

بررسی تأثیر مواد باندینگ عاجی با حلالهای مختلف بر نانولیکج و ضخامت لایه هیبرید

دکتر مرجانه قوام نصیری* - دکتر فاطمه ملک نژاد* - دکتر حمیده عامری** - دکتر محمدجواد مقدس**

*- دانشیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

** - استادیار گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

چکیده

زمینه و هدف: مرطوب بودن سطح عاج اچ شده یک عامل مهم در حصول باند مؤثر می باشد ولی درجه رطوبت مورد نیاز مشخص نبوده و مورد بحث است. در سیستم های چسبنده عاجی مختلف، میزان متفاوتی از آب برای حصول یک لایه هایبرید با بهترین کیفیت لازم می باشد. به همین جهت این مطالعه با هدف ارزیابی اثر میزان رطوبت سطح عاج اچ شده بر نانولیکج و ضخامت لایه هایبرید انجام گردید.

روش بررسی: مطالعه حاضر به روش مداخله گرانه موازی انجام گردید. در این مطالعه از سیستم های چسبنده عاجی One-Coat Bond Prime & Bond 2.1 Single Bond و سه روش مختلف خشک کردن عاج اچ شده: wet (خشک کردن با گلوله پنبه)، Semidry (خشک کردن با پوار هوای ملایم به مدت سه ثانیه) و Dry (خشک کردن با پوار هوای شدید به مدت ۱۵ ثانیه) استفاده شد. از ۵۴ عدد دندان پرمولر سالم خارج شده استفاده گردید که در آنها حفرات CIV تهیه شد. بعد از ترمیم حفرات به وسیله یک کامپازیت Flowable و رنگ آمیزی به وسیله نیترات نقره، ارزیابی نانولیکج و ضخامت لایه هایبرید انجام شد، سپس به وسیله SEM نانولیکج و ضخامت لایه هایبرید اندازه گیری گردید. از آنالیز واریانس دوعاملی و یک عاملی و آزمون DUNCAN و تست همبستگی با ضریب اطمینان ۹۵٪ جهت آنالیز داده ها استفاده شد.

یافته ها: در همه نمونه ها نانولیکج اتفاق افتاد و با افزایش خشکی سطح عاج مقدار آن به طور معنی دار افزایش یافت. همچنین در نمونه هایی که بیشتر خشک شده بود ضخامت لایه هایبرید به طور معنی داری کاهش یافت. کمترین میزان نانولیکج در سیستم چسبنده عاجی با حلال آب (One Coat Bond) و در روش Wet و بیشترین میزان نانولیکج در سیستم چسبنده عاجی با حلال استون (Prime & Bond 2.1) و روش Dry مشاهده شد. در همه سیستم های مورد مطالعه کمترین نانولیکج و بیشترین لایه هایبرید در روش Wet دیده شد، یعنی در حضور ضخامت بیشتر لایه هایبرید، سیل عاجی نسبتاً بهتر بود.

نتیجه گیری: ۱- در بین سیستم های چسبنده عاجی مورد آزمایش سیستم با حلال آب (One Coat Bond) کمترین نانولیکج را در هر سه روش خشک کردن عاج نشان داد.

۲- بیشترین میزان نانولیکج در سیستم چسبنده با حلال استون (Prime & Bond 2.1) و در سطح عاجی کاملاً خشک شده اتفاق افتاد.

۳- در هر سیستم چسبنده عاجی بین نانولیکج سه روش خشک کردن، تفاوت آماری معنی داری وجود داشت.

۴- بین افزایش نانولیکج و کاهش ضخامت لایه هایبرید در هر سه سیستم و هر سه روش خشک کردن عاج اچ شده همبستگی معنی داری وجود داشت.

