

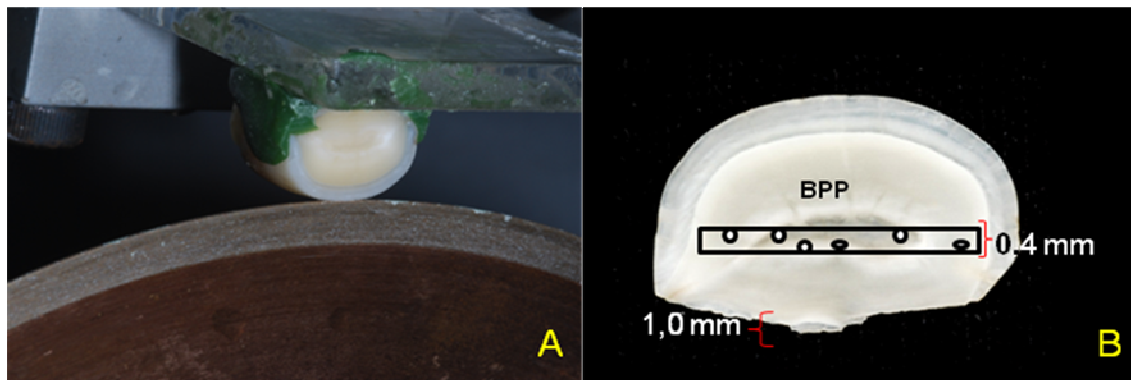


Figura 8. A – corte com a espessura de 1,0mm para a obtenção das barras BPP; B – cortes finais para a obtenção das barras.

E finalmente para a confecção das barras radiculares foram escolhidas 10 raízes aleatoriamente, e estas foram fixadas em placas acrílicas com godiva, e o primeiro corte serviu para descartar a parte convexa da raiz, deixando-a com uma superfície lateral plana. O segundo corte foi realizado com uma espessura de 0,4mm para a obtenção de uma fatia radicular, e esta foi fixada novamente na placa para realização dos cortes finais e finalmente se ter uma barra com as mesmas características das BPA em relação à orientação dos túbulos (Figura 9).

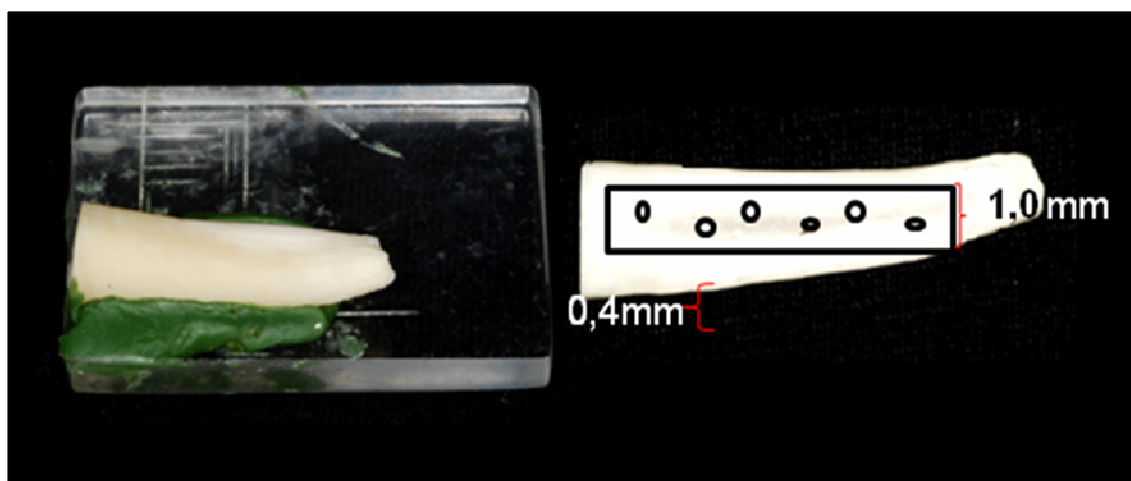


Figura 9. corte para a obtenção das barras BRA com a direção dos túbulos paralela ao carregamento.

Como o tamanho dos dentes não permite a obtenção de amostras com as dimensões propostas pela ISO 178 (2001), as mesmas foram reduzidas em uma escala de 1:10 dos valores especificados, porém observando-se as proporções recomendadas entre comprimento, espessura e largura (permissão protótipo/modelo constada nas normas da ISO) . As barras foram cuidadosa e manualmente desgastadas (Figura 10.A) usando lixas de carbeto de silício de granulação 600, 1000 e 1200 (Norton, São Paulo, Brasil) sob umidade constante (Figura 10.B) para se obter as dimensões finais das barras de $8\pm0,2$ mm de comprimento (l), $0,4\pm0,02$ mm de espessura (h) e $1,0\pm0,02$ mm de largura (b) (Figura 10.C) e para uniformizar a superfície e eliminar irregularidades que pudessem interferir nos resultados (Kinney *et al.*, 2003; Yasuda *et al.*, 2007). As medidas foram conferidas com paquímetro digital (Mitutoyo, Tóquio, Japão) foram anotadas em uma tabela (Figura 11.A e B).



Figura 10. A – lixas de carbeto de silício com granulações 600, 1000 e 1200; B – refinamento manual das barras; C – barras acabadas.

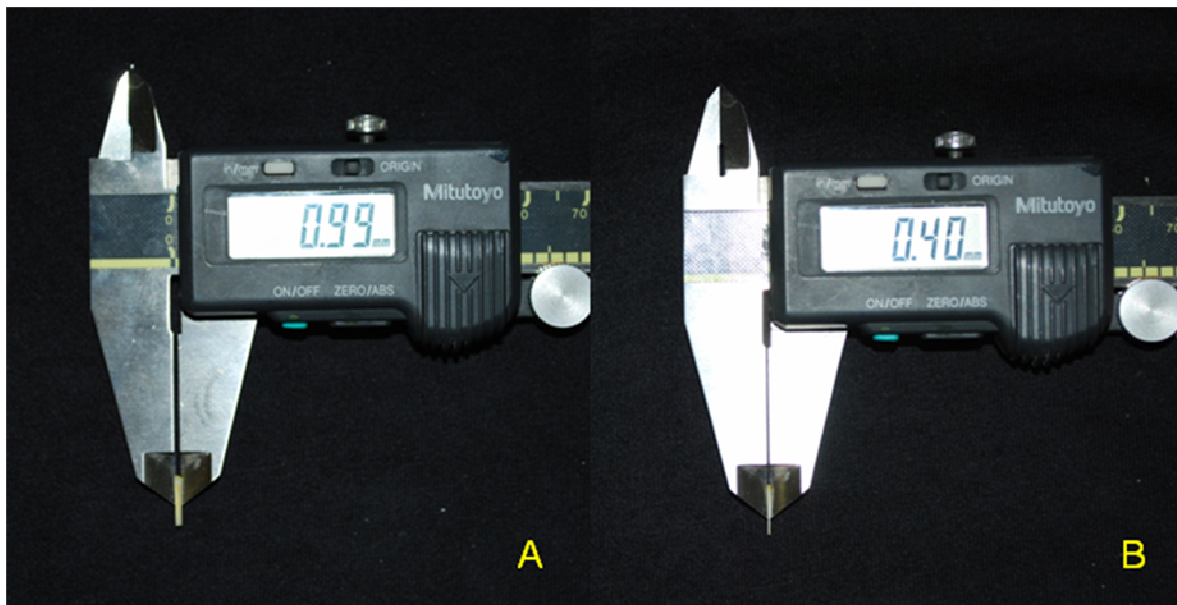


Figura 11. A e B – controle das medidas finais das amostras com paquímetro digital.

