

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOTECNOLOGIA
CURSO DE GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

JOÃO PEDRO GONÇALVES BRAGA

DETECÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIE DE FUNGO EM AMOSTRAS DE
SANGUE DE PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA

PATOS DE MINAS-MG
FEVEREIRO DE 2026

JOÃO PEDRO GONÇALVES BRAGA

**DETECÇÃO MOLECULAR DE ESPÉCIE DE FUNGO EM AMOSTRAS DE
SANGUE DE PACIENTES COM CÂNCER DE PRÓSTATA**

Monografia apresentada ao Instituto de
Biotecnologia da Universidade Federal de
Uberlândia como requisito final para a obtenção
do título de Bacharel em Biotecnologia.

Prof^a. Dr^a. Thaise Gonçalves de Araújo

PATOS DE MINAS-MG

FEVEREIRO DE 2026

JOÃO PEDRO GONÇALVES BRAGA

Deteção molecular de espécie de fungo em amostras de sangue de pacientes com câncer de próstata

Monografia apresentada ao Instituto de Biotecnologia da Universidade Federal de Uberlândia como requisito final para a obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia.

Banca examinadora

Dra. Thaise Gonçalves de Araújo-Instituto de Biotecnologia – UFU

Presidente

Dra. Luciana de Oliveira Almeida-Instituto de Biotecnologia – UFU

Membro

Dr. Gilvan Caetano Duarte-Instituto de Biotecnologia – UFU

Membro

Os membros da Comissão Examinadora acima assinaram a Ata de Defesa que se encontra no Sistema Eletrônico de Informações (SEI) da Universidade Federal de Uberlândia

Patos de Minas, Minas Gerais, 25 de fevereiro de 2026.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus, por me conceder força, sabedoria e perseverança ao longo de toda essa caminhada. Sem ele, nada disso seria possível.

Aos meus pais, que são meu alicerce e minha maior inspiração, por todo amor, dedicação e esforço incansável ao longo dessa caminhada. Obrigado, por cada renúncia silenciosa e por toda a luta diária para que eu pudesse estudar e realizar meus sonhos. Essa conquista é tão minha quanto de vocês.

In memoriam de minha avó Balbina, que mesmo não estando mais presente fisicamente, permanece viva em meu coração e deixou ensinamentos e exemplos que carrego comigo todos os dias. Foi parte fundamental da minha formação e dos meus valores. Sua presença vive em cada conquista minha.

In memoriam de minha prima Ana Clara, cuja luz e alegria permanecem vivas em minha memória e em meu coração. Sua lembrança me acompanha e me fortalece todos os dias.

Aos meus tios Eleuza e Alderico, e à minha prima Maria Vitória, pelo carinho, incentivo e presença constante em cada etapa dessa caminhada. Obrigado por acreditarem em mim, pelas palavras de apoio nos momentos difíceis e por celebrarem comigo cada pequena conquista.

À minha namorada e parceira de vida, Luana, que compartilha comigo não apenas esta formação, mas toda essa trajetória desde o primeiro dia de aula. Crescemos juntos, enfrentamos desafios lado a lado e seguimos sendo a dupla um do outro em cada conquista. Obrigado por todo amor, apoio e companheirismo, dividir essa caminhada com você tornou tudo mais leve e especial.

Aos meus sogros Fernanda e Stanlei, pelo carinho, acolhimento e apoio constante ao longo dessa caminhada. Agradeço pelas orações, pelas palavras de fé e por sempre pedirem a Deus que abençoasse meus passos. Sou grato por me receberem como parte da família e por estarem presentes em cada momento.

À minha prima Ma. Eduarda Ribeiro Braga, por ser exemplo de dedicação, inteligência e paixão pela ciência. Sua trajetória me motivou a acreditar que é possível sonhar alto e trilhar um caminho de propósito e excelência. Obrigado por ser referência, incentivo e orgulho para mim.

Ao meu amigo de infância, Marcus Vinícius, que caminha ao meu lado desde os primeiros sonhos, e à sua família Meire, Edgar e Edgar Junior, que sempre me acolheram com

tanto carinho e generosidade. Crescemos juntos, compartilhamos desafios, aprendizados e inúmeras memórias que levarei para a vida toda.

À minha amiga de infância Natália, que esteve presente em todas as fases da minha vida, acompanhando meus sonhos, minhas lutas e minhas conquistas. Obrigado pela amizade verdadeira, pelo carinho e por ser sempre um porto seguro nos momentos difíceis.

Aos meus amigos, Pedro Henrique, João Victor, Kaike, Rafael, Pedro Netto, Rodrigo Augusto, Guilherme, Eduarda, Gabriela, que estiveram presentes ao longo dessa caminhada, dividindo alegrias, desafios e aprendizados. Cada um de vocês contribuiu, de alguma forma, para que eu chegasse até aqui.

In memoriam do meu amigo Rodrigo Mendes, cuja partida deixou saudade, mas também ensinamentos, risadas e momentos que jamais serão esquecidos. Sua amizade foi um presente na minha vida, e sua memória permanece viva em cada lembrança, em cada conquista e em cada passo que dou. Levo comigo tudo o que vivemos e a certeza de que você faz parte desta vitória.

In memoriam do Sr. Márcio, meu querido amigo, que partiu, mas deixou marcas profundas em minha vida. Mais do que um vizinho, foi exemplo de generosidade, simplicidade e humanidade. Sua forma de viver me ensinou o verdadeiro valor das coisas, da gratidão e do respeito ao próximo. À sua família, Helenice, Aline, Geovanna e Guilherme que sempre me acolheram como se fosse parte dela, deixo minha sincera gratidão pelo carinho, pela convivência e pelos ensinamentos que levarei para sempre. Esta conquista também carrega um pouco de tudo o que aprendi com vocês.

