대한치주과학회지 : Vol. 29, No. 3, 1999

EDTA, 염산 테트라싸이클린, 구연산 처치가 치근면에 미치는 영향

안성희 · 채중규 · 김종관 · 조규성

연세대학교 치과대학 치주과학교실, 치주조직재생연구소

I. 서론

치주치료의 목표는 치주질환에 이환된 치근면으로부터 세균과 그것에 의해 생성된 독성물질을 제거하여 치주조직을 재생시키고 신생결합조직의 신부착을 도모하는 데에 있다. 그러나 현재 시술되고 있는 치주치료 만으로는 철저한 치근활택이 불가능한 경우가 많아 어느 정도의 치태와 치석이 남는 경우가 있다. 즉, 이러한 통상적인 치주치료 만으로는 내독소에 의한 치근면 오염을 완전히 제거하지 못하고 주로 긴 접합상피에 의해 치유되므로 결합조직에 의한 부착이 방해되어 완전한 조직의 재생을 얻기 힘들다[1,2].

건강한 치근의 백악질은 치은 퇴축 또는 치주질환에 의해 병적 변화가 오는데, 질환에 이환된 백악질은 칼슘, 인, 불소의 함량이 증가되어 과석회화 양상을 보이고[3], 백악상아경계부에서는 세균이 존재함이 발견되었으며[4,5] 치주낭에 노출된 백악질에서는 내독소 성분이 검출되었다[2]. 이러한 치근면 백악질의 여러 병리학적 변화는 섬유아세포의 부착을 방해하여 결합조직의 신부착을 어렵게 하므로 치주질환의 처치시 치근의 표면 상태를 변화시켜 주는 것이 필수적이다[6].

치근면 탈회에 대한 최초의 연구는 1800년대에 치석제거의 대체 방법으로 aromatic sulfuric acid를 이용한 Marshall(1883)의 연구였다. 그 이후 Younger, Stewart 등에 의해 백악질을 제거하고 탈회시키는 연구가 계속되었으며, Urist 등이 이에 대한 일련의 연구를 하였다[7,8].

한편 치근활택술을 시행한 후 치근면을 탈회시키면 결합조직의 부착이 증진된다는 많은 보고가 있었다[9,10]. 구연산을 처치하면 교원섬유가 노출되고[11,12] 상아세관이 확대되며[13] 신생백악질의 생성이 촉진되고[14], 내독소와 이외의 치태 독성물이 제거된다고 알려져 있으며[7], Larjava 등은 구연산 처치시 상피가 이동하는 방향에 영향을 주어 상피의 이동을 지연시킨다고 하였다[15]. 또한 동물실험에서 외과적 치주치료시 구연산을 사용한 결과 백악질 재생과 함께 증진된 결합조직 재부착에 관한 성공적인 결과가 보고된 바 있다[12].

치근면 처치시 구연산의 탈회 효과와 유사한 효과를 얻기 위해 또한 테트라싸이클린 용액을 사용할 수 있는데 이에 관하여 Bader 등(1968)이 연구한 이래 많은 연구가 이루어졌다. 이에 따르면, 테트라싸이클린은 전신적으로 투여시 치은열구를 통해 방출되는 양이 혈중농

도에 비해 2 10배 더 높아[16] 국소적인 항균 효과가 우수하고, 국소 도포할 경우 다른 항생제에 비해 현저한 흡착성을 가지며 대부분의 구강내 병인성 세균에 억제 효과가 뛰어나다고 알려져 있다[17-19]. 그리고, 테트라싸이클린으로 처치한 경우 섬유아세포의 부착과 성장이 우수하며 fibronectin의 결합을 촉진한다[20,21].

그러나, 이러한 치근면 탈회는 여러 가지 부작용을 야기할 수 있는데 구연산 처치 시 치근 흡수, 골유착[22-24], 신생 백악질 형성의 저하 등이 초래되어 구연산이 치주인대세포에 손상을 줄 수 있음이 보고된 바 있으며[25] 테트라싸이클린 처치시 골유착 등이 일어날 수 있음이 보고되었다[19,26]. 또한 Bloml f 등의 연구에 의하면 구연산이나 테트라싸이클린은 낮은 pH 때문에 창상 치유를 방해하며[27], 낮은 pH 용액에 의해 교원섬유가 변형된다고 알려져 있다. 그에 비해 EDTA는 pH가 중성이므로 주변 지지 조직의 생활력에 영향을 주지 않는다[28,29]. EDTA는 4개의 acetic acid가 ethylenediamine에 결합된 chelating agent로, 상아질 내의 칼슘 이온과 결합하여 chelate 작용을 하므로 강산성 화학 용액과 같이 도말층을 제거하는 효과가 있다. Bloml f 등의 보고에 의하면[29,30] 강산성 용액으로 처치 시에는 치주 판막과 치주 지지 조직에 즉각적인 괴사를 일으킨 반면에 중성의 EDTA(pH7.0)는 치주 판막과 치주 지지 조직에 괴사를 일으키지 않았다. 또한 Bloml f 등은 인산이나 구연산, EDTA 처치 비교했을 때 EDTA가 다른 용액에 비해 선택적으로 교원섬유를 노출시키는 데에 있어 월등하다고 보고하였으며[27,31], 비외과적 치주치료 시 EDTA젤을 도포한 경우 치근면은 상아세관으로 확장되는 치밀한 섬유성 그물 상으로 덮여있음을 보고하였다[32]. 이러한 이유로 중성 pH의 치근면 처치는 생물학적으로 활동적인 물질의 유지를 위해 상아질 상의 교원섬유의 노출을 포함하며, 주위 치주 조직에 해를 주지 않고 생체적합적인 표면을 형성한다[30].

이전부터 강산성 용액인 구연산과 테트라싸이클린 용액을 이용하여 치근면을 처치한 후의 효과에 대한 연구는 많이 이루어져왔으나, 중성의 EDTA 용액으로 치근면을 처치한 후의 효과에 대한 연구는 아직 부족하였다.

이에 본 연구는 치주질환에 이환된 치근면에 EDTA, 포화 구연산, 염산 테트라싸이클린 용액을 처치하여 그 효과를 주사전자현미경으로 관찰, 비교하여 다소의 지견을 얻었기에 이를 보고하는 바이다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 연구 재료

(1) 실험 치아의 선정

Y대학교 치과병원 치주과에 내원한 중증의 치주염 환자(나이:30세 이상)에서 발거된 치아(전치15개, 구치10개)를 대상으로 하였다. 그 중 최근 6개월 내에 치석제거나 치주치료 등을 시행 받은 적이 없고, 탐침시 출혈이 있고, 5㎜ 이상의 탐침 깊이를 보이며, 방사선 사진 상 인접면 골소실이 있는 치아를 선택하였다. 그 중 치아 우식이 있거나 이전에 수복치료, 근관치료 등을 받은 치아는 제외하였다.

실험 전 치아는 생리 식염수에 보관하였고 3 5일 간격으로 식염수를 교환하였다.

