

Aus dem Institut für Zahn-, Mund- und Kieferheilkunde  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Antimicrobial effects of mastic extract against oral and periodontal  
pathogens

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae dentariae (Dr. med. dent.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Stefka Koychev

aus Plovdiv, Bulgarien

Datum der Promotion: 02.03.2018

## Inhaltsverzeichnis

Abstrakt in Deutsch.....	3
Abstrakt in Englisch .....	4
Anteilerklärung / Eidesstattliche Versicherung.....	5
Auszug aus der Journal Summary List.....	7
Publikation .....	8
Lebenslauf .....	21
Danksagung.....	24

## ABSTRAKT

### Ziel

Zahlreiche antimikrobielle Substanzen werden in der Prävention und Therapie der Parodontitis eingesetzt. Allerdings deren potenzielle Nebenwirkungen und die Entstehung von Drugresistenz haben die Suche nach natürlichen Substanzen gerechtfertigt. In der vorliegenden Studie wurden antimikrobielle Eigenschaften auf kommensale und pathogene orale Bakterien sowie potentielle zytotoxische Wirkungen des Mastix-Extrakts auf epitheliale und mesenchymale Zellen im Vergleich zu den antimikrobiellen Substanzen Wasserstoffperoxid (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) und Chlorhexidindigluconat (CHX) untersucht.

### Material und Methoden

Orale Pathogene (*P. gingivalis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *P. intermedia* und *P. nigrescens*) wurden mit steigenden Konzentrationen von Mastix-Extrakt (1 %, 2 % und 3 %), sowie mit 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und 0,2 % CHX behandelt und mittels Agar-Diffusionstest ausgewertet. Die zytotoxischen Effekte von Mastix-Extrakt wurden mittels Neutralrot- und 2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl) -2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide Test (XTT) auf epitheliale und mesenchymale (HaCaT, SaOS-2, MC3T3-E1 und PDL) Zellen getestet.

### Ergebnisse

Mastix-Extrakt hemmte statistisch signifikant ( $p \leq 0.016$ ) alle getestete Bakterien im Vergleich zu H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, außer *S. mutans*. Mastix-Extrakt zeigte im Vergleich zu CHX und H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> bessere Effekte auf die Lebensfähigkeitswerte der getesteten Zellen ( $p \leq 0.016$ ).

### Schlussfolgerung

Die dargestellten Daten zeigen, dass Mastix-Extrakt eine mit H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> vergleichbare antibakterielle Wirkung und darüber hinaus eine geringe Zytotoxizität aufweist. Somit kann Mastix-Extrakt als eine Alternative in der Prophylaxe und Therapie parodontal-entzündlicher Erkrankungen in Betracht gezogen werden.

## ABSTRACT

### Background

Numerous antimicrobial agents are used in the therapy of oral inflammatory diseases. However various side effects and the manifestation of drug resistance justify research on natural antimicrobial agents. In the present study, antimicrobial properties of mastic extract on commensal and pathogenic oral bacteria, as well as its possible cytotoxic effect toward cells of epithelial and mesenchymal origin, were evaluated in comparison to the common antimicrobial agents hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) and chlorhexidine digluconate (CHX).

### Methods

Several different oral and periodontal pathogens (*P. gingivalis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *P. intermedia*, and *P. nigrescens*) were treated with diverse concentrations of mastic extract, 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and 0.2 % CHX. Their antibacterial potential was assessed with an agar diffusion test. The possible cytotoxic effect of mastic extract was tested on 4 cell lines of epithelial, as well as mesenchymal origin (HaCaT, SaOS-2, MC3T3-E1, PDL-cells), by neutral red and 2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfophenyl)-2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide assay (XTT assay).

### Result

Mastic extract showed significantly ( $p \leq 0.016$ ) increased inhibition of the tested periodontal pathogens compared with H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. On *S. mutans* was no effectiveness of mastic extract to detect. Mastic extract showed profitable impact on cell viability, as viability values of tested cells were significantly ( $p \leq 0.016$ ) lower for the cells treated with CHX and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> compared with mastic extract-treated cells after stimulation for 2, 4, and 6 hours.

### Conclusion

The present data displays inhibition of periodontal pathogens, but on the other side beneficial effects on cell viability, related to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. The results of this study suggest that mastic extract could be considered as a natural alternative antibacterial agent in the prevention and prophylaxis of periodontal disease.

## Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Stefka Koychev, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: **Antimicrobial effects of mastic extract against oral and periodontal pathogens**, selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -[www.icmje.org](http://www.icmje.org)) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuerin, angegeben ist.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

\_\_\_\_\_  
Unterschrift

## **Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation**

Frau Stefka Koychev, geboren in Plovdiv, Bulgarien, hatte folgenden Anteil an der Publikation:

Stefka Koychev, Henrik Dommisch, Hong Chen, Nicole Pischon. Antimicrobial effects of mastic extract against oral and periodontal pathogens. Journal of Periodontology 2017 May;88(5):511-517

Beitrag im Einzelnen:

Die Studie wurde von PD Dr. med. Nicole Pischon konzipiert. Die Literaturrecherche wurde selbstständig durch Frau Koychev durchgeführt. Ab der Planungsphase der praktischen Umsetzung führte Frau Koychev folgende

Aufgaben durch:

- Beschaffung, sowie Inkubation der oralen Pathogene (*P. gingivalis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *P. intermedia* und *P. nigrescens*), und der epithelialen und mesenchymalen Zellen (HaCaT, SaOS-2, MC3T3-E1 und PDL) in Laborbedingungen.
- Etablierung der Mastix-Konzentrationen: von 0.5 bis 10%. Da Konzentrationen von unter 1 % Mastix-Extrakt keinen Effekt auf das Wachstum der o.g. Bakterien ausgeübt haben und andererseits Konzentrationen von über 3% Mastix-Extrakt sehr zytotoxisch waren, wurden in den folgenden Experimenten Konzentrationen von 1, 2 und 3% eingesetzt.
- Durchführung der Experimente und Auswertung der bakteriostatischen Effekte von Mastix-Extrakt, 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und 0,2 % CHX mittels Agar-Difussionstest auf

verschiedenen der oralen Pathogene (*P. gingivalis*, *S. mutans*, *S. oralis*, *A. actinomycetemcomitans*, *F. nucleatum*, *P. intermedia* und *P. nigrescens*).

- Durchführung der Experimente und Auswertung der zytotoxischen Effekte von Mastix-Extrakt, 3 % H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> und 0,2 % CHX mittels Neutralrot- und 2,3-Bis-(2-Methoxy-4-Nitro-5-Sulfo-phenyl) -2H-Tetrazolium-5-Carboxanilide Test (XTT) auf epitheliale und mesenchymale (HaCaT, SaOS-2, MC3T3-E1 und PDL) Zellen.
- Statistische Auswertung mittels dem unpaired two-sides t-Test, nach Adjustierung mit der Bonferroni Korrektur.

Ein Teil dieser Arbeit wurde von Frau Koychev auf den folgenden Kongressen vorgesehlt: EuroPerio8 2015 und DGParo Jahrestagung 2016.

Frau Koychev war ebenfalls hauptverantwortlich für die Verfassung des Artikels, den sie unter Supervision von Frau PD Dr. med. Nicole Pischon erstellte. Alle Koautoren gaben hilfreiches Feedback, vor allem bei der Verfassung der Diskussion, wodurch der Artikel letztlich in seine endgültige Fassung gebracht werden konnte.

Unterschrift, Datum und Stempel der betreuenden Hochschullehrerin

---

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

---

# Auszug aus der Journal Summary List

JCR-Web 4.5 Journal Summary List

Seite 1 von 2

ISI Web of Knowledge<sup>SM</sup>

Journal Citation Reports<sup>®</sup>

[WELCOME](#) [? HELP](#)

2015 JCR Science Edition

Journal Summary List

[Journal Title Changes](#)

Journals from: **subject categories DENTISTRY, ORAL SURGERY & MEDICINE** [VIEW CATEGORY SUMMARY LIST](#)

Sorted by:

Journals 1 - 20 (of 91)

[ 1 | 2 | 3 | 4 | 5 ]

Page 1 of 5

Ranking is based on your journal and sort selections.

