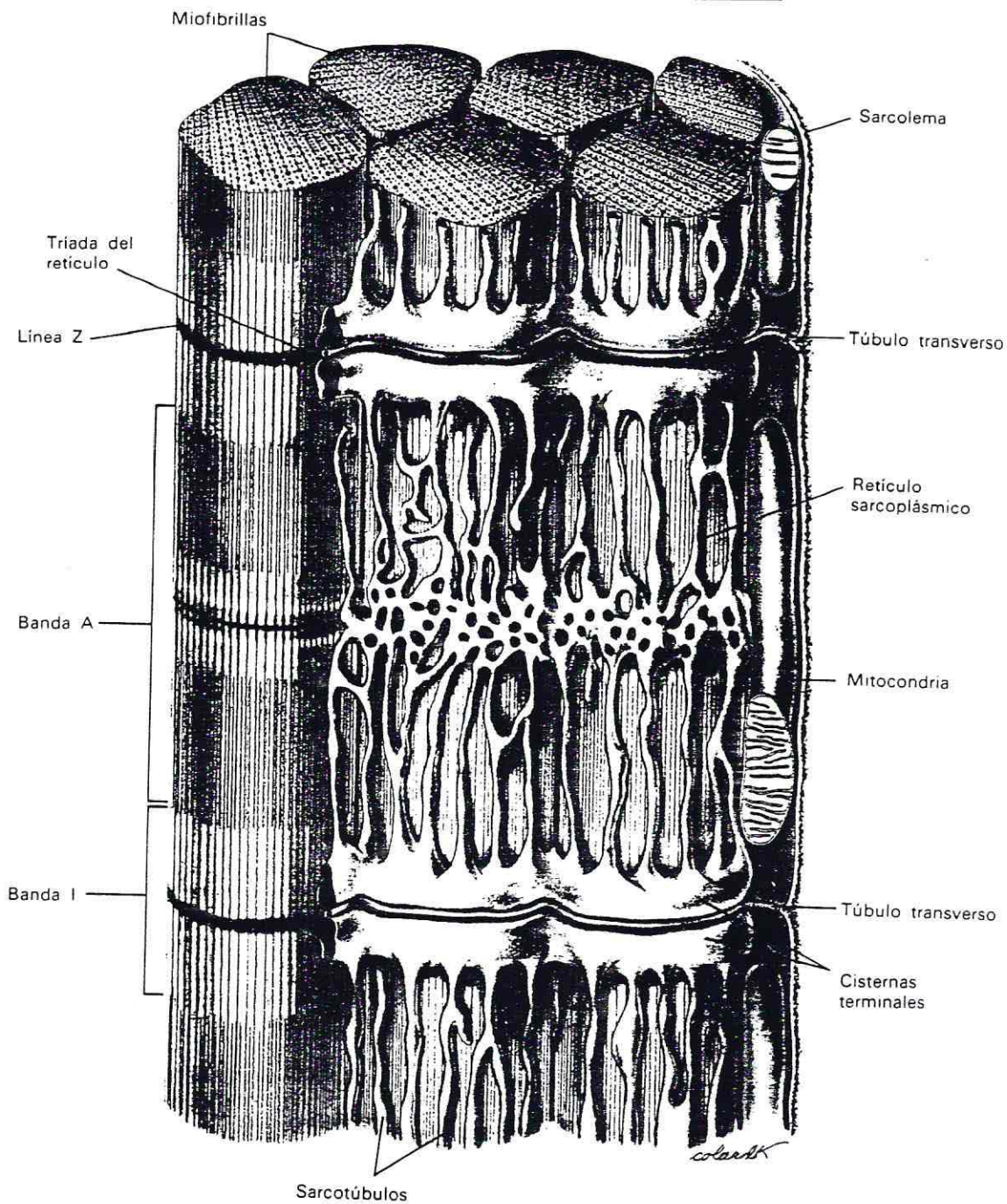


Fig 2-2

Fig 2 - 2 :

Representación esquemática de la distribución del retículo sarcoplasmático alrededor de las miofibrillas del músculo esquelético. Los sarcotubulillos longitudinales confluyen con los elementos transversos llamados cisternas terminales. Un delgado tubulillo transversal (Tubulillo T), que se extiende hacia dentro desde el sarcolema, se haya flanqueado por dos cisternas terminales, formando las llamadas tríadas del retículo. La localización de las tríadas con respecto a las bandas transversales de las miofibrillas varia según la especie animal. En el músculo de rana, aqui representado, las tríadas se hayan a nivel o altura de la banda Z. En el músculo de los mamíferos hay también dos tríadas por cada sarcómero, situadas a nivel de las uniones A-I. (modificado de L.Peachy, J.Cell. Biol, 25 : 209, 1965, de D.W. Fawcett y S. Mc Nutt.)

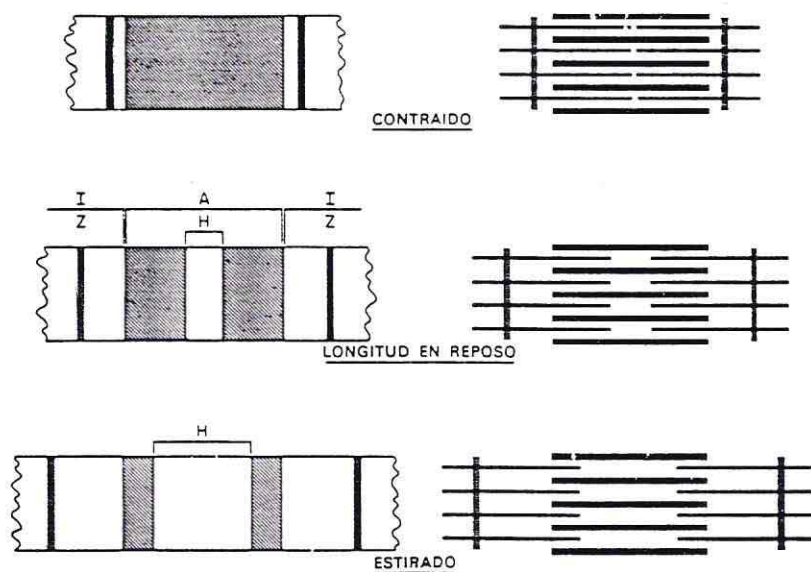
G) TEORIA DE LA CONTRACCION MUSCULAR POR DESLIZAMIENTO DE FILAMENTOS.

Los sarcómeros son las unidades contráctiles de los músculos estriados. Al contraerse estos últimos, los sarcómeros se acortan aproximadamente a la mitad de la longitud que tienen en reposo. El mecanismo por el que se logra esto último se describe a continuación por la teoría de la contracción muscular por deslizamiento de filamento.

Cuando un músculo se contrae, los filamentos finos y gruesos mantienen la misma longitud, pero se deslizan uno sobre otro de manera que los filamentos de Actina se extienden más hacia el interior de la banda A, estrechando y obliterando la banda H e I, produciendo un acortamiento de todas las miofibrillas. Por lo tanto la banda A permanece constante durante la contracción mientras que las longitudes de las bandas H e I. disminuyen (fig. 2 - 3). En cambio, cuando el músculo se extiende, los filamentos finos de Actina se corren hacia afuera de la banda A y entonces la banda H se vuelve más ancha. (Fig. 2 - 3).

FIG. 2 - 3

Representación esquemática de la interpretación actual del aspecto variable de las estriaciones transversales (izquierdo) en las diferentes fases de la contracción, variación que sería el resultado del grado de interdigitación de los filamentos deslizantes (derecha). La banda A tiene una longitud constante, pero el ancho de la banda H es determinado por el grado de penetración de los filamentos delgados de I dentro dentro de la banda A. En el estado de contracción, los filamentos delgados se deslizan más profundamente dentro de la banda A, haciendo que desaparezca la banda H. En el músculo estriado los filamentos finos se corren hacia afuera de la banda A, y entonces la banda H se vuelve más ancha. (Bloom - Fawcett).



ACOPLAMIENTO DE LA EXITACION A LA CONTRACCION

La excitación del sarcolema (membrana celular de la célula muscular) es conducida hacia el interior por las membranas del sistema T, produciendo de alguna manera la liberación de los iones calcio por el retículo sarcoplasmático hacia las miofibrillas, disparando su contracción . Por tanto la fibra muscular se activa a consecuencia de la extensión hacia el interior de un cambio eléctrico de la membrana superficial a lo largo de un sistema de T túbulos. Cuando se ha completado la contracción, el retículo sarcoplasmático recaptura los iones calcio de lo que resulta la relajación. (Bloon - Fawcett)

BASE MOLECULAR DE LA CONTRACCION MUSCULAR.

Unido a la doble Hélice de Actina hay un filamento de TROPOMIOSINA que corre a lo largo del surco entre los dos cordones entrelazados de Actina.(Fig. 2 - 4; C). Esta molécula está formada por dos cadenas polipeptidicas en una configuración Alfa. A intervalos regulares de unos 40 nm a lo largo del filamento de Actina se inserta un complejo molecular llamado TROPONINA (Fig. 2 - 4 ; C) que está constituido por tres sub unidades :

- TnT : Que se une a la Tropomiosina
- TnC : Que tiene un lugar de unión para el calcio
- TnI : Que inhibe la interacción de la Actina y la

Miosina.

La interacción de la Miosina con la Actina es impedida en el músculo en reposo por el bloqueo que ejerce el complejo TROPONINA - TROPOMIOSINA sobre los lugares de unión del filamento de Actina.

La liberación de calcio en el sarcoplasma vecino como respuesta a un impulso nervioso, es seguida por la unión de los iones de calcio a la sub unidad TnC de la Troponina. Esto da por resultado un cambio de configuración del complejo troponina que mueve la Tropomiosina a un lugar más profundo del surco de la Hélice de Actina y

saca al exterior los lugares de enlace de la Miosina en el filamento de Actina. Por esta unión (calcio) se activa la ATPasa en la Miosina con liberación de energía a partir de ATP. El acodamiento activo o el cambio de configuración inducida en las cabezas de Miosina desplaza los filamentos de Actina una pequeña distancia hacia el centro de las bandas A . Esto permite que las cabezas de Miosina con ATPasa se alineen con otro conjunto de sub unidades de Actina para desarrollar un nuevo ciclo de creación y ruptura de puentes intermoleculares. La contracción continúa hasta que finalmente los iones de calcio son secuestrados en el retículo endoplasmático, los complejos Troponina - Tropomiosina cubren de nuevo los lugares de unión de los filamentos de Actina y recuperan el estadio de reposo (Fig. 2 - 4; D - E) (Bloon - Fawcett).

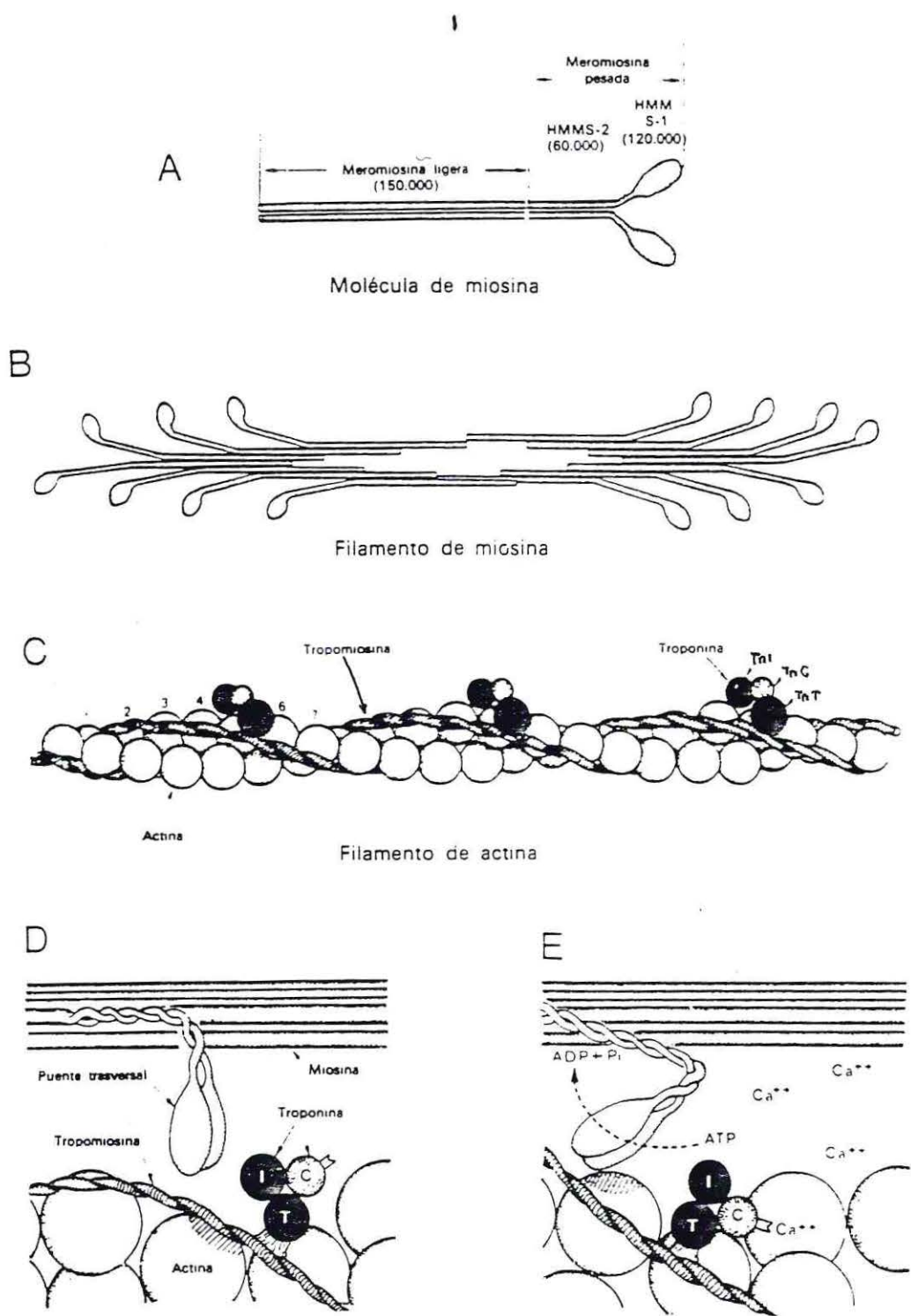


Fig 2-4

FIG 2-4 :

Esquema de la organización molecular de los miofilamentos y de su interacción. A, configuración de una molécula aislada de Miosina y de los fragmentos que se obtienen cuando la molécula es escindida por proteólisis controlada. B, representación esquemática de la disposición antiparalela de las moléculas de Miosina en un filamento grueso. El filamento se ha acortado mucho aquí, por conveniencia de dibujo. C, la configuración del filamento de Actina en doble Helice y de la Tropomiosina y Troponina que la acompañan. (vuelto a dibujar de Junqueira, L.C y J. Carneiro. Basic Histology. Los Altos, CA. Lange Medical Publishers, 1983). D y E, interpretación actual del mecanismo de traslocación del filamento de Actina. La fijación del calcio causa un cambio de configuración del complejo Troponina-Tropomiosina, que pone al descubierto el lugar de enlace de la Miosina con la Actina. Las cabezas de la Miosina, gracias a la energía liberada por el ATP, cambian su ángulo, y mueven el filamento de Actina. (Modificado de Ganong, W.F. En Review of Medical Physiology, 11 ed, Los Altos, Lange Medical Publishers, 1983).