(2) 실험 약제의 준비

포화 구연산 용액은 pH 1이 얻어질 때까지 증류수 50㎖에 구연산 분말(Shinyo pure chemicals co., Osaka, Japan)을 첨가하여 제작하였다.

50㎎/㎖ 염산 테트라싸이클린 용액은 증류수 10㎖에 염산 테트라싸이클린 분말(Sigma co., St. Louis, USA) 500㎎을 첨가하여 제작하였다. 이 용액의 수소이온농도는 pH 2였다.

15% EDTA 용액은 증류수 25㎖에 5N NaOH 2.31㎖를 넣어 만든 액에 EDTA의 disodium

salt(Katayama chemical co., Osaka, Japan) 4.25gm을 첨가하여 제작하였다. 이 용액의 수소이온농도는 pH 7이었다.

그리고, 대조군으로 0.9%의 생리 식염수를 준비하였다.

2. 연구 방법

(1) 치아 준비

발거한 치아의 혈액과 타액 등을 솔로 제거하고 결합조직 부착수준과 치관의 상아법랑경계를 표시하였다. 그 참고선을 기준으로 치아를 절단하고 협설 방향으로 치수강을 지나 세로 방향으로 diamond circular disk로 절단하여 6×3×2㎜의 총 35개의 치근 절편을 제작하였다. 그리고나서 치근면을 초음파기구와 치주과

Table 1. Study design

group	agent(application time)	sample number
control	normal saline(1min.)	5
experimental 1	saturated citric acid(3min.)	10
experimental 2	tetracycline - HCI(5min.)	10

용 큐렛을 이용하여 30 stroke으로 매끈하고 광택이 나도록 치근활택술을 시행하였다.

(2) 치근면 처치

Cotton pellet에 시약을 묻혀 치근 절편의 치근면에 도포하였는데 생리 식염수를 1분간 처치한 것을 대조군으로 하고, 포화 구연산을 3분간 도포한 것을 실험1군, 염산 테트라싸이클린 용액을 5분간 도포한 것을 실험2군, 15% EDTA 용액을 5분간 도포한 것을 실험3군으로 하여 총 4 개군으로 분류하였다(Table 1). 이때 치근면이 건조하지 않도록 계속 적셔 주었으며 시간이 지난 후 증류수로 2분간 세척하였다.

(3) 주사전자현미경 연구

표본 처치 후 치근 절편을 임계점 건조(CO_2 가스)하였다. Ion sputting coater를 이용하여 gold로 피복시켜 주사전자현미경(Hitachi S - 800, Japan)으로 저배율(×1000)과 고배율(×3000)로 관찰하였다.

(4) 상아세관의 수, 상아세관의 직경 산정

시편의 중앙에서 1000배로 촬영된 주사전자현미경 사진 상(단위면적 : 10,640㎛²)에서 명확히 개방된 상아세관의 수와 교원섬유로 덮여 함몰된 양상의 상아세관의 수를 상아세관 총수로 기록하고, 개방된 상아세관의 직경을 계측하여 기록하였다.

3. 통계처리

치근면에 노출된 상아세관의 수와 직경에 대해 각 실험군 간의 차이를 비교함에 있어 SAS 프로그램을 이용하여 Kruskal Wallis Test로 분석 비교하여 유의성을 검정하였다($P<0.05$).

III. 연구 결과

1. 주사전자현미경 관찰 소견

(1) 0.9% 생리 식염수 처치군(대조군)

미세한 균열이 보이고 도말층이 불규칙적으로 관찰되었으며 상아세관이나 그에 상응하는 함몰부는 보이지 않았다(Figure 1). 잔존하는 세균이나 치석은 관찰되지 않고 불규칙적인 도말층이 관찰되었다(Figure 2).

(2) 구연산 처치군(실험1군)

다수의 상아세관 입구가 관찰되고 상아세관 주위에 교원섬유가 노출된 양상을 보이며 일부 면에서는 명확한 상아세관 입구를 확인하기 힘드나 그에 상응하는 부위에 함몰이 관찰되며 그 주위에 교원섬유가 노출되었다. 상아세관 사이의 표면은 부드럽고 평활한 양상을 보였다

(Figure 3). 열려진 상아세관의 입구와 그에 상응하는 부위에 구형을 이루는 교원섬유로 덮인 잠재된 상아세관을 관찰할 수 있었다(Figure 4).

(3) 염산 테트라싸이클린 처치군(실험2군)

확실히 열린 상아세관의 입구와 교원섬유로 덮인 상아세관이 관찰되었으며 약간의 돌출 양상을 보이면서 교원섬유가 노출되어 있었다. 상아세관의 열린 정도가 다양하며 일부면에서는 작은 사각의 결정체가 있었다(Figure 5). 확실히 열려져 있으면서 벽에는 가느다란 교원섬유층이 보이는 상아세관이 관찰되었고, 그 주위에는 작은 사각 결정 구조가 있었으며 노출된 교원섬유가 보였다(Figure 6).

(4) 15% EDTA 처치군(실험3군)

교원섬유가 노출되어 그물 양상을 이루고 있었으며 그 사이사이에 상아세관 입구가 관찰되었다(Figure 7). 열려진 상아세관 입구가 관찰되었고 그 주위에는 솜과 같은 느낌의 교원섬유가 관찰되었다(Figure 8).

2. 상아세관의 수

Table 2. Tne number of opened & patent dentinal tubules per unit area(10,640㎛²)

group	mean(±SD)	median(range)
experimental 1	87.5(±36.67)	97.0(107) *
experimental 2	37.8(±8.77)	35.5(24) *
experimental 3	104.5(±57.01)	95.0(247)

*significant difference between 2 groups(P<0.05)
SD: standard deviation
experimental 1: saturated citric acid
experimental 2: tetracycline - HCI
experimental 3: 15% EDTA

Table 3. The diameter of opened dentinal tubules per unit area(10,640㎛²)

group	mean(±SD)	median(range)
experimental 1	2.60(±1.13)	2.00(3.5) *
experimental 2	4.25(±0.95)	4.00(3.0) *
experimental 3	1.95(±0.60)	1.75(1.5)

*significant difference between 2 groups(P<0.05)
SD: standard deviation
experimental 1: saturated citric acid
experimental 2: tetracycline - HCI
experimental 3: 15% EDTA

단위면적 당(10,640㎛²) 노출되었거나 인지 가능한 상아세관의 수를 산정한 결과, 치근활택술을 시행하고 생리식염수로 처치한 대조군에서는 상아세관을 관찰할 수가 없었다. 구연산 처치군(실험1군)에서는 평균 87.5±63.4개, 염산 테트라싸이클린 처치군(실험2군)에서는 평균 37.8±8.8개, EDTA 처치군(실험3군)에서는 104.5±57.0개를 보였다(Table 2). 각 실험군의 차이를 비교 분석한 결과, 구연산 처치군(실험1군)과 EDTA 처치군(실험3군)이 염산 테트라싸이클린 처치군(실험2군)에 비해 유의성 있게 많았으나($P<0.05$), 구연산 처치군(실험1군)과 EDTA 처치군(실험3군) 사이에서는 통계적 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table 2).

