

Disección de Klingler para el aprendizaje de la neuroanatomía: revisión narrativa con búsqueda sistemática

Klingler's dissection in neuroanatomy learning: narrative review with a systematic search

Yván Gallegos Laguna¹ , Iris Betsaida Peralta Oroscó¹ , Hessed Virto-Farfan^{1,2} 

RESUMEN

La técnica de disección Klingler es una estrategia modificada de fijación y disección cerebral que utiliza congelación y descongelación para revelar los tractos de sustancia blanca. Ha sido ampliamente empleada en investigaciones anatómicas cerebrales, permitiendo comprender la compleja organización de los hemisferios cerebrales. Destaca por su utilidad en la separación de sustancia blanca y gris, que facilita la disección de tractos de fibras y brinda comprensión tridimensional de la arquitectura de sistemas de sustancia blanca. **Objetivo:** Examinar la evolución histórica, los protocolos y las aplicaciones educativas, médicas y quirúrgicas de la técnica de disección Klingler. **Materiales y métodos:** Se realizó una revisión bibliográfica de artículos académicos sobre la técnica de disección Klingler, utilizando bases de datos como SciELO, Scopus, Medline y Google Académico. Se identificaron 3521 artículos de interés, de los cuales se seleccionaron 53 para su evaluación; y de estos, 22 sirvieron para evaluar el protocolo de disección Klingler. **Resultados:** Se revisaron las bases históricas, la aplicación y el protocolo del método Klingler, y su adaptación con innovaciones tecnológicas. También se analizó su uso en abordajes quirúrgicos y hallazgos histológicos luego de su aplicación, mostrando su relevancia en la neuroanatomía y la cirugía cerebral. **Conclusiones:** El método de disección de fibras blancas de Klingler ha sido fundamental en las neurociencias, en tanto permite realizar descripciones anatómicas detalladas y posee gran relevancia en la educación en diferentes niveles académicos.

Palabras clave: neuroanatomía; sustancia blanca; técnica de disección de fibras; técnica de Klingler.

Citar como:

Gallegos Y, Peralta IB, Virto-Farfan H. Disección de Klingler para el aprendizaje de la neuroanatomía: revisión narrativa con búsqueda sistemática. *Rev Neuropsiquiatr [Internet]*. 2024; 87(2): 153-168. DOI: 10.20453/rnp.v87i2.5252

Recibido: 09-02-2024

Aceptado: 13-05-2024

En línea: 28-06-2024

Correspondencia:

Virto-Farfan Hessed
Dirección: Urb. Santa Mónica,
B-8, 2.º piso, Wanchaq, Cusco,
Perú.
Teléfono: +51984410334
Contacto: hessedvirto@gmail.com



Artículo de acceso abierto, distribuido bajo los términos de la Licencia Creative Commons Atribución 4.0 Internacional.

© Los autores

© *Revista de Neuro-Psiquiatría*

¹ Universidad Andina del Cusco, Centro de Investigación en Neurociencia (Ceneuro). Cusco, Perú.

² Clínica Pardo-San José. Cusco, Perú.

ABSTRACT

The Klingler dissection technique is a modified brain fixation and dissection strategy that uses freezing and thawing to reveal white matter tracts. It has been widely employed in brain anatomical investigations, allowing a better understanding of the cerebral hemispheres' complex organization. It is notable for its usefulness in the separation of white and gray matters, facilitating the dissection of fiber tracts and providing a three-dimensional understanding of the architecture of white matter systems. **Objective:** Examine the historical evolution, protocols, and educational, medical, and surgical applications of the Klingler dissection technique. **Method:** A literature review of academic articles on the topic was conducted through the exploration of databases such as SciELO, Scopus, Medline, and Google Scholar. A total of 3,521 articles of interest were identified, of which 53 were selected for evaluation. Finally 22 serving to assess the Klingler dissection protocol. **Results:** We addressed the historical background, application, and protocol of the Klingler method, along with its integration with technological innovations. The use of the technique in surgical approaches and post-application histological findings was also analyzed, highlighting its relevance in neuroanatomy and brain surgery. **Conclusions:** The Klingler white matter dissection method has been of fundamental usefulness in neuroscience, allowing for detailed anatomical descriptions, and being highly relevant in education at different academic levels.

Keywords: neuroanatomy; white matter; fibre dissection technique; Klingler's technique.

INTRODUCCIÓN

La técnica de disección Klingler es una estrategia modificada de fijación y disección cerebral que utiliza congelación y descongelación para revelar los tractos de sustancia blanca. Ha sido ampliamente empleada en investigaciones anatómicas cerebrales, permitiendo comprender la organización compleja de los hemisferios cerebrales. Destaca por su utilidad en la separación de sustancia blanca y gris, ya que facilita la disección de tractos de fibras y la comprensión tridimensional de la arquitectura cerebral. Ha sido aplicada en investigación neuroanatómica y neuroquirúrgica, posibilitando el estudio detallado de tractos de asociación, identificación precisa en cirugías y mejora de cuidados de pacientes. Requiere habilidad en procedimientos que incluyen congelación de tejido, disección gradual y uso de instrumentos quirúrgicos, con recomendaciones clave como congelación adecuada, disección reproducible, documentación fotográfica y uso de microinstrumentos. La técnica Klingler se erige como una herramienta fundamental en la exploración cerebral, en tanto guía intervenciones quirúrgicas y mejora el conocimiento sobre conectividad cerebral, bajo el requisito de tener experiencia en su aplicación.

La técnica creada por Josef Klingler representa un hito en la evolución de la disección de tractos de sustancia

blanca. Su técnica implica congelar y descongelar el tejido cerebral para aflojar la estructura compacta de la sustancia blanca, de modo que se obtiene una preservación exquisita de las estructuras cerebrales, lo que le permitió realizar disecciones detalladas que proporcionaron una oportunidad única para estudiar las terminaciones corticales exactas (1). Esta técnica es trascendental en el estudio de la conectividad cerebral, en tanto aporta significativamente a las nomenclaturas de las vías de asociación en el cerebro humano y correlaciona los resultados de la imagen del tensor de difusión (ITD) con evidencia anatómica real, pues en varias investigaciones se han utilizado las preparaciones de disección de Klingler para delinear la extensión precisa, de origen a terminación, de fascículos específicos, como el fascículo fronto-occipital inferior y el fascículo uncinado, y para identificar los cruces de fibras, que son una característica integral de la organización de la sustancia blanca (2, 3).

La técnica de disección de Klingler se utiliza ampliamente en los campos de neuroanatomía y neurocirugía. Ofrece una comprensión tridimensional mejorada de la sustancia blanca para estudiar la topografía y su organización espacial, así como para mapear y revelar las conexiones e interrelaciones entre las sustancias blanca y gris para la planificación

quirúrgica. Facilita la disección, sobre todo de fibras grandes, al crear lagunas interaxonales, aunque puede destruir puentes de mielina en cerebros congelados; de este modo, se configura como una herramienta valiosa para la formación médica y el avance de la investigación en neurociencia (4-9).

