



EFECTO DE LA PREPARACIÓN BIOMECÁNICA CON LOS SISTEMAS DE LIMA ÚNICA WAVEONE GOLD, RECIPROC BLUE Y XP ENDOSHAPER EN LA EXPRESIÓN DE SUSTANCIA P Y EL PÉPTIDO RELACIONADO CON EL GEN DE LA CALCITONINA EN LIGAMENTO PERIODONTAL HUMANO.

Fabiana Victoria Laguna Rivero¹, Margarita Yulieth Rey Rojas¹, Javier Caviedes Buchelli², Nestor Rios Osorio³.

Autor responsable de correspondencia: Javier Caviedes Buchelli

Correo electrónico: javiercaviedes@gmail.com

Caviedes-Bucheli J, Laguna Rivero F, Rey M. Efecto de la preparación biomecánica con los sistemas de lima única WaveOne gold, Reciproc blue y XP EndoShaper en la expresión de sustancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina en ligamento periodontal de premolares inferiores humanos.

RESUMEN

Introducción: El objetivo de este estudio fue cuantificar la expresión de sustancia P (SP) y CGRP, dentro del ligamento periodontal de premolares humanos después de la preparación del conducto radicular con tres sistemas rotatorios de lima única. **Métodos:** Cincuenta muestras de ligamentos periodontales se obtuvieron de premolares inferiores humanos sanos en los que se indicó extracción por fines ortodónticos. Antes de la extracción, 40 de estos premolares se asignaron a cuatro sistemas de instrumentación diferentes: grupo 1: sistema rotativo Reciproc blue, grupo 2: sistema rotativo WaveOne Gold, grupo 3: sistema rotativo XP EndoShaper y grupo 4: técnica de instrumentación manual (grupo control positivo). Los 10 premolares restantes sirvieron como grupo control negativo. Todas las muestras del ligamento periodontal se procesaron, y SP y CGRP se midieron por radioinmunoanálisis. **Resultados:** se encontró una mayor expresión de SP y CGRP en el grupo de instrumentación manual seguido por el grupo XP -EndoShaper, el grupo WaveOne Gold y el grupo Reciproc blue. Los valores más bajos de SP y CGRP fueron para el grupo de control negativo. La prueba de Kruskal Wallis mostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0,0001$). La prueba post hoc mostró diferencias estadísticamente significativas ($p > 0.05$) en la expresión de SP y CGRP entre todas las comparaciones, excepto para el WaveOne Gold y el Reciproc blue ($p > 0.05$). **Conclusión:** Todos los sistemas rotatorios evaluados generan expresión de neuropéptidos, donde el XP EndoShaper de rotación continua generó mayor expresión que los sistemas recíprocos como WaveOne gold y Reciproc blue.

Palabras claves: Ligamento periodontal humano, sustancia P, péptido relacionado con el gen de la calcitonina, sistema rotatorio, inflamación neurogénica.

ABSTRACT

Introduction: The aim of this study was to quantify the substance P (SP) and CGRP expression, within human periodontal ligament from premolars after root canal preparation with three single file endodontic systems. **Methods:** Fifty periodontal ligament samples were obtained from healthy human lower premolars in which orthodontic extraction was indicated. Before extraction, 40 of these premolars were assigned into four different instrumentation systems: group 1: Reciproc blue rotary system, group 2: WaveOne Gold rotary system, group 3: XP-EndoShaper rotary system and group 4: manual instrumentation technique (positive control group). The remaining 10 healthy premolars served as a negative control group. All samples from the periodontal ligament were processed, and SP and CGRP were measured by radioimmunoassay. **Results:** greater expression of SP and CGRP was found in the manual instrumentation group followed by the XP -EndoShaper group, WaveOne Gold group and the Reciproc groups. The lowest values of SP and CGRP were for the negative

control group. The Kruskal Wallis test showed statistically significant differences between the groups ($p < 0.0001$). Post hoc least significant differences (LSD) test showed statically significant differences ($p > 0.05$) in SP and CGRP expression between all the comparison except for the WaveOne gold and Reciproc blue ($p > 0.05$). **Conclusion:** All the rotary systems evaluated in this study generate neuropeptide expression, where the XP EndoShaper despite being a continuous rotation system generated greater expression than the reciprocal systems such as WaveOne gold and Reciproc blue.

Key words: Human periodontal ligament, Substance P, Peptide related to the calcitonin gene, Rotating system, Neurogenic inflammation.

- 1- Odontólogos. Residentes del programa de Especialización del Postgrado de Endodoncia.
- 2- Odontólogo. Especialista en Endodoncia. Asesor científico.
- 3- Odontólogo. Especialista en Endodoncia. Asesor metodológico.

Introducción:

El fenómeno inflamatorio neurogénico post-endodóntico, asociado al ligamento periodontal (LP) se denomina clínicamente periodontitis apical sintomática (PAS). Dicho fenómeno es una de las problemáticas más comúnmente asociadas al desarrollo de dolor post-tratamiento. Durante las primeras 24 y 48 horas la inflamación se presenta en un porcentaje de 40-65 %, y la tasa disminuye al 11% durante los 7 días siguientes (1). La periodontitis apical sintomática se origina debido al trauma mecánico y químico que se presenta durante la preparación, como el calor por fricción generado por el instrumento rotando dentro del conducto, al sobrepaso de irritantes como sustancias irrigadoras por presión durante la irrigación, la extrusión de detritus, como tejido pulpar vital o necrótico, microorganismos y materiales inerte (2, 3).

La PAS es considerada una inflamación de naturaleza neurogénica, donde el sistema nervioso ejerce control y gobierna al sistema vascular y al sistema inmune, por medio de la liberación de neuropéptidos tales como, la sustancia P (SP) y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina (CGRP) (1, 2).

La SP y el CGRP son neuropéptidos somato sensoriales, que se originan en el ganglio trigeminal y son transportados a las terminales nerviosas del ligamento periodontal donde son almacenados; estos se localizan en las fibras amielínicas tipo C (4).

La SP contiene 11 aminoácidos, y tiene como función, bajo una injuria, potencializar los efectos de la inflamación; actúa por medio de receptores, denominados neuroquinina (NK1, NK2 y NK3) (5). El CGRP, es un neuropéptido de 37 aminoácidos, asociado a la familia de los péptidos denominados calcitoninas; este produce inmunosupresión, debido a que inhibe la proliferación de linfocitos T inducida por mitógenos; ejerce su efecto en los tejidos mediante la unión a las células diana que expresan el receptor-1 (CGRP1) o receptor-2 (CGRP2) (5, 6, 7)

Estos neuropéptidos son capaces de desencadenar la activación de vasodilatación, siendo la SP el componente inicial de la respuesta vasodilatadora, mientras que el aumento prolongado del flujo vascular es dependiente del CGRP. Se ha reportado que el CGRP prolonga el efecto de la SP inhibiendo la degradación enzimática de la misma, por consiguiente ocurre una extravasación del

plasma, lo cual genera un enlentecimiento del flujo sanguíneo, controlando de tal manera al sistema vascular; como consecuencia de este proceso hay una activación del sistema inmunológico donde ocurre un reclutamiento y/o regulación de células inflamatorias quimiotácticas, tales como macrófagos, mastocitos y linfocitos, controlando el sistema inmune (2, 8).

