

ARTIKEL PENELITIAN

Pengaruh ekstrak membran kerabang itik konsentrasi 70% terhadap infiltrasi makrofag pada pulpitis reversibel

Novaria*✉, Tetiana Haniastuti**, Diatri Nari Ratih***

*Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

**Departemen Biologi Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

***Departemen Konservasi Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, Indonesia

*Jl Denta No. 1, Sekip Utara, Yogyakarta, Indonesia; ✉ koresponden: novaria@mail.ugm.ac.id

Submit: 20 Desember 2024; Review: 26 Februari 2025; Diterima: 23 April 2025

ABSTRAK

Pulpitis reversibel merupakan inflamasi pada gigi. Pada saat terjadi inflamasi, sel makrofag akan mendatangi area jejas. Pulpitis reversibel biasanya dirawat dengan material kaping pulpa. Material tersebut ditempatkan pada dasar kavitas untuk menginduksi perbaikan pulpa. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui pengaruh aplikasi ekstrak membran kerabang itik (*Anas platyrhynchos*) dengan konsentrasi 70% terhadap infiltrasi sel makrofag pada pulpa yang mengalami pulpitis reversibel. Empat puluh lima tikus *Sprague dawley* dibagi menjadi tiga kelompok. Pulpitis reversibel diinduksi pada semua tikus *Sprague dawley* dengan cara mempersiapkan gigi molar pertama rahang atas sedalam 0,8mm menggunakan *round diamond bur*. Ekstrak membran kerabang itik konsentrasi 70% dan kalsium hidroksida ($Ca(OH)_2$) diaplikasikan pada dasar kavitas pada kelompok ekstrak dan kontrol positif. Kelompok kontrol negatif tidak diaplikasikan apapun pada dasar kavitas hasil persiapan. Selanjutnya semua gigi tersebut ditutup dengan semen ionomer kaca (SIK). Tikus *Sprague dawley* didekapitasi pada hari ke-1, 3, 5, 7 dan 14 setelah perlakuan. Sampel rahang atas tikus ditanam dalam parafin dan diwarnai dengan *hematoxylin eosin*. Selanjutnya diamati jumlah sel makrofag menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X. Hasil uji dengan ANOVA dua jalur menunjukkan antara ketiga kelompok penelitian terdapat perbedaan jumlah sel makrofag yang signifikan ($p < 0,05$). Kesimpulan penelitian ini adalah aplikasi ekstrak membran kerabang itik (*Anas platyrhynchos*) menyebabkan penurunan jumlah infiltrasi sel makrofag pada pulpa yang mengalami pulpitis reversibel.

Kata kunci: ekstrak membran; kerabang itik; makrofag; pulpitis reversibel

ABSTRACT: *The effect of 70% duck eggshell membrane extract on macrophage infiltration in reversible pulpitis.* Reversible pulpitis is an inflammation of the pulp. In this case, macrophages infiltrate the pulp adjacent to the injured area. Reversible pulpitis is usually treated with pulp capping material. The material is placed at the bottom of the cavity to induce pulp repair. This study aimed to investigate the effect of duck (*Anas platyrhynchos*) eggshell membrane extract application on macrophage cell number in pulp with reversible pulpitis. Forty-five Sprague Dawley rats were randomly divided into three groups. Reversible pulpitis was induced in all rats by drilling their upper first molar with 0.8 mm round diamond bur. Seventy percent of duck eggshell membrane extract and calcium hydroxide ($Ca(OH)_2$) were applied at the base of the cavity of the extract and positive control groups. In comparison, the negative control group was left untreated. All teeth were then filled with glass ionomer cement. The rats were decapitated on the 1st, 3rd, 5th, 7th, and 14th days after the treatment. The upper jaw of the rats was decalcified, embedded in paraffin, and stained with hematoxylin-eosin. The macrophage number was observed and counted using a light microscope with a magnification of 400X. Two-way ANOVA showed statistically significant differences in macrophage number among the groups ($p < 0.05$). This study concluded that the application of 70% duck eggshell membrane extract could decrease macrophage infiltration in pulp with reversible pulpitis.

