Original Article
Archive of SID
Crossref

Journal of
Isfahan Dental School

2022; 17(4): 369-375

Titer and Prevalence of *Fusobacterium Nucleatum* in Histological Section of Human Oral Epithelial Cells in Patients with Chronic Periodontitis

Roya Yahyaabadi[1]
Atousa Aminzadeh Gohari[2]
Shirin Zahra Farhad[3]
Mehrnoush Ebrahimi Dastgerdi[4]

1. Dental Graduate Student, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan AND Assistant Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, Shahrekord School of Dentistry, Shahrekord Medical University, Shahrekord, Iran.
2. **Corresponding Author:** Associate Professor, Department of Oral and Maxillofacial Pathology, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran. **Email:** a.aminzadeh@khuisf.ac.ir
3. Assistant Professor, Department of Periodontics, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.
4. Post Graduation Student, Department of Periodontics, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran.

Abstract

Introduction: Anaerobic bacteria in the oral microbial flora are involved in many infections of the oral cavity and surrounding structures. *Fusobacterium nucleatum* is believed to differ from other bacteria in its interaction with oral mucosal epithelial cells. The aim of this study was to determine the prevalence of *Fusobacterium nucleatum* in the epithelial cells of the oral mucosa of patients with periodontitis compared with healthy individuals.

Materials & Methods: In this case–control study, Realtime-PCR technique used to detect the *Fusobacterium nucleatum* in gingival samples of 15 patients with chronic periodontitis and 15 individuals with clinically healthy gingival specimens. The results analyzed by Fisher's exact and Independent t-tests with a significance level of less than 0.05.

Results: The Fisher's exact test showed that the *F.nucleatum* in patients with periodontitis was higher than the healthy population. Also Independent t-test showed that average titer of bacteria in patients with Periodontitis was significantly more than people without gingival inflammation (p value < 0.001).

Conclusion: There is a statistically significant relationship between periodontitis and the presence of *F.nucleatum* in epithelial cells of oral mucosa.

Key words: *Fusobacterium nucleatum*, Oral mucosa, Periodontitis, Multiplex PCR.

Received: 10.05.2021 **Revised**: 11.08.2021 **Accepted:** 11.09.2021

How to cite: Yahyaabadi R, Aminzadeh Gohari A, Farhad ShZ, Ebrahimi Dastgerdi M. Titer and Prevalence of *Fusobacterium Nucleatum* in Histological Section of Human Oral Epithelial Cells in Patients with Chronic Periodontitis. J Isfahan Dent Sch 2022; 17(4): 369-375.

www.SID.ir

مقاله اصیل پژوهشی
Archive of SID
Crossref

مجله دانشکده
دندان‌پزشکی اصفهان
۱۴۰۰؛ ۱۷(۴): ۳۶۹ تا ۳۷۵

شناسایی و فراوانی فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در مقاطع هیستولوژیک سلول‌های اپی‌تلیالی مخاط دهان مبتلایان به پریودنتیت مزمن

رویا یحیی‌آبادی[۱]
آتوسا امین‌زاده گوهری[۲]
شیرین زهرا فرهاد[۳]
مهرنوش ابراهیمی دستگردی[۴]

۱. دانش‌آموخته‌ی دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان و استادیار، گروه تخصصی آسیب‌شناسی دهان، فک و صورت، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران.
۲. **نویسنده مسؤول:** دانشیار، گروه تخصصی آسیب‌شناسی دهان، فک و صورت، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
Email: a.aminzadeh@khuisf.ac.ir
۳. ستادیار، گروه پریودنتیکس، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.
۴. دستیار تخصصی، گروه تخصصی پریودنتیکس، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اصفهان (خوراسگان)، اصفهان، ایران.

چکیده

مقدمه: در ایجاد بسیاری از عفونت‌های حفره‌ی دهان و ساختمان‌های مجاور آن، باکتری‌های بی‌هوازی موجود در فلور میکروبی دهان نقش دارند. اعتقاد بر این است که تفاوت فوزوباکتریوم نوکلئاتوم با سایر باکتری‌ها، در تداخل آن با سلول‌های اپی‌تلیوم مخاط دهان می‌باشد. هدف از این مطالعه، تعیین وضعیت حضور باکتری فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در سلول‌های اپی‌تلیالی مخاط دهان افراد مبتلا به پریودنتیت در مقایسه با افراد سالم بود.

