

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

**FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Enterococcus faecalis* ASSOCIADOS AO  
CÂNCER COLORRETAL: REVISÃO DE LITERATURA**

**LUCAS DUTRA FREITAS**

PORTO ALEGRE, 2022

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE FARMÁCIA  
TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE FARMÁCIA

LUCAS DUTRA FREITAS

**FATORES DE VIRULÊNCIA DE *Enterococcus faecalis* ASSOCIADOS AO  
CÂNCER COLORRETAL: REVISÃO DE LITERATURA**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito parcial à  
obtenção do grau farmacêutico pela  
Universidade Federal do Rio Grande  
do Sul.

Orientadora: Profa. Dra. Ana Paula Guedes Frazzon

Porto Alegre, 2022

*Dedico esse trabalho para meus maiores exemplos,  
meus pais, Cristina e Marco Antônio, essa conquista  
é um reflexo de todo esforço e confiança de vocês.  
Essa vitória é nossa, amo vocês.*

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço a Profa. Dra. Ana Paula Guedes Frazzon, pelo exemplo de pessoa dentro e fora de sala de aula. Saibas que além das lições teóricas, sempre foi gentil e transmitiu coisas boas para todos, e o universo sempre retorna e presenteia pessoas como você, foi uma honra ser seu aluno na graduação e orientado nesse trabalho.

À minha namorada, Kimberly Borchardt, por toda compreensão e carinho, por ser meu farol em meio à tempestade, minha colega de faculdade, futura colega de profissão e já companheira de vida, te amo.

Agradeço a todos os professores que passaram pela minha vida e contribuíram para minha formação, em especial a Profa. Dra. Juliana Caierão por aceitar o convite de ser banca deste trabalho.

As amizades que me trouxeram até aqui e que fiz ao longo do curso, em especial André Mello, Alan Fonseca, Fernanda Ben, Leonardo Fernandes, Lucas Muratore, Luiz Augusto Mangeon, Pedro Abrussi, Rafael Labandeira, Raphael Martins e Yang Sheng, meu muito obrigado por compartilharem a vida comigo, são os melhores amigos que eu poderia ter e todos sempre serão muitos especiais para mim.

Agradeço a todos técnicos e auxiliares da Central de Misturas Intravenosas do HCPA, e aos respectivos farmacêuticos, Carolina Maciel, Daniel Fasolo, Edlus Silva, Gerson Guerra, Laura Martins, Renato Ribeiro, Sandro Ness e Carlos Wayhs – o “Mano” Wayhs -, que aceitou fazer parte da banca deste trabalho. Meu muito obrigado a todos pelos ensinamentos e sei que fiz bons amigos nesse período que convivemos.

Ao meu tio José Roberto Toschi Freitas e a toda minha família que sempre me apoiou. Por fim dedico esse trabalho para as minhas avós, Edith e Izar, que cuidaram de mim durante toda vida, e mesmo ambas tendo partido, sei que estão orgulhosas.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>VI</b>
<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>VII</b>
<b>LISTA DE ABREVIATURAS .....</b>	<b>VIII</b>
<b>RESUMO .....</b>	<b>X</b>
<b>ABSTRACT .....</b>	<b>XI</b>
<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>12</b>
1.1 O INTESTINO.....	12
1.2 INCIDÊNCIA DO CÂNCER COLORRETAL .....	13
1.3 A IMPORTÂNCIA DA MICROBIOTA INTESTINAL .....	16
1.4 O GÊNERO <i>ENTEROCOCCUS</i> .....	18
1.4.1 A espécie <i>Enterococcus faecalis</i> .....	19
<b>2 OBJETIVO.....</b>	<b>21</b>
<b>3 METODOLOGIA.....</b>	<b>22</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>23</b>
4.2 O PAPEL DOS FATORES DE VIRULÊNCIA DOS <i>E. FAECALIS</i> NO CCR.....	24
4.2.1 ESTRESSE OXIDATIVO.....	25
4.2.1.2 Espécies reativas de oxigênio (ERO).....	26
4.2.1.3 INSTABILIDADE GENÔMICA.....	27
4.2.3 4-HIDROXI-2-NONENAL .....	28
4.2.4 GELATINASE.....	29
4.2.5 ÁCIDO LIPOTEICÓICO .....	30
4.2.6 SUBSTÂNCIA DE AGREGAÇÃO .....	31
4.2.7 RECEPTORES DO TIPO-TOLL .....	32
4.2.8 SISTEMA DE FOSFOTRANSFERASE.....	33
4.2.9 ATIVADOR DO PLASMINOGÊNIO DA UROQUINASE .....	34
<b>5 CONCLUSÃO.....</b>	<b>36</b>
<b>6 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>37</b>

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura</b>	<b>Nome</b>	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b>	Anatomia funcional do trato gastrointestinal.....	13
<b>Figura 2.</b>	Estatística global de tipos de câncer em 2020, com total de casos diagnosticados (A) e total de mortes (B), no mesmo período. ....	14
<b>Figura 3.</b>	Quantidade estimada de unidade formadoras de colônias (UFC) bacterianas ao longo do trato gastrointestinal.....	17
<b>Figura 4.</b>	Microscopia eletrônica de células de <i>E. faecalis</i> apresentando arranjo de diplococos .....	19
<b>Figura 5.</b>	Fluxograma da seleção de pesquisa dos estudos.....	22
<b>Figura 6.</b>	Quantidade em porcentagem de cada perfil de virulência citados nos artigos, em função do total de artigos incluídos (39) no trabalho.....	24
<b>Figura 7.</b>	A ligação de <i>E. faecalis</i> ao ativador de plasminogênio da uroquinase (uPA) demonstra uma indução bacteriana que acarreta na migração celular através da interação com uPAR.....	35

## LISTA DE TABELAS

<b>Figura</b>	<b>Nome</b>	<b>Pág.</b>
	<b>Tabela 1.</b> Dados dos estudos selecionados com a ocorrência de <i>E. faecalis</i> no CCR nos últimos 20 anos.....	23

## LISTA DE ABREVIATURAS

4-HNE: 4-hidroxi-2-nonenal

ACE: Adesinas de colágeno de *E. faecalis*

AS: Substancia de agregação

CAT: Enzima catalase

CCR: Câncer de colorretal

CIN: Instabilidade cromossômica

COX-2: Cicloxigenase-2

DNA: Ácido desoxirribonucleico

*E. faecalis*: *Enterococcus faecalis*

Ebp: pilus associado a endocardite e biofilmes de *E. faecalis*

E-caderina: Epithelial-caderina

Efba: adesina de *E. faecalis* ligante de fibronectina

ERO: Espécies reativas de oxigênio

GeIE: Enzima gelatinase

*GeIE*: Gene codificador da enzima gelatinase

IL-1: Interleucina 1

IL-6: Interleucina 6

IL-8: Interleucina 8

LTA: Ácido lipoteicóico

MEC: Matriz extracelular

MMP-9: Metaloproteinase-9 (degradação de matriz de colágeno)

MMPs: Metaloproteinases

Mn-SOD: Superóxido dismutase

NNMU: N-nitroso-N-metiluretano

PAMP: padrões de reconhecimento de patógenos

PAR2: Receptor do tipo 2 ativado por protease



PTS: Sistema de fosfotransferase

RT-PCR: Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) em tempo real

TLR: Receptores tipo-toll

TLR-2: Receptores tipo-toll 2

TLR-4: Receptores tipo-toll 4

TNF- $\alpha$ : Fator de necrose tumoral Alfa

uPA: Ativador de plasminogênio da uroquinase

uPAR: Receptor de superfície celular da uroquiase

## RESUMO

O câncer está entre as maiores causas de mortalidade global, sendo o câncer de colorretal (CCR) um dos mais prevalentes em número de casos e mortes. Estudos ao longo das últimas décadas estão demonstrando que a microbiota intestinal desregulada ou disbiose associada a presença de fatores de virulência podem estar relacionadas com o surgimento do CCR. A microbiota intestinal desempenha diversas funções no hospedeiro humano, podendo influenciar diretamente na saúde, afetando o metabolismo, o sistema imune e a produção de hormônios. Dentre os microrganismos que compõem a microbiota intestinal, destaca-se o *Enterococcus faecalis*. Esta bactéria gram-positiva é comensal do trato gastrointestinal, contudo, podem agir como um patógeno oportunista, através da expressão dos fatores de virulência. Os fatores de virulência são estruturas ou produtos empregados para evadir o sistema de defesa do hospedeiro e causar uma infecção. O objetivo dessa revisão bibliográfica foi descrever o papel dos fatores de virulência de *E. faecalis* associados do CCR. A partir de uma busca de artigos publicados nos bancos de dados *Science Direct* e *PubMed* nos últimos 20 anos (2002–2022), empregando as palavras-chaves *Enterococcus* e *faecalis* e câncer de colorretal, um total de 313 artigos foram encontrados. Aplicando critérios de exclusão, leitura de resumos e da íntegra dos artigos, 39 foram incluídos para o desenvolvimento dessa revisão bibliográfica. Dentre os fatores de virulência de *E. faecalis*, as espécies reativas de oxigênio (58,9%) foram as mais prevalentes no CCR, seguidas da instabilidade genômica (46,1%), 4-hidroxi-2-nonenal (15,4%), gelatinase (12,8%), ácido lipoteicóico (10,2%), substância de agregação (10,2%), receptores tipo-like (7,7%), ativador de plasminogênio da uroquinase (2,56%) e sistema de fosfotransferase (2,56%). Como conclusão, foi possível verificar que os fatores de virulência, principalmente as espécies reativas de oxigênio, de *E. faecalis* podem ter uma associação com o desenvolvimento do CCR, entretanto mais estudos devem ser realizados para definir o papel da disbiose por *E. faecalis* no CCR.

**Palavras-chaves:** *Enterococcus faecalis*, câncer de colorretal, fatores associados, virulência, disbiose.

## ABSTRACT

Cancer is among the leading causes of global mortality, with colorectal cancer (CRC) being one of the most prevalent in terms of number of cases and deaths. Studies over the last few decades have shown that dysregulated intestinal microbiota or dysbiosis associated with the presence of virulence factors may be related to the emergence of CRC. The intestinal microbiota performs several functions in the human host, and can directly influence health, affecting metabolism, the immune system and the production of hormones. Among the microorganisms that make up the intestinal microbiota, *Enterococcus faecalis* stands out. This gram-positive bacterium is a commensal of the gastrointestinal tract, however, it can act as an opportunistic pathogen, through the expression of virulence factors. Virulence factors are structures or products used to evade the host's defense system and cause an infection. The aim of this literature review was to describe the role of *E. faecalis* virulence factors associated with CRC. From a search of articles published in the Science Direct and PubMed databases in the last 20 years (2002–2022), using the keywords *Enterococcus* and *faecalis* and colorectal cancer, a total of 313 articles were found. Applying exclusion criteria, reading abstracts and the full text of the articles, 39 were included for the development of this literature review. About the virulence factors of *E. faecalis*, reactive oxygen species (58,9%) were the most prevalent in CRC, followed by genomic instability (46,1%), 4-hydroxy-2-nonenal (15,4%), gelatinase (12,8%), lipoteichoic acid (10,2%), aggregating substance (10,2%), toll-like receptors (7,7%), urokinase plasminogen activator (2,56%) and phosphotransferase system (2,56%). In conclusion, it was possible to verify, among the virulence factors, mainly the reactive oxygen species of *E. faecalis* may have an association with the development of CRC, however more studies should be carried out to define the role of *E. faecalis* dysbiosis in CRC.

