

# EDTA의 적용방법이 상아세관 개방에 미치는 영향에 관한 주사전자현미경적 연구

이종원 · 김병옥 · 한경윤

조선대학교 치과대학 치주과학교실

## I. 서론

치주질환에 이환된 치근면은 과광물화(hypermineralization)<sup>1)</sup>, 교원섬유 식립의 상실<sup>2)</sup>, 세균과 내독소(endotoxins)에 의한 치근면 오염<sup>3)</sup>, 무기질 밀도와 구성성분의 변화<sup>4)</sup>, 치주조직재생을 유도하는 세포의 이주에 필수적인 화학적 자극의 결핍<sup>5-7)</sup> 등의 변화가 나타나게 된다. 이런 치근면은 주변 치주조직 세포에 대한 생적합성(biocompatibility)이 없어지고, 치주조직 손상의 치유를 위한 세포의 분화를 방해하게 된다<sup>6,8)</sup>. 병적인 치근면을 처치하는데 있어서 기계적인 기구조작만으로 완벽하게 치근면의 오염을 제거하는 것은 불가능하다<sup>9)</sup>. 치석제거술과 치근면 활택술이 시행된 치근면은 병적 백악질과 치석이 완전히 제거되지 못하고 도말층(smear layer)으로 덮여 있는데<sup>7)</sup>, 이 도말층은 치석, 병적 백악질, 치은연하 치태 등의 잔사를 포함하고 있으며, 식염수 세척만으로는 잘 제거되지 않기 때문에<sup>10, 11)</sup> 산 또는 착화제(chelating agent) 같은 화학요법제를 이용하여 제거해야만 한다<sup>7, 10-12)</sup>.

치근면 처치는 활택된 치근면으로부터 도말층을 제거하여 교원질을 노출시키고 백악질, 골, 그리고 치주인대의 재생을 도모함으로써 임상적 부착획득(clinical attachment gain)을 향상시키고 치은 상피의 하방 증식을 억제하기 위하여 시행되는 술식이다.

치근면 처치효과를 얻기 위하여 구연산(citric acid)<sup>7, 13-15)</sup>, fibronectin<sup>16)</sup>, 염산 테트라사이클린(tetracycline hydrochloride ; Tc-HCl)<sup>17-19)</sup>, 인산(phosphoric acid)<sup>20)</sup>, 불화석(stannous fluoride)<sup>21)</sup>, ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA)<sup>22-25)</sup> 등 다양한 제제를 이용한 연구들이 시도되었다. 이중에서 강산성 화학요법제인 구연산과 Tc-HCl이 가장 일반적으로 사용되고 있는데, 강산성의 화학요법제는 외과적 치주처치시 상대적으로 적용시간이 짧고 교원질을 노출시키기 위한 치근면의 광물질(mineral)을 선택적으로 제거하기 위해 사용되고 있지만, 그 효과에 관해서 상반된 결과들이 보고되었다. 구연산을 이용한 치근면 처치효과에 관하여 Nilveus 등<sup>14)</sup>은 개를 이용한 동물실험에서 새로운 결합조직 부착을 얻었다고 보고하였으나, Lowenguth 등<sup>2)</sup>과 Egelberg 등<sup>26)</sup>은 인체 연구에서 임상적으로 어떠한 장점도 발견하지 못하였다고 보고하였다. Tc-HCl을 이용한 치근면 처치효과에 관해서도 Wikesjö 등<sup>19)</sup>은 동물연구에서 아주 양호한 결과를 얻었다고 보고하였지만, Alger 등<sup>16)</sup>은 인체 연구에서 임상적으로 명백한 신부착을 규명하는데 실패하였다고 보고하였다. 또한 Blomlöf 등<sup>23)</sup>은 강산성 화학요법제들을 적용한 경우 20초내에 주변 치주조직 세포 및 판막을 괴사시켜 치주조직 손상부의 치유에 위해로운 영향을 미칠 수 있으며, 3분간의 적용에서도 치은 퇴축을 초래하고 치조골의 회복을

방해한다고 지적하였다.

EDTA는 4개의 초산(acetic acid)이 ethylenediamine에 결합하고 있는 가장 일반적인 착화제로서, 상아질내 칼슘이온과 결합하여 칼슘착염을 형성하는 작용을 하기 때문에 구연산과 같은 강산성의 화학요법제만큼 도말층을 제거하는 효과가 있을 뿐만 아니라, 초기 세포의 군락과 치주조직 손상의 치유, 교원 섬유유의 노출 등에서는 더 우수하다고 보고<sup>24,27)</sup>된 바 있다.

본 연구는 EDTA용액이 재생형 치주수술시 치근면 처치에 사용되는 화학요법제로 적용가능성 여부

를 평가하는데 목적을 두고 EDTA의 적용방법과 시간에 따른 치근면 상아세관의 개방 양상을 주사전자현미경적으로 비교 분석하고자 하였다.

## II. 연구재료 및 연구방법

### 1. 연구재료

심한 치주질환에 이환되어 발거된 하악 대구치 24개를 선별하여 사용하였는데, 치아우식증이나 이전에 수복물 또는 근관치료가 시행된 치아 또는 근심

Table 1. Classification of experimental groups

Agents(application time)	Application technique	Number
EDTA(1 min.)	Rubbing technique(RT)	6
	Placement technique(PT)	6
EDTA(2 min.)	Rubbing technique(RT)	6
	Placement technique(PT)	6
EDTA(3 min.)	Rubbing technique(RT)	6
	Placement technique(PT)	6
Tc-HCl(5 min.)	Rubbing technique(RT)	6
	Placement technique(PT)	6

