

Mecanismos de virulência de *Enterococcus faecalis* associados ao câncer colorretal*Enterococcus faecalis* virulence mechanisms associated with colorectal cancerLucas Dutra Freitas¹ , Kimberly Borchardt Ramos¹ , Ana Paula Guedes Frazzon² , Carlos Alberto Yasin Wayhs^{3*} ¹Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brasil²Departamento de Microbiologia, Imunologia e Parasitologia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre – RS, Brasil³Central de Misturas Intravenosas, Serviço de Farmácia, Hospital de Clínicas de Porto Alegre – RS, Brasil*Autor correspondente/Corresponding author: manowayhs@yahoo.com.br

Recebido/Received: 25-02-2023; Revisto/Revised: 08-05-2023; Aceite/Accepted: 16-05-2023

Resumo

Introdução: O câncer de colorretal (CCR) é um dos mais prevalentes em número de casos e mortes no mundo. 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. Estudos demonstram que a microbiota intestinal desregulada ou disbiose associada aos mecanismos de virulência podem estar relacionadas com o surgimento do CCR. Dentre os microrganismos que compõem a microbiota intestinal, destaca-se o *Enterococcus faecalis*. Esta bactéria Gram-positiva é comensal do trato gastrointestinal, contudo, pode agir como patógeno oportunista, através de mecanismos associados a virulência. **Objetivo:** O objetivo desse artigo de revisão foi descrever o papel dos mecanismos de virulência de *E. faecalis* associados ao CCR. **Material e Métodos:** Revisão de literatura de artigos publicados nas bases de dados *Science Direct* e *PubMed* nos últimos 20 anos (2002–2022), empregando as palavras-chaves *Enterococcus faecalis* e câncer de colorretal. **Resultados:** De um total de 313 artigos encontrados, 39 foram incluídos para o desenvolvimento dessa revisão bibliográfica. Os mecanismos de virulência de *E. faecalis* mais relatados na literatura associados ao CCR são as espécies reativas de oxigênio (ERO) (58,9%), instabilidade genômica (46,1%), 4-hidroxi-2-nonenal (15,4%), gelatinase (12,8%), ácido lipoteicóico (10,2%), substância de agregação (10,2%), receptores tipo-Toll (7,7%), ativador de plasminogênio da uroquinase (2,56%) e sistema de fosforotransferase (2,56%). **Conclusões:** Foi possível verificar que alguns mecanismos descritos em *E. faecalis*, principalmente as ERO, podem ter uma associação com o desenvolvimento do CCR.

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

Introduction: Colorectal cancer (CRC) is one of the most prevalent in the number of cases and deaths in the world. 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. Studies show that dysregulated intestinal microbiota or dysbiosis associated with virulence mechanisms may be related to the appearance of CRC. Among the microorganisms that make up the intestinal microbiota, the *Enterococcus faecalis* stands out. This Gram-positive bacterium is commensal of the gastrointestinal tract; however, it can act as an opportunistic pathogen, through the mechanisms associated with virulence. **Objective:** The aim of this literature review was to describe the role of virulence mechanisms of *E. faecalis* associated with CRC. **Material and Methods:** Literature review of articles published in the ScienceDirect and PubMed databases in the last 20 years (2002–2022), using the keywords *Enterococcus faecalis* and colorectal cancer. **Results:** Of a total of 313 articles found, 39 were included for the development of this bibliographic review. The virulence mechanisms of the *E. faecalis* most pointed out in the literature associated with CRC are reactive oxygen species (58.9%), 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%), plasminogen activator urokinase (2.56%) and phosphotransferase system (2.56%). **Conclusions:** It was possible to verify that some mechanisms described in *E. faecalis*, mainly the reactive oxygen species, might be associated with the development of CRC.

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

1. INTRODUÇÃO

O intestino é um órgão que faz parte do trato gastrointestinal e divide-se em intestino delgado, cólon e reto. No intestino delgado ocorre a absorção de nutrientes, líquidos e eletrólitos presentes nos alimentos, que são componentes essenciais para homeostase e funcionamento do organismo. Presente ao longo de todo intestino, a microbiota intestinal compreende uma extensa gama de microrganismos, dentre vírus, fungos e bactérias (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 (Berne; Levy; Koepfen, 2008; Bruneau et al., 2017).

De acordo com dados do *The Global Cancer Observatory* no ano de 2020, o câncer de mama (11,7%), câncer de pulmão (11,4%) e câncer colorretal (CCR) (10%) foram os mais prevalentes em número de diagnósticos em 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 CCR (9,4%) e câncer de fígado (8,3%), respectivamente (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). 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. 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 por 100 mil habitantes para o sexo masculino e 21,8 por 100 mil habitantes para o sexo feminino (Inca, 2019; Xi; Xu, 2021; Sung et al., 2021; Iarc, 2022).

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 (Sommer; Bäcked, 2013; Bruneau et al., 2017; Xi; Xu, 2021). Recentemente, evidências crescentes indicam que a perda de homeostase da microbiota intestinal pode está intimamente relacionada ao CCR (Bruneau et al., 2017; Li et al., 2019; Chattopadhyay et al., 2021; Rahman, 2022).

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

1. INTRODUCTION

The intestine is an organ of the gastrointestinal tract and is divided into the small intestine, colon and rectum. In the small intestine occurs the absorption of nutrients, liquids and electrolytes present in food, which are essential components for homeostasis and functioning of the organism. Present throughout the intestine, the intestinal microbiota comprises a wide range of microorganisms, including viruses, fungi and bacteria (Biedermann; Rogler, 2015). Due to its importance and its relationship with several diseases, such as irritable bowel syndrome, obesity, insulin resistance, ulcerative colitis, Crohn's disease, depression and neoplasms, the composition and function of the intestinal microbiota has been receiving attention and being the target of new discoveries in the last decades (Berne; Levy; Koepfen, 2008; Bruneau et al., 2017).

According to data from *The Global Cancer Observatory* in the year 2020, breast cancer (11.7%), lung cancer (11.4%) and colorectal cancer (CRC) (10%) were the most prevalent in number diagnostics globally. Also, analyzing the number of cancer-related deaths worldwide in 2020, lung cancer was the leading cause of death (18%), followed by CRC (9.4%) and liver cancer (8.3%), respectively (The Global Cancer Observatory, 2020).

CRC, popularly known as bowel cancer, affects the final portion of this organ (colon and rectum). The pathogenesis, in most cases, begins with the formation of an adenoma, from the development of adenomatous polyps in the intestinal mucosa glands, which may progress to an advanced dysplasia stage, carcinoma and, consequently, cancer. (Bruneau et al., 2017; D'asheesh et al., 2021; Karpiński; Ożarowski; Stasiewicz, 2022). It was observed that, in 2020, approximately 1.93 million cases of CRC were diagnosed globally, with an estimated 935,000 deaths from this pathology in the same period. These data indicate CRC as being responsible for 10% of the nearly 19.30 million cancer diagnoses and for 9.4% of the 9.97 million deaths caused worldwide in a period of one year, stipulating an incidence rate of cases of 26.6 per 100 thousand inhabitants for males and 21.8 per 100 thousand inhabitants for females (Inca, 2019; Xi; Xu, 2021; Sung et al., 2021; Iarc, 2022).

Factors associated with the development of this type of cancer include: obesity, sedentary lifestyle, smoking, alcoholism, family history of inflammatory bowel disease and adenomatous polyps. Since most cases of this type of cancer are of sporadic origin (~75%), and its etiology is still not fully known, any conditions and mechanisms that interfere with the occurrence of this clinical state become relevant to understanding the evolution of the disease (Sommer; Bäcked, 2013; Bruneau et al., 2017; Xi; Xu, 2021). Recently, increasing evidence indicates that loss of intestinal microbiota homeostasis may be closely related to CRC (Bruneau et al., 2017; Li et al., 2019; Chattopadhyay et al., 2021; Rahman, 2022).

Intestinal microbiota is, by definition, the set of microorganisms (bacteria, fungi, protozoa and viruses) that colonize the human gastrointestinal tract and that, under normal conditions, do not cause disease to the host. The microbiota performs several functions related to the conservation of intestinal, structural, immunological and metabolic homeostasis, performing functions, such as

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, sendo o cólon responsável pela maior quantidade desses microrganismos (Fig. 1) (Cresci; Bawden, 2015; Biedermann; Rogler, 2015). 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).

Quando a microbiota intestinal se apresenta desregulada (disbiose intestinal), seja pela alimentação rica em gorduras e/ou pobre em fibras, ou até mesmo pelo uso de medicamentos, alguns microrganismos comensais podem se tornar patógenos oportunistas. Neste contexto, o *Enterococcus faecalis* pode agir como oportunista e invadir os tecidos do hospedeiro, causando algumas patologias. Esta bactéria, através de seus mecanismos de virulência, tem sido associada a diversas infecções incluindo endocardite, prostatite, celulite e infecção em feridas, assim como infecção do trato urinário, intra-abdominal, até mesmo concomitante a bacteremia, além de estar relacionada ao desenvolvimento de neoplasias no intestino (Madsen et al., 2017; Chattopadhyay et al., 2021).

O gênero *Enterococcus* pertencente a 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 (Fig. 2). (Murray, 1990; Williamson et al., 2022). Os enterococcus apresentam-se como bactérias anaeróbias facultativas, com teste de catalase negativo, produtores de ácido láctico e 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). 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).