El objetivo de la presente revisión fue analizar la historia, los protocolos y la aplicación educativa, médica y quirúrgica de la técnica de disección Klingler.

MATERIALES Y MÉTODOS

Para el presente estudio se realizó una revisión narrativa con búsqueda bibliográfica, a partir de la cual se aplicó el análisis de los artículos encontrados y su agrupamiento en diversas categorías, que facilitaron su estudio, comprensión y posterior aplicación. Se utilizó SciELO, Scopus, Medline y Google Académico, teniendo en cuenta los últimos 15 años: desde enero de 2008 hasta mayo de 2023.

Para la utilización correcta de los términos de búsqueda, se consultó la edición 2021 de los descriptores en ciencias de la salud (<https://decs.bvsalud.org/es/>) y MeSH de Medline (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh>).

Se utilizaron las siguientes palabras clave y descriptores: Klingler, fibras blancas, disección, neuroanatomía, sustancia blanca, técnica de disección de fibras, Klingler’s technique, fibre dissection technique, white matter, Neuroanatomy y 3D Neuroanatomy.

El proceso de indagación fue efectuado en mayo de 2023, donde inicialmente identificamos un total de 202 691 artículos académicos, haciendo uso de los buscadores de Medline (110 881 artículos), SciELO (18 artículos), Google Académico (88 000 artículos) y Scopus (3792 artículos). Luego se eliminaron aquellos artículos duplicados y aquellos que no fueran relevantes para la investigación, quedando 3521 artículos de interés. De estos se seleccionó un total de 165 artículos, de los cuales se consultó sus títulos, resúmenes y, adicionalmente, la lista de referencias de cada uno, con la intención de encontrar otros artículos de interés, aunque fueran de mayor antigüedad. Finalmente, se evaluaron 53 artículos de interés para su elección según los siguientes criterios: publicaciones que estaban en inglés o español, artículos de estudios originales y de revisión que hayan evaluado el método Klingler, y publicaciones empíricas que hayan validado instrumentos de medición relacionados con el método Klingler. Se excluyeron, por otro lado, los estudios donde el título o el resumen no incluyeran las palabras clave, y los artículos que no fueran relevantes para el objetivo de la revisión, así como estudios de anatomía comparativa que no se enfocaran en muestras humanas.

En total se revisaron 53 artículos académicos, de los cuales 22 sirvieron para evaluar el protocolo de disección Klingler.

La estrategia de búsqueda PRISMA empleada se describe en la figura 1.

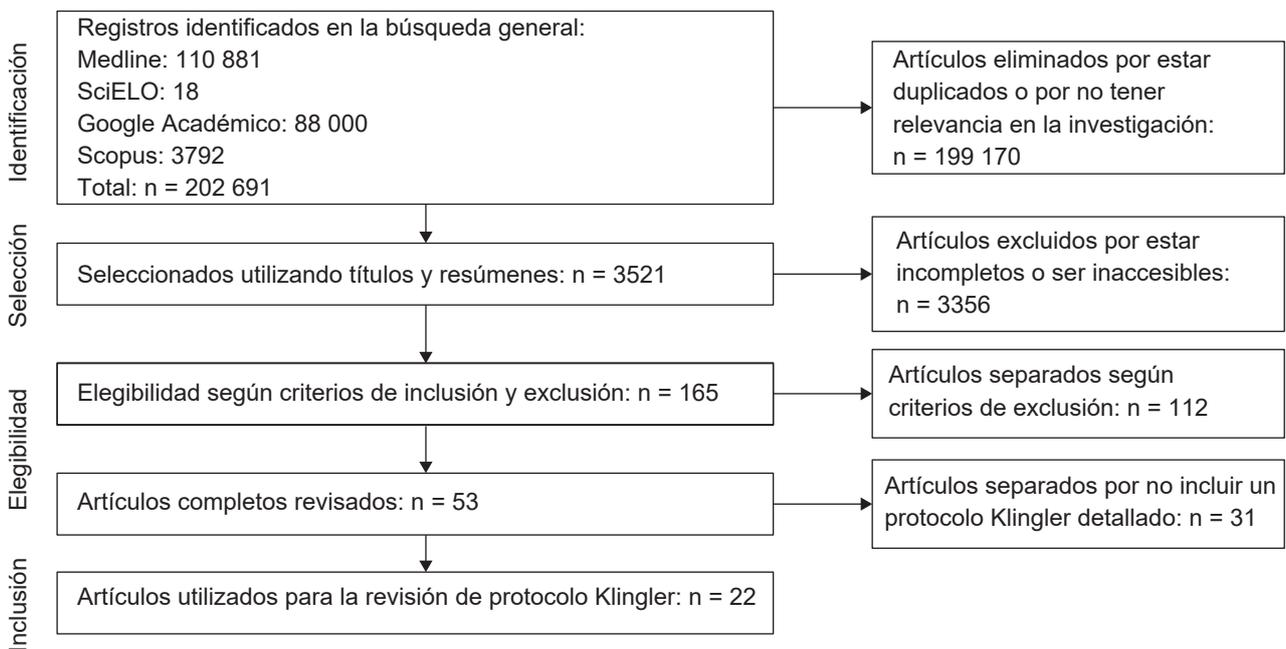


Figura 1. Identificación de estudios mediante las bases de datos.

RESULTADOS

Desarrollo de la técnica de disección de Klingler

La anatomía es una disciplina médica antigua que ha evolucionado a lo largo de los siglos. El conocimiento sobre el cerebro se remonta a la antigüedad, con las primeras observaciones registradas en el papiro quirúrgico de Edwin Smith, alrededor del 1700 a. C. Antiguamente, el cerebro no se consideraba el principal órgano del cuerpo humano, sino que era el corazón al que se le tenía como el asiento del alma. En el Renacimiento científico, no se diferenciaba la sustancia gris de la sustancia blanca del cerebro. Fue en este período que se hicieron distinciones anatómicas importantes por anatomistas como Archangelo Piccolomini, quien realizó la separación de corteza cerebral de la sustancia blanca en la disección. Vesalius cuestionó las teorías galénicas sobre los ventrículos y la *rete mirabile*. En el siglo XVIII, se desarrolló un mayor conocimiento sobre la localización cortical, y se comenzó a asociar la masa cerebral con funciones cognitivas superiores. Pioneros como Emanuel Swedenborg y Franz Joseph Gall observaron la relación entre los lóbulos frontales y la personalidad humana. Ya en el siglo XIX, se produjeron avances significativos en la neuroanatomía con la técnica de disección de fibras utilizada por anatomistas como sir Charles Bell, Herbert Mayo, Friedrich Arnold y Achille Louis Foville. A pesar de estos avances, la investigación sobre la sustancia blanca perdió relevancia hasta el siglo XX con el surgimiento de la neurocirugía moderna (6).