H) HISTOLOGIA BASICA DE LA FIBRA NERVIOSA.

El nervio es un conjunto de fibras nerviosas unidas por tejido conectivo fibroso (epineuro y endoneuro) que contiene vasos sanguíneos de pequeño calibre . (Fig. 2 - 5). La fibra nerviosa se compone de un cilindroeje axón y ciertas envolturas de origen ectodérmico. Todos los axones periféricos están envueltos por una vaina de células de Schwann, que envuelve al cilindroeje casi desde su inicio hasta cerca de su terminación periférica. Los axones periféricos mayores están también envueltos por una vaina de mielina. En el interior de la vaina de Schwann los cilindroejes pequeños de los nervios periféricos carecen de vaina de mielina. Por ello es necesario designar a los cilindroejes como MIELINICOS o AMIELINICOS. (Fig. 2 -6).

Las fibras mielínicas aparecen en fresco como tubos brillantes homogéneos. Esta propiedad refráctil de la mielina es la responsable, como se ha dicho anteriormente, del color blanco de las masas de fibras del cerebro, médula espinal y de numerosos nervios periféricos. Con la tinción vital de azul de metileno y con el método de la plata, el cilindroeje se tiñe de azul, marrón o negro, y la mielina permanece claramente con el microscopio óptico.

La mielina es realmente parte de la célula de Schwann, la cual está formada por capas enrolladas en espiral en su membrana superficial. La vaina de Schwann y la de mielina están interrumpidas a intervalos regulares por los NODULOS DE RANVIER .

Aquí , el cilindroeje está parcialmente descubierto y rodeado sólo de una compleja disposición de prolongaciones de las células de Schwann. Cada segmento internodal de la vaina entre 2 nódulos de Ranvier consecutivos, está compuesto por una célula de Schwann con sus laminillas de mielina. Si un cilindroeje da ramas colaterales, lo hace en un nódulo de Ranvier.

Las células de Schwann son indispensables para la vida y función de los cilindroejes de las fibras periféricas, En la regeneración el cilindroeje crece a partir del muñon central y continúa con el cuerpo celular de la neurona siguiendo el camino formado por las células de Schwann. La vaina de mielina está formada por capas alternativas de lípidos y proteínas y son capas sucesivas de la membrana de la célula de Schwann enrollada en espiral alrededor del cilindroeje. (Bloon - Fawcett).

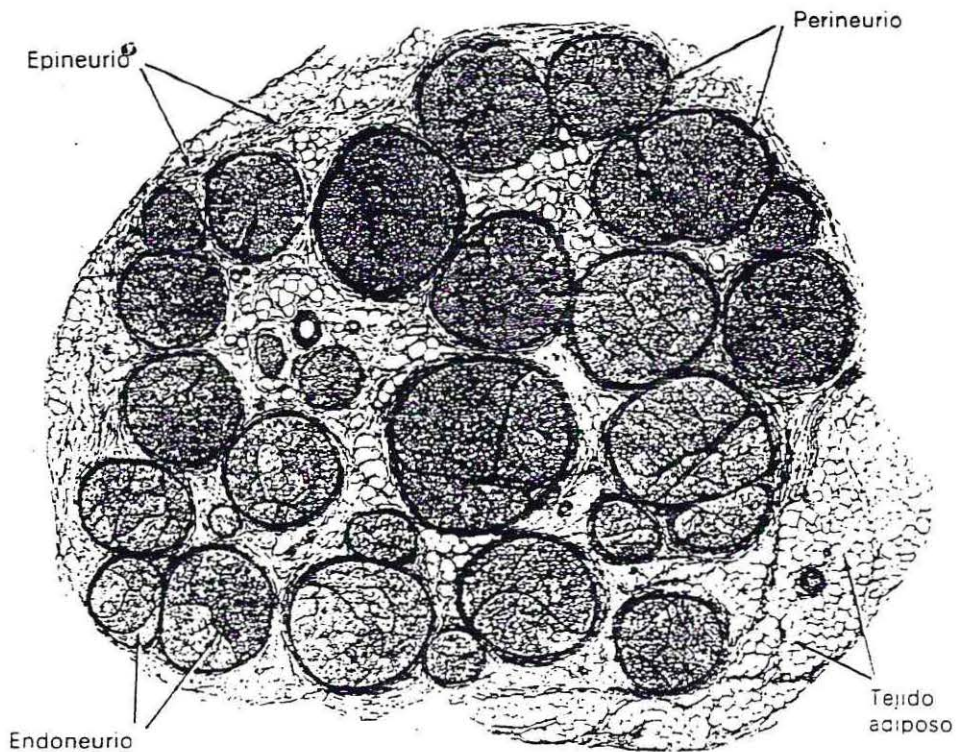


Fig ; 2 - 5 :

Dibujo de una sección transversal histológica de un nervio cubital humano, en pequeña ampliación que ilustra el tejido adiposo perineural, epineuro, perineuro y endoneuro. (De Bargmann, histologie und mikroskopische Anatomie des Menschen, Stuttgart, Georg Thieme, 1959.)

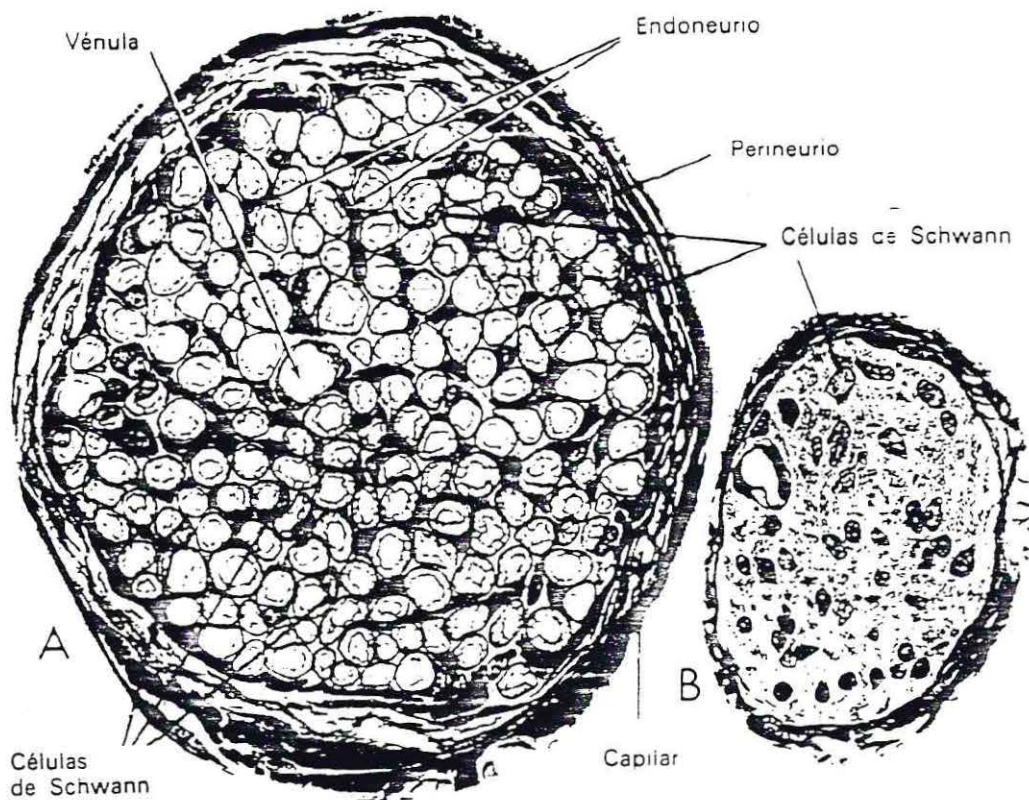


Fig ; 2 - 6, A, Fibra mielínica ; B , Fibra amielínica

I) PLACA MOTORA (UNION MIONEURAL)

Cada fibra muscular estriada voluntaria recibe la inervación de una rama terminal de un axón motor y , por lo tanto, forma parte de una unidad motora. Un término genérico para el sitio en que termina el axón en una fibra muscular, es el de unión neuromuscular o mioneural. Cuando una fibra nerviosa que inerva a una fibra muscular esquelética se acerca a su terminación, pierde su vaina de mielina y se divide en varios botones terminales. (Fig 2 - 7). Los botones terminales poseen muchas vesículas pequeñas que contienen acetilcolina, el transmisor en estas uniones.

Las membranas yuxtapuestas del cilindroeje y de la fibra muscular no se tocan, sino que están separadas en toda su extensión por una capa glicoproteica que se continúa con la capa limitante que reviste la célula de Schwann y el sarcolema. Esta capa se extiende hacia el interior de la hendidura y los estrechos canales formados por la invaginación del sarcolema de la placa terminal! En la unión del nervio y la fibra muscular hay una acumulación de sarcoplasma rico en MITOCONDRIAS y NUCLEOS MUSCULARES. (Fig 2 - 7). Los botones terminales poseen muchas vesículas pequeñas que contienen acetilcolina, el transmisor en éstas uniones.

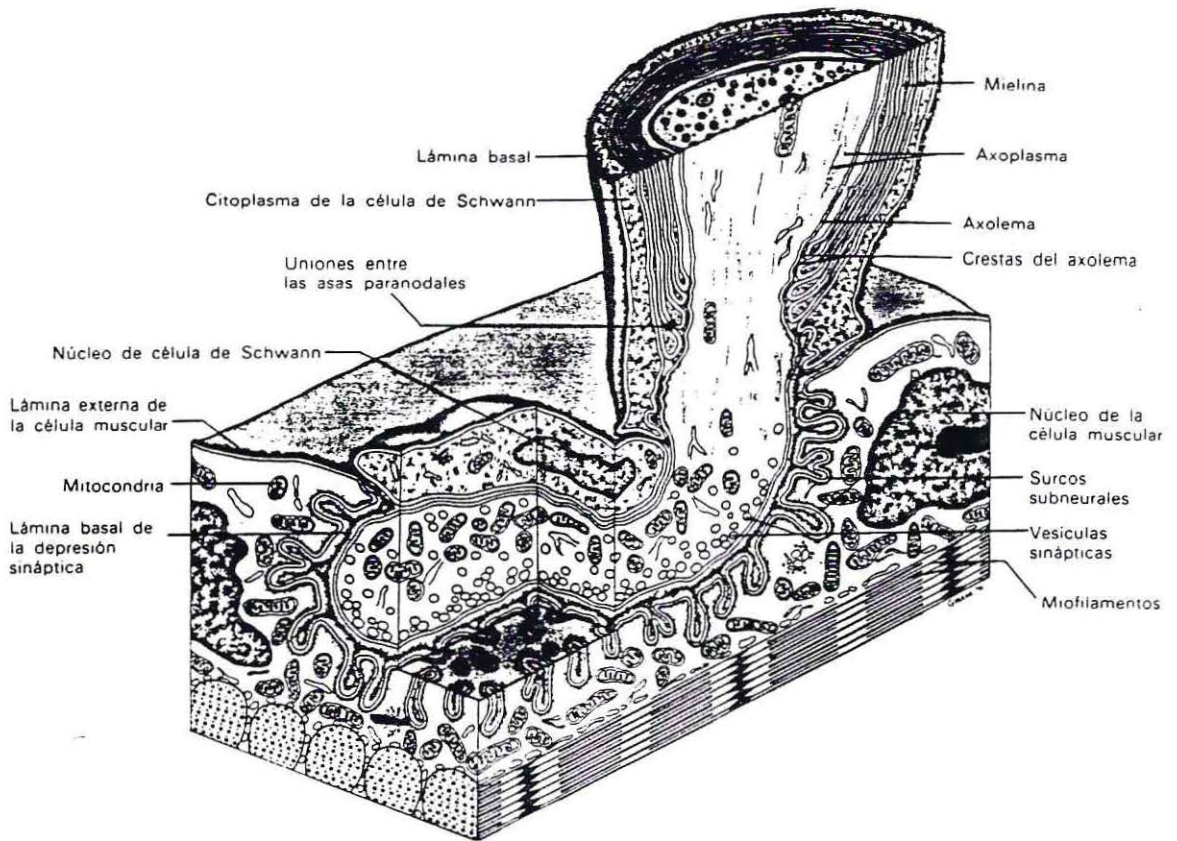


Fig ; 2 - 7 ;

Diagrama de una unión mioneural (placa motora terminal que ilustra una típica sinapsis química en el sistema nervioso periférico. Las sinapsis en el sistema nervioso central tienen algunas características en común con estas, pero se efectúan entre neuronas y no poseen lámina basal ni pliegues postunión. (Cortesía de D. Kent Morest.) (Bloom - Fawcett).

CAPITULO II
MATERIAL Y METODO

A) OBJETIVOS DEL TRABAJO

Objetivos generales :

- Lograr denervación del músculo mesetero de rata de su nervio meseterino y su posterior reinervación através del nervio facial.

- Comprobar mediante técnicas histológicas y fisiológicas la reinervación y por técnicas histológicas la denervación del músculo masetero de rata.

Objetivos específicos :

- Perfeccionar un modelo quirúrgico mediante variaciones introducidas en la técnica de reinervación.

- Obtener cortes histológicos de músculo normal (rata control), músculo reinervado (40 días de reinervación) y músculo denervado.

- Lograr tiempos de tinción histológica adecuados.

B) DISEÑO EXPERIMENTAL

Para este trabajo se emplearon ratas normales de diferente sexo, con un peso que oscilaba entre los 230 grs. y los 570 grs, las cuales se dividieron en tres grupos : ratas normales o controles, ratas denervadas y ratas denervadas / reinervadas.