À minha orientadora Profa. Dra. Thaise Gonçalves de Araújo, pela confiança depositada em mim desde o início desta trajetória, pela paciência, dedicação e orientação em cada etapa deste trabalho. Agradeço pelos ensinamentos compartilhados, pelas correções cuidadosas, pelas discussões enriquecedoras e pelo incentivo constante à busca pela excelência científica. Sua orientação foi fundamental não apenas para a realização deste trabalho, mas também para meu crescimento acadêmico, profissional e pessoal.

À banca examinadora, por aceitarem o convite e por dedicarem seu tempo à leitura e avaliação deste trabalho. Agradeço pelas contribuições, sugestões e apontamentos, que certamente enriqueceram esta pesquisa e contribuíram para meu amadurecimento acadêmico.

Aos docentes da UFU, pelos ensinamentos compartilhados, pela dedicação à formação acadêmica e por contribuírem de maneira significativa para minha trajetória profissional. Levo comigo não apenas o conhecimento adquirido, mas também os exemplos de compromisso e excelência na educação.

A todos do GBIO, pela colaboração, parceria e apoio constante durante o desenvolvimento deste trabalho. Em especial ao André pelo acolhimento inicial e disponibilidade em me ensinar tudo que sei de bancada e a Gislaine pelas trocas de conhecimentos, pela disposição em ajudar, pelos momentos de aprendizado compartilhados e pelo companheirismo que tornou a rotina mais leve.

Ao LDAM, em especial ao Prof. Dr. Guilherme Ramos Oliveira e Freitas à Dra. Luciana de Oliveira, que me deram a oportunidade de realizar o estágio. Agradeço pela estrutura, pela orientação recebida e pela vivência prática que foi fundamental para minha formação acadêmica.

A todos que, de alguma forma, contribuíram para a realização deste trabalho e para minha formação, mesmo que não tenham sido mencionados nominalmente, deixo aqui minha sincera gratidão.

“Os que se encantam com a prática sem a ciência são como os timoneiros que entram no navio sem timão nem bússola, nunca tendo certeza do seu destino”.

(Leonardo da Vinci)

RESUMO

O Câncer de Próstata (CaP) é a neoplasia maligna mais incidente em homens no mundo, sendo, na maioria dos casos, diagnosticada tardiamente, principalmente em países com baixo índice de desenvolvimento humano. Por conseguinte, o prognóstico da doença é desfavorável, com mortalidade ainda expressiva, o que demanda novas abordagens de rastreio e diagnóstico. Pesquisas recentes têm evidenciado o papel do microbioma no surgimento e progressão do CaP, mas espécies de fungos ainda não foram correlacionadas com a doença. Neste estudo, objetivamos detectar e avaliar o potencial clínico de espécies de fungos em amostras de sangue de pacientes com CaP e hiperplasia prostática benigna (HPB). Para esse fim, foram conduzidas análises em bancos de dados da Universidade de Harvard, Washington, MIT e Carolina do Norte para selecionar as espécies associadas ao CaP. Oligonucleotídeos foram desenhados para *Malassezia globosa* e reações de qPCR foram conduzidas em amostras de sangue de pacientes com CaP (n = 40) e HPB (n = 32). A *M. globosa* não foi capaz de diferenciar pacientes com CaP daqueles com HPB e não foi possível observar correlações estatisticamente significativas com idade, PSA pré-operatório de 4 ng/mL, escore de Gleason e TNM. Entretanto, a presença do fungo foi estatisticamente maior em pacientes com PSA pré-operatório > 10 ng/mL (p = 0,0108). Esses resultados são pioneiros em demonstrar a relação entre *M. globosa* e níveis elevados de PSA pré-operatório em CaP. Assim, estudos direcionados para a caracterização do microbioma prostático poderão abrir caminhos para a compreensão da doença e o desenvolvimento de novas estratégias aplicáveis clinicamente.

Palavras-Chave: Câncer de Próstata. Diagnóstico. Hiperplasia Prostática Benigna. Microbioma. Prognóstico.

ABSTRACT

*Prostate cancer (PCa) is the most common malignant neoplasm among men worldwide and, in most cases, is diagnosed at an advanced stage, especially in countries with a low Human Development Index. Consequently, the prognosis of the disease is unfavorable, with significant mortality rates, emphasizing the need for new screening and diagnostic approaches. Recent studies have demonstrated the role of the microbiome in the onset and progression of PCa; however, fungal species have not yet been correlated with the disease. In this study, we aimed to detect and evaluate the clinical potential of fungal species in blood samples from patients with PCa and benign prostatic hyperplasia (BPH). To this end, analyses were conducted using databases from Harvard University, Washington, MIT, and North Carolina to select species associated with PCa. Primers were designed for *Malassezia globosa*, and qPCR reactions were performed on blood samples from patients with PCa ($n = 40$) and BPH ($n = 32$). *M. globosa* did not differentiate patients with PCa from those with BPH, and no statistically significant correlations were observed with age, preoperative PSA of 4 ng/mL, Gleason score, or TNM staging. However, the presence of the fungus was statistically higher in patients with preoperative PSA > 10 ng/mL ($p = 0.0108$). These findings are pioneering in demonstrating an association between *M. globosa* and elevated preoperative PSA levels in PCa. Thus, studies focused on characterizing the prostatic mycobiome may open new pathways for understanding the disease and for the development of clinically applicable strategies.*