مواد و روش‌ها: این مطالعه‌ی مورد- شاهدی، بر روی ۱۵ نمونه‌ی لثه‌ی بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن و ۱۵ نمونه‌ی لثه با ظاهر کلینیکی سالم انجام شد. برای تشخیص حضور فوزوباکتریوم نوکلئاتوم از تکنیک Realtime-PCR استفاده گردید. نتایج با استفاده از آزمون آماری Fisher's Exact و Independent t-test و سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

یافته‌ها: آزمون Fisher's Exact نشان داد که شانس حضور فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در گروه مورد، به طور معنی‌دار بیشتر از گروه شاهد بوده است. همچنین آزمون Independent t-test نشان داد که میانگین تعداد فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در افراد مبتلا به پریودنتیت، به طور معنی‌دار بیشتر از افراد غیر مبتلا بود (p value < ۰/۰۰۱).

نتیجه‌گیری: بین پریودنتیت و حضور باکتری فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در سلول‌های اپی‌تلیالی مخاط دهان، رابطه وجود داشت.

کلید واژه‌ها: فوزوباکتریوم نوکلئاتوم، پریودنتیت، مخاط دهان، PCR متعدد.

تاریخ ارسال: ۱۴۰۰/۰۲/۲۰ تاریخ اصلاح: ۱۴۰۰/۰۵/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۶/۲۰

استناد به مقاله: یحیی‌آبادی رویا، امین‌زاده گوهری آتوسا، فرهاد شیرین زهرا، ابراهیمی دستگردی مهرنوش. شناسایی و فراوانی فوزوباکتریوم نوکلئاتوم در مقاطع هیستولوژیک سلول‌های اپی‌تلیالی مخاط دهان مبتلایان به پریودنتیت مزمن. مجله دانشکده دندانپزشکی اصفهان. ۱۴۰۰؛ ۱۷(۴): ۳۶۹-۳۷۵.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

یکی از گونه‌های شایع در سالکوس لثه‌ی انسان، باکتری میله ای- دوکی شکل گرم منفی بی‌هوازی فوزوباکتریوم نوکلئاتوم (*F.nucleatum*) است که از میکروب‌های بومی حفره‌ی دهان محسوب می‌شود. *F.nucleatum* در شرایط عادی، به ندرت در سایر نقاط بدن تشخیص داده می‌شود، ولی تحت شرایط بیماری، یکی از رایج‌ترین گونه‌هایی است که در مکان‌های خارج دهانی یافت می‌گردد. شیوع این باکتری با شدت پریودنتیت و پیشرفت التهاب افزایش می‌یابد. این باکتری به دلیل دارا بودن خاصیت چسبندگی و تهاجم به درون سلول‌های اپی‌تلیالی مخاط دهان مورد توجه بسیاری از تحقیقات قرار گرفته است (۳-۱).

F. nucleatum در پریودنتیت، پاسخ میزبان را مستقیماً شکل داده و عفونت سایر عوامل بیماری‌زا را افزایش می‌دهد (۴) و به عنوان پریوپاتوژن کلیدی در کلونیزاسیون باکتریایی پلاک میکروبی نقش دارد، به گونه‌ای که در صورت عدم حضور *F.nucleatum* کلونیزه کننده‌های ثانویه نظیر *P.gingivalis* به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابند (۲، ۵). همچنین چسبندگی و تهاجم *P.gingivalis* و *A. actinomycetemcomitans* به سلول‌های Ca9-22 اپی تلیال را تسهیل نموده و بر پاسخ ایمنی ذاتی (فعال شدن IL-8 و hBD-2) اثر منفی می‌گذارد (۶).

این پاتوژن، موجب فعال شدن التهاب از طریق افزایش IL-1β و انتشار Damage-associated molecular patterns (DAMPs) در سلول‌های اپی‌تلیالی لثه شده، جذب ماکروفاژها در بافت‌های مختلف دهان و فعال شدن استئوکلاست‌ها را به دنبال دارد (۷، ۸).

مطالعات اخیر، ارتباط معنی‌دار پریوپاتوژن‌ها و باکتریوم های التهابی مانند *F.nucleatum* با *Squamous cell carcinoma* دهان، آتروسکلروزیز و سرطان در سایر اندام‌ها را تأیید و *F.nucleatum* را به عنوان ریسک فاکتور سرطان های حفره‌ی دهان معرفی نموده‌اند (۵-۱۳).