Los dos últimos grupos fueron sometidos a anestesia general. La denervación de las ratas se efectuó mediante el corte y desgarro del nervio maseterino a nivel de la escotadura sigmoídea (protocolo quirúrgico, puntos 1 al 14, exepcto 9, 10 y 11).

La reinervación se realizó através del implante del cabo proximal del nervio facial seccionado en un lecho practicado en el músculo masetero (protocolo quirúrgico, puntos 1 al 14, etápa intraoperatoria). Se efectuaron variaciones en cuanto a la profundidad del lecho para el implante y en cuanto a la fijación del nervio en el lecho. Esta se realizó en algunos casos con un punto de sutura con Catgut y en otros por simple presión muscular de los labios del " bolsillo " practicado en el músculo.

Considerando la fibrosis consecutiva al implante, el rechazo del nervio desde el lecho de implante y

edema postoperatorio, se obtuvieron mejores resultados cuando el nervio era implantado en forma profunda y sin punto de sutura (protocolo quirúrgico , puntos 1 al 14, etapa intraoperatoria).

Se esperó 40 días aproximadamente a partir del momento de la denervación y de la denervación / reinervación.

Pasados los 40 días, las ratas fueron sometidas a una prueba fisiológica, que consistió en estimular eléctricamente el nervio facial para así obtener respuesta del músculo.

Posteriormente las ratas fueron sacrificadas, obteniéndose cortes de músculo normal, denervado y denervado / reinervado.

Estos se sometieron a diferentes técnicas de tinción histológica para su posterior observación al microscopio de luz e interpretación de resultados.

C) Materiales empleados :

- Ratas de laboratorio con un peso variable entre 230 a 570 gramos.
- Anestesia general (Hidrato de Cloral al 10 %.)
- Suero Fisiológico.
- Formaldehído al 4% (Fijador).
- Bown (Fijador).
- Alcohol 100 grados.
- Xilol.
- Parafina sólida.
- Glicerina.
- Parmount (Bálsamo).
- Hematoxilina de Harris.
- Floxina 1%.
- Acido Fosfotúngstico 5%.
- Azul Toluidina 1%
- Sudan Black B.
- Piridina 50 %.
- Nitrato de Plata 2 %.
- Plata amoniacal.

- Cloruro de Oro al 5/1000.
- Hiposulfito de Sodio.
- Bicloruro de Mercurio.
- Nitrato de Plata 20 %.
- Cloruro de Oro 0,2 %.
- Acido Oxalico.

- Instrumentos usados :

- Micrótopo (Leitz).
- Microscopio de luz (Leitz Wetzlar.)
- Estufa.
- Refrigerador.
- Quimógrafo.
- Estimulador Eléctrico Nervioso.
- Osciloscopio.
- Lupas.
- Transductor de tensión.

- Material de Vidrio :

- Placas de Petri.
- Pipetas.
- Probetas.
- Matraz.
- Mamaderas para las Ratas.
- Porta objetos.
- Cubre objetos.
- Embudos.

D/ FICHA CLINICA EXPERIMENTAL

Fecha :

Identificación :

a.- Sexo :

b.- Peso preoperatorio :

c.- Dosis anestesia calculada según peso :

Detalle de la técnica quirúrgica según protocolo, indicando las variaciones individuales.

Controles post operatorio. (Se controla la hidratación ; alimentación ; herida quirúrgica).

E/ PROTOCOLO QUIRURGICO

I.- Preoperatorio :

1.- Elección de la rata a operar (deben ser ratas normales).

2.- Pesaje de la rata. (sedación).

3.- Adormecimiento de la rata momentáneamente con éter.

4.- Anestesia general con hidrato de cloral al 10 % (333,3 mg / kg. de peso).

La anestesia se coloca en el lado izquierdo, intraperitoneal.(ver anexo foto 1).

5.- Afeitada de la zona geniana a intervenir.Se aplica povidona yodada. (ver anexo fig 3:1).

II.- Intraoperatoria :

1.- Incisión anteroposterior de concavidad superior de 2,5 centímetros en zona meseterina, siguiendo aproximadamente la anatomía del maxilar inferior (borde

posterior de la rama y borde basilar del cuerpo de la mandíbula). La incisión debe ser cutánea (piel más tejido celular sub cutáneo). (ver anexo fig 3:2).

2.- Debridaje (separación entre aponeurosis meseterina y colgajo cutáneo).

3.- Ubicación de estructuras anatómicas importantes (conducto de Stenon, más cerca del borde inferior del músculo ; nervio facial, más cerca de la apófisis cigomática ; glándula lagrimal extraorbitaria, que se encuentra tapando las estructuras anteriores). El conducto y el nervio se encuentran debajo de la aponeurosis meseterina, en contacto con el musculo. (ver anexo fig 3:3).

4.- Corte de la Aponeurosis Meseterina.

5.- Corte a nivel de la apófisis cigomática de la inserción superior del masetero. (se desinserta el músculo). (ver anexo fig 3:4).

6.- Separación del haz superficial del masetero para tener abordaje de la zona profunda y para poder llegar a la escotadura sigmoídea. (ver anexo fig 3:4).

7.- Debridaje de la zona profunda del músculo masetero para producir la denervación (corte del nervio maseterino, que da la inervación al músculo .) (ver anexo fig 3:4).

8.- Colocación en posición del haz superficial del masetero y se sutura con catgut a la apófisis cigomática. (ver anexo fig 3:5).

9.- Corte distal del nervio Facial (en relación al origen del nervio).(ver anexo foto 2 y fig 3:5).

10.- Separación entre el nervio y el músculo (fig 3:5)..

11.- Colocación del cabo proximal del nervio facial en el lecho quirúrgico superficial muscular, y sutura del lecho con catgut. (ver anexo fig 3:6 y 3:7).

12.- Se esparce antibiótico (quinolona, marca comercial Orsanac y Fulgrun 400).(ver anexo foto 3 y fig 3:10).

13.- Cierre del colgajo cutáneo con sutura de seda, con multiples puntos. (punto cirujano simple). (ver anexo foto 4 y fig 3:11).

14.- Aplicación de povidona yodada en la zona de la herida quirúrgica.

* Variación de la técnica quirúrgica :

11.- Colocación del cabo proximal del nervio en un lecho profundo, sin sutura. (ver anexo fig 3:8 y 3:9).

III.- Postoperatorio :

1.-Inmediato : Aplicación de luz artificial
(calor)

2.- Mediato : Controles a las 24, 48, 72 horas, a la semana, a los 15 días, al mes , controlando la hidratación y el peso.

F/ PROTOCOLO FISIOLÓGICO

Pasados 40 días de producido el implante, la rata se anestesia con hidrato de cloral y se somete nuevamente a cirugía donde se implantan dos electrodos de estimulación de AgAgCl (Ver anexo foto 5 y 7), vía unidad aisladora de estímulo Grass modelo S.I.U 5 , conectado a un estimulador electrofisiológico Phipps and Bird modelo 611 y se administraron (vía nervio facial) estímulos de 0,1 a 10 volts., con 1 msg. de duración , de 1 a 25 Hz. (Ver anexo foto 8).

El registro de impulsos nerviosos se logró mediante electrodos de AgAgCl conectados diferencialmente a un osciloscopio Tektronix Inc. modelo 5031 y en pantalla se observaron los impulsos nerviosos (Ver anexo foto 6).

El registro de tensión se realizó mediante un transductor BIDOM modelo 1030 acoplado a un amplificador MP conectado a un polígrafo Gilson Inc. de 8 canales (Ver anexo foto 8).

G/ PROTOCOLO DE PERFUSION

Fecha :

Peso final de la rata :

Anestesia general con hidrato de cloral al 10 %.

Técnica :

1.- Incisión abdominal y torácica en la línea media cortando la parrilla costal.

2.- Se introduce la punta de una aguja en el vértice del corazón (esta aguja está conectada a dos sistemas, uno que contiene solución lavadora y otro que contiene solución fijadora.)

3.- Se abre el paso de solución lavadora y en seguida se rompe la aurícula izquierda, se perfunde con solución lavadora unos 100 cc. aproximadamente. Luego se perfunde con solución fijadora (formaldehído al 4 %) unos 100 a 150 cc.

4.- Enseguida se decapita la rata y la cabeza se refrigera en espera de la utilización de los tejidos fijados.

Preparación del Formaldehído al 4 %

1.- Deshidrogenato fosfato de sodio --
 $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ----> se pesan 35,8 gramos + 800 ml. de agua
destilada -----> solución A.

2.- Deshidrogenato fosfato de sodio
($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$)-- 200 ml. -----> solución B.

Solución A + Solución B = Solución Buffer.

Formaldehído 35 %, se sacan 40 ml y se
disuelven en 1.000 cc. de Buffer y se obtiene formaldehído al 4 %.

H) PROTOCOLO HISTOLOGICO.

FIJADORES HISTOLOGICOS.

I. Fijación : (del tejido).

a.- Perfusión (al corazón o al sistema circulatorio) se utiliza para estudios topográficos o de metabolismo.

b.- Inmersión (dejar el tejido inmerso dentro de un fijador), ej. Biopsias.

La fijación preserva el tejido deteniendo los procesos vitales.

Condiciones :

a.- Presión osmótica igual al tejido.

b.- PH igual al tejido.

- c.- Temperatura de acción (fundamental).
- d.- Tiempo que demora en llegar a la célula.
- e.- Tamaño de la muestra.

Propiedades del Fijador :

- a.- Soluble en el medio extracelular de la célula.
- b.- Efectos útiles para la célula o el medio que se quiere fijar.

El fijador a utilizar, dependerá de lo que se quiera fijar ej. cuando se desea estudiar proteínas se utiliza el fijador Bown.

II. Lavado y Deshidratación

Siempre se lava con el disolvente del fijador para arrastrar el resto del fijador, ej. para el Bown se usa alcohol de 70.

III. Embebido o Inclusión

Depende de :

- Tipo de corte histológico (uso de diferentes cuchillos).
- Grado de impregnación (dureza del bloque).

Los medios de inclusión deben dar fragilidad, transparencia, consistencia.

Medios de Inclusión

- Parafina : Cortes de 7 a 10 micrones.

- Gelatina (coloide) a temperatura ambiente es líquida, a menor temperatura se solidifica, da cortes de 30 a 100 micrones (transparentes).

- Congelación : - 4 a -20 grados C. (microscopio de luz) . - 200 grados C. (crio corrosión se usa para neurotransmisores, enzimas.

- Resinas sintéticas : ej. Epon, araldina polimerizan a 60 grados C, y permite cortes de 600 A, no alteran la morfología celular.

IV. Montaje y Cortes.

V. Tinción

a.- Tinciones histológicas.

b.- Tinciones histoquímicas.

a.- Tinciones Histológicas :

Se puede teñir en cortes o en bloques. Se basa en el sistema ácido - acidofilia ; base - basofilia (habrían mordientes que favorecían la tinción.)

1.- Hematoxilina/Floxina (alcohólica)
eosina (ácida)

La Hematoxilina es un colorante básico (tiñe el núcleo y el nucleolo de color morado). La Floxina o eosina tiñen estructuras básicas, ej. proteínas, organelos celulares de color rosado o naranja.

- Azul de metilo-cresol violeta (para tejido nervioso).

2.- Impregnaciones Metálicas : (metal pesado)

Se depositan sobre los tejidos o células.

- Tetróxido de Osmio (microscopio electrónico, estabiliza lípidos).
- Cloruro de Oro.

- Nitrato de Plata.

- Carbonato de Plata.

- Cloruro de Mercurio (se usa para tejido nervioso). La neurona tiene selectividad por las sales de Plata y Mercurio.

b.- Tinciones Histoquímicas :

Quando se quiere preservar moléculas específicas :

- Lípidos.
- Proteínas.
- Hidratos de Carbono.

Se emplean colorantes que sean solubles en esas moléculas ; en caso de enzimas se emplea un sustrato.

También se usan colorantes con grupos cromóforos.

Se deben establecer condiciones de trabajo como PH, temperatura.

- Inmunohistoquímicas : (Ag - Ac) Se precipita el complejo con colorantes.

- Marcadores Radiactivos: Se sigue el camino metabólico.

PROCESOS HISTOLOGICOS DE USO CORRIENTE

1.- Fijación : Formol 4 %.
Bown.

2.- Lavado : Formol, con agua destilada.
Bown, con alcohol de 70.

3.- Deshidratación e Inclusión :

Alcohol de 70.....30 minutos.
Alcohol de 95.....30 minutos.
Alcohol de 100 I.....30 minutos.
Alcohol de 100 II.....30 minutos.
Xilol I..... 5 minutos.
Xilol II.....5 minutos.
Aceite de Cedro..... Toda la noche.
Xilol I5 minutos.
Xilol II.....5 minutos.
Xilol : Parafina (1:1).....30 minutos.
Parafina I.....60 minutos.
Parafina II.....60 minutos.

Parafina III.....60 minutos.

Confección de taco, con Parafina de inclusión o Parafina III, que luego se deja en refrigeración.

4.- Cortes :

Se usa el Micrótopo calibrado para 7 u 8 Micrones, en general , dependiendo del tipo de corte que se quiera realizar será el tipo de inclusión usada. En este caso se quieren obtener cortes de 7 u 8 Micrones, por lo cual se usó parafina sólida como medio de inclusión.

5.- Montaje :

Obtenidos los cortes, se meten en un baño de agua tibia (45 ° grados) para que la parafina se estire y poder colocarlos en el porta objeto, el cual debe haber sido lavado , primero con agua corriente y luego con Xilol. Luego se secan y se les coloca una capa de Albúmina que servirá de pegamento para el corte. Una vez montados se colocan en la estufa para el secado toda la noche.

6.- Desparafinación :

Xilol I.....5 minutos.

Xilol II.....5 minutos.

7.- Hidratación :

Alcohol 100.....5 minutos.

Alcohol 95.....5 minutos.

Alcohol 70.....5 minutos.

Agua destilada.

En este momento los cortes se encuentran listos para ser teñidos por métodos básicos.

Hematoxilina/Floxina :

Hematoxilina de Harris.....5 minutos.

Agua destilada.....1 minuto.

Agua corriente.....15 minutos.

Agua destilada.....Rápida.

Alcohol 70.....5 minutos.

Alcohol 80.....5 minutos.

Alcohol 95 I5 minutos.
 Alcohol 95 II.....5 minutos.
 Alcohol 100 I.....5 minutos.
 Alcohol 100 II.....5 minutos.
 Tinción con Floxina.....1 minuto.
 Alcohol 100 I.....30 segundos.
 Alcohol 100 II.....30 segundos.