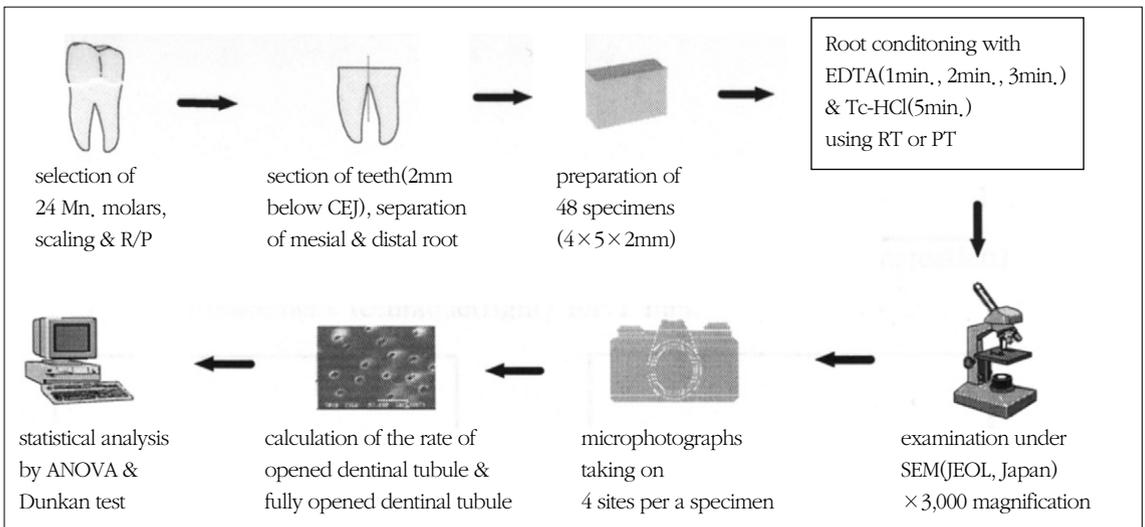


Fig 1. Diagrammatic illustration of experimental procedures

면과 원심면의 치근외형이 주사전자현미경 관찰을 방해할 수 있다고 예상되는 치아들은 제외하였다. 치근면 처치를 위한 화학요법제로서 17% EDTA 용액(neutral pH, Pulpdent<sup>®</sup>, Pulpdent Co., USA)과 염산 테트라사이클린(Tc-HCl, 종근당) 100mg/ml 용액을 사용하였다.

## 2. 연구방법

### (1) 전 준비

본 실험을 위해 선택된 치아를 수돗물에 깨끗이 세척하고, 초음파 치석제거기를 이용하여 치석을 제거한 후 Gracey curet을 이용하여 치근면 활택술을 시행하였다.

치근면 활택술 후 근심치근의 근심면과 원심치근의 원심면 백악법랑경계부로부터 2mm 하방에서 4×5mm의 면적과 2mm의 두께를 가진 시편 48개를 제작하였다(Fig 1).

### (2) 실험군의 구분 및 적용방법

제작된 시편에 17% EDTA는 각각 1분, 2분, 그리고 3분간, 100mg/ml Tc-HCl은 5분간 소독된 면구에 각각의 용액을 적서 30초마다 새로운 면구로 바꾸어 적용시켰으며, 적용방법은 치근면을 면구로 문지르는 방법(rubbing technique, RT)과 면구를 치근면 위에 얹어놓는 방법(placement technique without rubbing, PT)을 이용하여 총 8개군으로 분류하였고(Table 1), 치근면 처치 후 흐르는 증류수에 30초간 세척하고 초음파 세척기를 이용하여 1분간 더 세척하였다. 하나의 치아에서 만들어진 두 개의 시편은

화학요법제와 적용시간은 동일하고, 적용방법에만 차이를 두도록 하였다.

### (3) 주사전자현미경적 관찰

치아시편을 37℃의 건조오븐에서 24시간 동안 건조시킨 후, ion sputting coater를 이용하여 gold palladium을 피복시킨 후 주사전자현미경(JEOL, JSM-840A, Japan)하에서 3,000배까지 확대된 치근면을 관찰하고, 각 시편을 가상적으로 4등분하여 시편당 네 부위에서 polaroid film(Polaroid<sup>?</sup>, UK)으로 촬영하였다.

### (4) 상아세관 수, 상아세관 개방률, 상아세관 완전개방률 선정

3,000배로 촬영된 각각의 Polaroid 사진상(단위면적 : 1,067 $\mu\text{m}^2$ )에서 개방된 상아세관의 총수를 개방 상아세관 수로 기록하였으며, 개방된 상아세관들중 digital vernier caliper로 계측하여 직경이 0.9 $\mu\text{m}$  이상 개방된 상아세관만의 숫자를 세어 완전 개방 상아세관의 수로 기록하였고, 개방된 상아세관을 포함하여 함유된 양상으로 폐쇄된 채 상아세관으로 인지되는 상아세관의 총수를 인지 상아세관 수로 기록하였다. 이후 상아세관 개방률과 상아세관 완전개방률을 다음과 같이 각각 구하였다.

$$\text{상아세관 개방률(\%)} = \frac{\text{개방 상아세관의 수}}{\text{인지 상아세관의 수}} \times 100$$

$$\text{상아세관 완전개방률(\%)} =$$

$$\frac{\text{완전 개방 상아세관의 수}}{\text{인지 상아세관의 수}} \times 100$$

Table 2. The number of identifiable dentinal tubule per the unit area(unit area : 1,067  $\mu\text{m}^2$ )

	Maximum	Minimum	Mean $\pm$ S.D.
the number of identifiable dentinal tubules	10	28	17.66 $\pm$ 3.46
the number of opened dentinal tubules	2	24	13.01 $\pm$ 3.86
the number of fully opened dentinal tubules	0	21	6.46 $\pm$ 4.47

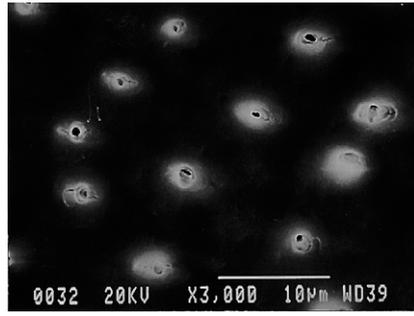
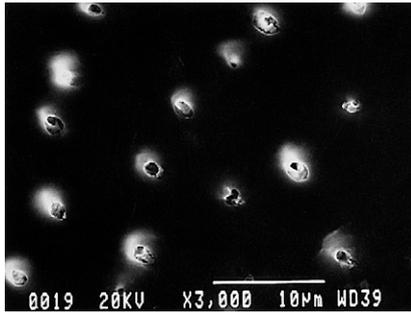


Fig 2. One of specimens treated with EDTA by rubbing technique(left) and placement technique(right) for 1 min.