3. 상아세관의 직경

단위면적 당(10,640㎛²) 노출된 상아세관의 직경을 계측 산정한 결과, 치근활택술을 시행하고 생리식염수로 처치한 대조군에서는 상아세관을 관찰할 수가 없어 그 직경을 계측할 수 없었다. 구연산 처치군(실험1군)에서는 평균 2.6±1.13㎛, 염산 테트라싸이클린 처치군(실험2군)에서는 평균 4.25±0.95㎛, EDTA 처치군(실험3군)에서는 1.95±0.60㎛를 나타내었다(Table 3). 각 실험군의 차이를 비교 분석한 결과, 구연산 처치군(실험1군)과 EDTA 처치군(실험3군)이 염산 테트라싸이클린 처치군(실험2군)에 비해 유의성 있게 작았으나($P<0.05$), 구연산 처치군(실험1군)과 EDTA 처치군(실험3군) 사이에서는 통계적 유의성 있는 차이를 보이지 않았다(Table 3).

Ⅳ. 총괄 및 고찰

치주질환이 진행되면 치주낭이 형성되고 그에 따라 치주 지지조직이 파괴되며 치근면의 백악질에도 병적 변화가 생긴다. 이러한 치근면의 변화는 세균이 주성분인 치태, 치석, 염증 산물 등에 의해 초래되며, 무기질의 함량 변화에 의해 과석회화 양상을 나타내는데[3,4,5], 과석회화된 치근면은 섬유아세포의 부착을 방해하여 결합조직의 신부착을 어렵게 한다.

Selvig 등은 노출된 치근면 표층의 무기질의 비율을 조사하였는데 노출되지 않은 백악질에 비해 칼슘과 인의 양이 증가하고, 특히 불소의 농도가 매우 증가하여 과석회화된다고 하였다[3]. Stahl은 질환에 이환된 백악질은 타액의 성분으로부터 표층 석회화의 반영에 의해 석회화가 증가되며, 세균의 침입이 관찰된다고 하였으며[33], Aleo 등은 치주낭에 노출된 백악질은 내독소 성분을 가지고 있어 세포 배양시 섬유아세포의 성장을 억제한다고 하였다[2].

결합조직의 신부착과 재생을 위해서는 치근면의 상태가 매우 중요하기 때문에 치주치료시 치근면을 변화시키는 것이 필요하다. 그러므로 치근면의 치석과 내독소 등을 제거하여 건강한 상태의 치근면을 만들기 위해 임상적으로 치근활택술을 시행하고 있다. 본 연구에서는 초음파기구로 치석 제거를 한 후 Lafferty 등의 제안을 따라 치주과용 큐렛을 이용하여 30회의 stroke로 치근활택술을 시행하였다[34].

본 연구에서 0.9% 생리식염수로 처치한 대조군에서는 치근활택 시에 생긴 도말층이 관찰(Figure 1, 2)되었는데 이는 Aleo의 연구[2]와 일치한다. 도말층은 치근면에서 떨어져 나온 백악질층이므로 이 백악질층이 제거되지 못하였음을 의미하며, 이는 상아세관의 노출을 방해한다. 즉, 일반적으로 이러한 기계적 치근활택술만으로는 병적으로 변화된 백악질과 내독소를 완전하게 제거하지 못하므로[6,35], 치주질환에 이환된 치근면을 해독하기 위해 탈회물질을 사용하는 것이 세포 부착과 이동의 적당한 토대형성을 위한 필수요건이라고 하였다[1]. 또한 치근면에 미세한 균열이 관찰되었는데 이는 시편을 진공상태에서 조작하여 인공적으로 시편을

탈수시켰기 때문으로 볼 수 있으며[36], Pameijer의 연구[37]와 김 등의 실험[38]에서도 같은 결과가 관찰되었다.

Register 등은 다양한 용액으로 산처치를 하여 비교한 연구에서 pH 1을 갖는 포화 구연산으로 2 3분동안 치근면을 처치하는 것이 신생 결합조직 부착을 촉진하며 내독소를 제거한다고 하였다[13]. Garrett 등, Ririe 등도 치근활택술 후 구연산으로 치근면을 처치하면 도말층을 제거하여 평활한 치근면을 나타내고, 상아세관을 노출시키고 확대하며, 다수의 섬유상 구조를 보인다고 하였다[9,12]. 또한 Polson 등은 동물실험에 있어 구연산을 처치한 경우 상아세관의 깔때기 모양의 입구를 노출시키고 섬유상의 매트 형태의 intertubular zone을 보인다고 하였다[39].

본 연구에서 포화 구연산을 처치한 실험1군에서는 다수의 상아세관이 노출되었으며, 열려진 상아세관의 입구와 그 주위에 구형을 이루는 교원섬유의 노출이 관찰되었다(Figure 3, 4). 이 결과는 위의 연구 결과와 일치한다. Ririe 등은 구연산 처치가 신생 결합조직의 생성을 촉진하는 기전을 설명하였는데 구연산 처치 시 탈회된 상아질 면의 노출된 섬유와 치은결합조직의 섬유가 연결되는 것이라고 하였다[12]. 따라서 결합조직의 신부착을 위해서는 상아세관의 노출도 중요하지만 교원섬유의 노출이 중요한 의미를 가진다고 생각되어진다.

Larjava 등은 구연산으로 치근면을 처치하면 상피세포의 이동에 영향을 주어 결합조직 부착을 촉진시킨다고 하였으며[15], Polson 등은 pH1의 구연산으로 3분동안 치근면을 처치하면 신생 결합조직 부착이 이루어지는데 이는 교원섬유 기질이 fibrin network의 부착을 촉진하여 상피세포의 하방 이동을 방지하기 때문이라고 하였다[40].

Crigger 등은 동물 실험에서 치주수술 시행 시 구연산으로 치근면을 처치하면 85%에서 결합조직 부착이 일어난다고 하였고[41], Nilvus 등은 동일한 방법으로 실험을 하여 71%에서 완전한 결합조직 부착을 얻었다고 하였으며[42,43], Cole 등은 *in vivo* 연구에서 구연산으로 치근면을 처치하면 신부착, 신생백악질 침착, 상피세포의 이주 억제, 치조골 재생에 의해 치주조직재생이 일어난다고 하였다[44].

Frank 등은 가성 치주낭을 가진 치은염 환자의 치아를 대상으로 외과적 수술과 함께 구연산을 처치하여 TEM으로 관찰한 결과, 치유 환경이 개선된다고 하였으나 결합조직 부착에 있어 2가지 형태가 관찰되었다고 한다[45]. 하나는 백악질의 형성없이 상아질에 직접 부착된 것이고, 다른 하나는 백악질 형성 후 부착된 것이다. 이는 구연산 처치가 완벽하게 믿을만한 임상시술방법이라고 할 수 없다고 생각된다.