Tinción Básica :

El núcleo queda teñido de un color morado y el citoplasma color naranja.

Diafanización :

Xilol I.....5 minutos.
 Xilol II.....5 minutos

Luego se seca con un paño limpio con mucho cuidado, para no dañar la preparación, y se coloca el bálsamo Parmount sobre las muestras y se cubre con un " Cubre Objeto " , teniendo cuidado de no incorporar burbujas a la muestra . En seguida se colocan en la estufa para su posterior secado (una noche).

(Manual of Histologic and Special staining
Technics ,1949.)

Tinción Sudan Black B :

Desparafinación igual que para la Tinción
Hematoxilina/Floxina. (Xilol I y Xilol II).

Alcohol 100.....2 minutos.

Alcohol 702 minutos.

Sudan Black B.....2 minutos.

Lavados rápidos con alcoholes de 70 .

Secado al aire.

Glicerina (montaje).

Colocación del Cubre Objeto.

Estufa para el secado final.

Tinción específica para tejido nervioso.

**Resultados : Tejido nervioso , negro ,azul, o azul negro
(mielina).**

(A Manual for histologic Technicians by ann
Preece ,1959.)

(Manual of histologic and Special staining Technics ,
1959.)

Tinción Tricrómico : (Hematoxilina ; Floxina ; Azul de
Metilo).(Modificación de la técnica de Masson .)(AZAN)

Fijación.

Desparafinación.

Hidratación

Hematoxilina de Harris5 minutos.

Agua de la llave.....15 minutos.

Agua destilada.....1 baño.

Alcohol 70.....5 minutos.

Alcohol 80.....5 minutos.

Alcohol 95 I5 minutos.

Alcohol 95 II.....5 minutos.

Alcohol 100 I.....5 minutos.

Alcohol 100 II.....5 minutos.

Floxina.....15 minutos.

Alcohol 100 I30 segundos.

Alcohol 100 II.....30 segundos.

Acido Fosfotúngstico.....5 minutos.

Agua destilada.....1 baño.

Azul de metileno.....5 minutos .
Agua destilada1 baño.
Alcohol 95 I1 baño.
Alcohol 95 II.....1 minuto.
Alcohol 100 I.....5 minutos.
Alcohol 100 II.....5 minutos
Xilol I5 minutos
Xilol II.....5 minutos

Luego se seca, se coloca bálsamo Parmount y el cubre objeto.

Resultados : Núcleos de color violeta oscuro, citoplasma rosado-violeta, fibras reticulares y colágeno azul intenso.

(A Manual for Histologic Technicians by ann Preece Elementi di técnica microscopica de Nello Beccari).

Tinción Tetroxido de Osmio y Giensa :

Paso previo por Tetróxido de Osmio 0,5 % en Buffer Fosfato.

Lavado en Buffer Fosfato.

Tinción con Giensa 10 a 15 minutos.

Resultados : Tejido nervioso negro (mielina), otras estructuras amarillas a café .

Tinción específica para tejido nervioso

(Manual of Histologic and Special Staining technics, 2a edición ,1949).

Tinción de Holmes :(Tinción específica para tejido nervioso)

Soluciones :

- 1.- Acido Bórico.....12,4 grs.
- Agua destilada.....1.000 cc.

más

- Bórax.....19 grs.
- Agua destilada.....1.000 cc.

Se forma así la Solución Buffer.

2.- Reductor :

- Hidroquinona.....01 gramo.
- Sulfito de Sodio (cristal).....10 gramos.
- Agua destilada.....100 cc

3.- Nitrato de Plata al 20 % en agua destilada.

4.- Nitrato de Plata al 1 % en Agua destilada.

5.- Cloruro de Oro al 0,2 % en Agua destilada.

6.- Acido Oxálico al 2 % en Agua destilada.

7.- Tiosulfato de Sodio (Hiposulfito) al 5 % en Agua destilada.

8.- Piridina 10 cc , más Agua destilada 100 cc .

Técnica :

Cortes montados en parafina y fijados en formol salino o formol sublimado.

a.- Desparafinar e hidratar hasta agua destilada.

b.- Colocar en solución de AgNO_3 al 20 % en la oscuridad y a temperatura ambiente por 2 horas (hasta 24 horas), la solución puede usarse repetidamente.

c.- Sacar los preparados de la solución de Nitrato de Plata al 20 % y lavarlos por 10 minutos en tres baños de agua destilada.

d.- Colocar en solución Buffer recién preparado en un frasco tapado, de manera que permanezca limpio. La solución debe usarse abundantemente (no menos de 20 cc por cada preparado) y a 37 grados C. Los preparados deberán permanecer en la solución impregnante por tiempo variable hasta el día siguiente.

Preparación de la Solución Impregnante :

Tomar 55 cc de la solución de Acido Bórico y 45 cc. de la solución de Bórax, agregar agua destilada hasta completar 494 cc. Con una pipeta agregar un cc. de solución de Nitrato de Plata al 1 % y con otra pipeta 5 cc de la solución de Piridina. Mezclar correctamente. **Esta solución impregnante deberá usarse sólo una vez.**

e.- Verter el exceso de solución Buffer y sin lavar colocar en el baño reductor por lo menos 2 minutos, idealmente 15 , pudiendo ir de 15 a

30 minutos. Mejor resultado se consigue si el reductor es calentado a 25 grados C.

f.- Lavar en Agua corriente por 3 minutos (eliminar bien el reductor). Enjuagar en agua destilada, en donde los cortes pueden permanecer sin peligro.

g.- Virar la solución de Cloruro de Oro (Amarillo) durante 3 minutos. El viraje puede prolongarse si los preparados permanecen de tonalidad café pasados los 3 minutos.

h.- Lavar brevemente en agua destilada.

i.- Colocar en la solución de Acido Oxálico durante 10 a 15 minutos (no dejar mucho tiempo, pues el contraste baja) . Examinar al microscopio hasta que los Axones destaquen de color azul negro. Si la diferenciación se lleva al máximo, se corre el riesgo de disminuir el contraste.

j.- Enjuagar en agua destilada y pasar a solución de Tiosulfato de Sodio por 5 minutos.

k.- Lavar en agua corriente por 10 minutos y enjuagar en agua destilada.

L.- Secado .

M.- Montaje con Parmount.

(Histologicas Technique by H.M. Carleton).

Tinción de Bielschoswsky : (Tinción específica para tejido nervioso).

Se prepara una solución de Plata Amoniacal de la siguiente manera :

En una Probeta :

Nitrato de Plata 10 % 5cc.

Hidróxido de sodio 10 % 5 gotas.

Obteniéndose un precipitado el cual se lava en agua destilada 2 veces. Luego el precipitado, se disuelve en una

solución de Amoníaco al 5 %, gota a gota, hasta que se disuelva (sin pasarse). Las muestras se fijan en formol al 4 % (de preferencia los cortes se obtienen por congelación) de 20 micrones, pero también se usan en parafina. Las muestras se lavan en agua destilada (Desparafinación e Hidratación hasta agua destilada). Las muestras se llevan a una solución de Piridina al 50 % por 24 horas.

Luego se llevan a la solución de Nitrato de Plata al 2 % por 2 días.

Se lavan en agua corriente.

Se llevan a la solución de Plata Amoniacal.

Se lavan en agua corriente.

Se llevan las muestras a la solución reductora de formol al 10 % por 5 minutos aproximadamente (se obtendrá un color negro).

Se lavan las muestras en agua destilada.

Se llevan las muestras a la solución de Cloruro de Oro al 5/1.000 por 10 minutos.

Se llevan las muestras a la solución fijadora de Hiposulfito de Sodio al 5 % por 10 minutos.

Deshidratación (igual que Tinción Hematoxilina/Floxina).

Diafanización.

Montaje.

Resultados : Tejido nervioso color negro
(mielina).

(Histologicas Technique by H.M. Carleton.,
1957).

)

CAPITULO III

**RESULTADOS, CONCLUSIONES
Y DISCUSION**

A) RESULTADOS HISTOLOGICOS

1). MUSCULO MASETERO NORMAL.

El músculo está constituido por fibras musculares de tamaño y diámetro uniforme, con muy escaso tejido conjuntivo interpuesto entre ellas, que se agrupan ordenadamente formando fascículos regulares en cuanto al número de fibras , pero que corren en distintas direcciones.

En el centro de algunas preparaciones destaca una estructura formada por fibras nerviosas envueltas en tejido conjuntivo fibroso, que corresponde al corte del nervio maseterino.(ver anexo fotos 9 y 10).

2). HISTOLOGIA BASICA DE NERVIO FACIAL DE RATA.

Este nervio es de mayor calibre que el nervio maseterino. En condiciones normales está formado por un paquete de fibras nerviosas orientadas en una misma dirección .(ver anexo foto 11). En un corte longitudinal se observan dos o tres filetes colaterales, todo esto rodeado de abundante tejido conjuntivo denso. Se aprecian en el interior del nervio, múltiples fibras con sus respectivas envolturas de vainas de mielina (ver anexo foto 12). La totalidad de los fascículos se encuentran limitados por el perineuro.

3). MUSCULO MASETERO DENERVADO

Macroscópicamente se pudo observar una notoria atrofia muscular (disminución de la masa muscular) en el momento de obtener las muestras del tejido, lo que se confirma con la observaciones histológicas.

La disposición de las fibras musculares es más dispersa comparada con la del músculo normal. No se aprecia el EPIMISIO comparado con el músculo normal, lo que hace que las fibras musculares se separen, teniendo una imagen regular en cuanto a su disposición y sentido. No se observan campos de COHNHEIM. También se observa la disminución del PERIMISIO, no habiendo fascículos musculares como en el normal.

Se observa el sarcoplasma vacío, desaparece la estructura fibrilar del sarcoplasma, consecuente con un músculo denervado o atrófico (ver anexo foto 13).

4) MUSCULO MASETERO REINERVADO EN FORMA PROFUNDA, SIN SUTURA.

Macroscópicamente se observó una zona limpia en relación al implante donde se ve claramente la entrada del nervio facial al músculo masetero (ver anexo foto 14)

A la observación microscópica se ven tres zonas claramente distinguibles:

- zona A : Esta contiene fibras musculares regularmente ordenadas en fascículos, cortadas en distintas direcciones con escaso tejido conjuntivo intersticial. (ver anexo foto 15)

- zona B : En ésta se pueden observar fibras musculares agrupadas en fascículos musculares no tan ordenadamente dispuestos como en la zona anteriormente descrita. Estos fascículos estan delimitados por mayor cantidad de tejido conjuntivo, el que en algunas zonas parece incluso separar fibras individuales dentro de un mismo fascículo. (ver anexo foto 15).

- zona C : En esta zona de implante nervioso se aprecia la presencia de un tronco nervioso central de mayor calibre, el cual tiene a su alrededor tres o cuatro filetes nerviosos de menor grosor (nervio reinervante) y uno o dos

vasos sanguíneos. Todos estos elementos atraviesan la masa muscular formando un paquete vasculo nervioso, y están separados entre sí por gran cantidad de tejido conjuntivo fibroblastos y macrófagos. A medida que nos alejamos del paquete vasculo nervioso, el tejido conjuntivo, comienza a introducirse entre la masa muscular disponiéndose entre los fascículos y las fibras musculares. (ver anexo fotos 15 y 16).

C

5) MUSCULO MASETERO REINERVADO EN FORMA SUPERFICIAL Y CON SUTURA

Macroscópicamente se observa una extensa zona aparentemente fibrosada en relación al implante, la que no se encontró en el implante profundo sin sutura.

Histológicamente se observa una zona de fibrosis que se proyecta hacia el interior del músculo, desorganizándolo. En el interior de esta fibrosis se observan cortes del nervio implantado, junto a algunos brotes colaterales. En cuanto a la disposición de los haces musculares, estos se notan desorganizados pero con fibras musculares de tamaño uniforme. (ver anexo fotos 17 y 18).

B) RESULTADOS FISIOLÓGICOS

1.-La figura 4:1 muestra la respuesta de tensión del músculo masetero inducida por estimulación eléctrica del nervio facial.

2.-Los resultados obtenidos corresponden al registro de tensión muscular en ratas, cuyo músculo masetero fue denervado de su nervio maseterino y reinervado por el facial 40 días antes.

3.-Con estímulos inferiores a 0,2 v de intensidad no se aprecian cambios de tensión basal significativos, y a 0,7 v se obtiene una respuesta máxima de tensión.(fig 4:1).

4.-La figura 4:2;A muestra la ausencia de respuesta de tensión del músculo masetero, luego de haber seccionado el nervio facial e introducirlo en su lecho de implante, ante la estimulación eléctrica de hasta 10 v, de 1 segundo de duración y 25 Hz.

5.-A una intensidad del estímulo de 0,7 v, se modificó en progresión creciente la frecuencia de estimulación neural, con el fin de correlacionar la calidad de la sinapsis neuromuscular (fig 4:2; B-C-D y E).

6.-La figura 4:2 muestra la respuesta de tensión en función de la frecuencia de estimulación. En 4:2;B se muestran sacudidas musculares a 4 Hz; en 4:2;C a 8 Hz, en 4:2;D a 12 Hz y tétano incompleto a 24 Hz en 4:2;E. En estas figuras, el incremento de la frecuencia de estimulación indujo aumentos en la magnitud de la contracción muscular.

C) CONCLUSION Y DISCUSION HISTOLOGICA.

1.- Al denervar el músculo masetero de rata y reinervarlo con la técnica operatoria descrita, se logra una implantación, apoyada por comprobaciones histológicas y funcionales. Sin embargo no se logró comprobar la magnitud de la funcionalidad recuperada por el músculo, situación que se podrá evaluar mediante otros test funcionales.

2.- La implantación profunda del nervio facial da mejores resultados que la implantación superficial. En este último caso el tejido fibroso del epimisio parece dificultar el avance de los filetes nerviosos.

Cabe mencionar que fisiológicamente no se logró establecer si había diferencia de eficacia entre un modelo de implantación quirúrgica profunda sin sutura con respecto a un modelo de implantación quirúrgica superficial con sutura.

3.- La denervación muscular se evidencia histológicamente por una desaparición del epimisio y disminución del perimisio, lo que hace que las fibras musculares se separen resultando una estructura más desorganizada de los fascículos.

La desaparición del elemento fibrilar del sarcoplasma es un hecho que nos permite elucubrar respecto de una disminución de la función muscular, consecuente a la denervación o atrofia morfofuncional del músculo.