Keywords: Benign Prostatic Hyperplasia. Diagnosis. Microbiome. Prognosis. Prostate Cancer.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATM: *Ataxia Telangiectasia Mutated*
BRCA1: *Breast Cancer 1*
BRCA2: *Breast Cancer 2*
BRIP1: *Brcal Interacting Protein 1*
CaP: Câncer de Próstata
CHEK2: *Checkpoint Kinase 2*
CMA: *Cancer Mycobiome Atlas*
CNE: Controle negativo
DNA: Ácido Desoxirribonucleico
EDTA: Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
ERD: Exame Retal Digital
HOXB13: Homeobox b13
HPB: Hiperplasia Prostática Benigna
IARC: Agência Internacional de Pesquisa Sobre o Câncer
INCA: Instituto Nacional de Câncer
ITS: *Internal Transcribed Spacer*
KLK3: *kallikrein-related peptidase 3*
LPS: Lipopolissacarídeos
MMR: *Mismatch Repair*
NBS1: *Nijmegen Breakage Syndrome 1*
OMS: Organização Mundial da Saúde
PALB2: *Partner and localizer of brca2*
PCR: Reação em cadeia da polimerase
PSA: Antígeno Prostático Específico
qPCR: Reação em cadeia da polimerase em tempo real
ROS: Espécies Reativas de Oxigênio
SASP: Secretor Associado a Senescência
SBU: Sociedade Brasileira de Urologia
TBE: Tris-borato-edta
TC: Tomografia Computadorizada
TLR4: *Toll-like receptor 4*
Tm: Temperatura de *Melting*
TNM: Tumor, nódulos e metástases
TRUS: Ultrassonografia transretal
US: Ultrassom
WIS: *Weizmann Institute of Science*

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
1.1 Câncer: características e aspectos epidemiológicos	10
1.2 Câncer de Próstata	12
1.3 Diagnóstico e Estadiamento	14
1.4 Fatores de Risco	16
1.4.1 Idade.....	16
1.4.2 Etnia/raça.....	16
1.4.3 Histórico familiar e predisposição genética.....	17
1.4.4 Estilo de vida	17
1.4.5 Tabagismo.....	17
1.4.6 Alcool.....	18
1.4.7 Infecções.....	18
1.4.8 Microbiota, microbioma e câncer	18
2 OBJETIVOS.....	21
2.1 Objetivo geral	21
2.2 Objetivos específicos	21
3 MATERIAL E MÉTODOS	21
3.1 Grupo de estudo.....	21
3.2 Extração de DNA.....	22
3.3 Levantamento de dados em bancos públicos e pré-seleção de espécies de fungos	22
3.4 Oligonucleotídeos iniciadores e PCR <i>in-silico</i>	22
3.5 Amplificação por qPCR.....	23
3.6 Análises Estatísticas.....	23
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	23
4.1 Qualificação das amostras de DNA	23
4.2 Seleção de espécies de fungos e detecção molecular	25
5 CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS	31

1 INTRODUÇÃO

1.1 Câncer: características e aspectos epidemiológicos

Nosso organismo é composto por milhares de células, que, em homeostase, exercem suas funções de maneira eficiente e organizada. O processo de divisão celular permite que novas células sejam formadas, em equilíbrio com aquelas que morrem por apoptose. Entretanto, alterações no DNA podem ocorrer, modificando mecanismos moleculares-chave e conduzindo a um fenótipo maligno (Lima, J. *et al.*, 2018). Este é caracterizado por um crescimento sem controle e passível de metastização. Adicionalmente, as células proliferam de forma autônoma e com alterações morfológicas no núcleo, além de mudanças no padrão de expressão de diferentes moléculas (Vizechi *et al.*, 2016). Contudo, tumores também podem ser benignos quando possuem um crescimento lento e delimitado, sem invadir outros órgãos e tecidos (Cooper, 2000).

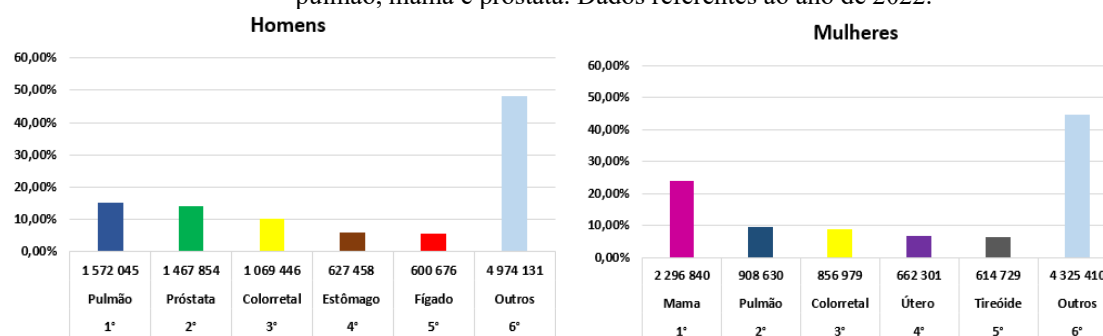
O câncer é uma doença desafiadora e sua complexidade foi abordada por Douglas Hanahan e Robert A Weinberg, que propuseram 10 características principais. Tumores malignos sustentam a proliferação (i) ao modular receptores de fatores de crescimento, tornando-se hiper-responsivos. Além disso, evadem a supressores de crescimento (ii), devido, principalmente, à presença de mutações em genes supressores tumorais. São células com capacidade invasiva (iii), expressando proteínas capazes de degradar matriz extracelular e com imortalidade replicativa (iv), ao ativarem continuamente as telomerasas, conservando, assim, seus telômeros. Os autores também citam a indução da angiogênese (v) e a resistência à morte celular (vi), pois células cancerosas estimulam a formação de novos vasos sanguíneos garantindo seu suporte de oxigênio e nutrientes e modulam o processo apoptótico, superexpressando proteínas que inibem mecanismos de morte. Nesse contexto, a diversidade genética das células tumorais em conjunto com a instabilidade genômica (vii) colaboram com a evolução tumoral, inibindo mecanismos de reparo do DNA, o que culmina com o acúmulo de mutações e aberrações cromossômicas. Ademais, a inflamação associada (viii) libera diferentes mediadores que induzem a proliferação celular e estimulam a angiogênese. Paralelamente, as células cancerosas desenvolvem mecanismos que escapam do reconhecimento do sistema imune (ix), produzindo e induzindo citocinas imunossupressoras no microambiente tumoral. Por fim, células malignas reprogramam seu metabolismo (x) utilizando a via glicolítica em presença de oxigênio, embora seja energeticamente ineficiente comparada com a fosforilação oxidativa mitocondrial. Os

desvios de intermediários glicolíticos para as vias biossintéticas facilitam a síntese de macromoléculas e organelas em prol da proliferação celular (Hanahan; Weinberg, 2011).