**Keywords:** *Enterococcus faecalis*, colorectal cancer, associated factors, virulence, dysbiosis.

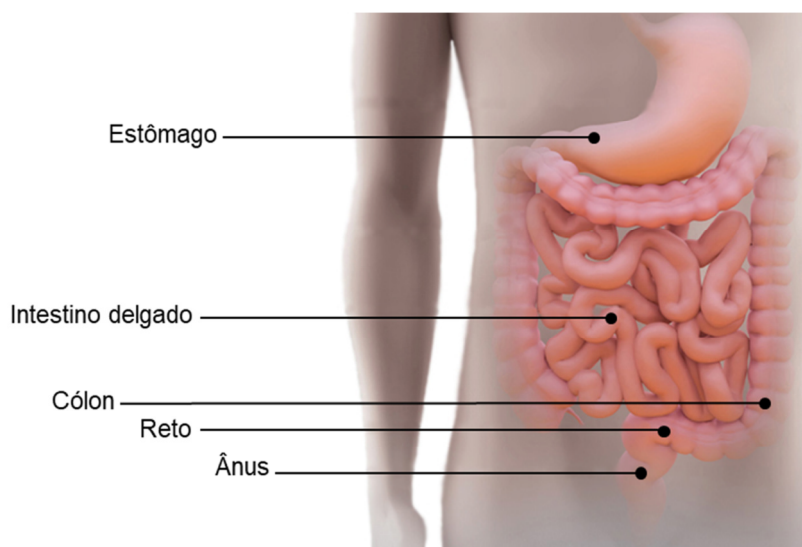
# 1 Introdução

## 1.1 O Intestino

O intestino é um órgão que faz parte do trato gastrointestinal e divide-se em: intestino delgado, cólon e reto (Figura 1). O intestino delgado apresenta ao redor de seis metros de comprimento, sendo dividido em três partes: duodeno, jejuno e íleo. No intestino delgado ocorre a absorção de nutrientes, líquidos e eletrólitos presentes nos alimentos, componentes essenciais para homeostase e funcionamento do organismo. Revestindo a parede do intestino delgado, agrega-se a função da mucosa intestinal, que atua como uma barreira física na proteção desse órgão e secreta substâncias como muco e peptídeos antimicrobianos, que mantêm o equilíbrio da microbiota intestinal e inibem microrganismos que não sejam benéficos para o organismo (BIEDERMANN; ROGLER, 2015). Além disso, a mucosa intestinal também garante que a microbiota comensal não sofra ação da resposta imunológica. As últimas porções do intestino, cólon e reto (região colorretal), estão envolvidas principalmente com o peristaltismo do órgão e absorção e processamento de proteínas e carboidratos que não foram digeridas no intestino delgado. As etapas de absorção e processamento ocorrem devido à presença de uma elevada quantidade de microrganismos, principalmente as bactérias. As bactérias através de reações de fermentação recuperam os nutrientes e os reincorporam ao organismo (BERNE; LEVY; KOEPPEN, 2008; BRUNEAU et al., 2017).

Presente ao longo de todo intestino, a microbiota intestinal compreende milhões de microrganismos, como vírus, fungos e bactérias. A microbiota apresenta diversas funções fisiológicas importantes ao hospedeiro, como a relação com processos metabólicos, estruturais e imunológicos no epitélio e na mucosa intestinal (BIEDERMANN; ROGLER, 2015). Devido a sua importância e sua relação com diversas doenças, como síndrome do intestino irritável, obesidade, resistência à insulina, colite ulcerosa, doença de Chron, depressão e neoplasias, a composição e função da microbiota intestinal vem recebendo atenção e sendo alvo de novas descobertas nas últimas décadas (ADAK; KHAN, 2019).

Quando a microbiota intestinal se apresenta desregulada (disbiose intestinal), por alimentação rica em gordura ou baixa em fibras, ou uso de medicamentos, alguns microrganismos comensais podem se tornar patógenos oportunistas. Um exemplo é o *Enterococcus faecalis*, uma bactéria membro da microbiota comensal que pode agir como oportunista e invadir os tecidos do hospedeiro causando doenças. Esta bactéria, através de seus mecanismos de virulência, tem sido relacionada com uma variedade de infecções, incluindo endocardite, infecção do trato urinário, prostatite, infecção intra-abdominal, celulite, infecção em feridas e bacteremia concomitante. Além destas doenças, tem sido associado a esta bactéria o desenvolvimento de neoplasias no intestino (MADSEN et al., 2017; CHATTOPADHYAY et al., 2021).



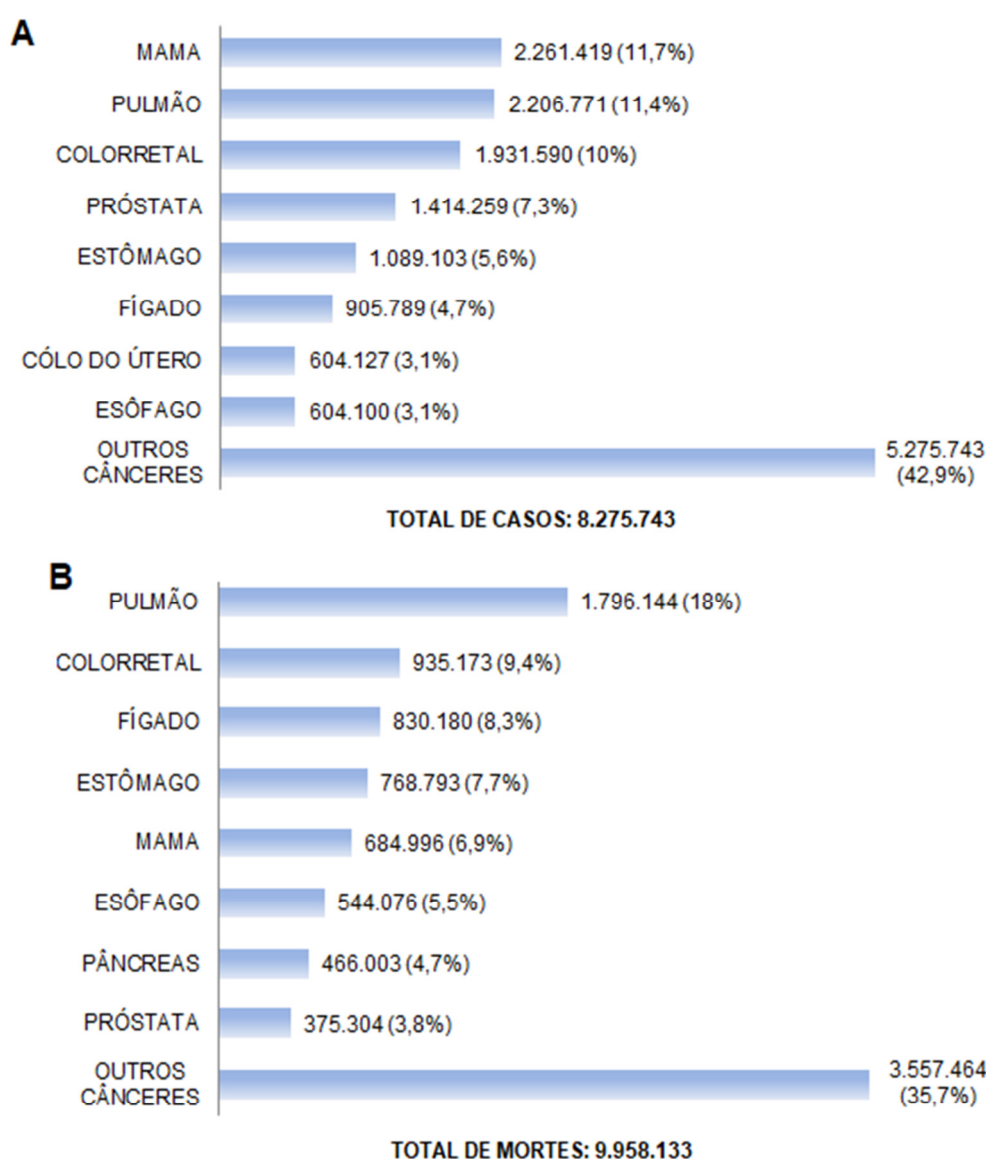
**Figura 1.** Anatomia funcional do trato gastrointestinal  
(adaptado de CDC, 2007).

## 1.2 Incidência do Câncer Colorretal

Atualmente, são reconhecidos mais de 100 tipos de câncer que acometem o corpo humano. O câncer - ou neoplasia - é um grande grupo de doenças que podem acometer qualquer órgão ou tecido do corpo e é desencadeado quando células anormais crescem descontroladamente, ultrapassando seus limites habituais para invadir partes adjacentes do corpo e/ou se espalhar para outros órgãos. O último

processo é chamado de metástase e é uma das principais causas de morte por câncer (FERLAY et al, 2013).

De acordo com dados do *The Global Cancer Observatory* (Figura 2) no ano de 2020, o câncer de mama (11,7%), câncer de pulmão (11,4%) e câncer colorretal (10%) foram os mais prevalentes em número de diagnósticos a nível global. Analisando também o número de óbitos relacionados a câncer no mundo todo, em 2020, o câncer de pulmão foi o maior causador de mortes (18%), seguido do câncer de colorretal (9,4%) e câncer de fígado (8,3%), respectivamente.



**Figura 2.** Estatística global de tipos de câncer em 2020, com total de casos diagnosticados (A) e total de mortes (B), no mesmo período (The Global Cancer Observatory, 2020).

O câncer de colorretal (CCR), popularmente conhecido como câncer de intestino, acomete a porção final desse órgão (cólon e reto). A patogênese, na maioria dos casos, inicia-se pela formação de um adenoma, a partir do desenvolvimento de pólipos adenomatosos nas glândulas da mucosa intestinal, podendo evoluir para um estágio avançado de displasia, carcinoma e consequentemente câncer (BRUNEAU et al., 2017; D'ASHEESH et al., 2021; KARPIŃSKI; OŻAROWSKI; STASIEWICZ, 2022). Esse tipo de câncer atualmente ocupa a 3ª posição em números de incidência, com uma maior representatividade em países da América do Norte, Europa e leste da Ásia (INCA, 2019). Observou-se que em 2020, aproximadamente 1,93 milhão de casos de CCR foram diagnosticados globalmente, sendo estimadas cerca de 935 mil mortes por essa patologia no mesmo período (Figura 2). Esses dados indicam o CCR como sendo o responsável por 10% dos quase 19,30 milhões de diagnósticos de cânceres e por 9,4% dos 9,97 milhões de óbitos causados a nível mundial no período de um ano, estipulando uma taxa de incidência de casos de 26,6/ 100 mil habitantes para o sexo masculino e 21,8/ 100 mil habitantes para o sexo feminino (INCA, 2019; XI; XU, 2021; SUNG et al., 2021; IARC, 2022).