A espécie *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). Devido ao seu diversificado repertório de mecanismos 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). 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. Entretanto, em uma situação que consiga se disseminar sem controle, *E. faecalis* pode se enquadrar como um patógeno oportunista, instaurando ou

digestion and supply of nutrients, through proteolytic and anaerobic fermentations (Li et al., 2019; Chattopadhyay et al., 2021). It is estimated that about 100 trillion (10^{14}) bacteria are distributed throughout the gastrointestinal tract, with the colon responsible for the largest number of these microorganisms (Fig. 1) (Cresci; Bawden, 2015; Biedermann; Rogler, 2015). Four phyla are predominant in the colonization of this organ, namely Bacteroides, Actinobacteria, Proteobacteria and Firmicutes. Among the bacterial genera present in the intestinal microbiota, the highest occurrence is related to the genera *Lactobacillus*, *Clostridium* e *Enterococcus* (Chattopadhyay et al., 2021).

When the intestinal microbiota is dysregulated (intestinal dysbiosis), either due to a diet high in fat and/or low in fiber, or even due to the use of medication, some commensal microorganisms can become opportunistic pathogens. In this context, *Enterococcus faecalis* can act as an opportunist and invade host tissues, causing some pathologies. This bacterium, through its virulence mechanisms, has been associated with several infections including endocarditis, prostatitis, cellulitis and wound infection, as well as urinary tract infection, intra-abdominal infection, even concomitant with bacteremia, in addition to being related to the development of neoplasms in the intestine (Madsen et al., 2017; Chattopadhyay et al., 2021).

The genus *Enterococcus* belonging to the Enterococcaceae family, of the phylum Firmicutes, which is characterized by presenting a morphology in an arrangement of Gram-positive cocci, observed in pairs, short chains or isolated (Fig. 2) (Murray, 1990; Williamson et al., 2022). Enterococci are facultative anaerobic bacteria, with a negative catalase test, lactic acid producers and tolerate environments with high concentrations of bile salts (40%) and saline solutions (6.5%), showing an ideal growth range in pH of 7.5, being able to grow in pH between 4.5 to 9.0 (Murray, 1990). This genus is adapted to the physiological conditions of the human body, inhabiting the oral cavity, gastrointestinal tract and genitourinary tract. Currently, more than 50 species of *Enterococcus* are recognized, among them one of the most recurrent causes of infections, *Enterococcus faecalis* (Murray, 1990; Fisher, 2009; Madsen et al., 2017).

The *Enterococcus faecalis* species is one of the most frequent species in the gastrointestinal tract, since approximately 65% of the microbiota composition is related to the Firmicutes phylum (Bruneau et al., 2017). Due to its diverse repertoire of virulence mechanisms, when compared to other genera of bacteria, *E. faecalis* ensures permanence and subsequent survival in different environments and situations in the host organism, in view of its recognizable physiological adaptation (Chattopadhyay et al., 2021). In the gastrointestinal tract, these bacteria act in a commensal relationship with the human body, maintaining a balance with the rest of the microbiota components in relation to the maintenance of the organism's homeostasis. However, in a situation that manages to spread without control, *E. faecalis* can be framed as an opportunistic pathogen, establishing or favoring inappropriate inflammatory conditions in regions of the intestine, such as the colon and rectum, through mechanisms not yet fully elucidated (Gagnière et al., 2016; Alhina; Walton; Commane, 2019).

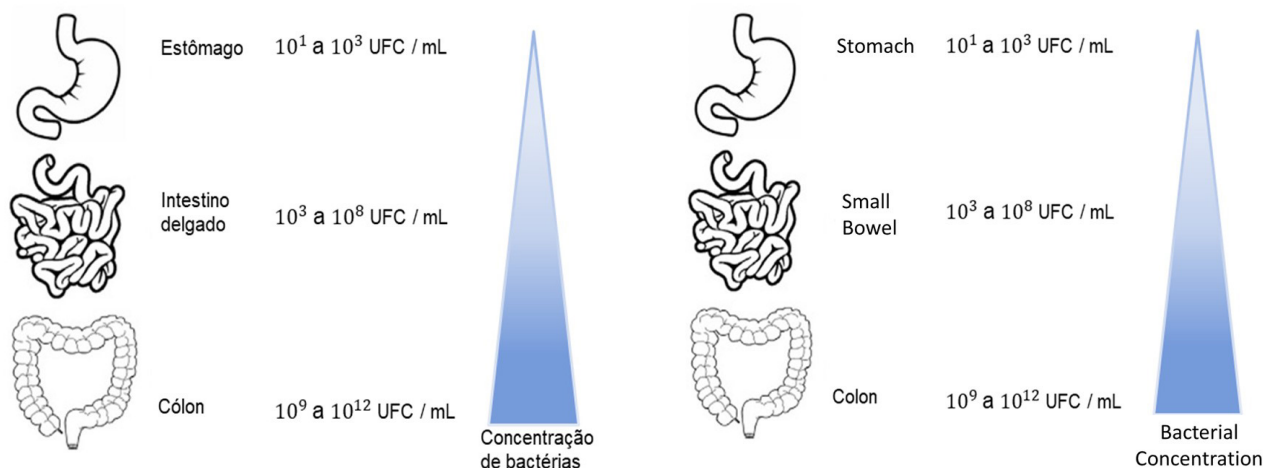
favorecendo quadros inflamatórios inadequados em regiões do intestino, como o cólon e o reto, através de mecanismos ainda não totalmente elucidados (Gagnière et al., 2016; Alhinai; Walton; Commane, 2019).

2. OBJETIVO

O objetivo desse artigo de revisão foi descrever o papel dos mecanismos de virulência descritos na literatura em *E. faecalis* que podem estar associados ao CCR.

2. OBJECTIVE

The aim of this review article was to describe the role of virulence mechanisms contained in the literature in *E. faecalis* that may be associated with CRC.



Figura/Figure 1: Quantidade estimada de unidade formadoras de colônias (UFC) bacterianas ao longo do trato gastrointestinal (Adaptado de BRUNEAU et al., 2017)/Estimated amount of bacterial colony forming units (CFU) along the gastrointestinal tract (Adapted from BRUNEAU et al., 2017).

3. MATERIAL E MÉTODOS

A pesquisa bibliográfica foi realizada em busca de artigos publicados nas bases de dados Science Direct e PubMed nos últimos 20 anos (2002–2022), relacionando os mecanismos de virulência de *Enterococcus faecalis* associados ao câncer de colorretal, empregando as palavras-chaves na busca nos respectivos bancos de dados: “enterococcus AND faecalis AND (colorectal cancer OR colon cancer)”. Foram incluídos na busca artigos de revisão, estudos clínicos e artigos de pesquisa.

Trabalhos que não relacionassem os mecanismos de virulência de *Enterococcus faecalis* com câncer de CCR foram excluídos, resultando nos artigos de interesse, os quais foram lidos de maneira integral, observando aspectos que se adequassem aos objetivos do tema. Após a leitura dos artigos, foram excluídos os que não corresponderam à análise e fatores que estão relacionados com o tema especificado, resultando nos artigos utilizados no presente trabalho, conforme pode ser verificado na Fig. 3.

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1. PREVALÊNCIA DE *E. FAECALIS* NO CCR

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. Com a aplicação dos critérios de exclusão, 55 artigos foram selecionados, 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

3. MATERIALS AND METHODS

The bibliographical research was carried out in search of articles published in the ScienceDirect and PubMed databases in the last 20 years (2002–2022), relating the virulence mechanisms of *Enterococcus faecalis* associated with CRC, using the keywords in the search in the respective databases: “enterococcus AND faecalis AND (colorectal cancer OR colon cancer)”. Review articles, clinical studies and research articles were included in the search.

Papers that did not relate the virulence mechanisms of *Enterococcus faecalis* with CRC were excluded, resulting in the articles of interest, which were read in full, observing aspects that suited the objectives of the theme. After reading the articles, those that did not correspond to the analysis and factors that are related to the specified theme were excluded, resulting in the articles used in the present work, as can be seen in Fig. 3.

4. RESULTS AND DISCUSSION

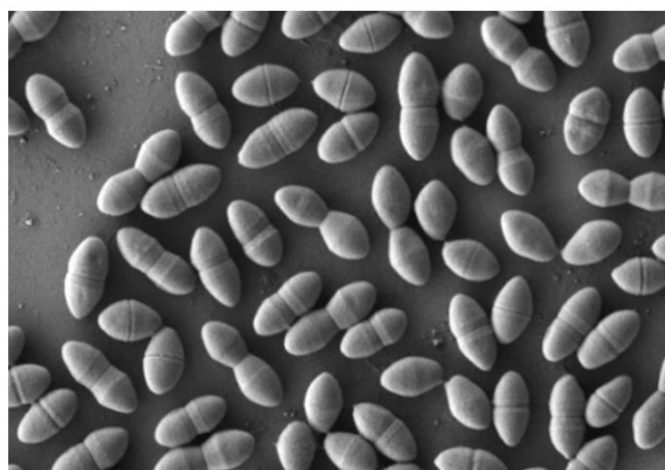
4.1 PREVALENCE OF *E. FAECALIS* IN CRC

The search tag “enterococcus AND faecalis AND (colorectal cancer OR colon cancer)” resulted in 92 publications in PubMed and 221 publications in ScienceDirect, respectively, totaling 313 results. With the application of the exclusion criteria, 55 articles were selected, which were read in full, observing aspects that suited the objectives of the theme. After reading the articles, 16 were excluded for not corresponding to the analysis and factors that are related to the specified theme, and 39 results were used in the present work (Table 1).