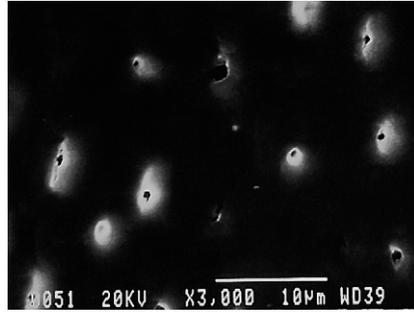
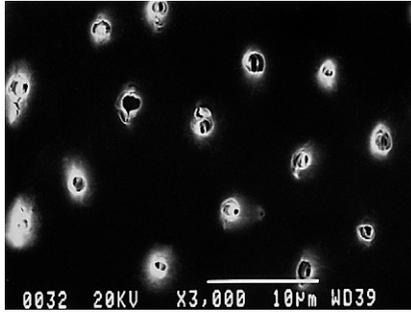


Fig 3. One of specimens treated with EDTA by rubbing technique(left) and placement technique(right) for 2 min.

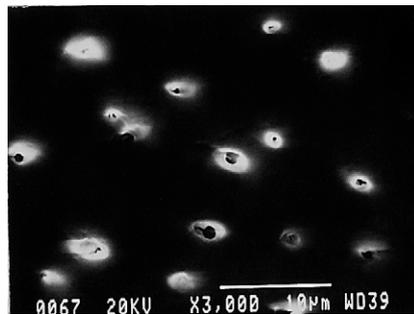
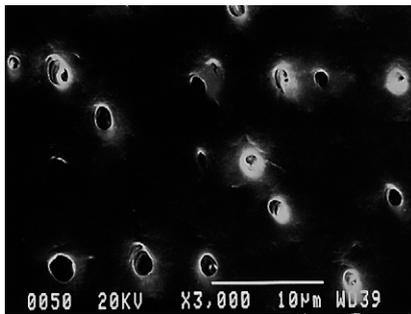


Fig 4. One of specimens treated with EDTA by rubbing technique(left) and placement technique(right) for 3 min.

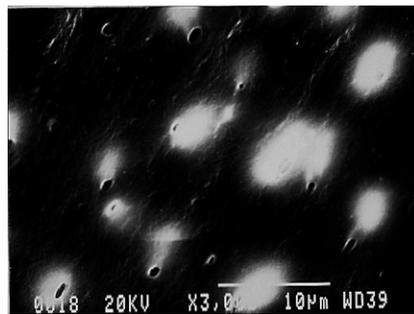
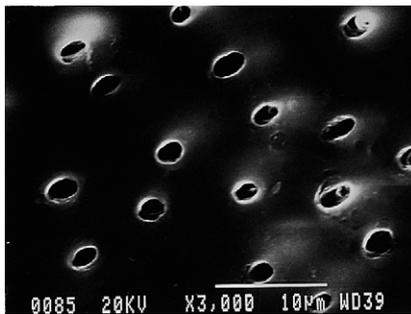


Fig 5. One of specimens treated with Tc-HCl by rubbing technique(left) and placement technique(right) for 5 min.

Table 3. The rate of opened dentinal tubule per the unit area(unit area:1,067  $\mu\text{m}^2$ )

Agents(application time)	Application technique	Mean $\pm$ S.D.
EDTA(1 min.)	Rubbing technique	81,11 $\pm$ 10,79
	Placement technique	69,52 $\pm$ 16,01
EDTA(2 min)	Rubbing technique	76,15 $\pm$ 12,93
	Placement technique	76,08 $\pm$ 13,63
EDTA(3 min.)	Rubbing technique	78,84 $\pm$ 6,00
	Placement technique	74,75 $\pm$ 10,57
Tc-HCl(5 min.)	Rubbing technique	77,89 $\pm$ 12,67
	Placement technique	52,33 $\pm$ 18,59

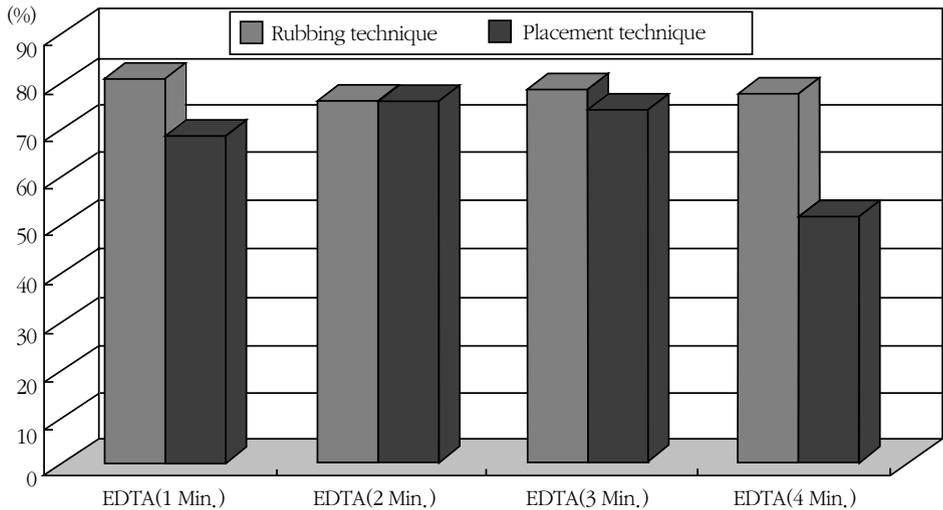


Fig 6. Comparison of the rate of opened dentinal tubule according to different application modalities.

### 5. 통계학적 분석

상아세관 개방률과 완전개방률에 대한 각 군간의 차이는 SPSS 통계프로그램을 이용하여 one-way ANOVA로 분석한 후, Duncan test로 사후검정하였다.