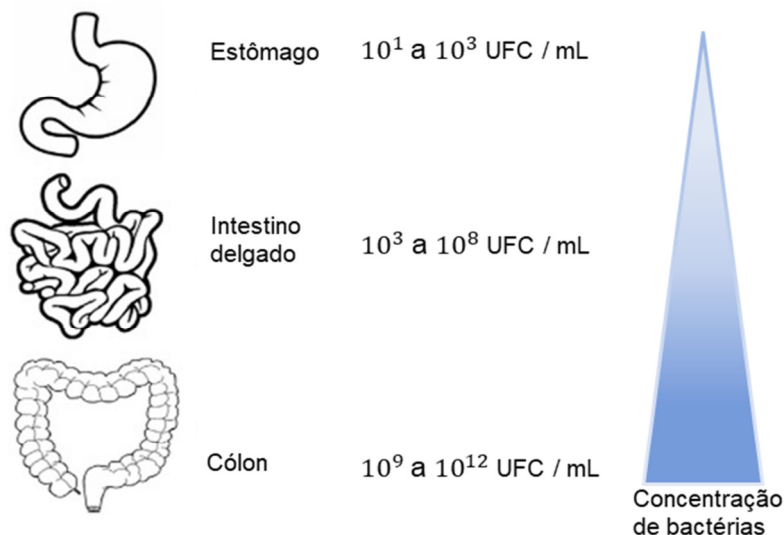
Na América do Sul, o CCR é o 3º em incidência entre os diagnósticos do sexo masculino (8,0%) e o sexo feminino (7,7%). No Brasil, este tipo de câncer abrange 42% dos índices de mortalidade (XI; XU, 2021; SUNG et al., 2021; THE CANCER ATLAS, 2022). Segundo dados epidemiológicos do Instituto Nacional de Câncer (INCA), para o período de 2020 a 2022, o CCR ocupa o 3º em diagnósticos e o 2º em mortalidade (para ambos os sexos) no Brasil, indicando 20.520 casos relacionados ao sexo masculino e 20.470 novos casos em indivíduos do sexo feminino, representando uma incidência de casos de 19,64 / 100 mil habitantes e 19,03 / 100 mil habitantes, respectivamente (INCA, 2019; IARC, 2022). Entre as regiões do Brasil, o Sul apresenta incidência de 25 / 100 mil novos casos de CCR, sendo o 3º tipo mais comum de cânceres. Os dados referentes ao estado do Rio Grande do Sul denotam uma taxa de 18,95 / 100 mil habitantes de novos casos para o sexo masculino e 12,38 / 100 mil habitantes de casos estimados para sexo feminino (INCA, 2019).

Os fatores associados ao desenvolvimento desse tipo de câncer incluem: obesidade, sedentarismo, tabagismo, alcoolismo, histórico familiar de doença inflamatória intestinal, e pólipos adenomatosos. Uma vez que grande parte dos casos desse tipo de câncer é de origem esporádica (~75%), e sua etiologia ainda não é totalmente conhecida, quaisquer condições e mecanismos que interfiram para ocorrência desse estado clínico se tornam relevantes para compreensão a evolução da doença. Nesse contexto, uma eventual disbiose da microbiota intestinal, facilitaria manifestações clínicas de quadros inflamatórios que poderiam levar a displasias, e por consequência uma neoplasia (ALHINAI; WALTON; COMMANE, 2019).

### 1.3 A Importância da Microbiota intestinal

Microbiota intestinal é, por definição, o conjunto de microrganismos (bactérias, fungos, protozoários e vírus) que colonizam o trato gastrointestinal humano e que, em condições normais, não causam doenças ao hospedeiro. A microbiota exerce diversas funções relacionadas à conservação da homeostase intestinal, estruturais, imunológicas e metabólicas, desempenhando funções, como por exemplo, digestão e fornecimento de nutrientes, através de fermentações proteolíticas e anaeróbias (LI et al., 2019; CHATTOPADHYAY et al., 2021). Estima-se que cerca de 100 trilhões ( $10^{14}$ ) de bactérias encontrem-se distribuídas ao longo do trato gastrointestinal, com o gradiente de concentração aumentando ao longo de todo intestino, sendo o cólon responsável pela maior quantidade desses microrganismos, podendo-se relacionar esse fato à menor quantidade de suco gástrico e suco pancreático, que exercem certa atividade antimicrobiana, e pela própria motilidade intestinal, favorecendo uma população bacteriana mais numerosa no cólon e reto (Figura 3) (CRESCI; BAWDEN, 2015; BIEDERMANN; ROGLER, 2015). A composição da microbiota do trato gastrointestinal varia ao longo da vida do hospedeiro, em virtude de fatores como dieta, idade e uso de antibióticos. Contudo, quatro filos, apresentam-se como predominantes na colonização desse órgão, sendo eles Bacteroides, Actinobacteria, Proteobacteria e Firmicutes. Dentre os gêneros bacterianos presentes na microbiota intestinal, a maior ocorrência é relacionada aos gêneros *Lactobacillus*, *Clostridium* e *Enterococcus* (CHATTOPADHYAY et al., 2021).





**Figura 3.** Quantidade estimada de unidades formadoras de colônias (UFC) bacterianas ao longo do trato gastrointestinal (Adaptado de BRUNEAU et al., 2017)

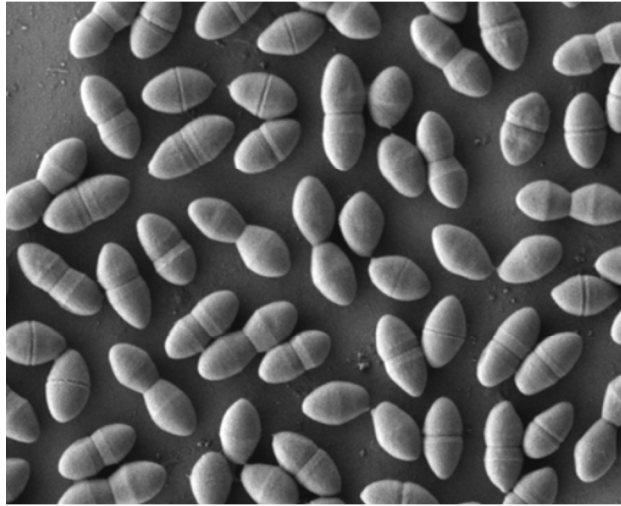
A microbiota apresenta papéis fundamentais ao hospedeiro, como: a) produzir vitamina K, um componente importante na coagulação sanguínea e na formação de proteínas essenciais para a matriz óssea; b) expressar vitaminas do complexo B, importantes no fortalecimento do sistema imunológico e produção de hemoglobina; e c) absorver nutrientes e fermentar as fibras e proteínas, que levam a obtenção de monossacarídeos e oligossacarídeos, gerando ácidos graxos de cadeia curta. Esse tipo de ácido graxo produzido na microbiota é reconhecido como fonte de energia para o organismo, podendo-se citar o propionato, acetato e butirato como os produzidos em maior número. Essas moléculas apresentam uma significativa relevância, pois o propionato e o acetato atuam como substratos na síntese de ácidos graxos (lipogênese) e da glicose (gliconeogênese), enquanto o butirato é integrado como substrato para a manutenção do metabolismo celular do epitélio do cólon. Os ácidos graxos de cadeia curta fornecidos a partir da microbiota interagem com proteínas de membranas celulares, as quais estão envolvidas no processo de expressão do peptídeo semelhante a glucagon do tipo 1 (relacionado à secreção de insulina), e atuam também na formação de peptídeos gástricos que podem gerar a modulação do apetite e do comportamento alimentar (MUSSO; GAMBINO; CASSADER, 2010; SOMMER; BÄCKED, 2013; WALKER; LAWLEY, 2013; BRUNEAU et al., 2017).

Diversas funções fisiológicas estão associadas a microbiota intestinal, como a melhora na imunidade do corpo humano, estando envolvida em processos como a

manutenção de efeitos antidiabéticos no corpo. Com essa extensa gama de fatores e funções, é possível observar que alterações na microbiota podem levar a quadros de dores abdominais, distensão abdominal, vômitos, diarreia, náuseas, mudanças de humor, fadiga e disbiose da população da microbiota. A disbiose, desequilíbrio populacional dos microrganismos presentes na microbiota, modifica a composição e consequentemente uma descompensação dos processos fisiológicos no intestino, como alteração da produção de muco no epitélio intestinal. Esse desequilíbrio está associado também a uma maior chance de ocorrência de processos inflamatórios no intestino, podendo diminuir a integridade da barreira intestinal, favorecendo a translocação de bactérias e seus metabolitos do trato gastrointestinal para linfonodos e outros órgãos do corpo humano. Além dos efeitos deletérios causados pela disbiose, evidências crescentes indicam que essa perda de homeostase da microbiota intestinal está intimamente relacionada ao CCR (BRUNEAU et al., 2017; LI et al., 2019; CHATTOPADHYAY et al., 2021; RAHMAN, 2022).

#### 1.4 O Gênero *Enterococcus*

O gênero *Enterococcus* é pertencente da família *Enterococcaceae*, do filo Firmicutes, o qual é caracterizado por apresentar uma morfologia em arranjo de cocos Gram-positivos, observado em pares, cadeias curtas ou isolados (Figura 4). Inicialmente, pela classificação sorológica de Lancefield, foram inseridas na categoria D referente ao gênero *Streptococcus*, em função de algumas semelhanças fenotípicas. Com o avanço e aperfeiçoamento de técnicas, dentre elas a de biologia molecular, pode-se diferenciar, a partir do sequenciamento do gene 16S *rRNA* bacteriano, concomitante com as contribuições da classificação de Sherman, a distinção e especificação do gênero *Enterococcus*, e suas subseqüentes espécies (MURRAY, 1990; WILLIAMSON et al., 2022).



**Figura 4.** Microscopia eletrônica de células de *E. faecalis* apresentando arranjo de diplococos (Adaptado de MATSUMOTO et al., 2019)

Os enterococcus apresentam-se como bactérias anaeróbias facultativas, com teste de catalase negativo, produtores de ácido lático e apresentam temperatura propícia de crescimento em aproximadamente 41,7°C, com desenvolvimento na faixa de 5 a 50°C. Toleram ambientes com elevada concentração de sais biliares (40%) e soluções salinas (6,5%), apresentando faixa ideal de crescimento em pH de 7.5, podendo crescer em pH entre 4.5 a 9.0 (MURRAY, 1990). Podem apresentar hemólise do tipo alfa, beta ou ausência da mesma. Este gênero está adaptado às condições fisiológicas do corpo humano, habitando a cavidade oral, trato gastrointestinal e trato geniturinário. Atualmente, mais de 50 espécies de *Enterococcus* são reconhecidas, dentre elas uma das mais recorrentes causadoras de infecções, *Enterococcus faecalis* (MURRAY, 1990; Fisher, 2009; MADSEN et al., 2017).

#### 1.4.1 A espécie *Enterococcus faecalis*

*Enterococcus faecalis* é uma das espécies mais frequentes no trato gastrointestinal, visto que aproximadamente 65% da composição da microbiota é relacionada ao filo Firmicutes (BRUNEAU et al., 2017). No trato gastrointestinal, essas bactérias atuam em uma relação de comensalismo com o corpo humano, mantendo um equilíbrio com o restante dos componentes da microbiota em relação à manutenção da homeostase do organismo. Em uma situação que consiga se

disseminar sem controle, *E. faecalis* pode se enquadrar como um patógeno oportunista, instaurando ou favorecendo quadros inflamatórios inadequados em regiões do intestino, como o cólon e o reto, através de mecanismos ainda não totalmente elucidados (GAGNIÈRE et al., 2016; ALHINAI; WALTON; COMMANE, 2019).