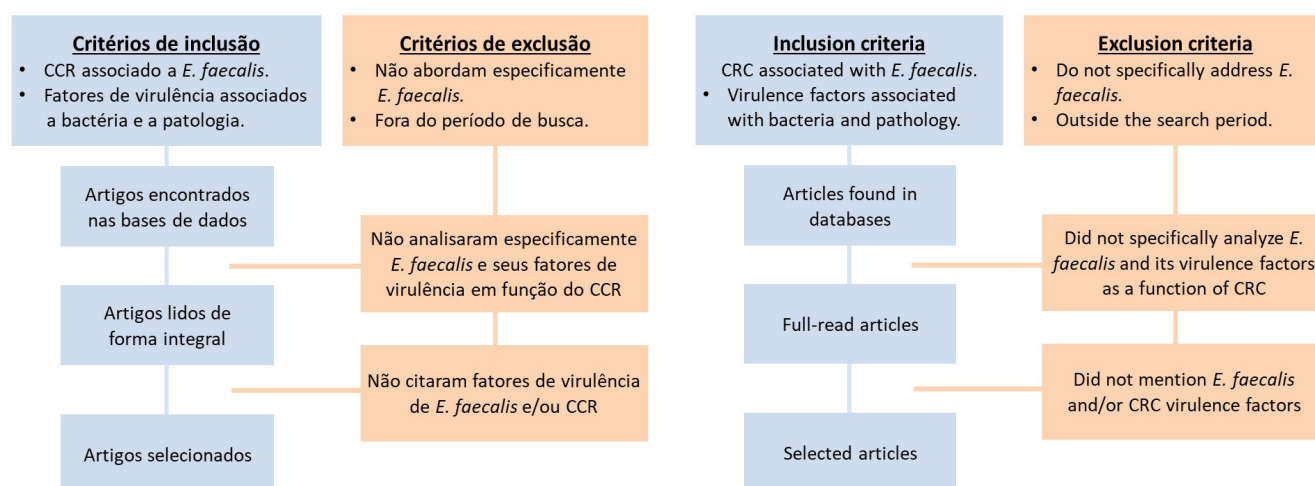
e fatores que estão relacionados ao tema especificado, onde 39 resultados foram utilizados no presente trabalho (Tabela 1).

Com base na importância clínica do acometimento do CCR e o conhecimento sobre os possíveis mecanismos de *E. faecalis* relacionados a essa doença, nove mecanismos de virulência (fatores de virulência ou moléculas que induzem a 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 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 2).

Based on the clinical importance of CRC involvement and knowledge about the possible mechanisms of *E. faecalis* related to this disease, nine virulence mechanisms (virulence factors or molecules that induce the virulence) were described, providing an overview of the aspects and events that may allow the progression and development of CRC. From reading the 39 selected articles, it was possible to verify that the United States of America was the country that most published articles within the period stipulated by this bibliographic review (41.0%), followed by Iran (12.8%), Italy (7.7%), South Africa (5.1%), China (5.1%) and France (5.1%). Bangladesh, Canada, Slovakia, Spain, Holland, India, Japan, Oman and Poland, published 1 article (2.57%) on the subject (Table 2).



Figura/Figure 2: Microscopia eletrônica de células de *E. faecalis* apresentando arranjo de diplococos (Adaptado de MATSUMOTO et al., 2019)/Electron microscopy of *E. faecalis* cells showing diplococcal arrangement (Adapted from MATSUMOTO et al., 2019).



Figura/Figure 3: Fluxograma da seleção de pesquisa dos estudos/Flowchart of the research selection of studies.

Avaliando os artigos foi possível verificar que entre os fatores de virulência ou moléculas que induzem a virulência de *E. faecalis* e que poderiam ser associados com CCR, as espécies reativas de oxigênio (ERO) foram identificadas em 23

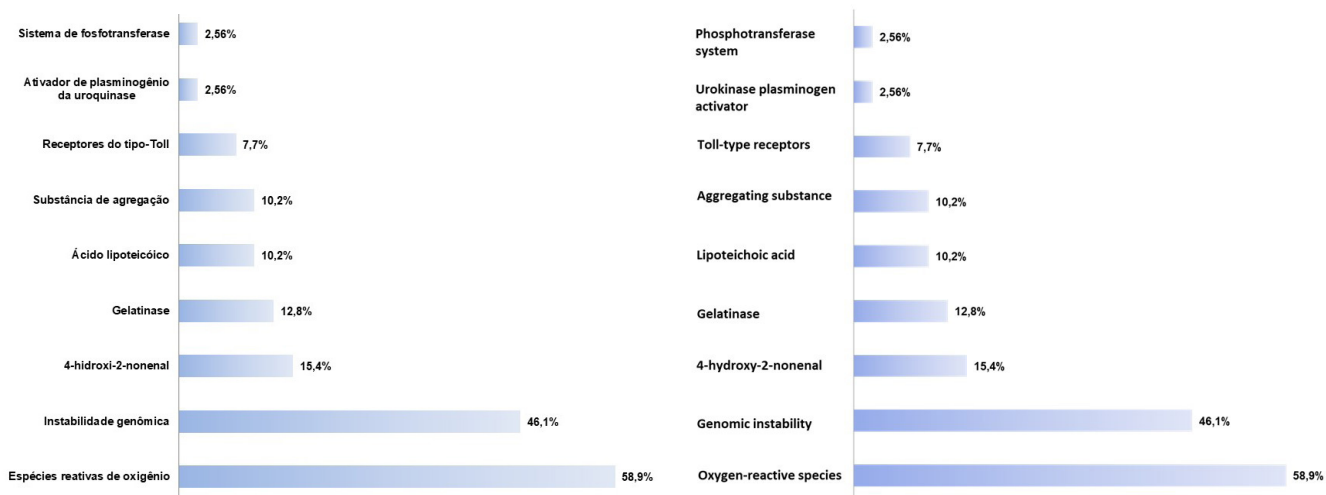
Evaluating the articles, it was possible to verify that among the virulence factors or molecules that induce the virulence of *E. faecalis* and might be associated with CRC, reactive oxygen species (ROS) were identified in 23 (58.9%) of the total articles.

(58,9%) do total de artigos. Esta foi seguida de produção de ERO e instabilidade genômica (46,1%), geração de 4-hidroxi-2-nonenal (15,4%), produção da enzima gelatinase (12,8%), presença do ácido lipoteicoico (10,2%), expressão da substância de agregação (10,2%), ativação dos receptores tipo-Toll (7,7%), ativação de plasminogênio da uroquinase (2,56%) e sistema de fosfotransferase (2,56%) (Fig. 4).

This was followed by ROS production and genomic instability (46.1%), 4-hydroxy-2-nonenal generation (15.4%), gelatinase enzyme production (12.8%), presence of lipoteichoic acid (10.2%), expression of the aggregating substance (10.2%), activation of Toll-like receptors (7.7%), urokinase plasminogen activation (2.56%) and phosphotransferase system (2.56%) (Fig. 4).

Tabela/Table 1: Total de artigos excluídos e incluídos no estudo após aplicação dos critérios de exclusão/Total articles excluded and included in the study after applying the exclusion criteria.

Selecionados nas bases de dados/ Selected from databases	Excluídos por título e resumo/ Excluded by title and abstract	Lidos de forma integral/ Read in full	Excluídos após leitura na íntegra/ Excluded after reading in full	Selecionados/ Selected
313	258	55	16	39



Figura/Figure 4: Quantidade em porcentagem de cada perfil de virulência citado nos artigos em função do total de artigos incluídos (39) no trabalho/Percentage of each virulence profile mentioned in the articles according to the total number of articles included (39) in this work.

Tabela/Table 2: Dados dos estudos selecionados com a ocorrência de *E. faecalis* no CCR nos últimos 20 anos (2002 – 2022)/Data from selected studies with the occurrence of *E. faecalis* in CRC in the last 20 years (2002 – 2022).