## III. 연구 성적

### 1. 단위면적당 상아세관의 수

단위면적당(1,067  $\mu\text{m}^2$ ) 인지 상아세관 수, 개방 상

아세관 수, 그리고 완전 개방 상아세관 수를 각각 산정한 결과(Table 2), 인지 상아세관의 수는 평균 17.66 $\pm$ 3.46개로 최소 10개에서 최대 28개의 분포를 보였고, 상아세관 개방수는 평균 13.01 $\pm$ 3.86개로 최소 2개에서 최대 24개의 분포를 보였으며, 완전 상아세관 개방수는 평균 6.46 $\pm$ 4.47개로 최소 0개에서 최대 21개까지의 분포를 나타냈다(Fig. 2~5).

### 2. 단위면적당 상아세관 개방률의 차이

화학요법제의 적용방법과 시간에 따른 상아세관 개방률의 차이(Table 3, Fig. 6)를 분석한 결과(Table

4), 문지르는 방법과 얹어놓는 방법간의 상아세관 개방률의 차이에 EDTA의 경우에는 통계학적 유의성은 없었으나( $p>0.1$ ), Tc-HCl의 경우에는 얹어놓는 방법( $52.33 \pm 18.59\%$ )보다 문지르는 방법( $77.89 \pm 12.67\%$ )이 유의성 있게 높은 상아세관 개방률을 보였다( $p<0.01$ ).

EDTA의 적용시간에 따른 상아세관 개방률을 비교한 결과 문지르는 방법과 얹어놓는 방법 공히 적용시간에 따른 상아세관 개방률의 차이에 통계학적 유의성이 없었다( $p>0.1$ ).

상아세관 개방률은 모든 실험군들 중 Tc-HCl을 5분간 얹어놓는 군에서  $52.33 \pm 18.59\%$ 로 유의성 있게 낮게 나타났을뿐( $p<0.01$ ), 그외 각 군간의 상아세

관 개방률의 차이에는 통계학적 유의성이 없었다( $p>0.1$ ).

### 3. 단위면적당 상아세관 완전개방률의 차이

화학요법제의 적용방법과 시간에 따른 상아세관 완전개방률의 차이(Table 5, Fig. 7)를 분석한 결과(Table 6), EDTA를 3분 적용한 경우와 Tc-HCl을 적용한 경우에서만 얹어놓은 군보다 문지른 군이 각각 유의성 있게 높게 나타났으며( $p<0.001$ ), EDTA를 1분간 및 2분간 적용한 경우에는 두 방법간의 차이에 유의성이 없었다( $p>0.1$ ).

Table 4. The statistical analysis of the rate of opened dentinal tubule among all groups

		EDTA(1 min.)		EDTA(2min.)		EDTA(3min.)		Tc-HCl(5min.)	
		RT	PT	RT	PT	RT	PT	RT	PT
EDTA (1min.)	RT PT	$p>0.1$							
EDTA (2min.)	RT PT	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$					
EDTA (3min.)	RT PT	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$	
Tc-HCl (5min.)	RT PT	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$	$p>0.1$	$p<0.001$	$p<0.001$

RT : Rubbing technique  
PT : Placement technique

Table 5. The rate of fully opened dentinal tubule per the unit area(unit area:1,067  $\mu\text{m}^2$ )

Agents(application time)	Application technique	Mean $\pm$ S.D.
EDTA(1 min.)	Rubbing technique	31,87 $\pm$ 17,65
	Placement technique	24,86 $\pm$ 16,62
EDTA(2 min)	Rubbing technique	36,98 $\pm$ 22,24
	Placement technique	31,81 $\pm$ 14,60
EDTA(3 min.)	Rubbing technique	55,35 $\pm$ 13,40
	Placement technique	33,82 $\pm$ 21,12
Tc-HCl(5 min.)	Rubbing technique	59,86 $\pm$ 24,56
	Placement technique	16,77 $\pm$ 12,56

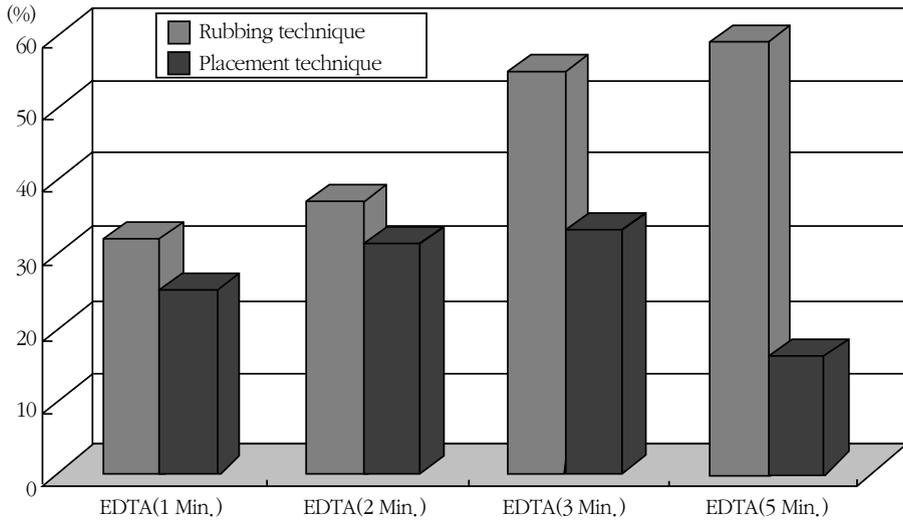


Fig 7. Comparison of the rate of fully opened dentinal tubule according to different application modalities.

Table 6. The statistical analysis of the rate of fully opened dentinal tubule among all groups

		EDTA(1 min.)		EDTA(2min.)		EDTA(3min.)		Tc-HCl(5min.)	
		RT	PT	RT	PT	RT	PT	RT	PT
EDTA	RT								
(1min.)	PT	p>0,1							
EDTA	RT	p>0,1	p>0,1						
(2min.)	PT	p>0,1	p>0,1	p>0,1					
EDTA	RT	<b>p&gt;0,01</b>	<b>p&gt;0,001</b>	<b>p&gt;0,01</b>	<b>p&gt;0,01</b>				
(3min.)	PT	p>0,1	p>0,1	p>0,1	p>0,1	<b>p&gt;0,00</b>			
Tc-HCl	RT	<b>p&gt;0,001</b>	<b>p&gt;0,001</b>	<b>p&gt;0,05</b>	<b>p&gt;0,001</b>	p>0,1	<b>p&gt;0,01</b>		
(5min.)	PT	p<0,01	p<0,01	<b>p&lt;0,05</b>	p<0,1	<b>p&lt;0,001</b>	p<0,1	<b>p&lt;0,001</b>	

RT : Rubbing technique  
PT : Placement technique

EDTA의 적용시간에 따른 상아세관 완전개방률을 비교한 결과 문지르는 방법과 얹어놓는 방법 공히 적용시간이 길수록 상아세관 완전개방률이 증가하는 경향을 보였다(Fig. 3).