Em situações de desequilíbrio e perda da homeostase da microbiota, *E. faecalis*, que naturalmente habita essa região, pode causar desde danos teciduais no epitélio intestinal, até sua possível correlação com o surgimento de CCR, demonstrando a importância de se buscar o entendimento cada vez mais coeso sobre os mecanismos de virulência relacionados entre essa doença e esse potencial patógeno oportunista.

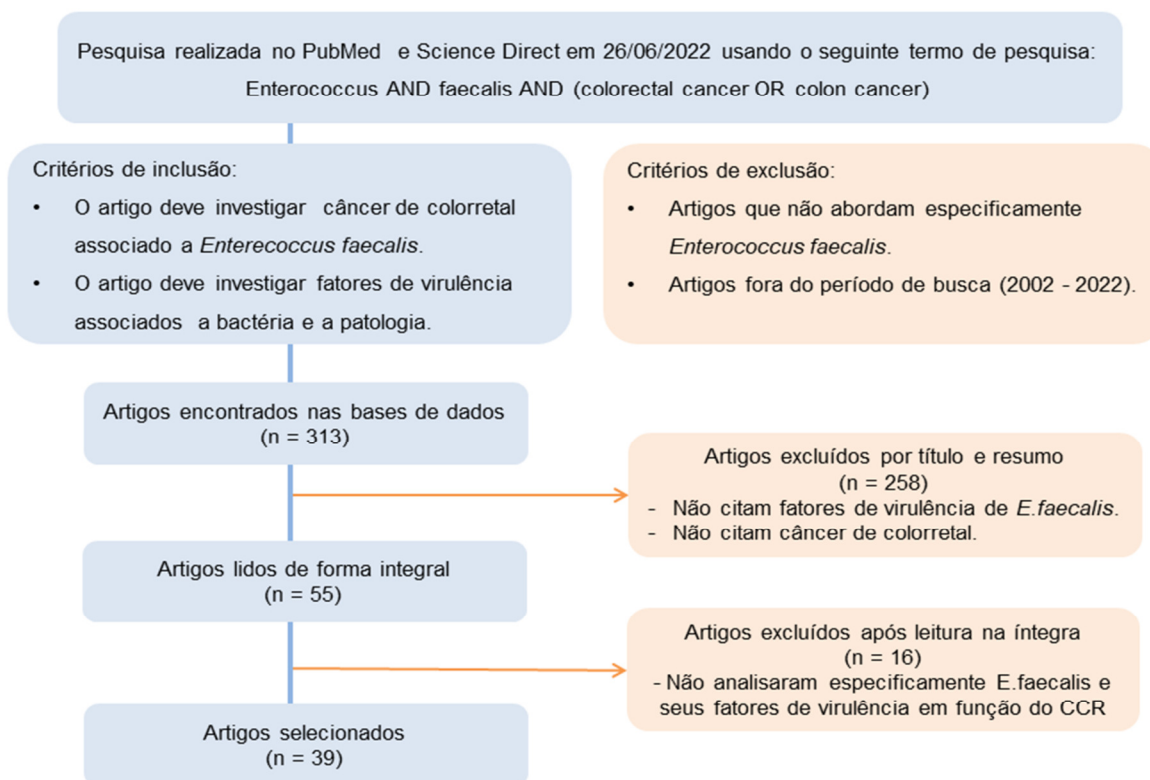
## 2 Objetivo

Realizar uma revisão na literatura, nas bases de dados *PubMed* e *Science Direct* nos últimos vinte anos (2002-2022), para descrever o papel dos fatores de virulência de *E. faecalis* associados do CCR.

### 3 Metodologia

A pesquisa bibliográfica foi realizada relacionando os fatores de virulência de *Enterococcus faecalis* associados ao câncer de colorretal. As palavras-chaves utilizadas para a busca nos respectivos bancos de dados foram “*enterococcus AND faecalis AND (colorectal cancer OR colon cancer)*”. Foram incluídos na busca artigos de revisão, estudos clínicos e artigos de pesquisa. O marcador de busca “*enterococcus AND faecalis AND (colorectal cancer OR colon cancer)*” resultou em 92 publicações no *PubMed* e 221 publicações no *Science Direct*, respectivamente, totalizando 313 resultados (Figura 5).

Trabalhos que não relacionassem os fatores de virulência de *Enterococcus faecalis* com câncer de colorretal foram excluídos, resultando em 55 artigos, os quais foram lidos de maneira integral, observando aspectos que se adequassem aos objetivos do tema. Após a leitura dos artigos, 16 foram excluídos por não corresponderem à análise e fatores que estão relacionados com o tema especificado, onde 39 resultados foram utilizados no presente trabalho.



**Figura 5.** Fluxograma da seleção de pesquisa dos estudos.

## 4 Resultados e discussão

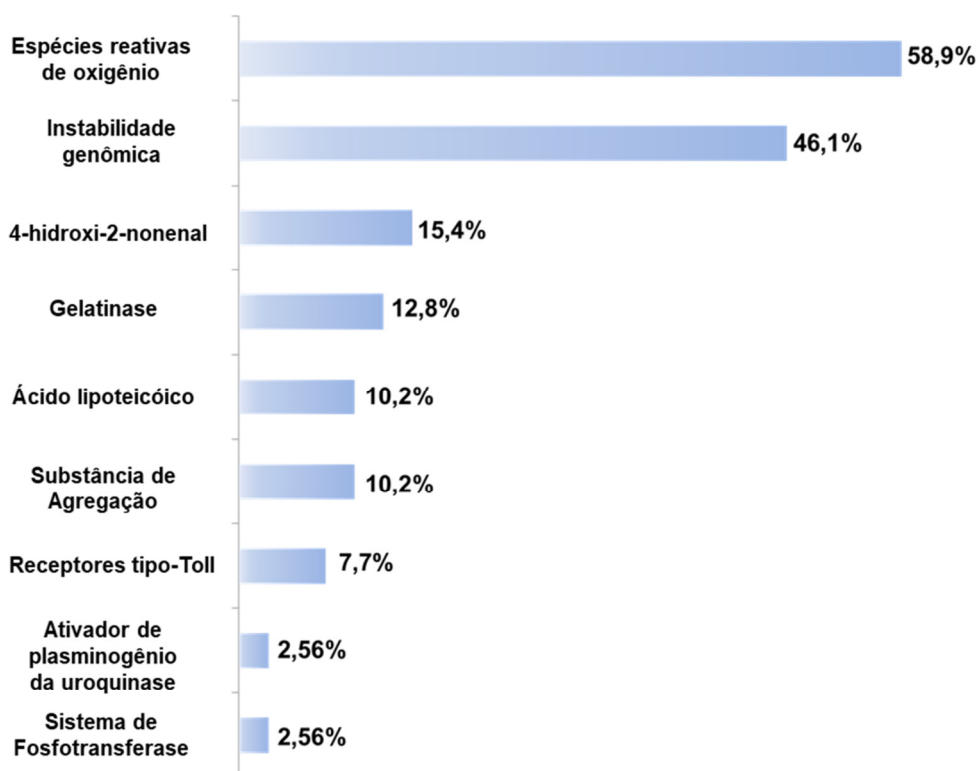
### 4.1 Prevalência de *E. faecalis* no CCR

Com base na importância clínica do acometimento do CCR e o conhecimento sobre os possíveis mecanismos de *E. faecalis* relacionados a essa doença, nove fatores de virulência foram descritos, fornecendo uma visão geral dos aspectos e eventos que podem permitir a progressão e desenvolvimento do CCR. A partir da leitura dos 39 artigos selecionados, foi possível verificar que os Estados Unidos da América (EUA) foi o país que mais publicou artigos dentro do período estipulado pela presente revisão bibliográfica (41,0%), seguido do Irã (12,8%), Itália (7,7%), África do Sul (5,1%), China (5,1%) e França (5,1%). Bangladesh, Canadá, Eslováquia, Espanha, Holanda, Índia, Japão, Omã e Polônia, publicaram 1 artigo (2,57%) sobre o tema (Tabela 1).

Fatores de virulência	Nº Artigos	Período	País	Principais resultados
Espécies reativas de oxigênio	23	2002 - 2009: 3 2010 - 2020: 11 2021 - 2022: 9	África do Sul, Bangladesh, Canadá, China, Eslováquia, Espanha, EUA, França, Índia, Irã, Itália, Japão, Omã, Polônia	Produção de superóxido e peróxido de hidrogênio associada à inflamação e dano no epitélio e na mucosa intestinal
Instabilidade genômica	18	2002 - 2009: 3 2010 - 2020: 10 2021 - 2022: 5	Canadá, China, EUA, Irã, Japão, Polônia	Polarização de macrófagos, relacionados ao efeito espectador e da cascata inflamatória, podem causar dano celular e desenvolver um perfil inflamatório
4-hidroxi-2-nonenal	6	2010 - 2020: 6	EUA	Macrófagos infectados por <i>E. faecalis</i> produzem 4-HNE, causando genotoxicidade
Gelatinase	5	2010 - 2020: 2 2021 - 2022: 3	EUA, Holanda, Itália	Altera estruturas da membrana e da matriz extracelular, favorecendo a instalação e sobrevivência de <i>E. faecalis</i>
Ácido lipoteicoico	4	2002 - 2009: 1 2010 - 2020: 3	África do Sul, EUA	Estimula respostas inflamatórias que podem se relacionar com um perfil carcinogênico
Substância de Agregação	4	2010 - 2020: 3 2021 - 2022: 1	África do Sul, EUA, Holanda, Itália	Favorece a colonização na mucosa intestinal podendo levar a translocação de <i>E. faecalis</i> pela membrana da mucosa intestinal
Receptores tipo-Toll	3	2010 - 2020: 3	EUA, Irã, Itália	Indução de citocinas pró inflamatórias e ativação de TLR, que correlacionam com a angiogênese e oncogênese
Ativador de plasminogênio da uroquinase	1	2020 - 2022: 1	EUA	Aumentou significativamente a sinalização através do receptor de superfície celular do ativador do plasminogênio da uroquinase (uPAR), levando ao aumento da migração das células cancerígenas
Sistema de Fosfotransferase	1	2010 - 2020: 1	EUA	Favorece a colonização por <i>E. faecalis</i> e induz a inflamação podendo levar ao perfil carcinogênico

**Tabela 1.** Dados dos estudos selecionados com a ocorrência de *E. faecalis* no CCR nos últimos 20 anos (2002-2022).

Avaliando os artigos foi possível verificar que as espécies reativas de oxigênio estava presente em 23 (58,9%) do total de artigos, seguido de instabilidade genômica (46,1%), 4-hidroxi-2-nonenal (15,4%), gelatinase (12,8%), ácido lipoteicóico (10,2%) e substância de agregação (10,2%), receptores tipo-Toll (7,7%), ativador de plasminogênio da uroquinase (2,56%) e sistema de fosfotransferase (2,56%), representando todos os fatores de virulência encontrados na literatura sobre o referido tema (figura 6).



