

## 고동아말감과 Glass ionomer - silver cement 의 생물학적 평가에 관한 연구

경희대학교 치과대학 보존학 교실

오병원 · 최호영 · 민병순 · 박상진

### 목 차

- I. 서 론
- II. 실험 재료 및 방법
- III. 실험 성적
- IV. 총괄 및 고안
- V. 결 론
- 참고 문헌
- 영문 초록
- 사진부도

### I. 서 론

근관치료가 실패한 경우나 근관폐쇄가 적절히 이루어지지 않아, 저류된 조직액이나, 물리화학적 자극원이 근침공을 통해 치근단부위로 누출되는 것을 방지하기 위하여 역근관충전에 의한 치근단 절제술을 시행할 수 있다<sup>1,2)</sup>.

역근관충전의 목적을 달성하기 위해 사용되는 재료는 변연폐쇄능, 팽창과 수축의 안정성, 조작의 용이성, 조직친화성등의 성질이 만족되어야 한다<sup>3)</sup>. 이러한 이상적인 역근관충전재에 대한 연구가 계속되어왔으며<sup>4-8)</sup> 아말감은 조작이 용이하고 변연폐쇄능이 양호하며 흡수가 되지 않는 충전재로서 평가되었다<sup>5)</sup>. 그러나 아연이 함유된 아말감은 수분오염으로 과잉팽창이 나타나기 때문에, 아연이 함유되지 않은 고동아말감이 수온과 반응시 gamma-2 상이 제거됨으로써 얻는 기계적 성질의 향상 및 부식

상태 개선의 효과로 역근관충전재로 사용되었다<sup>9)</sup>.

역근관충전재로 glass ionomer cement를 사용할 때의 효과를 평가한 연구 중, Abdal등<sup>4)</sup>은 여러종류의 아말감과 비교하여, 변연폐쇄가 우수하다고 보고하였으며, Zmener등<sup>10)</sup>은 생체내 조직반응에서 양호한 결과를 관찰하였다. 그러나 Prosser등<sup>11)</sup>은 역근관충전재로 사용시 경화시간 지연과 수분오염으로 인한 재료의 안정성의 결핍이 나타날 수 있다고 지적하였다.

최근 고온규화법에 의한 glass ionomer cement 분말과 은분말을 결합한 glass ionomer-silver cement가 소개되었으며, 이 재료는 조작이 용이하고 짧은 경화시간과 치질과 대조될 수 있는 색조를 지니는 등 종래 glass ionomer cement의 역근관충전재로서의 단점을 보완할 수 있다<sup>12)</sup>.

glass ionomer-silver cement의 연구에서 MacNail등<sup>13)</sup>은 여러종류의 glass ionomer-silver cement의 변연누출을 비교평가하였고, Shwartz등<sup>14)</sup>은 실험재료로 사용된 아연을 함유하지 않은 고동아말감에 비하여 변연누출이 적게 나타났다고 보고하였으며, Wilson등<sup>15)</sup>에 의하면 glass ionomer-silver cement가 역근관충전재로 임상에 사용시 치근단 부위에 양호한 치유상이 방사선 사진상에서 나타났음을 보고하였으며, Blackman등<sup>16)</sup>은 백서의 결체조직에 재료를 매식하고 80일 경과후 조직소견에서 양호한 결과를 나타냈다고 보고하였으나, 지금

까지 이 재료의 역근관충전재로서 사용시 근관 폐쇄효과 및 조직친화성에 대한 연구는 미비한 실정이다.

역근관충전재로서 아말감에 대하여 변연폐쇄 효과 및 조직친화성에 대한 연구가 계속 진행되고 있으나, 재료구성 성분의 개선에도 불구하고 부식의 문제는 생체내에서 또다른 자극원으로서 작용할 수 있다<sup>17-21</sup>. Nazhan 등<sup>22</sup>은 고동아말감의 세포독성 실험에서 아말감 경화후 세포독성이 나타나는 것은 부식산물이 원인이라고 추정한 바 있고, Milleding 등<sup>23</sup>은 아연이 함유되지 않은 고동아말감에선 동이 부식산물을 생성함으로써 세포독성을 나타냄을 보고하였다. 그러나 세포독성실험 단독으로는 독성인자의 판별이나, 재료 매식시 생체조직 반응으로서 독성이 회석 내지 소멸될 수 있는지 여부를 판단할 수 없으므로, 생체내 재료 매식실험 및 독성인자가 될 수 있는 부식산물의 존재여부를 확인할 수 있어야 한다<sup>24</sup>.

이러한 역근관충전재들의 조직친화성을 평가하기 위해서는 여러 실험방법이 시행될 수 있으나, 생체외에서의 세포독성평가가 시행되어야 하며, 역근관충전재가 생체조직과 접촉된 상태로 치근단조직과 상호작용을 하므로 생체내에서 염증반응이나 면역반응등이 평가되어야 한다<sup>25</sup>.

한편, 생체외에서도 역근관충전재의 세포독성을 평가하기 위하여 여러 방법들이 연구되고 있으며<sup>26-30</sup> Spanberg 등<sup>31</sup>의 방사선동위원소로 표시된 세포의 상해시험법이 경화된 치과재료의 독성평가에 이용되고 있으며, 세포손상에

대한 정량적인 측정방법으로 이용되고 있다.

Biggs 등<sup>32</sup>과 Cather 등<sup>33</sup>은 생체의 세포독성 실험의 단순성을 피하기 위하여, 백서의 복강내 재료를 매식후 조직반응을 관찰하였으며, 大河原 등<sup>34</sup>은 염증반응과 세포반응을 비교평가하기 위해 매식재료의 mouse 복강내 세포의 변화를 관찰하였으며, Dannenberg<sup>35</sup>와 Nathan 등<sup>36</sup>은 염증반응에서 대식세포의 반응소견을 중요한 요소라고 보고하였다.

저자는 역근관충전재로 사용되고 있는 glass ionomer-silver cement와 고동아말감의 생체의 세포독성실험과 이들 재료를 백서의 복강내에 매식하여 조직반응 및 재료로부터 유리되는 금속이온의 양을 측정후 조직친화성을 비교평가하여 다소의 지견을 얻었기에 이에 보고하는 바이다.

## II. 실험재료 및 방법

### 가. 실험재료

#### 1) 역근관충전재로

본 실험에서는 역근관충전재료로 사용되는 고동아말감(Hi-Aristaloy 21<sup>®</sup>; Engelhard, Korea)과 glass ionomer-silver cement (Ketac-silver<sup>®</sup>; ESPE, West Germany)를 사용하였으며, 구성성분 및 형태는 표 1과 같다(Table 1).

