

분자체 모델을 이용한 수종의 수산화칼슘 제재의 이온 용출에 관한 연구

이경선 · 박광균 · 유윤정 · 이승종
연세대학교 대학원 치의학과

ABSTRACT

A STUDY OF IONIC DISSOCIATION ON VARIOUS CALCIUM HYDROXIDE PASTES USING MOLECULAR SIEVING MODEL

Kyoung-Sun Lee D.D.S., M.S.D., Seung-Jong Lee, D.D.S., M.S.D., M.S., Ph D.
Department of Dentistry, The graduate School, Yonsei University

The purpose of this study was two-fold. First was to evaluate whether the molecular sieving model was appropriate for ionic dissociation experiment. Second was to compare the dissociation of calcium and hydroxyl ions from five types of calcium hydroxide pastes (Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing[®], Metapaste[®], Chidopex[®], Metapex[®]) in three vehicles (aqueous, viscous and oily) and the antibacterial effect.

Each calcium hydroxide pastes was placed into 0.65ml tube with cap and then 15% polyacrylamide gel was placed onto calcium hydroxide pastes. After the gel was hardened, the tubes were filled with tridistilled water (pH 7.14) and closed with cap. The tubes were stored in 37°C, 100% incubator. The pH reading and the concentration of calcium ions were taken at 1, 4, 7, 10, and 14 days. The brain heart infusion agar plates with *S. mutans* and *A. actinomycetemcomitans* were used for antibacterial activity test. Middle of agar plate was filled with the calcium hydroxide pastes. The plates were incubated at 37°C and observations were made to detect the zones of inhibition. These data were evaluated statistically by use of the analysis of variance and duncan test.

The results were as follows.

1. In fresh mixing state, the pH of five types of calcium hydroxide pastes were measured between 12.5 and 12.8.
2. The pH was increased in all five types of calcium hydroxide pastes compared with control group. In 14 days, Pure calcium hydroxide paste (11.45) and DT temporary dressing[®] (11.33) showed highest pH, followed by Metapaste[®] (9.49), Chidopex[®] (8.37) and Metapex[®] (7.59).
3. Calcium was higher in all five types of calcium hydroxide pastes compared with control group. In 14 days, Pure calcium hydroxide paste (137.29 mg%) and DT temporary dressing[®] (124.6 mg%) showed highest value, followed by Metapaste[®] (116.74 mg%), Chidopex[®] (111.84 mg%) and Metapex[®] (60.22 mg%).
4. The zones of bacterial inhibition were seen around all five types of calcium hydroxide pastes. Chidopex[®] and Metapex[®] groups which include iodoform were observed significantly larger zone of inhibition in *A. actinomycetemcomitans* compared with the other calcium hydroxide groups ($p < 0.05$). However, Metapex[®] showed the least antibacterial effect on *S. mutans* compared with other groups ($p < 0.05$).

The molecular sieving model was found to be acceptable in dissociation experiment of hydroxyl and calcium ions when compared with the previous tooth model study. But this model was not appropriate for the antibacterial test.

Key words : molecular sieving model, calcium hydroxide, hydroxyl ion, calcium ion, pH, antibacterial effect

*본 연구는 2001년도 연세대학교 치과대학 연구비 지원에 의하여 이루어진 것임.

I. 서 론

수산화칼슘($\text{Ca}(\text{OH})_2$)은 1930년대에 치과 영역에 처음으로 소개된 이래 임상에서 치수 복조, 치수 절단, 치근침 형성 유도³⁾, 근관 내 소독⁴⁾, 지속적인 삼출물 조절⁷⁾ 그리고 치아 재식 후의 치근 흡수 치료⁸⁾ 등 다양하게 이용되어 왔다^{9,10)}. 특히 염증성 치근 흡수 치료에 우수한 영향을 보이는데^{11,12)} 이 작용 기전은 아직 명확하게 밝혀지지 않았으나 칼슘과 수산화 이온이 관련된 것으로 알려졌다^{13,14)}.

Tronstad 등¹³⁾은 근관 내에 있는 수산화칼슘의 수산화 이온이 상아세관을 통하여 확산되어 치근 주위 pH를 증가시켜 알칼리성 환경을 조성하고, 결과적으로 높아진 pH는 세균을 죽이고 파골 세포의 활성을 억제한다고 하였다. 또한 Hammarström 등¹⁴⁾도 수산화 이온이 주변 조직의 산성 환경을 알칼리 환경으로 바꾸어 골 형성을 돕고, 칼슘은 Ca^{2+} dependent adenosine triphosphatase를 활성화시켜 경조직 형성을 촉진시킨다고 기술하여 칼슘의 중요성을 보고 하였다. 이에 대해 Fuss 등¹⁵⁾은 무수치 표백치아 근관 내에 수산화칼슘을 넣고 관찰한 결과, 치근면에서 pH의 변화가 없음을 보고하여 칼슘과 수산화 이온 관련을 반박하였으며 Wang 등¹⁶⁾은 pH 변화가 없는 이유를 상아질의 hydroxyapatite가 OH 완충 역할을 하기 때문이라고 설명하였다.

Javalet 등¹⁷⁾은 원숭이의 치근침 형성 유도를 위하여 $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (pH 11.8)와 CaCl_2 (pH 4.4)를 근관 내에 채운 결과, $\text{Ca}(\text{OH})_2$ 군에서만 경조직 형성을 관찰하여 칼슘이 아닌 수산화 이온이 경조직 형성을 유도한다고 하였으며, Kawakami¹⁸⁾는 ⁴⁵Ca-labeled 수산화칼슘을 이용하여 경조직 침착을 유도하는데 있어서 수산화칼슘 자체성분의 칼슘이 아닌, 체내에 있는 칼슘으로부터 경조직이 침착 됨을 보고하였다.

Foster 등¹⁹⁾은 수산화칼슘이 근관으로부터 치근 외면으로 확산됨을 보고하였는데 특히 근관 내 도말층을 제거한 경우에 확산이 더 잘됨을 보고²⁰⁾하였으며 Nerwich²¹⁾은 치근 상아질의 치경부가 근단부 보다 더 빨리 확산된다고 하였는데 이 확산의 차이는 상아세관의 직경, 상아세관의 수, 용매가 침투하는 상아세관의 표면 장력의 차이로 설명하였다.

칼슘과 수산화 이온의 확산은 수산화칼슘을 녹이는 용매와도 영향이 있다. 지금까지 수산화칼슘의 효과를 증진시키기 위해 다양한 용매에 녹여 항균작용^{22,24)}, 방사선 불투과성^{25,26)}, 점도와 흐름성^{27,28)}을 비교 평가하는 연구가 활발히 진행되어 왔다. Fava²⁹⁾에 따르면 이상적인 용매는 첫째, Ca^{2+} 과 OH 이온을 서서히 유리시키고 둘째, 주위 조직액에 천천히 확산되고 낮은 용해성을 가져야 하며 마지막으로 경조직 침착 유도에 방해가 되지 말아야 한다고 하였다.

현재 사용되고 있는 수산화칼슘 제제는 수용성 (aqueous), 점액성 (viscous), 유성 (oily)의 세 종류로 분류할

수 있다. 수용성 제제 (aqueous vehicle)는 물에 잘 녹고 칼슘과 수산화 이온이 빨리 유리되며 조직에 접촉시 빠르게 용해가 되는데 대표적인 제품으로는 Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing³⁰⁾이 있다. 점액성 제제 (viscous vehicle)는 물에 잘 녹으나 칼슘과 수산화 이온이 서서히 유리되며 수용성 제제보다 조직액에 대한 용해도가 낮고 대표적으로 polypropylene glycol을 용매로 한 Metapaste³¹⁾, Chidopex³²⁾가 시판되고 있다. 마지막으로 유성 용매 (oily vehicle)는 물에 녹지 않고 가장 낮은 조직 용해도를 가지고 있으며 현재 Metapex³³⁾와 Vitapex³⁴⁾의 상품명으로 임상에서 사용되고 있다.