상아세관 완전개방률은 Tc-HCl을 5분간 문지른 군(59.86±24.56%)과 EDTA를 3분간 문지른 군(55.35±13.40%)이 기타 군에 비해 유의성 있게 높게 나타났다(p<0.01), 두 군간의 차이에는 통계학적 유의

성이 없었다(p>0.1).

#### IV. 총괄 및 고안

치주질환은 치아 주변의 결합조직 부착과 치조골의 상실, 점합상피의 하방증식 및 치근면의 병적 변성 등을 초래함으로써 치주조직의 원래 형태와 기능을 파괴하게 된다. 최근 임상치주학의 관점은 이전에 병적으로 노출된 치근면에 신생백악질, 치조골,

치주인대 등을 재생시키려는 노력이 이루어지고 있으며, 이러한 치주조직 재생술에 있어서 치근면 탈회 중요성이 강조되고 있다.

임상치의학에서, 치아의 탈회는 각각의 목적을 달성하기 위해 다양하게 시행되고 있으며, 여러 종류의 화학요법제가 이용되고 있다<sup>1, 22)</sup>. 인산(phosphoric acid)과 남성산(maleic acid)은 법랑질과 상아질에 대한 복합레진과 글래스아이오노머 시멘트의 부착력을 증진시킬 목적으로 주로 이용되는 화학요법제이며, 외과적 치주치치에 이용되는 구연산, Tc-HCl, EDTA, fibronectin 등은 임상적 부착획득의 향상과 치은 상피의 하방 증식을 억제하기 위하여 활택된 치근면으로부터 교원질을 노출시키고 도말층을 제거하기 위하여 추천되고 있다.

강산성 화학요법제를 이용한 치근면 탈회는 도말층을 제거<sup>28)</sup>하고 상피의 하방증식을 지연<sup>13, 28, 29)</sup> 시킴으로써, 변연 치주조직의 치유를 향상시킴에도 불구하고 통상적인 치주치치시 그 효과에 대해서 의문이 제기<sup>2)</sup>되고 있으나, 치주조직 재생술에 있어서는 그 중요성이 인정되고 있다.

최근 강산성 화학요법제를 이용한 치근면 치치가 주변 치주조직에 대해 유해하다는 논란이 제기되었는데, Klinge 등<sup>30)</sup>과 Claffey 등<sup>31)</sup>은 동물연구에서 각각 구연산과 Tc-HCl을 이용하여 치근면 치치를 시행한 결과 치근흡수가 발생하였다고 보고하였으며, Blomlöf 등<sup>23, 32)</sup>은 최근 원숭이를 이용한 동물연구에서 인산과 구연산 같은 강산은 중성의 칼슘착화제를 이용한 치근면 치치와는 반대로 주변조직을 괴사시켜 이들 조직의 치유 잠재력을 제한하기 때문에 강산성의 치근면 치치제는 20초 미만의 짧은 시간 동안 적용시켜야 한다고 제안하였다.

Blomlöf 등<sup>24, 27, 33)</sup>은 치근면 치치에 중성의 EDTA와 구연산을 이용한 조직학적 비교연구에서 구연산보다 더 많은 결합조직 부착과 상피의 하방증식의 감소가 일어났고, 주변 치주조직에 유해성은 없었으며, 치주조직의 치유도 명백히 개선되었다고 보고하였고, 중성의 EDTA를 이용한 치근면 치치시 나타나는 상아질면의 풍부한 교원섬유는 치주섬유아세포를 위한 화학주성인자로 작용하며, 세포 이동과 부착

을 위한 선결조건에 부합되기 때문에 강산성 화학요법제보다 세포 군락화와 결합조직 형성에 있어서 우수하다고 보고하였으며, 비외과적 치근면 활택술 후 EDTA gel을 이용한 치근면 치치에서도 연조직의 괴사없이 도말층 제거와 교원질 노출 효과를 향상시켰다고 보고하였다.

본 연구는 EDTA를 치주조직 재생을 위한 외과적 치주치치시 치근면 치치에 화학요법제로 적용가능성이 있음을 보고한 선학들의 연구결과를 토대로 EDTA의 적용방법과 시간에 따른 치근면 치치 효과를 평가하는데 그 목적을 두고 시행하였는데, 심한 치주질환에 이환되어 받기된 하악 대구치 24개로부터 시편 48개를 제작하여 EDTA의 적용방법과 시간에 따른 치근면의 인지 상아세관 수, 상아세관 개방률, 그리고 상아세관 완전개방률에 차이가 있는가를 규명하고자 하였다.

본 연구를 위하여 심한 치주질환에 이환된 하악 대구치를 선별하여 근심치근의 근심면과 원심치근의 원심면 백악법랑경계의 2mm 하방에서 시편을 각각 만들었는데, 그 이유는 생물학적 폭경(biologic width)<sup>34)</sup>개념을 고려하였기 때문이다. 또한 동일치아에서 두 개의 시편을 만들어 적용시간과 화학요법제는 동등하게 하고, 적용방법만을 다르게 하였는데, 이는 개개 치아의 해부학적 구조에 따른 실험 결과의 오차를 최소화하고 적용방법에 따른 차이를 규명하기 위한 것이었다.

Blomlöf 등<sup>35)</sup>은 EDTA의 각기 다른 농도(1.5%, 5%, 15%, 24%)가 치주질환에 이환된 치근면에 대한 도말층 제거와 교원질 노출에 관한 연구에서 15%~24% 농도의 EDTA가 임상적으로 받아들일만한 시간 내에 도말층 제거와 교원질 노출을 일으킬 수 있는 적정 농도라고 보고하였다. 이를 기준으로 하여 본 연구에서는 이미 상품화되어 쉽게 임상에 적용할 수 있는 17% EDTA(Pulpdent®, Pulpdent Co.)를 사용하였다.