Keywords: membran extract; duck eggshell; makrofag; reversible pulpitis

PENDAHULUAN

Pulpitis merupakan proses inflamasi pada jaringan pulpa gigi yang disebabkan oleh berbagai faktor seperti karies gigi, trauma karena oklusi dan mastikasi serta prosedur dental.¹ Penyakit pulpitis diklasifikasikan menjadi pulpitis reversibel dan pulpitis ireversibel.² Pulpitis reversibel merupakan rasa sakit pada gigi dengan intensitas ringan sampai sedang, ditandai dengan hipersensitivitas sementara terhadap rangsangan listrik, termal atau rasa manis namun tidak terasa sakit pada saat dilakukan perkusi. Pulpitis ireversibel merupakan rasa sakit pada gigi dengan intensitas sedang sampai berat, ditandai dengan hipersensitivitas berkepanjangan terhadap rangsangan listrik, termal atau rasa manis namun kadang-kadang terasa sakit pada saat dilakukan perkusi.²

Pada kondisi pulpitis reversibel akan terjadi infiltrasi sel inflamasi terutama pada area di bawah lesi.³ Netrofil muncul pada awal inflamasi dan berperan untuk memfagosit bakteri, sel-sel mati dan debris seluler.⁴ Setelah sel netrofil mengalami apoptosis, maka perannya akan digantikan oleh makrofag.⁵ Makrofag adalah sel yang merespon masuknya benda asing dengan menghasilkan mediator proinflamasi.^{6,7} Pada tahap ini makrofag berfungsi untuk membersihkan jejas dari bakteri dan netrofil yang mati dengan cara fagositosis.⁷

Perawatan yang dilakukan untuk kasus pulpitis reversibel adalah kaping pulpa.⁸ Kalsium hidroksida merupakan material *gold standard* dalam perawatan kaping pulpa karena memiliki sifat antibakteri yang sangat baik yaitu 100% menurunkan mikroorganisme pada infeksi pulpa setelah satu jam berkontak dengan kalsium hidroksida.⁹ Aplikasi kalsium hidroksida akan memicu terbentuknya *dentina bridge* di atas jaringan pulpa yang masih vital, tetapi karena sifatnya yang basa (pH 12,5-12,8), kalsium hidroksida dapat menyebabkan iritasi jaringan pulpa.¹⁰ Kalsium hidroksida juga dapat menyebabkan nekrosis jaringan pulpa sekitar 1,5 mm dari lapisan paling superfisial pulpa.¹¹ Dampak lain yang bisa timbul adalah terjadinya *tunnel defect* pada *dentina bridge*.¹² Efek ini

dapat menyebabkan terjadinya kebocoran mikro sehingga bakteri dapat masuk ke dalam jaringan pulpa.¹³

Indonesia merupakan negara yang memiliki keanekaragaman hayati yang melimpah, baik flora maupun fauna, salah satunya adalah itik. Jumlah produksi telur itik di 34 provinsi Indonesia pada tahun 2014 mencapai 273.057 ton.¹⁴ Saat ini, telur terutama bagian membran telah dimanfaatkan oleh masyarakat secara tradisional untuk mengobati radang sendi dan suplemen makanan untuk penguat sendi dan jaringan ikat.¹⁵ Membran kerabang merupakan sumber material alami yang mengandung senyawa bioaktif seperti *glucosamine*, *chondroitin sulphate*, *hyaluronic acid*, kolagen tipe I, dan protein yang kaya kandungan sulfur.¹⁶ *Chondroitin sulphate* berfungsi sebagai antiinflamasi dengan mengurangi sitokin proinflamasi serta mengurangi nyeri dan peradangan.¹⁷ *Glucosamine* memiliki potensi sebagai antiinflamasi dengan menekan aktivasi sel inflamasi.¹⁸ *Hyaluronic acid* berperan sebagai antiinflamasi dengan mengurangi produksi mediator inflamasi.¹⁹ Ekstrak membran kerabang itik memiliki potensi terapeutik pada konsentrasi 70-100%.²⁰ Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh aplikasi ekstrak membran kerabang itik (*Anas platyrhynchos*) konsentrasi 70% terhadap infiltrasi sel makrofag pada pulpa yang mengalami pulpitis reversibel.