Anthony³⁰⁾는 수산화칼슘의 pH에 대한 용매의 영향에 대해 연구하여 camphorated monochloro phenol (CMCP)이 cresatin, saline 보다 우수함을 보고하였으나 Simon³¹⁾은 칼슘 이온 확산과 pH 변화에 대한 4가지 용매 (물, 식염수, CMCP, propylene glycol)를 비교한 결과 propylene glycol이 가장 우수하다고 보고하였으며 propylene glycol이 조직에 대한 자극이 적으면서 항균 작용이 우수하였다고 보고하였다.

지금까지의 연구는 주로 수산화칼슘 제제에서 유리되는 수산화 이온의 영향으로 높아진 pH가 alkaline phosphatase activity (적정 pH는 10.0-10.2)를 증가시키고 경조직 형성을 유도한다는 기전³²⁾에 관심이 집중되었으나 결과적으로 높아진 pH가 치근 주위 정상 세포에 미칠 수 있는 영향에 대해서는 고려하지 않았으며 경조직 형성을 유도할 수 있는 칼슘 농도의 적정량에 대한 연구도 없었다. 이에 Lengheden 등³⁵⁾은 탈구된 치아를 재식한 후, 즉시 수산화칼슘으로 근관을 충전한 경우 건강한 치주 인대에서는 정상 치유를 보이는 반면에, 손상된 치주 인대 부위는 대체성 치근 흡수를 동반한 골유착 (ankylosis)이 나타남을 관찰하였고, Lengheden 등³⁶⁾은 원숭이 실험에서, 탈구된 치아를 재식한 후, 3주 후에 근관 치료(Delayed calcium hydroxide treatment)를 시작하고 수산화칼슘 제제를 각각 3주, 5주간 넣어둔 결과, 5주 동안 넣어둔 치아에서 대체성 치근 흡수가 3배정도 많이 일어남을 보고하였다. 또한, Lengheden 등³⁷⁾은 치주 인대 세포 (periodontal ligament cell)의 성장과 부착 (attachment)에 pH와 칼슘이 미치는 영향을 연구한 결과, 7.8 이상의 pH에서 세포의 성장과 부착이 감소함을 밝혀냈으며 칼슘 농도보다 pH가 치주 인대 세포의 성장 및 부착에 더 많은 영향을 준다고 하였으며 Lengheden 과 Jansson³⁸⁾도 실험적으로 유도된 손상의 치유 (experimental wound healing)에서 치주 인대 섬유 세포가 pH 7.8 이상의 환경에서는 DNA 합성 및 세포이주 (migration)가 감소함을 보고하여 Lengheden³⁹⁾의 연구를 뒷받침하였다.

건강한 치근 백악질은 세균과 감염된 근관 내의 부산물에

대한 방어벽을 가지고 있지만 손상된 백악질은 세균의 부산물 뿐 아니라 근관 내 약제도 상아세관을 통하여 치주 인대 세포에 도달할 수 있다. 따라서 손상된 백악질을 가진 치아에서는 근관 내에 충전된 수산화칼슘 제재에서 유리되는 수산화 이온이 치근 외면으로 확산되어 치주 인대 세포의 부착에 부정적인 영향을 줄 수 있으므로 3가지 용매에 따른 수산화칼슘 제재의 수산화 이온의 평가가 필요하다.

지금까지의 연구는 사람이나 소, 원숭이의 치아에서 수산화칼슘의 pH 변화 및 칼슘 농도를 측정하였다. 그러나 각 치아마다의 차이³⁶⁾ 즉, 상아질의 투과도, 상아세관의 직경, 상아세관의 수, 도말층의 잔존 상태, 백악질 두께에 따른 영향을 배제할 수는 없었다. 이에 저자는 치아 모델에서의 문제점을 해결할 수 있는 분자체 모델을 제작하여 첫째, 분자체 모델이 수산화 이온과 칼슘 이온의 용출 실험에 적합한지를 평가하고 둘째, 분자체 모델을 이용하여 현재 상품화된 5종의 수산화칼슘 제재 (Pure Calcium hydroxide paste, DT temporary dressing[®], Metapaste[®], Chidopex[®], Metapex[®])의 pH 변화, 칼슘 농도 및 항균작용을 비교 분석하여 이를 임상에 응용하고자 하였다.

II. 연구 재료 및 방법

1. 분자체 모델 제작

마개가 있는 0.65 ml tube (Labcon, San rafael, CA 94901 U.S.A)에 5종의 수산화칼슘 제재 50μl를 넣고 그 위에 15% 아크릴 아마이드 젤 200μl를 넣었다. 젤이 경화된 후 삼차 증류수 (pH 7.14) 300μl를 채운 후 마개를 덮고 37°C, 100% 항온 항습기 (Forma Scientific, Inc.

Ohio, USA)에 보관하였다.

2. 연구 재료

수용성 제재인 PCH (Pure calcium hydroxide paste, Junsei chemical Co. Ltd, Japan)와 DT (DT temporary dressing[®], Dental Therapeutics AB Nacka, Sweden), 점액성 제재인 MTP (Metapaste[®], Meta Biomed. Ltd, Korea)와 CHP (Chidopex[®], Meta Biomed. Ltd, Korea) 그리고 유성 제재인 MTX (Metapex[®], Meta Biomed. Ltd, Korea)의 5종류의 수산화칼슘을 사용하였으며 수산화칼슘을 넣지 않은 균을 대조군 (control)으로 하였다.

3. pH 측정

각 실험군 당 20개씩 총 100개의 표본을 제작하여 1, 4, 7, 10, 14일에 pH를 측정하였으며 대조군으로 5개의 표본을 측정하였다. Digital pH meter (Orion Research, Inc. Beverly, USA)로 combined pH electrode (직경 5mm)를 수산화 이온이 용출된 증류수 (tube 직경 7.5mm)에 위치하고 pH를 측정하였다. pH 측정이 끝난 후 2% methylene blue (Shinyo chemical Co. Japan)로 젤의 미세 누출을 평가하여 미세 누출이 있는 5개 표본은 제외하고, 새로운 표본으로 보충하였다.

또한 실험에 사용된 5종의 수산화칼슘 제재 50μl를 500μl의 증류수 (Metapex[®] 균은 alcohol)와 혼합하여 용출 실험 전의 pH를 별도로 측정하였다.