4.- Conforme al tiempo de implantación del músculo reinervado (40 días) se pudo observar que histológicamente el músculo reinervado presenta diferentes zonas. Algunas zonas con características de músculo normal, otras con características de músculo denervado y otra zona donde aparece el nervio implantado con abundante tejido conjuntivo que se insinúa a las zonas antes descritas. Se podría esperar entonces que , a un tiempo de implante mayor, la histología se hiciese más homogénea y uniforme en cuanto a las características de un músculo mas próximo al normal.

5.-No se pudo deducir conclusiones con respecto al tipo y número de fibras musculares involucradas en la experiencia, reservándose esta comprobación para estudios histológicos e histoquímicos posteriores.

6.- Las respuestas musculares obtenidas en las pruebas fisiológicas reflejan que el nervio facial a los 40 días de

implantación presenta un proceso de reinervación bastante exitoso . La estimulación del nervio facial inmediata al proceso quirúrgico de reinervación no produce respuesta en el músculo masetero .

El protocolo de estimulación utilizado permitió dilucidar algunos aspectos de la calidad de la nueva sinapsis. A voltajes supramáximos de estimulación en el nervio (0,7 V.), aumentos en la frecuencia de estimulación inducían respuestas musculares capaces de seguir dicha frecuencia , lo que significa el desarrollo de algunas sinapsis funcionales.

7.- Otro aspecto relevante de este trabajo es que existía la posibilidad de que el estímulo eléctrico aplicado estuviese llegando directamente al músculo, saltándose el nervio. Al respecto, en presencia de bloqueo anódico, pudimos comprobar que el tamaño de la respuesta inducida disminuía ostensiblemente, lo que hace suponer que la estimulación eléctrica en el nervio desarrollaba impulsos nerviosos que se propagaron al terminal axónico.

8.- Si bien la magnitud de la contracción se expresa en rangos de tensión por el masetero, es importante señalar que estímulos de gran magnitud eran capaces, no sólo de

inducir una respuesta en el masetero, sino además involucrar a toda la musculatura facial .

9.- Todas las ratas tratadas con nuestra técnica fueron exitosas.

10.-El modelo quirúrgico llevado a cabo fue de gran utilidad, pues permitió establecer la anatomía e histología normal de la región estudiada (región maseterina y zonas adyacentes). Además de introducir después variaciones en la técnica quirúrgica, se consiguió perfeccionar y obtener un modelo de implantación más adecuado.

Creemos, en virtud de los resultados obtenidos en el presente trabajo, que están sentadas las bases para planificar y proyectar estudios más específicos y de mejores aplicaciones en el campo de la reinervación quirúrgica.

11.-Cabe destacar que en todas las condiciones experimentales, tanto a nivel de músculo como de nervio, el tejido conjuntivo (endomisio, perimisio, endoneuro) juega un rol importante en la correlación de estructuras y en el crecimiento del implante.

Los factores de crecimiento (NCF) tanto neural, como conjuntivo debe tener un papel importante junto al crecimiento del colágeno asociado selectivamente a la fibra nerviosa o muscular.

anexos

Foto 1



Foto 2

Foto 3

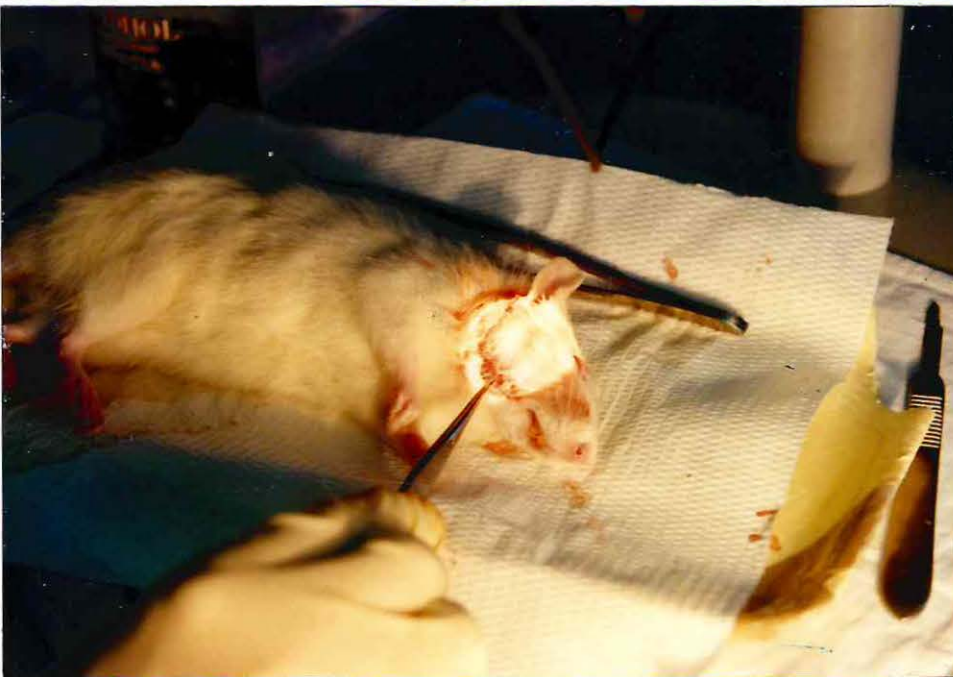
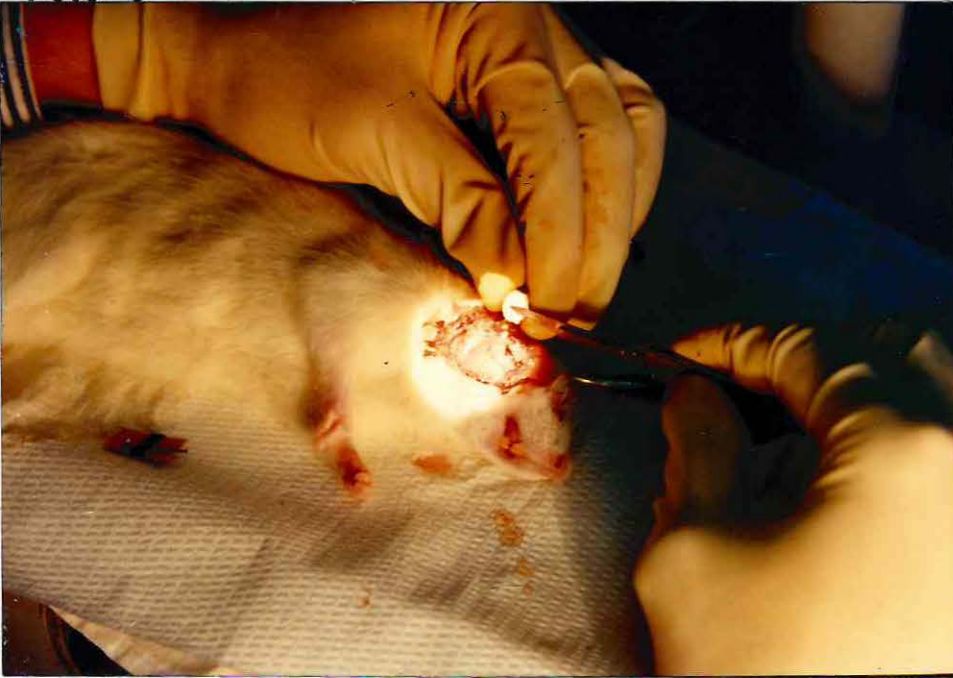


Foto 4

Fig 3:1 :

Afeitada de la zona a intervenir y se aplica povidona yodada sobre superficie cutánea.

Fig 3:2 :

Incisión cutánea, siguiendo borde posterior de rama y borde basilar de mandíbula.

Fig 3:3 :

Colgajo levantado y desplazado hacia afuera ,se observa ; 1 glándula lagrimal extraorbitaria. 2 nervio facial. 3 conducto excretor salival acompañado de una rama del nervio facial.

Fig 3:4 :

Incisión en sentido antero pósterior por debajo del arco cigomático, hasta llegar a escotadura sigmoídea y encontrar el nervio maseterino, para cortarlo, cauterizar y lograr la denervación del músculo masetero.

Fig 3:5 :

Sutura con catgut de la insición anterior y corte del nervio facial del cabo distal, se despeja y se desplaza hacia atras.

Fig 3:6 :

Se prepara lecho quirúrgico superficial para recibir nervio facial.

Fig 3:7 :

Se implanta nervio facial y se sutura con catgut la incisión del lecho quirúrgico.

Fig 3:8 :

Variación de la técnica quirúrgica ,se prepara un lecho quirúrgico profundo para recibir nervio facial.

Fig 3:9 :

Se implanta nervio facial en lecho quirúrgico sin suturar labios de la incisión.

Fig 3:10 :

Aplicación de antibiótico en polvo sobre superficie operada.

Fig 3:11 :

Reubicación de colgajo y se sutura con seda, se aplica povidona yodada.

Fig 3:1

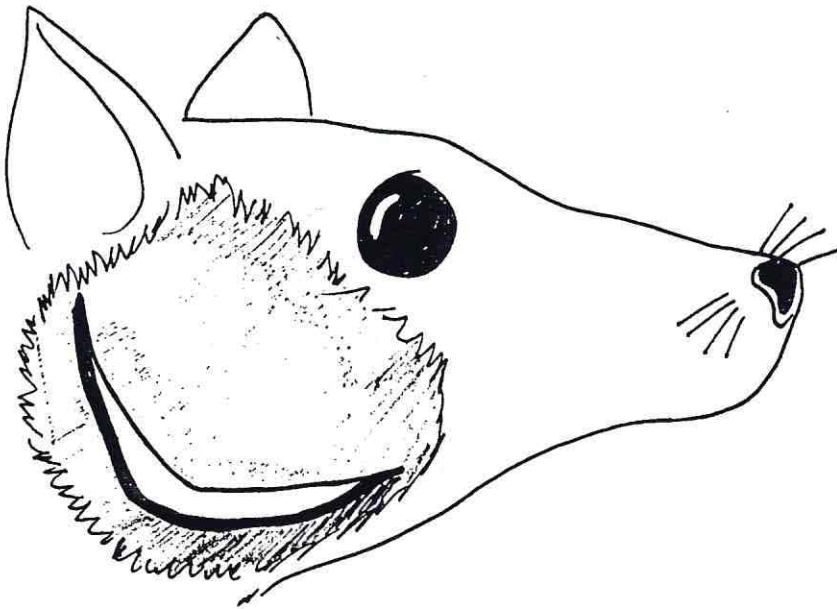
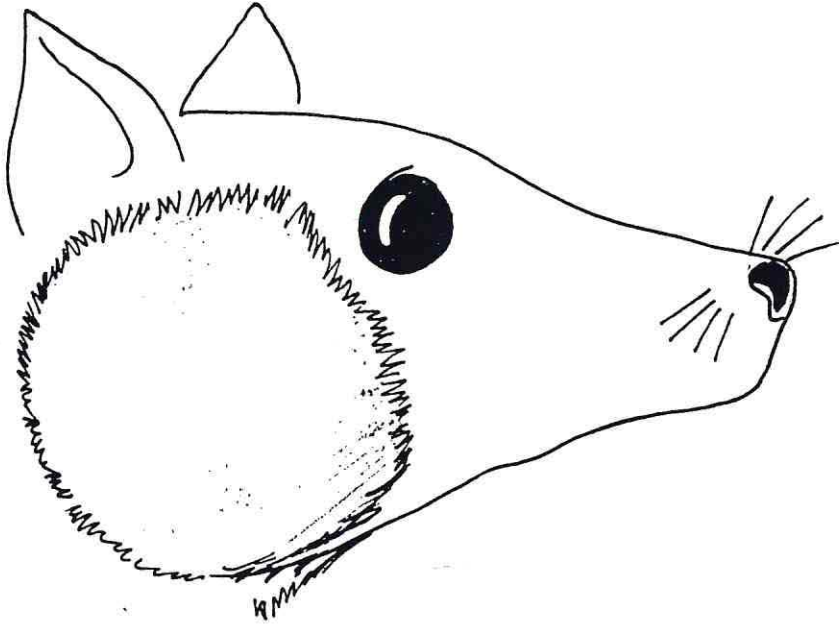


Fig 3:2

Fig 3:3

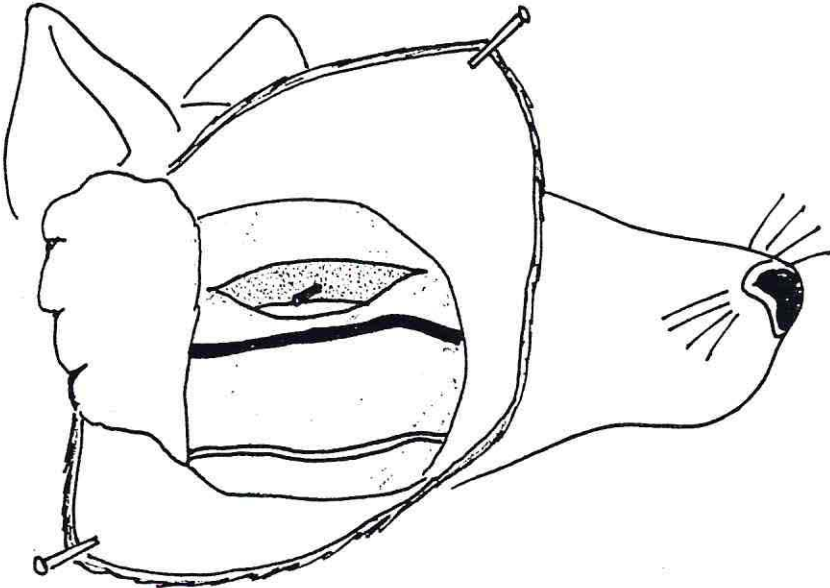
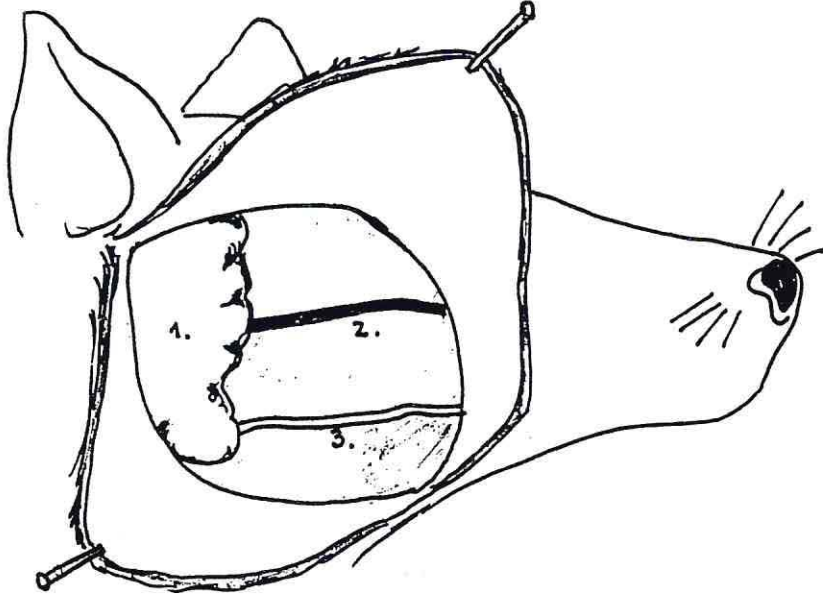