METODE PENELITIAN

Persetujuan etik untuk penelitian ini diperoleh dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi - Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Gadjah Mada Prof. Soedomo. Penelitian ini menggunakan 45 ekor tikus *Sprague Dawley* yang dibagi menjadi tiga kelompok masing-masing 15 ekor. Kelompok pertama sebagai kelompok ekstrak, kelompok kedua sebagai kontrol positif dan kelompok ketiga sebagai kontrol negatif. Tikus *Sprague Dawley* dianestesi dengan menggunakan ketamin dosis 60 mg/kg BB secara intramuskular pada paha bagian atas untuk memberikan efek analgesik dan sedasi. Pada kondisi teranestesi, dilakukan

preparasi pada gigi molar pertama rahang atas menggunakan bur ujung bulat berdiameter 0,8 mm dengan kedalaman 0,8 mm. Selanjutnya, kavitas yang sudah terbentuk diiringi menggunakan akuades, dan dikeringkan dengan *paper point*.

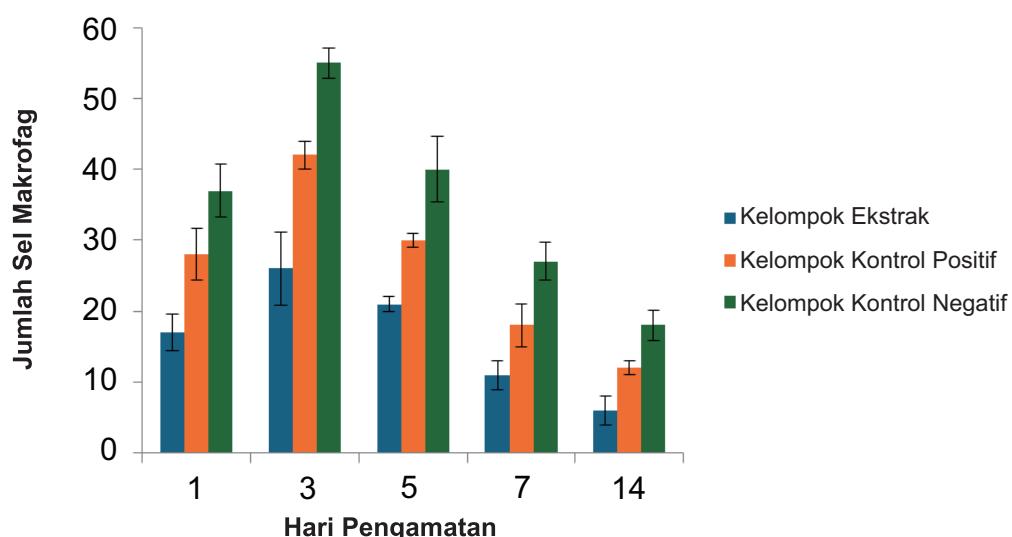
Kelompok kontrol positif diberi perlakuan dengan mengaplikasikan $\text{Ca}(\text{OH})_2$ sediaan pasta pada dasar kavitas yang telah dipreparasi kemudian ditumpat dengan SIK Fuji VII. Kelompok kontrol negatif tidak diberi perlakuan apapun pada kavitas hasil preparasi, kemudian langsung ditumpat dengan SIK Fuji VII. Kelompok ekstrak dengan menggunakan ekstrak membran kerabang itik konsentrasi 70%. Aplikasi ekstrak membran kerabang itik sebanyak 0,01 ml dilakukan dengan menggunakan *ball applicator*, diletakkan pada dasar kavitas yang telah dipreparasi, selanjutnya ditumpat dengan SIK Fuji VII. Tikus *Sprague dawley* didekapitasi dan diambil rahangnya pada hari ke-1, hari ke-3, hari ke-5, hari ke-7 dan hari ke-14 setelah perlakuan. Dekapitasi tikus *Sprague dawley* dilakukan dengan menginjeksikan ketamin 100 mg/kgBB (*overdosis*), untuk selanjutnya dibuat sediaan biologis. Penghitungan jumlah sel makrofag dilakukan menggunakan mikroskop cahaya dengan perbesaran 400X yang dilengkapi dengan kamera digital Optilab®. Setiap potongan jaringan histologis diamati dalam tiga lapang

pandang yang berbeda oleh tiga orang pengamat kemudian hasil pengamatan diambil rata-ratanya untuk dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas.