Em 2022, o autor acrescentou “características facilitadoras” que possibilitam a aquisição da malignidade. Células tumorais controlam o processo de organogênese, evadindo da diferenciação terminal, o que denominaram de desbloqueio da plasticidade fenotípica. Mudanças na expressão gênica por meio da modulação do microambiente tumoral também são importantes. Já a microbiota residente nos tecidos interfere na homeostase do organismo, com funções protetivas ou promotoras, uma vez que toxinas produzidas por bactérias podem, por exemplo, danificar o DNA de forma direta ou indireta e induzir a proliferação. Por fim, células senescentes são capazes de promover a malignidade por meio da ativação de um fenótipo secretor associado a senescência (SASP), que, de forma parácrina, compartilha moléculas que colaboram para a sinalização proliferativa, evitando o mecanismo de apoptose e estimulando a angiogênese, a invasão e a metástase (Hanahan, 2022).

Diante de *hallmarks* tão complexos, tumores são de difícil diagnóstico e tratamento sendo essa realidade traduzida em números alarmantes. Trata-se da segunda doença com maior mortalidade mundial (OPAS, 2020). Nesse cenário, dados epidemiológicos são importantes, pois permitem traçar estratégias mais assertivas, ao desvendar o panorama de riscos, incidências e aspectos sociais da doença. De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), em 2022, foram registrados 20 milhões de novos casos sendo o câncer de pulmão o mais frequente (2.480.675 casos), seguido pelo de mama (2.296.840 casos) e de próstata (1.467.854 casos) (Figura 1). A Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC) estima cerca de 77% de aumento em 2050, totalizando 35 milhões de casos. Além disso, são esperadas 9.736.779 mortes por câncer, sendo o tumor de pulmão responsável por 18,7%, mama por 6,9% e próstata por 4,1%.

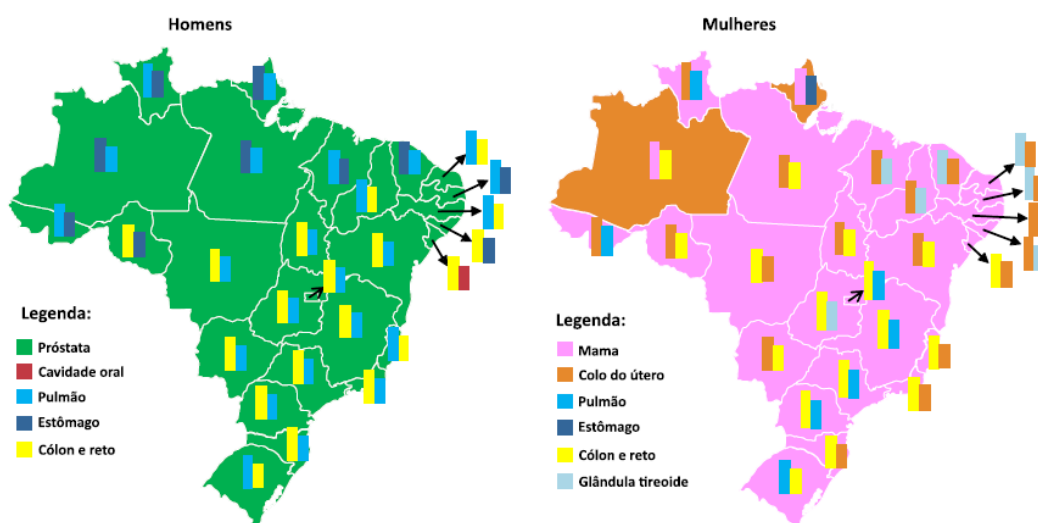
Figura 1- Distribuição dos cânceres mais incidentes em homens e mulheres no mundo, com destaque para pulmão, mama e próstata. Dados referentes ao ano de 2022.



Fonte: Adaptado por Globocan, 2022.

O aumento na incidência e morte por câncer é um reflexo do envelhecimento populacional, de alterações de comportamento, mudanças estruturais e exposição a poluentes ambientais (Santos *et al.*, 2023). Portanto, Programas de Saúde e Planos de Ação com o objetivo de prevenir, diagnosticar e tratar a doença são prementes (Ferlay *et al.*, 2024). No Brasil, é estimado, no triênio de 2026-2028, aproximadamente 781.050 mil novos casos de câncer. À exceção do câncer de pele não melanoma, espera-se 136.180 mil novos casos da doença em homens (51,7%) e 244 mil em mulheres (49,3%). Em mulheres o câncer de mama se destaca (30,0 %), seguido por cólon e reto (10,5%) e colo do útero (7,4%). O câncer de próstata (CaP) é o mais incidente na população masculina (30,5%), seguido por cólon e reto (10,3%) e pulmão (7,3%) (Figura 2). Além disso, os dados de mortalidade do ano de 2023, no Brasil, evidenciam 17.258 óbitos por câncer de próstata sendo o maior índice de óbitos no país, correspondendo a 16,71 mortes por 100 mil homens (INCA, 2026).

Figura 2- Representação da distribuição dos três cânceres mais incidentes no Brasil por estado e sexo. Dados referentes ao triênio 2023-2025.



Fonte: Adaptado do INCA.