Table 1. The solutions for preparing 15% polyacrylamide gel (10ml)

Components	Volume (ml)
H ₂ O	2.4
30% acrylamide mix	5
1.5M Tris (pH 6.53)	2.5
10% ammonium persulfate	0.1
TEMED	0.004

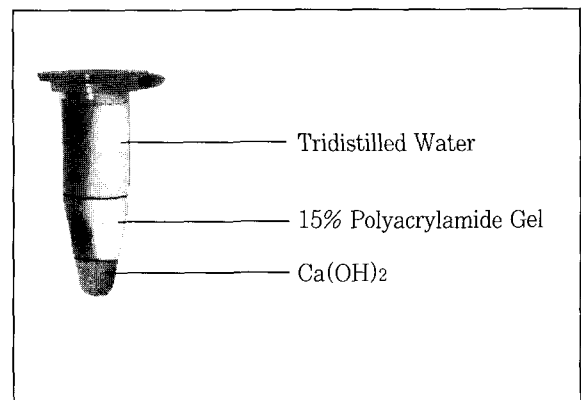


Fig. 1. Molecular sieving model using 15% polyacrylamide gel

Table 2. The components of the calcium hydroxide paste(%)

Ratio(%)	aqueous vehicle		viscous vehicle		oily vehicle	
	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	control
Calcium Hydroxide	50	N/A	40	40	37	
Iodoform				20	36	
Barium Sulfate			25			
Polypropylene glycol			35	40		
Silicone oil					27	
Aqua (D.W)	50	N/A				

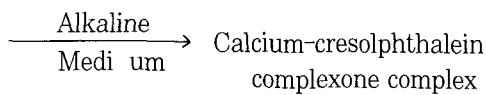
* N/A : Calcium hydroxide and distilled water are mixed , pH 12.6

4. 칼슘 농도 측정

1, 4, 7, 10, 14일에 칼슘 농도를 측정하였으며 측정할 날짜마다 각각 실험군 당 20개의 표본을 제작하여 총 500개의 표본을 사용하였다. 대조군은 측정할 날짜마다 5개씩 총 25개의 표본을 제작하였다. pH 측정 실험과 마찬가지로 실험이 끝난 후 2% methylene blue로 젤의 미세 누출을 평가하여 미세 누출이 있는 7개 표본은 제외하고, 새로운 표본으로 보충하였다.

칼슘 농도는 Sigma Diagnostics® Calcium (No. 587) 시약 (Sigma Diagnostics, Inc. St. Louis, USA)을 이용하여 측정하였다. Sigma Diagnostics calcium 시약은 o-cresolphthalein을 가지고 있어서 칼슘과 만나면 붉은 색을 나타내는데 spectrophotometry (Parmacia Biotech, U.K)를 이용하여 파장 575nm에서 이러한 붉은 색의 강도를 측정하여 칼슘 농도를 계산하였다.

Calcium + o-cresolphthalein complexone



5. 항균 효과 측정

통성 혐기성인 *S. mutans*와 *A. actinomycetemcomitans*를 3개의 Brain heart infusion 한천 배지에 200μ씩 도말 하고 한천 배지 가운데 직경 3.5 mm, 깊이 3.0 mm의 구멍을 내어서 그 안에 5종류 (Pure calcium hydroxide, DT temporary dressing®, Metapaste®, Chidopex®, Metapex®)의 수산화칼슘 제제를 채웠다. 대조군은 세균을 도말 하고 수산화칼슘 제제를 채우지 않았다. 세균이 도말

된 한천 배지를 37℃ 배양기 (Jeio Tech, Korea) 에서 2일간 배양하였다. 배양 후 5종류의 수산화칼슘 제제의 세균 증식 억제대의 직경을 측정하였다.

용출액에 대한 항균력 평가를 위해 570 nm의 흡광도 측정법으로 *A. actinomycetemcomitans*에 의한 혼탁도를 측정하여 5종류의 수산화칼슘 제제의 항균력을 평가하였으나 수산화칼슘 제제를 넣지 않은 대조군 에서도 세균 증식이 억제됨을 관찰하여 본 실험 모델인 분자체 모델에서는 용출액에 대한 항균력을 측정할 수 없었다.

6. 통계 분석

1) pH 변화 및 칼슘농도

5종류의 실험군과 대조군간의 통계학적 유의성을 검사하기 위해 ANOVA test를 시행하여 5% 유의 수준으로 검정하였다 (p<0.05). 또한 실험군들과의 비교는 Duncan의 다중비교를 이용하여 실험군들간의 차이를 분석하였다.

2) 항균력 검사

비모수 검정방법인 Mann-Whitney U test를 이용하여 실험군들간의 차이를 분석하였다 (p<0.05).

III. 결 과

1. pH 변화

5종류의 수산화칼슘 제제의 평균 pH값이 Table 3에 나타나 있다. 5종류의 수산화칼슘 제제 모두에서 대조군에 비해 pH가 증가하였다 (Fig.2). 1일에서, Pure calcium hydroxide paste의 pH가 높았으며 그 다음으로 DT temporary dressing, Metapaste®, Chidopex®, Metapex®

Table 3. pH values in released solution of calcium hydroxide (mean± S.D.)

Time(days)	pH value					
	aqueous vehicle		viscous vehicle		oily vehicle	
	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
1	8.60±0.12	8.33±0.08	8.02±0.14	7.80±0.33	7.65±0.15	6.40±0.07
4	10.46±0.03	10.33±0.08	8.88±0.44	8.11±0.55	8.14±0.51	6.64±0.02
7	10.67±0.07	10.67±0.09	8.98±0.58	8.07±0.69	8.23±0.63	6.65±0.01
10	11.07±0.14	10.98±0.18	9.14±0.69	8.52±1.04	8.17±0.59	6.79±0.02
14	11.45±0.13	11.33±0.23	9.49±0.91	8.37±1.21	7.59±0.57	6.71±0.02

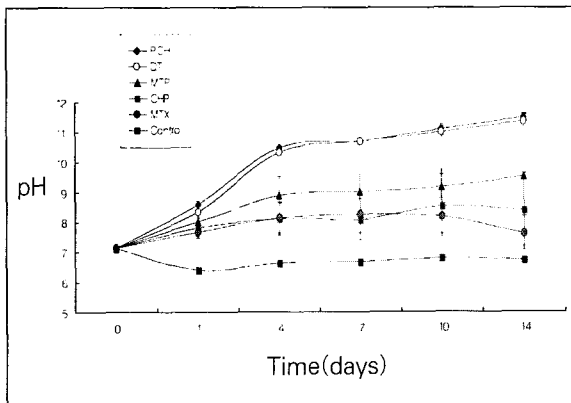


Fig. 2. pH changes in released solution of calcium hydroxide

군 순이었으며 모든 군간에는 유의한 차이를 나타내었다 ($p < 0.05$). 4, 7, 10일에서 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing* 군의 pH가 높았으며 Metapaste*, Chidopex*, Metapex* 군 순으로 나타났다.

점액성 제재인 Metapaste*와 Chidopex*를 보면 Metapaste* 군은 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing* 다음으로 pH가 높았으나 Chidopex*는 4, 7, 10일에서 Metapex* 군과 유의한 차이를 나타내지 않았다. Metapex* 군은 매 측정 시마다 나머지 다른 4종류의 수산화칼슘 제제보다 pH가 가장 낮았으며 특히, 7일 이후부터 현저한 pH 감소를 보이다가 14일에서는 1일에서의 pH와 비슷하였다. 마지막으로 측정된 (14일) pH를 높은 순서대로 보면, 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste (11.45)와 DT temporary dressing* (11.33)군이 가장 높았고 그 다음으로 점액성 제재인 Metapaste* (9.49)와 Chidopex* (8.37) 그리고 유성 제재인 Metapex* (7.59) 군 순으로 측정되었다. 대

조군은 실험 기간동안 pH 변화가 거의 없었다.

본 실험에 사용된 5종의 수산화칼슘 제제의 용출시키기 전의 pH는 12.57에서 12.85를 나타내었다 (Table 5).