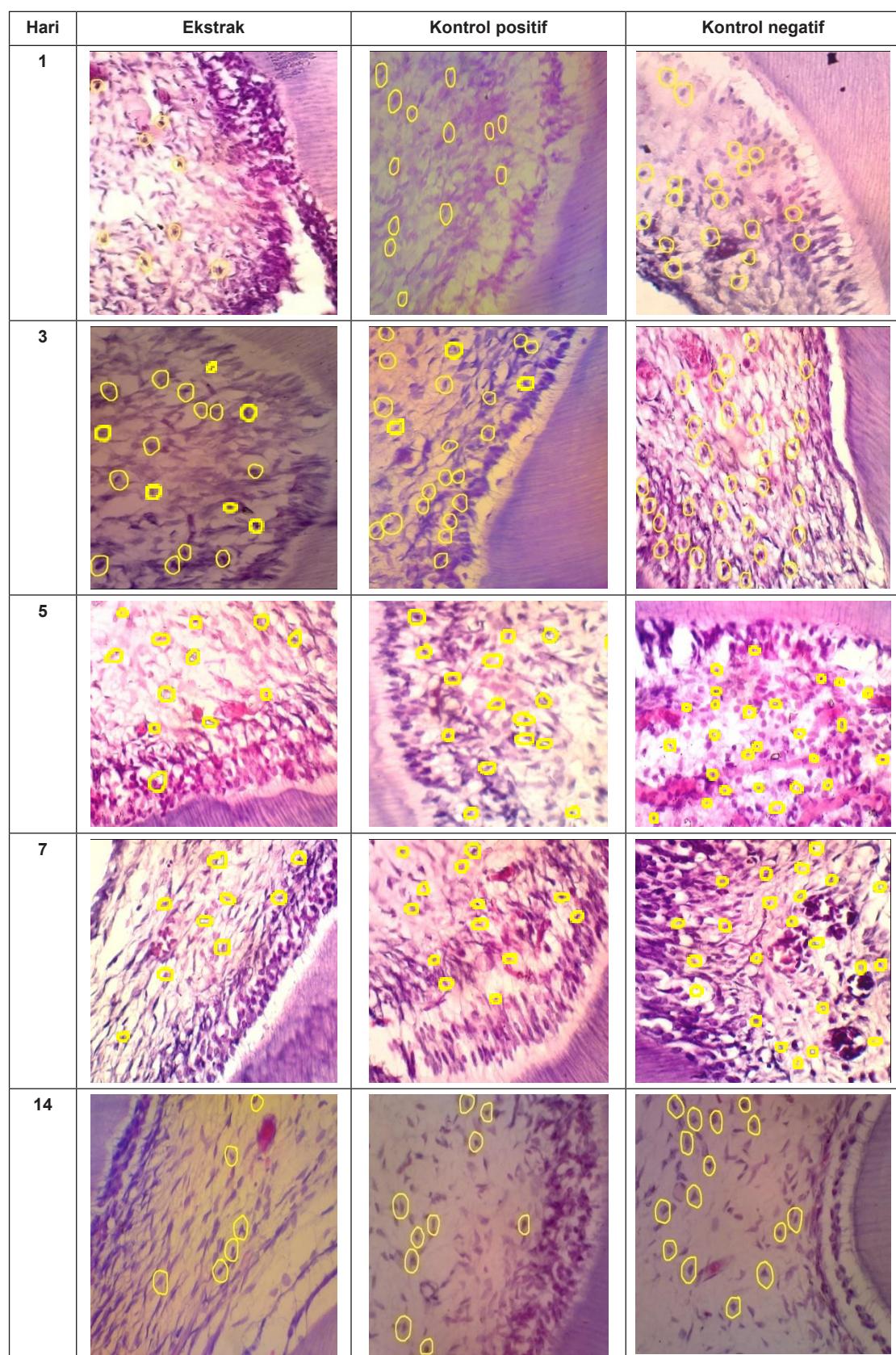
HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian pengaruh ekstrak membran kerabang itik konsentrasi 70% terhadap infiltrasi sel makrofag pada pulpitis reversibel dapat dilihat pada Gambar 1 dan 2. Gambar 1 menunjukkan rerata jumlah infiltrasi sel makrofag pada ketiga kelompok perlakuan. Pada hari ke-1 pasca preparasi gigi, sel makrofag sudah teridentifikasi pada kelompok ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif. Rerata jumlah sel makrofag paling banyak dapat diamati pada hari ke-3 pasca preparasi gigi. Jumlah sel makrofag pada hari ke-1 lebih sedikit dibandingkan hari ke-3 dan setelah hari ke-3 jumlah rerata sel makrofag semakin berkurang pada hari ke-5, ke-7 dan ke-14 pasca preparasi gigi. Jumlah rerata sel makrofag kelompok ekstrak pada setiap hari pengamatan memiliki jumlah paling sedikit dibandingkan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif.