#### 2) 세포 및 배지

본 실험에서 생체의 세포독성평가에 사용된 세포는 계대 배양되고 있는 L 929 mouse

Table 1. Materials evaluated in this study

Materials	Characteristics	Batch Number	Manufacturer
High copper amalgam (Hi-Aristaloy 21 <sup>®</sup> )	Admixed type (Lath-cut + Spherical) Silver: 45% Tin: 31% Copper: 24%	10108916	Engelhard, Korea
Glass ionomer-Silver Cement (Ketac-silver <sup>®</sup> )	Silver powder content: 40wt% powder/liquid ratio: 4/5	Ch. -B.0110	ESPE, West Germany

fibroblast이며 trypsin이 0.02% 함유된 인산완충액(pH 7.2)으로 처리하여 사용하였으며, 배지는 Eagle's Minimal Essential Medium (EMEM, GIBCO, Grand Island, N.Y., U.S.A.) (pH 7.2)에 1mM Sodium pyruvate, 1% Vitamin, 1% 비필수 아미노산, 규정의 항생물질 및 10% Fetal Calf Serum (FCS, CSL, Melv.)을 첨가하여 사용하였다.

### 3) 실험동물

본 실험에서 재료매식시의 조직반응평가실험에는 체중 100gm내외의 Female rat 24마리를 사용하였다.

## 나. 실험방법

본 실험은 역근관충전재로 사용되는 고동아말감과 glass ionomer-silver cement의 세포독성과 조직친화성을 평가하기 위하여 다음과 같은 방법으로 실험하였다.

### 1) 제 I 실험(생체의 세포독성평가 실험)

#### (1) 세포배양

내경이 8mm인 U형 Micro test plate well (NUNCLON®, Inter Med. Nunc, Denmark)의 최하층에 연화된 역근관충전재료를 주입 및 충전해서 평평하게하고(Fig. 1참조), 경화 시킨 직후, 1일후 및 7일후에 radiochromium -labeling된 L929 fibroblast의 세포수  $1.0 \times 10^6$  cell/ml 농도의 세포부유액을 well당  $200\mu\text{l}$  씩 분주하여  $\text{CO}_2$ 부란기( $37^\circ\text{C}$ )에

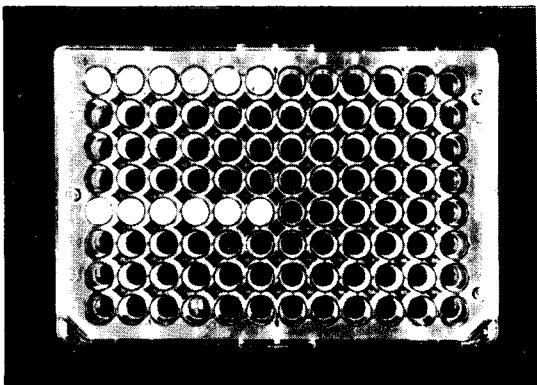


Fig. 1. Specimens in Micro test plate wells.

서 4시간 배양 하였다.

세포독성평가실험은 대조군은 실험재료가 들어가지 않은 well을 사용하였으며, 실험군은 고동아말감과 glass ionomer-silver cement 군으로 분류하였으며, 대조군 및 실험각군당 6well씩 총 18well로 실시하였다.

#### (2) 세포상해도 측정

배양이 끝난 후 각 well의 세포부유액에서 세포와 분리된 상층액중  $100\mu\text{l}$ 를 취하여  $\gamma$ 입자 counter (Packard Auto-Gamma 500, U.S.A.)에서 방사능 활성을 측정하였다. 시편은 1일과 7일후의 것은 실험실시 이전까지  $\text{CO}_2$ 부란기( $37^\circ\text{C}$ )에서 무균적으로 보관되었다.

### 2) 제 II 실험(재료매식시의 조직반응평가 실험)

#### (1) 시편매식

고동아말감 및 glass ionomer-silver cement를 백서 복강내에 매식하여 조직반응을 평가하기 위하여 다음과 같은 방법으로 대조군과 실험군으로 나누어 실험을 실시하였다.

각 군당 각각 8마리씩 24마리의 실험동물을 배정하였으며, 실험동물은 ether로 마취한 후 길이 10mm되게 절개하여 1군은 대조군으로 절개후 즉시 봉합을 실시하였고, 2군은 실험군으로써 길이 10.0mm, 직경 2.7mm의 고동아말감 시편을 3군은 실험군으로써 길이 10.0mm, 직경 2.7mm의 glass ionomer-silver cement시편을 각각 복강내에 매식하고 봉합하였다.

#### (2) 조직반응평가

상기재료 매식후 복강액 수거는 24시간, 2주, 4주, 및 6주후에 실시하였으며, 복강액의 수거방법은 소독된 복강내에  $37^\circ\text{C}$  Ringer's 수액 10ml를 16gauge needle로 천천히 주입하고 복강을 맞사지한후 세척액 주입구에 다시 천자하여 복강세척액을 시험관내에 수거하였다. 각 실험동물은 4회의 복강액 수거가 실시되었으며 6주후 희생되었다.

각 동물에서 얻어진 복강세척액을 Slide glass에 한방울 떨어뜨려 methyle alcohol로

고정하고 Wright's stain하여 광학현미경하에서( $\times 1000$ ) differential cell count를 시행하였다(Fig. 2참조).

각 동물에서 얻어진 복강세척액은 2개의 시험관에 1ml씩 받는다. 이중 1개의 시험관내에는 5% acetic acid 1ml를 혼합한후 0.05% toluidin blue를 1ml넣어 염색하고 hemocytometer ( American Optical Corporation , U.S.A.)를 사용하여 광학현미경하에서 ( $\times 30$ ) 복강액내 평균 세포수를 산정하고, 비만세포수를 계산하였으며(Fig. 3), 계산된 비만세포수는 총 세포수에 대한 백분율로 산출하여 differential cell count로 환산하였다.

### (3) 유리된 금속이온 분석

매식된 역근관충전재가 복강내에서 유리 방출하는 금속이온을 비교분석하고자 시험관에 수거된 상기 복강세척액을 원심분리하여 eluates와 packed cells를 얻었으며, 제II실험 각군의 동물별로 실험이 실시될 때 마다 반복하여 eluates와 packed cells을 pooling 하여 실험이 끝난 6주 후 packed cells 과 eluates 에 은과 동의 양을 Automatic Absorption Spectrophotometer ( AAS Instrumentation Lab, Model 551, U.S.A.)를 이용하여 측정하였다.

## III. 실험성적

### 1) 제 I 실험(생체의 세포독성평가)

고동아말감과 glass ionomer-silver cement 시편이 L 929 mouse fibroblast에 미치는 영향을  $^{51}\text{Cr}$ 방출법에 의한 표적세포상해시험법을 이용하여 정량적으로 측정된 결과 Table 2와 같은 성적을 얻었다.

Table 2에서 나타난 바와같이 시편이 경화 후 시간경과에 따른 대조군, 고동아말감 및 glass ionomer-silver cement의 배양세포상에서 나타난 결과를 살펴보면 다음과 같다.

#### (1) 경화 직후

고동아말감 실험군에서  $^{51}\text{Cr}$  방출량(CPM ; counts per minute)의 평균치(Mean $\pm$ S.E.)는  $9010 \pm 122$ 로 대조군의 평균치  $6829 \pm 20$ 와 비교하여 높은  $^{51}\text{Cr}$ 의 방출량으로, 세포독성을 나타냈으며( $p < 0.01$ ) glass ionomer-silver cement 실험군은 대조군에 비하여  $6588 \pm 181$ 의 낮은 방출량으로, 세포독성을 나타내지 않았다.