Mecanismo de virulência/ Virulence mechanism	Nº Artigos/ Nº of articles	Período (Nº Artigos)/ Period (Nº of articles)	País/ Country	Principais resultados/ Main results
Espécies reativas de oxigênio/ Reactive oxygen species	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/South Africa, Bangladesh, Canada, China, Slovakia, Spain, USA, France, India, Iran, Italy, Japan, Oman, Poland	Produção de superóxido e peróxido de hidrogênio associada à inflamação e dano no epitélio e na mucosa intestinal/Production of superoxide and hydrogen peroxide associated with inflammation and damage in the intestinal epithelium and mucosa
Instabilidade genômica/ Genomic instability	18	2002 – 2009 (3) 2010 – 2020 (10) 2021 – 2022 (5)	Canadá, China, EUA, Irã, Japão, Polônia/Canada, China, USA, Iran, Japan, Poland	Polarização de macrófagos, relacionados ao efeito espectador e da cascata inflamatória, podem causar dano celular e desenvolver um perfil inflamatório/Macrophage polarization, related to the bystander effect and the inflammatory cascade, can cause cell damage and develop an inflammatory profile
4-hidroxi-2-nonenal/ 4-hydroxy-2-nonenal	6	2010 – 2020 (6)	EUA/USA	Macrófagos infectados por <i>E. faecalis</i> produzem 4-HNE, causando genotoxicidade/Macrophages infected by <i>E. faecalis</i> produce 4-HNE, causing genotoxicity
Gelatinase/ Gelatinase	5	2010 – 2020 (2) 2021 – 2022 (3)	EUA, Holanda, Itália/USA, Netherlands, Italy	Altera estruturas da membrana e da matriz extracelular, favorecendo a instalação e sobrevivência de <i>E. faecalis</i> /Alters membrane and extracellular matrix structures, favoring the installation and survival of <i>E. faecalis</i>

Ácido lipoteicóico/ Lipoteichoic acid	4	2002 – 2009 (1) 2010 – 2020 (3)	África do Sul, EUA/ South Africa, USA	Estimula respostas inflamatórias que podem se relacionar com um perfil carcinogênico/Stimulates inflammatory responses that may relate to a carcinogenic profile
Substância de agregação/ Aggregating substance	4	2010 – 2020 (3) 2021 – 2022 (1)	África do Sul, EUA, Holanda, Itália/South Africa, USA, Netherlands, Italy	Favorece a colonização na mucosa intestinal podendo levar a translocação de <i>E. faecalis</i> pela membrana da mucosa intestinal/Favors colonization in the intestinal mucosa and may lead to the translocation of <i>E. faecalis</i> through the intestinal mucosal membrane
Receptores tipo-Toll/ Toll-type receptors	3	2010 – 2020 (3)	EUA, Irã, Itália/ USA, Iran, Italy	Indução de citocinas pró inflamatórias e ativação de receptores que se correlacionam com a angiogênese e oncogênese/Induction of pro-inflammatory cytokines and activation of receptors that correlate with angiogenesis and oncogenesis
Ativador de plasminogênio da uroquinase/ Plasminogen activator of urokinase	1	2020 – 2022 (1)	EUA/USA	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/Significantly increased signaling through the cell surface receptor of urokinase plasminogen activator (uPAR), leading to increased migration of cancer cells
Sistema de fosfotransferase/ Phosphotransferase system	1	2010 – 2020 (1)	EUA/USA	Favorece a colonização por <i>E. faecalis</i> e induz a inflamação podendo levar ao perfil carcinogênico/Favors colonization by <i>E. faecalis</i> and induces inflammation, which may lead to a carcinogenic profile

4.2. O PAPEL DOS *E. FAECALIS* NO CCR

Os mecanismos de virulência, de modo geral, podem ser elencados como estratégias críticas para a infecção das células do hospedeiro, ou estruturas presentes nas células bacteriana, utilizadas para invadir as células e tecidos do hospedeiro, causar desequilíbrio na colonização bacteriana, e/ou evadir do sistema imune (Madsen et al., 2017).

Nos tópicos seguintes, serão apresentados cada um dos fatores de virulência ou estratégias descritas em *E. faecalis* possivelmente associados ao desenvolvimento do CCR.

4.3. PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO (ERO)

Em condições fisiológicas, os mecanismos de defesa antioxidantes e a formação de 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 THE ROLE OF *E. FAECALIS* IN CRC

Virulence mechanisms, in general, can be listed as critical strategies for the infection of host cells, or structures present in bacterial cells, used to invade host cells and tissues, cause imbalance in bacterial colonization, and/or evade of the immune system (Madsen et al., 2017).

In the following topics, each of the virulence factors or strategies described in *E. faecalis* possibly associated with the development of CRC will be presented.

4.3 PRODUCTION OF REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS)

Under physiological conditions, the antioxidant defense mechanisms and the formation of ROS are in balance in the body. Enzymes such as superoxide dismutase (Mn-SOD) and catalase (CAT) make up the antioxidant defense mechanisms (Yang et al., 2013; Bruneau et al., 2017; Shoji et al., 2021). These enzymes have the ability to neutralize ROS, naturally expressed during certain physiological processes. A known source of ROS is the mitochondria, which produces the superoxide anion, which will be catalyzed by Mn-SOD, generating hydrogen peroxide, a less reactive species for the organism. However, hydrogen peroxide has a non-beneficial reactivity for the human body, so it will be converted through CAT, generating water and oxygen as a product, species that are not related to cell damage (Gagnière et al., 2016; Khodaverdi et al., 2021).

When an energy imbalance occurs between the formation of antioxidant enzymes and the increase in ROS expression, a pro-oxidant profile is generated. It is listed as oxidative stress, leading to possible damage to cellular DNA, peroxidation of lipids and processes of protein oxidation, related to the appearance or aggravation of various pathologies (Viljoen et al., 2015; Alhinai; Walton; Commane, 2019; Cheng; Ling; Li, 2020; Escolà-Vergé et al., 2020).

Citing ROS involved in oxidative stress, such as hydrogen peroxide and superoxide anion, it is emphasized that the

Citando 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; Geravand 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 uma 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). Essas espécies reativas podem se difundir em células características da superfície epitelial, como colonócitos, levando 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 consequentemente 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).

4.4. PRODUÇÃO DE ERO POR *E. FAECALIS* E 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

latter has a special correlation with *E. faecalis*, which increases inflammation and cell death. This compound leads to a cascade of biochemical effects, which culminate in the stimulation of the inflammatory process, triggering the inhibition of tumor suppression genes and damage to cellular structures, which can chronically alter the functionality of tissues, cells and organs (Wang et al., 2007; Viljoen et al., 2015; Rezasoltani et al., 2018; Rahman et al., 2022). Among the bacteria present in the intestinal microbiota, *E. faecalis* has a unique capacity related to the production of ROS, due to the formation of extracellular superoxide anion induction, hydroxyl radical and hydrogen peroxide (Balamurugan et al., 2008; Szemes et al., 2010; Geravand et al., 2019; Li et al., 2022). The ROS production by *E. faecalis* leads to DNA epithelial damage in the colon region, generating an inflammatory condition, which sequentially evolves to a possible formation of polyps and colorectal cancer. This demonstrates that *E. faecalis*, in conditions of dysbiosis, produces components that contribute to the pathogenesis of gastrointestinal diseases (Szemes et al., 2010; Boonanantanasrn et al., 2012; Escolà-Vergé et al., 2020; D'asheesh et al., 2021).

The mechanisms involved in the pathology caused by *E. faecalis* related to ROS production are still not fully elucidated. Developed studies indicated that *E. faecalis* produces ROS from the non-enzymatic reduction of menaquinone, produced by the intestinal microbiota itself (Huycke; Gaskins, 2004; Balamurugan et al., 2008; D'asheesh et al., 2021). These reactive species can diffuse into characteristic cells of the epithelial surface, such as colonocytes, leading to the formation of hydroxyl radicals at the intracellular level, derived from the induction of redox reactions, among them Fenton reactions (Henle; Linn, 1997; Wang; Kreutzer; Essigmann, 1998).

In this context, it is worth mentioning that *E. faecalis* has the gene that encodes NADH oxidase, an enzymatic complex that, through the transfer of electrons from NADH to oxygen, forms the superoxide anion. This corroborates the profile of *E. faecalis* to form ROS and consequently generate a deleterious and inflammatory picture that, when not in homeostasis in the organism, predisposes mutations that can lead to the development of CRC (Szemes et al., 2010; Gagnière et al., 2016).

4.4 ROS PRODUCTION BY *E. FAECALIS* AND GENOMIC INSTABILITY

Genomic instability is a characteristic factor of carcinogenic tumors, being the progress indicative of dysplasia and processes that culminate in mutations, which trigger characteristic conditions, including CRC (Huycke; Abrams; Moore, 2002; Lorimore; Coates; Wright, 2003; Darmon; Leach, 2014). One of the genomic instability types is classified as chromosomal instability (CIN) (huycke; Abrams; Moore, 2002; Huycke; Gaskins, 2004; Rezasoltani et al., 2018). CIN is characterized as errors in chromosomal segregation and rearrangements that lead to altered genome structure (Bardelli et al., 2001; Wang et al., 2008), with a loss profile of heterozygosity and aneuploidy, which is a characteristic instability of most CRC (Huycke; Abrams; Moore, 2002; Duesberg, 2005). The superoxide production by *E. faecalis* has been investigated and associated with damage and DNA double strand breaks, concomitant with changes in the number of chromosomes in the organism and formation of clastogenic agents, resulting in a positive association with anaphases and

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 ciclooxigenase-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).

4.5. GERAÇÃO DE 4-HIDROXI-2-NONENAL DURANTE INFECÇÃO POR *E. FAECALIS*

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.

4.6. ATIVIDADE DA ENZIMA GELATINASE DE *E. FAECALIS*

Codificada pelo gene *gelE*, dentre suas funções reconhecidas, a gelatinase (GelE) exerce a hidrólise de substratos do organismo

multipolar mitosis (Huycke; Abrams; Moore, 2002; Hede, 2005; Wang et al., 2008).

Regarding the cascade of events that lead to inflammation triggered by *E. faecalis* and all the biochemical processes involved, the cyclooxygenase-2 (COX-2) pathway appears to be an important factor related to virulence in a situation that is deleterious to the organism caused by *E. faecalis* (Chapple et al., 2000; Wang et al., 2013). When the inflammatory process is formed in the body, the immune system cells, such as macrophages, are expressed and moved to the site of injury (Wang et al., 2007; Irrazábal et al., 2014; Morgillo et al., 2018; Li et al., 2022). Macrophages, in turn, will present a bystander effect (De Almeida; Taddei; Amedei, 2018; Wang et al., 2012) due to mechanisms related to *E. faecalis* not yet fully clarified, leading to an amplification of this biological response consequences, which will spread to nearby or adjacent cells (Sears; Garrett, 2014; Wang et al., 2015; Wang; Yang; Huycke, 2017).