1.2 Câncer de Próstata

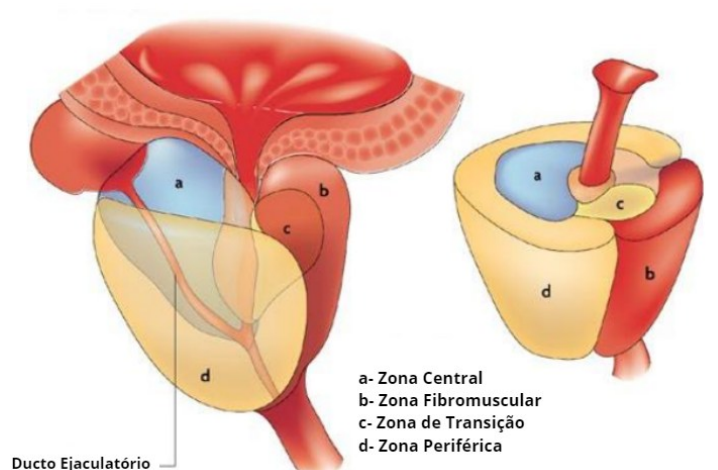
A próstata é um órgão sólido com massa em torno de 20 gramas, situada abaixo da bexiga, envolvendo a porção inicial da uretra e os ductos ejaculatórios masculinos. O tamanho e função são estimulados pela testosterona e seu desenvolvimento se inicia no período fetal,

com um tempo de latência e retomada de crescimento no início da puberdade (Ortiz; Ambrogini, 2006; Tofani; Vaz, 2007).

A próstata tem como função produzir e secretar o líquido prostático, o qual representa quase um terço da composição do sêmen. Além disso, a secreção prostática possui diversas enzimas proteolíticas, incluindo o antígeno prostático específico (PSA), lisozima e amilase, responsáveis por liquefazer o sêmen após a ejaculação (Gartner; Hiatt, 2003).

Para compreender melhor sua fisiopatologia, a próstata de um adulto foi dividida em quatro zonas por McNeal em 1968. A Zona Central ocupa 25% do volume total e está localizada profundamente na glândula, envolvendo os ductos ejacutórios. A Zona Fibromuscular Anterior, situada anteriormente à uretra, é formada por um tecido muscular denso, liso e fibroso, apesar de pouca relevância volumétrica, possui importante papel na estrutura e contração. Já a Zona de Transição representa cerca de 10% da próstata e encontra-se ao redor da uretra proximal. É nesta região que, com o avanço da idade, ocorre o crescimento hiperplásico do tecido, comprimindo a uretra e dificultando a passagem da urina. A Zona Periférica é a maior parte da glândula, compondo 70% de seu volume, e está localizada na região que circunda a uretra tanto na parte posterior, quanto lateral (Figura 3) (Mcneal, 1968). A próstata pode hospedar patologias importantes em suas diferentes zonas, destacando-se a hiperplasia prostática benigna (HPB) e o CaP (Shen; Abate-Shen, 2010).

Figura 3- Zonas estruturais da glândula prostática. a: Zona Central. b: Zona Fibromuscular. c: Zona de Transição. d: Zona Periférica.



Fonte: Adaptado de Mydlo; Godec, 2016.

A HPB é a neoplasia benigna mais comumente diagnosticada, sendo frequente a partir da sexta década de vida dos homens. É caracterizada pelo aumento no número de células

epiteliais e estromais, mais frequente na zona de transição, causando compressão da uretra e obstrução ao fluxo de urina (Sciacqua *et al.*, 2023). Segundo Lima e Lorenzetti (2010), seu surgimento envolve alterações mediadas pelo sistema endócrino, associadas ao envelhecimento, inflamações crônicas, predisposição genética e síndromes metabólicas.

O CaP apresenta sintomas semelhantes à HPB na fase inicial, incluindo nictúria (urinar várias vezes à noite), hesitação urinária (dificuldade para iniciar a micção), polaciúria (aumento da frequência urinária), jato urinário fraco ou intermitente e sensação de esvaziamento incompleto da bexiga (Krüger e Cavalcanti, 2018). É uma doença grave, complexa e heterogênea, sendo o adenocarcinoma o mais comum. Cerca de 80% das lesões acometem células epiteliais luminais e basais da zona periférica (Wasim; Lee; Kim, 2022). Clinicamente, o CaP pode variar desde uma forma localizada e de progressão lenta, até uma doença metastática agressiva, de rápida evolução (Haffner *et al.*, 2021). O momento do diagnóstico é primordial para o aumento da expectativa de vida, de modo que homens em estágios iniciais (tumor localizado) possuem 99% de sobrevida por mais de 10 anos (Rebello *et al.*, 2021). Em contrapartida, em estágios avançados (localmente avançado ou metastático), 30% de sobrevida por 5 anos (Sandhu *et al.*, 2021). Nesse contexto, a mortalidade não está apenas associada à biologia da neoplasia, mas também ao acesso ao diagnóstico precoce e, conseqüentemente, à terapia assertiva.

1.3 Diagnóstico e Estadiamento

O diagnóstico do CAP envolve diferentes abordagens (Blilie *et al.*, 2025). Na rotina clínica, são adotados a dosagem sérica do PSA, o exame retal digital (ERD), a ultrassonografia transretal (TRUS), o ultrassom (US) e a tomografia computadorizada (TC).

O PSA é uma proteína produzida pelas células epiteliais da próstata e os parâmetros séricos são: acima de 4ng/mL indica a necessidade de exames adicionais; entre 4 ng/mL e 10 ng/mL sugere que o paciente possui 25% de chance de desenvolver CaP e níveis acima de 10 ng/mL as possibilidades aumentam para mais de 50% (Altwaijry *et al.*, 2018). Embora o PSA tenha alta sensibilidade, ele é específico da próstata e não do CaP, logo, seus níveis elevados podem sugerir patologias benignas como HPB e prostatite (Sekhoacha *et al.*, 2022). Vale ressaltar que, mesmo com os problemas em relação à especificidade, o PSA é um biomarcador empregado na avaliação da progressão tumoral, uma vez que sua produção aumenta de forma acentuada com a desorganização tecidual e com a perda da barreira basal, características do avanço da doença (Galey *et al.*, 2024).