4.5 Ensaio de resistência à flexão por 3 pontos

As barras foram identificadas quanto à origem e localização, armazenadas por 1 semana em HBSS (Habelitz *et al.*, 2002) (Figura 12.A), analisadas em lupa estereoscópica (Leica Microsystem, Wetzlar, Alemanha) (Figura 12.B) para detecção de trincas ou defeitos, e submetidas ao teste de flexão de 3 pontos em máquina de ensaio mecânico (EMIC 2000 DL, São José dos Pinhais, PR, Brasil) (Figura 13) com velocidade de 0,5 mm/min, conforme especificações da ISO 178 (Figura 14). A resistência à flexão (RF) e o módulo flexural (MF) foram calculados em MPa e GPa, respectivamente, pelas fórmulas $\sigma_f = 3FL/2bh^2$ e $E_f = FL^3/4\Delta Lbh^3$ onde F é a força aplicada em Newtons, L é a distância entre os pontos de apoio (6 mm), b é a largura e h é a espessura em mm. A rigidez (R) foi calculada em N/mm pela fórmula $K = F/\Delta L$, onde F é a força aplicada em Newtons e ΔL é a deflexão expressa em mm. Os resultados obtidos foram submetidos à análise estatística por meio dos testes de Friedman e Mann Whitney usando os programas SAS (Institute Inc., Cary, NC, USA, Release 9.1, 2003) e Bioestat Bioestat 4.0 statistical program (Mamirauá Maintainable Development Institute, Belém, Pará, Brazil, 2005) ao nível de significância com 5%.

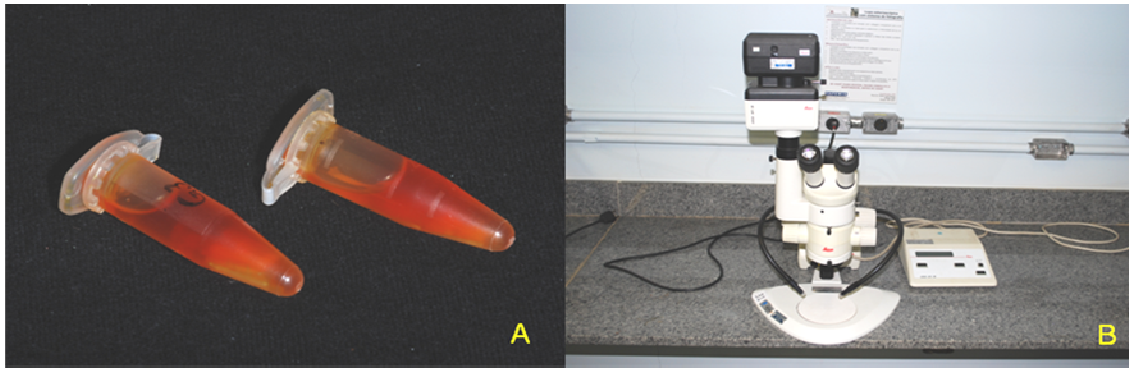


Figura 12. A –armazenagem das amostras em ependorfes contendo HBSS;
B –lupa estereoscópica com aumento de 40X.