2. 칼슘 농도 측정

5종류의 수산화칼슘 제제의 평균 칼슘 농도 (mg%)가 Table 6에 잘 나타나 있다. 1일에서, 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste가 나머지 4종류의 수산화칼슘 제제보다 칼슘 농도가 높게 나타났으며 ($p < 0.05$) 그 다음으로 DT temporary dressing* 군과 Metapaste* 군이 높았으며 Chidopex*, Metapex* 군 순으로 나타났다. 4일에서, 5종류의 수산화칼슘 제제 모두의 칼슘 농도가 큰 폭으로 증가하였고 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing* 군은 14일까지 칼슘 농도가 꾸준히 증가하였다 (Fig. 3). 7, 10일에서 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing* 군이 가장 높게 나타났으며 그 다음으로 점액성 제재인 Metapaste*와 Chidopex* 그리고 유성 제재인 Metapex* 군 순으로 나타났다. 14일에서 칼슘 농도가 높은 순서대로 보면 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste (137.29 mg%), DT temporary dressing* (124.6 mg%), 점액성 제재인 Metapaste* (116.74 mg%), Chidopex* (111.84 mg%) 그리고 유성 제재인 Metapex* (60.22 mg%) 군 순으로 나타났다.

점액성 제재인 Metapaste*와 Chidopex* 군은 10일까지는 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing* 보다 칼슘 농도가 낮았으나 ($p < 0.05$) 10일 이후에 크게 증가하여 14일에서는 수용성 제제와 유의차는 없었다. 유성 제재인 Metapex* 군은 1, 4, 7, 10, 14일 측정 시마다 Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing*, Metapaste*, Chidopex* 군들보다 유리된 칼슘 농도가 가장 적었으며 14

Table 4. Statistical differences between test groups in pH by duncan test Statistically significant differences ($p < 0.05$) are shown by *.

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH		*	*	*	*	*
DT	*		*	*	*	*
MTP	*	*		*	*	*
CHP	*	*	*		*	*
MTX	*	*	*	*		*
Control	*	*	*	*	*	

1 Day

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH			*	*	*	*
DT			*	*	*	*
MTP	*	*		*	*	*
CHP	*	*	*		*	*
MTX	*	*	*	*		*
Control	*	*	*	*	*	

4 Day

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH			*	*	*	*
DT			*	*	*	*
MTP	*	*		*	*	*
CHP	*	*	*		*	*
MTX	*	*	*	*		*
Control	*	*	*	*	*	

7 Day

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH			*	*	*	*
DT			*	*	*	*
MTP	*	*		*	*	*
CHP	*	*	*		*	*
MTX	*	*	*	*		*
Control	*	*	*	*	*	

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH			*	*	*	*
DT			*	*	*	*
MTP	*	*		*	*	*
CHP	*	*	*		*	*
MTX	*	*	*	*		*
Control	*	*	*	*	*	

14 Day

Table 5. pH values of calcium hydroxide pastes (fresh mixing state)

	aqueous vehicle		viscous vehicle		oily vehicle
	PCH	DT	MTP	CHP	MTX
pH	12.82	12.74	12.85	12.76	12.57

Table 6. Concentration of calcium ion in released solution of calcium hydroxide pastes. (mean \pm S.D.)

Time(days)	calcium ion released (mg%)					
	aqueous vehicle		viscous vehicle		oily vehicle	
	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
1	17.23 \pm 6.37	12.48 \pm 5.55	13.64 \pm 3.78	9.36 \pm 2.19	7.50 \pm 1.60	0.00 \pm 0.00
4	60.68 \pm 5.65	64.33 \pm 5.08	54.73 \pm 12.63	59.63 \pm 16.62	19.25 \pm 2.79	0.00 \pm 0.00
7	78.19 \pm 16.67	79.55 \pm 5.63	60.56 \pm 22.00	62.79 \pm 12.22	28.45 \pm 11.06	0.00 \pm 0.00
10	104.41 \pm 17.86	108.45 \pm 14.32	80.74 \pm 8.12	70.08 \pm 19.17	32.27 \pm 14.77	0.00 \pm 0.00
14	137.29 \pm 46.41	124.60 \pm 25.58	116.74 \pm 24.97	111.84 \pm 30.34	60.22 \pm 17.05	0.00 \pm 0.00

Table 7. Statistical differences between test groups in concentration of calcium ions. Statistically significant differences (p<0.05) are shown by *.

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH		*	*	*	*	*
DT	*				*	*
MTP	*			*	*	*
CHP	*		*			*
MTX	*	*	*			*
Control	*	*	*	*	*	

1 Day

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH					*	*
DT			*		*	*
MTP		*			*	*
CHP					*	*
MTX	*	*	*	*		*
Control	*	*	*	*	*	

4 Day

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH			*	*	*	*
DT			*	*	*	*
MTP	*	*			*	*
CHP	*	*			*	*
MTX	*	*	*	*		*
Control	*	*	*	*	*	

7 Day

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH			*	*	*	*
DT			*	*	*	*
MTP	*	*			*	*
CHP	*	*			*	*
MTX	*	*	*	*		*
Control	*	*	*	*	*	

10 Day

	PCH	DT	MTP	CHP	MTX	Control
PCH				*	*	*
DT					*	*
MTP					*	*
CHP	*				*	*
MTX	*	*	*	*		*
Control	*	*	*	*	*	

14 Day

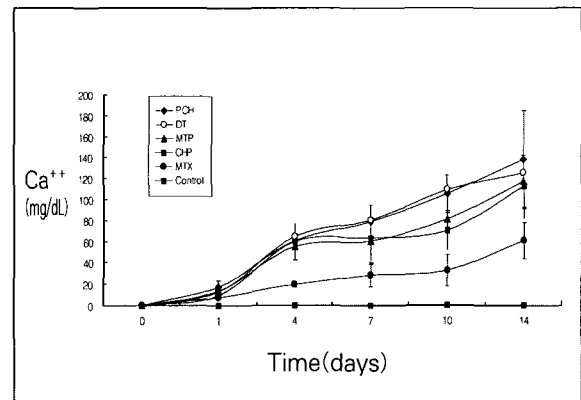


Fig. 3. Changes of calcium ions in released solution of calcium hydroxide

일에서는 수용성, 점액성 수산화칼슘 제제의 칼슘 농도의 절반 정도에 지나지 않았다. 대조군은 실험 기간인 14일 동안 칼슘이 용출 되지 않았다.

3. 항균력 검사

*S. mutans*와 *A. actinomycetemcomitans*에 대한 5종의 수산화칼슘 제제의 항균력을 측정된 결과, 모든 군에서 세균의 증식 억제대를 관찰할 수 있었다 (Table 8). Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing®,

Table 8. Inhibitory effect of calcium hydroxide pastes on proliferation of *S. mutans* and *A. actinomycetemcomitans*. (mean±S.E.)

Bacteria	aqueous vehicle		viscous vehicle		oily vehicle
	PCH	DT	MTP	CHP	MTX
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	12±0.52	13±0.29	13±0.63	34±2.63*	28±5.86*
<i>S. mutans</i>	14±0.38	14±0.43	14±1.53	13±0.88	5±0.72*

* : Statistically significant difference, $p < 0.05$ by Mann-Whitney U-test

※ The data is expressed as diameter of inhibition zone (mm).

Metapaste[®] 군은 세균의 증식 억제대가 비슷하였으며 Metapex[®]와 Chidopex[®]군은 *A. actinomycetemcomitans*에서 특히 세균의 증식 억제대가 크게 나타났고 ($p < 0.05$), *S. mutans*에서는 Metapex[®]군이 다른 4가지 실험군 (Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing[®], Metapaste[®], Chidopex[®]) 들보다 세균의 증식 억제대가 작게 관찰되었다 ($p < 0.05$).