Fig 3:4

Fig 3:5

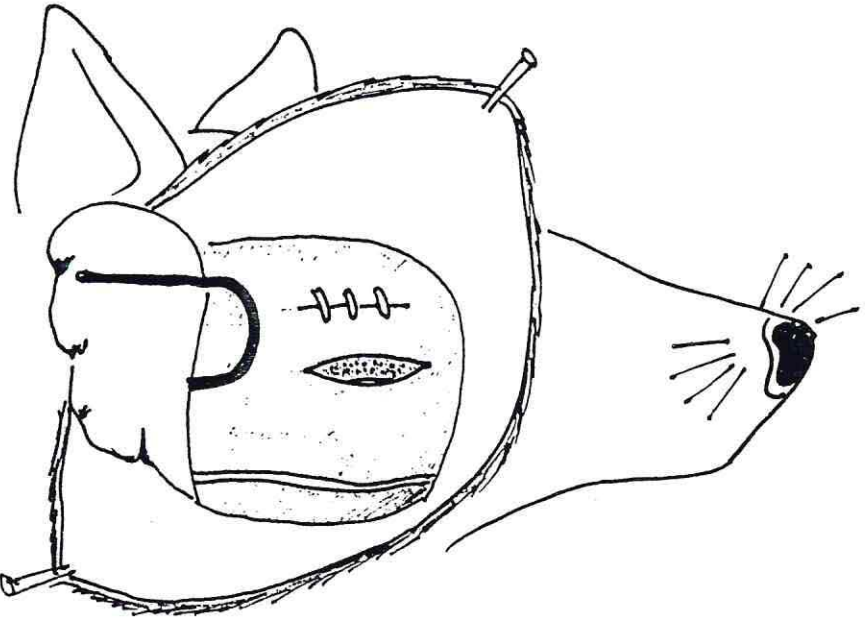
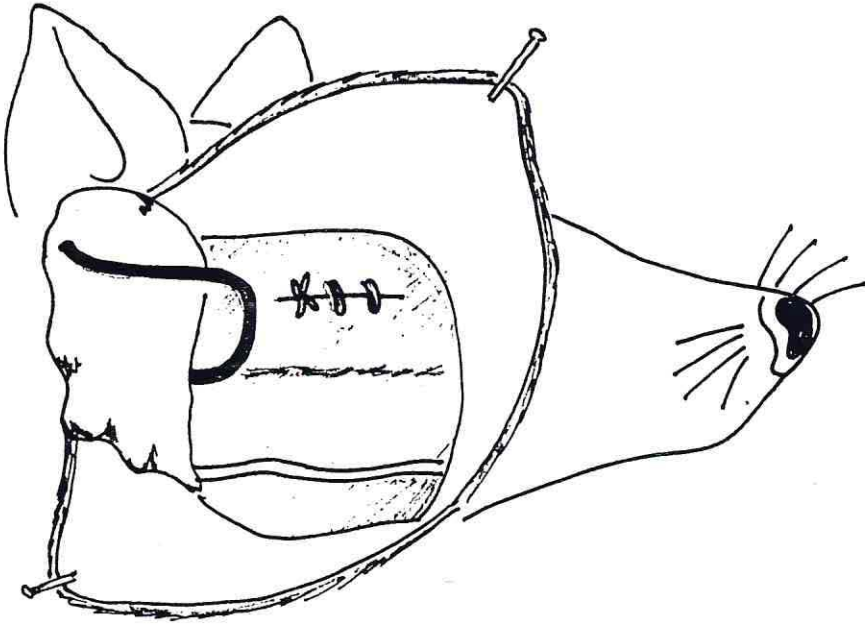


Fig 3:6

Fig 3:7

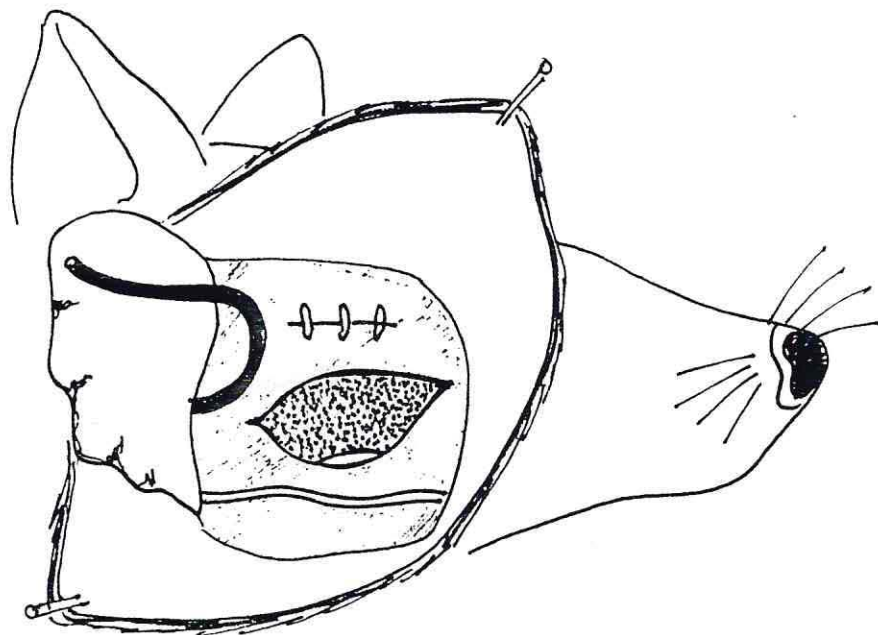
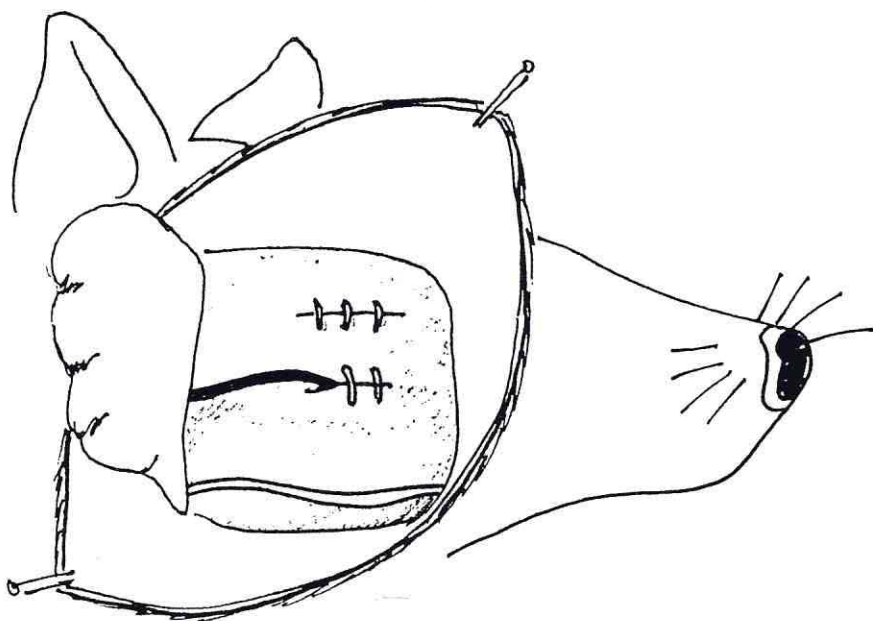


Fig 3:8

Fig 3:9

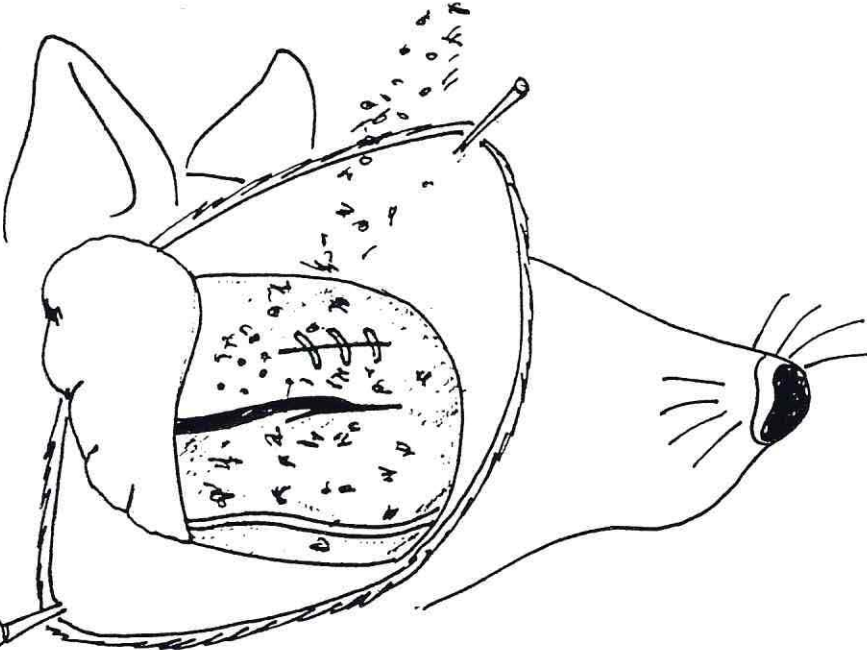
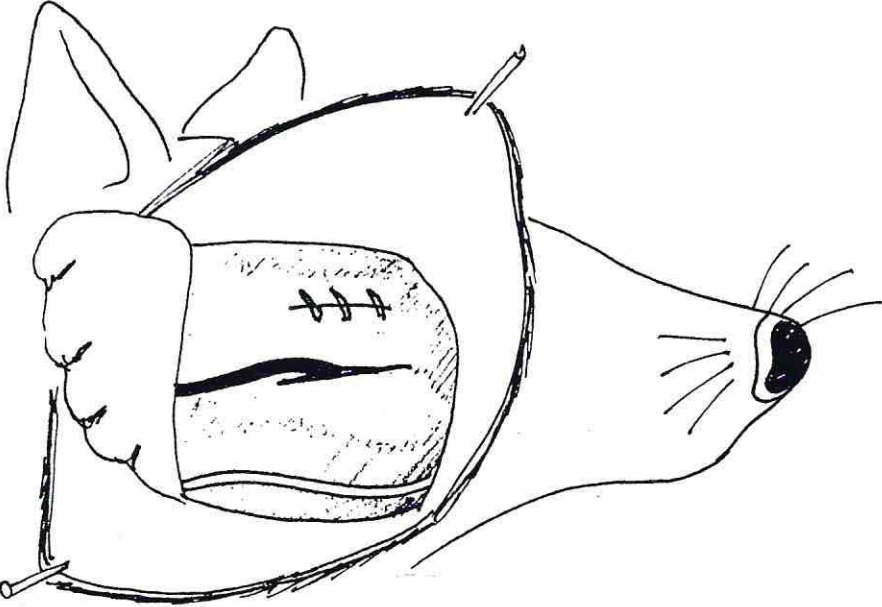
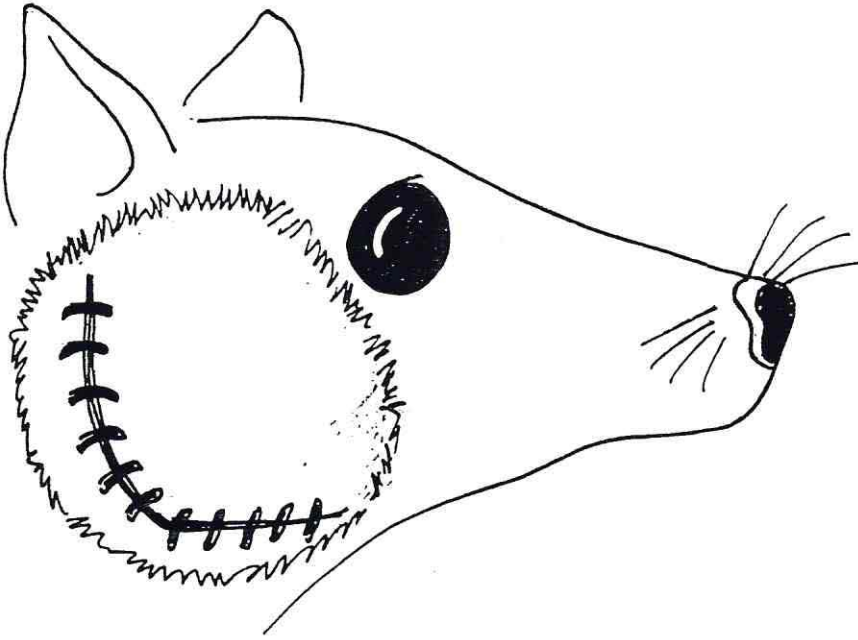


Fig 3:10

Fig 3:11



**SET UP REGISTRO DE CORRIENTES DE ACCION EN NERVIO
FACIAL**

Foto 5 :

Se muestran los electrodos de estimulación (e)
implantados al nervio bajo microcirugía.

Foto 6 :

Registro de impulsos nerviosos propagados en la pantalla
del osciloscopio.