치근면 치치시 화학요법제를 적용하는 방법으로는 침수법(immersion technique), 얹어놓는 방법, 솔질법(brushing technique), 문지르는 방법, 점적법 등 여러 가지 방법이 시도 되었는데<sup>15, 17, 27)</sup>, 본 연구에서

는 임상에서 통상적으로 사용하는 방법인 문지르는 방법과 없어놓는 방법을 적용하여 비교하고자 하였다. 본 연구에서 EDTA를 1분, 2분, 그리고 3분간 적용하였는데, 이는 통상적인 치근면 처치시 Tc-HCl과 구연산은 각각 5분과 3분을 추천하고 있기 때문에 치주수술시 치근면 처치에 소요되는 시간을 조금이나마 줄일 수 있는 방법을 모색하기 위해서였다.

본 연구에서 플라로이드 주사전자현미경 사진상에 나타난 개방되거나 함요된 양상을 보이는 상아세관의 총 수를 인지 상아세관 수로 산정하였는데, 이는 상아세관 개방률과 상아세관 완전개방률을 산출함에 있어서 객관적 기준을 마련하고자 하였고, 상아세관 완전개방률을 산출함에 있어서 현재까지 명확한 기준이 없어 정상 치아의 상아세관의 직경이 치수근처에서는 약 2.5 $\mu$ m, 상아질의 중앙부에서는 1.2 $\mu$ m, 그리고 상아법랑경계 근처에서는 0.9 $\mu$ m가량이라는 Garberoglio 등<sup>12)</sup>의 연구를 기준으로 하여 0.9 $\mu$ m 이상 개방된 상아세관을 완전 개방 상아세관 수로 산정하여 상아세관 완전개방률을 구하였다.

본 연구에서 단위면적당(1,067 $\mu$ m<sup>2</sup>) 인지된 상아세관의 수를 비교, 분석한 본 연구 결과를 보면, 인지 상아세관의 수는 평균 17.66 $\pm$ 3.46개였으며 최소 10개에서 28개의 분포를 보였는데, 정상적인 치아의 평균 상아세관의 수가 법랑상아경계부에서 mm<sup>2</sup>당 15,000~20,000개, 치수 근처에서는 mm<sup>2</sup>당 45,000~65,000개의 상아세관을 갖는다는 Garberoglio 등<sup>12)</sup>의 보고와 유사하였다.

화학요법제를 문지르는 방법과 없어놓는 방법간의 상아세관 개방에 미치는 영향을 비교한 결과, Tc-HCl을 5분간 적용한 경우, 문지르는 방법이 없어놓는 방법보다 단위면적당(1,067 $\mu$ m<sup>2</sup>) 상아세관 개방률과 완전개방률이 모두 유의성 있게 높게 나타났는데 (p<0.001), EDTA는 단지 3분간 적용한 경우에서만 문지른 군이 없어놓은 군보다 유의성 있게 높은 상아세관 완전개방률을 보였다(p<0.001). 이러한 결과는 건강한 치근면에 대한 Tc-HCl의 적용방법에 따른 효과에 관한 연구에서 문지르는 방법과 솔질법 (brushing technique)이 침수법이나 없어놓는 방법보다 평균 상아세관의 직경이 더 넓었다고 보고한

Isik 등<sup>17)</sup>의 연구결과, 그리고 구연산을 이용하여 적용방법에 따른 차이를 비교한 결과, 문지르는 방법이 없어놓는 방법보다 교원질 노출의 정도가 우수하였다고 보고한 Sterrett 등<sup>15)</sup>의 연구결과와 일치하였다. 이러한 결과는 화학요법제의 화학적 탈회작용과 이에 의해 느슨해진 무기질과 표면잔사가 기계적인 방법에 의해 제거되었기 때문이라고 사료된다.

EDTA의 적용시간에 따른 상아세관 개방률과 완전개방률의 차이를 비교한 결과, 상아세관 개방률은 적용시간에 따른 차이를 보이지 않았으나, 상아세관 완전개방률은 적용시간의 경과에 따라 증가되는 경향을 보였으며, 1분간 적용군과 2분간 적용군의 완전개방률 차이에는 통계학적 유의성이 없었으나, 3분간 문지른 군에서 유의성 있게 높은 상아세관 완전개방률을 보였으며, Tc-HCl 5분간 문지른 군과 유사한 상아세관 완전개방률을 보였다. 따라서 17% EDTA를 이용하여 치근면 처치를 시행하고자 하는 경우에는 최소 3분간 문지르는 방법을 적용하여야 치근면 처치효과를 얻을 수 있음을 시사하였다.

본 연구는 EDTA의 치근면에 대한 도말층 제거 효과와 상아세관 개방 양상을 조사하였는데, 향후에는 보다 많은 표본수를 이용하여 고농도의 EDTA가 치근면과 주변 치주조직에 미치는 영향뿐만 아니라 상아세관의 개방에 따른 치근면 우식증이나 지각 과민증의 발생 위험 등에 관한 체계적이고 광범위한 연구들이 필요하리라 사료된다.