El enlentecimiento del flujo sanguíneo genera un acumulo de mediadores de la inflamación, tales como prostaglandina, interleuquinas, citoquinas y tromboxanos, lo cual, genera una magnificación del fenómeno inflamatorio en el ligamento periodontal, siendo la razón de las manifestaciones clínicas de dolor asociadas a la periodontitis apical sintomática, debido al trauma mecánico y químico, generado durante la preparación biomecánica (2, 9).

A lo largo de los años la terapia endodóntica convencional ha sido llevada a cabo por diferentes tipos de instrumentos, utilizados bajo distintas cinemáticas de movimiento; desde las limas manuales de acero inoxidable, utilizadas con movimientos de tracción y pulsión, que por el perfil de sección cuadrada o triangular, y conicidad .02, hace que estas sean más rígidas (2), y exista mayor presión y extrusión de detritus durante la preparación biomecánica, lo cual genera la periodontitis apical sintomática, por inflamación del LP (8).

Para mejorar esta problemática, surgieron los sistemas rotatorios de níquel titanio de rotación continua, esta aleación ofrece una gran flexibilidad, súper elasticidad, y una preparación más centrada (8); Dentro de la modificación en su diseño fueron aumentadas sus conicidades, cambiaron los perfiles de sección, puntas y ángulos helicoidales, y así fue posible la reducción del número de instrumentos para la conformación del conducto radicular, aunque seguían siendo una secuencia de limas (2). Existen estudios donde han reportado que sistemas de rotación continua como ProTaper Universal (Dentsply Maillefer Ballaigues, Suiza), MTWO (VDW Munich, Alemania) y RaCe (FKG, La Chaux-de-Fonds, Suiza), generan expresión de neuropéptidos a pesar de los cambios ya mencionados anteriormente, siendo el sistema rotatorio Protaper Universal, el que generó mayor liberación de SP y CGRP. Sin embargo no lograron controlar la periodontitis apical sintomática post-tratamiento, ni la disminución de expresión de neuropéptidos (1, 8).

Dentro de este contexto surgieron los instrumentos de lima única, como el Reciproc (VDW Munich, Alemania) y Waveone (Dentply Maillefer Ballaigues, Suiza), con movimiento alterno recíprocante en sentido antihorario y horario, con diferentes perfiles de sección, ángulos helicoidales, y puntas (2). Este sistema de limas rota en 360° después de haber realizado tres ciclos de corte en el movimiento antihorario y un desenganche en el sentido horario; los objetivos de esta nueva técnica fueron disminuir la tensión ejercida, la reducción en la secuencia de limas, evitando así el trauma generado por la preparación biomecánica y por ende la liberación de neuropéptidos (2, 10, 11); existen estudios donde midieron la expresión de SP y CGRP, y comprobaron que el sistema rotatorio Waveone (Dentply Maillefer Ballaigues, Suiza) expresó un 50 % más de neuropéptidos que el sistema rotatorio Reciproc (VDW Munich, Alemania), debido a sus características de diseño, considerándolo de mayor masa que el que presenta el sistema Reciproc (1, 2).

Como estos sistemas rotatorios siguieron generando inflamación del LP, por ende periodontitis apical sintomática, los avances tecnológicos ponen a disposición hoy en día, nuevas limas únicas como el Reciproc blue (VDW Munich, Alemania), que es un sistema de lima única con movimiento alterno recíprocante donde el instrumento es impulsado en una dirección de corte en sentido antihorario de 150° y luego se produce un giro en sentido inverso de 30° con una velocidad de 300rpm; presenta una aleación denominada Blue NITI, sometida a un tratamiento de calentamiento-enfriamiento que resulta en una capa de óxido de titanio visible en la superficie del instrumento, lo que le da un aspecto azul (12), este proceso cambia la estructura molecular y aumenta sus propiedades de resistencia y flexibilidad; tiene una sección transversal en forma de S, presenta 2 filos cortantes, y una punta no cortante (13).

El sistema rotatorio Waveone gold (Dentply Maillefer Ballaigues, Suiza), es un sistema de lima única con movimiento recíprocante, donde el instrumento es impulsado en una dirección de corte en sentido antihorario de 170° y luego se produce un giro en sentido inverso de 50° con una velocidad de 350rpm; presenta una aleación denominada Gold, con un tratamiento térmico posterior a su fabricación, en la cual se ejecuta manualmente un calentamiento-enfriamiento, lo cual mejora la elasticidad de la lima y le da un aspecto dorado; Tiene una sección transversal de paralelograma

con 2 ángulos de corte, que reduce la masa del instrumento y proporciona espacio para liberar los detritus, tiene una conicidad variable entre sus instrumentos y presenta punta semiactiva (14, 15).

También surgió la lima XP- Endo shaper (FKG / Swiss endo, Suiza), es un sistema de lima única con movimiento continuo, utiliza una velocidad de 800- 1000rpm, presenta una aleación Max-wire, la cual le aporta dos propiedades fundamentales: súper elasticidad y memoria de forma, esta se adapta a los cambios según la temperatura y toma una forma predeterminada del conducto radicular; este sistema también presenta una punta activa con seis filos de corte denominada Booster tip (BT), que permite que el instrumento aumente constantemente su campo de trabajo hasta lograr un tamaño ISO 30. su forma preestablecida y su extrema flexibilidad permite que estos instrumentos se contraigan y se expandan dentro del propio conducto y lleguen a áreas donde los instrumentos convencionales no pueden acceder, presenta un perfil de sección triangular, presenta una conicidad inicial de 0,01, que se expande una vez dentro del conducto, logrando una conicidad de al menos 0,04 (16, 17).

Se han realizado estudios donde reportan la expresión de neuropéptidos en el ligamento periodontal de los dientes extraídos después de la preparación biomecánica con sistemas de rotación continua y sistemas recíprocante, donde han concluido que todos los sistemas rotatorios causan algún grado de extrusión apical, con una mayor extrusión de detritus con los sistemas de movimiento recíprocante en comparación con los sistemas de rotación continua. Concluyen que los resultados podrían explicarse por la cantidad de dentina cortada por el instrumento en un corto período de tiempo con los sistemas de lima única, y que la extrusión de detritus se asocia con la periodontitis apical sintomática post endodóntica (1).