IV. 총괄 및 고찰

본 실험 모델은 단백질을 분리하는 폴리아크릴 아마이드 젤을 이용한 분자체 모델로 수산화칼슘 제재가 젤을 통과하여 유리되는 칼슘과 수산화 이온을 평가하고자 하였으며, 마개가 있는 원심 분리용 tube를 이용하여 밀폐된 공간에서의 순수하게 유리되는 수산화 이온과 칼슘 이온을 측정할 수 있었다. 분자체 모델은 치아를 이용한 모델에서 나타나는 문제점인 상아세관의 수, 상아세관의 직경, 상아질의 투과성, 표면 장력, 그리고 치아 자체에서 나오는 칼슘 양 등 다양한 변수를 배제할 수 있으며 젤은 그들의 점도와 젤의 구멍 크기에 의하여 분자체 (molecular sieving) 역할을 하게 되며 젤의 분자체 효과는 젤을 구성하는 bisacrylamide와 acrylamide의 절대 농도로 결정되는 구멍의 크기에 의해 결정된다.

본 실험에서는 15% 젤을 사용하였는데 이는 12,000~43,000 Dalton의 분자량을 갖는 단백질을 분리할 수 있다. 따라서 칼슘 (분자량 40.08)과 수산화 이온 (분자량 17.0)은 아무런 저항 없이 통과할 수 있다.

Tamburic³⁷⁾도 치아가 아닌 sintered glass membrane (90~150 micron의 porosity)을 통과하는 칼슘 및 수산화 이온을 ion-analyser를 이용하여 측정하였다. Larsen³⁸⁾은 내부 직경이 2 mm인 폴리에틸렌 튜브를 사용하여 수산화칼슘 제재로부터 유리되는 수산화 이온을 측정하였다. 또한 Beltes³⁹⁾는 dialysis tubing을 이용하여 수산화칼슘 제재의 pH를 측정하였다.

이와 같이 여러 가지 실험 모델이 연구되었으나 모델 자체가 만들기 어렵고 표본 수가 제한된다는 단점이 있다. 그러나 15% 폴리아크릴 아마이드 젤을 이용한 분자체 모델은 제작하기가 간편하며 많은 표본을 반복해서 실험할 수 있고 비용이 저렴하다는 점에서 큰 장점이 있다.

본 실험에 사용된 5가지 종류의 수산화칼슘 제재 모두에서 수산화 이온이 유리되었다. 특히 수용성 용매인 증류수와 혼합된 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing[®]군은 4일에서부터 pH가 10.46, 10.33을 보였고 14일에는 pH가 11.45, 11.33을 나타냈다. Fava 등²⁹⁾은 물, 식염수, 치과 마취액, 링거액을 포함하는 수용성 용매 (aqueous vehicle)와 혼합한 수산화칼슘 제재는 칼슘과 수산화 이온이 빨리 유리되고 조직과 접촉시 높은 용해도를 갖는다고 하였다. 점액성 용매인 polypropylene glycol과 혼합된 Metapaste[®]군은 14일 동안 관찰한 결과, 9.49의 pH를 나타냈으며 Chidopex[®] 군은 8.37의 pH로 Metapaste[®] 군보다 pH의 증가가 적었다. 반면에 실리콘 유를 함유한 Metapex[®]군은 7일에서 최고 pH 8.23을 보였고, 그 후 점점 감소하기 시작하여 14일 (pH 7.59)에는 1일 (pH 7.65)에서의 pH와 비슷하였다.

위 결과로 보아 근관 내 소독, 지속적인 삼출물 조절 등의 감염된 근관 치료가 목적인 경우에는 수산화 이온이 빨리 유리되는 수용성 용매나 점액성의 수산화칼슘 제재가 바람직할 것으로 생각된다. 또한 5종류의 수산화칼슘 제재 모두가 7일까지는 큰 폭으로 pH가 증가하였으나 7일 이후부터는 증가 양상이 적은 것으로 보아 근관 내에 수산화칼슘 제재를 최소한 7일 이상 넣어두는 것이 효과적이라고 생각된다. 본 실험 모델은 외부와의 소통이 없는 밀폐된 공간에서의 pH 변화만을 나타내기 때문에 실제 치아에서 과연 pH가 얼마나 지속적으로 유지될지는 말하기 어렵다. 치관의 미세 누출, 상아세관을 통한 치근 외면과의 연결, 치근단 공이나 부근관 (accessory canal)의 통로 등으로 수산화 이온이 빠져나갈 수 있고⁴⁰⁾ 치아 자체의 완충 작용도 있어 실제로 치아에서 장시간동안 높은 pH를 유지할지는 명확하지

않다. 그러나, Byström⁴¹⁾은 수산화칼슘을 근관 내에 30일간 넣어둔 후에 근관 내에서 세균이 발견되지 않았으며 근관 내의 pH가 12.5 이상이었다고 하였다. 또한 Sjögren⁴²⁾도 7일 동안 근관 내에 수산화칼슘 제재를 넣어둔 곳에서 세균을 발견할 수 없음을 보고하였다. 이에 건전한 치근 백악질을 가진 치아에서의 근관 내부는 밀폐된 공간과 같다고 생각해도 될 것으로 사료된다.

수용성 수산화칼슘 제재와 비교시 점액성 제재인 Metapaste[®]와 Chidopex[®] 군의 pH가 낮았는데 이를 점액성 용매의 분자량이 크기 때문에 수산화 이온의 유리 속도가 느려서 수용성 제재보다 낮은 pH를 보였다고 설명하였다²⁹⁾.

pH 측정 실험에서 polypropylene glycol을 용매로 한 Chidopex[®]와 Metapaste[®] 군을 비교해 보면 1, 4, 7, 10, 14일 모두에서 Metapaste[®] 군의 pH가 Chidopex[®] 군보다 높았다. 같은 용매라 하더라도 방사선 불투과성을 위해 Metapaste[®]는 barium sulfate를 첨가하였고 Chidopex[®]는 barium sulfate 대신 iodoform을 첨가하였는데 이 iodoform이 수산화 이온 유리에 영향을 준 것으로 추측되며 앞으로 이 부분에 대한 연구가 더 진행되어야 할 것으로 생각된다.

실험군중 가장 낮은 pH를 보이는 군은 Metapex[®]군인데 Metapex[®]는 실리콘 유와 혼합한 수산화칼슘 제재이다. 실리콘 유는 올리브유, camphor, metacresylacetate, fatty acid를 포함하는 유성 용매로 물에 녹지 않으며 조직에 대한 용해도가 가장 낮고 또한 칼슘과 수산화 이온의 유리가 가장 느리게 진행되었다. 따라서 본 실험에서도 Metapex[®] 군이 pH가 1, 4, 7, 10, 14일 모두에서 유의차 있게 낮았다.

pH 측정 결과에서 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing[®] 군은 14일에서 pH가 11을 넘었는데, Lengheden, Lindskog^{34,35)}의 pH가 7.8 이상이 되면 섬유아세포의 성장과 부착이 상당히 감소한다는 측면에서 보면, 손상된 백악질에서는 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing[®]을 사용하는데 있어서 고려해야 할 것이며 높은 pH가 치근 주위 염증을 줄이는데 도움이 될 수는 있지만 한편으론 치근 주위에 존재하는 정상 치주 인대 세포에 손상을 주어 조직의 치유를 지연시킬 수도 있음을 생각해야 할 것으로 생각된다. 그런 점에 있어서 수용성 제재보다 낮은 pH를 나타내는 polypropylene glycol을 용매로 한 Metapaste[®]와 Chidopex[®]군 그리고 실리콘 유와 혼합된 Metapex[®] 군이 임상에서는 유용할 것으로 사료된다.