کلید واژه ها: نانولیکج - لایه هایبرید - عاج

پذیرش مقاله: ۸۴/۵/۶

اصلاح نهایی: ۸۴/۲/۲۷

وصول مقاله: ۸۳/۱۱/۱

نویسنده مسئول: گروه آموزشی ترمیمی دانشکده دندانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی مشهد ameri-52@yahoo.com

مقدمه

بر استحکام باند برشی کامپوزیت‌ها به عاج تحقیقی انجام داد و نتیجه گرفت که نوع حلال به کار رفته در هر سیستم چسبنده عاجی با میزان رطوبت سطحی مورد نیاز تاثیر مستقیم دارد. از آنجایی که تاکنون مطالعه‌ای در مورد اثر نوع حلال سیستم باندینگ بر میزان نانولیکچ و ارتباط بین نانولیکچ و ضخامت لایه هیبرید انجام نشده است در این مطالعه دو هدف دنبال شد.

- (۱) تاثیر رطوبت عاج بر نانولیکچ و ضخامت لایه هیبرید
- (۲) یافتن یک هم بستگی بین نانولیکچ سیستم‌های چسبنده عاجی با حلالهای مختلف و ضخامت لایه هیبرید

روش بررسی

این مطالعه به روش مداخله‌گرانه موازی انجام گردید. برای انجام این تحقیق آزمایشگاهی از ۵۴ عدد پرمولر انسانی سالم خارج شده استفاده شد. در سطح باکال همه دندانها حفرات CIV با ابعاد مشخص و مشابه تهیه شد. برای مشابه‌سازی با شرایط مکانیکی، همه نمونه‌ها به فشار پالپی وصل شدند. برای این منظور ریشه تمام دندانها قطع شد و یک سر سوزن با گیج بالا از انتهای ریشه وارد شد و اطراف آن به وسیله چسب سیلیکون و آکريل سلف کپور سیل شد و بعد نمونه‌ها به ستونی از نرمال سالین به ارتفاع ۳۶ سانتی‌متر وصل شدند.

در این مطالعه از سه سیستم چسبنده عاجی استفاده شد که شامل One Coat Bond (OCB با حلال آبی)، Prime & Bond 2.1 (PB با حلال استون) و Single Bond (SB با حلال الکل) می‌باشد. سطح حفرات به وسیله اسید فسفریک ۳۷٪ اچ شد و بعد در هر زیر گروه سطح عاج به یکی از این سه روش خشک شد. (n=۶):

- (۱) Wet: خشک کردن سطح تهیه حفره به وسیله گلوله پنبه

در هنگام بحث در مورد ریزش در حفرات ترمیمی بایستی بدین نکته اشاره کرد که در زمینه کاربرد مواد چسبنده دو نوع ریزش اهمیت می‌یابد، یکی ریزش در فضای حد فاصل بین ترمیم و سطح عاج با مینای تراش خورده می‌باشد که به آن میکرولیکچ اطلاق می‌گردد و دیگری ریزش از میان مواد باندینگ عاجی و از طریق خلل و فرج و نواقص لایه هیبرید که نانولیکچ نامیده می‌شود.

نخستین بار Nakabayashi و همکاران (۱) مکانیسم پیوند مواد چسبنده عاجی از طریق تشکیل لایه هیبرید را تشریح کردند. تا سالیان بعد تصور بر این بود که در صورت عدم وجود درز (Gap) و رعایت نکاتی که به ایجاد باند بدون درز منتهی می‌شود بتوان به نحوی شایسته جلوی ریزش را گرفت (۲) ولی با تحقیقات Sano و همکاران در سالهای اخیر مقوله ریزش از طریق خلل و فرج لایه هیبرید مطرح و نفوذ مواد به داخل خود لایه هیبرید به اثبات رسید (۳-۵)، که علت آن ممکنست وجود بقایای آب کلاژن، کلاپس شبکه کلاژن، نفوذ ناقص رزین و یا پلیمریزاسیون ناقص رزین باشد.