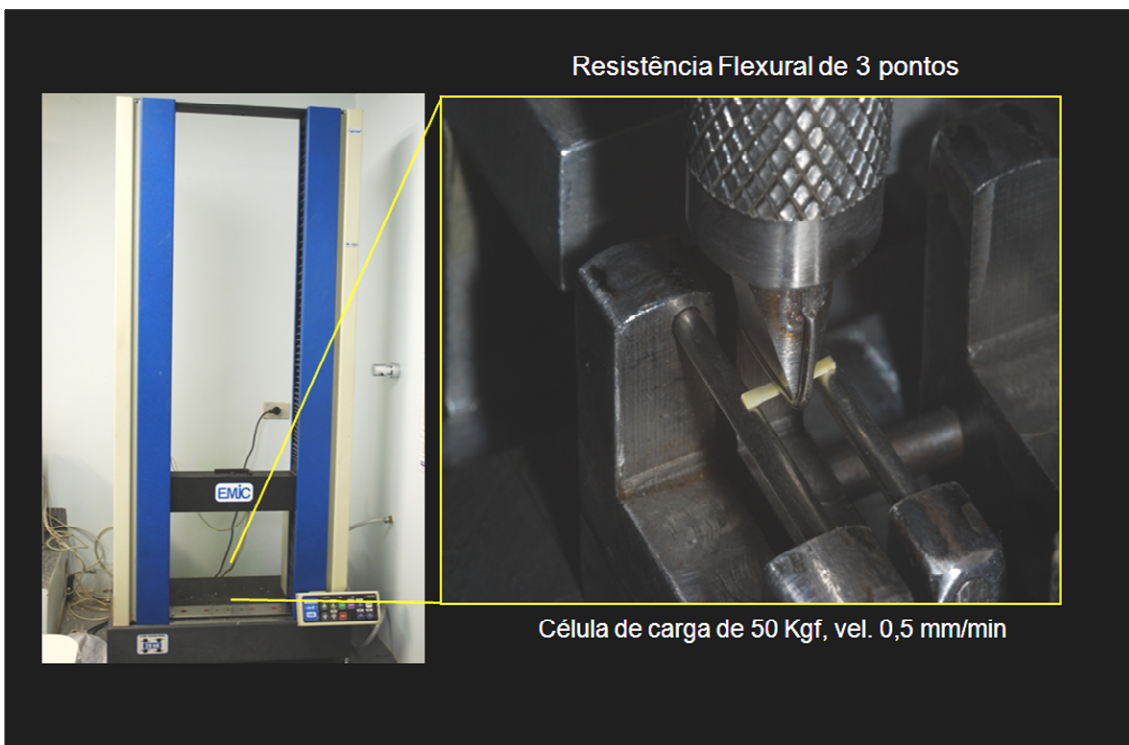


Figura 13. A – realização do teste de resistência flexural de três pontos

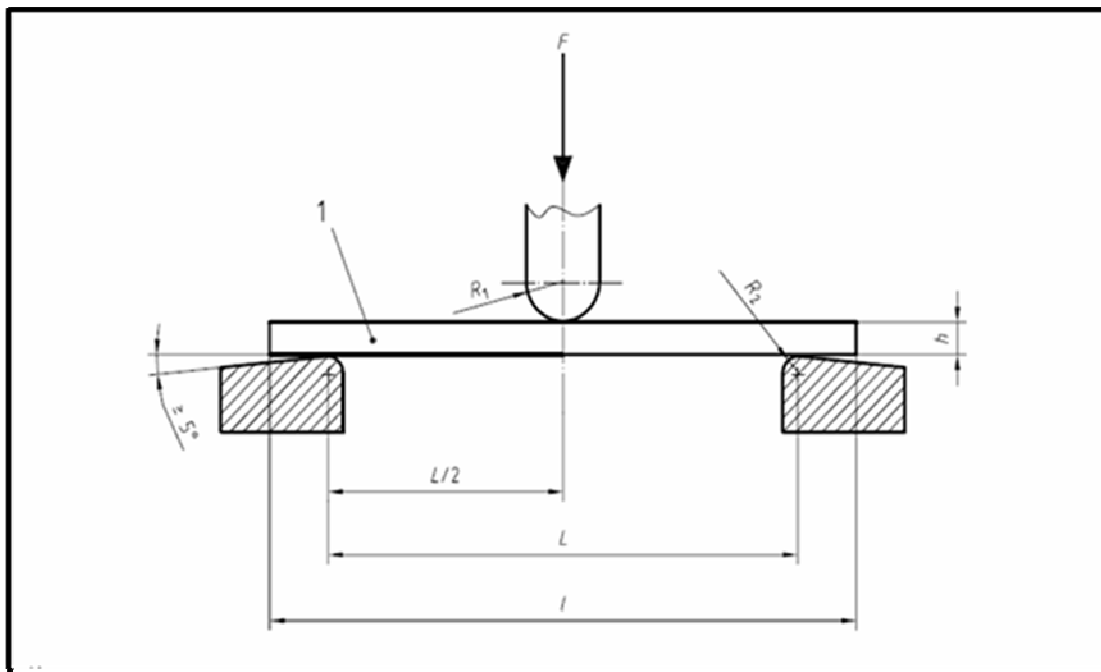


Figura 14. teste de flexão de três pontos, (1)espécime, (F)força aplicada, (R1) raio da ponta aplicadora, (R2) raio do suporte, (h) espessura do espécime, (l)comprimento do espécime, (L) distância entre os suportes.

4.6 Caracterização das amostras em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

As amostras foram fixadas em “stubs” de alumínio com o uso de fita dupla-face de carbono (Figura 15). Os espécimes foram tratados com hipoclorito de sódio a 1% durante 1min, lavados em água destilada em banhos no ultrassom durante 3 min, tratados com EDTA 17% durante 5 min, lavados novamente com água destilada em banhos no ultrassom durante 3 min (Figura 16). Então as amostras foram submetidas ao processo de secagem em silica durante uma noite (Figura 17), metalizadas com ouro (MED 010, Balzers, Balzer, Leichtenstein) (Figura 18) e examinadas sob um microscópio eletrônico de varredura (LEO 435 VP, Carl Zeiss, Jena, Germany) (Figura 19). As áreas representativas dos lados testados foram registradas em ampliações de 100-2500X.

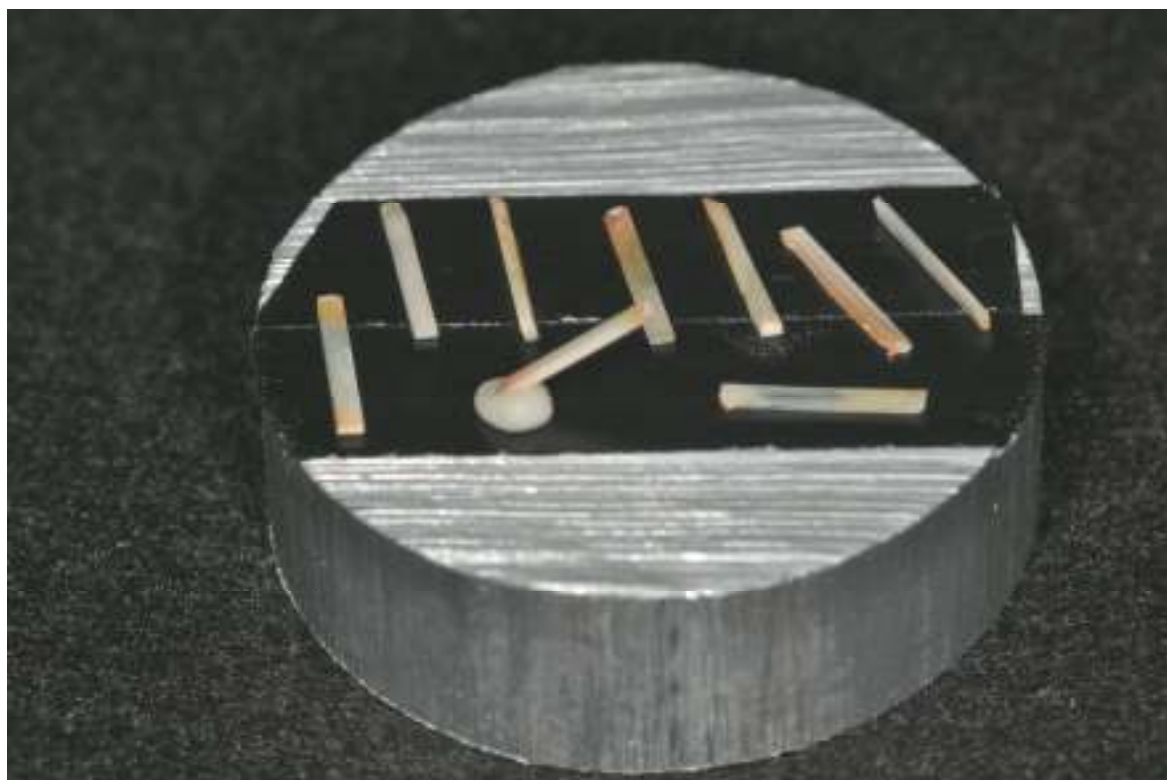


Figura 15. preparo das amostras nos “stubs”.