## V. 결론

EDTA용액을 재생형 치주수술시 치근면 처치에 사용되는 화학요법제로 적용가능가를 평가하는데 목적을 두고 EDTA의 적용방법과 시간에 따른 치근면의 도말층 제거효과와 상아세관의 개방 양상을 비교 분석하기 위하여 심한 치주질환에 이환되어 발거된 24개의 하악 대구치를 선별하고, 치석제거술과 치근면 활택술을 시행한 후 근·원심 치근으로부터 48개의 시편을 제작하여 적용방법(문지르는 방법과 없어놓는 방법)과 적용시간(1분, 2분, 3분)을 다르게 하여 17% ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA, neu-

tral pH, Pulpdent<sup>®</sup>, Pulpdent Co., USA)와 염산 테트라사이클린(Tc-HCl, 중근당, 100mg/ml, 5분)용액으로 치근면 처치를 시행한 다음 주사전자현미경(JEOL, JSM-840A, Japan)하에서 촬영된 3,000배 확대 사진에서 단위면적당(1,067 $\mu$ m<sup>2</sup>) 인지 상아세관 수, 개방 상아세관 수, 완전개방 상아세관 수(직경 0.9 $\mu$ m 이상)를 산정하고, 인지 상아세관 수에 대한 상아세관 개방률과 완전개방률을 구하여 각 실험군간의 차이를 통계학적으로 비교, 분석함으로써 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. EDTA를 적용한 시편들은 적용시간과 적용방법에 상관없이 상아세관 개방률의 차이에 통계학적 유의성이 없었다(p>0.1).
2. EDTA의 상아세관 완전개방률은 적용방법에 무관하게 적용시간이 길수록 증가 하는 경향을 보였다.
3. EDTA를 2분이내에 적용한 시편에서 문지르는 방법과 엮어놓는 방법간의 통계학적으로 유의한 상아세관 완전개방률의 차이를 증명하지 못했으나(p>0.1), 3분 간 적용한 시편에서는 문지르는 방법이 엮어놓는 방법보다 유의성 있게 높은 상아세관 완전개방률을 나타냈다(p<0.001).
4. Tc-HCl을 5분간 적용한 시편에서는 문지르는 방법이 엮어놓는 방법보다 유의 성있게 높은 상아세관 개방률(p<0.01)과 완전개방률(p<0.001)을 보였다.
5. EDTA를 3분간 문지른 시편과 Tc-HCl을 5분간 문지른 시편이 다른 군들에 비 하여 유의성 있게 높은 상아세관 완전개방률을 보였으며 (p<0.001), 두 군간의 차이에는 통계학적 유의성이 없었다(p>0.1).

이상과 같은 결과는 17% EDTA 용액이 치근면 처치를 위한 강산성 화학요법제를 대체할 수 있고, 최소 3분동안 문지르는 방법이 임상적으로 추천할 만함을 시사하였다.

## VI. 참고문헌

1. Selvig, K.A. and Hals, E. : "Periodontally dis-

eased cementum studied by correlated micro-radiography, electron probe analysis and electron microscopy", *J. Periodont. Res.*, 33:419-429, 1977.

2. Lowenguth, R.A. and Blieden, T.M. : "Periodontal regeneration : root surface demineralization" *Periodonto.* 2000, 1:54-68, 1993.
3. Adriaens, P.A., Edwards, C.A., De Boever, J.A. and Loesche, W.J. : "Ultrastructural observations on bacterial invasion in cementum and radicular dentin of periodontally diseased human teeth", *J. Periodontol.*, 59:493-503, 1988.
4. Selvig, K.A. and Zander, H.A. : "chemical analysis and microradiography of cementum and dentin from periodontally diseased human teeth", *J. Periodontol.*, 33:303-310, 1962.
5. Fardal, O. and Lowenberg, B. : "A quantitative analysis of the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts to human dental root surfaces in vitro", *J. Periodontol.*, 61:529-535, 1990.
6. Polson, A.M. and Caton, J. : "Factors influencing periodontal repair and regeneration", *J. Periodontol.*, 53:617-625, 1982.
7. Polson, A.M., Frederick, G.T., Ladenheim, S. and Hanes, P.J. : "The production of a root surface smear layer by instrumentation and its removal by citric acid", *J. Periodontol.*, 54:210-220, 1984.
8. Aleo, J.J., De Renzis F.A. and Farber, P.A. : "In vitro attachment of human gingival fibroblasts to root surfaces", *J. Periodontol.*, 46:639-645, 1975.
9. Jones, W.A. and O'Leary, T.J. : "The effectiveness of in vivo root planing in removing bacterial endotoxin from the roots of periodontally involved teeth", *J. Periodontol.*, 49:337-342,

- 1978.
10. Blomlöf, J. : "Root cementum appearance in healthy monkeys and periodontitis-prone patients after different etching modalities", *J. Clin. Periodontol.*, 23:12-18, 1996.
  11. Lasho, D.J., O'Leary, T.J. and Kafrawy A.H. : "A scanning electron microscope study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surfaces" , *J. Periodontol.*, 54:210-220, 1983.
  12. Garberoglio, R. and Brännström, M. : "Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules", *Arch. Oral. Biol.*, 21:355-362, 1976.
  13. Larjava, H., Salonen, J., Häkkinen, L. and Närhi, T. : "Effect of citric acid treatment on the migration of epithelium on root surfaces in vitro", *J. Periodontol.*, 59:95-99, 1988.
  14. Nilveus, R., Bogle, G., Crigger, M., Egelberg, J. and Selvig, K.A. : "The effect of topical citric acid application on the healing of experimental furcation defects in dogs(II). Healing after repeated surgery", *J. Periodon. Res.*, 15:550-554, 1980.
  15. Wen, C.R., Caffesse, R.G., Morrison, E.C., Nasjleti, C.E. and Parikh, U.K. : " In vitro effects of citric acid application techniques on dentin surfaces" , *J. Periodontol.*, 63:883-889, 1992.
  16. Alger, F.A., Solt, C.W., Vuddhakanok, S. and Miles, K. : "The histologic evaluation of new attachment in periodontally diseased human roots treated with tetracycline-hydrochloride and fibronectin" , *J. Periodontol.*, 61:447-455, 1990.
  17. Işık, G., Ince, S., Sağlam, F. and Onan, U. : " Comparative SEM study on the effect of different demineralization methods with tetracycline HCl on healthy root surfaces" , *J. Clin. Periodontol.*, 24:589-594, 1997.
  18. Trombelli, L., Scabbia, A. and Calura, G. : "Nondiseased cementum and dentin root surface following tetracycline hydrochloride conditioning: SEM study of the effects of solution concentration and application time" , *Int. J. Periodont. Rest. Dent.*, 14:461-470, 1994.
  19. Wikesjö U.M.E., Christersson, L.A. and Baker, P.J. : "A biochemical approach to periodontal regeneration : tetracycline treatment conditions dentin surfaces" , *J. Periodont. Res.*, 21:322-329, 1986.
  20. Perdigão, J., Lambrechts, P., Meerbeek, B.V., Tomé A.R., Vanherle, G. and Lopes, A.B. : "Morphological field emission-SEM study of the effect of six phosphoric acid etching agents on human dentin" , *Dent. Mater.*, 12:262-271, 1996.
  21. Wikesjö U.M.E., Claffey, N., Nilveus, R. and Egelberg, J. : "Periodontal repair in dogs : effect of root surface treatment with stannous fluoride or citric acid on root resorption" , *J. Periodontol.*, 62:180-184, 1991.
  22. Bergenholtz, A. and Babay, N. : "Scanning electron microscopy of the root surface texture of extracted periodontally diseased teeth following various etching and chelating regimens" , *Int. J. Periodont. Rest. Dent.*, 18:171-179, 1998.
  23. Blomlöf, J. and Lindskog, S. : "Periodontal tissue-vitality after different etching modalities" , *J. Clin. Periodontol.*, 22:464-468, 1995.
  24. Blomlöf, J., Jansson, L., Blomlöf, L. and Lindskog, S. : "Etching at neutral pH promotes periodontal healing" , *J. Clin. Periodontol.*, 23:50-55, 1996.
  25. Blomlöf, J., Blomlöf, L. and Lindskog, S. : "Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in peri-