Gwinnett (۶) و Kanca (۷) پیشنهاد کردند که پس از اچ کردن و شستشوی عاج، پرایمر باید روی عاج مرطوب به کار رود. به این روش Wet bonding اطلاق شد که در آن سطح عاج باید به طور قابل رویت مرطوب بماند ولی از طرفی تخمین مقدار رطوبت لازم مشکل است به عبارت دیگر اگر مقدار رطوبت از میزان لازم بیشتر باشد پدیده Overwet اتفاق می‌افتد که خود یک عامل بروز نانولیکچ است چون از نفوذ رزین به داخل عاج به طور کامل جلوگیری خواهد کرد. (۸)، به علاوه در سیستم‌های چسبنده عاجی با حلالهای مختلف مقدار رطوبت متفاوتی برای نفوذ هر چه بهتر رزین به درون عاج لازم است. Iwami (۹) در مورد تاثیر میزان رطوبت سطح عاج

Secondary electron با بزرگنمایی هزار استفاده شد و فاصله دو خط اپکی که نشان‌دهنده نفوذ نیترات نقره در قاعده و بالای لایه هیبرید بود اندازه گیری شد. برای ارزیابی داده‌های مربوط به نانولیکچ و ضخامت لایه هیبرید از آنالیز واریانس یک عاملی، دو عاملی و تست DUNCAN و برای ارزیابی هم بستگی نانولیکچ و ضخامت لایه هیبرید از تست هم بستگی با ضریب اطمینان ۹۵٪ استفاده شد.

یافته‌ها

۱- نانولیکچ

در ابتدا آنالیز واریانس دو عاملی مشخص کرد که دو عامل نوع مواد و روش خشک کردن بر روی هم تاثیر متقابل دارند. ($P < 0.05$) نتایج جدول ۱ نشان می‌دهد که میانگین نانولیکچ در روش مرطوب در تمام مواد حداقل و در روش خشک حداکثر بود، میانگین نانولیکچ در هر سه روش حداقل بود و میانگین نانولیکچ در دو روش مرطوب و نیمه خشک و از PB کمتر ولی در روش خشک از آن بیشتر بود. (جدول ۱)

۲) Semidry: خشک کردن با پوار ملایم هوا به مدت سه ثانیه
۳) Dry: خشک کردن حفرات به وسیله پوار شدید هوا به مدت ۱۵ ثانیه.

سپس از سیستم‌های چسبنده عاجی براساس دستور کارخانه سازنده استفاده شد. پس از آن تمام حفرات به وسیله کامپازیت تتریک فلو ترمیم شدند و بعد از ۲۴ ساعت نگهداری در دمای ۳۷ درجه نمونه‌ها پالیش شدند. برای رنگ‌آمیزی نمونه‌ها از محلول نیترات نقره ۵۰٪ وزنی استفاده شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در این محلول در محیط تاریک نگهداری شدند و سپس شسته شده و به مدت هشت ساعت در محلول ظهور قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها در آپوکسی رزین مانت شدند و برشهایی به ضخامت ۰/۵ میلی‌متر در بعد باکولینگوال از آنها تهیه شد. برای مشاهده توپوگرافی لایه هیبرید نمونه‌ها به مدت دو دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱/۵٪ پروتئین‌زدایی گردیدند. بررسیهای SEM در دو مرحله انجام شد، در یک مرحله نانولیکچ اندازه‌گیری گردید که به وسیله اشعه Back Scattered electron با بزرگنمایی پانصد انجام شد و فاصله دورترین نقطه نفوذ نیترات نقره تا دیواره آگزیاال اندازه‌گیری گردید. برای اندازه‌گیری ضخامت لایه هیبرید از اشعه

جدول ۱: میانگین نانولیکچ در روشها و مواد سه گانه مورد آزمایش (μm)