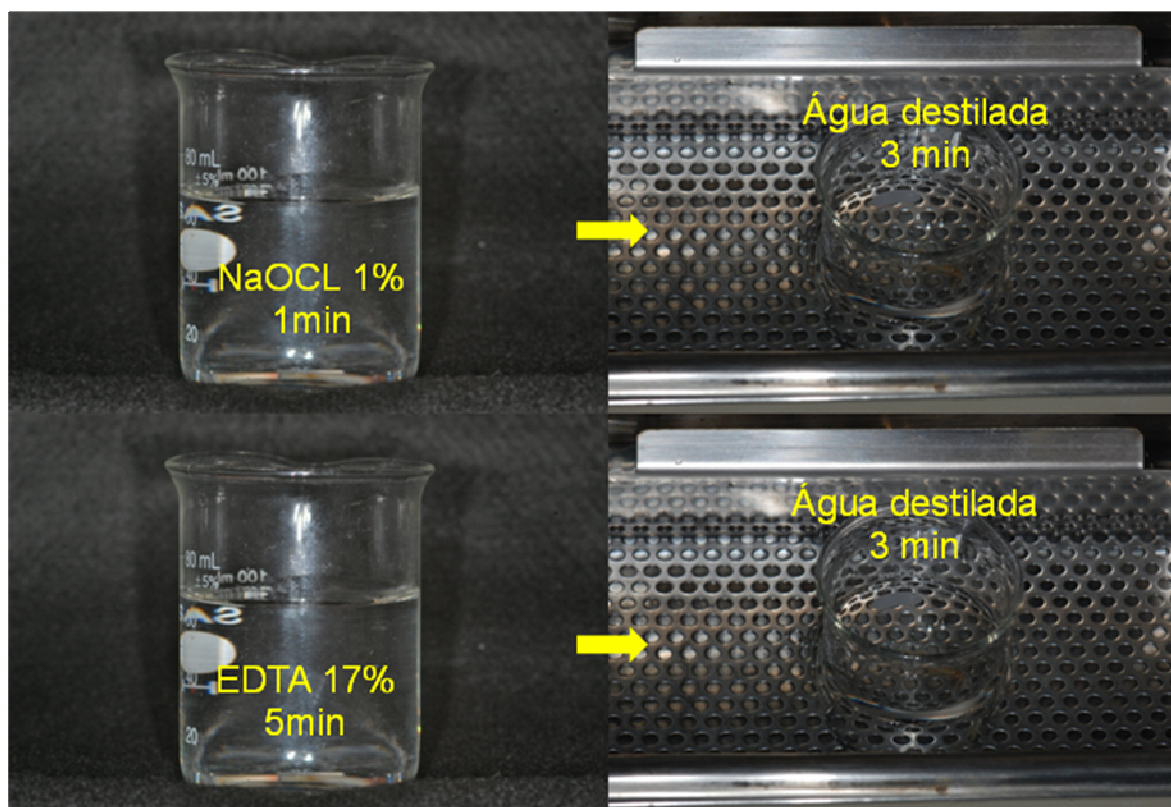


Figura 16. tratamento das amostras para a remoção da “smear-layer”.



Figura 17.secagem em sílica por 24 horas.

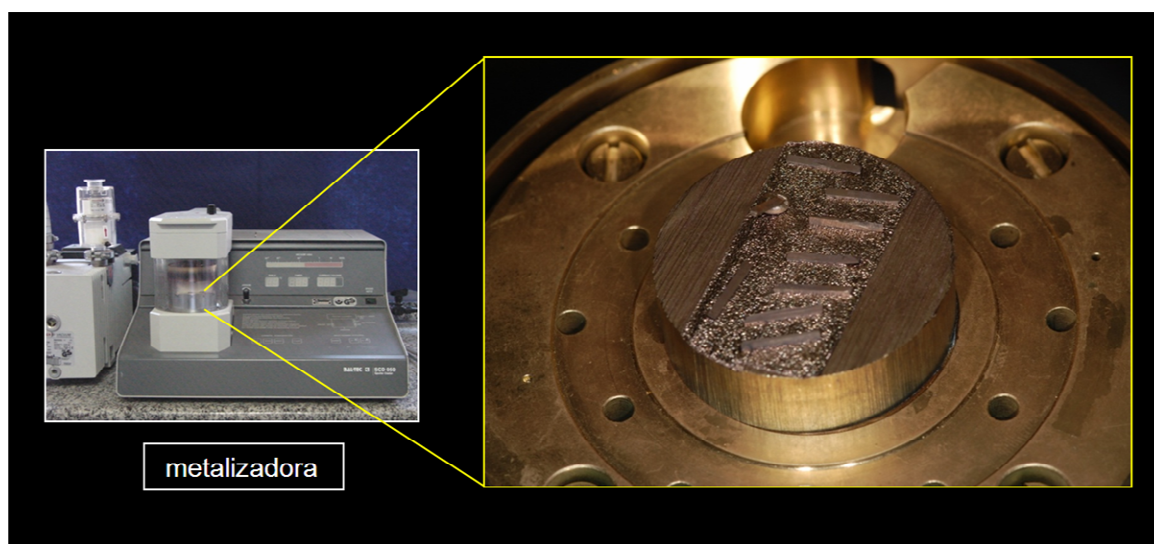


Figura 18.metalização da amostra com ouro.



Figura 19.microscópio eletrônico de varredura (Kitajima, NAP/Esalq-USP).

4.7 Avaliação das densidades (Image Tools)

A densidade tubular e a densidade da área tubular foram calculadas usando um processador de imagens e programa de análise (ImageTool 3.0 - The University of Texas Health Science Center, San Antonio, TX) o qual inclui funções dimensionais (distância, ângulo, perímetro, área) e medidas de escala de cinza (ponto, linha e histograma de área com estatística). Este programa é compatível com o Windows até 2008. A precisão das medidas foi de 0.01mm (Figura 20).

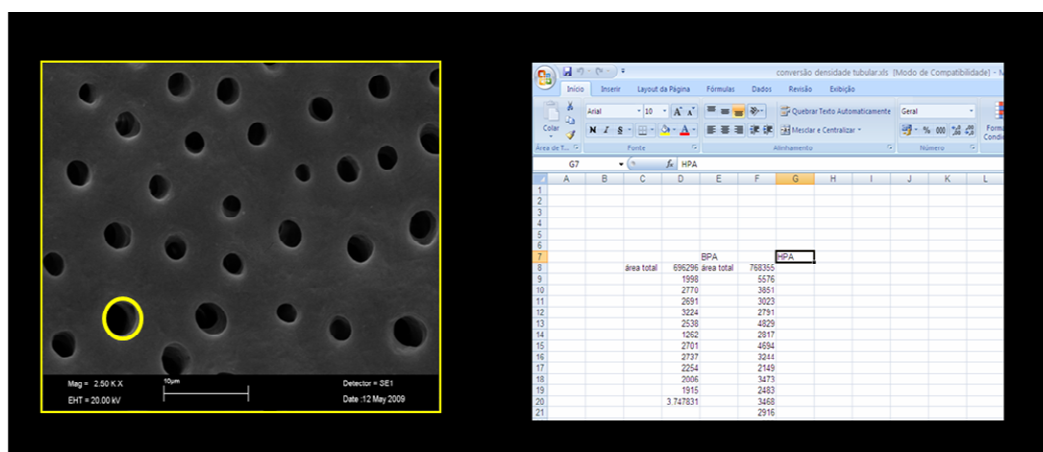


Figura 20. Software Image Tools (Windows 98).