4.6 HYDROXY-2-NONENAL GENERATION DURING *E. FAECALIS* INFECTION

Macrophages induce the formation of COX-2, which uses arachidonic acid as a substrate to produce prostaglandins related to the inflammatory cascade (Wang et al., 2008; Yang et al., 2012; Wang et al., 2013). One of the metabolization mechanisms of this acid is carried out by oxidation-reduction processes, through the non-enzymatic pathway, in which arachidonic acid undergoes lipid peroxidation, and one of the by-products formed is 4-hydroxy-2-nonenal (4-HNE), a mutagen diffusible agent (Irrazábal et al., 2014; Yang et al., 2016). Recent studies demonstrate that, in addition to COX-2 being a mediator for the expression of 4-HNE, due to the macrophages polarization by *E. faecalis* (Li et al., 2022), the superoxide anion produced by this intestinal commensal can react in the transition metals presence, initiating the lipid peroxidation reaction, leading to the formation of 4-HNE (Poli et al., 2008; Wang et al., 2012; Dalleau et al., 2013).

4-HNE, an aldehyde, acts mainly as an inducer of apoptosis, mainly due to its ability to form protein adducts and covalently modify proteins, leading to changes in cell function and degradation (Yang et al., 2016). In addition, bacteria detected in fecal samples through immunohistochemical analysis and single cell gel electrophoresis analysis (Comet Assay), in tissue samples from the rodents colon region, reinforce the significant virulence profile derived from CIN and formation of COX-2 by *E. faecalis* and its subsequent events that lead to tumorigenesis, demonstrating that these factors are characterized more as a cause, and not a response, in the face of cancer formation (Huycke; Abrams; Moore, 2002; Wang et al., 2012). *E. faecalis* predisposes to mutations through these mechanisms, with subsequent consequences, inducing the intestinal mucosa alterations, reinforcing the opportunistic and possibly procarcinogen profile of this bacterium.

4.6 GELATINASE ENZYME ACTIVITY FROM *E. FAECALIS*

Encoded by the *gelE* gene, among its recognized functions, gelatinase (GelE) exerts the hydrolysis of host organism substrates, including casein, fibrin, gelatin, fibrinogen, collagen and the antimicrobial peptide LL-37

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 epitelial-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 clivar a E-caderina, GelE acarreta uma possível perda das funções da barreira epitelial, afetando sua estrutura e consequentemente iniciando um quadro inflamatório. Esse processo leva ao 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- γ -catenina, ao passo que, com a diminuição da expressão de E-caderina, a γ -catetina – agora em sua forma livre –, se direciona para o núcleo da célula (Mäkinen et al., 1989; De Almeida; Taddei; Amedei, 2018). Esse direcionamento para o núcleo celular causa um desequilíbrio na homeostase celular, favorecendo os mecanismos referentes à progressão tumoral e adesão celular.

Existem ainda 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).

4.7. ÁCIDO LIPOTEICÓICO PRESENTE NA PAREDE CELULAR DE *E. FAECALIS*

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- α), 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

(Zeng; Teng; Murray, 2005; De Almeida; Taddei; Amedei, 2018; Bartolini et al., 2020). By secreting GelE, *E. faecalis* can lead to the degradation of epithelial-cadherin (E-cadherin), a glycoprotein related to epithelial cell adhesion that promotes cell adhesion homeostasis, and its decrease or alteration is related to malignancy and tumor progression (Maretzky et al., 2005; Thurlow et al., 2010; Henstra et al., 2021). By cleaving E-cadherin, GelE causes a possible loss of epithelial barrier functions, affecting its structure and consequently initiating an inflammatory condition. This process leads to the targeting of pro-inflammatory cytokines, as GelE also interferes, through the regulation of protease-activated receptor 2 (PAR2), in the permeability of the enteric epithelium. While GelE triggers the change in E-cadherin levels, promoting the dysregulation of cell adhesion (Thomas et al., 2008; Fisher; Phillips, 2009; Bartolini et al., 2020), in an environment with chronic gastrointestinal inflammation, E-cadherin, at the intracellular level, binds to actin, forming an E-cadherin- γ -catenin complex, whereas, with a decrease in E-cadherin expression, γ -cathetin – now in its free form –, is directed to the cell nucleus (Mäkinen et al., 1989; De Almeida; Taddei; Amedei, 2018). This direction to the cell nucleus causes an imbalance in cell homeostasis, favoring mechanisms related to tumor progression and cell adhesion.

There are also indications that GelE activates collagen degradation matrix metalloproteinase-9 (MMP-9), degrading the extracellular matrix (ECM) resulting in an alteration between normal physiology and ECM integrity (Henstra et al., 2021; Karpiński; Ożarowski; Stasiewicz, 2022). MMP-9 is relevant in this context, as matrix metalloproteinases (MMPs) are involved in cellular mechanisms related to apoptosis, angiogenesis, cell adhesion, cell invasion and metastasis development (Björklund; Koivunen, 2005; Zeng; Teng; Murray, 2005). This alteration in the ECM leads to mechanisms and components deregulation of the immune system, since *E. faecalis* has adhesion proteins for the products derived from the degradation of this structure, such as the fibronectin ligand (EfbA), the collagen ligand (Ace) and fibrinogen ligand (Ebp) (Balamurugan et al., 2008; Singh et al., 2010).

4.7 LIPOTEICHOIC ACID (LTA) PRESENT IN THE CELL WALL OF *E. FAECALIS*

LTA is a molecule present in the cell wall structure of Gram-positive bacteria. It is characterized as a glycerol phosphate group linked through a covalent interaction to a glycolipid of the cytoplasmic membrane, which is in contact with the peptidoglycan layer of bacteria. LTA induces the activation of monocytes, macrophages and leukocytes, stimulating the expression of inflammatory mediators and pro-inflammatory cytokines, such as lysosomal enzymes, prostaglandins E2, tumor necrosis factor alpha (TNF- α), and IL-1-type interleukins, IL-6 and IL-8 (Boonanantanasrn et al., 2012; Zou et al., 2015).

In the carcinogenic context, the relevance of LTA is highlighted as playing a significant role in the formation of bacterial aggregates, through the binding of *E. faecalis* to the host cell, leading to the modulation of inflammatory processes, due to the transfer of plasmids, also acting in the formation of biofilm, resulting in cytotoxic processes due to the virulence profile that LTA confers on *E. faecalis* (Boonanantanasrn et al., 2012; De Almeida; Taddei; Amedei, 2018).

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).

4.8. PRODUÇÃO DE SUBSTÂNCIA DE AGREGAÇÃO

Caracterizada como uma glicoproteína de superfície, a substância de agregação (AS) resulta em uma interação significativa entre o receptor bacteriano e a célula hospedeira. Uma vez que o epitélio da mucosa intestinal se encontra 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 patógenos oportunistas, como *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 seqüência de nucleotídeos quase que totalmente elucidada. Além dos genes codificadores na superfície, pode-se citar os respectivos plasmídeos de conjugação, pAD1, pPD1 e 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). 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 intestinal e células neutrófilas, aumentando sua resistência à fagocitose, favorecendo a proliferação, através da colonização e formação de agregados bacterianos (Zeng; Teng; Murray, 2005). Em sua estrutura a AS possui a presença de integrinas, proteínas de superfície celular associadas à interação com a matriz extracelular, com seqüências de aminoácidos (Arg-Gly-Asp) semelhantes às integrinas do epitélio intestinal (Fisher; Phillips, 2009; Aberna; Prabakaran, 2011).

4.9. DISBIOSE E EXPRESSÃO 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 conseqüente 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 conseqüente resposta inflamatória exacerbada, podem contribuir para a formação de pólipos e subseqüente progressão para o câncer (Rezasoltani et al., 2020). O LTA presente em *E. faecalis* indica ser uma estrutura com características que estimulam a expressão

4.8 AGGREGATE SUBSTANCE PRODUCTION

Characterized as a surface glycoprotein, the aggregating substance (AS) results in a significant interaction between the bacterial receptor and the host cell. Once the epithelium of the intestinal mucosa is found with some type of injury or inflammation, and consequently with its extracellular matrix more exposed, adhesion may be more efficient, favoring the colonization of the region and facilitating the opportunistic pathogens establishment, such as *E. faecalis* (Zeng; Teng; Murray, 2005; Lennard; Goosen; Blackburn, 2016).

The gene encoding the aggregated substance is an inducible glycoprotein present on sex plasmids. Related to the protein expression of this glycoprotein, the genes present in *E. faecalis*, *asa1*, *asp1* and *asc10* stand out due to their almost completely elucidated nucleotide sequence. In addition to the coding genes on the surface, we can mention the respective conjugation plasmids, pAD1, pPD1 and pCF10, allowing a greater aggregation complex when compared to other bacteria that do not have this structure (Waters; Dunny, 2001; De Almeida; Taddei; Amedei, 2018). The aggregation substance is a virulence factor as, through it, *E. faecalis* will adhere to intestinal epithelial cells and neutrophil cells, increasing their resistance to phagocytosis, favoring proliferation through colonization and formation of bacterial aggregates (Zeng; Teng; Murray, 2005). In its structure, AS has the presence of integrins, cell surface proteins associated with the interaction with the extracellular matrix, with amino acid sequences (Arg-Gly-Asp) similar to intestinal epithelial integrins (Fisher; Phillips, 2009; Aberna; Prabakaran, 2011).