**Figura 6.** Quantidade em porcentagem de cada perfil de virulência citados nos artigos, em função do total de artigos incluídos (39) no trabalho.

#### 4.2 O papel dos fatores de virulência dos *E. faecalis* no CCR

Os fatores de virulência, de modo geral, podem ser elencados como estratégias ou estruturas derivadas das bactérias, utilizadas para invadir células e tecidos do hospedeiro, causando um desequilíbrio entre a colonização bacteriana e a eficácia das defesas do sistema imunológico (MADSEN et al., 2017). Devido ao seu diversificado repertório de fatores de virulência, quando comparado a outros



gêneros de bactérias, *E. faecalis* garante uma permanência e subsequente sobrevivência em ambientes e situações distintas no organismo do hospedeiro, frente à sua reconhecível adaptação fisiológica (CHATTOPADHYAY et al., 2021).

Nos tópicos seguintes, serão apresentados cada um dos fatores de virulência de *E. faecalis* possivelmente associados ao câncer de cólon retal.

#### **4.2.1 Estresse oxidativo**

Em condições fisiológicas, os mecanismos de defesa antioxidantes e a formação de espécies reativas de oxigênio (ERO) se encontram em equilíbrio no organismo. Enzimas como a superóxido dismutase (Mn-SOD) e a catalase (CAT) compõem os mecanismos de defesa antioxidantes (YANG et al., 2013; BRUNEAU et al., 2017; SHOJI et al., 2021). Essas enzimas têm a capacidade de neutralizar ERO, expressos naturalmente durante certos processos fisiológicos. Uma fonte conhecida de ERO é a mitocôndria, que produz o ânion superóxido, o qual vai ser catalisado pela Mn-SOD, gerando peróxido de hidrogênio, uma espécie menos reativa para o organismo. Contudo o peróxido de hidrogênio apresenta uma reatividade não benéfica para o corpo humano, portanto será convertido através da CAT, gerando como produto água e oxigênio, espécies que não são relacionadas a dano celular (GAGNIÈRE et al., 2016; KHODAVERDI et al., 2021).

Quando ocorre um desequilíbrio energético entre a formação de enzimas antioxidantes e o aumento da expressão de ERO, é gerado um perfil pró-oxidante elencado como estresse oxidativo, levando a possíveis danos ao DNA celular, peroxidação de lipídeos e processos de oxidação de proteínas, relacionado ao surgimento ou agravamento de diversas patologias (VILJOEN et al., 2015; ALHINAI; WALTON; COMMANE, 2019; CHENG; LING; LI, 2020; ESCOLÀ-VERGÉ et al., 2020).

#### 4.2.1.2 Espécies reativas de oxigênio (ERO)

Citando as ERO envolvidas no estresse oxidativo, como o peróxido de hidrogênio e o ânion superóxido, ressalta-se que este último apresenta em especial uma correlação com *E. faecalis*, que aumenta a inflamação e morte celular. Esse composto leva a uma cascata de efeitos bioquímicos, que culminam no estímulo do processo inflamatório, desencadeando a inibição de genes de supressão tumoral e danos em estruturas celulares, que cronicamente podem levar a alteração da funcionalidade de tecidos, células e órgãos (WANG et al., 2007; VILJOEN et al., 2015; REZASOLTANI et al., 2018; RAHMAN et al., 2022). Dentre as bactérias presentes na microbiota intestinal, *E. faecalis* apresenta uma capacidade única relacionada à produção de ERO, em virtude da indução da formação do ânion superóxido extracelular, radical hidroxila e peróxido de hidrogênio (BALAMURUGAN et al., 2008; SZEMES et al., 2010; GERAHAND et al., 2019; LI et al., 2022). A produção de ERO por *E. faecalis* leva a um dano ao DNA epitelial da região do cólon gerando um quadro inflamatório, que sequencialmente evolui para a possível formação de pólipos e câncer colorretal, demonstrando que *E. faecalis*, em condições de disbiose, produz componentes que contribuem para a patogênese de doenças gastrointestinais (SZEMES et al., 2010; BOONANANTANASRN et al., 2012; ESCOLÀ-VERGÉ et al., 2020; D'ASHEESH et al., 2021).

Os mecanismos envolvidos na patologia causada por *E. faecalis* relacionado à produção de ERO ainda não estão totalmente elucidados. Estudos desenvolvidos indicaram que *E. faecalis* produz ERO a partir da redução não enzimática da menaquinona, produzida pela própria microbiota intestinal (HUYCKE; GASKINS, 2004; BALAMURUGAN et al., 2008; D'ASHEESH et al., 2021). Em outro estudo, foram analisadas amostras fecais de ratos, a partir da colonização intestinal induzida para *E. faecalis*, salientando uma presença exacerbada de peróxido de hidrogênio e principalmente superóxido (HUYCKE; ABRAMS; MOORE, 2002). Essas espécies reativas podem se difundir em células características da superfície epitelial, como colonócitos, e levarem a formação de radicais hidroxilas a nível intracelular, derivados da indução de reações redox, dentre elas a reações de *Fenton* (HENLE; LINN, 1997; WANG; KREUTZER; ESSIGMANN, 1998).

Nesse contexto, torna-se válido elencar o fato de que *E. faecalis* possui em seu genoma o gene que codifica a NADH oxidase, complexo enzimático que através da transferência de elétrons do NADH para o oxigênio forma o ânion superóxido, corroborando o perfil de *E. faecalis* formar ERO e conseqüentemente gerar um quadro deletério e inflamatório quando não em homeostase no organismo que predispõe mutações que podem levar ao desenvolvimento de câncer colorretal (SZEMES et al., 2010; GAGNIÈRE et al., 2016).

#### **4.2.1.3 Instabilidade genômica**

A instabilidade genômica é um fator característico de tumores carcinogênicos, sendo indicativo do progresso da displasia e dos processos que culminam nas mutações, que desencadeiam em quadros característicos, dentre eles o CCR (HUYCKE; ABRAMS; MOORE, 2002; LORIMORE; COATES; WRIGHT, 2003; DARMON; LEACH, 2014). Um dos tipos de instabilidade genômica é classificado como instabilidade cromossômica (CIN) (HUYCKE; ABRAMS; MOORE, 2002; HUYCKE; GASKINS, 2004; REZASOLTANI et al., 2018). A CIN é caracterizada como erros na segregação cromossômica e rearranjos que levam à alteração da estrutura do genoma (BARDELLI et al., 2001; WANG et al., 2008), com um perfil de perda da heterozigosidade e aneuploidia, sendo uma instabilidade característica da maioria dos CCR (HUYCKE; ABRAMS; MOORE, 2002; DUESBERG, 2005). A produção de superóxido de *E. faecalis* foi investigada e associada a danos e quebras de fita dupla de DNA, concomitante com modificações no número de cromossomos no organismo e formação de agentes clastogênicos, resultando em uma associação positiva com anáfases e mitoses multipolares (HUYCKE; ABRAMS; MOORE, 2002; HEDE, 2005; WANG et al., 2008).

Sobre a cascata de eventos que levam a inflamação desencadeada por *E. faecalis* e todos os processos bioquímicos envolvidos, a via da cicloxigenase-2 (COX-2) se apresenta como um fator importante relacionado à virulência em uma situação deletéria ao organismo causada por *E. faecalis* (CHAPPLE et al., 2000; WANG et al., 2013). Ao se constituir o quadro inflamatório no organismo, células do sistema imune, como macrófagos, são expressos e deslocados para o local da lesão (WANG et al., 2007; IRRAZÁBAL et al., 2014; MORGILLO et al., 2018; LI et al.,

2022). Os macrófagos, por sua vez, vão apresentar um efeito espectador (DE ALMEIDA; TADDEI; AMEDEI, 2018; WANG et al., 2012) em razão de mecanismos relacionados à *E. faecalis* ainda não totalmente esclarecidos, levando a uma amplificação das consequências dessa resposta biológica, que vai se disseminar em células próximas ou adjacentes (SEARS; GARRETT, 2014; WANG et al., 2015; WANG; YANG; HUYCKE, 2017).

#### 4.2.3 4-hidroxi-2-nonenal

Os macrófagos induzem a formação de COX-2, que usa o ácido araquidônico como substrato para produção de prostaglandinas relacionadas a cascata inflamatória (WANG et al., 2008; YANG et al., 2012; WANG et al., 2013). Um dos mecanismos de metabolização desse ácido é realizado por processos de oxirredução, através da via não enzimática, na qual o ácido araquidônico sofre peroxidação lipídica, e um dos subprodutos formados é o 4-hidroxi-2-nonenal (4-HNE), um agente difusível mutagênico (IRRAZÁBAL et al., 2014; YANG et al., 2016). Estudos recentes demonstram que além da COX-2 ser um mediador para a expressão de 4-HNE, em virtude da polarização de macrófagos por *E. faecalis* (LI et al., 2022), o ânion superóxido produzido por esse comensal intestinal pode reagir na presença de metais de transição, iniciando a reação de peroxidação lipídica, levando a formação de 4-HNE (POLI et al., 2008; WANG et al., 2012; DALLEAU et al., 2013).

O 4-HNE, um aldeído, atua principalmente como indutor de apoptose, principalmente em virtude da sua capacidade de formar adutos proteicos e modificar covalentemente proteínas, levando a modificações da função e degradação celular (YANG et al., 2016). Além disso, bactérias detectadas em amostras fecais através de análises de imuno-histoquímica, e análise de eletroforese em gel de célula única (Ensaio Cometa) em amostras de tecidos da região do cólon de roedores, reforçam o perfil de virulência significativo derivado da CIN e formação de COX-2 por *E. faecalis* e seus posteriores eventos que levam a tumorigênese, demonstrando que esses fatores se caracterizam mais como uma causa, e não uma resposta, frente à formação do câncer (HUYCKE; ABRAMS; MOORE, 2002; WANG et al., 2012). *Enterococcus faecalis* predispõe mutações através destes mecanismos, com suas

subsequentes consequências, induzindo alterações na mucosa intestinal, reforçando o perfil oportunista e possivelmente pró-carcinogênico dessa bactéria.

#### 4.2.4 Gelatinase

Uma das atividades de *E. faecalis* é a capacidade de produzir e consequentemente secretar gelatinase (GelE) no organismo hospedeiro. Codificada pelo gene *GelE*, dentre suas funções reconhecidas, a GelE exerce a hidrólise de substratos do organismo hospedeiro, dentre eles a caseína, fibrina, gelatina, fibrinogênio, colágeno e o peptídeo antimicrobiano LL-37 (ZENG; TENG; MURRAY, 2005; DE ALMEIDA; TADDEI; AMEDEI, 2018; BARTOLINI et al., 2020). Ao secretar GelE, *E. faecalis* pode levar a degradação da epithelial-caderina (E-caderina), uma glicoproteína relacionada à adesão celular epitelial que promove a homeostasia da aderência celular, e sua diminuição ou alteração está relacionada com quadro de malignidade e progressão tumoral (MARETZKY et al., 2005; THURLOW et al., 2010; HENSTRA et al., 2021). Ao promover a clivagem da E-caderina, GelE acarreta uma possível perda das funções da barreira epitelial, afetando sua estrutura e consequentemente iniciando um quadro inflamatório. Com o início desse processo, ocorre o direcionamento de citocinas pró-inflamatórias, pois a GelE também interfere, através da regulação do receptor 2 ativado por protease (PAR2), na permeabilidade do epitélio entérico. Enquanto GelE desencadeia a alteração nos níveis de E-caderina, promovendo a desregulação da adesão celular (THOMAS et al., 2008; FISHER; PHILLIPS, 2009; BARTOLINI et al., 2020), em um ambiente com uma inflamação gastrointestinal crônica, a E-caderina, a nível intracelular, se liga a actina, formando um complexo E-caderina- $\gamma$ -catenina, ao passo que, com a diminuição da expressão de E-caderina, a  $\gamma$ -catetina – agora em sua forma livre -, se direciona para o núcleo da célula (MÄKINEN et al., 1989; DE ALMEIDA; TADDEI; AMEDEI, 2018). O direcionamento para o núcleo celular causa um desequilíbrio na homeostase celular, favorecendo os mecanismos referentes à progressão tumoral e adesão celular.