RESULTADOS

5.RESULTADOS

Como os dados não apresentaram distribuição normal foram utilizados a mediana, valor mínimo e valor máximo para cada propriedade (Tabelas 1, 2 e 3). Os testes de Friedman e Mann Whitney foram aplicados para comparar as medidas de cada propriedade na mesma espécie e entre as espécies utilizando os programas estatísticos SAS (Institute Inc., Cary, NC, USA, Release 9.1, 2003) e Bioestat 4.0 (Mamirauá Maintainable Development Institute, Belém, Pará, Brazil, 2005) ao nível de significância (α) de 5%, e os resultados são mostrados na Tabela 4. Para a dentina humana houve diferença significativa somente da resistência flexural de HRA em relação à HPP (HRA>HPP). Para a dentina bovina houve diferença significativa de BRA em relação à BPA e BPP (BRA>BPA=BPP) nas 3 propriedades avaliadas. Na comparação entre as espécies as 3 propriedades (RF, MF e R) da dentina humana foram superiores à bovina em PA (HPA>BPA) e PP (HPP>BPP). Contrariamente, as 3 propriedades (RF, MF e R) das dentinas bovinas foram superiores à humana em RA (BRA>HRA).

Tabela 1. Mediana, valor mínimo e valor máximo para PA (barras com orientação dos túbulos paralela à direção da carga).

Medidas	Dente Humano	Dente Bovino
R Flexural (MPa)	194,26 (78,63; 237,6)	89,84 (65,29; 119,39)
M Flexural (MPa)	3,77 (1,12; 1,45)	2,12(1,05; 4,48)
Rigidez (N/mm)	3,95 (1,32; 13,06)	2,43 (1,21; 5,41)

Tabela 2. Mediana, valor mínimo e valor máximo para PP (barras com orientação dos túbulos perpendicular à direção da carga).

Medidas	Dente Humano	Dente Bovino
R Flexural (MPa)	152,86 (136,08; 235,58)	85,32 (61,24; 132,22)
M Flexural (MPa)	2,53(1,25; 6,78)	1,26 (6,73; 5,25)
Rigidez (N/mm)	3,02 (1,57; 8,48)	1,82 (0,72; 5,22)

Tabela 3. Mediana, valor mínimo e valor máximo para RA (barras de dentina radicular).

Medidas	Dente Humano	Dente Bovino
R Flexural (MPa)	224,86 (189,08; 380,07)	350,17 (230,46; 389,66)
M Flexural (MPa)	3,76 (3,07; 5,52)	6,38 (4,02; 1,27)
Rigidez (N/mm)	4,30 (2,68; 9,23)	7,56 (4,77; 14,05)

Tabela 4. Análise comparativa das propriedades elásticas da dentina humana e bovina.

	Resistência Flexural (MPa)			Módulo Flexural (MPa)			Rigidez (N/mm)		
	PA	PP	RA	PA	PP	RA	PA	PP	RA
HUMANA	194,26ABa	152,86Ba	224,86Ab	3,77Aa	2,53Aa	3,76Ab	3,95Aa	3,02Aa	4,30Ab
BOVINA	89,84Bb	85,32Bb	350,17Aa	2,12Bb	1,26Bb	6,38Aa	2,43Bb	1,82Bb	7,56Aa

Medianas seguidas de letras distintas diferem entre si (maiúsculas na horizontal, comparando medidas dentro de cada propriedade, e minúsculas na vertical comparando medidas entre as espécies). PA- dentina coronária com túbulos paralelos à aplicação da carga; PP- dentina coronária com túbulos perpendiculares à aplicação da carga; RA- dentina radicular.

A partir da análise das MEV e do uso do programa Image Tools foi observado que os valores de densidade tubular foram: BRA (46.875 túbulos/mm²); BPA (21.412 túbulos /mm²); HPA(18.518 túbulos/mm²); HRA (17.340 túbulos/mm²). As áreas de densidade tubular foram: BPA 16,5%; BRA 14,1%; HPA 11,6% e HRA 3,95%.

DISCUSSÃO

6. Discussão

A dentina atua como uma base elástica para o esmalte que é um tecido duro, e protege a polpa que fica enclausurada no seu interior. Os túbulos dentinários formam uma rede que parte da polpa em direção à junção amelodentinária de forma radial, atravessando toda a extensão da dentina. Tanto a densidade tubular quanto o diâmetro dos túbulos diminuem com o aumento da distância da polpa. A dentina peritubular se apresenta como uma bainha altamente mineralizada composta de apatita mineral que envolve os túbulos. A dentina intertubular ocupa o espaço intersticial entre as bainhas de dentina peritubular e é composta por uma rede de fibrilas colágenas reforçada por cristais de apatita. As fibrilas colágenas são dispostas em planos essencialmente perpendiculares à direção dos túbulos (Marshall *et al.*, 1997).

Devido a diferenças na composição e nas propriedades de seus constituintes, a dentina apresenta uma relação tensão/deformação não homogênea e anisotrópica (Huo, 2005). Desta forma, as suas propriedades mecânicas são de fundamental importância na compreensão do comportamento mecânico do dente quando submetido a cargas mastigatórias. Além disso, as propriedades mecânicas da dentina podem ser influenciadas pela área investigada (Plotino *et al.*, 2007), pela orientação dos túbulos (Kinney *et al.*, 2003; Rasmussen *et al.*, 1976; Iwamoto & Ruse, 2003; Kinney *et al.*, 2004), pela densidade tubular (Kinney *et al.*, 2003) e pela idade (Arola & Reprogel, 2005). Embora haja semelhança estrutural da dentina bovina em relação à humana (Schilke *et al.*, 2000) e os dentes bovinos tenham sido muito utilizados como substitutos dos dentes humanos em testes laboratoriais, essas variações deveriam ser consideradas, já que existem questionamentos quanto à aplicação dos resultados dos dentes bovinos aos dentes humanos, em situações clínicas (Arola & Reprogel, 2005).

No presente trabalho as hipóteses nulas de igualdade nas propriedades flexurais entre dentes humanos e bovinos e da não influência da localização da

dentina investigada naquelas propriedades foram rejeitadas. Porém, foi aceita a hipótese nula da não influência da orientação dos túbulos dentinários.

Diferença no grau de crescimento da trinca na dentina humana e bovina pode ser sugerida devido a diferença estrutural que contribui para o mecanismo de extensão da trinca sob carregamento cíclico (Arola *et al.*, 2005) o que leva à padrões diferentes de fratura (Figura 21.A, B e C). A dentina coronária bovina possui número de túbulos semelhantes à dentina coronária humana por mm², e apresenta um maior diâmetro dos túbulos em relação à humana (Schilke *et al.*, 2000) (Figura 22.A e B). Kinney *et al.* 2003, relata que os túbulos dentinários com sua dentina peritubular circundante agem como fibras, promovendo reforço para a dentina intertubular. Isto implicaria dizer que quanto mais túbulos, maior a resistência, porém é percebido que quanto mais túbulos, menor a resistência flexural. Em contrapartida, Rasmussen *et al.*, 1976 disse que a adesão da dentina peritubular foi insuficiente para que o túbulo se comportasse como uma unidade integral (uma fibra) com respeito a fratura paralela.