Gambar 2 menunjukkan gambaran histologi infiltrasi sel makrofag pada pulpa kelompok ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif. Pada hari ke-1 terlihat bahwa makrofag sudah mulai menginfiltrasi area pulpa pada semua kelompok



Gambar 1. Rerata jumlah infiltrasi sel makrofag pada kelompok ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif



Gambar 2. Gambaran histologis infiltrasi sel makrofag (lingkaran) pada pulpa kelompok ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif pada hari ke-1, ke-3, ke-5, ke-7 dan ke-14 dengan pengecetan *Hematoxilin Eosin* (HE)

perlakuan. Pada hari ke-3 makrofag yang dapat diamati dibawah mikroskop tampak lebih banyak dibandingkan pada hari ke-1. Pengamatan hari ke-5, ke-7 dan ke-14 menunjukan sel makrofag yang teramat semakin menurun pada semua kelompok perlakuan. Sel makrofag yang terlihat di bawah mikroskop pada kelompok ekstrak di semua hari pengamatan memiliki jumlah yang paling sedikit dibandingkan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif.

Data dianalisis dengan menggunakan uji *Shapiro-wilk* dengan $p > 0,05$ dan *Levene's Test* dengan $p > 0,05$, selanjutnya dilakukan pengujian menggunakan ANOVA dua jalur dengan nilai $p < 0,05$. Terdapat perbedaan jumlah infiltrasi sel makrofag pasca induksi pulpitis reversibel yang signifikan antar waktu pengamatan serta antar kelompok. Hal tersebut mengindikasikan bahwa aplikasi ekstrak membran kerabang itik konsentrasi 70% menghasilkan pengaruh yang bermakna terhadap jumlah infiltrasi sel makrofag.

PEMBAHASAN

Jumlah sel makrofag pada kelompok ekstrak lebih sedikit dibandingkan dengan kelompok kontrol positif dan kontrol negatif. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh zat aktif yang terkandung pada ekstrak membran kerabang itik. *Chondroitin sulphate*, *glucosamine* dan *hyaluronic acid* pada membran kerabang memiliki efek antiinflamasi.²¹ *Chondroitin sulphate* dan *glucosamine* bersifat antiinflamasi dengan menurunkan produksi *cyclooxygenase-2* sehingga produksi mediator proinflamasi *prostaglandin E₂* yang berperan mengirimkan makrofag ke area jejas menurun.^{22,23,24} *Hyaluronic acid* bersifat antiinflamasi dengan menekan produksi *interleukin-1β* oleh sel netrofil yang berperan untuk meregulasi enzim COX-2, sehingga terjadi penurunan sekresi PGE₂ yang berperan dalam mengatur *Monocyte Chemoattractant Protein-1* yaitu kemokin untuk migrasi dan infiltrasi makrofag.^{23,25,26,27}

Sel netrofil akan mendatangi area jejas beberapa jam pasca preparasi gigi.⁶ Jejas yang terbentuk pasca preparasi gigi pada pulpa akan