4.9 DYBIOSE AND EXPRESSION TOLL-TYPE RECEPTORS

Proteins located in the transmembrane region, the Toll-like receptors (TLR) are an important factor related to the detection of pathogen recognition patterns (PAMP) (Goldman, 2007; Zou et al., 2015). From the detection of bacterial antigens, TLRs are involved in the mediation - through cellular translation pathways - and in the consequent generation of signals that lead to the expression of cytokines and pro-inflammatory proteins, resulting in the onset of the immune response and inflammatory reactions in the body, such as infiltration of leukocytes and subsequent differentiation of macrophages from monocytes in the region (Fukata; Abreu, 2008). An alteration or abnormal expression of these receptors can lead to induction of angiogenesis and an exacerbated inflammatory profile that can contribute to the development of carcinogenesis (Morgillo et al., 2018; Rezasoltani et al., 2020).

Findings address that in a dysbiosis in the microbiota, the high levels of *E. faecalis* present were positively related to the expression of TLR types 2 (TLR-2) and 4 (TLR-4), indicating that this increase in receptors, and consequent exacerbated inflammatory response, may contribute to polyp formation and subsequent progression to cancer (Rezasoltani et al., 2020). The LTA present in *E. faecalis* indicates to be a structure with characteristics that stimulate the expression of TLR-2 (Park OJ et al., 2013; Zou et al., 2015), suggesting that *E. faecalis* can lead to an alteration in the expression of these receptors, interfering with the homeostasis and balance of the microbiota, causing changes in the colorectal mucosa and consequent generation

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).

4.10. 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 (Lindenstrauß 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).

4.11. ENTEROCOCCUS FAECALIS COMO 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 consequentemente 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 (Fig. 5) (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.

of polyps and malignant tumors in the region (Morgillo et al., 2018).

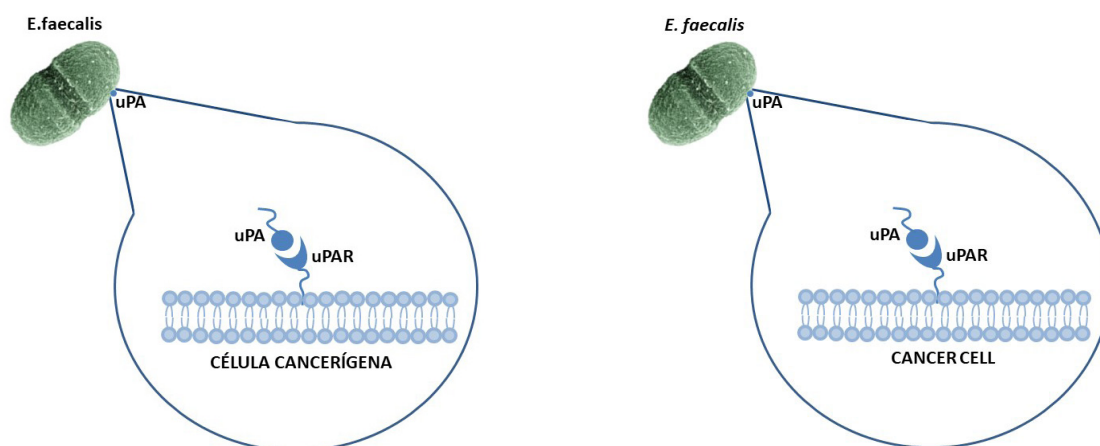
4.10 PHOSPHOTRANSFERASE SYSTEM

The phosphotransferase system (PTS), related to the bacterial context, provides extracellular sugar substrates, which will be used by bacteria both for specific bacterial biochemical processes and as a source of energy (Lindenstrauß et al., 2014; Fan et al., 2019). The mechanism acts by catalyzing the transfer of a phosphoryl group from phosphoenolpyruvate to the sugars used by the bacteria, while transporting them to the extracellular medium (Wei et al., 2021). Fan et al (2019) suggest that *E. faecalis*, through this mechanism, promotes the gluconate molecule phosphorylation from glucose, through oxidation, increasing gluconate levels, allowing a higher rate of colonization, accelerating the proliferation and establishment of *E. faecalis* as an opportunistic pathogen. This set of actions leads to a possible translocation beyond the microbiota, initiating inflammatory mechanisms that can evolve and contribute to the onset of cancer. (Hondorp et al., 2013).

4.11 ENTEROCOCCUS FAECALIS AS UROKINASE PLASMINOGEN ACTIVATOR

Williamson et al (2022) related the occurrence of *E. faecalis* with the urokinase plasminogen activator (uPA) and its respective cell surface receptor (uPAR). A serine protease, uPA initially appears as a zymogen, an enzyme with an inactive conformation, and upon binding with its uPAR receptor, plasmin is produced and uPA is established in its active form. This uPA - uPAR interaction is well described in the literature, largely due to the formation of plasmin, which can cause the degradation of collagen in the extracellular matrix, altering its structure (Herszényi et al., 2008; Williamson et al., 2022). In transmembrane signaling, the uPA - uPAR binding acts by causing an increase in cell proliferation, as it interacts with transmembrane signaling pathways, consequently leading to cell migration. Therefore, *E. faecalis* indicates an interaction with uPA, increasing uPAR signaling, and in a carcinogenic profile, favoring the migration and induction of cancer cells (Fig. 5) (Herszényi et al., 2008; Minoo et al., 2010; Jacobson et al., 2020).

As the generation of plasmin and uPA – uPAR affects structures of the extracellular matrix, which can lead to its total destruction, this association also contributes to the generation of an infectious condition and promotes the migration of tumor lineage cells. The proposed mechanism for *E. faecalis* to promote this progression of cells in the body could be through its binding to uPA, which leads to an interaction with uPAR, favoring a carcinogenic phenotype (Minoo et al., 2010; Williamson et al., 2022). It is noted that related to these aspects, *E. faecalis* acts in cell migration, favoring cell proliferation in an already pathogenic framework for the organism.



Figura/Figure 5: 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)/Binding of *E. faecalis* to urokinase plasminogen activator (uPA) demonstrates a bacterial induction that leads to cell migration through interaction with uPAR (Adapted from WILLIAMSON et al., 2022).

5. CONCLUSÕES

Após essa revisão da literatura, utilizando estudos dos últimos 20 anos, conclui-se que *E. faecalis* apresenta mecanismos 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), apresentaram menos resultados sobre esse tema (12,82%) evidenciando 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 mecanismos que contribuem para sua formação, torna-se cada vez mais necessário para desenvolver medidas que possam atuar na prevenção e diagnóstico dessa doença.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesse.

CONTRIBUIÇÕES AUTORAIS

Conceptualização, L.D.F. e A.P.G.F.; metodologia, L.D.F. e A.P.G.F.; validação, A.P.G.F. e C.A.Y.W.; investigação, L.D.F.; curadoria de dados, K.B.R.; redação - preparação do draft original, L.D.F. e C.A.Y.W.; redação - revisão e edição, A.P.G.F. e

5. CONCLUSIONS

After this literature review, using studies from the last 20 years, conclusions point out that *E. faecalis* has virulence mechanisms that may contribute to the development of CRC. A bacterium adapted to the human body and that interacts with the organism in homeostasis through the microbiota, is also shown to be an opportunistic pathogen, exhibiting mechanisms that guarantee its survival and exacerbated colonization, which concomitantly cause deleterious effects to the organism, which indicate similarities to a profile of carcinogenesis.

The increase in the number of studies and the search for information on this subject reinforces the interest in understanding more and more aspects related to the microbiota and its constituents, which can present a duality - commensal and pathogenic -, such as *E. faecalis*. Many of these studies were carried out (66.66%) in the last decade (2010-2020). When compared to previous years (2002-2009), they presented fewer results on this topic (12.82%), showing that it is still a field to be explored and clarified for a better understanding of the performance of *E. faecalis* and its role in this pathology. This is confirmed by the publication of eight articles on the subject (20.52%) in the last two years of research (2020 - 2022), indicating that the search and development of studies on *E. faecalis* and CRC is on the rise. Among all types of cancer, CRC has a high mortality rate. Therefore, covering and discovering the role of mechanisms that contribute to its formation becomes increasingly necessary, in order to develop more effective prevention and diagnosis measures of this disease.

CONFLICT OF INTEREST

The authors declare that there are no conflicts of interest.

AUTHOR CONTRIBUTIONS

Conceptualization, L.D.F. and A.P.G.F.; methodology, L.D.F. and A.P.G.F.; validation, A.P.G.F. and C.A.Y.W.; investigation, L.D.F.; data curation, K.B.R.; writing - preparation of the original draft, L.D.F. and C.A.Y.W.; writing - proofreading and editing, A.P.G.F. and C.A.Y.W.; supervision, A.P.G.F.; project coordination, C.A.Y.W.; All authors read and agreed with the published version of the manuscript.