O ERD, apesar de ser desconfortável, é um importante exame no rastreamento do CaP, contribuindo para avaliação de risco. Além disso, é de baixo custo e de fácil execução. Contudo, um estudo prévio envolvendo mais de 85.000 pacientes concluiu que ERD combinado com PSA não aumentou a acurácia diagnóstica, quando comparado com apenas a dosagem do PSA (Krilavičiūtė *et al.*, 2023). A TRUS, por sua vez, fornece informações como tamanho e anatomia da próstata que auxiliam consideravelmente a conduta e diagnóstico clínicos. É indicada a pacientes que possuem PSA elevado e/ou toque retal suspeito, objetivando obter imagens detalhadas do órgão. Além disso, auxilia a biópsia transretal (Panzone *et al.*, 2022). Já a TC não é a principal ferramenta de imagem para a detecção inicial do CaP, mas importante para a avaliação da extensão da doença (Korevaar *et al.*, 2021).

A confirmação diagnóstica acontece após realizar a biópsia da lesão, um procedimento que utiliza uma agulha fina e oca, sendo o tecido posteriormente analisado por meio de microscópio (Sekhoacha *et al.*, 2022). Os tumores, então, são estadiados pelo sistema TNM (Tumor, Nódulos e Metástases) que considera a extensão do tumor primário (T), o comprometimento linfonodal (N) e a existência de metástase (M) de modo que estágios I e II representam lesões restritas ao órgão e estruturas adjacentes; III localmente avançado, ou seja, com invasão em tecidos periprostáticos, vesículas seminais ou estruturas vizinhas, mas sem metástases distantes; e IV avançado ou metastático (Costa *et al.*, 2020).

A pontuação de Gleason também é determinada, uma vez que informa a taxa de crescimento e propensão à disseminação (Srougi *et al.*, 2008). O escore varia de 2 a 10, de modo que são considerados e somados os valores dos graus mais frequentes nas peças analisadas. Sendo assim, o grau 1 é caracterizado por células pequenas e uniformes, com glândulas regulares e poucas variações de tamanho, distribuídas de forma homogênea e com bordas definidas. No grau 2 as glândulas estão uniformes e agrupadas fracamente com bordas irregulares. Grau 3 é definido por glândulas reduzidas, uniformes, com bordas lisas e espalhadas pelo estroma (Egevad *et al.*, 2025). No Grau 4, as células estão fusionadas em grandes massas irregulares com invasão de tecidos adjacentes. Finalmente, o Grau 5 possui células agrupadas formando grandes massas amorfas, exibindo necrose no centro, sem possibilidade de diferenciação e com invasão a órgãos adjacentes (Osiecki *et al.*, 2023). Dessa maneira, no Gleason 6 há baixo risco de progressão e alta sobrevida. Entretanto, o escore com valores de 8 a 10 possuem maior possibilidade de recidiva, com pior prognóstico. O Gleason 7 inclui um grupo heterogêneo, uma vez que (4+3) está associado à maior agressividade e (3+4) menos agressivo, com prognóstico favorável (Sociedade Brasileira de Oncologia Clínica, 2025).

Portanto, a correta identificação e classificação do tumor por meio do diagnóstico e estadiamento são essenciais para direcionamento e planejamento terapêutico. Contudo, compreender possíveis fatores de risco associados ao surgimento da doença é imprescindível, pois auxilia na adoção de medidas de controle e rastreamento, viabilizando assim, uma detecção precoce, um estadiamento favorável e um tratamento eficaz.

1.4 Fatores de Risco

Os fatores de riscos são aspectos que colaboram para o aumento da probabilidade de uma pessoa vir a desenvolver uma determinada enfermidade. Para o CaP, são considerados características individuais, comportamentais e aspectos ambientais (físicos, químicos ou biológicos). Os fatores de risco não modificáveis incluem idade, etnia/raça histórico familiar e predisposição genética. Já o estilo de vida do indivíduo, bem como a exposição a carcinógenos são considerados modificáveis e, apesar de evitáveis, impactam substancialmente no número de casos da doença (Weeden,2023).

1.4.1 Idade

A idade é um dos principais fatores de risco para o CaP. Segundo o Instituto Nacional de Câncer (INCA), cerca de 75% dos homens diagnosticados apresentam idade superior a 65 anos. Conforme a idade avança, a capacidade de reparação celular se torna menos eficiente, contribuindo para o surgimento de danos ao DNA e mutações (LEEM *et al.*, 2021). Uma pesquisa realizada no Estados Unidos evidenciou o aumento de quase 2% na probabilidade de homens com idades entre 60 e 69 anos de desenvolverem CaP e próximo de 10% para homens com idade superior a 70 anos (Bergengren *et al.*, 2023).

1.4.2 Etnia/raça

A relação entre etnia/raça e CaP é um assunto complexo e multifatorial, envolvendo aspectos genéticos, biológicos e socioeconômicos. Mutações no gene 1 do câncer de mama (*BRCA1*), gene 2 do câncer de mama (*BRCA2*) e maior sensibilidade à testosterona são características comuns em homens com ancestralidade africana, o que evidencia sua maior susceptibilidade genética (Li *et al.*, 2013; Gandaglia *et al.*, 2021). Contudo, barreiras sociais e econômicas agravam esse cenário, uma vez que, em geral, esses homens procuram o sistema

de saúde tardiamente, comprometendo as chances de cura. De fato, a Sociedade Brasileira de Urologia (SBU) e o INCA reconhecem a população negra como um grupo de maior risco e reforçam a necessidade de um olhar atento e de estratégias de rastreamento diferenciadas para esses indivíduos (Modesto *et al.*, 2018).