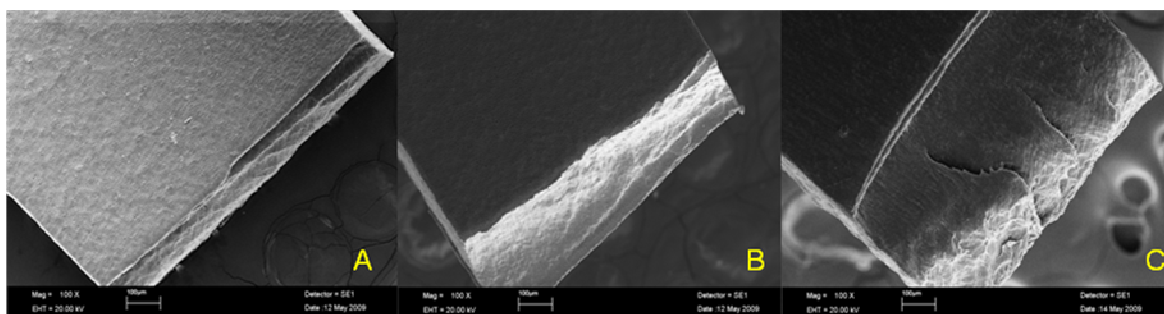


Figura 21. diferenças no padrão de fratura das dentinas BPA(A), HPA(B) e BRA(C).

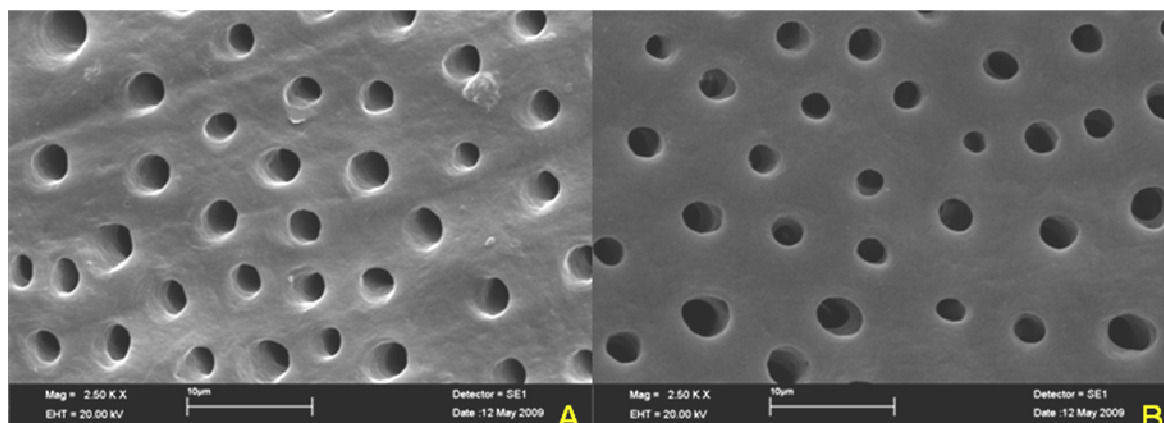


Figura 22. Comparação das densidades tubulares das dentinas BPA (A) e HPA (B).

O módulo de elasticidade aumenta proporcionalmente ao volume percentual de minerais (Kinney *et al.*, 2003) e é evidente que o espaço vazio no lúmen dos túbulos não contribui para a resistência da dentina (Giannini *et al.*, 2004). Desta forma a relativa maior quantidade de área sólida da dentina coronária humana, explica os resultados superiores das propriedades flexurais (RF, MF e R) em relação à dentina coronária bovina. No caso da dentina radicular bovina, além de ser considerada a estrutura que apresenta maior número de túbulos dentinários por mm² através de espectroscopia de varredura (Schlilke *et al.*, 2000) e ser a única que mantém a densidade tubular tanto no nível médio quanto no nível profundo, mostrou-se ser a estrutura com maior valor das propriedades flexurais (RF, MF e R) (Figura 23). Este fato pode ser explicado devido à constituição estrutural da dentina radicular, que além de possuir um conteúdo mineral menor do que o da dentina coronária (Nakano *et al.*, 1999), possui as fibrilas colágenas em maior quantidade e diâmetro (Marchet *et al.*, 1992).

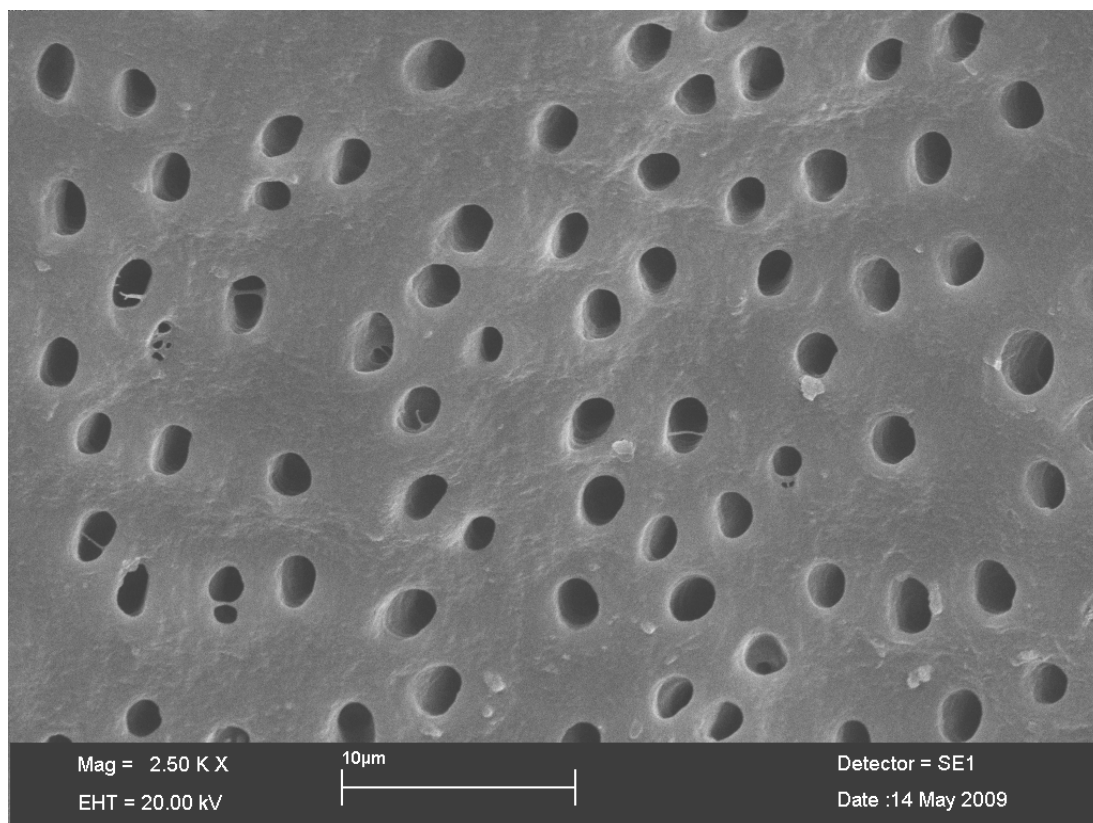


Figura 23. Dentina radicular bovina.