Para este estudio las limas se escogieron en igualdad de condiciones: limas manuales Flexofile (Dentsply Maillefer Ballaigues, Suiza) desde lima #15 a la lima #40 con conicidad 0.2; Para el sistema rotatorio Reciproc blue (VDW Munich, Alemania) lima #25 con conicidad .08; para el sistema rotatorio Waveone Gold (Dentsply Maillefer Ballaigues, Suiza) lima #25 con conicidad .07 y para el sistema rotatorio Xp endo shaper (FKG / Swiss endo, Suiza) lima #30 con conicidad .01; estas fueron escogidas por las siguientes razones: el diámetro del foramen de los premolares, los cuales

presentan un diámetro aproximado de 0.28-0.35, los cuales se asemejan a los diámetros de estas limas; además son consideradas las limas universales de cada casa comercial (13, 15, 17, 18).

Este estudio se realizó in vivo en premolares humanos con indicación de exodoncia por fines ortodonticos, siendo un ensayo clínico controlado aleatorizado y estandarizado, donde se cuantificó objetivamente la expresión de SP y CGRP para evaluar la inflamación del LP, posterior a la preparación biomecánica por medio de los sistemas rotatorios de limas únicas, basado en los estándares de calidad de amstar y prisma (1, 19, 20)

Debido al nuevo diseño de estos instrumentos, cambios de aleación, diseño y tipo de movimiento, el propósito de este estudio es cuantificar los niveles de expresión de SP y CGRP en el ligamento periodontal humano posterior a la preparación con los sistemas de limas única, Reciproc blue (VDW Munich, Alemania), Wave one gold (Dentply Maillefer Ballaigues, Suiza) y XP-Endo shaper (FKG/ Swiss endo, Suiza), en premolares inferiores humanos.

Materiales y métodos:

Esta investigación es un estudio experimental in vivo, realizado bajo los parámetros de la resolución 8430 del 1993 del ministerio de salud de Colombia, la cual establece las normas técnicas científicas y administrativas para la investigación en salud, capítulo 1, que hace referencia a los aspectos éticos en la investigación en seres humanos; la cual se sometió a la aprobación por parte del comité de ética de la institución universitaria colegios de Colombia (UNICOC).

Se obtuvo consentimiento informado escrito de cada paciente participante en el estudio (donantes de 18-30 años, saludables, sin medicar, y no fumadores), 50 muestras de ligamento periodontal fueron obtenidas de 50 premolares inferiores, los cuales tenían indicación de exodoncia por razones ortodónticas. Todos los dientes usados estaban libres de caries y de restauraciones, con desarrollo radicular completo determinado tanto clínica como radiográficamente, sin signos de enfermedad periodontal u oclusión traumática y sin fuerzas ortodónticas. Los dientes tenían solo un conducto recto (curvaturas del conducto mayores a 25° no fueron incluidas).

Los dientes fueron igualmente divididos y asignados al azar en los siguientes 5 grupos: (A) Grupo control de dientes intactos (C-), (B) Instrumentación manual (C+), (C) Instrumentación con el sistema Reciproc blue (RB), (D) Instrumentación con el sistema WaneOne gold (WOG) y (E) Instrumentación con el sistema XP Endo shaper (XP). Todos los dientes fueron anestesiados con bloqueo del nervio dentario inferior, con 1.8 ml de prilocaina al 4% sin vasoconstrictor (Pricanest® Ropsohn Therapeutics LTDA, Bogotá, D.C, Colombia). La adecuada anestesia pulpar fue comprobada con la respuesta negativa al test de vitalidad eléctrico.

Las limas se escogieron en igualdad de condiciones: limas manuales Flexofile (Dentsply Maillefer Ballaigues, Suiza) desde lima la #15 a #40 con conicidad 0.2; lima #25 para el sistema rotatorio Reciproc blue (VDW Munich, Alemania) con conicidad 25/.08, lima #25 para el sistema rotatorio Waveone Gold (Dentsply Maillefer Ballaigues, Suiza) con conicidad 25/.07 y lima #30 para el sistema rotatorio Xp endo shaper (FKG / Swiss endo, Suiza) con conicidad 30/.01 (13, 15, 17).

Para el grupo control de premolares sanos sin ningún tipo de preparación, las extracciones fueron realizadas de forma supraósea por métodos convencionales sin lesiones excesivas al ligamento periodontal después de la aplicación de la anestesia.

Para el resto de los grupos los dientes fueron aislados con un dique de goma, se realizó profilaxis con agua oxigenada 5-10 minutos del premolar a preparar, antes de iniciar con el procedimiento; los accesos a la cavidad se realizaron con una pieza de mano de alta velocidad usando una fresa Zekrya bur (Dentsply, Tulsa, OK), La longitud de trabajo fue establecida con la ayuda de un localizador apical (Raypex 6 VDW, Munich, Alemania) ajustado a 0.5 mm y confirmado radiográficamente, con la ayuda de un posicionador Endoray (Dentsply Maillefer Ballaigues, Suiza), y finalmente los conductos radiculares fueron preparados con las recomendaciones de cada casa comercial, antes de la exodoncia de la siguiente manera: El grupo de instrumentación manual: los conductos radiculares fueron preparados con instrumentación manual usando limas flexofile con .02 de taper (Dentsply Mailler, Ballaigues, Suiza) de 10 a 40 a la longitud de trabajo con movimiento de limado (2, 8). El grupo Reciproc blue: los conductos radiculares fueron preparados usando el sistema Reciproc blue (VDW, Munich, Alemania) siguiendo la secuencia y recomendaciones estrictas según

la técnica de los fabricantes, se logró un acceso en línea recta al conducto durante la apertura, se realizó patencia con una lima #10 Kfile (dentsply maillefer) y se determinó la longitud de trabajo con una lima manual #15 flexofile (dentsply maillefer) se utilizó la lima #25/.08, seleccionada anteriormente, utilizando la lima con movimientos de entrada y salida con ligera presión apical combinable con cepillado lateral en tercio cervical, medio y apical, hasta alcanzar la longitud de trabajo, con irrigación con hipoclorito de sodio al 5.25% de 3ml por tercio (13). El grupo WaveOne gold: Los conductos radiculares fueron preparados usando el sistema WaveOne gold (Dentsply Maillefer, Balaigues, Suiza) siguiendo la secuencia y recomendaciones estrictas según la técnica de los fabricantes, se logró un acceso en línea recta durante la apertura, se realizó patencia del conducto con lima manual Kfile #10 (dentsply maillefer) y se realizó pre-ensanchamiento, luego se determinó la longitud de trabajo con una lima manual #15 flexofile (dentsply maillefer), se utilizó lima #25/.07, seleccionada anteriormente, utilizando la lima con movimientos de entrada y salida con ligera presión apical en tercio cervical, medio y apical, hasta alcanzar la longitud de trabajo, con irrigación con hipoclorito de sodio al 5.25% de 3ml por tercio (15). El grupo XP- endo shaper: los conductos radiculares fueron preparados usando el sistema XP- endo shaper (FKG / Swiss endo, Suiza) siguiendo la secuencia y recomendaciones estrictas según la técnica de los fabricantes, se logró un acceso en línea recta al conducto durante la apertura, se realizó patencia con una lima #10 Kfile (dentsply maillefer) y se determinó la longitud de trabajo con una lima #15 flexofile (dentsply maillefer) se utilizó lima #30/.01, seleccionada anteriormente, utilizando la lima con ligeros movimientos de entrada y salida de 3-5 veces en tercio cervical, medio y apical, hasta alcanzar la longitud de trabajo, con irrigación con hipoclorito de sodio al 5.25% de 3ml por tercio (17).