치근면 처치를 위한 다른 화학용액으로 50㎎/㎖ 염산 테트라싸이클린 용액(pH 2)을 사용한 것을 실험2군으로 하였다. 50㎎/㎖의 농도를 사용하게 된 것은 김과 정의 염산 테트라싸이클린이 치근면에 미치는 효과에 대한 연구[46]에서 이 농도가 결합조직의 재부착에 유용한 탈회 효과와 치질에의 결합효과가 있다는 것에 근거한 것이다.

Baker는 테트라싸이클린이 상아질에 흡착하여 일정 시간 동안 생물학적으로 활동적인 상태로 항미생물 효과를 나타낸다고 하였으며[17], Wikesj 는 테트라싸이클린으로 상아질 표면을 처치하면 치근면은 활성상태의 항생제를 유리시킬 수 있는 저장소의 역할을 하여 48시간 동안 항미생물 효과를 가진 농도로 방출되며 치근활택시 생긴 도말층을 제거하고, 상아세관을 노출시키며 섬유상 표면을 형성한다고 하였다[19]. 또한 경조직과 연조직 계면에서 치유에 대한 결합조직 성분을 위해 개선된 기반 역할을 한다고 하였다. Madison 등은 테트라싸이클린 수용액으로 치근면을 처치하면 치근활택 시 생긴 도말층을 효과적으로 제거하고, 상아세관을 노출시킨다고 하였다[47]. 본 연구의 실험2군인 염산 테트라싸이클린 처치군에서 상아세관과

교원섬유가 노출된 것을 관찰할 수 있었으며 교원섬유의 노출 양상이 구연산 처치군과는 약간의 차이를 보여 돌출 양상을 나타내고 있었다(Figure 5). 그러나 이 결과는 테트라싸이클린 젤로 치근 탈회하면 치근면의 특성이 부드럽고 청결한 양상을 보인다고 한 최의 연구 결과[48]와는 차이를 보이는 것이다. 3000배 소견에서는 상아세관의 벽에 가느다란 섬유층이 관찰되었는데(Figure 6) 이 섬유층은 Ⅰ형 교원섬유로 여겨진다. Terranova 등에 따르면 테트라싸이클린으로 처치할 경우 Ⅰ형 교원섬유가 노출되고 fibronectin의 결합이 증가되며, 흡착된 fibronectin은 섬유아세포의 부착과 성장을 자극하여 치주 재생에 유리하다고 하였다[21]. Frantz, Polson은 테트라싸이클린 처치한 상아질이 탈회하지 않은 상아질에 비해 세포 이주와 부착이 더 많이 되었다고 하였다[20].

실험2군의 주사전자현미경적 소견에 있어 비특이적인 사각형의 결정구조가 관찰되는데(Figure 5), 이는 과포화된 혼합물에 의한 것으로 생각되며[47] 김과 정의 연구에서도 장사방형의 결정체를 관찰할 수 있다고 하였는데[46] 이는 완전히 용해되지 않은 염산 테트라싸이클린의 입자로 보이나 구체적인 화학성분을 파악해 낼 수는 없었다.

한편, 포화 구연산이나 테트라싸이클린으로 치근면을 처치한 경우에 있어 강한 산성에 의해 주위 치주조직에 골유착, 치근 흡수가 일어난다고 여겨질 수 있는 연구가 다수 보고되었다. Bogle 등은 개를 이용한 동물 실험에서 구연산으로 치근면 처치한 경우 매우 제한적인 재생을 보였고 치아 분지부에서는 골유착을 보인다고 보고하였으며[22], Gottlow 등은 beagle dog에 구연산을 도포하여 치아를 매식한 결과, 치주염 이환된 치근면의 탈회 유무에 상관없이 신생 결합조직의 부착이 없으며 광범위한 치근흡수만이 일어났다고 하였다[24]. 또한 Petterson 등은 GTR시행시 구연산을 처치한 경우 골유착, 치근 흡수가 대조군에 비해 더 많았다고 하였으며[25], Moore 등은 치주수술시 구연산을 처치한 것이 전통적인 수술과 비교시 치유에 있어 유의적인 차이를 보이지 않는다고 하였다[49]. 그리고, Wikesj 는 구연산과 테트라싸이클린의 효과를 비교하였는데 둘 다에서 결합조직 부착이 일어나긴 하였으나 골유착과 치근 흡수가 흔히 일어난다고 하였다[19,26].

Bloml f 등은 산성의 용액으로 3분 동안 치근면을 처치하면 치주조직의 치유에 손상을 주며 20초 동안 처치한 경우에는 낮은 pH에도 불구하고 상피세포의 하방 이동을 방지하여 결합조직의 형성을 촉진한다고 하였다[28].

그러나, 그 이후의 연구에 있어 Bloml f 등은 구연산이나 인산으로 처치한 경우에는 주위 치주조직에 즉각적인 괴사를 일으키지만 중성의 EDTA로 치근면을 처치하면 괴사를 일으키지 않으며[29], 구연산 처치시의 표층 괴사를 피하면서 생물학적 활성상태인 물질의 유지를 위해 상아질의 교원섬유 기질을 노출시킨다고 하였으며[30], Sarbinoff 등은 구연산, EDTA 등의 다양한 용액으로 치근면을 처치한 경우 구연산 등은 내독소에 아무런 영향을 주지 못하나 EDTA는 내독소를 부분적으로 제거한다고 하였다[50]. Pitaru 등은 EDTA(pH 7.4)가 섬유아세포의 부착, 이동을 촉진하며 탈회된 표면 사이에 정렬된 섬유 부착 시스템을 유도한다고 하였다[51,52]

따라서, 중성(pH 7)의 EDTA 용액을 사용하여 치근면을 탈회시킨 것을 실험3군으로 하였고 Bloml f 등이 다양한 농도의 EDTA를 이용하여 치주 질환에 이환된 치근면의 도말층 제거와 교원섬유 노출에 대한 효과를 연구한 결과, 15 24% 농도가 적정 농도라고 보고하였기에 이를 토대로 15%의 EDTA를 사용하였으며[53], Lasho 등의 연구[54]에서 제시한 방법으로 15% EDTA 용액을 제작하였다.

Liedal 등, Bloml f 등, Br nnstr m 등은 EDTA로 치근면을 처치하면 치근활택술 방법과 관계없이 도말층을 제거하며 교원섬유를 다

양한 정도로 노출시킨다고 하였고[7,27,55,56], Bloml f는 EDTA 처치가 선택적으로 교원섬유를 노출시키는 데에 월등하다고 하였으며, 도말층을 제거하고 상아세관 사이 표면은 잠재된 상아세관으로 연결되는 섬유성 그물구조를 형성하게 된다고 하였다[31,32]. 본 연구에서도 이와 일치된 소견을 보였는데 도말층은 완전히 제거되고 상아세관이 노출되었으며 그물상을 이루는 교원섬유의 노출이 그러하였다(Figure 7, 8). 이러한 결과는 Lasho 등의 연구 결과, 즉 구연산, EDTA 등의 다양한 용액으로 치근면을 각각 처치한 경우 구연산과 EDTA는 도말층을 완전히 제거하고 다수의 교원섬유를 노출시켰다는 것과 일치한다[54].