El anatomista suizo Josef Klingler, nacido el 19 de marzo de 1888, en Altdorf, inspirado inicialmente en estudiar Medicina, finalmente se decantó por la anatomía, uniéndose al Instituto de Anatomía de la Universidad de Basilea en 1929, para luego ejercer habilidosamente como técnico de laboratorio y preparador. En el transcurso de su carrera, Klingler, en 1934, estudió con Leon Laruelle en Bruselas y con Henry Rouviere en París, con quienes aprendió otros métodos de preservación anatómica, esto previamente al desarrollo de un método homónimo de fijación, basado en la congelación-descongelación que le permitió diseccionar tejidos cerebrales, eliminando fibras de sustancia blanca gradualmente para exponer

los tractos de sustancia blanca en el cerebro y preservarlos magníficamente (6, 7).

Antes de su trabajo, las técnicas de disección existentes se basaban en una disección a ciegas orientada por tinción de tejidos. Sin embargo, la técnica de Klingler proporcionó material anatómico detallado que permitía estudiar incluso las terminaciones corticales exactas de los principales tractos de sustancia blanca (1).

Klingler fue conmemorado múltiples veces por su trabajo y contribuciones en el campo de las neurociencias. En 1936, presentó un atlas con especímenes obtenidos mediante su técnica homónima en el Congreso Internacional de Milán, y la primera edición de este atlas se publicó en 1938. Más adelante, en 1956, publicó estudios anatómicos detallados. La técnica de Klingler ha sido de gran impacto en la investigación neuroanatómica. Ha resultado fundamental para comprender la compleja organización anatómica de los hemisferios cerebrales, incluyendo los tractos de fibras de sustancia blanca. Además, esta técnica ha sido ampliamente adoptada por neurocientíficos, neurocirujanos y neurólogos en estudios de la anatomía cerebral. No solo ha contribuido a la planificación quirúrgica, sino que también ha servido de base para numerosas investigaciones sobre sus modelos anatómicos y para el uso de neuroimágenes (4, 8, 9).

La técnica de Klingler también tuvo un gran impacto en la nomenclatura internacional utilizada para describir las vías de asociación cerebrales, ya que, al permitir un estudio directo de las fibras a nivel macroscópico, ha permitido mejorar las nominaciones de estas (1). Además de su contribución a la anatomía, Klingler se dedicó a la educación y creó impresionantes modelos anatómicos didácticos realizados con cera, yeso, madera y metal. Finalmente, falleció el 13 de junio de 1963 en Basilea, dejando un legado duradero en la neuroanatomía y la disección de tractos de fibras de sustancia blanca (3).

Aplicación y protocolo del método Klingler

Se analizaron 22 artículos para analizar la aplicación y los protocolos usados para el método Klingler, los cuales se detallan en la tabla 1.

Tabla 1. Comparación de protocolos de uso de la técnica Klingler.

Autor	Año	Espécimen	N.º de hemisferios estudiados	Concentración de formalina	Tiempo de inmersión (días)	Temperatura de congelación (°C)	Tiempo de congelación (días)	Tractos de asociación identificados
Arnts et al. (2)	2014	Humano	-	10 %	60	-10 -15	10	Fascículo occipitofrontal
Bykanov et al. (10)	2022	Humano	4	10 %	40	-20	35-45	Fascículos asociativos perinsulares Fascículo fronto-occipital inferior
De Castro et al. (4)	2015	Humano	10	10 %	28	-10	8	Fascículo mamilotalámico fascículo cingulado
De Benedictis et al. (11)	2018	Humano	0,5 (1 hemisferio)	10 %	40	-80	40	Fascículo arqueado
Dziedzic et al. (12)	2021	Vácuno	6	10 %	30	-16	10	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado
Gurses et al. (7)	2022	Humano	20	10 %	-	-15	14	Fascículo arqueado Fascículo longitudinal superior
Latini et al. (13)	2015	Humano	12	10 %	≥90	-16	14	Fascículo longitudinal superior Fascículo fronto-occipital Fascículo uncinado Fascículo longitudinal inferior Fascículo longitudinal superior
								Fascículo arqueado Fascículo longitudinal medio Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo occipital vertical Fascículo del sledge runner

Autor	Año	Espécimen	N.º de hemisferios estudiados	Concentración de formalina	Tiempo de inmersión (días)	Temperatura de congelación (°C)	Tiempo de congelación (días)	Tractos de asociación identificados
Latini (14)	2015	Humano	10	10 %	1	-15 a -20	6-10	Fascículo accumbofrontal Fascículo longitudinal inferior segmento anterior Fascículo longitudinal superior Fascículo occipital vertical Fascículo arqueado Fascículo longitudinal medio Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo uncinado
Oregui et al. (15)	2016	Humano	5	10 %	30	-	-	Fascículo longitudinal superior Fascículo longitudinal inferior Fascículo occipito-frontal inferior Fibras occipito-cingulares
Patil et al. (16)	2018	Humano	5	10 %	60	-10 a -20	10	Fascículo longitudinal superior
Pérez et al. (17)	2008	Humano	30	5 % y 10 %	28	-15 y -40	8	Fascículo fronto-occipital superior Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo longitudinal inferior Fascículo del cíngulo
Pescatori et al. (18)	2017	Humano	16	10 %	>40	-15	>14	Fascículo longitudinal superior Fascículo uncinado Fascículo fronto-occipital inferior

Autor	Año	Espécimen	N.º de hemisferios estudiados	Concentración de formalina	Tiempo de inmersión (días)	Temperatura de congelación (°C)	Tiempo de congelación (días)	Tractos de asociación identificados
Shah et al. (19)	2019	Humano	-	10 %	30	10	21-28	Fascículo arqueado Fascículo unciforme Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo occipital ventral
Silva y Andrade (5)	2016	Humano	4	10 %	30	-15	28	Fascículo de la cápsula externa dorsal y ventral Fascículo de la cápsula interna Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo longitudinal superior Fascículo de la cápsula externa Fascículos uncinados y occipitofrontales Fascículo mamilotalámico Fascículo cingulado Fascículo mamilotalámico Fascículo retroflejo Fascículo uncinado Fascículos longitudinales superior e inferior Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo longitudinal superior Fascículo uncinado
Silva et al. (20)	2017	Humano	12	10 %	>60	-15	30	
Da Costa et al. (21)	2018	Humano	-	10 %	60-90	-5	14	
Stephen (9)	2019	Humano	2	-	-	-20	90	

Autor	Año	Espécimen	N.º de hemisferios estudiados	Concentración de formalina	Tiempo de inmersión (días)	Temperatura de congelación (°C)	Tiempo de congelación (días)	Tractos de asociación identificados
Uribe (22)	2018	Vacuno	20	10 %	120	-18 (con formaldehído)	10 (con formaldehído)	Fascículo fronto-occipital superior
							10 (sin formaldehído)	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo longitudinal inferior
Verhaeghe et al. (23)	2018		20	10 %	56	-10	28	Fascículo cingulado ⁽²³⁾ Fibras cortas en U Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado
Yaman et al. (24)	2014	Vacuno	4	10 %	40	-15	15	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo uncinado Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo del cíngulo
							7	Fascículo longitudinal superior Fascículo arqueado Fascículo uncinado Fascículo fronto-occipital inferior
Zemmoura et al. (25)	2014	Humano	5	5 %	120	-23	7	Fascículo longitudinal superior, segmentos anterior, posterior y longitudinal Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo longitudinal inferior Fascículo uncinado
Zemmoura et al. (26)	2016	Humano	5	5 %	120	-23	7	Fascículo longitudinal superior, segmentos anterior, posterior y longitudinal Fascículo fronto-occipital inferior Fascículo longitudinal inferior Fascículo uncinado

Se han identificado los siguientes pasos en el desarrollo de un protocolo para la técnica Klingler de disección:

1. Origen y selección del cerebro a estudiar: En todos los estudios, se utilizaron cerebros humanos, los cuales no debían tener antecedente de causas de muerte neurológicas (17, 19, 20, 27, 28).