칼슘 농도를 비교해 보면 pH 변화와 마찬가지로 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing[®] 군이 가장 칼슘 농도가 높았으며 그 다음으로 점

액성 제재인 Metapaste[®], Chidopex[®], 그리고 유성 제재인 Metapex[®] 군이 가장 칼슘 농도가 적었다. Heithersay⁴³⁾는 수산화 칼슘 작용중의 하나인 경조직 침착 형성 기전을 다음 3가지로 설명하였다. 첫째로 유리된 수산화 이온이 파골 세포가 분비하는 lactic acid를 중화시켜서 pyrophosphatase activity (적정 pH는 10.2)의 적정 pH를 유지시켜서 Ca²⁺ dependent pyrophosphatase level을 증가시키고 inhibitory pyrophosphatase level은 감소되어 경조직이 침착 된다. 둘째로 유리된 칼슘 이온이 신생 모세혈관의 투과도를 감소시켜서 intercellular serum flow가 감소되고 inhibitory pyrophosphatase level을 떨어뜨려 경조직 침착을 유도한다. 셋째로 유리된 칼슘 이온이 Ca²⁺ dependent pyrophosphatase activity를 증가시켜서 경조직을 침착 시킨다. 즉 수산화칼슘 에서 유리된 칼슘이 조직 내에서 경조직을 침착하도록 유도한다는 것이 Kawakami¹⁸⁾에 의해서 입증되었다.

실리콘 유를 용매로 한 Metapex[®]군은 칼슘과 수산화 이온이 서서히 유리되었다. 이 실리콘 유는 화학적으로 불활성이며 표면 장력을 낮추고 윤활 작용과 습기로부터 저항하기 때문에 장기간의 치료시 근관 밀폐를 해준다는 장점이 있지만 근관 내에서 제거가 잘 되지 않는 단점이 있다. 이러한 제거하기가 힘든 단점을 보완하기 위하여 polypropylene glycol을 용매로 한 것이 Metapaste[®]나 Chidopex[®]이다. 또한 Metapaste[®]와 Chidopex[®]군은 초기에는 칼슘 이온이 서서히 유리되다가 10일 이후에 급격히 증가하여 Pure calcium hydroxide paste와 DT temporary dressing[®] 과 비슷한 칼슘 농도를 나타냈는데 이는 polypropylene glycol의 수화 특성 (hygroscopic nature)으로 설명될 수 있다. 즉, 초기에는 물을 계속 흡수하다가 어느 시점에서 칼슘 이온을 다량으로 유리시키는 것이다.

Propylene glycol은 투명하고 무색, 무취 용액으로 글리세린과 비슷하며 화학적으로는 시럽 점도, 습윤제 및 무독성인 dihydric alcohol이다. 미국 약전 (1989)에 따르면 구조식은 CH₂CH(OH)CH₂OH 이고 분자량은 76.09이다²⁹⁾. 또한 수분을 흡수하는 성질이 장기간 동안 수산화칼슘의 유리를 유지시켜 주고 적절한 점도를 가지고 있기 때문에 근관 내에 위치시키기 용이하고 다루기가 쉽다. Simon³¹⁾은 이러한 이유로 수산화칼슘 제재 중에서 propylene glycol을 용매로 한 paste가 가장 좋다고 하였다.

치근단 질환에서 근관 내 감염은 polymicrobial infection으로 80여종 이상의 세균이 발견되고 있으며⁴⁴⁾ 감염된 근관내 세균은 대다수가 혐기성 세균이고 일부인 12% 정도가 통성 혐기성 세균임을 보고하였다⁴⁵⁾. 특히 혐기성 세균 중 *Bacteroides*, *Fusobacterium* 그리고 *Peptostreptococcus*가 주로 발견되고 통성 혐기성 세균은 *Streptococcus* 군종이 우세하였다. 그 가운데에 통증 및 화농성

농양과 관련된 세균은 black-pigmented Gram-negative anaerobic rod로 알려져 있다. 이런 종류의 세균은 *Porphyromonas endodontalis*, *Porphyromonas gingivalis*, 그리고 *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*이다. 한편으로 Macdonald⁴⁶⁾은 생활치 및 과사된 치수에서 *Streptococcus mutans*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus salivarius*가 주로 발견됨을 보고하였다.

본 실험에서는 근관 내에 분포되어 있는 그람 양성 세균으로 *S. mutans*와 그람 음성 간균인 *A. actinomycetemcomitans*를 배양하여 그람 양성 세균과 그람 음성 세균에 대한 5가지 종류의 수산화칼슘 제제의 항균 능력을 평가하였다. 5가지 종류의 수산화칼슘 제제 모두에서 세균의 증식 억제대를 관찰할 수 있었는데 *S. mutans*에서 Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing^{*}, Metapaste^{*}, Chidopex^{*}균은 비슷한 억제대를 보였으나 Metapex^{*}균은 다른 제제보다 억제대가 작게 나타났다. 그러나, *A. actinomycetemcomitans*에서는 Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing^{*}, Metapaste^{*}는 비슷한 억제대를 보였으나 Metapex^{*}와 Chidopex^{*}균에서는 훨씬 더 넓은 억제대를 보였다. 이는 단지 높은 pH만이 아닌 다른 이유 즉 Chidopex^{*}와 Metapex^{*}의 공통점인 iodoform도 세균의 성장을 방해할 수 있음을 보여 준 것으로 생각된다. 그러나, *S. mutans*에서는 Metapex^{*}의 영향이 적은 것으로 보아 세균마다 수산화칼슘 제제에 대한 반응이 다를 수 있었다. 따라서 근관 내 세균 종류에 따른 수산화칼슘 제제의 항균력 평가도 필요하리라 사료된다.

본 실험에 사용된 5종류의 수산화칼슘 제제의 원액 상태에서의 pH를 측정된 결과, 모든 수산화칼슘 제제가 12.5이상의 pH를 나타내었다. 높은 pH로 인한 알칼리가 세균의 세포막과 단백질 구조를 파괴하며 대부분의 세균은 pH 9.5에서 파괴되지만 몇몇은 pH 11이상에서도 살아 있기도 한다. 따라서 12.5이상의 pH를 나타내는 실험에 사용된 5종의 수산화칼슘 제제는 한천 배지 확산법에서 모두 항균력이 있음이 관찰되었다.

Stuart²²⁾는 *S. mutans*, *P. gingivalis*, *B. fragilis*에 대해 Pulpdent^{*}와 식염수를 용매로 한 수산화칼슘 제제가 CMCP, formocresol보다 항균력이 우수했다고 보고하였으며 세포 독성이 적은 Pulpdent^{*}와 식염수와 혼합한 수산화칼슘 제제를 근관 내 약제로 사용할 것을 지지하였다.