이상과 같이 강산성 용액 즉, 구연산, 염산 테트라싸이클린 용액, 중성의 EDTA 용액으로 치근면을 처치한 효과를 주사전자현미경으로 관찰, 비교한 결과, 3가지 실험군 모두에서 상아세관, 교원섬유의 노출이 관찰되었다. 그러나, 교원섬유의 노출 양상에서 차이를 보였으며 열린 상아세관의 수와 직경에 있어서도 차이가 있었다.

본 연구에서는 각 실험군 간의 노출되거나 인지 가능한 상아세관의 수를 비교하여 1000배 주사전자현미경 사진 소견에서 산정하였다. 산정시 단위면적은 10,640㎛^{2}으로 하였고, 인지 가능한 상아세관은 상아세관으로 추정되어지는 함몰부를 의미한다. 주사전자현미경으로 관찰 시 매우 좁은 시야만을 관찰하게 되므로 표준화하는 의미에서 관찰 부위를 시편의 중앙부위로 하였다. 대조군에서는 상아세관을 관찰할 수가 없어 실험군 간의 비교에서 제외시켰다. 실험 결과, 실험1군, 2군, 3군 간에는 통계적으로 유의한 수준($P<0.05$)의 차이가 있었고, 실험1군(포화 구연산 처치군)과 실험3군(EDTA 처치군) 사이에는 차이를 보이지 않았으며, 실험1군, 3군의 상아세관의 수가 실험2군(염산 테트라싸이클린 처치군)에 비해 유의성 있게 많았다($P<0.05$)(Table 2). 정상적인 평균 상아세관의 수가 법랑상아경계부에서는 15,000 20,000개/mm^2, 치수 근처에서는 45,000 65,000개/mm^{2}라는 Garberoglio 등의 연구[57]와 비교시 본 연구의 실험3군, 즉 EDTA 처치군의 상아세관의 수가 정상 상아세관의 수와 유사하였다.

또한, 각 실험군 간의 노출된 상아세관의 직경을 계측하여 비교하였는데 이것은 상아세관의 수를 산정한 부위와 동일한 부위에서 이루어졌다. 상아세관의 직경은 Garberoglio 등의 연구[57]에 의하면 치수 근처에서는 2.5㎛, 상아질의 중앙에서는 1.2㎛, 상아법랑경계에서는 0.9㎛인데 본 실험에서의 상아세관의 직경은 모두 1.95㎛이상으로 0.9㎛보다 확장된 소견을 보였다. 이는 이 3가지 용액 모두가 상아세관의 직경을 확장하는 데에 효과가 있음을 의미한다. 실험1군, 2군, 3군 간에는 통계적으로 유의한 수준($P<0.05$)의 차이가 있었고, 실험1군(포화 구연산 처치군)과 실험3군(EDTA 처치군) 사이에는 차이를 보이지 않았으며, 실험1군, 3군의 상아세관의 직경이 실험2군(염산 테트라싸이클린 처치군)에 비해 유의성 있게 작았다($P<0.05$)(Table 3). 상아세관의 과도한 확장이 치주 주위 조직의 교원섬유의 삽입에 어떠한 영향을 미칠지는 알 수 없었다.

본 연구에서 3가지의 화학 용액, 즉 강산성 용액인 구연산, 염산 테트라싸이클린 용액과 중성의 EDTA 용액을 사용하여 치근면을 처치한 효과를 주사전자현미경으로 관찰, 비교하였다. 그 결과, EDTA 용액을 사용한 실험군이 염산 테트라싸이클린을 사용한 실험군보다 나은 효과를 보였으며 구연산 용액을 사용한 실험군과는 차이가 보이지 않았으므로 주위 치주조직의 생활력에 악영향을 줄 수 있는 강산성의 용액을 사용하기보다는 중성의 EDTA 용액을 사용하는 것이 좋음을 시사하였다.

향후에는 다양한 농도의 EDTA 용액의 효과

를 비교하여 더 표준화되고 적절한 농도를 결정할 수 있어야 하겠으며 임상실험 등의 체계적이고 광범위한 연구가 필요하리라 생각된다. 그리고, 다른 여러 가지 치주치료, 예를 들어 치주조직 재생술, 골이식술 등과 병행한 효과에 대한 연구도 필요하리라 사료된다.

V. 결 론

치주질환에 이환된 치아의 재생을 위한 치근면 탈회와 교원섬유의 노출을 얻기 위해 치주질환에 이환된 치아를 실험 대상으로 하여 치근활택술 시행 후 생리 식염수 처치(대조군), 구연산 처치(실험1군), 염산 테트라싸이클린 처치(실험2군), 15% EDTA 용액 처치(실험3군)하여 주사전자현미경으로 관찰한 결과 다음과 같은 결론을 얻었다.

1. 생리 식염수 처치군(대조군)에서 미세한 균열의 양상을 보이며 도말층이 불규칙적인 층판 모양으로 관찰되었다. 상아세관이나 그에 상응하는 함몰부는 보이지 않았다.
2. 구연산 처치군(실험1군)에서 상아세관 주위에 구형의 교원섬유가 노출되어 있으며 다수의 열려진 상아세관이 관찰되었다.
3. 염산 테트라싸이클린 처치군(실험2군)에서 상아세관 주위에 약간의 돌출이 있는 교원섬유가 노출되어 있으며 명확히 열린 상아세관의 입구를 관찰할 수 있었다.
4. 15% EDTA 용액 처치군(실험3군)에서 그물상을 이루는 방사상 모양의 교원섬유가 노출된 양상을 보이며 그 사이사이에 다수의 상아세관이 노출되어 있었다.
5. 노출된 상아세관의 수에 있어 생리식염수 처치군(대조군)에서는 상아세관을 관찰할 수가 없어 그 수를 산정할 수 없었으며, 구연산 처치군(실험1군)과 EDTA 처치군(실험3군)이 염산 테트라싸이클린 처치군(실험2군)에 비해 유의성 있게 많았으나($P<0.05$), 구연산 처치군(실험1군)과 EDTA 처치군(실험3군) 사이에서는 통계적 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.
6. 노출된 상아세관의 직경에 있어 생리식염수 처치군(대조군)에서는 상아세관을 관찰할 수가 없어 그 직경을 산정할 수 없었으며, 구연산 처치군(실험1군)과 EDTA 처치군(실험3군)이 염산 테트라싸이클린 처치군(실험2군)에 비해 유의성 있게 작았으나($P<0.05$), 구연산 처치군(실험1군)과 EDTA 처치군(실험3군) 사이에서는 통계적 유의성 있는 차이를 보이지 않았다.