C.A.Y.W.; supervisão, A.P.G.F.; coordenação do projeto, C.A.Y.W.; os autores leram e concordaram com a versão publicada do manuscrito.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS/REFERENCES

- Aberna RA, Prabakaran K. Evaluation for the association of virulence determinants among *E. faecalis* with its clinical outcome. *International Journal of Biological and Medical Research* **2** (2): 523-527, 2011.
- Alhinaí EA, Walton GE, Commene DM. The role of the gut microbiota in colorectal cancer causation. *International Journal of Molecular Sciences* **20** (21): 5295, 2019.
- Balamurugan R, Rajendiran E, George S, Samuel GV, Ramakrishna BS. 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* **23** (8pt1): 1298-1303, 2008.
- Bardelli A, Cahill DP, Lederer G, Speicher MR, Kinzler KW, Vogelstein B, Lengauer C. Carcinogen-specific induction of genetic instability. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **98** (10): 5770-5775, 2001.
- Bartolini I, Risaliti M, Ringressi MN, Melli F, Nannini G, Amedei A, Muiesan P, Taddei A. Role of gut microbiota-immunity axis in patients undergoing surgery for colorectal cancer: Focus on short and long-term outcomes. *World Journal of Gastroenterology* **26** (20): 2498, 2020.
- Berne RM, Levy MN, Koeppen BM. *Berne & Levy physiology*. Elsevier, Brasil, 2008.
- Biedermann L, Rogler G. The intestinal microbiota: its role in health and disease. *European Journal of Pediatrics* **174** (2): 151-167, 2015.
- Björklund M, Koivunen E. Gelatinase-mediated migration and invasion of cancer cells. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer* **1755** (1): 37-69, 2005.
- Boonantananasarn K, Gill AL, Yap Y, Jayaprakash V, Sullivan MA, Gill S R. *Enterococcus faecalis* enhances cell proliferation through hydrogen peroxide-mediated epidermal growth factor receptor activation. *Infection and Immunity* **80** (10): 3545-3558, 2012.
- Bruneau A, Baylatry MT, Joly AC, Sokol H. Gut microbiota: What impact on colorectal carcinogenesis and treatment?. *Bulletin du Cancer* **105** (1): 70-80, 2017.
- Chapple KS, Cartwright EJ, Hawcroft G, Tisbury A, Bonifer C, Scott N, Windsor ACJ, Guillou PJ, Markham AF, Coletta PL, MA. Localization of cyclooxygenase-2 in human sporadic colorectal adenomas. *The American Journal of Pathology* **156** (2): 545-553, 2000.
- Chattopadhyay I, Dhar R, Pethusamy K, Seethy A, Srivastava T, Sah R, Sharma J, Karmakar S. Exploring the role of gut microbiome in colon cancer. *Applied Biochemistry and Biotechnology* **193** (6): 1780-1799, 2021.
- Cheng Y, Ling Z, Li La. The intestinal microbiota and colorectal cancer. *Frontiers in Immunology* **11**: 615056, 2020.
- Cresci GA, Bawden E. Gut microbiome: what we do and don't know. *Nutrition in Clinical Practice* **30** (6): 734-746, 2015.
- D'asheesh TIA, Hussen BM, Al-Marzoqi AH, Ghasemian A. Assessment of oncogenic role of intestinal microbiota in colorectal cancer patients. *Journal of Gastrointestinal Cancer* **52** (3): 1016-1021, 2021.
- Dalleau S, Baradat M, Guéraud F, Huc L. Cell death and diseases related to oxidative stress: 4-hydroxynonenal (HNE) in the balance. *Cell Death & Differentiation* **20** (12): 1615-1630, 2013.
- Darmon E, Leach DRF. Bacterial genome instability. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **78** (1): 1-39, 2014.
- De Almeida CV, Taddei A, Amedei A. The controversial role of *Enterococcus faecalis* in colorectal cancer. *Therapeutic Advances in Gastroenterology* **11**: 1756284818783606, 2018.
- Duesberg P, Li R, Fabarius A, Hehlmann R. The chromosomal basis of cancer. *Analytical Cellular Pathology* **27** (5-6): 293-318, 2005.

- Escolà-Vergé L, Peghin M, Givone F, Pérez-Rodríguez MT, Suárez-Varela M, Meije Y, Abelenda G, Almirante B, Fernández-Hidalgo N. Prevalence of colorectal disease in *Enterococcus faecalis* infective endocarditis: results of an observational multicenter study. *Revista Española de Cardiología (English Edition)* **73** (9): 711-717, 2020.
- Fan TJ, Goeser L, Naziripour A, Redinbo MR, Hansen JJ. *Enterococcus faecalis* gluconate phosphotransferase system accelerates experimental colitis and bacterial killing by macrophages. *Infection and Immunity* **87** (7): e00080-19, 2019.
- Fisher K, Phillips C. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus*. *Microbiology* **155** (6): 1749-1757, 2009.
- Fukata M, Abreu MT. Role of Toll-like receptors in gastrointestinal malignancies. *Oncogene* **27** (2): 234-243, 2008.
- Gagnière J, Raisch J, Veziat J, Barnich N, Bonnet R, Buc E, Bringer MA, Pezet D, Bonnet M. Gut microbiota imbalance and colorectal cancer. *World Journal of Gastroenterology* **22** (2): 501, 2016.
- Geravand M, Fallah P, Yaghoobi MH, Soleimanifar F, Farid M, Zinatizadeh N, Yaslianifard S. Investigation of *Enterococcus faecalis* population in patients with polyp and colorectal cancer in comparison of healthy individuals. *Arquivos de Gastroenterologia* **56**: 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* **147** (2): 208-216, 2007.
- Hede K. Which came first? Studies clarify role of aneuploidy in cancer. *Journal of the National Cancer Institute* **97** (2): 87-89, 2005.
- Henle ES, Linn S. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. *Journal of Biological Chemistry* **272** (31): 19095-19098, 1997.
- Henstra C, van Praagh J, Olinga P, Nagelkerke A. The gastrointestinal microbiota in colorectal cancer cell migration and invasion. *Clinical & Experimental Metastasis* **38** (6): 495-510, 2021.
- Herszényi L, István G, Cardin R, De Paoli M, Plebani M, Tulassay Z, Farinati F. Serum cathepsin B and plasma urokinase-type plasminogen activator levels in gastrointestinal tract cancers. *European Journal of Cancer Prevention*: 438-445, 2008.
- Hondorp ER, Hou SC, Hause LL, Gera K, Lee CE, McIver KS. PTS phosphorylation of Mga modulates regulon expression and virulence in the group A streptococcus. *Molecular Microbiology* **88** (6): 1176-1193, 2013.
- Huycke M, Gaskins HR. Commensal bacteria, redox stress, and colorectal cancer: mechanisms and models. *Experimental Biology and Medicine* **229** (7): 586-597, 2004.
- Huycke MM, Abrams VI, Moore DR. *Enterococcus faecalis* produces extracellular superoxide and hydrogen peroxide that damages colonic epithelial cell DNA. *Carcinogenesis* **23** (3): 529-536, 2002.
- Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA). Tipos de câncer. Rio de Janeiro: INCA. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/tipos>, consultado em 24 - 06 -2022, 2019.
- International Agency for Research on Cancer (IARC). Press Release Nº 315: Updated profile of the cancer burden, patterns, and trends in Latin America and the Caribbean. IARC Working Group. Disponível em: https://www.iarc.who.int/wp-content/uploads/2022/06/pr315_E.pdf, consultado em 24 - 06 - 2022, 2022.
- Irrazábal T, Belcheva A, Girardin SE, Martin A, Philpott DJ. The multifaceted role of the intestinal microbiota in colon cancer. *Molecular cell* **54** (2): 309-320, 2014.
- Jacobson RA, Wienholts K, Williamson AJ, Gaines S, Hyoju S, Van Goor H, Zaborin A, Shogan BJ, Zaborina O, Alverdt JC. *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*, **318** (1): G1-G9, 2020.
- Karpiński TM, Ożarowski M, Stasiewicz M. Carcinogenic microbiota and its role in colorectal cancer development. *Seminars in Cancer Biology: Academic Press*, 2022.
- Khodaverdi N, Zeighami H, Jalilvand A, Haghi F, Hesami N. High