Las preparaciones del conducto radicular fueron realizadas por un solo operador para evitar la variación. Para la técnica de preparación manual utilizada en este estudio, consistió de 7 limas y para el sistema Reciproc blue, Wave One gold y XP Endo shaper, se usó una lima única. Las limas fueron usadas una sola vez y luego descartadas, el tiempo de preparación no excedió los 5 minutos para cada diente en la técnica manual y con los sistemas de lima única no excedió más de un minuto. La permeabilidad apical fue verificada en todos los grupos con una lima K # 10 (Dentsply Maillefer, Ballaigues, Suiza). Los conductos fueron irrigados con 1.5 ml de hipoclorito de sodio al 5.25% entre

cada lima con una jeringa Monojet con una aguja 30-G puesta 3 mm cerca de la longitud de trabajo con la instrumentación manual, y con los sistemas de lima única se irrigó 3ml de hipoclorito de sodio al 5.25% por tercios y estandarizar de esta manera el volumen del irrigante para todas las técnicas de preparación, con un total de 9ml para cada diente preparado. Se realizó exodoncia de los premolares fueron realizadas de forma supraósea por métodos convencionales sin lesiones excesivas al ligamento periodontal.

Después de la extracción, una lima k # 10 fue colocada en el conducto hasta que su punta sobresaliera del agujero para corroborar la permeabilidad apical y que todas las longitudes de trabajo fueran a 0.5 mm del foramen apical.

El tiempo de la exodoncia no excedió los 5 minutos. Las muestras de ligamento periodontal fueron obtenidas de los 3 mm apicales de la raíz con una hoja de bisturí No. 15 y puesta en un tubo de Eppendorf con 0.5ml de paraformaldehído al 4%, luego se congelaron en hielo seco y fueron almacenadas a -70°C hasta ser procesadas por la prueba de radioinmunoanálisis.

Radioinmunoanálisis:

Las muestras del ligamento periodontal fueron descongeladas gradualmente, secadas sobre un papel absorbente con el fin de retirar el exceso de paraformaldehído, para luego ser pesados en balanza analítica. Las muestras fueron colocadas dentro de tubos plásticos de 1,5 mL con 250 µL de ácido acético en presencia de inhibidores de proteasas (PMSF 1 mM, pepstatina 1 µM, aprotinina 1 µg/mL, leupeptina 1 µg/mL y ortovanadato sódico 1 mM). Estos tubos fueron sellados con papel parafinado, y se llevaron a ebullición en un baño maría por 10 minutos, con el fin de realizar la extracción de los péptidos del tejido. El tejido luego de la extracción se centrifugó a 3000 rpm durante 10 minutos y el sobrenadante (extracto) conteniendo los péptidos fue transferido a otro tubo plástico de 1,5 mL. Posteriormente en tubos de ensayo de polipropileno, 100 µL de extracto de cada muestra fueron utilizados en las pruebas de competencia tanto para SP como para CGRP, usando los kits de radioinmunoensayo (Phoenix Pharmaceuticals, Inc. Belmont, CA, USA: RK-015-02 CGRP (Human) y RK-061-05 Substance P (Human, rat, Mouse)).

Se realizó una primera incubación con 100 µL de una dilución 1:100 de anti- SP (o de anti-CGRP). De la misma manera, se incubaron simultáneamente 100 µL de SP (o de CGRP) estándar a diferentes concentraciones (para la construcción de la curva de calibración) con la misma cantidad del primer anticuerpo anti-SP (o de anti-CGRP). Después de la primera incubación (16 h), se adicionaron 100 µL de ^{125}I -SP (o de ^{125}I -CGRP) (8000-10000 cpm/100 µL) a todos los tubos para una segunda incubación de 16 h. Luego de transcurrido este tiempo, se adicionaron 100 µL de segundo antisuero y 500 µL de solución amortiguadora con polietilenglicol 1%, para separar por centrifugación por 45 minutos a 3500 rpm las fracciones unidas de las fracciones libres, Los sobrenadantes se decantaron y la radioactividad de los precipitados obtenidos en cada tubo se leyó con un Contador Gamma (Gamma Assay LS 5500 Beckman). Se utilizó el análisis *scatchard* sobre la fracción unida para señalar la cantidad de SP y CGRP presente en cada muestra (21).

Resultados:

Se analizaron los datos provenientes de 50 muestras de ligamento periodontal clasificadas en 5 grupos de 10 muestras cada una de la siguiente manera: Grupo A) ligamento periodontal sano (control negativo), grupo B) ligamento periodontal de dientes instrumentados con técnica manual (control positivo), grupo C) ligamento periodontal de dientes instrumentados con Reciproc Blue, grupo D) ligamento periodontal de dientes instrumentados con WaveOne Gold; y grupo E) ligamento periodontal de dientes instrumentados con XP EndoShaper. Para cada muestra se midió la expresión de SP y CGRP expresada en pmol de neuropéptido por mg de ligamento periodontal.

Con relación a la expresión de SP en ligamento periodontal, se observa que la misma fue de 0.43110 ± 0.04178 para el grupo de ligamento sano, en tanto que la mayor expresión de SP fue encontrada en el grupo de instrumentación manual la cual fue de 1.20943 ± 0.11431 , seguida por el grupo de XP EndoShaper con una expresión de 0.84053 ± 0.05175 , el grupo de WaveOne Gold con una expresión de 0.53132 ± 0.04974 , y por el grupo de Reciproc Blue que obtuvo una expresión de 0.52087 ± 0.04039 .

La figura 1 muestra gráficamente el comportamiento de la expresión de SP en ligamento periodontal en los diferentes grupos analizados.

Puesto que la prueba de Kruskal Wallis demostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0.001$) se realizaron pruebas post-hoc de comparación entre grupos con la prueba U de Mann-Whitney. Tanto el grupo de ligamento sano como el grupo de instrumentación manual y el grupo XP EndoShaper, mostraron diferencias estadísticamente significativas con todos los demás grupos. El grupo Reciproc Blue mostró diferencias significativas con los demás grupos excepto con el grupo WaveOne Gold ($p = 0.481$). De igual forma el grupo WaveOne Gold mostró diferencias significativas con los demás grupos excepto con el grupo Reciproc Blue.