Existem indicativos que a GelE ativa a metaloproteinase-9 da matriz de degradação do colágeno (MMP-9), degradando a matriz extracelular (MEC)

resultando em uma alteração entre a fisiologia normal e a integridade da MEC (HENSTRA et al., 2021; KARPIŃSKI; OŻAROWSKI; STASIEWICZ, 2022). A MMP-9 apresenta uma relevância nesse contexto, pois as metaloproteinases de matriz (MMPs) estão envolvidas em mecanismos celulares, relacionados a apoptose, angiogênese, adesão celular, invasão celular e desenvolvimento de metástase (BJÖRKLUND; KOIVUNEN, 2005; ZENG; TENG; MURRAY, 2005). Essa alteração na MEC leva a desregulações de mecanismos e componentes do sistema imune, pois *E. faecalis* possui proteínas de adesão para os produtos derivados da degradação dessa estrutura, como a ligante para a fibronectina (EfbA), a ligante ao colágeno (Ace) e a ligante ao fibrinogênio (Ebp) (BALAMURUGAN et al., 2008; SINGH et al., 2010).

Além dessa cadeia de eventos, Williamson et al (2022) analisaram a expressão de GelE de *E. faecalis* através da reação em cadeia da polimerase (PCR) em tempo real (qRT-PCR), método que permite quantificação da expressão gênica. Foram analisadas sob os mesmos parâmetros células do tipo CT26, uma linhagem celular de carcinoma de cólon obtido a partir da indução do composto N-nitroso-N-metiluretano (NNMU) em células de camundongo, usada em protocolos de testes de imunoterapia e resposta imune do hospedeiro. Os resultados quando avaliando os *E. faecalis* e as células cancerígenas incubados simultaneamente nas mesmas placas de cultura, demonstraram a ocorrência de um efeito indutor, pois as células cancerígenas aumentaram a expressão de GelE por *E. faecalis*, que por sua vez comprometeu a barreira epitelial do intestino, favorecendo uma maior invasão e translocação dessas células cancerígenas na membrana intestinal.

#### **4.2.5 Ácido Lipoteicóico**

O ácido lipoteicóico (LTA) é uma molécula que está presente na estrutura da parede celular de bactérias Gram-positivas. É caracterizada como um grupamento de glicerol fosfato ligado através de uma interação covalente a um glicolípido da membrana citoplasmática, que está em contato com a camada de peptidoglicano das bactérias. O LTA induz a ativação de monócitos, macrófagos e leucócitos, estimulando a expressão de mediadores inflamatórios e citocinas pró-inflamatórias,

como enzimas lisossomais, prostaglandinas E2, fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), e interleucinas do tipo IL-1, IL-6 e IL-8 (BOONANANTANASRN et al., 2012; ZOU et al., 2015).

No contexto carcinogênico, se ressalta a relevância do LTA como exercendo um papel significativo na formação de agregados bacterianos, pela ligação do *E. faecalis* na célula hospedeira, levando a modulação de processos inflamatórios, em virtude da transferência de plasmídeos, atuando também na formação de biofilme, resultando processos citotóxicos em virtude do perfil de virulência que o LTA confere ao *E. faecalis* (BOONANANTANASRN et al., 2012; DE ALMEIDA; TADDEI; AMEDEI, 2018).

#### **4.2.6 Substância de Agregação**

A substância de agregação (AS) está envolvida na adesão de *E. faecalis* a tecidos e células do organismo. Caracterizada como uma glicoproteína de superfície, a AS resulta em uma interação significativa entre o receptor bacteriano e a célula hospedeira. Uma vez que o epitélio da mucosa intestinal se apresenta com algum tipo de lesão ou inflamação, e conseqüentemente com sua matriz extracelular mais exposta, a adesão poderá ser mais eficiente, favorecendo a colonização da região e facilitando o estabelecimento de *E. faecalis* (ZENG; TENG; MURRAY, 2005; LENNARD; GOOSEN; BLACKBURN, 2016).

O gene que codifica a substância agregada é uma glicoproteína induzível presente em plasmídeos sexuais. Relacionado à expressão proteica dessa glicoproteína, os genes presentes em *E. faecalis*, *asa1*, *asp1* e *asc10* se destacam pela sua sequência de nucleotídeos quase que totalmente elucidada. Além dos genes codificadores na superfície, pode-se citar os respectivos plasmídeos de conjugação, pAD1, pPD1e pCF10, possibilitando um complexo de agregação maior quando comparado às outras bactérias que não apresentam essa estrutura (WATERS; DUNNY, 2001; DE ALMEIDA; TADDEI; AMEDEI, 2018). Em específico, os plasmídeos sexuais – designados como estruturas induzíveis por feromônios presentes nas bactérias - que durante o processo de conjugação bacteriana, por agregação, promovem a adesão celular e formação de agregados bacterianos,

resultam em uma ligação mais eficiente de *E. faecalis* em virtude da presença da substância de agregação. A substância de agregação apresenta-se como um fator de virulência à medida que, através dela, *E. faecalis* irá se aderir a células do epitélio intestinais e células neutrófilas, aumentando a resistência à fagocitose, favorecendo a proliferação, através da colonização e formação de agregados de *E. faecalis* (ZENG; TENG; MURRAY, 2005).

Corroborando o potencial de virulência da substância de agregação, denota-se em sua estrutura a presença de integrinas, proteínas de superfície celular associadas à interação com a matriz extracelular, com sequências de aminoácidos (Arg-Gly-Asp) semelhantes às integrinas do epitélio intestinal (FISHER; PHILLIPS, 2009; ABERNA; PRABAKARAN, 2011). Esse conjunto de características fornecem ao *E. faecalis* a possibilidade de permear a barreira epitelial do trato gastrointestinal, levando a sua translocação, sugerindo uma maior adesão e formação de agregados bacterianos, concomitante com a abertura de uma rota possível para outros microrganismos potencialmente patógenos adentrarem o epitélio intestinal (BOONANANTANASRN et al., 2012; HENSTRA et al., 2021).

Ademais, estudos fornecem um arcabouço para corroborar com essas características. Fisher e Phillips (2009) realizaram ensaios *in vivo* relatando que a substância de agregação desencadeia um maior potencial de formar agregados, enquanto outros estudos relataram que a substância de agregação aumentou a estabilidade em um quadro patogênico, proporcionado pela colonização de *E. faecalis*, sugerindo uma maior chance de formação de biofilme e outros fatores deletérios para o organismo, como a produção exacerbada de espécies reativas de oxigênio, já descritas na literatura (CHUANG-SMITH et al., 2010; ABERNA; PRABAKARAN, 2011; HENSTRA et al., 2021), elevando o risco do surgimento e desenvolvimento de neoplasias.

#### **4.2.7 Receptores do tipo-Toll**

Proteínas localizadas na região transmembrana, os receptores do tipo-Toll (TLR) apresentam-se como um fator importante relacionado à detecção de padrões de reconhecimento de patógenos (PAMP) (GOLDMAN, 2007; ZOU et al., 2015). A



partir da detecção dos antígenos bacterianos, os TLR estão envolvidos na mediação – através de vias de tradução celular - e na consequente geração de sinais que levam à expressão de citocinas e proteínas pró-inflamatórias, resultando no início da resposta imunológica e de reações inflamatórias no organismo, como a infiltração de leucócitos e posterior diferenciação de macrófagos a partir de monócitos na região (FUKATA; ABREU, 2008). Uma alteração ou expressão anormal desses receptores pode levar indução da angiogênese e um perfil inflamatório exacerbado que pode contribuir para o desenvolvimento da carcinogênese (MORGILLO et al., 2018; REZASOLTANI et al., 2020).

Achados abordam que em uma disbiose na microbiota, os níveis elevados de *E. faecalis* presentes foram relacionados positivamente com a expressão de TLR do tipo 2 (TLR-2) e 4 (TLR-4), indicando que esse aumento nos receptores, e consequente resposta inflamatória exacerbada, podem contribuir para a formação de pólipos e subsequente progressão para o câncer (REZASOLTANI et al., 2020). O LTA presente em *E. faecalis* indica ser uma estrutura com características que estimulam a expressão de TLR-2 (PARK OJ et al., 2013; ZOU et al., 2015), sugerindo que *E. faecalis* pode levar a uma alteração na expressão desses receptores, interferindo na homeostase e no equilíbrio da microbiota, gerando alteração da mucosa colorretal e consequente geração de pólipos e tumores malignos na região (MORGILLO et al., 2018).

#### **4.2.8 Sistema de Fosfotransferase**

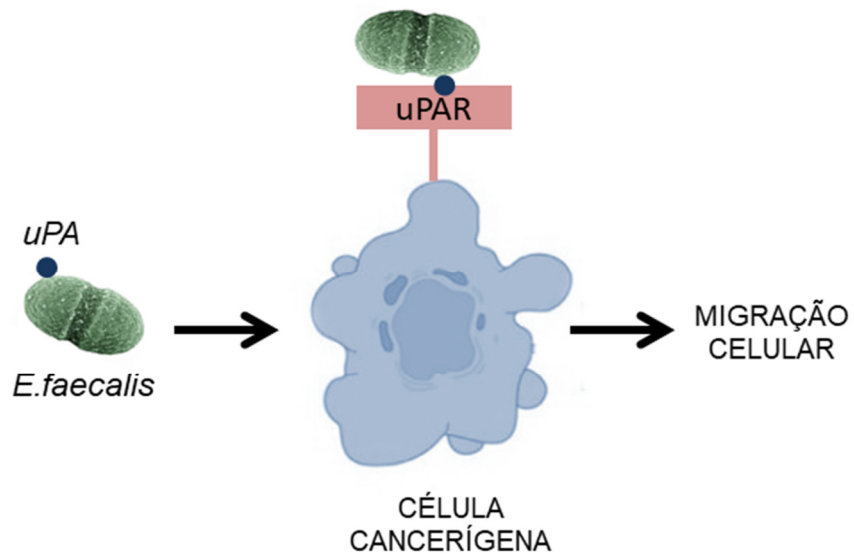
O sistema de fosfotransferase (PTS), relacionado ao contexto bacteriano, fornece substratos de açúcares extracelulares, os quais serão aproveitados pelas bactérias tanto para processos bioquímicos específicos bacterianos, quanto como fonte de energia (LINDENSTRAUB et al., 2014; FAN et al., 2019). O mecanismo atua catalisando a transferência de um grupamento fosforil do fosfoenolpiruvato para os açúcares usados pela bactéria, enquanto os transporta para o meio extracelular (WEI et al., 2021). Fan *et al* (2019) sugerem que *E. faecalis*, por meio desse mecanismo, promove a fosforilação da molécula de gluconato a partir da glicose, através da oxidação, aumentando os níveis de gluconato, permitindo uma maior taxa

de colonização, acelerando a proliferação e estabelecimento de *E. faecalis* como um patógeno oportunista. Esse conjunto de ações levam a uma possível translocação para além da microbiota, iniciando os mecanismos inflamatórios que pode evoluir e contribuir para o início do câncer (HONDORP et al., 2013).