Quanto ao fator estrutural da dentina nas propriedades mecânicas, a orientação das fibrilas colágenas parece ser mais relevante do que a hidroxiapatita (Inoue, 1997; Arola & Reprogel, 2006). Miguez *et al.*, 2004 avaliou que a matriz colágena contribuiu na resistência à tração de 25 a 30% na dentina radicular humana e 11 a 12% na dentina coronária humana, e que existem mais ligações cruzadas entre as fibrilas na dentina radicular do que na coronária, mesmo que não haja diferença significativa no conteúdo do colágeno destas duas áreas. Este fato provavelmente se deve ao esforço que é requerido às raízes, devendo estas apresentar uma maior tenacidade à fratura. Diante disto pode-se supor que as mesmas características podem ocorrer nas raízes bovinas, porém em maior escala devido à maior carga mastigatória recebida por estas estruturas, justificando assim os resultados encontrados nesse trabalho.

Pouco tem sido relatado na comparação da dentina radicular humana e bovina. Para que se possa aplicar os achados à dentina radicular humana, mais trabalhos avaliando a composição química e estrutural das dentinas radiculares deveriam ser feitos (Soares *et al.*, 2007). O uso de altos valores das propriedades flexurais obtidos com a dentina radicular bovina, para as raízes humanas, poderia trazer uma falsa idéia de resistência da raiz humana, o que acarretaria falhas catastróficas nos tratamentos conseguintes destas raízes.

Arola & Reprogl 2006, relatam que a orientação dos túbulos dentinários está mais relacionada com a resistência à tração e ao cisalhamento do que com o módulo de elasticidade da dentina, e que a diferença de módulo (anisotropia) pode estar mais ligada à participação das fibrilas colágenas. A não influência da orientação dos túbulos ocorreu provavelmente porque a direção de aplicação da força nos dois casos foi perpendicular à orientação das camadas das redes de fibrilas colágenas. Este tipo de fratura é apresentado no trabalho de Arola & Reprogl, 2005, onde as trincas se iniciam nas irregularidades da superfície, geralmente no lado da barra que sofre tração, e percorre a extensão da dentina no sentido perpendicular a orientação das camadas de fibrilas colágenas e paralelas a orientação dos túbulos entre a dentina peritubular e intertubular. Neste tipo de fratura há a necessidade do rompimento da rede de colágeno e esta tem uma alta resistência à fratura (Rasmussen *et al.*, 1976).

O fato da resistência flexural da dentina radicular humana ser significativamente maior que a resistência da dentina coronária com a orientação dos túbulos perpendicular ao carregamento se dá provavelmente devido ao alinhamento aproximadamente paralelo dos túbulos na dentina radicular e a relativa manutenção do seu diâmetro no longo eixo (Huo, 2005), proporcionando assim uma maior homogeneidade na distribuição das dentinas peri e intertubular e na orientação dos túbulos dentinários. As barras de dentina coronária com a orientação dos túbulos paralelos possuem a mesma característica de homogeneidade da dentina radicular, principalmente porque o

longo eixo dos túbulos atravessa a espessura da barras que é o lado mais delgado. Já nas barras de dentina coronária com a orientação dos túbulos perpendicular ao carregamento, o longo eixo dos túbulos atravessa a largura da barra, que é maior que a espessura, de maneira menos alinhada devido a sua orientação radial na dentina coronária (Huo, 2005) e a barra agrega parte da dentina profunda que possui uma maior densidade tubular.

A respeito do módulo flexural que é definido como a flexibilidade de uma amostra (Grande *et al.*, 2007) e da rigidez, a diferença na localização da dentina humana não mostrou diferenças estatísticas nas propriedades flexurais. A diferença nos resultados das propriedades flexurais (RF, MF e R) da dentina bovina quanto à localização, com maiores valores na região radicular, provavelmente se deve à diferença estrutural da dentina coronária e radicular.

Dentre as limitações desse trabalho está o fato de não se conseguir avaliar a direção dos túbulos na dentina coronária de forma verdadeira, pois é inviável confeccionar uma barra de dentina pura em dentes humanos, com a orientação dos túbulos paralela ao comprimento da barra (8mm) para o teste de resistência flexural. Outras limitações foram a dificuldade de se estabelecer uma comparação entre as idades dos dentes humanos e bovinos de forma proporcional, a disposição dos túbulos nas áreas de coletas das barras coronárias, ou seja, na incisal de dentes bovinos e na oclusal de dentes humanos, o uso de dentes incisivos unirradiculares e de molares multirradiculares que apresentam funções diferentes e a não realização dos testes em umidade absoluta e com temperatura ambiente controlada.

CONCLUSÃO

3. Conclusão

De acordo com os resultados deste estudo podemos concluir que:

1. Há uma diferença significativa entre as propriedades flexurais de dentes humanos e bovinos, com valores maiores para a dentina humana coronária, sugerindo que valores obtidos com dentes de uma espécie não devem ser utilizados para outra espécie;
2. A dentina radicular bovina apresentou resultados estatisticamente superiores à humana nas 3 propriedades avaliadas;
3. A localização da dentina parece ter influência nas propriedades flexurais devido a característica heterogênea da dentina;
4. A orientação dos túbulos dentinários pareceu não ter influência nas propriedades avaliadas, independente da espécie.

REFERÊNCIAS

Referências

- 1- Anusavice K. PHILLIPS - Materiais Dentários, Edição: 9^a, 1993. **ELSEVIER BRASIL**.(livro-texto)
- 2- Anusavice K. PHILLIPS - Materiais Dentários, Edição: 10^a, 1998. **ELSEVIER BRASIL**.(livro-texto)
- 3- Anusavice K. PHILLIPS - Materiais Dentários, Edição: 11^a, 2005. **ELSEVIER BRASIL**.(livro-texto)
- 4- Arola D, Reprogl RK. Tubule orientation and the fatigue strength of human dentin. **Biomaterials** 2006; (27) 2131–2140.
- 5- Arola D, Reprogl RK. Effects of aging on the mechanical behavior of human dentin. **Biomaterials**. 2005 Jun;26(18):4051-61.
- 6- Arola D, Zheng W, Sundaram N, Rouland JA. Stress ratio contributes to fatigue crack growth in dentin. **J Biomed Mater Res A** 2005;73(2):201–12.
- 7- Arola D, Rouland JA. The effects of tubule orientation on fatigue crack growth in dentin. **J Biomed Mater Res** 2003;67A(1):78–86.
- 8- Burke FJ. Tooth fracture in vivo and in vitro. **J Dent**. 1992; 20(3): 131-9.
- 9- Cavalli V, Giannini M, Carvalho RM. Effect of carbamide peroxide bleaching agents on tensile strength of human enamel. **Dent Mater** 2004; 20: 733-9.
- 10-Da Silva AP, De Oliveira R, Cavalli V, Arrais CA, Giannini M, Carvalho RM. Effect of peroxidebased bleaching agents on enamel ultimate tensile strength. **Oper Dent** 2005; 30:318-24.