이상과 같은 결과는 생리 식염수로 처치하는 방법에 비해 구연산, 염산 테트라싸이클린, EDTA로 탈회하는 방법이 치근활택술 시행 후의 치근면 처치에 있어 비슷한 효과를 나타내며, 15% EDTA로 처치하는 방법이 구연산이나 염산 테트라싸이클린과 같은 강산성 용액으로 처치하는 방법을 대체할 수 있으리라 생각되어 진다.

VI. 참고문헌

1. Aleo, J.J., Renzis, F.A., and Farber, P.A. : In vitro attachment of human gingival fibroblasts to root surfaces, J. Periodontol., 46:639 - 645, 1975.
2. Aleo, J.J., Renzis, F.A., Farber, P.A. and Varboncoeur, A.P. : The presence and biologic activity of cementum - bound endotoxin, J. Periodontol., 45:672 - 675, 1974.
3. Selvig, K.A., and Hals, E. : Periodontally diseased cementum studied by correlated microradiography,

electron probe analysis and electron microscopy, J. Periodont. Res., 12:419 - 429, 1977.

4. Daly, C.G., Seymour, G.J., Kieser, J.B., and Corbet, E.F. : Histological assessment of periodontally involved cementum, J. Clin. Periodontol., 9:266 - 274, 1982.
5. Zander, H.A. : The attachment of calculus to root surfaces, J. Periodontol., 24:16 - 19, 1953.
6. 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.
7. Fialkoff, B., and Fry, H.R. : Acid demineralization in periodontal therapy: A review of the literature, J. West. Soc. Periodont., 30:52 - 62, 1982.
8. Lowenguth, R.A., and Blieden, T.M. : Periodontal regeneration: Root surface demineralization, Periodontology 2000, 1:54 - 68, 1993.
9. Garrett, J.S., Crigger, M., and Egelberg, J. : Effects of citric acid on diseased root surfaces, J. Periodont. Res. 13:155 - 163, 1978.
10. Register, A.A., and Burdick, F.A. : Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized *in situ*: II. Defect repair, J. Periodontol., 47:497 - 505, 1976.
11. Boyko, G.A., Brunette, D.M., and Melcher, A.H. : Cell attachment to demineralized root surfaces *in vitro*, J. Periodont. Res., 15:297 - 303, 1980.
12. Ririe, C.M., Crigger, M., and Selvig, K.A. : Healing of periodontal connective tissues following surgical wounding and application of citric acid in dogs, J. Periodont. Res., 15:314 - 327, 1980.
13. Register, A.A., and Burdick, F.A. : Accelerated reattachment with cementogenesis to dentin, demineralized *in situ*: I. Optimum range, J. Periodontol., 46:646 - 655, 1975.
14. Melcher, A.J. : On the repair potential of periodontal tissue, J. Periodontol., 47:256 - 260, 1976.
15. Larjava, H., Salonen, J., H kkinen, L., and N rhi, T. : Effect of citric acid treatment on the migration of epithelium on root surfaces *in vitro,* J. Periodontol., 59:95 - 99, 1988.
16. Gordon, J.M., Walker, C.B., Murphy, J.C., Goodson, J.M., and Socransky, S.S : Concentration of tetracycline in human gingival fluid after single doses, J. Clin. Periodontol., 8:117 - 121, 1981.
17. Baker, P.J., Evans, R.T., Coburn, R.A., and Genco, R.J. : Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from tooth surface in active form, J. Periodontol., 54:580 - 585, 1983.
18. Baker, P.J., Evans, R.T., Slots. J., and Genco, R.J. : Susceptibility of human oral anaerobic bacteria to antibiotics suitable for topical use, J. Clin. Periodontol., 12:201 - 208, 1985.
19. Wikesj U.M.E., Baker, P.J., Christersson, L.A., and Genco, R.J., Lyall, R.M., Hic, S., DiFlorio, R.M., and Terranova, V.P. : A biochemical approach to periodontal regeneration: Tetracycline treatment conditions dentin surfaces, J. Periodont. Res., 21:322 -

329, 1986.
20. Frantz, B.J., and Polson, A.M. : Tissue interactions with dentin specimens after demineralization using tetracycline, J. Periodontol., 59:714 - 721, 1988.
21. Terranova, V.P., Franzetti, L.C., Hic, S., DiFlorio, R.M., Lyall, R.M., Wikesj U.M.E., Baker, P.J., Christersson, L.A., and Genco, R.J. : A biochemical approach to periodontal regeneration: Tetracycline treatment of dentin promotes fibroblast adhesion and growth, J. Periodont. Res., 21:330 - 337, 1986.
22. Bogle, G., Adams, D., Crigger, M., Klinge, B., and Egelberg, J. : New attachment after surgical treatment and acid conditioning of roots in naturally occurring periodontal disease in dogs, J. Periodont. Res., 16:130 - 133, 1981.
23. Bogle, G., Claffey, N., and Egelberg, J. : Healing of horizontal circumferential periodontal defects following regenerative surgery in beagle dogs, J. Clin. Periodontol., 12:837 - 849, 1985.
24. Gottlow, J., Nyman, S., and Karring, T. : Healing following citric acid conditioning of roots implanted into bone and gingival connective tissue, J. Periodont. Res., 19:214 - 220, 1984.
25. Pettersson, E.C., and Aukhil, I. : Citric acid conditioning of roots affects guided tissue regeneration in experimentalal periodontal wounds, J. Periodont. Res., 21:543 - 552, 1986.
26. Wikesj U.M.E., Claffey, N., Christersson, L.A., Franzetti, L.C., Genco, R.J., Terranova, V.P. and Egelberg, J. : Repair of periodontal furcation defects in beagle dogs following reconstructive surgery including roots surface demineralization with tetracycline hydrochloride and topical fibronectin application, J. Clin. Periodontol., 15:73 - 80, 1988.
27. Bloml f, J.P.S., Bloml f, L.B., and Lindskog, S.F. : Smear layer formed by different root planing modalities and its removal by an Ethylene - diaminetetraacetic Acid gel preparation, Int. J. Periodon. Rest. Dent., 17:243 - 249, 1997.
28. Bloml f, J.P.S., Jansson, L., Bloml f, L.B., and Lindskog, S.F. : Long-time etching at low pH jeopardizes periodontal healing, J. Clin. Periodontol., 22:459 - 463, 1995.
29. Bloml f J.P.S., and Lindskog, S.F. : Periodontal tissue - vitality after different etching modalities, J. Clin. Periodontol., 22:464 - 468, 1995.
30. Bloml f, J.P.S., Jansson, L,. Bloml f, L.B., and Lindskog, S.F. : Root surface etching at neutral pH promotes periodontal healing, J. Clin. Periodontol., 23:50 - 55, 1996.
31. Bloml f, J.P.S. : Root cementum appearance in healthy monkeys and periodontitis - prone patients after different etching modalities, J. Clin. Periodontol., 23:12 - 18, 1996.
32. Bloml f, J.P.S., Bloml f, L.B., and Lindskog, S.F. : Smear removal and collagen exposure after non - surgical root planing followed by etching with an EDTA gel preparation, J. Periodontol., 67:841 - 845, 1996.