2. Fijación en formalina: Este es un paso esencial en la preparación de las muestras cerebrales, ya que contribuye a estabilizar la morfología celular y la arquitectura del tejido (13); sin embargo, se observan variaciones en el proceso de fijación en términos de tiempos y concentraciones de formalina en los estudios que emplearon la técnica de Klingler.

En cuanto al tiempo de inicio de la fijación, diferentes autores sugieren intervalos variados después de la muerte y de la extracción del cerebro del cráneo. Algunos recomiendan que la fijación comience dentro de las primeras 12 horas, mientras que otros establecen límites de 8 horas o incluso 18 horas (17, 19, 20, 27, 28).

La mayoría de los estudios utiliza soluciones de formalina al 10 %; no obstante, se informa sobre el uso de concentraciones más altas, como el 15 %, y concentraciones más bajas, alrededor del 4-5 %. En algunos casos, se cambia la concentración de la solución de formalina durante el proceso de fijación después de las primeras 24 horas o 2 semanas.

Es importante destacar que algunos estudios prefieren una concentración de formalina del 5 %, ya que esta permite una penetración uniforme en las estructuras profundas, lo que resulta en una menor compactación de la sustancia gris y una consistencia cerebral similar a una esponja. Además, esta concentración facilita la hidrodisección por descongelación de microcristales entre fascículos y sustancia gris, lo que conlleva una separación más sencilla de la corteza de la sustancia gris con una mínima fuerza ejercida. Además, se observa una coloración de la corteza similar al azúcar mascabado (17).

En cuanto al tiempo de fijación, se han registrado diferentes intervalos en los estudios, que van desde 6 a 10 horas, 24 horas, 1 mes, 3 meses, 4 meses, hasta 1 año (17, 19, 20, 27, 28).

Además, para evitar deformaciones cerebrales durante el proceso de fijación, se describen dos métodos distintos. Algunos estudios proponen colocar el cerebro sobre gasa dentro de una solución

de formalina, lo que le permite flotar libremente. En otros casos, se utiliza una técnica que implica atar la arteria basilar para suspender el cerebro en varillas de madera colocadas en la parte superior del recipiente (17, 19, 20, 27, 28).

Cabe destacar también el método de fijación por perfusión con formalina intracarotídea, que mejora la preservación y la disección de la sustancia blanca. Este método permite una fijación rápida y uniforme, conserva la arquitectura vascular y mantiene la condición del tejido similar a la vida. Esto minimiza la destrucción de las neuronas y las estructuras de soporte que podría ocurrir con la fijación retrasada, mejorando así la representación de las estructuras anatómicas (13).

3. Eliminación de membranas meníngeas y estructuras vasculares cerradas: La eliminación de las membranas meníngeas se llevó a cabo antes, después de que comenzara el proceso de congelación y entre episodios de congelación y descongelación. En la mayoría de los casos, la eliminación de vasos sanguíneos se realizó junto con la eliminación de las membranas meníngeas (20, 28).

4. Ciclo de congelación: La preparación previa a la congelación es fundamental, ya que permite la dilatación del agua dentro de las fibras nerviosas (15). Antes de iniciar la congelación, las piezas anatómicas se lavan sometiendo a inmersión en agua corriente a temperatura ambiente para evitar los efectos tóxicos e irritativos consecuentes a la exposición continua a formaldehído durante la disección de meninges y sistema vascular. Dicha inmersión se realiza durante un tiempo variable, que puede ser de varias horas o incluso un día (17, 20, 27).

Las temperaturas de congelación utilizadas en los estudios variaron significativamente, registrando valores que están entre -5°C , -8°C , -10°C , -15°C , -16°C , -24°C y -80°C . En cuanto a los tiempos de congelación mencionados, estos varían desde 8 horas (3), 12 horas (7), 8 días (8), 10 días (4, 9, 28), 3 a 4 semanas (17, 19, 20) y hasta 8 semanas (22).

Algunos estudios realizaron repetidamente ciclos de congelación y descongelación de las piezas anatómicas como parte del procedimiento, siendo la cantidad de repeticiones entre 2 a 5 ciclos (29). La técnica de Klingler utiliza la congelación para separar las fibras nerviosas mielinizadas en el cerebro, lo que facilita la disección posterior. Algunos estudios recomiendan la congelación

a $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$, ya que esto conduce a la deshidratación de la pieza anatómica, facilitando la disminución de su consistencia para una disección más sencilla. También se observa una disminución en su peso, lo que permite que las piezas tengan la capacidad de flotar (17).

5. **Descongelación:** Fueron descongelados en 1 día, y se realizó de varias maneras según los estudios revisados. Algunas muestras se descongelaron a temperatura ambiente sobre una bandeja (2, 8, 9) y otras se colocaron bajo agua corriente o en agua quieta para su descongelación. La descongelación es una etapa crucial en la técnica de Klingler, ya que permite que las muestras se vuelvan manejables para la disección (17, 19, 20, 27).
6. **Disección de fibras:** La etapa final consiste en la disección de fibras en las regiones corticales, utilizando como apoyo un microscopio quirúrgico, como el Carl Zeiss Opmi 1 SH Contraves, con amplificación de 6X, 10X y 25X (7-9), o el microscopio estereoscópico binocular Nikon SMZ-10, u otros microscopios quirúrgicos con amplificación de 6X a 40X; o, en su defecto, una lupa para lograr una alta precisión en el proceso (4, 17, 19, 20, 28).

Herramientas/instrumentos de disección utilizados

Se utilizaron espátulas de madera delgadas de 2 a 4 mm hechas a mano, o, en su defecto (pero menos recomendadas), espátulas de metal, así como disectores Rothon metálicos curvados con puntas de diferentes tamaños principalmente; además de un sistema de succión, ya sea con cánulas biseladas o cánulas de aspiración. Adicionalmente, se reportó que también se utilizaron pinzas de relojero suizas.

Procedimiento

- Los hemisferios cerebrales son separados en dos a través de la línea media del cuerpo calloso.
- Se remueve el núcleo de la sustancia gris del tálamo.
- Se realizan los cortes a través de cada circunvolución y se remueven las capas de sustancia gris que recubren la sustancia blanca con uso de espátulas de madera y disectores metálicos, y con sistemas de succión se traccionan pequeños tractos y se facilita la disección de sustancia gris.
- Exposición e identificación de los tractos de fibras de sustancia blanca y estudio de sus relaciones con otros tractos de fibras adyacentes.