#### (2) 경화 1일후

고동아말감과 glass ionomer-silver cement 실험군의  $^{51}\text{Cr}$  방출량(CPM)의 평균치는 각각  $7554 \pm 113$ ,  $8112 \pm 165$ 로 대조군의 평균치  $9160 \pm 40$ 에 비하여 낮은 방출량으로, 세포독성

**Table 2.** Cytotoxic effect of High copper amalgam and Glass ionomer-silver cement on L 929 Cells in Vitro (Cell-materials contact time: 4 hours)

(Unit: CPM<sup>#</sup>)

Time after set \ Group	Control	High copper amalgam	Glass ionomer-silver cement
	Mean $\pm$ SE	Mean $\pm$ SE	Mean $\pm$ SE
Fresh <sup>†</sup>	$6829 \pm 20$	$9010 \pm 122^*$	$6588 \pm 181$
1 day	$9160 \pm 40$	$7554 \pm 113$	$8122 \pm 165$
7 days	$6545 \pm 445$	$6525 \pm 74$	$6440 \pm 67$

Note: \* P < 0.01

<sup>†</sup>Fresh: immediately after set

<sup>#</sup>CPM: counts per minute

을 나타내지 않았다.

(3) 경화 7일후

고동아말감과 glass ionomer-silver cement 실험군의 <sup>51</sup>Cr 방출량(CPM)의 평균치는 각각 6525±74, 6440±67으로 대조군의 평균치 6545±455에 비하여 낮은 방출량으로, 세포독성을 나타내지 않았다.

2) 제II 실험(재료매식후의 조직반응평가)

(1) 복강액내 평균 세포수

대조군과 실험군의 백서복강내 매식후 채취한 복강액내의 평균 세포수는 Table 3와 같으며, 매식 1일 및 2주 경과후에는 3군, 1군, 2군의 순서로 평균세포수의 증가를 나타냈으나, 각군간의 비교에선 서로 유의한 차이를 나타내지 않았다(p>0.05) 매식 4주 경과후에는 1군, 3군, 2군의 순으로 높은 세포수의 평균치를 나타냈으나, 각군간의 유의한 차이를 나타내지는 않았다(p>0.05). 매식 6주 경과후에는 1군에서 2.871×10<sup>6</sup>, 3군에선 2.310×10<sup>6</sup>, 2군에서 1.795×10<sup>6</sup>의 순으로 평균세포수가 나타났으며, 2군은 1군에 비해 유의한 차이를 나타내었다(p<0.05)

(2) 복강액내 세포의 differential cell counts

각군의 복강액내 세포중 대식세포, 비만세

포, 호산구, 호중구, 임파구의 백분율은 Table 4와 같으며, 각군간 유의성 검정은 Table 5와 같다.

매식 1일 경과후: 1군에 비하여 3군에서 대식세포의 감소와 비만세포의 증가를 나타냈으며, 1군과 2군, 2군과 3군간에 대한 세포의 differential counts비교는 유의한 차이를 나타내지 않았다.

매식 2주 경과후: 1군에 비하여 2군에서 호중구의 증가와 3군에 비하여 2군의 호중구의 증가를 나타냈으며, 1군과 3군은 각세포의 비교에서 증감의 차이를 나타내지 않았다.

매식 4주 경과후: 1군에 비하여 2군에서 대식세포의 증가와 임파구의 감소를 나타내었으며, 1군에 비하여 3군에서 비만세포의 감소를 나타내었고, 2군과 3군은 differential counts는 차이를 나타내지 않았다.

매식 6주 경과후: 1군에 비하여 2군에서 대식세포의 증가와 임파구의 감소를 나타내었으며 3군에 비하여 2군에서 대식세포의 증가와 임파구의 감소를 나타내었다.

대식세포수는 2주의 경우가 1일경과후 보다 각군 공히 증가하였으며, 4주후에서 6주후까지 1군과 3군은 감소를 나타냈으나, 2군은 계속적인 증가를 나타내었다(Fig. 4참조).

**Table 3.** Mean peritoneal Cellular count (standard deviation) after implant of materials

(Unit: x10<sup>6</sup>)

Group	1 day post	2 weeks post	4 weeks post	6 weeks post*
1	2.835 (0.828)	2.054 (0.881)	2.299 (0.478)	2.871 (0.470)
2	2.764 (0.812)	2.389 (0.594)	2.061 (0.671)	1.795 (0.946)
3	3.116 (0.785)	2.459 (1.315)	2.231 (1.913)	2.310 (1.271)

Note: Group 1: control (Incision and closure)  
Group 2: High copper amalgam  
Group 3: Glass ionomer-silver cement

\* Group 1 versus Group 2 (P < 0.05)

**Table 4-1.** Mean differential cell counts in percentages (Standard deviation) in Group 1

Cells	1 day post	2 weeks post	4 weeks post	6 weeks post
Macrophages	83.25 (4.920)	88.38 (3.623)	85.50 (2.070)	85.25 (3.370)
Mast cells	2.38 (1.060)	2.75 (0.886)	3.25 (1.488)	1.63 (1.188)
Eosinophils	0.75 (0.886)	0.75 (0.886)	0.88 (0.641)	0.63 (0.744)
Neutrophils	3.25 (2.053)	0.38 (0.518)	0.38 (0.518)	0.75 (0.707)
Lymphocytes	10.75 (4.559)	7.75 (4.132)	10.00 (2.268)	12.00 (5.043)

Group 1 : control (Incision and closure)

**Table 4-2.** Mean differential cell counts in percentages (standard deviation) in Group 2. after implant of material

Cells	1 day post	2 weeks post	4 weeks post	6 weeks post
Macrophages	80.75 (2.659)	90.00 (3.464)	90.75 (2.712)	90.71 (1.704)
Mast cells	3.25 (0.886)	1.63 (0.744)	2.50 (1.309)	1.71 (1.113)
Eosinophils	0.375 (1.061)	1.12 (1.356)	0.50 (0.756)	0.14 (0.378)
Neutrophils	2.5 (1.690)	2.25 (1.282)	0.63 (1.061)	0.43 (0.535)
Lymphocytes	13.13 (3.00)	4.88 (1.458)	5.63 (2.264)	7.00 (1.414)

Group 2 : High copper amalgam

**Table 4-3.** Mean differential cell counts in percentages (Standard deviation) in Group 3, after implant of material

Cells	1 day post	2 weeks post	4 weeks post	6 weeks post
Macrophages	80.25 (4.743)	89.50 (4.269)	87.13 (6.105)	86.40 (3.891)
Mast cells	3.63 (0.744)	2.13 (0.835)	1.75 (1.035)	1.71 (0.488)
Eosinophils	0.88 (0.835)	0.38 (0.518)	0.38 (0.518)	0.29 (0.488)
Neutrophils	2.50 (2.673)	0.25 (0.463)	1.00 (0.926)	0.86 (1.069)
Lymphocytes	12.88 (3.523)	7.75 (4.301)	9.50 (6.908)	11.00 (4.083)