menginisiasi sel odontoblas untuk memproduksi IL-8 yaitu kemoatraktan yang berperan untuk menginduksi kemotaksis netrofil. Netrofil akan mengalami marginasi yaitu bergerak di sepanjang tepi dinding endotel dan akhirnya akan melekat pada tepi endotel melalui *L-selectin* yang terdapat pada netrofil dengan P- dan E-*selectin* yang terdapat pada sel endotel. Sel ini akan masuk melalui celah antara sel endotel dan bertransmigrasi melalui *Intercellular Adhesion Molecule* dan *Vascular Cell Adhesion Molecule* menuju area jejas.^{6,28,29} Netrofil berfungsi untuk memfagositosis bakteri, sel yang mati dan debris seluler serta menghasilkan mediator inflamasi.⁵ Setelah fagositosis, netrofil menghasilkan berbagai produk sitokin seperti IL-1β, IL-1α, IL-8, *Tumor Necrosis Factor-α* dan *Transforming Growth Factor-β*.²⁵ IL-1β akan menginduksi enzim COX-2 yang berfungsi untuk memacu sekresi PGE₂ yang selanjutnya akan memacu MCP-1 yang berfungsi mendatangkan monosit yang berasal dari darah menuju ke area jejas dengan berikatan pada reseptor CCR2 pada dinding pembuluh darah.^{23,30,31,32,33} Monosit akan berpindah ke jaringan dan terdiferensiasi oleh *Granulocyte Macrophage-Colony Stimulating Factor* dan IL-4 menjadi *Antigen-Presenting Cell* (APC) yaitu sel yang mengekspresikan *Major Histocompatibility Complex* yang mengikat komponen antigenik seperti peptida dan dapat dikenali oleh sel T. Antigen yang masuk ke dalam jaringan akan ditangkap dan difagositosis oleh APC. Antigen tersebut kemudian didegradasi secara intraseluler oleh enzim proteolitik, kemudian dipresentasikan oleh molekul MHC pada permukaan APC dan akan dikenali oleh reseptor spesifik sel T *helper*. Selanjutnya, sel T *helper* akan memproduksi *interferon-γ* yang berfungsi untuk merekrut dan mengaktifasi makrofag.^{29,34,35}

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hari ke-1 pasca preparasi gigi kelompok ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif sudah tampak adanya infiltrasi sel makrofag pada pulpa. Jumlah sel makrofag tertinggi pada kelompok ekstrak, kontrol positif dan kontrol negatif tampak pada pengamatan hari ke-3 pasca terjadinya luka. Hal

ini sesuai dengan pernyataan bahwa sel makrofag tampak pada area luka sejak hari pertama pasca perlukaan karena makrofag merupakan APC yang ada pada pulpa normal.^{36,37} Setelah hari ke-3 pasca terjadinya luka, makrofag menjadi leukosit predominan pada area luka.⁶

Padapengamatanpreparatpulpagigitikushari ke-5, ke-7 dan ke-14 pasca preparasi gigi tampak jumlah sel makrofag mengalami penurunan. Mulai hari ke-5 terjadi penurunan jumlah sel makrofag, terjadi peningkatan vaskularisasi, peningkatan sel dan proliferasi jaringan granulasi.^{36,38} Penurunan jumlah sel makrofag menunjukkan bahwa fase inflamasi akan berakhir. Adanya penurunan tersebut disebabkan oleh terjadinya apoptosis sel makrofag setelah melakukan proses fagositosis.³⁹ Apoptosis makrofag diinduksi oleh TNF- α dan *growth factor*.⁴⁰ Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak membran kerabang itik konsentrasi 70% berpotensi sebagai antiinflamasi dengan menurunkan infiltrasi sel makrofag pada kondisi pulpitis reversibel.

KESIMPULAN

Aplikasi ekstrak membran kerabang itik (*Anas platyrhynchos*) konsentrasi 70% menyebabkan penurunan jumlah infiltrasi sel makrofag pada pulpa yang mengalami pulpitis reversibel. Pada penelitian lebih lanjut perlu dilakukan kontrol terhadap ketebalan dentin yang tersisa pada kavitas untuk menyamakan keparahan inflamasi yang terjadi.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada Kementerian Pendidikan dan Kebudayaan Republik Indonesia atas hibah dana penelitian dalam Program Kreativitas Mahasiswa yang menjadi pendukung finansial utama dalam penelitian ini. Kontribusi tersebut memungkinkan penulis untuk mengumpulkan data dan menganalisis temuan yang telah disajikan dalam jurnal ini. Penulis juga ingin mengucapkan terimakasih kepada Universitas Gadjah Mada yang telah memberikan dukungan berupa fasilitas untuk menyelenggarakan serangkaian penelitian.