Foto 5

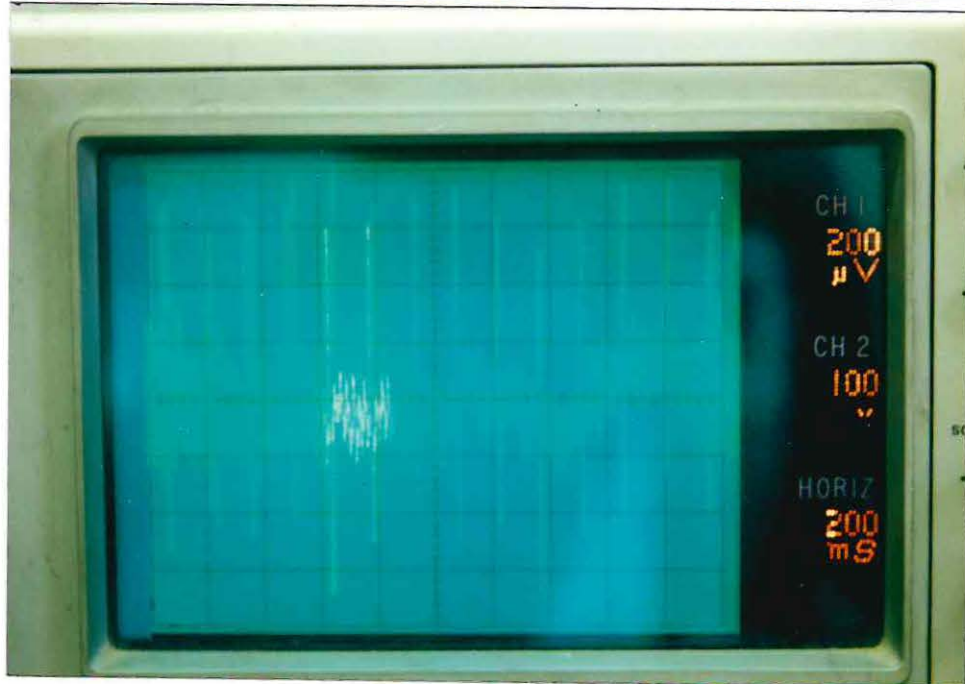


Foto 6

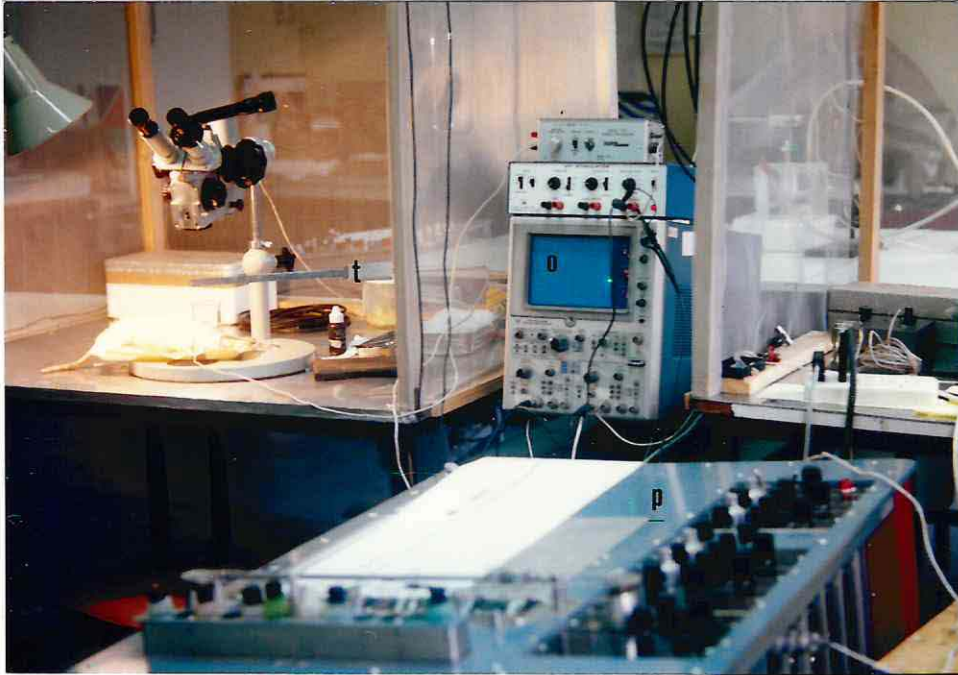
Foto 7



SET UP REGISTRO DE TENSION MUSCULO MASETERO

La foto muestra la región maseterina de la rata anestesiada y la implantación de microelectrodos (m) de estimulación al nervio facial (n).

Foto : 8



SET UP REGISTRO DE TENSION MUSCULAR.

El montaje muestra la rata anestesiada, electrodos de estimulación a nervio facial y transductor de tensión (t) conectado al polígrafo Gilson (p).

En pantalla del osciloscopio (o) se monitoreo la estimulación y el registro de tensión.

FOTO 9 :

Visión panorámica de fibras de músculo masetero, C.T; corte transversal, CL; corte longitudinal . Tinción Azán y aumento 100 x.

FOTO 10 :

NM : Nervio maseterino atravezando fascículos del músculo masetero normal. Tinción Azán y aumento 100 x.

FOTO 9

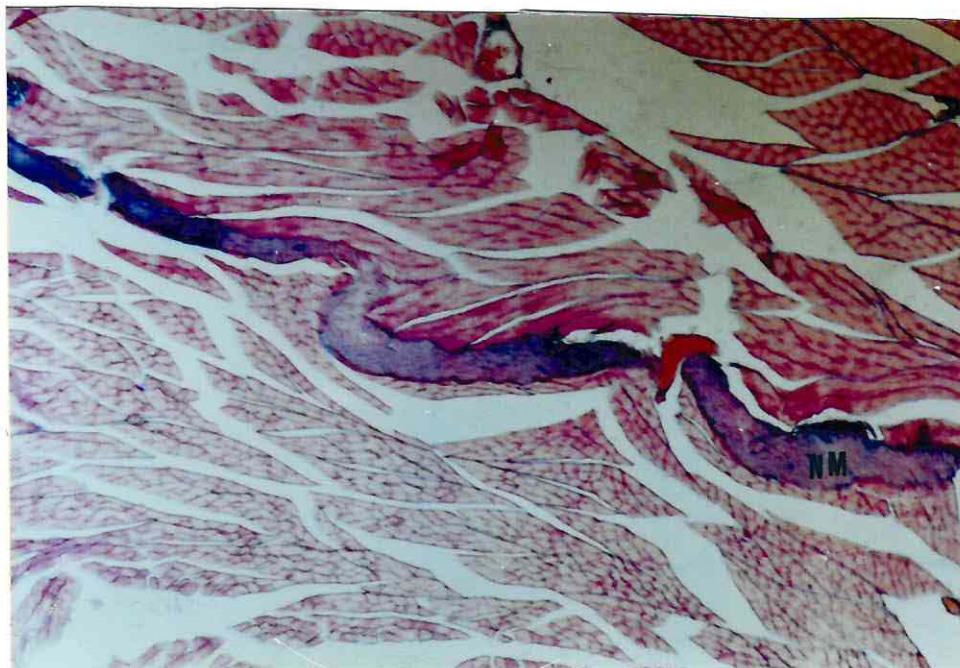
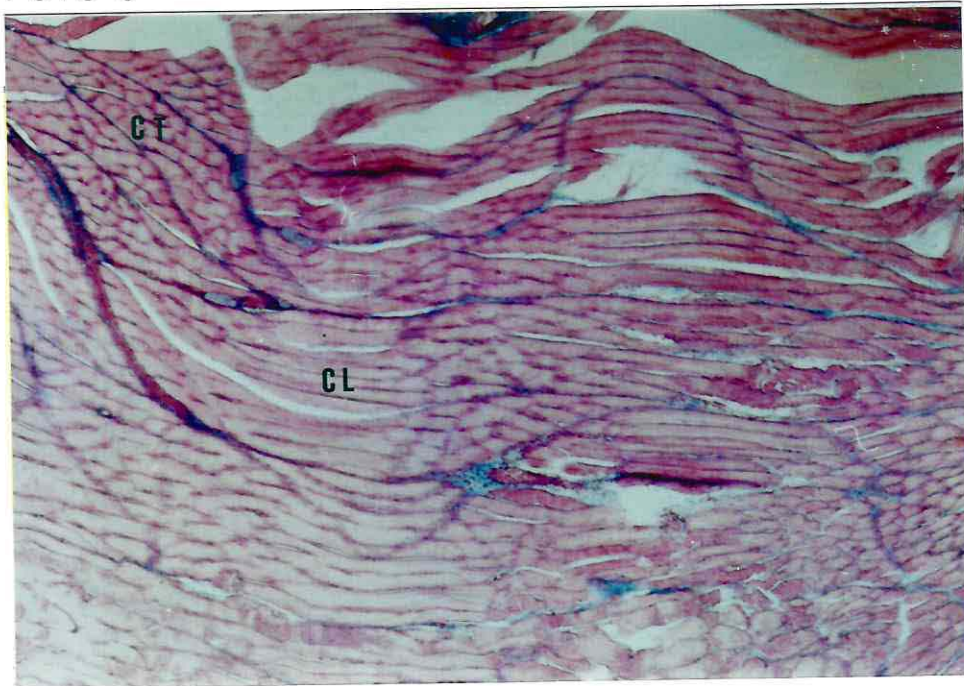


FOTO 10

FOTO 11 :

Paquete de fibras nerviosas que constituyen el nervio facial normal. Tinción Hematoxilina-Floxina., aumento 250 x.

FOTO 12 :

Nervio facial, corte de fibras en sentido transversal y longitudinal en los que destaca la mielina (M) y el axón (A). Tinción Sudan Black, aumento 250 x.

FOTO 11

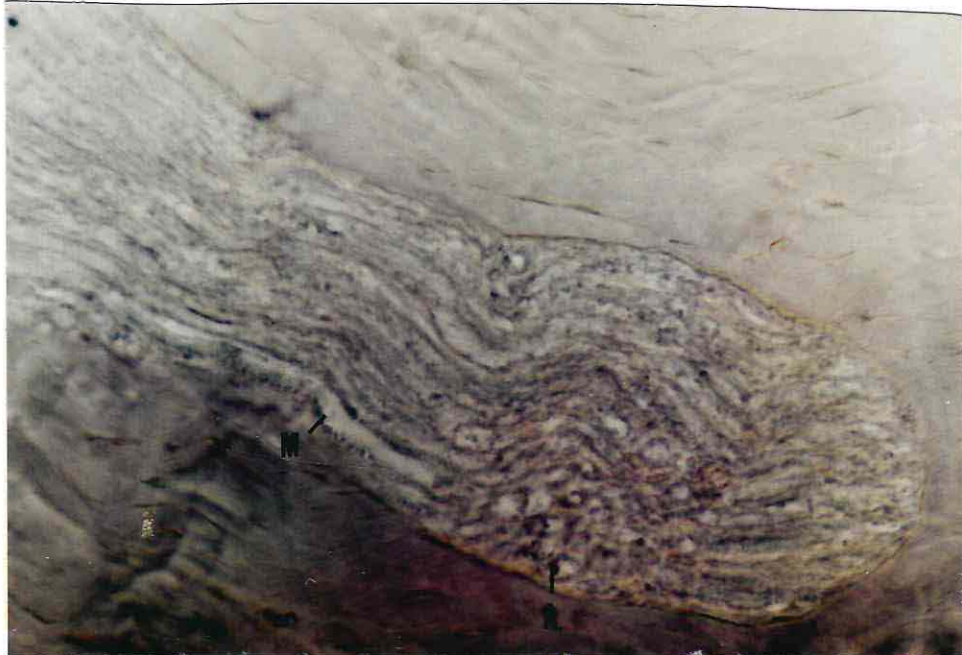
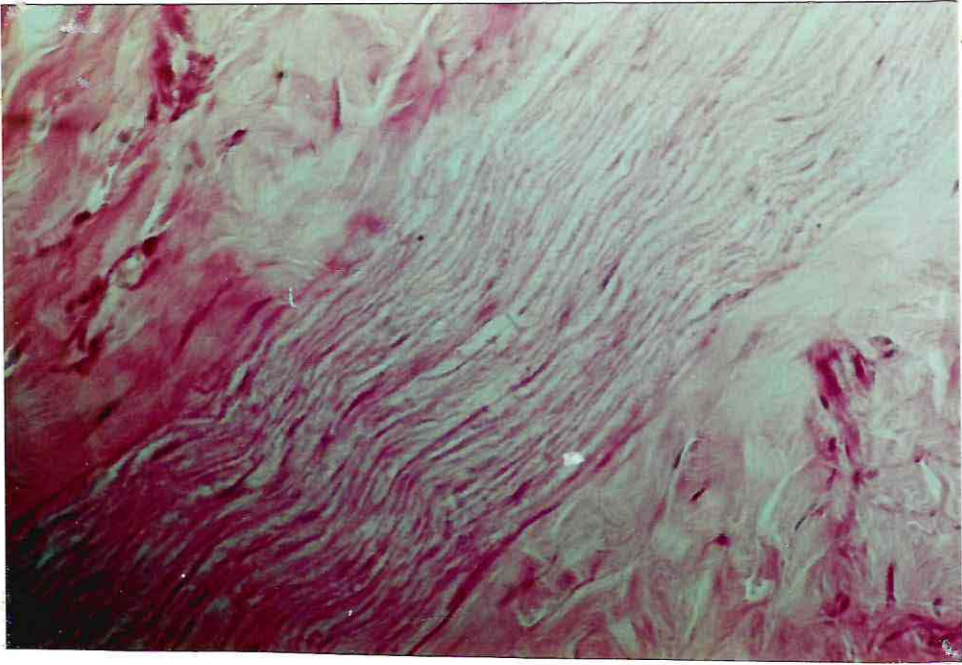


FOTO 12

FOTO 13 :

Fibras musculares del músculo masetero denervado donde no se observa epimisio y disminución de perimisio. Tinción Hematoxilina-Floxina, aumento 250 x.

FOTO 14 :

Se observa claramente el implante entrando en el músculo masetero (no hay fibrosis como en el implante superficial con sutura).

FOTO 13



FOTO 14

FOTO 15 :

Músculo reinervado profundo sin sutura donde se observan zonas A ,B y C . Tinción Azán ,aumento 250 x.

FOTO 16 :

Músculo reinervado profundo sin sutura donde se observa el nervio reinervante (NR) en medio de dos venas (V) y una arteriola (A) . Tinción Azán ,aumento 250 x .