종합해 보면 수산화칼슘의 작용은 경조직 형성을 유도하고 근관 내 세균을 파괴하며 과사된 조직을 용해시킨다⁴⁷⁾. 즉, 수산화칼슘은 항균 (antibacterial), 항흡수(antiresorptive) 그리고 조직용해 (tissue dissolving) 능력이 있

으며 작용 기전은 칼슘과 수산화 이온의 유리에 기인하는데, 본 실험은 밀폐된 공간에서 5종류의 수산화칼슘 제제 (Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing^{*}, Metapaste^{*}, Chidopex^{*}, Metapex^{*})로부터 유리된 수산화 이온과 칼슘 이온의 양을 측정하여 비교 분석하였다. 그러나, 근관 내에서 완전히 밀폐된 공간을 얻기란 어렵다. 즉, Pure calcium hydroxide paste, Metapaste^{*}, DT temporary dressing^{*}, Chidopex^{*}균들은 14일간 관찰한 결과, Metapex^{*} 균들보다 pH가 높게 나왔으나 실제 임상에서 수개월간에 걸쳐서 관찰시에 나타나는 변화에 대한 연구가 더 필요할 것으로 생각된다.

또한 본 실험 모델인 분자체 모델은 수산화 이온과 칼슘 이온의 양은 측정할 수 있었으나 용출액에 대한 항균력을 평가하는데는 적합하지 않았다. 흡광도 측정법으로 세균에 의한 혼탁도를 측정하여 5종류의 수산화칼슘 제제 용출액의 항균력을 평가하였으나 수산화칼슘 제제를 넣지 않은 대조군에서도 세균 증식이 억제됨을 관찰하였다. 이는 폴리아크릴 아마이드 젤 자체에서 독성 물질이 유리되어 세균 증식을 방해하는 것으로 생각된다. 젤의 구성성분을 보면, acrylamide와 bisacrylamide가 혼합되는데 이는 세포에 신경 장애를 일으키며 ammonium persulfate와 TEMED도 세포에 치명적인 독성을 지니고 있어 젤이 굳은 후에도 세포 성장에 영향을 미치는 독성 물질이 유리되는 것으로 생각되어 항균력 연구에서는 부적합한 모델로 생각된다.

이상의 결과에서 수용성 용매와 혼합된 Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing^{*} 균은 다른 수산화칼슘 제제보다 훨씬 높은 pH를 나타내지만 항균력은 점액성 용매인 polypropylene glycol을 용매로 한 Metapaste^{*}, Chidopex^{*} 균들과 유의 차를 보이지 않았다. 따라서 단지 빠르게 높은 pH를 나타내는 제제보다는 서서히 수산화 이온을 유리시켜 정상 치주 인대 세포에 영향을 주지 않고 일정하게 pH를 유지할 수 있도록 하는 용매의 연구 개발이 필요하고 이와 동시에 근관 내 세균 대다수에 항균력이 있는 약제의 개발도 필요하리라 사료된다.

또한 근관 내 소독, 지속적인 삼출물 조절 등의 감염된 근관 치료에서는 pH가 높은 수용성 제제 및 점액성 제제가 좋을 것으로 생각되며 반면에 탈구된 치아의 제식 치료와 같은 손상된 백악질을 가진 치아 치료에서는 장기간동안 근관 내에서 7.8 미만의 pH를 유지할 수 있는 유성 제제를 사용함이 좋을 것으로 사료된다. 그러나, 치근첨 형성술 (apexification)과 같은 경조직 침착 유도를 위한 치료에서는 12.5 이상의 높은 pH를 나타내는 수용성, 점액성, 유성 제제의 수산화칼슘 제제 모두를 사용해도 될 것으로 생각된다.

V. 결 론

단백질을 분리하는 폴리아크릴 아마이드 젤을 이용한 분자체 모델에서, 현재 사용되고 있는 5종의 수산화칼슘 제재 (Pure calcium hydroxide paste, DT temporary dressing[®], Metapaste[®], Chidopex[®], Metapex[®]) 의 pH 변화, 칼슘 농도 및 항균 작용을 관찰하여 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. 5종의 수산화칼슘 제재의 용출 시키기 전 pH는 12.5에서 12.8을 나타내었다.
2. 5종의 수산화칼슘 제재 용출액 모두에서 pH가 증가하였으며 14일에서, 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste (11.45), DT temporary dressing[®](11.33), 점액성 제재인 Metapaste[®] (9.49), Chidopex[®](8.37), 그리고 유성 제재인 Metapex[®] (7.59) 순으로 pH가 높았다.
3. 수산화칼슘 제재 모두에서 칼슘 이온이 유리되었다. 14일에서, 칼슘 농도가 높은 순서대로 보면 수용성 제재인 Pure calcium hydroxide paste (137.29 mg%), DT temporary dressing[®] (124.6 mg%), 점액성 제재인 Metapaste[®] (116.74 mg%), Chidopex[®] (111.84 mg%), 그리고 유성 제재인 Metapex[®] (60.22 mg%) 순으로 나타났다.
4. 5종류의 수산화칼슘 제재 모두에서 *S. mutans*와 *A. actinomycetemcomitans*에 대한 세균 증식 억제대가 나타났다. *A. actinomycetemcomitans* 세균에서는 iodoform을 함유한 Chidopex[®]와 Metapex[®] 군에 의한 세균 증식 억제대가 크게 나타났으며, *S. mutans*에서는 Metapex[®] 군의 세균 증식 억제대가 작게 나타났다.

이상의 실험 결과에서, 본 실험 모델인 분자체 모델은 치아 모델에서 측정된 수산화칼슘 제재의 pH 및 칼슘 농도와 비슷한 결과를 나타낸 것으로 보아 수산화 이온과 칼슘 이온의 용출 실험에는 적합하나 용출액의 항균력 검사에는 적합하지 않은 것으로 판단되었다.

근관 내 소독, 지속적인 삼출물 조절 등의 감염된 근관 치료에서는 pH가 높은 수용성 제재 및 점액성 제재가 좋을 것으로 생각되며 반면에 탈구된 치아의 재식 치료와 같은 손상된 백악질을 가진 치아 치료에서는 장기간동안 근관 내에서 7.8 미만의 pH를 유지할 수 있는 유성 제재를 사용함이 좋을 것으로 사료된다. 그러나, 치근침 형성술 (apexification)과 같은 경조직 침착 유도를 위한 치료에서는 12.5 이상의 높은 pH를 나타내는 수용성, 점액성, 유성 제재의 수산화칼슘 제재 모두를 사용해도 될 것으로 생각된다.