شواهد بسیاری در ارتباط پریودنتیت و زایمان زودرس در دست است. از آن‌جایی که *F.nucleatum* جداسازی شده از نمونه‌های مربوط به جفت، مایع آمینوتیک و غشاهای کوریوآمینوتیک در مادران با زایمان زودرس بسیار شبیه به *F.nucleatum* دهانی می‌باشند، ممکن است رحم در معرض این باکتری‌ها و محصولات آن‌ها (مثل لیپوپلی‌ساکارید) قرار بگیرد (۱۴-۱۷).

نتایج مطالعه‌ای که اخیراً منتشر شده، سطوح بالاتر *F.nucleatum* را در افراد با سن کمتر از ۵۶ سال گزارش نموده، (۱۸) و با توجه به این که توانایی القای آپوپتوز و مهاجرت سلول‌های اپی‌تلیالی و القای انتقال اپی‌تلیالی- مزانشیمی این باکتری در ایجاد شرایطی نظیر سرطان ناحیه‌ی دهان، سرطان‌های دستگاه گوارش و زایمان زودرس مؤثر هستند (۱۹). به نظر می‌رسد کشف زودهنگام این پریوپاتوژن در مخاط دهان، به عنوان محیط کلونیزاسیون اصلی باکتری، در پیشگویی و حتی پیشگیری در برابر سایر بیماری‌ها و عوارض آن‌ها که بسیار خطرناک هستند، مفید واقع شود. در صورتی که حضور *F.nucleatum* و تغییرات هیستوپاتولوژیک متعاقب آن در نمونه‌های مبتلا به پریودنتیت یافت شود، انجام برنامه‌های مراقبت بهداشت دهان و دندان مورد تأکید قرار خواهد گرفت.

تاکنون بررسی حضور داخل سلولی باکتری‌ها در نمونه‌ی انسانی فقط برای دو باکتری *A. actinomycetemcomitans* و *P. gingivalis* انجام شده است (۲۰).

هدف از این مطالعه، بررسی حضور و نفوذ باکتری *F.nucleatum* در سلول‌های اپی‌تلیالی لثه‌ی افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن در مقایسه با افراد سالم می‌باشد. به نظر می‌رسد که بین وضعیت حضور و فراوانی باکتری *F.nucleatum* در سلول‌های اپی‌تلیالی لثه‌ی مبتلایان به پریودنتیت در مقایسه با افراد سالم تفاوت وجود ندارد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه‌ی مورد- شاهدی و مقطعی، تعداد ۱۵ نمونه از بیماران مبتلا به پریودنتیت مزمن (دارای التهاب لثه به همراه از

www.SID.ir

Archive of SID

دست رفتن چسبندگی کلینیکی بیشتر از ۴ میلی‌متر) که به منظور جراحی لثه به بخش جراحی لثه‌ی دانشگاه آزاد اسلامی واحد خوراسگان و مراکز خصوصی مراجعه کردند به عنوان گروه مورد و همچنین گروهی از بیماران با لثه‌ی سالم از نظر بالینی و فاقد علایم التهاب لثه که به منظور افزایش طول کلینیکی تاج مراجعه کرده بودند، ۱۵ نمونه به عنوان گروه شاهد انتخاب شدند. کلیه‌ی بیماران در محدوده‌ی سنی ۲۵-۴۵ سال بودند. سیگاری و باردار نبوده و داروی خاصی مصرف نمی‌کردند. همچنین طی ۶ ماه گذشته، آنتی‌بیوتیک دریافت نکرده و درمان پریودنتالی انجام نداده بودند.

نمونه‌برداری توسط متخصص جراحی لثه تحت بی‌حسی موضعی انجام شد و نمونه‌ها بلافاصله پس از جراحی در فرمالین بافر شده‌ی خنثی (مجتمع صنایع شیمیایی دکتر مجللی، تهران، ایران) (pH = ۷) قرار گرفت و ظرف ۱ ساعت به آزمایشگاه پاتولوژی منتقل شد و در کمتر از ۲۴ ساعت در آزمایشگاه طی مراحل روتین پروسس بافتی به صورت بلوک های پارافینی درآمد.

سپس برش نمونه‌ها جهت استخراج DNA و واکنش زنجیره‌ای پلیمراز انجام شد. میزان باندهای افزایش یافته توسط دستگاه Real time PCR مجهز به سیستم فلورسنت genesig Advanced Kit; Primerdesign Ltd,) Camberley, UK) خوانش شد.

نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۲ (version 22, IBM Corporation, Armonk, NY) و آزمون (Fisher's Exact) و آزمون (Independent t-test) به منظور تجزیه و تحلیل آماری، با سطح معنی‌داری کمتر از ۰/۰۵، مورد استفاده قرار گرفت. این طرح پژوهشی با کد پایان‌نامه‌ی ۲۳۸۱۰۲۰۱۹۱۱۰۱۳ انجام شده است.

یافته‌ها

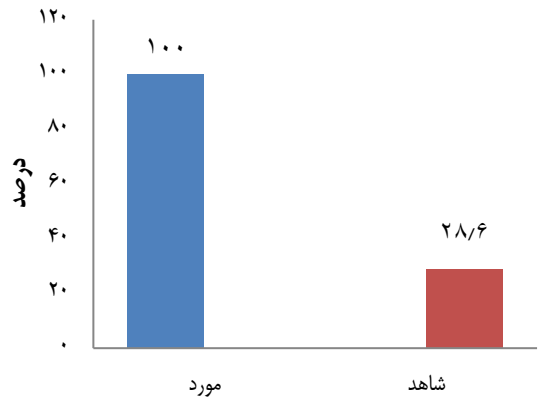
مطالعه‌ی مذکور بر روی ۳۰ عدد نمونه (۱۵ نمونه‌ی مبتلا به پریودنتیت مزمن و ۱۵ نمونه‌ی سالم) انجام شد (جدول ۱).

آزمون Independent t-test نشان داد که میانگین (*F.nucleatum*) در افراد مبتلا به پریودنتیت به طور معنی داری بیشتر از افراد غیرمبتلا بود (p value < ۰/۰۰۱) به عبارت دیگر می‌توان با اطمینان ۰/۹۹۹ نتیجه گرفت که بین التهاب لثه و حضور (*F.nucleatum*) رابطه وجود دارد (جدول ۱).

جدول ۱: میانگین (*F.nucleatum*) در دو گروه مبتلا و غیر مبتلا به التهاب لثه

شاخص آماری	گروه مورد	گروه شاهد	p value
میانگین	۹۹۳/۳	۲۳/۹	< ۰/۰۰۱
انحراف معیار	۱۴۶/۷	۱۵/۴	
حداقل	۹۰	۰	
حداکثر	۲۱۰۰	۲۰۰	

در ۱۰۰ درصد (تمامی) نمونه‌های گروه مورد و ۲۸/۶ درصد نمونه‌های گروه شاهد، *F.nucleatum* مثبت بود و آزمون Fisher's Exact نشان داد که درصد مثبت شدن (*F.nucleatum*) در گروه مورد به طور معنی‌داری بیشتر از گروه شاهد می‌باشد (نمودار ۱).



نمودار ۱: درصد مثبت بودن *F.nucleatum* در دو گروه

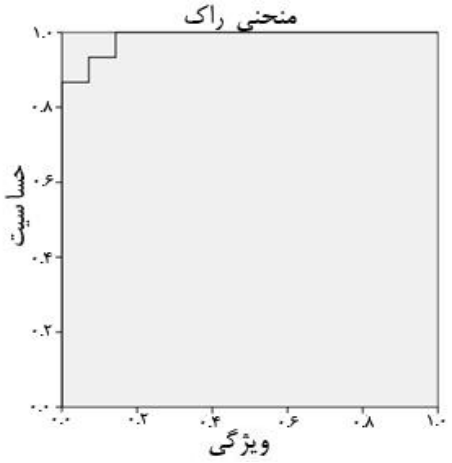
با توجه به این که میانگین (*F.nucleatum*) در دو گروه مبتلا به پریودنتیت و غیر مبتلا، به طور معنی‌داری باهم تفاوت داشت، مقدار (*F.nucleatum*) می‌تواند جهت تمایز افراد

www.SID.ir

Archive of SID

مبتلا به پریودنتیت از غیر مبتلا ارزش تشخیصی خوبی داشته باشد. برای نیل به این هدف، از ROC Curve استفاده شد که سطح زیر منحنی (۹۲/۹ درصد = Auc) و نقطه‌ی برش (۱۳۰) جهت تمایز افراد مبتلا و غیرمبتلا به پریودنتیت با حساسیت ۹۳/۳ درصد و ویژگی ۹۲/۹ درصد به دست آمد.