Group 3: Glass ionomer-silver cement

**Table 5.** Statistical differences between groups by cellular differential counts

Lavage time	Group 1		Group 2	
	Group 1	Group 2	Group 1	Group 2
1 day post	NS	NS	S (macrophages, Mast cells)	NS
2 weeks post	S (Neutrophils)	NS	NS	S (Neutrophils)
4 weeks post	S (Macrophages, Lymphocytes)	NS	S (Mast cells)	NS
6 weeks post	S (Macrophages, Lymphocytes)	NS	NS	S (Macrophages, Lymphocytes)

Notes: NS : Non significance  
 S: Significant difference ( $P < 0.05$ )  
 Group 1 ; control (Incision and closure)  
 Group 2 ; High copper amalgam  
 Group 3; Glass ionomer-silver cement

**Table 6.** The content of silver and copper in peritoneal packed cells and eluate samples taken by peritoneal lavages

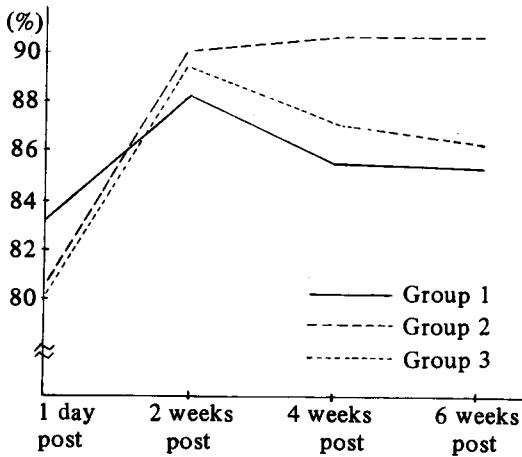
Group	Metal Content		Packed cells (PPM/gm)		eluates (PPM/ml)	
	Silver	Copper	Silver	Copper	Silver	Copper
1	0.006	0.030	0.012	0.199	0.012	0.199
2	0.006	0.044	0.044	0.199	0.044	0.199
3	0.010		0.025		0.025	

Note : Group 1 : Control (Incision and closure)  
 Group 2 : High copper amalgam  
 Group 3 : Glass ionomer-silver cement

(3) 유리된 금속이온 분석

재료매식후 채취된 복강내에서 유리 방출되는 금속이온의 양은 Table 6과 같으며 특히 2군에서 packed cells에서 동의유리량은 0.044 ppm/gm으로 1군의 0.030ppm/gm보다 높게 나타났으며, eluates에서 은의 유리량은 0.044

ppm/ml으로 1군의 0.012ppm/ml보다 높게 나타났으며, 3군에서 은의 유리량은 packed cells에서 0.010ppm/ml, eluates에서 0.025 ppm/ml으로 1군에 비하여 유리량이 증가된 것으로 나타났다.



\*Group 1 : Control (Incision and closure)  
 Group 2 : High copper amalgam  
 Group 3 : Glass ionomer-silver cement

Fig. 4. The percentage of macropages in three groups.

#### IV. 총괄 및 고안

근관치료의 실패로 인하여 외과적으로 치근 단절제술이 요구될 때 역근관충전법은 근관충전재나 시멘트와 같이 치근단조직에 직접 접촉함으로써, 생체와 조직반응을 일으킬 수 있으므로 조직과의 친화성여부에 대한 평가는 역근관충전재로 선택에 있어 매우 중요한 사항이다.

아말감은 역근관충전재로서도 널리 사용되어 왔으며, 치근단 주위조직에 적용되었을때 생체에 대하여 생물학적 및 임상적 평가가 필요하며, 재료의 특성상 경화시간에 따른 물리화학적 변화 및 재료 구성성분의 차이에 따른 기계적 성질 및 조직친화성등이 차이를 나타낼 수 있다.

생체외에서 아말감이 세포에 미치는 독성을 평가한 연구중 Leirskar<sup>37)</sup>는 상피세포의 단층배지상에서 은 및 동아말감이 세포독성을 나타냈다고 보고하였으며, 유리이온의 추적연구에선 은아말감에서는 아연이 초기에 유리되고, 소량의 수은과 은이 발견되었으나, 동과 주석은 발견되지 않았음을 보고하였다. 동아말감에서는 수은과 은에 비하여 동과 주석이 상당량

유리되었음을 보고하였으며, 이들 중금속의 독성평가에서 은아말감의 경우, 아연이, 동아말감에서는 동이 세포독성에 주요한 요인으로 작용한다고 주장하였다. Kawahara 등<sup>38)</sup>은 섬유아세포를 이용한 세포배양에서 구상형과 절삭형 아말감에 대한 세포독성평가에서 구상 아말감은 연화 직후에는 심한 독성을 나타내었으나, 연화 2시간 후에는 독성이 나타나지 않았으며, 절삭형 아말감은 연화 24시간후까지 지속적인 세포독성을 나타냈으며, 이는 수은의 양 및 연화과정의 차이에 따라 세포독성유무가 좌우되며, 유리수은이 세포독성에 원인이라고 보고하였다. Milleding 등<sup>23)</sup>은 Millipore filter 방법을 사용한 세포배양실험에서 종래의 은아말감과 non-gamma-2 아말감중 즉 고동아말감을 증류수 및 인공타액내에 보관한 후 세포독성을 비교한 실험에서, 부식이 발생된 아말감은 세포독성을 나타냈으나, 부식발생이 없는 아말감에서는 세포독성을 나타내지 않았으며, non-gamma-2 아말감이 더 심한 독성이 나타났음을 관찰하였다. Nazhan 등<sup>22)</sup>은 L 929 mouse fibroblast를 사용한 세포배양에, <sup>51</sup>Cr 방출법에 의한 표적세포상해시험법을 이용한 세포독성실험에서, 분산강화형 고동아말감 (Dispersalloy®; Johnson & Johnson)을 연화직후, 경화 1일후 그리고 1주일후 증류수내에 보관한 실험에서 연화 직후에는 심한 세포독성을 나타냈으나 시간경과에 따라 세포독성은 감소되는 경향을 보고하였으며, 시간경과 후에도 세포독성이 잔존하는 것은 부식산물의 작용이라고 추정하였다. Safavi 등<sup>39)</sup>은 섬유아세포 배양 후 실험재료에 대한 세포부착도를 주사전자현미경상에서 관찰한 세포독성실험에서 사용된 단일조성형 및 분산경화형 고동아말감은 세포부착도에서 서로 유의한 차이를 나타내지 않았으며 경화시간 경과에 따른 세포독성의 차이를 나타내지 않았다고 보고하였다.