Con relación a la expresión de CGRP en ligamento periodontal, se observa que la misma fue de 0.01714 ± 0.0024 para el grupo de ligamento sano, en tanto que la mayor expresión de CGRP fue encontrada en el grupo de instrumentación manual la cual fue de 0.08436 ± 0.007 , seguida por el grupo de XP EndoShaper con una expresión de 0.04266 ± 0.004948 , el grupo de WaveOne Gold con 0.03261 ± 0.00314 , y por el grupo de Reciproc Blue que obtuvo una expresión de 0.02937 ± 0.003457 .

La figura 2 muestra gráficamente el comportamiento de la expresión de CGRP en ligamento periodontal en los diferentes grupos analizados.

Puesto que la prueba de Kruskal Wallis demostró diferencias estadísticamente significativas entre los grupos ($p < 0.001$) se realizaron pruebas post-hoc de comparación entre grupos con la prueba U de Mann-Whitney. Tanto el grupo de ligamento sano como el grupo de instrumentación manual y el grupo XP EndoShaper, mostraron diferencias estadísticamente significativas con todos los demás grupos ($p < 0.001$). El grupo Reciproc Blue mostró diferencias significativas con los demás grupos excepto con el grupo WaveOne Gold ($p = 0.075$). De igual forma el grupo WaveOne Gold mostró diferencias significativas con los demás grupos excepto con el grupo Reciproc Blue.

Discusión:

Actualmente una de las problemáticas en la endodoncia es la periodontitis apical sintomática como consecuencia de la preparación biomecánica, la cual genera situaciones no deseadas como: inflamación del LP, dolor, discomfort del paciente y pérdida de credibilidad en el profesional (1).

Esta inflamación del LP es inducida por un fenómeno de naturaleza neurogénica, que se produce por la liberación de neuropéptidos como SP y CGRP. Entre las causas que generan esta situación clínica se encuentra el trauma mecánico, el cual está directamente influenciado por la cinemática de cada lima en particular y que se asocia a la extrusión de detritos hacia los tejidos periapicales, el trauma químico generado por la extrusión de irrigantes utilizados durante la preparación y el trauma físico generado por la presión y calor por fricción que causan los sistemas rotatorios según su diseño de lima (1, 2, 22).

Se realizó un estudio in vivo clínico controlado, aleatorizado, donde se midió la expresión de los neuropéptidos como SP y CGRP para verificar el fenómeno inflamatorio del LP generado por los diferentes instrumentos utilizados como: Reciproc Blue, Waveone Gold, XP endo shaper y limas manuales, posterior a la preparación biomecánica. Obteniendo una información verídica y real de la agresión que puede generar estos instrumentos al LP (1, 5).

Los valores de SP y CGRP se obtuvieron de premolares humanos sanos con indicación de exodoncia por razones de ortodoncia. El anestésico local utilizado en este estudio fue prilocaina al 4% sin vasoconstrictor, para disminuir o evitar la expresión de neuropéptidos la cual es atenuada por agonistas alfa-adrenérgicos, los cuales tienen potentes efectos vasculares, que pueden modular directamente la función de una clase importante de neuronas de señalización del dolor en los tejidos periféricos (2, 8, 23, 24).

Se determinó la longitud de trabajo a 0.5mm del ápice radiográfico, tomando en cuenta que la constricción apical se ubica generalmente entre 0.5 – 2mm del ápice radiográfico. Esta estandarización de la longitud disminuye los riesgos de instrumentación y alteración en los tejidos perirradiculares. Los grupos de este estudio presentaron igualdad de condiciones, controlando cada una de las variables que puede alterar los resultados (25, 26).

De igual forma se decidió estandarizar los tiempos de trabajo, para reducir las variables que pudieron presentarse entre un sistema y otro. Para el grupo experimental positivo el tiempo de trabajo no excedió los 5 minutos de preparación biomecánica, mientras que para los grupos experimentales de los sistemas rotatorios de lima única, el tiempo de trabajo no excedió más de 1 minuto de preparación

biomecánica, esto es debido a que se afirma que el fenómeno inflamatorio es directamente proporcional al tiempo y a la intensidad del daño tisular (2, 8).

También se estandarizó el tiempo de exodoncia que no excedió los 10 minutos, debido a que la liberación de SP y CGRP es inmediata, y este período de tiempo parece ser suficiente para permitir que el neuropéptido sea liberado de las fibras terminales antes de ser degradada por peptidasas endógenas. Otros estudios han reportado sobre los mecanismos para el aumento de SP y CGRP extracelular, incluyendo: aumento de la síntesis de los neuropéptidos en el ganglio del trigémino; un aumento en la frecuencia del transporte; un aumento de la liberación; y disminución de los niveles de las peptidasas, que da lugar a una disminución de la degradación de los neuropéptidos. La evidencia más reciente ha demostrado que las transcripciones del ARNm son transportados a las terminales periféricas, lo que sugiere que la síntesis de neuropéptidos puede ocurrir directamente en las terminales periféricas (2, 4, 8, 27).

La obtención de las muestras del ligamento periodontal fueron de los últimos 3 mm del ápice de la raíz de cada premolar, ya que en este tercio existen variaciones anatómicas, como forámenes, conductos accesorios, conductos secundarios, aparte de su foramen principal (2, 8, 27).

Se catalogó como grupo control negativo, premolares humanos sanos con indicación de exodoncia por fines ortodónticos, aquellos que no recibieron preparación biomecánica. Este grupo fue utilizado para determinar la concentración de los niveles basales, siendo de 0.43110 ± 0.04178 pmol/mg para SP y 0.01714 ± 0.0024 pmol/mg para CGRP. Estos niveles basales describen los valores fisiológicos y la función hemostática que tienen estos neuropéptidos en el LP, los cuales tienen la función de mantener y regular la hemostasia y el flujo sanguíneo en los tejidos periapicales. Las exodoncias fueron realizadas de forma supraósea por métodos convencionales sin lesiones excesivas al ligamento periodontal después de la aplicación de la anestesia (5).