#### 4.2.9 Ativador do plasminogênio da uroquinase

Williamson et al (2022), relacionaram a ocorrência de *E. faecalis* com o ativador de plasminogênio da uroquinase (uPA) e seu respectivo receptor de superfície celular (uPAR). Uma serina protease, o uPA inicialmente se apresenta como zimogênio, uma enzima com conformação inativa, e ao se ligar com seu receptor uPAR, ocorre a produção de plasmina e o estabelecimento do uPA em sua forma ativa. Essa interação uPA – uPAR é bem descrita na literatura, muito em virtude da formação da plasmina, que pode ocasionar a degradação de colágeno na matriz extracelular, alterando sua estrutura (HERSZÉNYI et al., 2008; WILLIAMSON et al., 2022). Em sinalizações transmembrana, a ligação uPA - uPAR atua causando aumento de proliferação celular, pois interage com vias de sinalização transmembrana, levando conseqüentemente a um quadro de migração celular. Portanto, *E. faecalis* indica apresentar uma interação com uPA, aumentando a sinalização com uPAR, e em um perfil cancerígeno, favoreceu a migração e indução de células cancerosas (Figura 7) (HERSZÉNYI et al., 2008; MINOO et al., 2010; JACOBSON et al., 2020).

À medida que a geração de plasmina e uPA – uPAR afeta estruturas da matriz extracelular, podendo levar a sua total destruição, esta associação também contribui para a geração de um quadro infeccioso e promove a migração de células de linhagem tumoral. O mecanismo proposto para que *E. faecalis* promova essa progressão de células no organismo, poderia ser através da sua ligação ao uPA, que leva a uma interação com uPAR, favorecendo fenótipo cancerígeno (MINOO et al., 2010; WILLIAMSON et al., 2022). Denota-se que relacionados a esses aspectos, *E. faecalis* atua na migração celular, favorecendo uma a proliferação celular em um quadro já patogênico ao organismo.



**Figura 7.** A ligação de *E. faecalis* ao ativador de plasminogênio da uroquinase (uPA) demonstra uma indução bacteriana que acarreta na migração celular através da interação com uPAR (adaptado de WILLIAMSON et al., 2022).

## 5 Conclusão

Após essa revisão da literatura, utilizando estudos dos últimos 20 anos (2002-2022), conclui-se que *Enterococcus faecalis* apresenta fatores de virulência que podem contribuir para o desenvolvimento do câncer de colorretal. Uma bactéria adaptada ao corpo humano e que interage com o organismo em homeostase através da microbiota, se demonstra também um patógeno oportunista, exibindo mecanismos que garantem sua sobrevivência e colonização exacerbada, que concomitantemente causam efeitos deletérios ao organismo, os quais indicam semelhanças a um perfil de carcinogênese.

O aumento de estudos e a busca de informações sobre esse tema reforça o interesse de compreender cada vez mais os aspectos relacionados à microbiota e seus constituintes, que podem apresentar uma dualidade - comensal e patogênica -, como *E.faecalis*. Na última década (2010-2020) foram realizados a maior parte desses estudos (66,66%), e comparando com os anos anteriores (2002-2009) que apresentaram menos resultados sobre esse tema (12,82%) denota-se que existe um campo a ser explorado e elucidado para o melhor entendimento referente à atuação de *E.faecalis* e seu papel nessa patologia. Isso se confirma, visto que nos últimos dois anos de pesquisa (2020 - 2022) oito artigos foram publicados sobre o tema (20,52%), indicando que a procura e desenvolvimento de estudos sobre *E.faecalis* e CCR está em ascensão.

Uma vez que dentre todos os tipos de câncer, o CCR apresenta alta mortalidade, abranger e descobrir o papel dos fatores que contribuem para sua formação, relacionados à *E. faecalis*, torna-se cada vez mais necessário para desenvolver medidas que possam atuar na prevenção e diagnóstico dessa doença.

## 6 REFERÊNCIAS

ABERNA, R. A.; PRABAKARAN, K. Evaluation for the association of virulence determinants among *E. faecalis* with its clinical outcome. **Int J Biol Med Res**, v. 2, n. 2, p. 523-527, 2011.

ADAK, A; KHAN, M.R. An insight into gut microbiota and its functionalities. **Cellular and Molecular Life Sciences**, v. 76, n. 3, p. 473-493, 2019.

ALHINAI, E. A.; WALTON, G. E.; COMMANE, D. M. The role of the gut microbiota in colorectal cancer causation. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 21, p. 5295, 2019.

BALAMURUGAN, R. et al. Real-time polymerase chain reaction quantification of specific butyrate-producing bacteria, *Desulfovibrio* and *Enterococcus faecalis* in the feces of patients with colorectal cancer. **Journal of gastroenterology and hepatology**, v. 23, n. 8pt1, p. 1298-1303, 2008.

BARDELLI, A. et al. Carcinogen-specific induction of genetic instability. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 98, n. 10, p. 5770-5775, 2001.

BARTOLINI, I. et al. Role of gut microbiota-immunity axis in patients undergoing surgery for colorectal cancer: Focus on short and long-term outcomes. **World Journal of Gastroenterology**, v. 26, n. 20, p. 2498, 2020.

BERNE, R. M.; LEVY, M. N.; KOEPPEN, B. M. **Berne & levy physiology**. Elsevier Brasil, 2008.

BIEDERMANN, L.; ROGLER, G. **The intestinal microbiota: its role in health and disease**. *European journal of pediatrics*, v. 174, n. 2, p. 151-167, 2015.

BJÖRKLUND, M.; KOIVUNEN, E. Gelatinase-mediated migration and invasion of cancer cells. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer**, v. 1755, n. 1, p. 37-69, 2005.

BOONANANTANASARN, K. et al. Enterococcus faecalis enhances cell proliferation through hydrogen peroxide-mediated epidermal growth factor receptor activation. **Infection and immunity**, v. 80, n. 10, p. 3545-3558, 2012.

BRUNEAU, A. et al. Gut microbiota: What impact on colorectal carcinogenesis and treatment?. **Bulletin du Cancer**, v. 105, n. 1, p. 70-80, 2017.

Centers for Disease Control and Prevention (CDC). **Publication #22-1381, Colorectal cancer screening brochure**. Disponível em: <https://www.cdc.gov/cancer/colorectal/pdf/colorectal-cancer-screening-brochure-508.pdf>, 2007.

CHAPPLE, K. S. et al. Localization of cyclooxygenase-2 in human sporadic colorectal adenomas. **The American journal of pathology**, v. 156, n. 2, p. 545-553, 2000.

CHATTOPADHYAY, I. et al. Exploring the role of gut microbiome in colon cancer. **Applied biochemistry and biotechnology**, v. 193, n. 6, p. 1780-1799, 2021.

CHENG, Y.; LING, Z.; LI, La. The intestinal microbiota and colorectal cancer. **Frontiers in immunology**, v. 11, p. 615056, 2020.

CHUANG-SMITH, O. N. et al. Acceleration of *Enterococcus faecalis* biofilm formation by aggregation substance expression in an ex vivo model of cardiac valve colonization. **PloS one**, v. 5, n. 12, p. e15798, 2010.

CRESCI, G. A.; BAWDEN, E. Gut microbiome: what we do and don't know. **Nutrition in Clinical Practice**, v. 30, n. 6, p. 734-746, 2015.

D'ASHEESH, T. et al. Assessment of oncogenic role of intestinal microbiota in colorectal cancer patients. **Journal of gastrointestinal cancer**, v. 52, n. 3, p. 1016-1021, 2021.

DALLEAU, S. et al. Cell death and diseases related to oxidative stress: 4-hydroxynonenal (HNE) in the balance. **Cell Death & Differentiation**, v. 20, n. 12, p. 1615-1630, 2013

DARMON, E.; LEACH, D. RF. Bacterial genome instability. **Microbiology and Molecular Biology Reviews**, v. 78, n. 1, p. 1-39, 2014.

DE ALMEIDA, C. V.; TADDEI, A.; AMEDEI, A.. The controversial role of *Enterococcus faecalis* in colorectal cancer. **Therapeutic advances in gastroenterology**, v. 11, p. 1756284818783606, 2018.

DUESBERG, P. et al. The chromosomal basis of cancer. **Analytical Cellular Pathology**, v. 27, n. 5-6, p. 293-318, 2005.

ESCOLÀ-VERGÉ, L. et al. Prevalence of colorectal disease in *Enterococcus faecalis* infective endocarditis: results of an observational multicenter study. **Revista Española de Cardiología (English Edition)**, v. 73, n. 9, p. 711-717, 2020.

FAN, T. et al. Enterococcus faecalis gluconate phosphotransferase system accelerates experimental colitis and bacterial killing by macrophages. **Infection and Immunity**, v. 87, n. 7, p. e00080-19, 2019.

FERLAY, J. et al. Cancer incidence and mortality worldwide. **International agency for research on cancer (IARC)**, câncer base No. 11, 2013.

FISHER, K.; PHILLIPS, C.. The ecology, epidemiology and virulence of Enterococcus. **Microbiology**, v. 155, n. 6, p. 1749-1757, 2009.

FUKATA, M.; ABREU, M. T. Role of Toll-like receptors in gastrointestinal malignancies. **Oncogene**, v. 27, n. 2, p. 234-243, 2008.

GAGNIÈRE, J. et al. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. **World journal of gastroenterology**, v. 22, n. 2, p. 501, 2016.

GERAVAND, M. et al. Investigation of Enterococcus faecalis population in patients with polyp and colorectal cancer in comparison of healthy individuals. **Arquivos de Gastroenterologia**, v. 56, p. 141-145, 2019.

GOLDMAN, M. Translational mini-review series on Toll-like receptors: Toll-like receptor ligands as novel pharmaceuticals for allergic disorders. **Clinical & Experimental Immunology**, v. 147, n. 2, p. 208-216, 2007.

HEDE, K. Which came first? Studies clarify role of aneuploidy in cancer. **Journal of the National Cancer Institute**, v. 97, n. 2, p. 87-89, 2005.

HENLE, E. S.; LINN, S. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. **Journal of Biological Chemistry**, v. 272, n. 31, p. 19095-19098, 1997.



HENSTRA, C. et al. The gastrointestinal microbiota in colorectal cancer cell migration and invasion. **Clinical & experimental metastasis**, v. 38, n. 6, p. 495-510, 2021.

HERSZÉNYI, L. et al. Serum cathepsin B and plasma urokinase-type plasminogen activator levels in gastrointestinal tract cancers. **European Journal of Cancer Prevention**, p. 438-445, 2008.