본 연구 제 I 실험에서 경화 직후에는, 대조군에 비하여  $p < 0.01$ 로 세포독성을 나타냈으나, 1일 후 및 1주일 후에는 세포독성을 나타내지 않았다. 이것은 Kawahara 등<sup>38)</sup>의 연구와



일치하였으나, Nazhan등<sup>22)</sup>이나 Safavi등<sup>39)</sup>의 연구결과와는 일치하지 않았다. 그 이유는 시편 보관방법 및 세포독성 실험방법중 배양시간의 차이에서 나타난 결과로 사료된다. 특히 실험재료의 경화시간의 차이로 세포독성에 미치는 영향이 실험재료의 보관방법에 따라 차이가 나타날 수 있으나, 중요한 원인으로 부식산물의 성분, 작용시간 및 부식산물 생성량등에 따라 차이가 나타날 수 있다고 사료된다. 그러나 경화시간의 지연의 초기에는 유리수은이 세포독성에 작용하지만 경화가 진행되면서 유리수은이 감소되어 세포독성이 점차 미약해지는 것으로 추정할 수 있다.

glass ionomer-silver cement는 800°C에서 규화법에 의하여 순은을 이온화성 Calcium-aluminum fluorosilicate glasses와 견고하게 결합시켜 결정체로 제조한 후 분말로 분쇄하였으며, 분말입자는 종래의 glass ionomer 입자보다 구형이며 낮은 다공도와 높은 packing density를 나타내며, acrylic acid 와 maleic acid의 공중합체로서 분말과 액의 비율은 4/5로 혼합되었으며 분말내 40%의 은이 포함되었다<sup>12)</sup>.

종래의 glass ionomer cement는 조직친화성이 다른 재료에 비하여 우수한 것으로 알려져 왔으며 Kawahara등<sup>40)</sup>은 세포배양실험에서 세포의 성장 및 형태변화를 관찰하여 세포독성이 glass ionomer cement가 산화아연시멘트와 polycarboxylate시멘트에 비하여 미약한 것으로 나타났으며, 미경화된 시멘트는 미약한 독성을 나타냈으나, 경화된 시멘트는 독성을 나타내지 않았다고 보고하였다. Meryon등<sup>41)</sup>은 대식세포로부터 유리되는 효소의 양을 측정하여 세포독성여부를 평가한 실험에서 혼합직후 glass ionomer cement는 독성을 나타냈으나, 경화 1시간후에는 독성이 점차 감소되었다고 보고하였다. Zmener등<sup>41)</sup>은 임파구와 단백구를 혼합 증식시킨 배지상에서 근관충전시멘트들의 독성 여부를 관찰하여, glass ionomer cement가 다른 실험재료들보다 미약한 독성효과를 나타냈다고 보고하였다.

본 연구의 제 I 실험에서도 glass ionomer

-silver cement의 세포독성은 경화 직후, 1일 후 및 1주일후에 세포독성을 나타내지 않았다. 이와 같은 결과는 Kawahara등<sup>40)</sup>, Meryon등<sup>41)</sup>, Zmener등<sup>42)</sup>의 실험결과와 유사하게 나타났으며, 이는 은이 혼합된 glass ionomer-silver cement의 조성변화가 세포독성에 영향을 미치지 않은 것으로 사료된다.

생체내에서 매식재료는 세포의 손상과 국소적인 염증을 유발할 수 있으며 각 개체의 매식재료에 대한 반응은 다양하게 나타난다. 염증반응과 면역반응은 생체방어 기전중 중요한 반응으로서 생체는 이물의 침입에 대해 비특이적인 방어작용의 하나인 염증반응으로 대응하게 되며, 이물이 항원으로 인식된 경우 특이적인 방어작용인 면역반응으로 대응하고 있는 것으로 알려져 있다<sup>25,43,44)</sup>.

본 실험결과에서 (Table 3) 4주후에 1군의 증가양상은 Cather등<sup>33)</sup>의 실험에서도 외과적 처치만 시행된 대조군이 실험군에 비해 매식 4주후 부터 세포수의 증가된 양상을 나타냈다고 보고한 결과와 일치하였다. 본 실험결과는 실험군인 2군과 3군 모두 재료매식에 따라 복강액내 평균 세포수에 대한 영향이 없는 것으로 추정할 수 있다.

아말감은 역근관충전재로서 근첨공부위에 적용되어 생체와 접촉하게 된다. 따라서 생체에 대한 친화성을 평가하기위해 매식실험이 이용된다.

Schmalz등<sup>45)</sup>은 다양한 구성성분을 갖는 수종의 아말감의 조직반응연구에서 rabbit의 paravertebral muscle에 대한 매식실험결과, non-gamma-2 아말감에서는 시간경과에 따라 염증반응은 감소되었으며, 7일후에는 미약한 반응을 나타냈다고 보고하였고, Sperber등<sup>46)</sup>은 pure silver-tin alloy와 혼합된 은-동공정합금을 백서의 피하 결체조직에 매식한후 조직학적 소견은 2일후에는 미약한 염증반응을 나타내었으며 16일후에는 염종의 소실을 나타냈으며, 32일후에 fibrous capsule 소견을 보였다고 보고하였다. 본 연구 제 II 실험에서 복강액내 평균 세포수가 대조군에 비해 유의하게 증가되지 않은 결과는 염증반응시 복강액내 평

군 세포수가 증가된다는 大河原등<sup>34)</sup>의 보고를 고려할때, 본 실험결과는 다소다른소견이 나타났으며 본 실험에선 염증 반응은 나타나지 않았다고 추정된다. 이러한 결과는 Schmalz등<sup>45)</sup>과 Sperber등<sup>46)</sup>의 연구보고와 유사하였으며, 본 실험에 사용된 고동아말감은 시간경과에 따라 생체친화성이 증가한다고 사료된다.

Callis등<sup>47)</sup>은 glass ionomer cement의 조직 반응에 대한 평가에서 ferret canine에 대한 조직반응연구에서 glass ionomer cement는 7일후에는 미약한 염증반응을 나타냈으나 28일후에는 염증반응을 나타내지 않았다고 보고하였으며, Zmener등<sup>11)</sup>은 dog의 tibias에 glass ionomer cement를 매식한 경우 10-30일후에는 미약한 염증반응이 관찰되나 90일후에는 염증반응은 회복되는 경향을 나타냈다고 보고하였다.

Blackman 등<sup>16)</sup>도 glass ionomer-silver cement (Ketac-silver®; ESPE)를 백서의 결체 조직에 매식한 후 조직학적 소견에서 30일까지는 foreign body giant cell 반응이 나타났으나, 심한 염증반응은 수반되지 않았으며, 80일후에는 미약한 foreign body giant cell 반응이 지속되었으나, 골조직에 의해 회복되는 경향을 나타내 조직친화성이 양호하였다고 보고하였다. 본실험결과에서 대조군과 비교하면 복강액내 평균 세포수는 유의한 차이를 나타내지 않았으며 Blackman등<sup>16)</sup>의 실험결과와 같이 양호하게 나타났다. Callis등<sup>47)</sup>과 Zmener등<sup>11)</sup>의 실험결과와 비교할때, 종래의 glass ionomer cement와 은이 혼합된 glass ionomer-silver cement는 조직친화성에 있어서 차이가 없는 것으로 사료된다.