33. Sthal, S.S. : The nature of healthy and diseased root surfaces, J. Periodontol., 46:156 - 161, 1975.
34. Coldiron, N.B., Yukna, R.A., Weir, J., and Caudill, R.F. : A quantitative study of cementum removal with hand curettes, J. Periodontol., 61:293 - 299, 1990.
35. Nishmine, D., and O'Leary, T.J. : Hand instrumentation versus ultrasonics in removal of endotoxins from root surfaces, J. Periodontol., 50:345 - 349, 1979.
36. Jones, S.J., Lozdan, J., and Boyde, A. : Tooth surfaces treated *in situ* with periodontal instruments: Scanning elec -

tron microscopic studies, British Dental Journal 132:57 - 65, 1972.
37. Pameijer, C.H., Stallard, R.E., and Hiep, N. : Surface characteristics of teeth following periodontal instrumentation: A scanning electron microscope study, J. Periodontol., 43:628 - 633, 1972.
38. 김영찬, 이만섭, 권영혁, 장영명 : 치주질환 이환치근면 탈회에 Hyaluronidase 가 미치는 영향에 관한 주사전자 현미경적 연구, 대한치주과학회지, 20:251 - 261, 1990.
39. 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., 55:443 - 446, 1984.
40. Polson, A.M., and Proye, M.P. : Effect of root surface alterations on periodontal healing: II. Citric acid treatment of the denuded root, J. Clin. Periodontol., 9:441 - 454, 1982.
41. Crigger, M., Bogle, G., Nilveus, R., Egelberg, J., and Selvig, K.A. : The effect of topical citric acid application on the healing of experimentalal furcation defects in dogs, J. Periodont. Res., 13:538 - 549, 1978.
42. Nilv us, R., Bogle, G., Crigger, M., Egelberg, J., and Selvig, K.A. : The effect of topical citric acid application on the healing of experimentalal furcation defects in dogs: II. Healing after repeated surgery, J. Periodont. Res., 15:544 - 550, 1980.
43. Nilv us, R., and Egelberg, J. : The effect of topical citric acid application on the healing of experimentalal furcation defects in dogs: III. The relative importance of coagulum support, flap design and systemic antibiotics, J. Periodont. Res., 15:551 - 560. 1980.
44. Cole, R.T., Crigger, M., Bogle, G., Egelberg, J., and Selvig, K.A. : Connective tissue regeneration to periodontally diseased teeth: A histological study, J. Periodont. Res., 15:1 - 9, 1980.
45. Frank, R.M., Fiore - Donno, G., and Cimasoni, G. : Cementogenesis and soft tissue attachment after citric acid treatment in a human: An electron microscopic study, J. Periodontol., 54:389 - 401, 1983.
46. 김기병, 정현주 : Tetracycline - HCl이 치근면에 미치는 효과에 관한 연구, 대한 치주과학회지, 18:113 - 127, 1988.
47. Madison, J.G.,III, and Hokett, S.D. : The effects of different tetracyclines on the dentin root surface of instrumented, periodontally involved human teeth: A comparative scanning electron microscopic study, J. Periodontol., 68:739 - 745, 1997.
48. 최광춘 : 테트라싸이클린 젤 및 구연산함유 테트라싸이클린 젤의 도포가 치주 염에 이환된 치근 표면에 미치는 영향에 관한 실험 연구, 대한치주과학회지 23:219 - 227, 1993.
49. Moore, J.A., Ashley, F.P., and Waterman, C.A. : The effect on healing of the application of citric acid during replaced flap surgery, J. Clin. Periodontol., 14:130 - 135, 1987
50. Sarbinoff, J.A., O'Leary, T.J., and Miller, C.H. : The comparative effectiveness of various agents in detoxifying diseased root surfaces, J. Periodontol., 54:77 - 80, 1983.
51. Pitaru, S., Gray, A., Aubin, J.E., and Melcher, A.H. : The influence of the morpho -

사진부도

Figure 1(×1000)

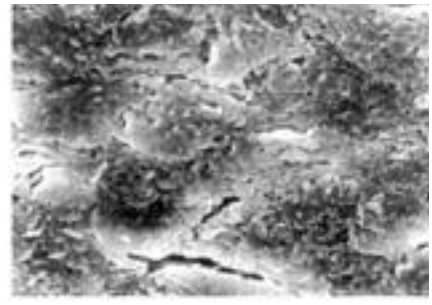

Figure 2(×1000)

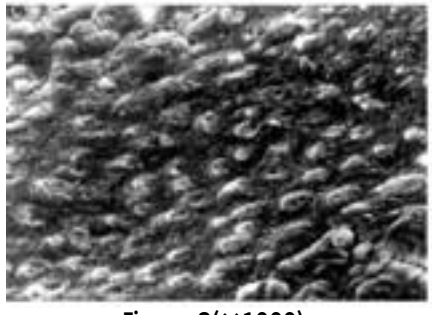

Figure 3(×1000)

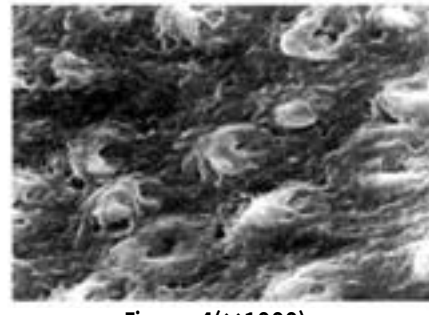

Figure 4(×1000)

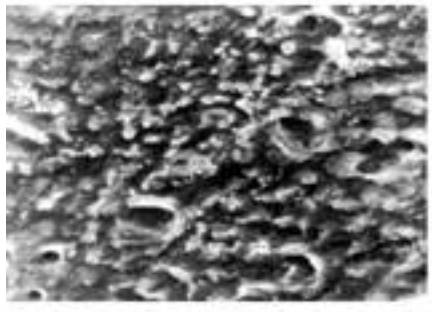

Figure 5(×1000)

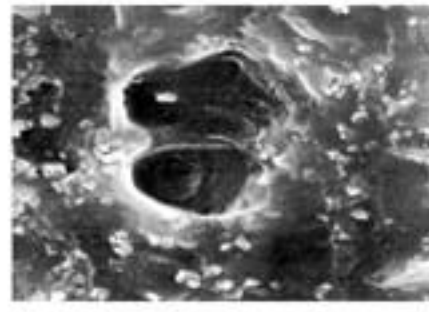

Figure 6(×1000)

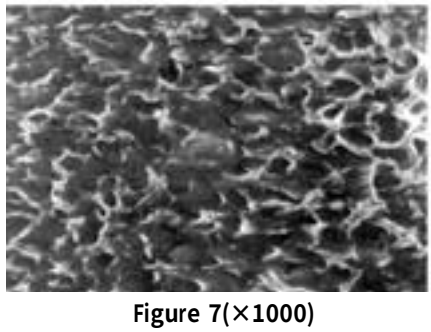

Figure 7(×1000)

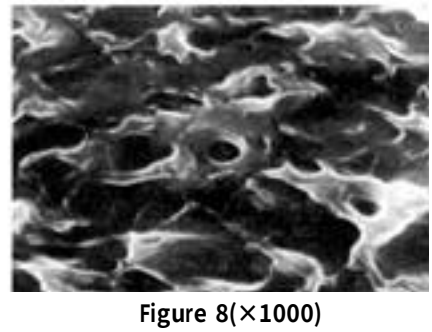

Figure 8(×1000)

logical and chemical nature of dental surfaces on the migration, attachment, and orientation of human gingival fibroblasts *in vitro*, J. Periodont. Res., 19:408 - 418, 1984.