La técnica Klingler es útil para estudiar las relaciones neuroanatómicas detalladas en la sustancia blanca, especialmente en la cápsula interna. Al disecar las fibras de la cápsula externa, se puede visualizar el putamen; y al retirar el núcleo lenticular, se expone la cápsula interna. Se identificaron cinco regiones de la cápsula interna, incluyendo la rama anterior, el codo, la rama posterior y las partes sublenticular y retrolenticular. Además, se observó que las fibras de la corona radiata se concentran en la cápsula interna en el nivel del borde superior del núcleo lenticular (21).

La técnica de Klingler demuestra su utilidad también en el detallado estudio del cerebelo, en el cual se describen tres pasos para su disección (30):

1. **Disección de la cara tentorial:** Implica la exposición de la superficie tentorial del cerebelo, enfocándose en el núcleo dentado y sus relaciones con pedúnculos cerebelosos, vermis inferior y velos medulares.
2. **Disección de la cara suboccipital:** Se visualiza la parte inferior del espécimen tras retirar la aracnoides, con énfasis en las fibras de sustancia blanca bajo el pedúnculo cerebeloso medio y el núcleo dentado inferior.
3. **Disección de la amigdalectomía:** Incluye la extirpación de la amígdala y el lóbulo biventral restante para explorar las fibras bajo el pedúnculo cerebeloso medio de la cara suboccipital, con una disección cuidadosa del núcleo dentado, prestando atención a sus contornos y al hilio dentado.

DISCUSIÓN

Aplicación de la técnica de disección de Klingler en la formación médica

Ventajas de incorporar la técnica Klingler en la formación médica básica

- Información visual directa: Los especímenes disecados brindan a los estudiantes una visión directa de la morfología, variaciones anatómicas y las relaciones de los tractos de fibra de sustancia blanca. Esta exposición visual enriquece la comprensión tridimensional del cerebro y su sistema de sustancia blanca (15, 16).
- Complemento a la teoría: La enseñanza teórica de los tractos de fibra de sustancia blanca se ve enriquecida por la experiencia práctica que ofrecen los especímenes disecados. Los estudiantes pueden relacionar conceptos teóricos con observaciones

reales, mejorando su comprensión y retención del conocimiento (5).

- Mayor motivación: La manipulación y la observación de muestras disecadas aumentan la motivación de los estudiantes para estudiar neuroanatomía (5). La experiencia práctica es más atractiva y estimulante que observar imágenes en libros o atlas, lo cual fomenta un mayor compromiso con el aprendizaje (16).
- Comprensión coherente: Las muestras disecadas permiten a los estudiantes desarrollar una comprensión más coherente del sistema de sustancia blanca al proporcionar información visual que a menudo se pasa por alto en libros y atlas. Esto incluye la ubicación, el curso y la terminación de los tractos, aspectos que no son fáciles de visualizar en métodos de enseñanza tradicionales, pero que son posibles de observar en la técnica Klingler gracias al uso de disectores metálicos de punta fina para separar las fibras de sustancia blanca a lo largo de su curso natural (5, 31).
- Rentabilidad: Se destaca que la técnica Klingler aplicada en cerebros de vaca permite obtener modelos neuroanatómicos similares al cerebro humano, siendo más rentable el procedimiento y facilita el aprendizaje de la neuroanatomía (16, 22).
- Reduce la neurofobia: La existencia de cerebros bien conservados y muy bien disecados desempeña un papel esencial en la mejora del aprendizaje efectivo de la neuroanatomía y ayuda a reducir el temor (neurofobia) que a veces sienten los estudiantes hacia esta materia (8).

Ventajas de incorporar la técnica de disección de Klingler en la formación clínico-neuroquirúrgica

- Planificación quirúrgica: Mejora la seguridad y la eficacia de las técnicas quirúrgicas al abordar lesiones cerebrales, ya que la práctica de abordajes quirúrgicos resulta efectiva debido a que las características anatómicas de las fibras disecadas en el cerebro bovino, mediante la técnica Klingler, son similares a las fibras blancas en el cerebro humano (6).
- Comprensión topográfica de la neuroanatomía: Algunos estudios recalcan que, con base en la técnica Klingler, se pueden organizar arquitectónicamente los tractos de fibras de sustancia blanca en cinco grupos:
 - ✓ Tractos superficiales, medios y profundos, los tres compuestos por fibras de asociación.

- ✓ Tractos centrales, compuestos por fibras comisurales.
- ✓ Tractos verticales, compuestos por fibras de proyección (6, 19).
- Facilita la correlación de diagnósticos clínicos con diagnósticos topográficos (8, 27).

Ventajas de incorporar la técnica de disección de Klingler en la formación de neurorradiología

La incorporación de la técnica de disección de la sustancia blanca en la formación de neurorradiología mejora la interpretación de estudios de imágenes y enriquece el conocimiento sobre la anatomía cerebral, mejorando los estudios de imágenes modernos de la siguiente manera (31):

- Reconstrucción de tractos de fibra con alta precisión: Se puede seleccionar los puntos de siembra de manera que son importantes para reconstruir los tractos de fibras y comprender las conexiones cerebrales, por ejemplo, las conexiones occipito-frontales entre las áreas 8 y 9 de Brodmann (lóbulo frontal) y las áreas 17, 18 y 19 de Brodmann (lóbulo occipital); y las conexiones occipito-parietales, entre las áreas 39 y 40 de Brodmann (lóbulo parietal) y las áreas 17, 18 y 19 de Brodmann (lóbulo occipital) (15).
- Estas correlaciones anatómicas son esenciales para entender cómo estas áreas específicas del cerebro se conectan entre sí y cuáles son las funciones cerebrales asociadas a ellas.
- Análisis comparativo de las imágenes obtenidas, evaluando las características anatómicas reveladas. Esto mejora la precisión de la técnica, garantizando una representación con alta precisión de la anatomía subyacente (31).
- Identificación de artefactos y limitaciones: Ayuda a detectar problemas como el «cruce» y la «terminación» en ITD. Al comprender las limitaciones de las técnicas de imagen, los investigadores pueden mejorar la interpretación y la confiabilidad de los resultados.
- Enriquecimiento del conocimiento: Su inclusión en la formación en neurorradiología enriquece el conocimiento sobre la anatomía cerebral y la organización de las vías de la sustancia blanca (31).

Adicionalmente, la técnica Klingler también es de relevancia en el campo de la investigación en neurociencias, porque proporciona piezas anatómicas

de calidad, bases para ciertos estudios, como los de tractografía, los cuales mapean las conexiones cerebrales y comprenden la conectividad funcional del cerebro (6).

Una mirada a la técnica de Klingler y las innovaciones tecnológicas

La técnica Klingler permitió la reconstrucción en el espacio de tractos de fibras de sustancia blanca mediante resonancia magnética, lo que proporciona datos anatómicos detallados a nivel macroscópico del conectoma: detalles morfológicos de los tractos, conexiones corticales y la posibilidad de validar directamente la tractografía de difusión (25).