본 실험(제II실험)의 백서 복강액내 세포의 differential counts에서 매식 1일후에서는 1군에 비하여 3군에서 대식세포의 감소와 비만세포의 증가를 나타냈다( $P < 0.05$ ). 대식세포의 감소현상은 大河原등<sup>34)</sup>이 보고한 급성염증시 일시적인 대식세포의 감소가 초래된다는 주장을 고려할 때 세포막에 국소적인 독성효과를 유추할 수 있으나 복강액내 평균 세포수의 비교를 보면, chemotaxis의 억제로 인한 대식세

포 증식억제로 부터 초래된 것으로 추정할 수 있다<sup>32)</sup>. 즉 이러한 상태는 매식 2주후 부터 회복되는 양상을 나타내었으며, 大河原등<sup>34)</sup>의 실험에서 다핵백혈구의 증가와 임파구의 감소가 동시에 일어난다고 보고한것과는 다르게, 세포수 증감의 차이는 이러한 가정을 뒷받침한다. 2주후에는 1군과 3군에 비하여 2군에서 호중구의 증가를 나타냈으며, 4주후에는 1군에 비하여 2군의 대식세포의 증가와 임파구의 감소와 1군에비하여 3군의 비만세포의 감소를 나타내었다. 6주후에는 1군에 비하여 2군의 대식세포의 증가와 임파구의 감소와 3군에 비하여 2군의 대식세포의 증가와 암파구의 감소를 나타냈다.

4후와 6주후에 특징적인 것은 2군에서 대식세포가 다른 군에 비해 시간경과에 따라 감소되지 않고 계속 증가된 상태로 지속되는 현상이다. 이와같은 결과는 부식산물이 계속적으로 대식세포에 영향을 주며 이물질로 작용한 것으로 추정된다. 만성염증반응을 고려할 수 있으나, 임파구의 감소 때문에 이러한 가정을 할 수 없다<sup>48)</sup>. 대식세포와 호중구는 이물질의 탐식작용에 관여하며, 임파구의 증가는 만성염증에서 고려될 수 있으며, 비만세포와 호산구의 생체반응에 미치는 기전은 정확히 밝혀지지 않고있으나, 생체방어 즉 면역반응에 영향을 미치는 것으로 추정되고 있다<sup>48-52)</sup>.

본 제II실험의 금속유리이온량의 측정에 대한 결과는 3군인 glass ionomer-silver cement 군에서 은은 packed cells과 eluates에서 증가된 양을 나타내었다. 이것은 대식세포가 은에 작용하며, 복강액에 용해되어 유리되는 것을 표시하며, Blackman등<sup>16)</sup>이 glass ionomer-silver cement를 백서 결체조직에 매식시 대식세포의 증식이 나타났으며, 이는 은이온의 대식세포에 대한 작용때문이라고 추정할 실험보고와 일치한다. 그러나 본 실험결과에 의하면 3군에서 4주후 부터는 대식세포의 작용은 감소되어 나타났다. 이와같은 이유는 유리된 은이온은 대사작용으로 이물질효과가 없어진것으로 사료된다. 2군인 고동아말감군에서는 은은 eluates, 동은 packed cells에서 증가된 양

을 나타내었다. 이러한 결과는 Milleding<sup>23)</sup>이 non-gamma-2 아말감에서 동이온이 아말감 표면에 부착되어 부식이 진행된다는 추정과 Marshall등<sup>53)</sup>이 copper-rich 아말감에서는 부식 산물이 표면에 한정되며 제한된 부위에서 형성된다는 보고와 일치하며, 은보다는 부식산물 중 독성작용을 나타내는 동이 대식세포의 식작용을 계속적으로 진행시키는 것으로 사료된다.

역근관충전재로서 glass ionomer-silver cement는 본 실험결과에 의하면 조직친화성이 양호하게 나타났으며, 비교재료로 평가된 고동아말감은 경화 직후에는 세포독성을 나타냈으나, 시간경과에 따라 생체에 유의한 독성 자극 효과는 감소되는 경향으로 나타났으나, 대식세포의 증가는 계속 진행되는 양상을 나타냈다. 이와같은 이유는 고동아말감의 부식산물중 동이온 때문으로 추정할 수 있다. 본 실험결과는 역근관충전재료를 비교평가하는데 생체의 세포독성실험방법외에 생체내 실험의 중요성과, 앞으로 정확한 생체반응의 평가를 위해 면역반응에 대한 연구들이 복합적으로 시도되어 재료매식시 발생될 수 있는 생체방어를 구체적으로 평가하여 양호한 재료를 선택할 수 있는 방법이 제시될 수 있어야 한다고 사료되며, glass ionomer-silver cement와 고동아말감 재료의 역근관충전재로서의 변연누출평가와 임상적 연구가 계속 필요하다고 사료된다.

## V. 결 론

저자는 근관치료시 역근관충전재로서 사용되는, 고동아말감과 glass ionomer-silver cement의 조직친화성을 평가하기 위하여, 제 I 실험은 방사성동위원소 방출법에 의한 표적세포 상해시험법을 이용하여 이들 재료의 경화 직후, 1일후 그리고 7일후에 생체의 세포독성 평가실험을 실시하였으며, 제 II 실험은 생체내 조직반응평가를 위하여 24마리의 백서의 복강내에 이들 재료를 매식하여, 1군은 대조군으로 절개와 봉합만을 시행한 군, 2군은 고동아말감을 3군은 glass ionomer-silver cement를 매식한 군으로 하여 매식 1일, 2주, 4주 및 6주후

에 복강세척후 채취한 복강액내에 평균세포수 및 각 세포의 differential counts와, 채취한 복강액을 분리하여 얻어진 packed cells 및 eluates의 은 및 동의 유리량을 측정하여 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 고동아말감은 대조군에 비하여 경화직후에는 세포독성을 나타냈으나 ( $p < 0.01$ ), 경화 1일 및 7일후에는 세포독성을 나타내지 않았다.
2. Glass ionomer-silver cement는 대조군에 비하여 실험기간중 세포독성을 나타내지 않았다.
3. 평균 세포수는 각군간 매식 1일, 2주 및 4주후에 유의한 차는 나타내지 않았으나 ( $p > 0.05$ ), 6주후에는 1군이 2군에 비해 증가를 나타내었다 ( $p < 0.05$ ).
4. 대식세포는 2군이 1군에 비하여 매식 4주 및 6주후에 증가하였다 ( $p < 0.05$ ).
5. 은이온의 유리량은 2군에서는 eluates, 3군에서는 packed cells과 eluates에서 증가되었으며, 동이온의 유리량은 2군에서는 packed cells에서 증가되었다.

## REFERENCES

1. Cohen, S., and Burns, R.C.: Pathways of the pulp. 2/e, St. Louis: The C.V. Mosby Co., pp. 493, 1980.
2. Seltzer, S.: Endodontology, 2/e Philadelphia, Lea & Febiger, pp. 461, 1988.
3. Abdal, A.K., Retief, D.H.: The apical seal via the retrosurgical approach, Oral Surg., 53:614-621, 1982.
4. Abdal, A.K., Retief, D.H. and Jamison, H.C.: The apical seal via the retrosurgical approach, Oral Surg., 54:213-218, 1982.
5. Trope, M., Doering, A. and Hasselgren, G.: Sealing Ability of Dental Amalgams as Retrograde Fillings in Endodontic Therapy, J Endodont., 9: 551-553.