- frequency of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* and *Enterococcus faecalis* in the paraffin-embedded tissues of Iranian colorectal cancer patients. *BMC cancer* **21** (1): 1-7, 2021.
- Lennard KS, Goosen RW, Blackburn JM. Bacterially-associated transcriptional remodelling in a distinct genomic subtype of colorectal cancer provides a plausible molecular basis for disease development. *PLoS One* **11** (11): e0166282, 2016.
- Li S, Liu J, Zheng X, Ren L, Yang Y, Li W, Fu W, Wang J, Du G. Tumorigenic bacteria in colorectal cancer: mechanisms and treatments. *Cancer Biology & Medicine* **19** (2): 147, 2022.
- Li W, Deng Y, Chu Q, Zhang P. Gut microbiome and cancer immunotherapy. *Cancer letters* **447**: 41-47, 2019.
- Lindenstrauß AG, Ehrmann MA, Behr J, Landstorfer R, Haller D, Sartor RB, Vogel RF. Transcriptome analysis of *Enterococcus faecalis* toward its adaption to surviving in the mouse intestinal tract. *Archives of Microbiology* **196** (6): 423-433, 2014.
- Lorimore SA, Coates PJ, Wright EG. Radiation-induced genomic instability and bystander effects: inter-related nontargeted effects of exposure to ionizing radiation. *Oncogene* **22** (45): 7058-7069, 2003.
- Madsen KT, Skov MN, Gill S, Kemp M. Virulence factors associated with *Enterococcus faecalis* infective endocarditis: a mini review. *The Open Microbiology Journal* **11** (1): 2017.
- Mäkinen PL, Clewell DB, An F, Mäkinen KK. Purification and substrate specificity of a strongly hydrophobic extracellular metalloendopeptidase ("gelatinase") from *Streptococcus faecalis* (strain OG1-10). *Journal of Biological Chemistry* **264** (6): 3325-3334, 1989.
- Maretzky T, Reiss K, Ludwig A, Buchholz J, Scholz F, Proksch E, de Stropper B, Hartmann D, Saftig P. ADAM10 mediates E-cadherin shedding and regulates epithelial cell-cell adhesion, migration, and β -catenin translocation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **102** (26): 9182-9187, 2005.
- Matsumoto Y, Ishii M, Hasegawa S, Sekimizu K. *Enterococcus faecalis* YM0831 suppresses sucrose-induced hyperglycemia in a silkworm model and in humans. *Communications Biology* **2** (1): 1-12, 2019.
- Minoo P, Baker K, Baumhoer D, Terracciano L, Lugli A, Zlobec I. Urokinase-type plasminogen activator is a marker of aggressive phenotype and an independent prognostic factor in mismatch repair-proficient colorectal cancer. *Human Pathology* **41** (1): 70-78, 2010.
- Morgillo F, Dallio M, Della Corte CM, Gravina AG, Viscardi G, Loguercio C, Ciardiello F, Federico A. Carcinogenesis as a result of multiple inflammatory and oxidative hits: a comprehensive review from tumor microenvironment to gut microbiota. *Neoplasia (New York, NY)* **20** (7): 721, 2018.
- Murray BE. The life and times of the *Enterococcus*. *Clinical Microbiology Reviews* **3** (1): 46-65, 1990.
- Park OJ, Han JY, Baik JE, Jeon JH, Kang SS, Yun CH, Oh JW, Seo HS, Han SH. Lipoteichoic acid of *Enterococcus faecalis* induces the expression of chemokines via TLR2 and PAFR signaling pathways. *Journal of Leukocyte Biology* **94** (6): 1275-1284, 2013.
- Poli G, Schaur RJ, Siems WA, Leonarduzzi G. 4-Hydroxynonenal: A membrane lipid oxidation product of medicinal interest. *Medicinal Research Reviews* **28** (4): 569-631, 2008.
- Rahman MM, Islam MR, Shohag S, Ahasan MT, Sarkar N, Khan H, Hasan AM, Cavalu S, Rauf A. Microbiome in cancer: Role in carcinogenesis and impact in therapeutic strategies. *Biomedicine & Pharmacotherapy* **149**: 112898, 2022.
- Rezasoltani S, Aghdaei HÁ, Dabiri H, Sepahi AA, Modarressi MH, Mojarad EN. The association between fecal microbiota and different types of colorectal polyp as precursors of colorectal cancer. *Microbial Pathogenesis* **124**: 244-249, 2018.
- Rezasoltani S, Ghanbari R, Looha MA, Mojarad EN, Yadegar A, Stewart D, Aghdaei HA, Zali MR. 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* **21** (23): 8968, 2020.
- Sears CL, Garrett WS. Microbes, microbiota, and colon cancer. *Cell Host &*

- Microbe* **15** (3): 317-328, 2014.
- Shoji M, Sasaki Y, Abe Y, Nishise S, Yaoita T, Yagi M, Mizumoto N, Kon T, Onazato Y, Sakai T, Umehara M, Ito M, Koseki A, Muramaki R, Miyano, Sato H, Ueno Y. Characteristics of the gut microbiome profile in obese patients with colorectal cancer. *JGH Open* **5** (4): 498-507, 2021.
- Singh KV, Nallapareddy SR, Sillanpää J, Murray BE. Importance of the collagen adhesin ace in pathogenesis and protection against *Enterococcus faecalis* experimental endocarditis. *PLoS Pathogens* **6** (1): e1000716, 2010.
- Sommer F, Bäckhed F. The gut microbiota: masters of host development and physiology. *Nature Reviews Microbiology* **11** (4): 227-238, 2013.
- Sung H, Ferlay J, Siegel RL, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians* **71** (3): 209-249, 2021.
- Szemes T, Vlkova B, Minarik G, Tothova L, Drahovska H, Turna J, Celec P. On the origin of reactive oxygen species and antioxidative mechanisms in *Enterococcus faecalis*. *Redox Report* **15** (5): 202-206, 2010.
- The Global Cancer Observatory (Globocan). International Agency for Research on Cancer. Cancer fact sheet, nº8. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today/fact-sheets-cancers>, consultado em 24-06-2022, 2020.
- Thomas VC, Thurlow LR, Boyle D, Hancock LE. Regulation of autolysis-dependent extracellular DNA release by *Enterococcus faecalis* extracellular proteases influences biofilm development. *Journal of Bacteriology* **190** (16): 5690-5698, 2008.
- Thurlow LR, Thomas VC, Narayanan S, Olson S, Fleming SD, Hancock L. E. Gelatinase contributes to the pathogenesis of endocarditis caused by *Enterococcus faecalis*. *Infection and Immunity* **78** (11): 4936-4943, 2010.
- Viljoen KS, Dakshinamurthy A, Goldberg P, Blackburn JM. Quantitative profiling of colorectal cancer-associated bacteria reveals associations between *Fusobacterium* spp., enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* (ETBF) and clinicopathological features of colorectal cancer. *PLoS One* **10** (3): e0119462, 2015.
- Wang D, Kreutzer DA, Essigmann JM. Mutagenicity and repair of oxidative DNA damage: insights from studies using defined lesions. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis* **400** (1-2): 99-115, 1998.
- Wang X, Allen TD, May RJ, Lightfoot S, Houchen CW, Huycke MM. *Enterococcus faecalis* induces aneuploidy and tetraploidy in colonic epithelial cells through a bystander effect. *Cancer Research* **68** (23): 9909-9917, 2008.
- Wang X, Allen TD, Yang Y, Moore DR, Huycke MM. 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* **6** (3): 206-216, 2013.
- Wang X, Huycke MM. Extracellular superoxide production by *Enterococcus faecalis* promotes chromosomal instability in mammalian cells. *Gastroenterology* **132** (2): 551-561, 2007.
- Wang X, Yang Y, Huycke MM. Commensal-infected macrophages induce dedifferentiation and reprogramming of epithelial cells during colorectal carcinogenesis. *Oncotarget* **8** (60): 102176, 2017.
- Wang X, Yang Y, Huycke MM. Commensal bacteria drive endogenous transformation and tumors stem cell marker expression through a bystander effect. *Gut* **64** (3): 459-468, 2015.
- Wang X, Yang Y, Moore DR, Nimmo SL, Lightfoot SA, Huycke MM. 4-Hydroxy-2-nonenal mediates genotoxicity and bystander effects caused by *Enterococcus faecalis*-infected macrophages. *Gastroenterology* **142** (3): 543-551, 2012.
- Waters CM, Dunny GM. Analysis of functional domains of the *Enterococcus faecalis* pheromone-induced surface protein aggregation substance. *Journal of Bacteriology* **183** (19): 5659-5667, 2001.
- Wei L, Li M, Xia F, Wang J, Ran S, Huang Z, Liang J. Phosphate transport system mediates the resistance of *Enterococcus faecalis* to

- multidrug. *Microbiological Research* **249**: 126772, 2021.
- Williamson AJ, Jacobson R, van Praagh JB, Gaines S, Koo HY, Lee B, Chan WC, Weichselbaum R, Alverdy JC, Zaborina O, Shogan BD. *Enterococcus faecalis* promotes a migratory and invasive phenotype in colon cancer cells. *Neoplasia* **27**: 100787, 2022.
- World Health Organization, Globocan International Agency for Research on Cancer. World Health Organization: Geneva, Switzerland. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/>, consultado em 24 – 06 – 2022, 2020.
- Xi Y, Xu P. Global colorectal cancer burden in 2020 and projections to 2040. *Translational Oncology* **14** (10): 101174, 2021.
- Yang Y, Huycke MM, Herman TS, Wang X. Glutathione S-transferase alpha 4 induction by activator protein 1 in colorectal cancer. *Oncogene* **35** (44): 5795-5806, 2016.
- Yang Y, Wang X, Huycke T, Moore DR, Lightfoot SA, Huycke MM. Colon macrophages polarized by commensal bacteria cause colitis and cancer through the bystander effect. *Translational Oncology* **6** (5): 596-IN8, 2013.
- Yang Y, Wang X, Moore DR, Lightfoot SA, Huycke MM. TNF- α mediates macrophage-induced bystander effects through netrin-1. *Cancer Research* **72** (20): 5219-5229, 2012.
- Zeng J, Teng F, Murray BE. Gelatinase is important for translocation of *Enterococcus faecalis* across polarized human enterocyte-like T84 cells. *Infection and Immunity* **73** (3): 1606-1612, 2005.
- Zou J, Shankar N. Roles of TLR/MyD88/MAPK/NF- κ B signaling pathways in the regulation of phagocytosis and proinflammatory cytokine expression in response to *E. faecalis* infection. *PloS One* **10** (8): e0136947, 2015.