- 11-Ddsdx.uthscsa.edu [homepage on the Internet]. San Antonio: University of Texas Health Science Center. Image Tool Version 3.0 Final. [accessed 2007 Jan 12]. Available from: <http://ddsdx.uthscsa.edu/dig/download.html>
- 12-Ghavamnasiri M, Abedini S, Mehdizadeh Tazangi A. Effect of different time periods of vital bleaching on flexural strength of the bovine enamel and dentin complex. **J Contemp Dent Pract** 2007 Mar 1;8(3):21-8.
- 13-Giannini M, Soares CJ, Carvalho RM. Ultimate tensile strenght of tooth structures. **Dental Materials** (2004) 20, 322–329.
- 14-Grande NM, Plotino G, Lavgogna L, Ioppolo P, Bedini R, Pameijer CH, *et al*. Influence of Different Root Canal–Filling Materials on the Mechanical Properties of Root Canal Dentin. **JOE** 2007; 33(7):859-863.
- 15-Habelitz S, Marshall GW, Balooch M, Marshall SJ. Nanoindentation and the storage of teeth. **J Biomechan** 2002;35:995-998.
- 16-Huo B. An inhomogeneous and anisotropic constitutive model of human dentin. **Journal of Biomechanics** 38 (2005) 587–594.
- 17-Inoue T, Takahashi H, Nishimura F (2002). Anisotropy of tensile strengths of bovine dentin regarding dentinal tubule orientation and location. **Dent Mater J** 2002, 21:32-43.
- 18-ISO 178 - www.iso.ch/iso/en/prods-services/ISOstore/store.html.
- 19-Iwamoto N, Ruse ND. Fracture toughness of human dentin. **J Biomed Mater Res** 2003;66A(3):507–12.
- 20-Jones, S., Boyde, A., 1984. Ultrastructure of dentin and dentinogenesis. In: Linde (Ed.), **Dentin and Dentinogenesis**. CRC Press, Boca Raton

- 21-Junior SAR, Ferracane JL, Bona AD. Flexural strength and Weibull analysis of a microhybrid and a nanofill composite evaluated by 3- and 4-point bending tests. **Dent Mater** 2007 Mar;24(3):426-31.
- 22-Kinney JH, Marshall SJ, Marshall GW. The mechanical properties of human dentin: A critical review and re-evaluation of the dental literature. **Crit Rev Oral Biol Med** 2003;14(1):13-29.
- 23-Kinney JH, Gladden JR, Marshall GW, Marshall SJ, So JH, Maynard JD. Resonant ultrasound spectroscopy measurements of the elastic constants of human dentin. **J Biomech** 2004 (37):437-441.
- 24-LindeA, Goldberg M (1993). Dentinogenesis. **Crit Rev Oral Biol Ued** 45:679-728.
- 25-Marchetti C, Piacentini C, Menghini P. Morphometric computerized analysis on the dentinal tubules and the collagen fibers in the dentine of human permanent teeth. **Bull Group Int Rech Sci Stomatol Odontol**. 1992 Sep-Dec;35(3-4):125-9.
- 26-Mareending M, Luder HU, Brunner TJ, Knecht S, Stark WJ, Zehnder M. Effect of sodium hypochlorite on human root dentine--mechanical, chemical and structural evaluation. **Int Endod J**. 2007 Oct;40(10):786-93.
- 27-Marshall Jr GW, Marshall SJ, Kinney JH, Balooch M. The dentin substrate: structure and properties related to bonding. **J Dent** 1997;25(6):441–58.
- 28-Miguez PA, Pereira PN, Atsawasuwan P, Yamauchi M. Collagen cross-linking and ultimate tensile strength in dentin. **J Dent Res** 2004;83:807–10.
- 29- Nakamichi I, Iwaku M ,Fusayama T. Bovine teeth as possible substitutes in the adhesion test. **J Dent Res**. 1983; 62(1076-81).

- 30- Nakano F, Takahashi H, Nishimura F. Reinforcement mechanism of dentin mechanical properties by intracanal medicaments. **Dent Mater J.** 1999 Sep;18(3):304-13.
- 31-Nalla RK, Imbeni V, Kinney JH, Staninec M, Marshall SJ, Ritchie RO. In vitro fatigue behavior of human dentin with implications for life prediction. **J Biomed Mater Res** 2003;66A(1):10–20.
- 32-Oyarzún A, Cordero A, Whittle M. Immunohistochemical evaluation of the effects of sodium hypochlorite on dentin collagen and glycosaminoglycans. **J Endod** 2002;28:152– 6.
- 33-Pashley DH, (1996). Dynamics of the pulp-dentin complex. **Crit Rev Oral Biol Med** 7(2):104-133
- 34-Plotino G, Grande NM, Bedini R, Pameijer CH., Somma F. Flexural properties of endodontic posts and human root dentin. **Dental Materials** (2007) 23(9);1129–1135.
- 35-Rasmussen ST, Patchin RE, Scott DB, Heuer AH. Fracture properties of human enamel and dentin. **J Dent Res** 1976;55(1):154–64.
- 36-Santos,CA - Ensaios dos Materiais, 1ª edição, 2000. Rio de Janeiro, **LTC.**(livro-texto)
- 37-Schilke R, Lisson JA, Bauss O ,Geurtsen W. Comparison of the number and diameter of dentinal tubules in human and bovine dentine by scanning electron microscopic investigation. **Arch Oral Biol.** 2000; 45(5): 355-61.
- 38-Soares CJ, Santana FR, Silva NR, Pereira JC, Perira CA. Influence of the endodontic treatment on mechanical properties of root dentin. **JOE** 2007; 33(5); 603-606.

- 39-Tam LE, Lim M, Khanna S. Effect of direct peroxide bleach application to bovine dentin flexural strength and modulus invitro. **J Dent** 2005; 33: 451-458.
- 40-Ten Cate, AR. Oral histology: development, structure, and function. 7th ed. **Elsevier**; 2008.
- 41-Yasuda G, Inage H, Takamizawa T, Kurokawa H, Rikuta A, Miyazaki M. Determination of elastic modulus of demineralized resin-infiltrated dentin by self-etch adhesives. **Eur J Oral Sci** 2007;115:87-91.