HONDORP, E. R. et al. PTS phosphorylation of Mga modulates regulon expression and virulence in the group A streptococcus. **Molecular microbiology**, v. 88, n. 6, p. 1176-1193, 2013.

HUYCKE, M. M.; ABRAMS, Vi.; MOORE, D. R. Enterococcus faecalis produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA. **Carcinogenesis**, v. 23, n. 3, p. 529-536, 2002.

HUYCKE, M.; GASKINS, H. R. Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. **Experimental biology and medicine**, v. 229, n. 7, p. 586-597, 2004.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA(INCA). **Tipos de câncer**. Rio de Janeiro: INCA, 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tipos-de-cancer>.

INTERNATIONAL AGENCY FOR RESEARCH ON CANCER (IARC). Press Release N° 315: Updated profile of the cancer burden, patterns, and trends in Latin America and the Caribbean. **IARC Working Group**, 17 June 2022.

IRRAZÁBAL, T. et al. The multifaceted role of the intestinal microbiota in colon cancer. **Molecular cell**, v. 54, n. 2, p. 309-320, 2014.

JACOBSON, R. A. et al. Enterococcus faecalis exploits the human fibrinolytic system to drive excess collagenolysis: implications in gut healing and

identification of druggable targets. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, v. 318, n. 1, p. G1-G9, 2020.

KARPIŃSKI, T. M.; OŻAROWSKI, M.; STASIEWICZ, M. Carcinogenic microbiota and its role in colorectal cancer development. In: **Seminars in Cancer Biology**. Academic Press, 2022.

KHODAVERDI, N. et al. High frequency of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* and *Enterococcus faecalis* in the paraffin-embedded tissues of Iranian colorectal cancer patients. **BMC cancer**, v. 21, n. 1, p. 1-7, 2021.

LENNARD, K. S.; GOOSEN, R. W.; BLACKBURN, J. M. Bacterially-associated transcriptional remodelling in a distinct genomic subtype of colorectal cancer provides a plausible molecular basis for disease development. **PLoS One**, v. 11, n. 11, p. e0166282, 2016.

LI, S. et al. Tumorigenic bacteria in colorectal cancer: mechanisms and treatments. **Cancer Biology & Medicine**, v. 19, n. 2, p. 147, 2022.

LI, W. et al. Gut microbiome and cancer immunotherapy. **Cancer letters**, v. 447, p. 41-47, 2019.

LINDENSTRAUB, A. G. et al. Transcriptome analysis of *Enterococcus faecalis* toward its adaption to surviving in the mouse intestinal tract. **Archives of microbiology**, v. 196, n. 6, p. 423-433, 2014.

LORIMORE, S. A.; COATES, P. J.; WRIGHT, E. G. Radiation-induced genomic instability and bystander effects: inter-related nontargeted effects of exposure to ionizing radiation. **Oncogene**, v. 22, n. 45, p. 7058-7069, 2003.

MADSEN, K. T. et al. Virulence factors associated with *Enterococcus faecalis* infective endocarditis: a mini review. **The open microbiology journal**, v. 11, p. 1, 2017.

MÄKINEN, P. L. et al. Purification and substrate specificity of a strongly hydrophobic extracellular metalloendopeptidase (“gelatinase”) from *Streptococcus faecalis* (strain OG1-10). **Journal of Biological Chemistry**, v. 264, n. 6, p. 3325-3334, 1989.

MARETZKY, T. et al. ADAM10 mediates E-cadherin shedding and regulates epithelial cell-cell adhesion, migration, and  $\beta$ -catenin translocation. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 26, p. 9182-9187, 2005.

MATSUMOTO, Y. et al. *Enterococcus faecalis* YM0831 suppresses sucrose-induced hyperglycemia in a silkworm model and in humans. **Communications biology**, v. 2, n. 1, p. 1-12, 2019.

MINOO, P. et al. Urokinase-type plasminogen activator is a marker of aggressive phenotype and an independent prognostic factor in mismatch repair-proficient colorectal cancer. **Human pathology**, v. 41, n. 1, p. 70-78, 2010.

MORGILLO, F. et al. Carcinogenesis as a result of multiple inflammatory and oxidative hits: a comprehensive review from tumor microenvironment to gut microbiota. **Neoplasia (New York, NY)**, v. 20, n. 7, p. 721, 2018.

Murray, B. E. The life and times of the *Enterococcus*. **Clinical Microbiology Reviews**, United States, v.3, n.1, p. 46-65, 1990.

MUSSO, G.; GAMBINO, R.; CASSADER, M. Obesity, diabetes, and gut microbiota: the hygiene hypothesis expanded?. **Diabetes care**, v. 33, n. 10, p. 2277-2284, 2010.

PARK, O. et al. Lipoteichoic acid of *Enterococcus faecalis* induces the expression of chemokines via TLR2 and PAFR signaling pathways. **Journal of leukocyte biology**, v. 94, n. 6, p. 1275-1284, 2013.

POLI, G. et al. 4-Hydroxynonenal: A membrane lipid oxidation product of medicinal interest. **Medicinal research reviews**, v. 28, n. 4, p. 569-631, 2008.

RAHMAN, M. M. et al. Microbiome in cancer: Role in carcinogenesis and impact in therapeutic strategies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 149, p. 112898, 2022.

REZASOLTANI, S. et al. Expression of main toll-like receptors in patients with different types of colorectal polyps and their relationship with gut microbiota. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 23, p. 8968, 2020.

REZASOLTANI, S. et al. The association between fecal microbiota and different types of colorectal polyp as precursors of colorectal cancer. **Microbial pathogenesis**, v. 124, p. 244-249, 2018.

SEARS, C. L.; GARRETT, Wendy S. Microbes, microbiota, and colon cancer. **Cell host & microbe**, v. 15, n. 3, p. 317-328, 2014.

SHOJI, M. et al. Characteristics of the gut microbiome profile in obese patients with colorectal cancer. **JGH Open**, v. 5, n. 4, p. 498-507, 2021.

SINGH, K. V. et al. Importance of the collagen adhesin ace in pathogenesis and protection against *Enterococcus faecalis* experimental endocarditis. **PLoS pathogens**, v. 6, n. 1, p. e1000716, 2010.

SOMMER, F.; BÄCKHED, F. The gut microbiota—masters of host development and physiology. *Nature reviews microbiology*, v. 11, n. 4, p. 227-238, 2013.

SUNG, H. et al. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: a cancer journal for clinicians**, v. 71, n. 3, p. 209-249, 2021.

SZEMES, T. et al. On the origin of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms in *Enterococcus faecalis*. **Redox Report**, v. 15, n. 5, p. 202-206, 2010.

The Cancer Atlas. American Cancer Society. Latin America & the Caribbean. **IARC Working Group**, 2022. Disponível em: <https://canceratlas.cancer.org/the-burden/latin-america-and-the-caribbean>.

The Global Cancer Observatory (Globocan). International Agency for Research on Cancer. **Cancer fact sheet**, nº8, 2020.

THOMAS, V. C. et al. Regulation of autolysis-dependent extracellular DNA release by *Enterococcus faecalis* extracellular proteases influences biofilm development. **Journal of bacteriology**, v. 190, n. 16, p. 5690-5698, 2008.

THURLOW, L. R. et al. Gelatinase contributes to the pathogenesis of endocarditis caused by *Enterococcus faecalis*. **Infection and immunity**, v. 78, n. 11, p. 4936-4943, 2010.

VILJOEN, K. S. et al. Quantitative profiling of colorectal cancer-associated bacteria reveals associations between *Fusobacterium* spp., enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF) and clinicopathological features of colorectal cancer. **PloS one**, v. 10, n. 3, p. e0119462, 2015.

WALKER, A. W.; LAWLEY, T. D. Therapeutic modulation of intestinal dysbiosis. **Pharmacological research**, v. 69, n. 1, p. 75-86, 2013.

WANG, D.; KREUTZER, D. A.; ESSIGMANN, J. M. Mutagenicity and repair of oxidative DNA damage: insights from studies using defined lesions. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 400, n. 1-2, p. 99-115, 1998.

WANG, X. et al. 4-Hydroxy-2-nonenal mediates genotoxicity and bystander effects caused by *Enterococcus faecalis*-infected macrophages. **Gastroenterology**, v. 142, n. 3, p. 543-551. e7, 2012.

WANG, X. et al. Cyclooxygenase-2 Generates the Endogenous Mutagen trans-4-Hydroxy-2-nonenal in *Enterococcus faecalis*-Infected Macrophages COX-2 Generates 4-HNE in Macrophages. **Cancer Prevention Research**, v. 6, n. 3, p. 206-216, 2013.

WANG, X. et al. *Enterococcus faecalis* induces aneuploidy and tetraploidy in colonic epithelial cells through a bystander effect. **Cancer research**, v. 68, n. 23, p. 9909-9917, 2008.

WANG, X.; HUYCKE, M. M. Extracellular superoxide production by *Enterococcus faecalis* promotes chromosomal instability in mammalian cells. **Gastroenterology**, v. 132, n. 2, p. 551-561, 2007.

WANG, X.; YANG, Y.; HUYCKE, M. M. Commensal bacteria drive endogenous transformation and tumour stem cell marker expression through a bystander effect. **Gut**, v. 64, n. 3, p. 459-468, 2015.

WANG, X.; YANG, Y.; HUYCKE, M. M. Commensal-infected macrophages induce dedifferentiation and reprogramming of epithelial cells during colorectal carcinogenesis. **Oncotarget**, v. 8, n. 60, p. 102176, 2017.

WATERS, C. M.; DUNNY, G. M. Analysis of functional domains of the Enterococcus faecalis pheromone-induced surface protein aggregation substance. **Journal of bacteriology**, v. 183, n. 19, p. 5659-5667, 2001.

WEI, L. et al. Phosphate transport system mediates the resistance of Enterococcus faecalis to multidrug. **Microbiological Research**, v. 249, p. 126772, 2021.

WILLIAMSON, A. J. et al. Enterococcus faecalis promotes a migratory and invasive phenotype in colon cancer cells. **Neoplasia**, v. 27, p. 100787, 2022.

XI, Y.; XU, P. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. **Translational Oncology**, v. 14, n. 10, p. 101174, 2021.

YANG, Y. et al. Glutathione S-transferase alpha 4 induction by activator protein 1 in colorectal cancer. **Oncogene**, v. 35, n. 44, p. 5795-5806, 2016.

YANG, Y. et al. Colon macrophages polarized by commensal bacteria cause colitis and cancer through the bystander effect. **Translational oncology**, v. 6, n. 5, p. 596-IN8, 2013.

YANG, Y. et al. TNF- $\alpha$  mediates macrophage-induced bystander effects through netrin-1. **Cancer research**, v. 72, n. 20, p. 5219-5229, 2012.

ZENG, J.; TENG, F.; MURRAY, B. E. Gelatinase is important for translocation of Enterococcus faecalis across polarized human enterocyte-like T84 cells. **Infection and immunity**, v. 73, n. 3, p. 1606-1612, 2005.

ZOU, J.; SHANKAR, N.. Roles of TLR/MyD88/MAPK/NF- $\kappa$ B signaling pathways in the regulation of phagocytosis and proinflammatory cytokine expression in response to E. faecalis infection. **PloS one**, v. 10, n. 8, p. e0136947, 2015.