La técnica de disección de sustancia blanca se usa en la investigación anatómica para crear modelos 3D y simulaciones de realidad aumentada (AR) y realidad virtual (VR) en la educación médica. Estos modelos son interactivos y se utilizan en todos los niveles de la educación médica. Están de moda porque implican un menor gasto económico en comparación con otras modalidades de adquisición de imágenes, como la tomografía axial computarizada (TAC) o la resonancia magnética nuclear (RMN); asimismo, son de fácil acceso para múltiples usuarios debido a su formato digital, sin el inconveniente de la descomposición cadavérica, y pueden imprimirse en 3D con el equipo necesario, por lo que se le considera una buena herramienta que complementa la educación médica. Su popularidad está en constante crecimiento (22, 25). Los cerebros cadavéricos preparados mediante el método Klingler fueron seccionados en planos axiales, sagitales y coronales (8, 32), y fotografiados para crear los modelos 3D utilizados en las simulaciones de AR y VR (10, 11). Asimismo, practicaron la fotogrametría con cámaras como la Canon EOS 1300D, con la que, posteriormente, mediante el uso de la interfase dinámica tridimensional en el *software* Adobe Flash CS3 Professional o con el *software* Anaglyph Workshop, se recopilaron datos cuantitativos sobre las distancias entre los puntos de referencia corticales y los tractos de sustancia blanca. La técnica proporcionó visualización detallada, mediciones cuantitativas y estimaciones de volumen, lo que ofrece aplicaciones potenciales en la investigación en neurocirugía y neurociencia (29, 33).

En casos de simulación de disección se realizaron cinco etapas de disección, abordando la superficie cortical, las fibras intergiraes cortas, el fascículo longitudinal superior posterior e indirecto, y el fascículo arqueado. Tras cada etapa, se capturaron imágenes fotogramétricas para registrar puntos en un modelo de resonancia magnética del espécimen. Se

tomaron múltiples medidas de distancias entre puntos de referencia en la corteza y tractos de sustancia blanca en el modelo fotogramétrico, donde se emplea la técnica Klingler para exponer las principales vías perisilvianas, incluyendo el fascículo longitudinal superior y el fascículo arqueado (11).

Para facilitar la disección propiamente dicha, algunos investigadores implementaron la asistencia de neuronavegación, que permite determinar con mayor precisión la proyección de las fibras de asociación, a medida que se avanza en cada etapa sucesiva de disección, ya que se vuelve cada vez más difícil evaluar las relaciones tridimensionales y proyectar los surcos y giros cerebrales sobre las estructuras subyacentes que se descubren en etapas posteriores de la disección. Dicha herramienta consiste en utilizar un sistema de navegación electromagnética sin marco de la empresa alemana Fiagon GmbH, el cual, mediante marcadores fiduciales previamente instalados que funcionan como puntos de referencia en un espacio 3D, permite el seguimiento de dichos marcadores como referentes de los tractos previamente marcados y delimitados hasta el final de la disección (10).

Otros investigadores, en lugar de facilitar la disección manual, proponen expresamente el uso de la tractografía como método de disección virtual de una pieza anatómica preparada previamente con la técnica Klingler, esto mediante ITD. El método de disección virtual implica la creación de superficies de disección curvas paralelas a los haces de fibras de interés, lo que permite la visualización de la disposición espacial de los tractos de fibras y las estructuras anatómicas circundantes. El sistema también incorpora mapeo de texturas de difusión para mostrar la orientación de las fibras locales en las superficies de disección (2, 33). A continuación, se detallan los pasos para la creación del modelo:

1. Adquisición de datos ITD: Se obtiene un conjunto de datos ITD de alta calidad mediante resonancia magnética. Esto implica medir el movimiento direccional de las moléculas de agua en el cerebro (2).
2. Preprocesamiento de datos: Los datos ITD se preprocesan para corregir el movimiento y los artefactos, así como para desenvolver imágenes distorsionadas (2).
3. Modelación de las configuraciones de las fibras: Se realiza un modelado de vóxeles para reconstruir las configuraciones de fibras en cada vóxel cerebral. Esto se hace usando una técnica llamada deconvolución esférica restringida, que estima la

función de respuesta a partir de vóxeles con alta anisotropía fraccional (2).

4. Tractografía: La tractografía se realiza utilizando un método llamado racionalización o seguimiento probabilístico. Las regiones semilla, de inclusión y de exclusión se segmentan manualmente desde el mapa de anisotropía fraccional. Se genera cierto número de fibras en cada tracto, utilizando una restricción de radio de curvatura (2).
5. Visualización de los tractos: Los tractos de fibra reconstruidos se visualizan en 2D o 3D utilizando herramientas de *software*. Esto permite la visualización de las complejas relaciones espaciales de los tractos de sustancia blanca en el cerebro (2).

Klingler orientado al abordaje quirúrgico

En el campo de la neurocirugía funcional, la precisión en la identificación de los tractos de asociación, tractos de fibras comisurales y tractos de fibras de proyección durante la cirugía es crucial para evitar daños en áreas cerebrales críticas y preservar la función cerebral. Ello contribuye al enfoque de la cirugía basada en evidencia, donde las técnicas y los enfoques quirúrgicos se derivan de una sólida evidencia científica y se implementan de manera segura, efectiva y reproducible en el entorno intraoperatorio (34, 35).

La técnica Klingler ayuda a comprender la arquitectura tridimensional de los sistemas de sustancia blanca, facilitando la planificación y la ejecución de procedimientos neuroquirúrgicos, identificando relaciones espaciales entre los tractos de sustancia blanca y otras estructuras, lo que es crucial para la estimulación cerebral profunda y el abordaje o resección funcional de lesiones cerebrales intrínsecas y en el tratamiento de patologías como los gliomas. Los datos numéricos pueden ayudar a los neurocirujanos en el tratamiento de lesiones cerebrales en áreas paraventriculares y ventriculares, así como en la estimulación cerebral profunda (20, 35).

Esta técnica permite la disección microscópica y la identificación de las fibras en la región temporal, revelando la organización de la sustancia blanca y los fascículos de asociación, proyección y comisurales más importantes. También facilita y mejora la visualización y comprensión de estructuras de la anatomía operativa e intraoperatoria, como el fascículo longitudinal superior, la cápsula externa y extrema, el fascículo uncinado, el fascículo fronto-occipital inferior, la comisura anterior, la cápsula interna y las radiaciones ópticas; incluso se describen técnicas de disección

específicas, como la disección aracnoidea de la cisterna de Silvio y la disección de la arteria temporal superficial. Estos hallazgos han enriquecido nuestro entendimiento de la organización tridimensional de la sustancia blanca en el lóbulo temporal y han influido en enfoques quirúrgicos en esta región (18, 34, 35).