DAFTAR PUSTAKA

1. DeLong L, Burkhardt NW. General and Oral Pathology for the Dental Hygienist. 2nd ed. Philadelphia: Lippincott Williams and Walkins; 2013. 553.
2. Hamre HJ, Mittag I, Glockmann A, Kiene H, Troger W. Pulpa dentis D30 for acute reversible pulpitis: a prospective cohort study in routine dental practice. Altern Ther Health Med. 2011; 17(1): 16-21.
3. Shi C, Palmer EG. Monocyte recruitment during infection and inflammation. Nat Rev Immunol. 2011; 11(11): 762-774. doi: 10.1038/nri3070
4. McCance KL, Huether SE. Pathophysiology the Biologic Basis for Disease in Adults and Children. Missouri: Elsevier Mosby; 2014. 208.
5. Hoffman GS, Longford CA, Weyand CM, Goronzy JJ. Inflammatory Diseases of Blood Vessels. Chichester: Blackwell Publisher Ltd; 2012. 32,71.
6. Flanagan M. The physiology of wound healing. J Wound Care. 2013; 9(6): 299-300. doi: 10.12968/jowc.2000.9.6.25994
7. Krysko DV, Vandebaele P. Phagocytosis of Dying Cells: from Molecular Mechanisms to Human Disease. Belgium: Springer Science; 2009. 194.
8. Tarigan R. Perawatan Pulpa (Gigi Endodonti). ed. 2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2002. 24, 99.
9. Hilton TJ. Keys to clinical success with pulp capping: a review of the literature. Oper Dent. 2009; 34(5): 615-25. doi: 10.2341/09-132-0
10. Mustafa M, Saujanya KP, Jain D, Sajjanshety S, Arun A, Uppin L, Kadri M. Role of Calcium Hydroxide in Endodontics: A Review. G J Med P H. 2012; 1(1): 66-70.
11. Gunawan S, Nugraheni T. Reseksi apikal dan pengisian retrograde dengan MTA pada insisivus maksila imatur pasca perawatan saluran akar. MKGK (Majalah Kedokteran Gigi Klinik) (Clinical Dental Journal) UGM. 2016; 2(2): 78-85.
12. Barrieshi-Nusair KM, Qudeimat MA. A prospective clinical study of mineral trioxide aggregate for partial pulpotomy in cariously

- exposed permanent teeth. *J Endod.* 2006; 32(8): 731-735.
doi: 10.1016/j.joen.2005.12.008
13. Murray PE, Garcia-Godoy F. The incidence of pulp healing defects with direct capping materials. *Am J Dent.* 2006; 19(3): 171-177.
 14. National Sosio-Economic Survey. Konsumsi Rata-Rata Perkapita Setahun Beberapa Bahan Makanan Di Indonesia [Internet]. 2009-2013 [cited 2015 April 05]. Available from: <http://www.pertanian.go.id/Indikator/tabel-15b-konsumsi-rata.pdf>
 15. Ruff KJ, DeVore DP, Leu MD, Robinson MA. Eggshell membrane: a possible new natural therapeutic for joint and connective tissue disorders, result from two open-label human clinical studies. *Clin Interv Aging.* 2009; 4: 235-40. doi: 10.2147/cia.s5797
 16. Ruff KJ, Endres JR, Clewell AE, Szabo JR, Schauss AG. Safety evaluation of a natural eggshell membrane-derived product. *Food Chem Toxicol.* 2012; 50(3-4): 604-611. doi: 10.1016/j.fct.2011.12.036
 17. Lovu MD, Dumais BS, Du Souich MDV. Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate. *Osteoarthritis Cartilage.* 2008; 16(S3): s14-18. doi: 10.1016/j.joca.2008.06.008
 18. Nagaoka I, Colleagues. Epithelial Cells Advances in Research and Application. Atlanta: Scholarly Edition; 2012. 209.
 19. Bayaty FA, Abdulla M, Hasan MIA, Masud M. Wound healing potential by hyaluronate gel in streptozotocin-induced diabetic rats. *Sci Res Essays.* 2010; 5(18): 2756-2760.
 20. Long FD, Adams RG, DeVore DP, Franklin MR. Therapeutic, nutraceutical and cosmetic applications for eggshell membrane and processed eggshell membrane preparations. United States Patent Application Publication. 2008; 10: 1-18.
 21. DeVore DP, Long FD. Anti-inflammatory Activity of Eggshell Membrane and Processed Eggshell Membrane Preparations. United States Patent. 2013; 1-18.
 22. Henrotin Y, Mobasher A, Marty M. Is there any scientific evidence for the use of glucosamine in the management of human osteoarthritis?. *Arthritis Res Ther.* 2012; 14(1): 1-10. doi: 10.1186/ar3657
 23. Tajima T, Murata T, Aritake K, Urade Y, Hirai H, Nakamura M, Ozaki H, Hori M. Lipopolysaccharide induces macrophage migration via prostaglandin D(2) and Prostaglandin E(2). *J Pharmacol Exp Ther.* 2008; 326(2): 493-501. doi: 10.1124/jpet.108.137992
 24. Egea J, Garcia AG, Verges J, Montell E, Lopez MG. Antioxidant, antiinflammatory and neuroprotective actions of chondroitin sulfate and proteoglycans. *Osteoarthritis Cartilage.* 2010; 18(S1): s24-s27. doi: 10.1016/j.joca.2010.01.016
 25. Cassatella MS. The Neutrophil An Emerging Regulator of Inflammatory And Immune Response. Switzerland: Karger; 2002. 65, 88.
 26. Altman RD, Manjoo A, Fierlinger A, Niazi F, Nicholls M. The mechanism of action for hyaluronic acid treatment in the osteoarthritic knee: a systematic review. *BMC Musculoskeletal Disord.* 2015; 16: 1-10. doi: 10.1186/s12891-015-0775-z
 27. Necas J, Bartosikova L, Brauner P, Kolar J. Hyaluronic acid (hyaluronan): a review. *Vet Med.* 2008; 53(8): 397-411.
 28. Farges JC, Licht BA, Renard E, Ducret M, Gaudin A, Smitg AJ, Cooper PR. Dental pulp defence and repair mechanisms in dental caries. *Mediators Inflamm.* 2015; 1-16. doi: 10.1155/2015/230251
 29. Haegreaves KM, Goodis HE. Seltzer and Bender's Dental Pulp. Chicago: Quintessence Publishing Co; 2002. 229, 251, 252.
 30. Bagetta G, Corasaniti NT, Sakurada T, Sakurada S. International Review of Neurobiology Advances In Neuropharmacology Volume 85. New York: Elsevier Inc; 2009. 182.
 31. Shi C, Pamer EG. Monocyte recruitment during infection and inflammation. *Nat Rev Immunol.* 2011; 11(11): 762-774. doi: 10.1038/nri3070
 32. Hargreaves KM, Berman LH. Cohen's Pathways of The Pulp. 11th ed. Missouri: Elsevier; 2016. 392.