52. Pitaru, S., and Melcher, A.H. : Organization of an oriented fiber system *in vitro* by human gingival fibroblasts attached to dental tissue: Relationship between cells and mineralized and demineralized tissue, J. Periodont. Res., 22:6 - 13, 1987.

53. Bloml f, J.P.S., Bloml f, L.B., and Lindskog, S.F. : Effect of different concentrations of EDTA on smear removal and collagen exposure in periodontitis - affected root surfaces, J. Clin. Periodontol., 24:534 - 537, 1997.

54. Lasho, D.J., O'Leary, T.J., and Kafrawy, A.H. : A scanning electron microscopic study of the effects of various agents on instrumented periodontally involved root surfaces, J. Periodontol., 54:210 - 220, 1983.

55. Br nnstr m, M., Nordenvall, K.J., and Glantz, P.O. : The effect of EDTA - containing surface - active solutions on the morphology of prepared dentin: An *in vivo* study, J. Dent. Res., 59:1127 - 1131, 1980.

56. Leidal, T.I., and Eriksen, H.M. : A scanning electron microscopic study of the effect of various cleansing agents on cavity walls *in vitro*, Scand. J. Dent. Res., 87:443 - 449, 1979.

57. Garberoglio, R., and Br nnstr m, M. : Scanning electron microscopic investigation of human dentinal tubules, Arch. Oral. Biol., 21:355 - 362, 1976

사진부도 설명

Figure 1. The specimen applied with normal saline shows that the root surface was finely cracked, and was covered by irregular smear layer(×1000).

Figure 2. The specimen applied with normal saline shows that the root surface was covered by irregular smear layer. Neither exposed dentinal tubules nor any patent dentinal tubules could be seen(×3000).

Figure 3. The specimen applied with saturated citric acid(pH 1) shows that the globular collagen fibers were exposed around the peritubular space and many dentinal tubules were revealed(×1000).

Figure 4. The specimen applied with saturated citric acid(pH 1) shows that many dentinal tubules were exposed and the patent dentinal tubules were covered by the globular collagen fibers. The intertubular zone was appeared as the soft, flat and mat-like structure(×3000).

Figure 5. The specimen applied with 50㎎/㎖ tetracycline-HCl shows that the process-like collagen fibers were exposed around the peritubular space and some dentinal tubules were revealed(×1000).

Figure 6. The specimen applied with 50㎎/㎖ tetracycline-HCl shows the exposed dentinal tubules which were definitely open and surrounded by fine fibers. The unidentified crystals were around the intertubular space(×3000).

Figure 7. The specimen applied with 15% EDTA shows that the root surface was covered by the collagenous fibrillar network, and many dentinal tubules were revealed(×1000).

Figure 8. The specimen applied with 15% EDTA shows the opened dentinal tubule which was surrounded by the cotton-like collagen fibers. And the fibers made the network-like structure(×3000).

Key words: periodontal regeneration, root conditioning, EDTA, dentinal tubule, collagen fiber

- Abstract -

The Effect of EDTA, Tetracycline - HCl, and Citric Acid on Diseased Root Surfaces: The SEM Study

Seong - Hee Ahn, Jung - Kiu Chai, Chong - Kwan Kim, Kyoo - Sung Cho
Dept. of Periodontology, Research Institute for Periodontal Regeneration,
College of Dentistry, Yonsei University

The goal of periodontal therapy is the periodontal regeneration by the removal of microorganisms and their toxic products from the periodontally diseased root surface. To achieve periodontal regeneration, root conditioning as an adjunct to root planing has been done. There are low pH etchants such as citric acid, tetracycline - HCl, and EDTA solution which is a neutral chelating agent. The purpose of present study was to examine the effect of root conditioning by citric acid, tetracycline HCl, and EDTA. Total 35 root specimens(6×3×2㎜) were prepared from the periodontally diseased teeth, scaled and root planed. The specimens were treated with normal saline for 1 minute, saturated citric acid(pH 1) for 3 minutes, 50㎎/㎖ tetracycline - HCl(pH 2) for 5 minutes, 15% EDTA(pH 7) for 5 minutes using rubbing technique. The specimens were examined under scanning electron microscopy at 1000, and 3000 magnification. On the microphotographs taken at 1000 magnification, the numbers of opened and patent dentinal tubules per unit area(10,640㎛²) were counted. And the diameters of opened dentinal tubules per unit area(10,640㎛²) were measured. The differences of number and diameter among all groups were statistically analyzed by Kruskal Wallis Test.

The results were as follows;

1. In the specimens applied with normal saline(control group), the root surface was finely cracked, and was covered by irregular smear layer. Neither exposed dentinal tubules nor any patent dentinal tubules could be seen.
2. In the specimens applied with saturated citric acid(experimental 1 group), the globular collagen fibers were exposed around the peritubular space, and many dentinal tubules were revealed.
3. In the specimens applied with tetracycline - HCl(experimental 2 group), the process - like collagen fibers were exposed around the peritubular space, and some dentinal tubules were revealed.
4. In the specimens applied with 15% EDTA(experimental 3 group), the root surface was covered by the collagenous fibrillar network, and many dentinal tubules were revealed.
5. The numbers of opened and patent dentinal tubules were significantly more in exp. 1 group and exp. 3 group than in exp. 2 group($P<0.05$). But there was no significant difference between exp. 1 group and exp. 3

group. In control group, the number of opened and patent dentinal tubules could not be counted because any dentinal tubules couldn't be seen.

6. The diameter of opened dentinal tubules was significantly smaller in exp. 1 group and exp. 3 group than in exp. 2 group($P<0.05$). But there was no significant difference between exp. 1 group and exp. 3 group. In control group, the diameter of opened dentinal tubules could not be measured because any dentinal tubules couldn't be seen.

The results demonstrate that root conditioning with citric acid, tetracycline - HCl, and EDTA is more effective in periodontal healing than only root planing, and 15% EDTA solution can replace low pH etching agents such as citric acid, tetracycline - HCl for root conditioning.