Hallazgos histológicos luego de la aplicación de la técnica de disección Klingler

Tras la aplicación de la técnica Klingler, se observan cambios histológicos en la estructura del tejido cerebral, particularmente en términos del espacio extracelular y la preservación de los axones y las vainas de mielina. Consecuentemente al proceso de congelamiento y descongelamiento, que macroscópicamente se evidencia como la formación de espacios en los cristales de hielo, a nivel microscópico se aprecian los siguientes hallazgos:

- Creación de lagunas interaxonales (expansión del espacio extracelular): Se describe un espacio extraaxonal agrandado entre las fibras, que genera discontinuidades o lagunas y divide el tejido cerebral en haces de axones formados por la elevación de estos.
- Destrucción de estructuras extracelulares, la neuroglia, pero con preservación parcial de las vainas de mielina, sin interrupción de estas por lagunas o discontinuidades, con consecuente preservación de la estructura axonal.

Estos cambios facilitan enormemente la disección de las piezas anatómicas preparadas según la técnica de Klingler, y que, también por los cruces de fibras, los diseccionadores se ven obligados a dañar la integridad de las fibras que se cruzan con aquel tracto de fibras de interés diseccionado (26, 36). Finalmente, esta técnica desarrollada por Klingler en 1956 (37) es de gran relevancia para el aprendizaje neuroanatómico, y requiere mayor investigación para el desarrollo de modelos educativos, no solo en pregrado, sino también para el aprendizaje aplicado en neurología, psiquiatría y neurocirugía.

CONCLUSIONES

El método de Klingler para la disección de fibras blancas, desde su creación, ha significado un hito en el campo de las neurociencias. Con los años ha servido para diferentes fines, desde obtener descripciones y modelos anatómicos detallados que facilitan la comprensión, el aprendizaje, la investigación y la nomenclatura de la complicada organización y

correlaciones de los tractos de fibras de sustancia blanca, hasta la práctica y la simulación en la educación clínico-quirúrgica, incluyendo la comprensión de las correlaciones entre diversas estructuras cerebrales, exploración de nuevos abordajes o técnicas en intervenciones neuroquirúrgicas y la neuroimagen mediante el estudio y la interacción con modelos tridimensionales, tanto físicos como virtuales, de los tractos de fibras de sustancia blanca. Adicionalmente al valor empírico de los avances obtenidos con el método de Klingler, se ha demostrado, mediante estudios histológicos, el valor objetivo de la aplicación de esta técnica como un facilitador para la disección de fibras de sustancias blancas. De esta manera, quedan demostradas la trascendencia, la utilidad y la reproducibilidad del método de disección de Klingler y de los resultados obtenidos con su aplicación en las diferentes áreas de las neurociencias.

Conflicto de intereses: Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

Financiamiento: Investigación financiada por la Universidad Andina del Cusco, con Resolución n.º 021-2023-VRIN-UAC.

Contribución de autoría: Todos los autores contribuyeron con la elaboración del presente manuscrito.

REFERENCIAS

1. Agrawal A, Kapfhammer JP, Kress A, Wichers H, Deep A, Feindel W, et al. Josef Klingler's models of white matter tracts: influences on neuroanatomy, neurosurgery, and neuroimaging. *Neurosurgery* [Internet]. 2011; 69(2): 238-254. Disponible en: <https://doi.org/10.1227/NEU.0b013e318214ab79>
2. Arnts H, Kleinnijenhuis M, Kooloos JG, Schepens-Franke AN, van Cappellen AM. Combining fiber dissection, plastination, and tractography for neuroanatomical education: revealing the cerebellar nuclei and their white matter connections. *Anat Sci Educ* [Internet]. 2014; 7(1): 47-55. Disponible en: <https://doi.org/10.1002/ase.1385>
3. Mandonnet E, Sarubbo S, Petit L. The nomenclature of human white matter association pathways: proposal for a systematic taxonomic anatomical classification. *Front Neuroanat* [Internet]. 2018; 12: 94. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnana.2018.00094>
4. De Castro I, de Holanda D, Paes dos Santos D, Landeiro JA. Internal structure of the cerebral hemispheres: an introduction of fiber dissection technique. *Arq Neuro-Psiquiatr* [Internet]. 2005; 63(2a): 252-258. Disponible en: <https://doi.org/10.1590/s0004-282x2005000200011>
5. Silva SM, Andrade JP. Neuroanatomy: the added value of the Klingler method. *Ann Anat* [Internet]. 2016; 208: 187-193. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2016.06.002>
6. Wysiański G, Clarke E, Polgaj M, Haladaj R, Żytkowski A, Topol M. Klingler's method of brain dissection: review of the technique including its usefulness in practical neuroanatomy teaching, neurosurgery and neuroimaging. *Folia Morphol* [Internet]. 2019; 78(3): 455-466. Disponible en: <https://doi.org/10.5603/2FFM.a2018.0113>
7. Gurses ME, Gungor A, Gökalp E, Hanalioglu S, Karatas SY, Tatar I, et al. Three-dimensional modeling and augmented and virtual reality simulations of the white matter anatomy of the cerebrum. *Oper Neurosurg* [Internet]. 2022; 23(5): 355-366. Disponible en: <https://doi.org/10.1227/ons.0000000000000361>
8. Nardi L, Schmeisser MJ, Schumann S. Fixation and staining methods for macroscopical investigation of the brain. *Front Neuroanat* [Internet]. 2023; 17: 1200196. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fnana.2023.1200196>
9. Stephen SF. Preparation of permanent neuroanatomical specimens by Klingler's method of dissection and standard S-10 plastination technique. *Univ J Pre Paraclin Sci* [Internet]. 2019; 5(8): 18-20. Disponible en: <https://paper.researchbib.com/view/paper/230377>
10. Bykanov AE, Pitskhelauri D, Batalov AI, Trube M, Danilov G, Golbin D. Anatomical and technical preparations of the human brain for white matter fibers dissection with electromagnetic neuronavigation assistance technical nuances for application. *World Neurosurg* [Internet]. 2022; 168: 173-178. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2022.09.122>
11. De Benedictis A, Nocerino E, Menna F, Remondino F, Barbareschi M, Rozzanigo U, et al. Photogrammetry of the human brain: a novel method for three-dimensional quantitative exploration of the structural connectivity in neurosurgery and neurosciences. *World Neurosurg* [Internet]. 2018; 115: e279-e291. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2018.04.036>
12. Dziedzic TA, Balasa A, Jeżewski MP, Michałowski Ł, Marchel A. White matter dissection with the Klingler technique: a literature review. *Brain Struct*