6. Mattison, G.D., Fraunhofer, J.A., Delivanis, P.D. and Anderson, A.N.: Microleakage of retrograde amalgams, *J Endodont.*, 11:340-345, 1985.
7. Bondra, D.L., Hartwell, G.R., Macpherson, M.G. and Portell, F.R.: Leakage in vitro with IRM, high copper amalgam, and EBA cement as retrofilling materials, *J Endodont.* 15: 157-160, 1989.
8. MacPherson, M.G., Hartwell, G.R., Bondra, D.L. and Weller, R.N.: Leakage in vitro with high-temperature thermoplasticized Gutta-percha, high copper amalgam, and warm Gutta-percha when used as retrofilling materials, *J Endodont.* :212-215, 1989.
9. Robert G.C.: *Restorative Dental Materials*, 8/e, The C.V. Mosby Co. pp. 149-187, 1989.
10. Zmener, O. and Dominguez, F.V.: Tissue response to a glass ionomer used as an endodontic cement, *Oral Surg.*, 56: 198-205, 1983.
11. Prosser, H.J., Brant, P. and Wilson, A.D.: Characterization of glass-ionomer cements 7. The physical properties of current materials, *J Dentistry*, 12. 231-240, 1984.
12. McLean, J.W. and Gasser, O.: Glass-cermet cements, *Quintessence Int.* 5:333-343, 1985.
13. MacNeil K. Beatty R. Ketac Silver and Fuji 11 as reverse fillings: a dye study [Abstract 1520], *J Oral Rehabil.*, 66:297, 1976.
14. Schwartz, S.A. and Alexander, J.B.: A comparison of leakage between silver-glass ionomer cement and amalgam retrofillings. *J Endodont.*, 14: 385-391, 1988.
15. Wilson, A.D., and McLean, J.W.: *Glass ionomer Cement*. Quintessence publishing Co., Inc., pp. 269, 1988.
16. Blackman, R., Gross, M. and Seltzer, S.: An evaluation of the biocompatibility of a glass ionomer-silver cement in rat connective tissues, *J. Endodont.*, 15:76-79, 1989.
17. Sarkar, N.K.: Creep, corrosion and marginal fracture of dental amalgams, *J. Oral Rehabil.*, 5: 413-422, 1978.
18. Marshall, S.J. and Marshall, G.W.: Sn<sub>4</sub>(OH)<sub>6</sub>Cl<sub>2</sub> and SnO corrosion products of amalgams, *J Dent Res.*, 59: 820-823, 1980.
19. Espevik, S.: In vitro corrosion of dental amalgams with different Cu content, *J Dent Res.*, 85: 631-636, 1977.
20. Goldschmidt, P.R.: Cogen, R.B. and Taubman, S.B., Effects of amalgam corrosion products on human cells, *J Periodontal Res.*, 11:108-115, 1976.
21. Gtrenes, E.H.: Anodic polarization of new dental amalgams, *J Dent Res.*, 55:1142-1143, 1976.
22. Al-Nazhan, S. and Spangberg, L.: In vitro study of toxicity of a composite resin, silver amalgam, and cavit, *J Endodont.*, 14:236-238, 1988.
23. Milleding, Percy, Wennber, A. and Hasselgren, G.: Cytotoxicity of corroded and non-corroded dental silver amalgams, *Scand. J Dent Res.*, 93:76-83, 1985.
24. Eley, B.M.: Tissue reactions to implanted dental amalgam, including assessment by Energy Dispersive X-Ray Micro-Analysis, *J. Pathol.*, 138:251-270, 1982.
25. Torabinejad, M., Eby, W.C. and Naidorf, I.J.: Inflammatory and Immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions, *J Endodont.*, 11:479-488, 1985.
26. Spangberg, L. and Pascon, E.A.: The importance of material preparation for the

- expression of cytotoxicity during in vitro Evaluation of biomaterials, *J Endodont.*, 14:247-250, 1988.
27. Nakamura, H., Sakakibara, F., Matsumoto, Y., Hirano, S., Hayakawa, H., Sakai, K. and Yip, M.: Study on the cytotoxicity of root canal filling materials, *J Endodont.*, 12: 156-160, 1986.
  28. Tyas, M.J.: A method for the in vitro testing of dental restorative materials, *J Dent Res.*, 56:1285-1290, 1977.
  29. Nakamura, M. and Kawahara, H.: Cellular responses to the dispersion amalgams in vitro, *J Dent Res.*, 58:1780-1790, 1979.
  30. Parkins, D.J., Harrison, A.W. and Cotmore, J.H.: An evaluation of the toxicity potential of cavity varnish for use in endodontic surgery, *J Endodont.*, 13:170-175, 1987.
  31. Spangberg, L.: Kinetic and quantitative evaluation of material cytotoxicity in vitro, *Oral Surg.*, 35:389-401, 1973.
  32. Biggs, J.T.: Kaminski, E.J. and Osetek, E.M., Rat macrophage response to implanted sealer cements, *J Endodont.*, 11:30-36, 1985.
  33. Cathers, S.J. Kaminski, E.J. and Osetek, E.M.: The cellular response to hydron within the rat peritoneal cavity, *J Endodont.* 10:173-181, 1984.
  34. 大河原 進・北村和生・後 藤 久美子・吉永 秀, 炎症と免疫 *Medical Immunology*, 11 : 531-543, 1986.
  35. Dannenberg, A.M.: Macrophages in inflammation and infection, *Physiology in Medicine*, 293:489-493, 1975.
  36. Nathan, C.F., Murray, H.W. and Cohn, Z.A.: Current concepts-The macrophage as an effector cell, *The New England J Medicine*, 303:622-626, 1980.
  37. Leirskar, J.: On the mechanism of cytotoxicity of silver and copper amalgams in a cell culture system, *Scand. J. Dent. Res.*, 82:74-81, 1974.
  38. Kawahara, H., Nakamura, M., Yamagami, A. and Nakanishi, J.: Cellular responses to dental amalgam in vitro, *J Dent Res.*, 54:394-401, 1975.
  39. Safavi, K.E. and Sapounas, G.: In vitro evaluation of biocompatibility and maginal adaptation of root retrofilling materials, *J Endodont.*, 538-542, 1988.
  40. Kawahara, H.: Imanishi, Y. and Oshima, H.: Biological evaluation on glass ionomer cement, *J Dent Res.*, 58:1080-1086, 1979.
  41. Meryon, S.D., Stephens, P.G. and Browne, R.M.: A comparison of the vitro cytotoxicity of two glass-ionomer cements, *J Dent Res.*, 62:769-773, 1983.
  42. Zmener, O. and Cabrini, R.D.: Adhesion of human blood monocytes and lymphocytes to different endodontic cements. A methodological in vitro study, *J Endodont.*, 12:150-155, 1986.
  43. Syrjanen, S., Moller, B. and Hensten-Petersen, A.: Macrophage response and hemolytic activity caused by the powder component of endodontic sealers, *J Endodont.*, 11:294-300, 1985.
  44. Safavi, K.E., Pascon, E.A. and Langeland, K.: Evaluation of tissue reaction to endodontic materials, *J Endodont.*, 9:421-429, 1983.
  45. Schmalz, G. and Schmalz, Ch.: Toxicity tests on dental filling materials, *Int Dent J.*, 31:185-192, 1981.
  46. Sperber, G.H.: Biological reactions to experimental dental amalgams, *J. Dent Res.*, 45:99-105, 1966.
  47. Callis, P.D. and Santini, A.: Tissue response to retrograde root fillings in the ferret canine: A comparison of a glass ionomer