حساسیت ۹۳/۳ درصد به این معناست که اگر فردی که تیتر (*F.nucleatum*) بالای ۱۳۰ دارد را به عنوان مبتلا تلقی کنیم، ۹۳/۳ درصد مبتلایان را به درستی تشخیص می‌دهیم (نمودار ۲).



نمودار ۲: منحنی راک

ویژگی ۹۲/۹ درصد به این معناست که اگر فردی که تیتر (*F.nucleatum*) کمتر از ۱۳۰ دارد را به عنوان غیرمبتلا (سالم) تلقی کنیم، ۹۲/۹ درصد از غیرمبتلایان را به درستی تشخیص داده‌ایم.

بحث

بیماری پریودنتال در نتیجه‌ی فعالیت گروهی از باکتری‌هایی که اکثراً از نوع گرم منفی و بی‌هوازی هستند به وجود می‌آید که در این میان تعداد کمی از آن‌ها مانند *A.a* و *P.gingivalis* به عنوان پاتوژن‌های اصلی بیماری پریودنتال در نظر گرفته می‌شوند. سایر پاتوژن‌های گرم منفی اگرچه معمولاً با شکل‌های مختلف بیماری پریودنتال مرتبط هستند ولی تنها به عنوان پاتوژن‌های فرض شده با بیماری پریودنتال در نظر گرفته می‌شوند (۲۱).

بر طبق نتایج حاصل از مطالعه‌ی حاضر، فرضیه‌ی صفر رد می‌گردد، لذا بین التهاب پریودنتال و حضور *F.nucleatum* در اپی‌تلیوم لثه ارتباط معنی‌داری وجود داشته و می‌توان از میانگین *F.nucleatum* موجود برای تمایز افراد مبتلا به پریودنتیت از افراد سالم استفاده نمود.

معمولاً برای بررسی میزان بیماری‌زایی باکتری، سه فعالیت بیولوژیکی (میزان چسبندگی باکتری، میزان نفوذ باکتری و میزان IL-8 تولید شده توسط سلول‌های میزبان) اندازه‌گیری می‌شود (۲۱). نتایج در این مطالعه میزان چسبندگی و نفوذ باکتری *F.nucleatum* را به داخل سلول های اپی‌تلیالی مخاط دهان نشان داد.

با توجه به بالاتر بودن معنی‌دار میزان *F.nucleatum* موجود در سلول‌های اپی‌تلیالی مخاط افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن نسبت به افراد سالم از نظر پریودنتال، می‌توان *F.nucleatum* را به عنوان گونه‌ای از پریوپاتوژن‌های مهاجم که قدرت اتصال و نفوذ بالایی در سلول‌های اپی‌تلیالی دارند، در نظر گرفت.

توانایی القای انتقال اپی‌تلیالی- مزانشیمی *F.nucleatum*، تغییر فنوتیپ سلول از اپی‌تلیال به مزانشیم و مهاجرت سلول‌ها را سبب می‌شود، این فرایند در متاستاز سرطان، جنین‌زایی و بهبود زخم نقش ایفا می‌کند (۲۲). بر همین اساس، این باکتری با بیماری‌های سیستمیک مختلفی نظیر آتروسکلروزیز و سرطان در دهان و سایر اندام‌ها مرتبط شناخته شده‌است.

F.nucleatum از طریق مکانیسم zipping و اتصال مدیاتورهای کمپلکس FadA سلول‌های اپی‌تلیالی لثه را مورد تهاجم قرار می‌دهد (۲۱، ۲۳). تولید و ترشح HBD-3، HBD-2 و IL-8 به دنبال حمله‌ی باکتری به سلول‌ها و بلوغ اندوزمال صورت می‌گیرد. پس از تهاجم، اندوزوم‌های حاوی *F.nucleatum* به سرعت به لیزوزوم‌ها فیوز می‌شوند و *F.nucleatum* داخل سلولی از طریق تخریب اندولیزوزومال حذف می‌شود (۲۴).

www.SID.ir

Archive of SID

مطالعه‌ی حاضر این مطلب را نشان داد که قدرت نفوذ *F.nucleatum* به عنوان یک ویژگی، این باکتری را قادر می سازد تا با تهاجم و سوراخ کردن بافت‌های عمقی، نقش مهمی را در ایجاد بیماری پریودنتال ایفا کند.