1.4.3 Histórico familiar e predisposição genética

O histórico familiar está associado à presença de CaP em parentes de primeiro grau ou em vários familiares antes dos 60 anos. Dessa forma, é um fator importante na determinação de grupos de risco (Dite *et al.*, 2023). De fato, homens que possuem familiares de primeiro grau diagnosticados com a doença aumentam as chances em até 8,4 vezes de desenvolverem CaP (Graham; Souter; Salami, 2024).

A predisposição genética, por sua vez, envolve mutações em genes específicos (BHANJI *et al.*, 2021). Destacam-se as mutações genéticas com herança autossômica dominante dos genes *BRCA1*, *BRCA2*, *HOXB13*, *ATM*, *CHEK2*, *PALB2*, *MMR*, *BRIP1* e *NBS1*, responsáveis por 5%-15% dos tumores prostáticos hereditários (Vietri *et al.*, 2021).

1.4.4 Estilo de vida

Encontra-se já descrito na literatura científica que uma dieta rica em carnes processadas colabora para o aumento do risco de CaP (Bergengren *et al.*, 2023). Além disso, a prática regular de exercícios físicos é um importante fator de proteção, o que corrobora a premissa da importância de um estilo de vida saudável (Lopez *et al.*, 2021).

1.4.5 Tabagismo

O tabagismo tem sido cada vez mais reconhecido como um fator de risco importante para o surgimento, progressão e mortalidade por CaP (Gandaglia *et al.*, 2021). Homens com consumo diário de tabaco apresentam maior probabilidade de desenvolver formas agressivas da doença com grau de Gleason >7 e maior chance de recorrência (Brookman-May, S. D. *et al.*, 2019). Esses efeitos estão ligados à exposição a carcinógenos como hidrocarbonetos aromáticos policíclicos e nitrosaminas, capazes de induzir danos ao DNA (Perdana, N. *et al.*, 2016).

1.4.6 Álcool

O álcool é uma substância tóxica que colabora para o surgimento de vários cânceres, sendo responsável por aproximadamente 4% dos tumores mundiais, o que equivale a 740.000 casos por ano. De fato, o álcool induz um aumento no estresse oxidativo e inflamação, causando danos ao material genético e, por conseguinte, conduzindo à transformação celular (Marino *et al.*, 2024).

1.4.7 Infecções

Evidências genéticas, moleculares e epidemiológicas têm destacado o papel das infecções no desenvolvimento do CaP. De fato, vírus, bactérias, fungos e parasitas são responsáveis por gerar inflamações crônicas que podem afetar a próstata, danificando suas células epiteliais (Klein; Silverman, 2008). É recente o interesse em como esses microrganismos modulam a imunovigilância e o microambiente, afetando não só o surgimento de tumores, bem como sua progressão e resposta ao tratamento (Pascual; Martínez; Moral, 2022).

1.4.8 Microbiota, microbioma e câncer

A microbiota e o microbioma são conceitos relacionados, sendo que microbiota se refere às espécies de microrganismos presentes em um determinado tecido e o microbioma ao conjunto de informações genéticas, funcionais e metabólicas associadas. A microbiota é composta por vírus, bactérias, protozoários e fungos encontrados desde o trato geniturinário e cavidades orais até a pele, exercendo, nesses locais e sistemicamente, diferentes funções (Roy; Trinchieri, 2017). Sua composição é diversa, sendo influenciada por fatores nutricionais, ambientais e comportamentais (El-Sayed; Aleya; Kamel, 2021). Cerca de 98% da microbiota humana está localizada no trato gastrointestinal, (Zhao *et al.*, 2023) e vem sendo amplamente explorada quanto à sua relação com diferentes doenças, como diabetes, depressão, doenças inflamatórias e câncer (Ver HeuL; Planer; Kau, 2018; Jin *et al.*, 2019; Valles-Colomer *et al.*, 2019).

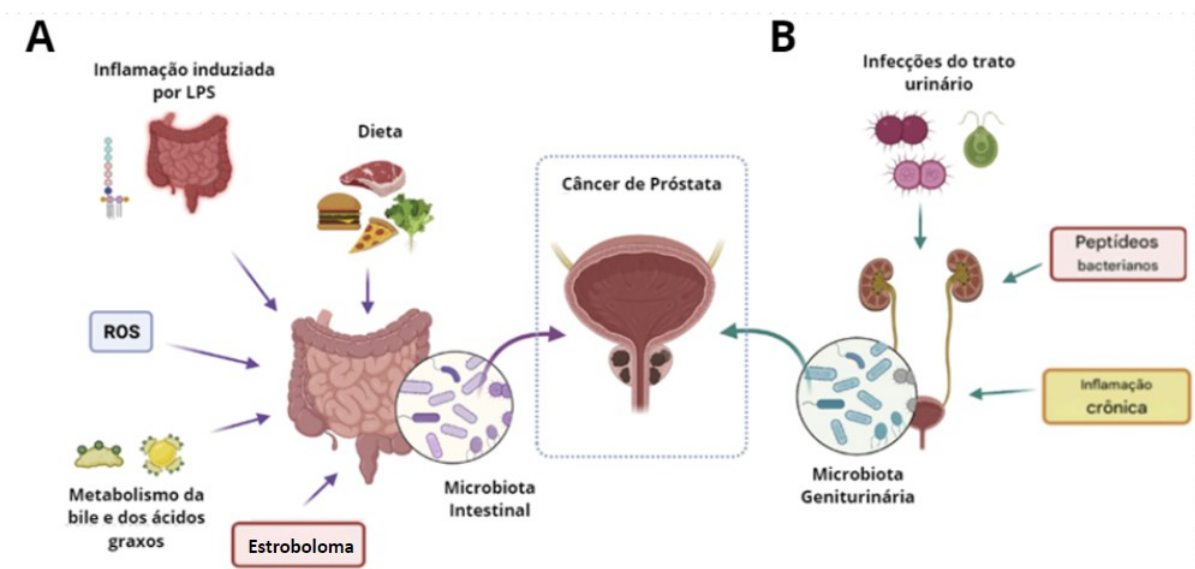
O interesse pela microbiota geniturinária, incluindo na próstata, e pelos microrganismos residentes no trato urinário vêm ganhando destaque (Finucane, 2017). Em 2018, Shrestha e colaboradores observaram um enriquecimento de bactérias pró-inflamatórias como