Se catalogó como grupo control positivo premolares que se sometieron a preparación biomecánica con limas manuales, donde se ha reportado que esta técnica genera una mayor presión mecánica y química, por lo tanto se esperó que este grupo pudiera generar una mayor expresión de neuropéptidos. Los resultados de este grupo control incrementó significativamente la expresión de

SP 1.20943 ± 0.11431 pmol/mg y CGRP 0.08436 ± 0.007 pmol / mg, en comparación con los grupos experimentales, XP endo shaper que presentó una expresión de 0.84053 ± 0.05175 pmol/mg para SP y con una expresión de 0.04266 ± 0.004948 pmol/mg para CGRP; también con el grupo Waveone gold con una expresión de 0.53132 ± 0.04974 pmol/mg para SP y con una expresión de 0.03261 ± 0.00314 pmol/mg para CGRP, y con el grupo Reciproc blue con una expresión de 0.52087 ± 0.04039 pmol/mg para SP y con una expresión 0.02937 ± 0.003457 pmol/mg para CGRP; esto puede ser explicado por la aleación de dichas limas de acero inoxidable y su perfil de sección cuadrangular o triangular, que hace que estén sean más rígidas y menos flexibles, también por su ángulo helicoidal de 40° , el cual provoca una disminución en la capacidad de eliminar los desechos hacia cervical y un aumento de estos entre las estrías del instrumento, además puede deberse al número de limas utilizadas y la presión ejercida durante el movimiento de tracción y pulsión, que puede generar la extrusión de detritus e irrigantes hacia el área periapical (8, 28).

La expresión de SP y CGRP entre el grupo control positivo y grupo control negativo, evidencia una diferencia en sus resultados, ya que, el diseño de estudio tiene un poder de muestra del 100% (29).

Las tendencias similares en el comportamiento de la expresión de los neuropéptidos en cada uno de los grupos, es muy importante porque avala el rigor del diseño experimental y genera suficiente confiabilidad en los resultados obtenidos, ya que, estos neuropéptidos tienen el mismo origen somato sensorial en el ganglio de gasser, y además actúan por el mismo mecanismo mediado por receptores para gobernar el sistema vascular e inmune, donde potencializan sus efectos el uno al otro; por lo tanto el comportamiento de la expresión de los neuropéptidos debe ser similar (1, 2, 4, 5).

Los resultados en la expresión de SP y CGRP entre los grupos experimentales Waveone gold y Reciproc Blue, demostraron que no hubo diferencias significativas, teniendo una mejor tendencia el sistema Reciproc blue. Estos resultados se deben a que el perfil de sección de ambos sistemas rotatorios les permite desalojar los desechos hacia coronal, sus puntas son semiactivas y no cortante, además de sus masas que generan estrías profundas, sus conicidad de .07 para Waveone gold y .08 para Reciproc blue, y sus aleaciones les permite ser más flexibles y generar menor inflamación al periapice. Independientemente de los ángulos de giro utilizados en este estudio siendo 150 / 30

para Reciproc blue y 170 / 50 para el Waveone gold, el diseño del instrumento es el que marca la tendencia en la expresión de las sustancias pro inflamatorias como SP y CGRP (13, 14, 15).

Comparando los resultados de este estudio con otros estudios realizados anteriormente con la misma metodología, independientemente que se utilizaron limas de calibres diferentes, el diseño de ambos instrumentos es similar y el estudio fue realizado bajo un mismo diseño experimental, lo cual permite realizar la comparación objetivamente, en esta se comprueba que Waveone gold expreso menos liberación de SP y CGRP que el Waveone, debido a que presento cambios significativos en sus características, modificando su conicidad la cual fue sustituida de .08 a conicidad .07, también se modificó su perfil de sección triangular convexo cerca de la punta y triangular cóncavo cerca a la base del instrumento, y fue sustituido por un perfil de sección en forma de paralelogramo, con dos ángulos de corte, esto permitió reducir la masa del instrumento, razón por la cual es más flexible y genera menos presión a nivel del ápice durante la preparación biomecánica, esto también puede ser producto del cambio de la aleación la cual se ejecuta manualmente un calentamiento- enfriamiento, lo que mejora la elasticidad; además de esto se modificó su ángulo de inclinación de positivo a negativo, siendo una punta de transición suave, también presento cambios en el ángulo helicoidal con estrías más profundas, favoreciendo así la extrusión de irritantes hacia coronal (2, 14, 15, 30, 31).

Por otro lado en estudios similares de Reciproc blue y Reciproc, donde independientemente se utilizaron limas de calibres diferentes, el diseño de ambos instrumentos es similar, y el estudio fue realizado bajo un mismo diseño experimental, lo cual permite realizar la comparación objetivamente, en esta el sistema rotatorio Reciproc blue generó un leve aumento en la expresión de SP y CGRP comparándolo con el sistema rotatorio Reciproc, estas presentan idénticos ángulos de giro de 150 / 30, la misma sección transversal en forma S, movimiento reciprocante y las mismas velocidades de 300rpm; sin embargo esta diferencia en los resultados puede deberse a la flexibilidad del Reciproc blue que le confiere el cambio de aleación por un tratamiento de calentamiento- enfriamiento denominado Blue NiTi (1, 2, 12, 13, 30), lo cual genera mayor presión por parte del clínico para elevar la eficacia de corte de la lima y por esto puede aumentar los niveles de SP y CGRP. También

presenta un ángulo de inclinación negativo, que puede generar mayor extrusión de detritus al periapice, aumentando la liberación de neuropéptidos (13).

Finalmente el sistema rotatorio XP endo shaper genera mayor expresión de SP y CGRP que los sistemas rotatorios Waveone Gold y Reciproc blue, a pesar de tener un movimiento continuo, el cual genera una menor agresión, este sistema presenta una velocidad de 800rpm y un torque de 1 NW, lo que produce una mayor extrusión de detritus y agresión al tejido perirradicular comparándolo con Waveone gold que presenta una velocidad de 350 rpm y Reciproc blue una velocidad de 300 rpm (16, 30).

Este sistema rotatorio presenta una aleación exclusiva denominada Max-wire, que toma una forma predeterminada dentro del conducto radicular a temperatura corporal de 35°C (16, 32), esta característica no puede ser controlada por el operador y ese cambio dimensional puede generar agresión en el LP y ser causante de la expresión de SP y CGRP.

Además el sistema rotatorio XP endo shaper presenta 6 filos de cortes en la punta denominado BT que permite que el instrumento comience a dar forma y aumente constantemente su campo de trabajo de una lima ISO 15 a una lima ISO 30, generando mayor agresión al periapice. También tiene la capacidad de aumentar su conicidad de 0.01 y de expandirse hasta llegar a conicidad 0.04, este proceso puede generar mayor estrés sobre el tejido perirradicular generando mayor expresión de neuropéptidos (33).

El sistema rotatorio XP endo shaper presenta un perfil de sección triangular siendo de menor masa en comparación con el sistema Waveone gold que presenta un perfil de sección en forma de paralelograma, pero de mayor masa comparándolo con el sistema Reciproc blue que presenta un perfil de sección en forma de S, esta característica del XP endo shaper, genera menor espacio, presentando un núcleo más pequeño, y disminuyendo así los irritantes y/o detritus que se pueden crear; (17) pero a pesar de esto, el cambio dimensional del instrumento puede generar mayor irritación al LP y mayor expresión de SP y CGRP (12, 14).