روش	ماده	میانگین	انحراف معیار	بازه اطمینان ۹۵٪	مرز بالا	مرز پایین
مرطوب	OCB	۵۰/۸۱۷	۱/۵۳۸	۴۸/۱۵۲	۵۳/۴۸۱	
	SB	۸۶/۱۵۰	۱/۵۳۸	۸۳/۴۸۵	۸۸/۸۱۵	
	PB	۹۲/۳۸۳	۱/۵۳۸	۸۹/۷۱۹	۹۵/۰۴۸	
نیمه خشک	OCB	۸۱/۶۳۳	۱/۵۳۸	۷۸/۹۶۹	۸۴/۲۹۸	
	SB	۱۰۵/۶۶۷	۱/۵۳۸	۱۰۳/۰۰۲	۱۰۸/۳۳۱	
	PB	۱۱۴/۰۰۰	۱/۵۳۸	۱۱۱/۳۳۵	۱۱۶/۶۶۵	
خشک	OCB	۱۰۳/۳۳۳	۱/۵۳۸	۱۰۰/۶۶۹	۱۰۵/۹۹۸	
	SB	۱۴۱/۰۰۰	۱/۵۳۸	۱۳۸/۳۳۵	۱۴۳/۶۶۵	
	PB	۱۱۹/۰۰۰	۱/۵۳۸	۱۱۶/۳۳۵	۱۲۱/۶۶۵	

جدول ۲: میانگین ضخامت لایه هیبرید در روشها و مواد سه گانه مورد آزمایش (μm)

روش	ماده	میانگین	انحراف معیار	مرز پایین	بازه اطمینان ۹۵٪	مرز بالا
مرطوب	OCB	۲/۴۴۷	۰/۱۴۲	۲/۳۳۷	۲/۵۵۶	
	PB	۱/۶۰۲	۰/۱۴۲	۱/۴۹۲	۱/۷۱۱	
	SB	۳/۶۴۳	۰/۱۴۲	۳/۵۳۴	۳/۷۵۳	
نیمه خشک	OCB	۱/۰۴۲	۰/۱۴۲	۰/۹۳۲	۱/۱۵۱	
	PB	۰/۸۵۰	۰/۱۴۲	۰/۷۴۱	۰/۹۵۹	
	SB	۲/۳۷۵	۰/۱۴۲	۲/۲۶۶	۲/۴۸۴	
خشک	OCB	۰/۸۰۸	۰/۱۴۲	۰/۶۹۹	۰/۹۱۸	
	PB	۰/۷۵۰	۰/۱۴۲	۰/۶۴۱	۰/۸۵۹	
	SB	۱/۵۱۸	۰/۱۴۲	۱/۴۰۹	۱/۶۲۸	

آنالیز واریانس یک‌عاملی در هریک از سیستم‌های چسبنده عاجی مورد مطالعه نشان داد که نوع روش خشک کردن بر میانگین نانولیکچ تاثیر معنی داری داشت و با کاهش رطوبت در سطح عاج مقدار نانولیکچ به طور معنی‌داری افزایش یافت. ($P<0/05$)

توسط آزمون DUNCAN مشخص گردید که در هر یک از روشهای خشک کردن با سه ماده مورد آزمایش از نظر نانولیکچ دو به دو اختلاف معنی داری با یکدیگر داشتند و همچنین در هریک از مواد مورد آزمایش مقادیر میانگین نانولیکچ در سه روش خشک کردن دو به دو اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند. ($P<0/05$)

۲- ضخامت لایه هیبرید

محاسبه میانگین ضخامت لایه هیبرید در روشها و مواد مورد آزمایش نشان داد که ضخامت لایه هیبرید در هر سه ماده در روش مرطوب حداکثر و در روش خشک حداقل بود و ضخامت لایه هیبرید در SB در هر سه روش حداکثر و در PB در هر سه روش حداقل بود و ضخامت لایه هیبرید در OCB حد واسط این دو ماده بود (جدول ۲)