- Funct [Internet]. 2021; 226(1): 13-47. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00429-020-02157-9>
13. Latini F, Hjortberg M, Aldskogius H, Ryttefors M. The use of a cerebral perfusion and immersion-fixation process for subsequent white matter dissection. *J Neurosci Methods* [Internet]. 2015; 253: 161-169. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.jneumeth.2015.06.019>
 14. Latini F. New insights in the limbic modulation of visual inputs: the role of the inferior longitudinal fasciculus and the Li-Am bundle. *Neurosurg Rev* [Internet]. 2015; 38(1): 179-190. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s10143-014-0583-1>
 15. Otegui GH, Morán G, Conesa HA. Teoría anatómica de la construcción de la imagen visual. *Rev Arg Anat Clín* [Internet]. 2016; 5(1): 10-20. Disponible en: <https://doi.org/10.31051/1852.8023.v5.n1.14047>
 16. Patil S, Sethi M, Mishra S. Klingler's fiber dissection method-An assisting approach towards teaching neuroanatomy. *Int J Anat Res* [Internet]. 2018; 6(1.3): 5041-5045. Disponible en: <https://dx.doi.org/10.16965/ijar.2018.107>
 17. Pérez JC, Gallegos SP, Garduño P, Reyes G, Valderrama MR, Herrera I, et al. Estandarización del método Klingler y su visualización tridimensional. *Rev Hosp Juárez Méx* [Internet]. 2008; 75(2): 99-108. Disponible en: <https://www.medigraphic.com/cgi-bin/new/resumen.cgi?IDARTICULO=42179>
 18. Pescatori L, Tropeano MP, Manfreda A, Delfini R, Santoro A. Three-dimensional anatomy of the white matter fibers of the temporal lobe: surgical implications. *World Neurosurg* [Internet]. 2017; 100: 144-158. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2016.12.120>
 19. Shah A, Goel A, Jhavar SS, Patil A, Rangnekar R, Goel A. Neural circuitry: architecture and function—A fiber dissection study. *World Neurosurg* [Internet]. 2019; 125: e620-e638. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.01.139>
 20. Silva SM, Cunha-Cabral D, Andrade JP. Neurosurgical relevance of the dissection of the diencephalic white matter tracts using the Klingler technique. *Clin Neurol Neurosurg* [Internet]. 2017; 156: 35-40. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.clineuro.2017.03.001>
 21. Da Costa MD, Braga V, Yagmurlu K, Centeno R, Cavalheiro S, Chaddad-Neto F. A technical guide for fiber tract dissection of the internal capsule. *Turk Neurosurg* [Internet]. 2018; 28(6): 934-939. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.5137/1019-5149.JTN.20884-17.1>
 22. Uribe RA, coordinador. *Fisiopatología: La ciencia del porqué y el cómo*. Barcelona: Elsevier; 2018.
 23. Verhaeghe A, Decramer T, Naets W, van Paesschen W, van Loon J, Theys T. Posterior quadrant disconnection: a fiber dissection study. *Oper Neurosurg* [Internet]. 2018; 14(1): 45-50. Disponible en: <http://doi.org/10.1093/ons/opx060>
 24. Yaman ME, Izdes M, Senturk S, Osturk Y, Kazanci A. Fiber dissection training model for neurosurgical practice: white matter fiber dissection with Klingler's technique in bovine brain. *Neurol Sci Neurophysiol* [Internet]. 2014; 31(4): 783-789. Disponible en: https://www.researchgate.net/publication/295591973_Fiber_Dissection_Training_Model_for_Neurosurgical_Practice_White_Matter_Fiber_Dissection_with_Klingler's_technique_in_Bovine_Brain
 25. Zemmoura I, Serres B, Andersson F, Barantin L, Tauber C, Filipiak I, et al. FIBRASCAN: A novel method for 3D white matter tract reconstruction in MR space from cadaveric dissection. *NeuroImage* [Internet]. 2014; 103: 106-118. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neuroimage.2014.09.016>
 26. Zemmoura I, Blanchard E, Raynal PI, Rousselot-Denis C, Destrieux C, Velut S. How Klingler's dissection permits exploration of brain structural connectivity? An electron microscopy study of human white matter. *Brain Struct Funct* [Internet]. 2016; 221(5): 2477-2486. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00429-015-1050-7>
 27. Guerrero M, del Sol M, Ottone NE. Preparación de hemisferios cerebrales para disección de tractos. *Int J Morphol* [Internet]. 2019; 37(2): 533-540. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022019000200533>
 28. Ilgaz HB, Tatar I, Günes BE, Göçmen R. Applying a unified model of fiber dissection, tractography, microscopic anatomy and plastination techniques for basic neuroanatomy education: Hacettepe University experience. *Int J Morphol* [Internet]. 2022; 40(6): 1594-1601. Disponible en: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-95022022000601594>
 29. Capilla-Guasch P, Quilis-Quesada V, Regin-Neto M, Holanda VM, González-Darder JM, de Oliveira E. White matter relationships examined by transillumination technique using a lateral transcortical parietal approach to the atrium: three-dimensional images and surgical considerations. *World Neurosurg* [Internet].

- 2019; 132: e783-e794. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2019.08.018>
30. García-Feijoo P, Reghin-Neto M, Holanda V, Rassi MS, Saceda-Gutierrez JM, Carceller-Benito FE, et al. Disección didáctica de fibra blanca en cerebelo humano en tres pasos: entrenamiento microneuroanatómico. *Neurocirugía* [Internet]. 2022; 33(2): 61-70. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.neucir.2020.11.006>
 31. Liakos F, Koutsarnakis C. The role of white matter dissection technique in modern neuroimaging: can neuroradiologists benefit from its use? *Surg Radiol Anat* [Internet]. 2016; 38(2): 275-276. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00276-015-1546-0>
 32. Gurses ME, Hanalioglu S, Mignucci-Jiménez G, Gökalp E, Gonzalez-Romo NI, Gungor A, et al. Three-dimensional modeling and extended reality simulations of the cross-sectional anatomy of the cerebrum, cerebellum, and brainstem. *Oper Neurosurg* [Internet]. 2023; 25(1): 3-10. Disponible en: <https://doi.org/10.1227/ons.0000000000000703>
 33. Anwander A, Schurade R, Hlawitschka M, Scheuermann G, Knösche TR. White matter imaging with virtual klingler dissection. *NeuroImage* [Internet]. 2009; 47(supl. 1): S105. Disponible en: [https://doi.org/10.1016/S1053-8119\(09\)70916-4](https://doi.org/10.1016/S1053-8119(09)70916-4)
 34. Komaitis S, Stranjalis G, Kalamatianos T, Drosos E, Kalyvas AV, Skandalakis GP, et al. A stepwise laboratory manual for the dissection and illustration of limbic and paralimbic structures: lessons learned from the Klingler's technique. *Surg Radiol Anat* [Internet]. 2022; 44(7): 1045-1061. Disponible en: <https://doi.org/10.1007/s00276-022-02981-0>
 35. Ahumada-Vizcaino JC, Wuo-Silva R, Hernández MM, Chaddad-Neto F. The art of combining neuroanatomy and microsurgical skills in modern neurosurgery. *Front Neurol* [Internet]. 2023; 13: 1076778. Disponible en: <https://doi.org/10.3389/fneur.2022.1076778>
 36. Ballesteros-Herrera D, Yagmurlu K, Guinto-Nishimura GY, Ramirez-Stubbe V, Nathal-Vera E, Baldoncini M, et al. Photo-stacking technique for neuroanatomical high-definition photography and 3-dimensional modeling. *World Neurosurg* [Internet]. 2023; 177: e288-e293. Disponible en: <https://doi.org/10.1016/j.wneu.2023.06.035>
 37. Klingler J, Ludwig E. *Atlas Cerebri Humani*. Switzerland: Karger Publishers; 1956.