Por otro lado el movimiento de serpenteo de este instrumento con una rotación continua a alta velocidad de 800rpm, provoca turbulencias que permite que el irrigante llegue a zonas inaccesibles

y también permite la eliminación de detritus (16, 17, 33, 34); esto puede ocasionar un difícil control en la longitud de trabajo y por ende en la extrusión de irritantes hacia el periapice, lo que no puede ser controlado por el operador, produciendo mayor liberación de SP y CGRP por fricción mecánica y química en el conducto radicular. Sin embargo otros estudios realizados con Micro CT han reportado que la expansión del instrumento en dirección apical no fue evidente, demostrando que hubo pocas o ningunas áreas de desechos empaquetados, pero no confirmaron la capacidad de extrusión que puede tener esta lima (33).

Al comparar los resultados de XP endo shaper con estudios anteriores del sistema rotatorio Race, donde se realizó un diseño experimental en igualdad de condiciones para medir la expresión de SP y CGRP, se comprobó que el sistema XP endo shaper expuso menos liberación de neuropéptidos que el sistema rotatorio RaCe, a pesar de presentar el mismo perfil de sección en forma triangular, la misma rotación continua y una velocidad y un torque similar. Sin embargo el XP endo shaper es un sistema rotatorio de lima única, mientras que el sistema rotatorio Race presenta una secuencia de 6 limas, lo que puede inducir mayor presión a nivel apical y generar mayor expresión de SP y CGRP (8, 35).

Conclusiones

Se puede concluir que todos los sistemas rotatorios evaluados en este estudio generan expresión de neuropéptidos, donde el XP endo shaper a pesar de ser un sistema de rotación continua genero mayor expresión que los sistemas reciprocantes como Waveone gold y Reciproc blue.

Referencias bibliográficas

1. Caviedes-Bucheli J, Castellanos F, Vasquez N, Ulate E, Munoz HR. The influence of two reciprocating single-file and two rotary-file systems on the apical extrusion of debris and its biological relationship with symptomatic apical periodontitis. A systematic review and meta-analysis. *Int Endod J*, 2016; 49, 255–270
2. Caviedes-Bucheli J, Moreno JO, Carreño CP, Delgado R, Garcia DJ, Solano J, Diaz E, Munoz H. The effect of single-file reciprocating systems on Substance P and Calcitonin

- gene-related peptide expression in human periodontal ligament. *Int Endod J*, 2013; 46, 419–426.
3. Siqueira JF, Rôças IN, Favieri A, Machado AG, Gahyva SM, Oliveira JCM, et al. Incidence of postoperative pain after intracanal procedures based on an antimicrobial strategy. *J Endod*, 2002; 28(6):457-460.
 4. Caviedes-Bucheli J, Ariza-García G, Restrepo-Méndez S, Ríos-Osorio N, Lombana N, Muñoz HR. The effect of tooth bleaching on substance P expression in humandental pulp. *J Endod*. 2008 Dec;34(12):1462-5.
 5. Caviedes-Bucheli J, Muñoz HR, Azuero-Holguín MM, Ulate E. Neuropeptides in dental pulp: the silent protagonists. *J Endod*. 2008 Jul;34(7):773-88.
 6. Caviedes-Bucheli J, Moreno GC, López MP, Bermeo-Noguera AM, Pacheco-Rodríguez G, Cuellar A, Muñoz HR. Calcitonin gene-related peptide receptor expression in alternatively activated monocytes/macrophages during irreversible pulpitis. *J Endod*, 2008; 10.1016.
 7. Awawdeh L, Lundy FT, Shaw C, Lamey PJ, Linden GJ, Kennedy JG. Quantitative analysis of substance P, neurokinin A and Calcitonin gene-related peptide in pulp tissue from painful and healthy human teeth. *Int Endod J* 2002;35:30 – 6
 8. Caviedes-Bucheli J, Azuero-Holguin MM, Gutierrez-Sanchez L, Higuerey-Bermudez F, Pereira-Nava V, Lombana N, Munoz HR. The effect of three different rotary instrumentation systems on substance P and calcitonin gene-related peptide expression in human periodontal ligament. *J Endod*. 2010; 36:1938-42.
 9. Caviedes-Bucheli J, Azuero-Holguin MM, Correa-Ortiz JA, Aguilar-Mora MV, Pedroza-Flores JD, Ulate E, Lombana N, Munoz HR. Effect of experimentally induced occlusal trauma on substance p expression in human dental pulp and periodontal ligament. *J Endod*. 2011; 627-30
 10. Webber Julian, Machtou Pierre & Perto Wilhelm, Kuttler Sergio, Clifford Ruddie & John West. The Wave One single-file reciprocating system. *Roots Int Mag Endod*: 2011; 28(1): 28-33.

11. Kim HC, Kwak SW, Cheung GS, Ko DH, Chung SM, Lee W. Cyclic fatigue and torsional resistance of two new nickel-titanium instruments used in reciprocation motion: Reciproc versus WaveOne. *J Endod.* 2012 Apr;38(4):541-4.
12. De-Deus G, Silva EJ, Vieira VT, Belladonna FG, Elias CN, Plotino G, Grande NM. Blue Thermomechanical Treatment Optimizes Fatigue Resistance and Flexibility of the Reciproc Files. *J Endod.* 2017;43(3):462-466.
13. Available at: <https://www.vdw-dental.com/en/products/detail/reciproc-blue-instruments/>
14. Özyürek T. Cyclic Fatigue Resistance of Reciproc, WaveOne, and WaveOne Gold Nickel-Titanium Instruments. *J Endod.* 2016; 42(10):1536-9.
15. Available at: https://www.dentsply.com/content/dam/dentsply/pim/manufacture/Endodontics/Obturation/Gutta_Percha_Points/WaveOne_Gold_Gutta_Percha_Points/W1G_Brochure_EN.pdf
16. Elnaghy AM, Elsaka SE. Torsional resistance of XP-endo Shaper at body temperature compared with several nickel-titanium rotary instruments. *Int Endod J.* 2017 Jul 12.
17. Available at: <http://www.fkg.ch/products/endodontics/canal-shaping-and-cleaning/xp-endo%C2%AE-shaper>
18. Wu MK, R'oris A, Barkis D, Wesselink PR. Prevalence and extent of long oval canals in the apical third. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2000;89(6):739-43.
19. Urrutia G, Bonfill X (2010) PRISMA declaration: a proposal to improve the publication of systematic reviews and meta-analyses. *Medicina Clinica* 135, 507–11.
20. Shea BJ, Grimshaw JM, Wells GA et al. (2007) Development of AMSTAR: measurement tool to assess the methodological quality of systematic reviews. *BMC Medical Research Methodology* 7, 10.
21. Scatchard, O., The attractions of proteins for small molecules and ions. *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 51,660 (1949)
22. Er K, Su"mer Z, Akpınar KE. Apical extrusion of intracanal bacteria following use of two engine-driven instrumentation techniques. *Int Endod J* 2005;38:871–6.