33. Engel DR, Maurer J, Tittel AP, Weisheit C, Cavlar T, Schumak B, Limmer A, Rooijen NV, Trautwein C, Tacke F, Kurts C. CCR2 mediates homeostatic and inflammatory release of Gr1 high monocyte from the bone marrow, but is dispensable for bladder infiltration in bacterial urinary tract infection. *J Immunol.* 2008; 181(8): 5579-5586. doi: 10.4049/jimmunol.181.8.5579
34. Gordon S, Taylor PR. Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nat Rev Immunol.* 2005; 5(12): 953-964. doi: 10.1038/nri1733
35. Austyn JM. Antigen-presenting cells: experimental and clinical studies of dendritic cells. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000; 162(4 Pt 2): S146-50. doi:10.1164/ajrccm.162.supplement_3.15tac1a
36. Shechter R, Miller O, Yovel G, Rosenzweig N, London A, Ruckh J, Kim KW, Klein E, Kalchenko V, Bendel P, Lira SA, Jung S, Schwartz M. Recruitment of beneficial M2 macrophages to injured spinal cord is orchestrated by remote brain choroid plexus. *Immunity.* 2013; 38(3): 555-569. doi: 10.1016/j.jimmuni.2013.02.012
37. Yu C, Abbott PV. An overview of the dental pulp: its functions and responses to injury. *Aust Dent J.* 2008; 52(1): s4-s6. doi: 10.1111/j.1834-7819.2007.tb00525.x
38. Lucas T, Waisman A, Ranjan R, Roes J, Krieg T, Muller W, Roers A, Eming SA. Differential roles of macrophages in diverse phases of skin repair. *J Immunol.* 2010; 184(7): 3964-3977. doi: 10.4049/jimmunol.0903356
39. Kirschnek S, Ying S, Fischer SF, Hacker H, Villunger A, Hochrein H, Hacker G. Phagocytosis-induced apoptosis in macrophages is mediated by up-regulation and activation of the Bcl-2 homology domain 3-Only Protein Bim. *J Immunol.* 2005; 174(2): 671-679. doi: 10.4049/jimmunol.174.2.671
40. Seimon T, Tabas I. Mechanisms and consequences of macrophage apoptosis in atherosclerosis. *J Lipid Res.* 2009; 50: S382-7. doi: 10.1194/jlr.R800032-JLR200