آنالیز واریانس یک‌عاملی در هر یک از سیستم‌های چسبنده عاجی نشان داد که نوع روش خشک کردن بر ضخامت لایه هیبرید تاثیر معنی‌داری داشت ($P<0/05$) و با افزایش رطوبت سطح عاج در هر سیستم چسبنده عاجی ضخامت لایه هیبرید افزایش یافت. توسط آزمون DUNCAN مشخص گردید که در هر یک از روشهای خشک کردن، سه ماده مورد آزمایش از نظر ضخامت لایه هیبرید دو به دو با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند و در هر یک از مواد مورد آزمایش نیز ضخامت لایه هیبرید در سه روش خشک کردن دو به دو اختلاف معنی‌داری با یکدیگر داشتند.

توسط آزمون همبستگی پیرسون مشخص شد که بین نانولیکچ و ضخامت لایه هیبرید هر ماده همبستگی معنی‌داری وجود داشت و این همبستگی منفی بود. ($P<0/05$)

بحث

با بررسی نتایج حاصله از مطالعه انجام شده، در مورد سه سیستم چسبنده عاجی و روشهای مختلف خشک کردن عاج، پاره‌ای از یافته‌ها جدید و برخی از نتایج موید آزمایشات قبلی

می‌باشد. از آنجا که عاج زنده بعد از برداشت لایه اسمیر مرطوب است، جلوگیری از کلاپس ماتریکس کلاژنی بعد از اسید اچینگ عاج در In - vivo حائز اهمیت می‌باشد. در سال ۲۰۰۳، Ferrari و Tay در مطالعه خود فرض کردند که هیچ گونه تفاوتی بین باندینگ مرطوب (Wet bonding) انجام شده در In - vitro و In - vivo وجود ندارد و اینکه خشک کردن بیش از حدّ عاج (Over drying) و یا مرطوب‌سازی بیش از حدّ (Over wetting) عاج زنده اچ شده نتایج نامطلوبی را موجب می‌شود. حدّ فاصل عاج - رزین که با روش باندینگ مرطوب باند شده بود هم در In - vivo و هم In - vitro با و بدون نفوذ ردیاب مورد بررسی TEM قرار گرفت. همچنین نمونه‌های In - vivo تحت شرایط Overdrying و Over wetting هم مطالعه شدند. نتیجه حاصله این بود که هیچ لایه هایپریدی بعد از Over drying در In - vivo مشاهده نشد. و از طرفی Over wetting موجب بروز نانولیکچ وسیعتر و نیز ایجاد Water tree در طول حدّ فاصل عاج - رزین شد. این نتیجه مؤید حساسیت تکنیکی روش Wet bonding روی عاج اچ شده به صورت In - vivo و In - vitro می‌باشد. (۱۰)

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که بیشترین نانولیکچ مربوط به PB بود که سیستمی با حلال استون می‌باشد و در ترکیب آن به جای HEMA ترکیب PENTA و UDMA به کار رفته و شاید علت نانولیکچ زیاد این سیستم این باشد که PENTA نمی‌تواند به خوبی HEMA رزین ادهزیو را به عاج متصل کند. نانولیکچ زیاد در این سیستم در محیط خشک به علت حلال بسیار فرار آن است که در حالت خشک چون شبکه کلاژن کلاپس کرده استون نمی‌تواند رزین را به درون آن شبکه به طور کامل جا به جا کند. وجود آب در سیستم OCB را شاید بتوان علت نانولیکچ کمتر آن فرض کرد. چون آب موجود در این سیستم می‌تواند با دوباره مرطوب کردن شبکه کلاژن از

کلاپس آن جلوگیری کرده و باعث هدایت بهتر رزین به درون آن شود. البته این سیستم هم در ایجاد سیل کامل ناتوان بود که شاید به علت گیر افتادن حباب هوا در طی تماس این ماده روی سطح عاج باشد که این حبابهای هوا باعث مهار کیورینگ رزین می‌شوند.