FOTO 15

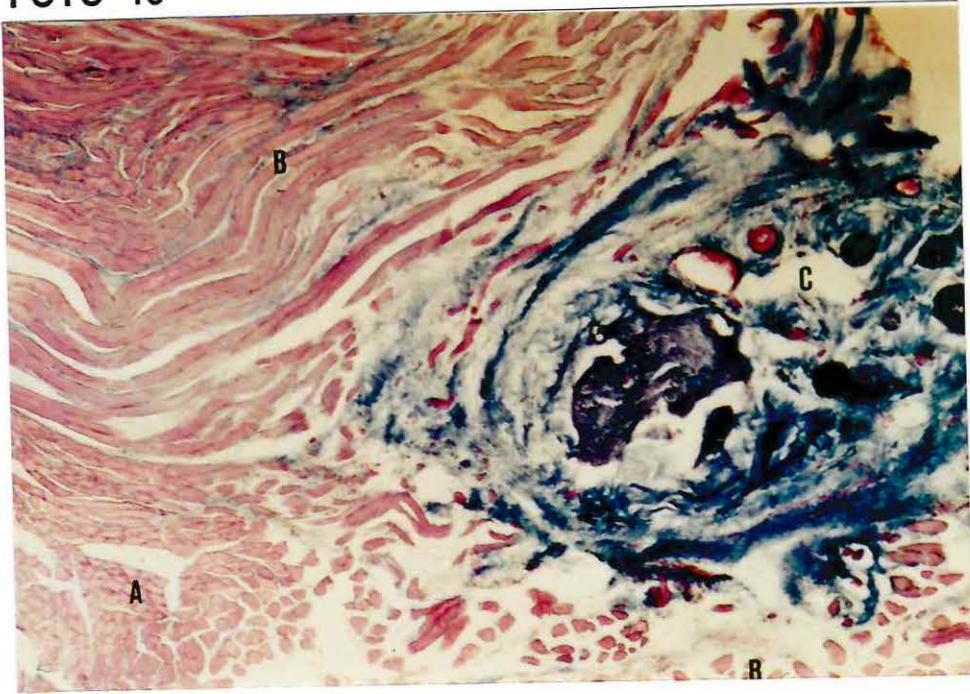


FOTO 16

FOTO 17:

Músculo reinervado (NR) superficial con sutura, donde se observa una gran fibrosis (F) que rodea al nervio y que se proyecta al interior del músculo. Tinción Azán, aumento 250 x.

FOTO 18 :

Nervio reinervante (NR) del músculo masetero, donde se observa una marcada desorganización de la fibra nerviosa y un desorden en cuanto a la distribución y organización del peri y endoneuro. Tinción Azán, aumento 625 x.

FOTO 17

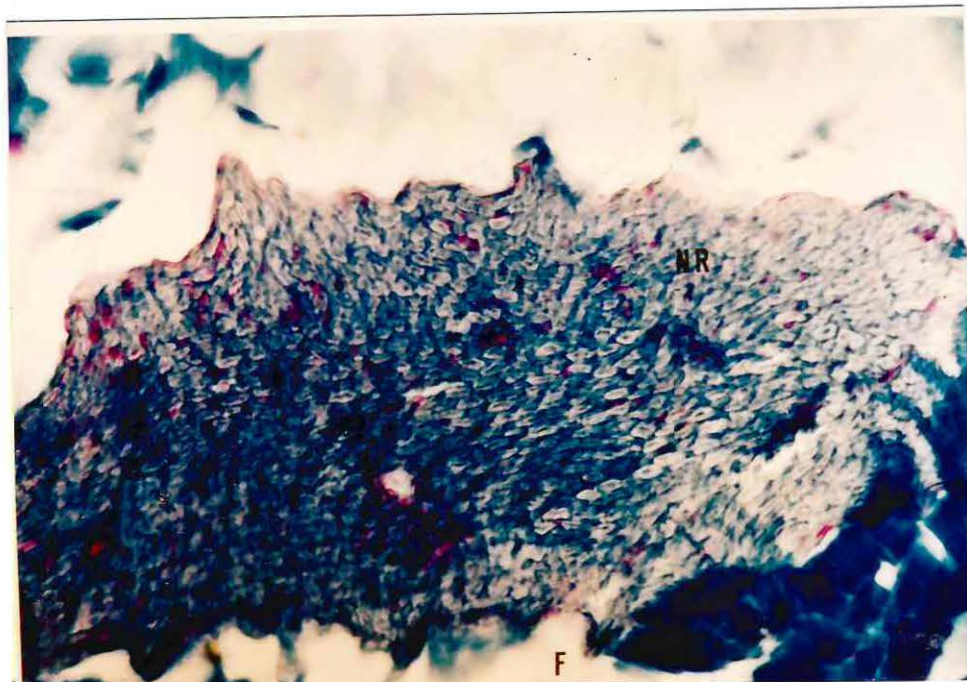


FOTO 18

EFFECTO DE LA ESTIMULACION NEURAL

Registro de tensión Músculo Masetero.

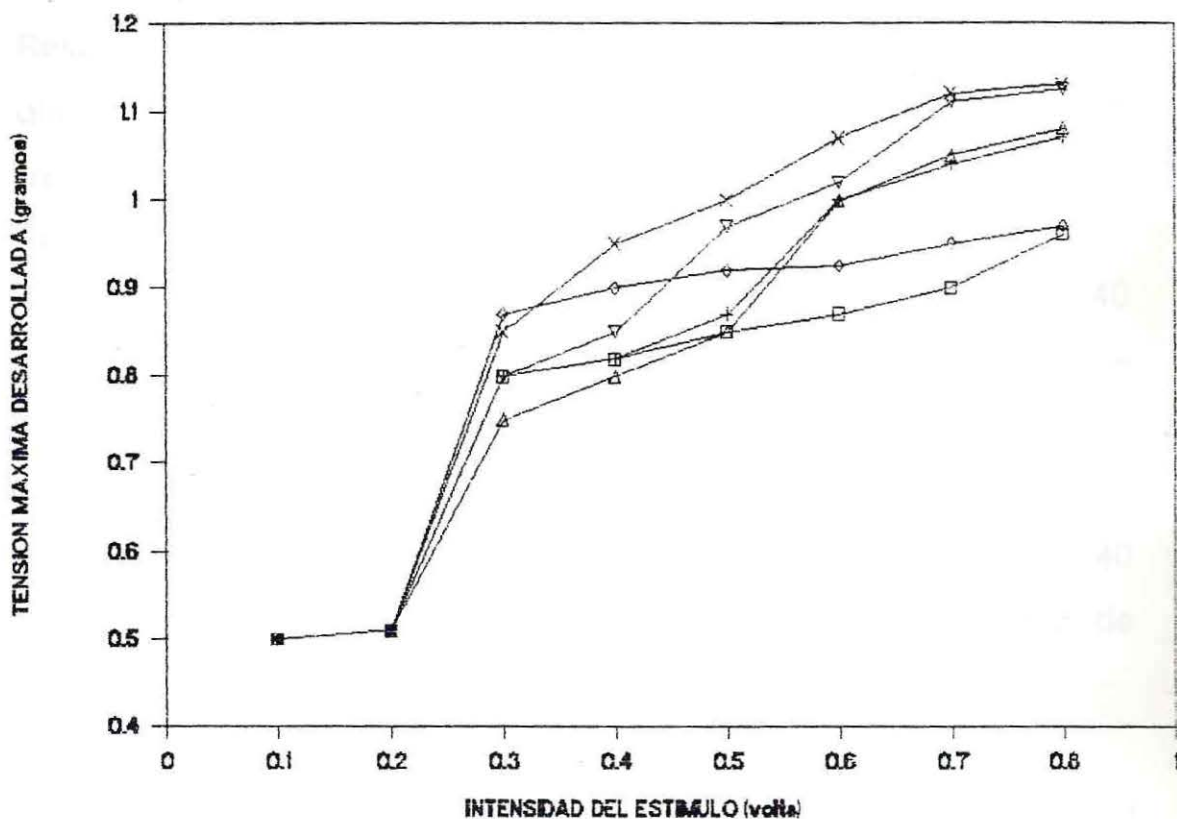


Figura 4.1 :

Se muestra la respuesta de tensión del músculo masetero inducida por la estimulación eléctrica, vía nervio facial, en 6 ratas anestesiadas.

En todas ellas, la tensión aumenta en función de la intensidad de estimulación.

FIGURA : 4 : 2 ; A.:

Ausencia de respuesta de tensión del músculo masetero ante estimulación eléctrica inmediata a su implantación.

FIGURA : 4 : 2 ; B.:

Respuesta de tensión del músculo masetero (reinervado hace 40 días) ante un estímulo de 0,7 V. de intensidad y 4 Hz. de frecuencia.

FIGURA : 4 : 2 ; C.:

Respuesta de tensión del músculo masetero (reinervado hace 40 días) ante un estímulo de 0,7 v de intensidad y 8 Hz de frecuencia.

FIGURA : 4 : 3 ; D :

Respuesta de tensión del músculo masetero (reinervado hace 40 días) ante un estímulo de 0,7 v de intensidad y 12 Hz de frecuencia.

FIGURA : 4 : 2 ; E :

Respuesta de tensión del músculo masetero (reinervado hace 40 días) ante un estímulo de 0,7 v de intensidad y 24 Hz de frecuencia que termina en tétano incompleto.

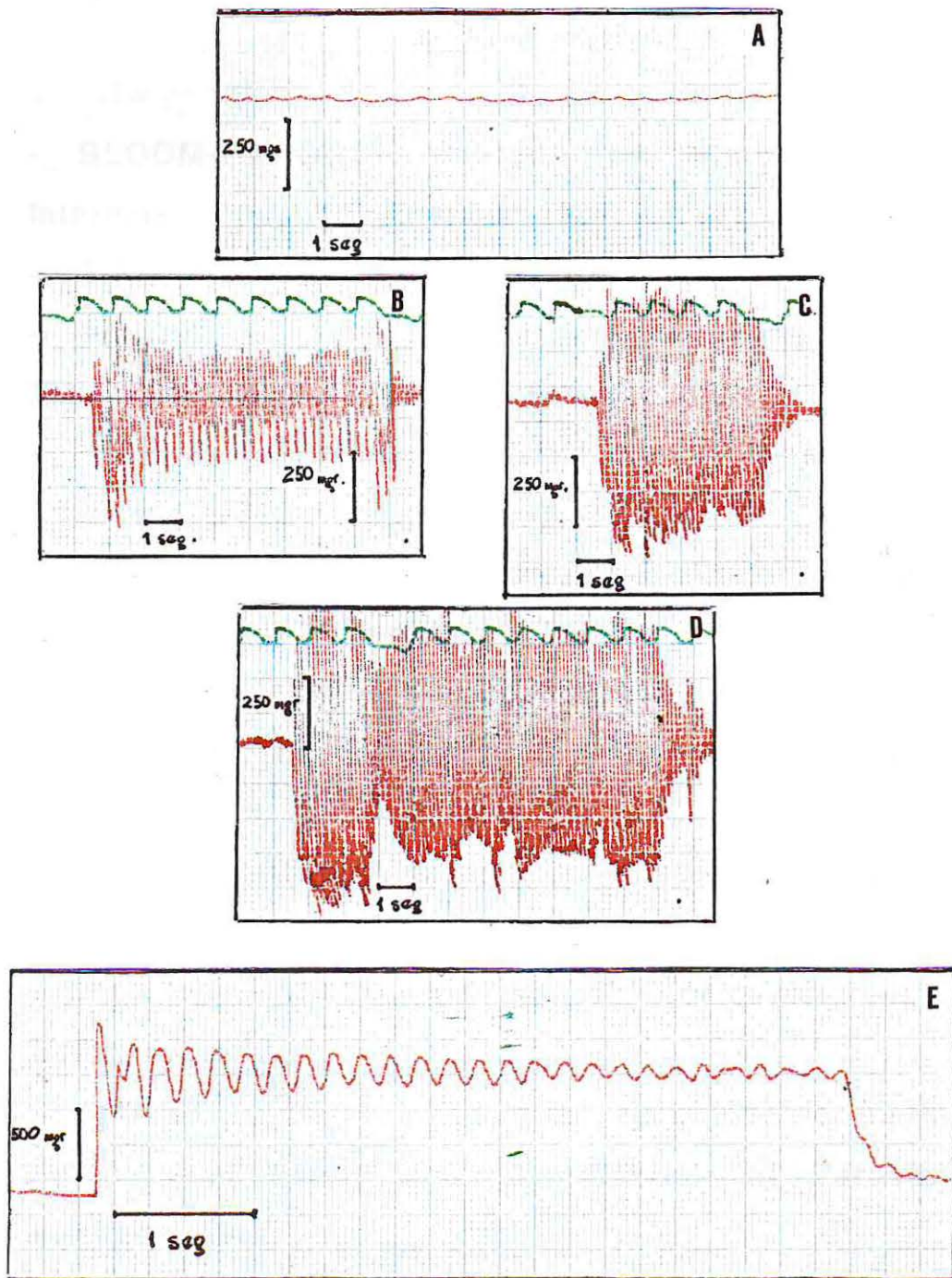


FIGURA 4 : 2 ; A, B, C, D y E.

BIBLIOGRAFIA

- BLOOM-FAWCETT. Tratado de Histología, Editorial Interamericana, 11 Edición 1987.
- LEHNINGER, ALBERT, Bioquímica, 2 Edición 1978.
- ROUVIERE , H , Anatomía Humana Descriptiva, Topográfica y Funcional, 8 Edición, 1980.
- TESTUT LATARJET. Tratado de Anatomía Humana, 9 Edición ,1981.
- HANS. SEONG. Human Microscopic Anatomy, Editorial Mc Graw-hill Blook Company, 1 Edición , 1981.
- Manual of Histologic and Special Stininig Technics, 2 Edicion, 1949. The Blakistan Division Mc Graw-Hill Blook Company, Inc.
- PREECE . ANN, A Manual for Histologic Technicians, 1 Edicion 1959.
- BECCARI . NELLO, Elementi di Tecnica Microscopica, 4 Edicion ,1949.
- CARLETON. H. M .Histological Technique for normal and Pathological tissue and identification of Parasites , 3 Edicion, 1957.

- MAEDA. L and Col -Effects of long-Term Intake of a sine-Grained diet on the Mouse Masseter Muscle. Acta Anat (Basel) 1987 ; 128 (4): 326-333.
- CHEN Y-S, WANG BENNETT L.T and Coker Facial Nerve regenerations in the Silicone Chamber the influence of nerve growth factor. Exp Neurol. 1989;103/1 (52-60).
- TETZLAFF W. and BISBY M. A. Neurofilament elongation into regeneration facial nerve axons. Neuroscience 1989;29/3 (659-666).
- SCHWARTZ. M.AVI COHEN, CATHY STEIN-IZSAK and MICHAEL BELKIN. Dichotomy of the Glial Cell response to axonal injury and regeneration. 1989, vol 3 (2371-2378). The FASEB Journal.
- MALDONADO M.,RAMIREZ B., RUIZ G.,YAMUY J., and INESTROSA N. Age-related responses of Skeletal Muscle After Ectopic Innervation,with Particular reference to 165 Acetylcholinesterase, in Adult Rats. Journal of Neurochemistry vol 43 N 2 1984 (375-381).