Mark	Rank	Abbreviated Journal Title <i>(linked to journal information)</i>	ISSN	JCR Data <sup>i</sup>						Eigenfactor <sup>®</sup> Metrics <sup>j</sup>	
				Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	Articles	Cited Half-life	Eigenfactor <sup>®</sup> Score	Article Influence <sup>®</sup> Score
<input type="checkbox"/>	1	PERIODONTOL 2000	0906-6713	3376	4.949	5.108	1.311	45	9.7	0.00441	1.503
<input type="checkbox"/>	2	J DENT RES	0022-0345	16401	4.602	5.024	0.837	233	9.9	0.02345	1.541
<input type="checkbox"/>	3	ORAL ONCOL	1368-8375	7291	4.286	3.752	0.969	159	6.2	0.01490	1.131
<input type="checkbox"/>	4	CLIN IMPLANT DENT R	1523-0899	3161	4.152	4.500	0.452	199	4.6	0.00771	1.301
<input type="checkbox"/>	5	DENT MATER	0109-5641	10324	3.931	4.667	0.674	187	7.2	0.01364	1.039
<input type="checkbox"/>	6	J CLIN PERIODONTOL	0303-6979	11767	3.915	4.435	0.658	155	9.5	0.01397	1.242
<input type="checkbox"/>	7	CLIN ORAL IMPLAN RES	0905-7161	11968	3.464	4.522	0.619	236	7.2	0.01695	1.120
<input type="checkbox"/>	8	J DENT	0300-5712	6199	3.109	3.254	0.543	184	6.7	0.01129	0.897
<input type="checkbox"/>	9	MOL ORAL MICROBIOL	2041-1006	577	3.061	3.092	1.028	36	3.3	0.00261	0.992
<input type="checkbox"/>	10	J ENDODONT	0099-2399	12519	2.904	3.357	0.394	335	6.7	0.01609	0.659
<input checked="" type="checkbox"/>	11	J PERIODONTOL	0022-3492	14268	2.844	3.113	0.727	161	>10.0	0.01328	0.854
<input type="checkbox"/>	12	INT ENDOD J	0143-2885	5253	2.842	2.794	0.928	139	7.7	0.00871	0.849
<input type="checkbox"/>	13	J OROFAC PAIN	1064-6655	1280	2.824	2.678		0	9.9	0.00194	0.897
<input type="checkbox"/>	14	OPER DENT	0361-7734	2593	2.819	2.207	0.537	95	7.9	0.00346	0.577
<input type="checkbox"/>	15	INT J ORAL SCI	1674-2818	678	2.595	3.203	0.406	32	3.8	0.00252	0.941
<input type="checkbox"/>	16	J PERIODONTAL RES	0022-3484	3662	2.474	2.394	0.622	98	9.1	0.00494	0.664
<input type="checkbox"/>	17	J ORAL FACIAL PAIN H	2333-0384	102	2.444	2.444	0.359	39	1.4	0.00040	0.740
<input type="checkbox"/>	18	EUR J ORAL IMPLANTOL	1756-2406	648	2.328	3.736	0.214	28	4.4	0.00242	1.143
<input type="checkbox"/>	19	CARIES RES	0008-6568	3746	2.278	3.174	0.397	78	>10.0	0.00465	0.895
<input type="checkbox"/>	20	COMMUNITY DENT ORAL	0301-5661	3686	2.233	2.357	0.311	61	>10.0	0.00407	0.768

Journals 1 - 20 (of 91)

[ 1 | 2 | 3 | 4 | 5 ]

Page 1 of 5

## **Antimicrobial Effects of Mastic Extract against Oral and Periodontal Pathogens**

<http://dx.doi.org/10.1902/jop.2017.150691>





























Mein Lebenslauf ist in der elektronischen Version der Dissertation aus datenschutzrechtlichen Gründen nicht enthalten





## **Danksagung**

Ein besonderer Dank gilt meiner Doktormutter Frau PD Dr. med. Nicole Pischon und dem Leiter der Abteilung für Parodontologie und Synoptische Medizin Prof. Dr.med. Henrik Dommisch für die tatkräftige Unterstützung während der Experimenten und der Veröffentlichung dieser Arbeit. Desweiteren möchte ich mich bei Frau Verena Kanitz bedanken, die mir bei der Einarbeitung und Experimenten behilflich war und stets ein offenes Ohr für mich hatte. Ein weiterer Dank richtet sich an Firma Arkadia AG und DAAD (Deutscher Akademischer Austauschdienst) für die finanzielle Unterstützung. Ein ganz besonderer Dank gilt meiner Familie und meinem Ehemann, die während der Experimenten und bei der Fertigstellung der Dissertation häufig auf mich verzichten mussten und mich trotzdem jederzeit motivierten und unterstützten. Desweiteren waren sie auch in schweren Zeiten gute Ratgeber.