طی مطالعه‌ی Han و همکاران (۱۴)، مشخص شد که *F.nucleatum* به سلول‌های اپی‌تلیالی و اندوتلیالی تهاجم می کند. بنابراین می‌تواند در رحم، کلونیزه شده و باعث عفونت داخل رحمی شود. محققین اشاره می‌کنند که باکتریمی گذرایی که در اثر عفونت پریودنتال ایجاد می‌شود، انتقال این باکتری را از حفره‌ی دهان به رحم تسهیل می‌کند. سپس باکتری با قدرت تهاجم خود، درون اندوتلیوم عروق نفوذ کرده و خود را به بافت‌های اطراف رسانده، با تحریک سلول های جفت باعث تولید مدیاتورهای التهابی مانند IL-8 می‌گردد. با نفوذ این مدیاتورها به درون مایع آمنیوتیک و ایجاد واکنش‌های التهابی، زایمان زودرس رخ می‌دهد (۱۶).

در حالی که تحقیقات انجام شده‌ی قبلی به جز یک تحقیق در مورد *P.gingivalis* (۲۵)، بر روی رده‌ی سلول‌های مشابه سلول‌های اپی‌تلیوم مخاط دهان انسان و با تلقیح باکتری در محیط آزمایشگاه انجام شده است، در این مطالعه از نمونه‌هایی که در شرایط بیولوژیک بدن قرار داشتند، استفاده شد که این امر همراه با محدودیت در جمع‌آوری نمونه‌های با شرایط یکسان بیولوژیک، مشکلات حفظ و انتقال نمونه به محیط آزمایشگاه بود.

اگرچه در سال‌های اخیر مطالعات دقیق‌تر ایمونولوژیک بر روی *F.nucleatum* و مسیرهای التهابی که این باکتری سبب می‌شود، انجام گرفته ولی جای مطالعات هیستولوژیک بر روی غشای پایه و تغییرات اتصال بین سلولی تحت تأثیر این باکتری خالی به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری

در نمونه‌های مربوط به افراد مبتلا به پریودنتیت مزمن، *F.nucleatum* در تعداد نمونه‌های بیشتر و به میزان بیشتر یافت شد. مقدار *F.nucleatum* برابر با ۱۳۰ در PCR می تواند جهت تمایز افراد مبتلا به پریودنتیت از غیر مبتلا ارزش تشخیصی خوبی داشته باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از همکاران گرامی که ما را در انجام این پژوهش یاری نمودند، سپاسگزاری می‌شود.

References

1. Gemmell E, Bird PS, Carter CL, Drysdale KE, Seymour GJ. Effect of Fusobacterium nucleatum on the T and B cell responses to Porphyromonas gingivalis in a mouse model. Clin Exp Immunol 2002; 128(2): 238-44.
2. de Andrade KQ, Almeida-da-Silva CLC, Coutinho-Silva R. Immunological pathways triggered by Porphyromonas gingivalis and Fusobacterium nucleatum: Therapeutic possibilities? Mediators Inflamm 2019; 2019: 7241312.
3. Han YW. Fusobacterium nucleatum: a commensal-turned pathogen. Curr Opin Microbiol 2015; 23: 141-7.
4. Brennan CA, Garrett WS. Fusobacterium nucleatum - symbiont, opportunist and oncobacterium. Nat Rev Microbiol 2019; 17(3): 156-66.
5. Jung YJ, Jun HK, Choi BK. Porphyromonas gingivalis suppresses invasion of Fusobacterium nucleatum into gingival epithelial cells. J Oral Microbiol 2017; 9(1): 1320193.
6. Li Y, Guo H, Wang X, Lu Y, Yang C, Yang P. Coinfection with Fusobacterium nucleatum can enhance the attachment and invasion of Porphyromonas gingivalis or Aggregatibacter actinomycetemcomitans to human gingival epithelial cells. Arch Oral Biol 2015; 60(9): 1387-93.
7. Johnson L, Almeida-da-Silva CLC, Takiya CM, Figliuolo V, Rocha GM, Weissmüller G, et al. Oral infection of mice with Fusobacterium nucleatum results in macrophage recruitment to the dental pulp and bone resorption. Biomed J 2018; 41(3): 184-93.
8. Bui FQ, Johnson L, Roberts J, Hung SC, Lee J, Atanasova KR, et al. Fusobacterium nucleatum infection of gingival epithelial cells leads to NLRP3 inflammasome-dependent secretion of IL-1β and the danger signals ASC and HMGB1. Cell Microbiol 2016; 18(7): 970-81.