참고문헌

1. Binnie WH and Rowe AHR : A histological study of the periapical tissues of incompletely formed pulpless teeth filled with calcium hydroxide, Journal of Dental Research 1973 ; 52 : 1110-1116.
2. Erdogan G : The treatment of nonvital immature teeth with calcium hydroxide-sterile water paste, Quintessence International 1997 ; 28 : 681-686.
3. Mitchell DF and Shankwalker GB : Osteogenic potential of calcium hydroxide and other materials in soft tissues and bone wounds, Journal of Dental Research 1958 ; 37 : 1157-1163.
4. Hasselgren G, Olsson B and Cvek M : Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorites in the dissolution of necrotic porcine muscle tissue, Journal of Endodontics 1988 ; 14 : 125-127.
5. Türkün M and Cengiz : The effects of sodium hypochlorite and calcium hydroxide on tissue dissolution and root canal cleanliness, International endodontic journal 1997 ; 30 : 335-342.
6. Morgan RW, Carnes DL and Montgomery S : The solvent effects of calcium hydroxide irrigating solution on bovine pulp tissue, Journal of Endodontics 1991 ; 17 : 165-168.
7. aliskan MK and Sen BH : Endodontic treatment of teeth with apical periodontitis using calcium hydroxide calcium hydroxide : a long-term study, Endodontic Dental Traumatology 1996 ; 12 : 215-221.
8. Lengheden A, Blomlöf L and Lindskog S : Effect of immediate calcium hydroxide treatment and permanent root-filling on periodontal healing in contaminated replanted teeth, Scand J Dent Res 1990 ; 99 : 139-146.
9. Chong BS and Pittford TR : The role of intracanal medication in root canal treatment, International endodontic journal 1992 ; 25 : 97-106.
10. Walton RE : Intracanal medications, Dental Clinics of North America 1984 ; 28 : 783-796.
11. Montgomery S : External cervical resorption after bleaching a pulpless tooth, Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology 1984 ; 57 : 203-206.
12. Gimlin DR and Schindler WG : The management of postbleaching cervical resorption, 1990 : 292-297.
13. Tronstad L, Andreasen JO, Kristerson L and Riis I : pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide, Journal of Endodontics 1981 ; 7 : 17-21.
14. Hammarstöm L : Effect of calcium hydroxide treatment on periodontal repair and root resorption, Endodontic Dental Traumatology 1986 ; 2 : 184-189.
15. Fuss Z, Szajkis S and Tagger M : Tubular permeability to calcium hydroxide and to bleaching agents, Journal of Endodontics 1989 ; 15 : 362-364.
16. Wang JD and Hume WR : Diffusion of hydrogen and hydroxyl ions from various sources through dentine, International Endodontics Journal 1988 ; 21 : 17-26.
17. Javelet J, Torabinejad M and Bakland LK : Comparison of two pH levels for the induction of apical barriers in immature teeth of monkeys, Journal of Endodontics 1985 ; 11 : 375-378.
18. Kawakami T, Nakamura C, Hasegawa H and Eda S : Fate of ⁴⁵Ca-labeled calcium hydroxide in a root canal filling paste embedded in rat subcutaneous tissues,

- Journal of Endodontics 1987 ; 13 : 220-223.
19. Foster KH, Kulid JC and Weller RN : Effect of smear layer removal on the diffusion of calcium hydroxide through radicular dentin. *Journal of Endodontics* 1993 ; 19 : 136-140.
 20. 권병구 : 우치의 근관에서 도말층의 존재가 수산화칼슘의 상아질 투과에 미치는 영향. *대한치과보존학회지* 1997 ; 22 : 111-131.
 21. Nerwich A, Figdor D, Endo D and Messer HH : pH changes in root dentin over a 4-week period following root canal dressing with calcium hydroxide. *Journal of Endodontics* 1993 ; 19 : 302-306.
 22. Stuart KG, Miller CH, Brown Jr CE and Newton CW : The comparative antimicrobial effect of calcium hydroxide. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1991 ; 72 : 101-104.
 23. Thomas PA, Bhat KS and Kotian KM : Antibacterial properties of dilute formocresol and eugenol and propylene glycol. *Oral surgery* 1980 ; 49 : 166-170.
 24. Stevens RH and Grossman LI : Evaluation of the antimicrobial potential of calcium hydroxide as an intracanal medicament. *Journal of Endodontics* 1983 ; 9 : 372-374.
 25. Alacam T, Görgül G and Ömürlü H : Evaluation of diagnostic radiopaque contrast materials used with calcium hydroxide. *Journal of Endodontics* 1990 ; 16 : 365-368
 26. Smith GN and Woods S : Organic iodine : A substitute for BaSO₄ in apexification procedures. *Journal of Endodontics* 1983 ; 9 : 153-155.
 27. Rivera EM and Williams K : Placement of calcium hydroxide in simulated canals : comparison of glycerin versus water. *Journal of Endodontics* 1994 ; 20 : 445-448.
 28. Barbosa CAM, Goncalves RB, Siqueira Jr JF and De Uzeda M : Evaluation of the antibacterial activities of calcium hydroxide, chlorhexidine and camphorated paramonochlorophenol as intracanal medicament. A clinical and laboratory study. *Journal of Endodontics* 1997 ; 23 : 297-300.
 29. Fava LRG and Saunders WP : Calcium hydroxide pastes : classification and clinical indications. *International endodontic journal* 1999 ; 32 : 257-282.
 30. Anthony DR, Gordon TM and del Rio CE : The effect of three vehicles on the pH of calcium hydroxide. *Oral surgery Oral Medicine Oral Pathology* 1982 ; 54 : 560-565.
 31. Simon ST, Bhat KS and Francis R : Effect of four vehicles on the pH of calcium hydroxide and the release of calcium ion. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1995 ; 80 : 459-464.
 32. Gordon TM, Ranly DM and Boyan BD : The effects of calcium hydroxide on bovine pulp tissue. *Journal of Endodontics* 1985 ; 11 : 156-160.
 33. Lengheden A, Blomlöf L and Lindskog S : Effect of delayed calcium hydroxide treatment on periodontal healing in contaminated replanted teeth. *Scand J Dent Res* 1991 ; 99 : 147-153.
 34. Lengheden A : Influence of pH and calcium on growth and attachment of human fibroblasts in vitro. *Scand J Dent Res* 1994 ; 102 : 130-136.
 35. Lengheden A and Jansson L : pH effects on experimental wound healing of human fibroblasts in vitro. *Eur J Oral Sci* 1995 ; 103 : 148-155.
 36. Carrigan PJ, Morse DR, Furst ML and Sinai IH : A scanning electron microscopic evaluation of human dentinal tubules according to age and location. *Journal of Endodontics* 1984 ; 10 : 359-363.
 37. Tamburic SD, Vuleta GM and Ognjanovic JM : In vitro release of calcium and hydroxyl ions from two types of calcium hydroxide preparation. *International Endodontic Journal* 1993 ; 26 : 125-130.
 38. Larsen MJ and Hrsted-Bindslev P : A laboratory study evaluating the release of hydroxyl ions from various calcium hydroxide products in narrow root canal-like tubes. *International endodontic journal* 2000 ; 33 : 238-242.
 39. Beltes PG, Pissiotis E, Koulaouzidou E and Kortsaris AH : In vitro release of hydroxyl ions from six types of calcium hydroxide nonsetting pastes. *Journal of Endodontics* 1997 ; 23 : 413-415.
 40. Fuss Z, Rafaeloff R, Tagger M and Szajkis S : Intracanal pH changes of calcium hydroxide pastes exposed to carbon dioxide in vitro. *Journal of Endodontics* 1996 ; 22 : 362-364.
 41. Byström A et al. : The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Endod Dent Traumatol* 1985 ; 1 : 170-175.
 42. Sjgren U, Fogdor D, Spangberg L and Sundqvist G : The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *International Endodontic Journal* 1991 ; 24 : 119-125.
 43. Heithersay GS : Calcium hydroxide in the treatment of pulpless teeth with associated pathology. *Journal of the British Endodontic Society* 1975 ; 8 : 74-93.
 44. Siqueira JF and de Uzeda M : Disinfection by calcium hydroxide pastes of dentinal tubules infected with two obligate and one facultative anaerobic bacteria. *Journal of Endodontics* 1996 ; 22 : 674-676.
 45. Rehman K, Saunders WP, Foye RH and Sharkey SW : Calcium ion diffusion from calcium hydroxide-containing materials in endodontically-treated teeth : An in vitro study. *International Endodontic Journal* 1996 ; 29 : 271-279.
 46. Macdonald JB, Hare GC and Wood AWS : The bacteriologic status of the pulp chambers in intact teeth found to be nonvital following trauma. *Oral Surgery Oral Medicine Oral Pathology* 1957 ; 10 : 318-322.
 47. Foreman PC and Barnes IE : A review of calcium hydroxide. *International Endodontic Journal* 1990 ; 23 : 283-297.