- cement and guttapercha with sealer, *Oral Surg.*, 64:475-479, 1987.
48. 菊地浩吉外, 李淵台譯: 最新免疫學, 集文堂, pp.355-366, 1982.
49. Ivan R., Jonathan B. and David M.: *Immunology*, 2/e, Grower Medical Publishing London, 2.1-2.8.
50. Perrini, N. and Fonzi, L.: Mast cells in human periapical lesions: ultra-structural aspects and their possible physiopathological implications, *J Endodont.*, 11:197-202, 1985.
51. Stephanie H.P.: Production of eosinophil-rich Guinea pig peritoneal exudates, *Blood*, 52:127-135, 1978.
52. Eckhard, K., Gerd, T., Michael, G., Gudrun, To. and Diethard, G.: Histamine induces release of an eosinophil immobilizing factor from mononuclear cells, *Nature*, 270:67-69, 1977.
53. Marshall, G.W., Jackson, B.L., Marshall, S.J.: Copper-rich and conventional amalgam restorations after clinical use, *J. Amer. Dent. Assoc.* 100:43-47, 1980.

– ABSTRACT –

## A BIOLOGICAL EVALUATION OF HIGH COPPER AMALGAM AND GLASS IONOMER-SILVER CEMENT

Boeng Won Oh, Ho Young Choi, Byung Soon Min, Sang Jin Park.

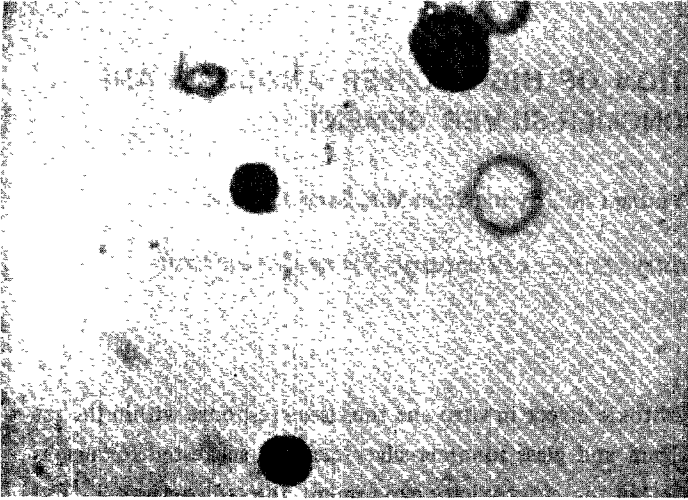
*Dept. of Conservative Dentistry, College of Dentistry, Kyung Hee University*

This study was to evaluate the cytotoxic effect in vitro and the tissue response within the rat peritoneal cavity to high copper amalgam and glass ionomer-silver cement, suggested for use as a retrograde endodontic filling material. In the cytotoxicity experiment, the radioactively ( $^{51}\text{Cr}$ ) labeled L929 mouse fibroblasts were employed to determine the relative cytotoxicity of two experimental materials. Those materials were evaluated immediately after set and after one and seven days setting. In the tissue response experiment, two experimental materials were to evaluate mean peritoneal cellular count, differential cell count and the content of silver and copper in pooled packed cells and eluate samples taken by peritoneal lavage technique, and compared with surgical control after one day, two, four and six weeks of implantation.

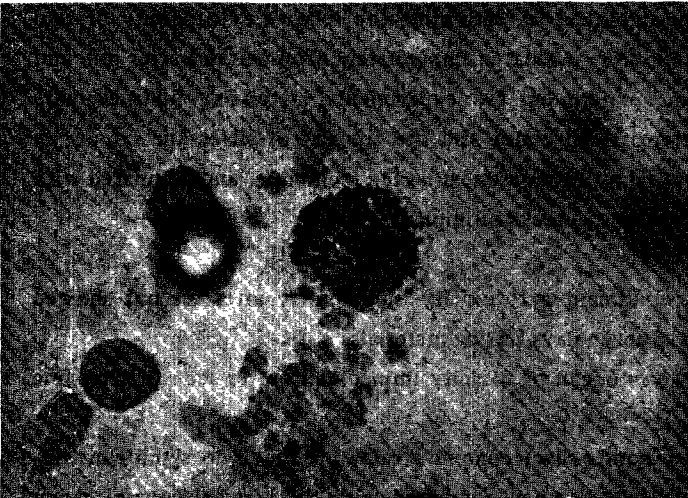
The results were as following:

1. High copper amalgam exhibited significant cytotoxicity immediately after set but showed no sign of toxicity after one day and seven days setting materials.
2. Glass ionomer-silver cement showed no sign of toxicity immediately after set and after one day and seven days setting.
3. High copper amalgam and glass ionomer-silver cement groups produce no significant difference in the mean peritoneal cell count when compared with the surgical control group after one day, two and four weeks of implantation. Surgical control group exhibited significantly a greater cell count when compared with the High copper amalgam group after six weeks.
4. High copper amalgam group increased significantly in the percentage macrophages after four and six weeks of implantation when compared with surgical control group.
5. The trace metal analysis involved an increased silver content in the elutes and an increased copper content in the packed cells of high copper amalgam group, and an increased silver content in the packed cells and elutes of glass ionomer-silver cement group.

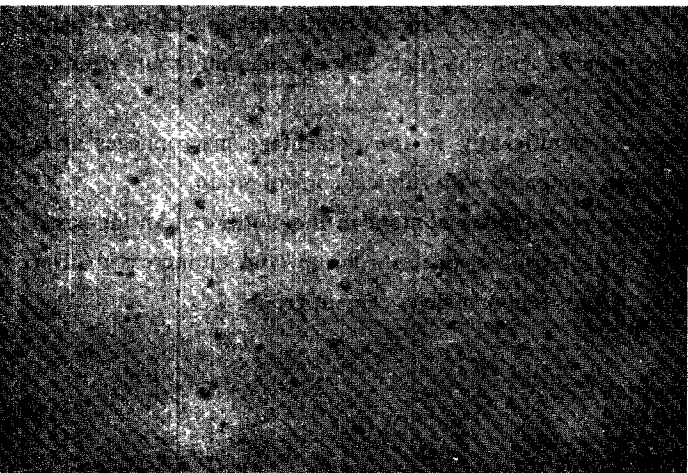
논문 사진부도



**Fig. 2-1.** Macrophage and lymphocyte and Neutrophil of the rat peritoneal cells in the differential cell count specimen (Wright's stain, Orig mag. x 1000).



**Fig. 2-2.** Eosinophil of the rat peritoneal cells in the differential cell count specimen (Wright's stain, Orig mag. x 1000).



**Fig. 3.** Mast cell of the peritoneal cells in the hemocytometer (Toluidine blue, Orig Mag. x 30).