www.SID.ir

9. Al-Hebshi NN, Nasher AT, Maryoud MY, Homeida HE, Chen T, Idris AM, et al. Inflammatory bacteriome featuring Fusobacterium nucleatum and Pseudomonas aeruginosa identified in association with oral squamous cell carcinoma. Sci Rep 2017; 7(1): 1834.
10. Al-Hebshi N, Borgnakke WS, Johnson N. The Microbiome of Oral Squamous Cell Carcinomas: a Functional Perspective. Current Oral Health Reports 2019; 6(1): 145-60.
11. Gholizadeh P, Eslami H, Kafil HS. Carcinogenesis mechanisms of Fusobacterium nucleatum. Biomed Pharmacother 2017; 89: 918-25.
12. Schenkein HA, Papapanou PN, Genco R, Sanz M. Mechanisms underlying the association between periodontitis and atherosclerotic disease. Periodontol 2000; 83(1): 90-106.
13. Liu XR, Xu Q, Xiao J, Deng YM, Tang ZH, Tang YT, et al. Role of oral microbiota in atherosclerosis. Clin Chim Acta 2020; 506: 191-5.
14. Han YW, Fardini Y, Chen C, Iacampo KG, Peraino VA, Shamonki JM, et al .Term stillbirth caused by oral Fusobacterium nucleatum. Obstet Gynecol 2010; 115(2 Pt 2): 442-5.
15. Sha YQ, Huang Z, Chen ZB, Kang J, He L, Yu XQ . Association between periodontitis and preterm low birth weight. Beijing Da Xue Xue Bao Yi Xue Ban 2009; 41(1): 117-20.
16. van der Haar EL, So J, Gyamfi-Bannerman C, Han YW. Fusobacterium nucleatum and adverse pregnancy outcomes: Epidemiological and mechanistic evidence. Anaerobe 2018; 50: 55-9.
17. Yiping WH, Redline RW, Li M, Yin L, Hill GB, McCormick TS. Fusobacterium nucleatum induces premature and term stillbirths in pregnant mice: implication of oral bacteria in preterm birth. Infect Immun 2004; 72(4): 2272-9.
18. Dental Supplement, Scapoli L, Arcuri C, Orto OD, Bolzoni A, Lagana F, et al. Screening of periodontopathic bacteria in Italian patients affected by periodontitis. J Biol Regul Homeost Agents 2019; 33(6 Suppl 1).
19. Zhang S, Li C, Liu J, Geng F, Shi X, Li Q, et al. Fusobacterium nucleatum promotes epithelial-mesenchymal transiton through regulation of the lncRNA MIR4435-2HG/miR-296-5p/Akt2/SNAI1 signaling pathway. FEBS J 2020; 287(18): 4032-47.
20. Rudney JD, Chen R, Sedgewick GJ. Intracellular Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in buccal epithelial cells collected from human subjects. Infect Immun 2001; 69(4): 2700-7.
21. Han YW, Shi W, Huang GT, Haake SK, Kuramitsu H, Genco RJ, et al. Interactions between periodontal bacteria and human oral epithelial cells: fusobacterium nucleatum adheres to and invades epithelial cells. Infect Immun 2000; 68(6): 3140-6.
22. Abdulkareem AA, Shelton RM, Landini G, Cooper PR, Milward MR. Potential role of periodontal pathogens in compromising epithelial barrier function by inducing epithelial-mesenchymal transition. J Periodontal Res 2018; 53(4): 565-74.
23. Xu M, Yamada M, Li M, et al. FadA from Fusobacterium nucleatum utilizes both secreted and nonsecreted forms for functional oligomerization for attachment and invasion of host cells. J Biol Chem 2007; 282(3): 25000-9.
24. Ji S, Shin JE, Kim YC, Choi Y. Intracellular degradation of Fusobacterium nucleatum in human gingival epithelial cells. Mol Cells 2010; 30(6): 519-26.
25. Kang MS, Jang HS, Oh JS, Yang KH, Choi NK, Lim HS, et al. Effects of methyl gallate and gallic acid on the production of inflammatory mediators interleukin-6 and interleukin-8 by oral epithelial cells stimulated with Fusobacterium nucleatum. J Microbiol 2009; 47(6): 760-7.

www.SID.ir