نانولیکچ در سیستم SB هم احتمالاً به علت وجود بقایای اتانول در لایه هایپرید است که باعث بروز اشکال در کیورینگ آن شده است.

با توجه به اینکه کمترین نانولیکچ در هر سه نوع سیستم در محیط مرطوب مشاهده شد بنابراین کاربرد آنها به روش مرطوب ضروری به نظر می‌رسد و بروز نانولیکچ در روش نیمه خشک هم مؤید این مطلب است که خشک کردن عاج اچ شده حتی به میزان سه ثانیه هم می‌تواند اثر قابل ملاحظه‌ای بر نانولیکچ بگذارد.

ضخامتهای لایه هایپرید در هر سه نوع سیستم با نتایج مطالعات Li مطابقت دارد (۱۱) که بیشترین ضخامت لایه هایپرید متعلق به سیستم SB و کمترین آن متعلق به OCB بود. در مطالعه حاضر هم علاوه بر این نتایج بیشترین ضخامت در هر سه سیستم در روش مرطوب و کمترین ضخامت در روش خشک بود و از روش مرطوب به سمت روش خشک دچار کاهش معنی‌داری شد.

در مطالعه دیگری از Li و همکاران نیز که به منظور بررسی خصوصیات ریزساختاری و استحکام باند سیستم‌های چسبنده عاجی با محلول استون بر روی سطوح عاجی خشک و مرطوب انجام شد مشخص گردید که در صورت کاربرد سیستم چسبنده عاجی با محلول استون بر روی سطوح عاجی خشک، ارتشاح ادهزیو در اینترفیس به طور ناقص صورت گرفته و نیز لایه هایپرید بسیار نازکتری تشکیل می‌شود. به علاوه استحکام باند نیز به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. (۱۲)

نفوذ عامل چسبنده عاجی تداخل ایجاد کرده و یون‌های نقره در این لایه اسمیر کلاژنی رسوب کنند. (۳)، Phrukkanon و همکارانش نیز وجود الیاف کلاژن متراکم را در بخش سطحی لایه هایبرید در سیستم‌های Single bond و One coat bond گزارش کرده بودند و معتقد بودند که ناشی از کلاپس نسبی لایه سطحی شبکه کلاژنی می‌باشد. (۱۷)

نتایج آماری نشان داد که صرفه نظر از نوع حلال سیستم چسبنده عاجی، هر چه سطح عاج اچ شده خشکتر باشد نانولیکچ بیشتر و ضخامت لایه هایبرید کمتر خواهد شد.

نتیجه‌گیری

- ۱- بیشترین نانولیکچ در سیستم PB با حلال استون و کمترین نانولیکچ در سیستم OCB با حلال آب مشاهده شد.
- ۲- در تمام سیستم‌های مورد مطالعه کمترین نانولیکچ در روش مرطوب و بیشترین نانولیکچ در روش خشک مشاهده شد.
- ۳- در هر سه نوع سیستم افزایش زمان خشک کردن عاج اچ شده باعث افزایش نانولیکچ و کاهش ضخامت لایه هایبرید شد.

تشکر و قدردانی

با تشکر از شورای پژوهشی دانشکده دندانپزشکی و معاونت پژوهشی دانشگاه مشهد که هزینه‌های مربوط به طرح را متقبل شده‌اند.

Gregoire GL و همکاران تفاوت‌های ریزساختاری لایه هایبرید تشکیل شده توسط سیستم‌های چسبنده عاجی با محلول آب و استون را مورد بررسی قرار دادند و بعد از انجام بررسی‌های SEM نتیجه گرفتند که در چسبنده‌های عاجی دارای حلال استون، لایه هایبرید ضخیم و پیوسته با تگ‌هایی به شکل مخروطی معکوس در مجاورت دیواره توبول‌ها ایجاد می‌شود و سیستم‌های با حلال آب موجب ایجاد لایه هایبرید نازکتر با برخی توبول‌ها که به طور کامل سیل نشده است می‌شود. (۱۳) نتایج این مطالعه با یافته‌های مطالعه کنونی مغایرت دارد.