23. Caviedes-Bucheli J, Rojas P, Escalona M, Estrada A, Sandoval C, Rivero C, Lombana N, Muñoz HR. The effect of different vasoconstrictors and local anesthetic solutions on substance P expression in human dental pulp. *J Endod*, 2008; 10:1016
24. Hargreaves KM, Jackson DL, Bowles WR. Adrenergic regulation of capsaicin-sensitive neurons in dental pulp. *J Endod*. 2003 Jun;29(6):397-9.
25. Peters OA. Current challenges and concepts in the preparation of root canal systems: a review. *J Endod*. 2004 Aug;30(8):559-67.
26. Somma, F.; Castagnola, R.; Lajolo, C.; Paternò Holtzman, L. & Marigo, L. In vivo accuracy of three electronic root canal length measurement devices: Dentaport ZX, Raypex 5 and ProPex II. *Int. Endod. J.*, 45(6):552-6, 2012.
27. Bowles WR, Withrow JC, Lepinski AM, et al. Tissue levels of immunoreactive substance P are increased in patients with irreversible pulpitis. *J Endod* 2003; 29:265–7.
28. Ferraz CC, Gomes NV, Gomes BP, et al. Apical extrusion of debris and irrigants using two hand and three engine-driven instrumentation techniques. *Int Endod J* 2001;34:354–8
29. Pérttega Díaz S, Pita Fernández S. Cálculo del tamaño muestral en estudios de casos y controles. *Cad Aten Primaria* 2002; 9:148-150.
30. Keskin C, Inan U, Demiral M, Keleş A. Cyclic Fatigue Resistance of Reciproc Blue, Reciproc, and WaveOne Gold Reciprocating Instruments. *J Endod*. 2017 Aug;43(8):1360-1363.
31. Peters OA, de Azevedo Bahia MG, Pereira ES. Contemporary Root Canal Preparation: Innovations in Biomechanics. *Dent Clin North Am*. 2017 Jan;61(1):37-58.
32. Lacerda MFLS, Marceliano-Alves MF, Pérez AR, Provenzano JC, Neves MAS, Pires FR, Gonçalves LS, Rôças IN, Siqueira JF Jr. Cleaning and Shaping Oval Canals with 3 Instrumentation Systems: A Correlative Micro-computed Tomographic and Histologic Study. *J Endod*. 2017 Sep
33. Azim AA, Piasecki L, da Silva Neto UX, Cruz ATG, Azim KA. XP Shaper, A Novel Adaptive Core Rotary Instrument: Micro-computed Tomographic Analysis of Its Shaping Abilities. *J Endod*. 2017 Sep;43(9):1532-1538

34. Bayram HM, Bayram E, Ocak M, Uygun AD, Celik HH. Effect of ProTaper Gold, Self-Adjusting File, and XP-endo Shaper Instruments on Dentinal Microcrack Formation: A Micro-computed Tomographic Study. *J Endod*. 2017 Jul;43(7):1166-1169.
35. Vadhana S, SaravanaKarthikeyan B, Nandini S, Velmurugan N. Cyclic fatigue resistance of RaCe and Mtwo rotary files in continuous rotation and reciprocating motion. *J Endod*. 2014 Jul;40(7):995-9.

FIGURA 1.

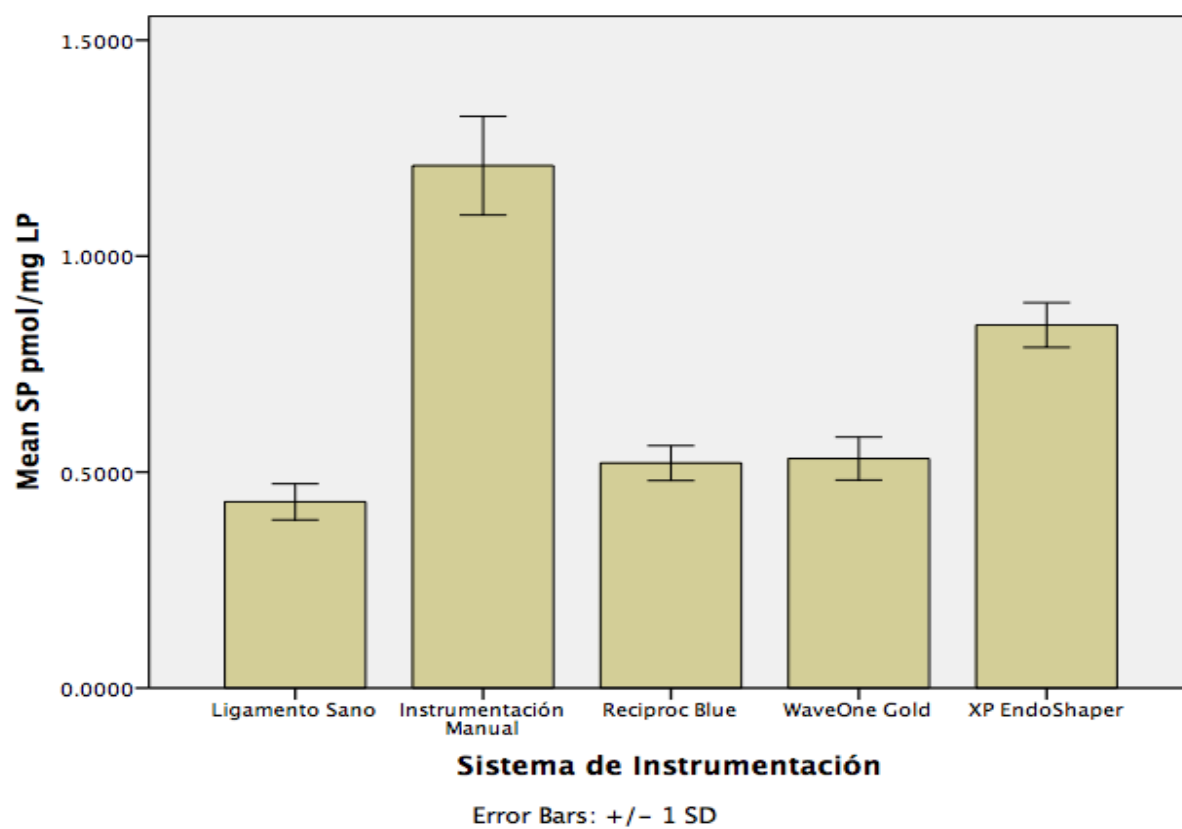


FIGURA 2.