- odontitis-affected root surfaces”, *J. Clin. Periodontol.*, 24:534-537, 1997.
26. Egelberg, J. : “Periodontics, the scientific way”, *Malmö. Odontoscience.*, 2:191-226, 1995.
27. Blomlöf, J. and Lindskog, S. : “Root surface texture and early cells and tissue colonization after different etching modalities”, *Eur. J. Oral. Sc.*, 103:17-24, 1995.
28. Hanes, P.J. and Polson, A.M. : “Cell and fiber attachment to demineralized cementum from normal root surfaces”, *J. Periodontol.*, 60:188-198, 1989.
29. Hanes, P.J., Polson, A.M. and Frederick, G.T. : “Initial wound healing attachments to demineralized dentin”, *J. Periodontol.*, 59:176:183, 1988.
30. Klinge, B., Nilveus, R. and Egelberg, J. : “Bone regeneration pattern and ankylosis in experimental furcation defects in dogs”, *J. Clin. Periodontol.*, 12:456-464, 1985.
31. Claffey, N., Bogle, G., Bjorvatn, K., Selvig, K.A. and Egelberg, J. : “Topical application of tetracycline in regenerative periodontal surgery in beagles”, *Acta. Odontol. Scand.*, 45:141-146, 1987.
32. Blomlöf, J., Jansson, K., Blomlöf, L. and Lindskog, S. : “Long time etching at low pH jeopardizes periodontal healing”, *J. Clin. Periodontol.*, 22:464-468, 1995.
33. Blomlöf, J., Blomlöf, L. and Lindskog, S. : “Smear removal and collagen exposure after non-surgical root planing followed by etching with an EDTA gel preparation” , *J. Periodontol.*, 67:841-845, 1996.
34. Gargiulo, J.A., Wentz, F.M., and Orban, B. : “Dimensions and relations of the dentogingival junction in humans”, *J. Periodontol.*,

## Effect of different application modalities of EDTA on dentinal tubule opening : a SEM study

Jong-Weon Lee, Byung-Ock Kim, Kyung-Yoon Han

Department of Periodontology, College of Dentistry, Chosun University

Root conditioning has been introduced to dissolve the smear layer, and to aid in detoxification following root planing. It produces surface demineralization, resulting to exposure of dentin collagen fibrils and opening of dentinal tubules.

The purpose of the present study was to examine the possibility of obtaining root conditioning effect by using ethylenediamine tetraacetic acid(EDTA) solution instead of low pH etchants such as citric acid and tetracycline hydrochloride(Tc-HCl). Total 48 root specimens( $4 \times 5 \times 2$ mm) were prepared from the mesial and distal root of 24 periodontitis-affected human mandibular molars after scaling and root planing. The specimens were treated with EDTA(17%, neutral pH, Pulpdent<sup>2</sup>, Pulpdent Co., USA) for 1 min., 2 min., and 3 min., and tetracycline hydrochloride(100mg/ml) for 5 min, using the rubbing technique and the placement technique without rubbing. The dentinal tubules of the specimens were examined under a scanning electron microscopy(JEOL, JSM- 840A, Japan). On the microphotographs taken at  $\times 3,000$  magnification, the number of identifiable dentinal tubules, opened dentinal tubules, and fully opened dentinal tubules(over  $0.9\mu\text{m}$  in diameter) per the unit area( $1,067\mu\text{m}^2$ ) were counted. And the rate of opened dentinal tubule and the rate of fully opened dentinal tubule were calculated. The difference of those rates among all groups was statistically analyzed by ANOVA and Duncan test.

The results were as follows;

1. In the specimens applied with EDTA, the rate of opened dentinal tubule was not significantly different between each group regardless of application technique and application time( $p > 0.1$ ).
2. In the specimens applied with EDTA, the rate of fully opened dentinal tubule had tendency to be increased in proportion to application time regardless of application technique.
3. In the specimens applied with EDTA within 2 min., the rate of fully opened dentinal tubule failed to show significant difference between the two techniques( $p > 0.1$ ). But, in the specimens applied for 3 min., the rate of fully opened dentinal tubule was significantly higher in the specimens applied by the rubbing technique than those by the placement technique( $p < 0.001$ ).
4. In the specimens applied with Tc-HCl for 5 min., both the rate of opened dentinal tubule( $p < 0.01$ ) and the rate of fully opened dentinal tubule ( $p < 0.001$ ) were induced significantly higher by the rubbing technique than the placement technique.
5. The rate of fully opened dentinal tubule was significantly higher in both the specimens rubbed for 3 min. with EDTA and the specimens rubbed for 5 min. with Tc-HCl than other groups( $p < 0.001$ ). But there was no significant difference between the two( $p > 0.1$ ).

The results demonstrate that 17% EDTA solution can replace low pH etchants for root conditioning, and the rubbing technique for at least 3 min. is recommendable.