Zheng و همکارانش گزارش کرده بودند که در بعضی سیستم‌ها از جمله Single bond بین ضخامت لایه ادهزیو و استحکام باند ارتباطی وجود ندارد. (۱۴) همچنین Gwinnett نشان داده بود که لایه هایبرید هیچ اثر مستقیمی از نظر کمی بر استحکام باند اینترفیشیال سیستم‌های ادهزیو ندارد. (۱۵) با این حال تشکیل لایه هایبرید یک ناحیه تماس جاذب شوک و Stress breaking ایجاد می‌کند که می‌تواند در برابر نیروهای پلیمریزاسیون، انقباض و مضغ مقاومت کند. (۱۶) علاوه بر آن نتایج مطالعه کنونی نشان داد که در حضور ضخامت‌های بیشتر لایه هایبرید سیل عاجی بهتر بود.

Sano و همکارانش نفوذ نیترات نقره در بالای لایه هایبرید را به علت وجود الیاف کلاژن بسیار نازک که به جا مانده از اسید اچینگ لایه اسمیر می‌دانند که در سطح عاج تجمع پیدا کرده‌اند. این لایه نازک (۰/۳-۰/۲ میکرون) ممکن است در

REFERENCES

1. Nakabayashi N. Adhesive bonding with 4-META. Oper Dent 1992;5:125-130.
2. Nakabayashi N. Resin reinforced dentin due to infiltration of monomer into the dentin at the adhesive interface. J Jap Soc Dent Mater Devic 1982;1:78-81.
3. Sano H, Takatsu T, Ciucchi B. Nanoleakage, leakage within the hybrid layer. Oper Dent 1995;20:18-25.
4. Sano H. Microporous dentin zone beneath resin impregnated layer. Oper Dent 1994;19:56-64.

5. Sano H. Comparative SEM and TEM observations of nanoleakage within the hybrid layer. *Oper Dent* 1995; 20: 160-167.
6. Gwinnett AJ. Bridging the gap between overdry and overwet bonding phenom. Dentin pulp complex. *Quint Int* 1996;27:359-363.
7. Kancaj. Wet bonding effect of drying time and distance. *Am J Dent* 1996;9:273-276.
8. Tay FR, Gwinnett AJ, Wei SH. The over wet phenom. *Am J Dent* 1996;9(3):109-114.
9. Iwami Y, Hiroko Y, Keiji K. Effect of enamel and dentin surface wetness on shear bond strength of composite. *J Prosthet Dent* 1998;80:20-26.
10. Ferrari M, Tay FR. Technique sensitivity in bonding to vital, acid-etched dentin. *Oper Dent* 2003;28(1):3-8.
11. LiH, Burrow MF, Tays MJ. Nanoleakage Patterns of four dentin bonding systems. *Dent Mat* 2000;16:48-56.
12. Li X, Zhao XY, Shi CX, Zhu GD, Li HT. Bonding strength and interface effects of different dentin surface on acetone-based adhesives bonding. *Shanghai Kou Qiang Yi Xue* 2004;13(1):44-7.
13. Gregoire GL, Akon BA, Millas A. Interfacial micro morphological differences in hybrid layer formation between water- and solvent- based dentin bonding systems. *J Prosthet Dent* 2002;87(6):633-41.
14. Zheng L. Relationship between adhesive thickness and microtensile bond strength. *Oper Dent* 2001;26:97-104.
15. Gwinnett AJ. Altered tissue cantribution to interfacial bond strength with acid conditioned dentin. *Am J Dent* 1994;7:243-246.
16. Pashley DH. The clinical correlations of dentin structure and function. *J Prosthet Dent* 1991;66:777-781.
17. Phrukkanon S. The influence of hybrid layer modification on bond strength to bovine dentin. *J Dent Res* 1998; 77:892.