Actinobaculum schaalii, *Anaerococcus lactolyticus* e *Propionibacterium acnes* na microbiota geniturinária masculina. Além disso, *P. acnes* foi associada à HPB, além de aumentar o risco de desenvolvimento de CaP (Wolfe; Brubaker, 2019). De fato, a urina pode abrigar patógenos oportunistas que contribuem para o desenvolvimento de doenças, graves (Shrestha *et al.*, 2018).

O microbioma, por sua vez, amplia a análise ao incluir genes, produtos gênicos e microambiente na compreensão do fenótipo. Seu estudo utiliza tecnologias de sequenciamento de nova geração e análises de bioinformática para identificar e compreender as funções dos microrganismos e suas interações com o hospedeiro (Wensel *et al.*, 2022). O microbioma intestinal inclui todo o DNA microbiano presente no trato digestivo, modulando processos metabólicos, imunológicos e até neurológicos (Cullin *et al.*, 2021). O microbioma geniturinário difere do intestinal, sendo influenciado pelo gênero, idade, vida sexual e fluxo urinário (Neugent *et al.*, 2020).

No CaP, os microrganismos podem se instalar por três vias diferentes, (Xie *et al.*, 2022): (i) por meio da mucosa, em contato com o meio externo; (ii) por tecidos adjacentes e (iii) por disseminação hematogênica (Zheng *et al.*, 2022). Ao se estabelecerem, os microrganismos podem promover a carcinogênese alterando o material genético. As bactérias, por exemplo, produzem toxinas, induzem estresse oxidativo, bloqueiam mecanismos de reparo e metabolizam hormônios, dificultando a inibição da divisão celular (Rizzo *et al.*, 2021). De maneira geral, os microrganismos estimulam processos inflamatórios no intestino induzidos pela dieta, pelos lipopolissacarídeos (LPS) e pelo metabolismo da bile e dos ácidos graxos, tornando o sistema favorável para a instalação de tumores, incluindo na próstata (Figura 4-A) (El Tekle; Garrett, 2023). Paralelamente, o enriquecimento de bactérias pró-inflamatórias no trato geniturinário também precisa ser considerado, inclusive contribuindo para a progressão da doença (Figura 4-B). Portanto, a disbiose intestinal e geniturinária são importantes fatores de risco para o CaP (Ferreira *et al.*, 2018; Ge, Y *et al.*, 2019).

Figura 4- Representação esquemática da associação da microbiota intestinal e geniturinária com o câncer de próstata: Em (A) a microbiota intestinal é modulada por fatores externos, como dieta e inflamação induzida por lipopolissacarídeos (LPS), além de processos metabólicos envolvendo ácidos biliares, ácidos graxos e o estrobograma, que aumentam a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e promovem um ambiente inflamatório favorável à carcinogênese prostática. Em (B) a microbiota geniturinária, influenciada por infecções recorrentes do trato urinário, estimula a liberação de peptídeos bacterianos e a instalação de inflamação crônica, contribuindo para alterações locais que favorecem o desenvolvimento do câncer de próstata.



Fonte: adaptado de Rizzo, *et al* 2021.

Análises pan-câncer conduzidas em 2022 por Narunsky-Haziza e colaboradores identificaram fungos em amostras de sangue e plasma provenientes de 35 tipos de tumores, sugerindo que o microbioma intratumoral possui capacidade de integrar com o microambiente tumoral. Assim, fungos não são apenas contaminantes, agindo como componentes ativos na dinâmica do câncer (Narunsky-Haziza *et al.*, 2022). Em 2019, Banerjee e colaboradores destacaram assinaturas fúngicas em amostras de CaP e HPB, detectadas por meio de sequenciamentos metagenômicos.

Clinicamente, há diversos mecanismos pelos quais fungos influenciam na oncogênese e resposta terapêutica: modulam macrófagos e células T; alteram a produção de metabólitos/proteases e cooperam ou a competem com bactérias (Shiao *et al.*, 2021). Portanto, a detecção de assinaturas fúngicas correlacionadas a diferentes graus e estágios de CaP fortalece a premissa de que fungos, por vias imunomoduladoras e metabólicas, podem participar na progressão tumoral e na modulação da resposta terapêutica. Nesse contexto, estudos dedicados a associar essas espécies ao diagnóstico e/ou prognóstico do CaP são essenciais e abrem novas fronteiras na conduta clínica de pacientes.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Selecionar e avaliar o potencial clínico de fungo(s) em amostras de sangue de pacientes com CaP e HPB.

2.2 Objetivos específicos

- Identificar fungos que compõem a microbiota tumoral da próstata em bancos de dados;
- Pré-selecionar as espécies que se destacam em mais de um banco de dados;
- Detectar, de forma específica, por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo real (qPCR), a espécie selecionada;
- Correlacionar a presença de *M. globosa* com dados clínicos dos pacientes.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Grupo de estudo

Foram incluídas, neste estudo, 72 amostras de sangue periférico previamente coletadas no Hospital de Clínicas da Universidade Federal de Uberlândia, após assinatura do Termo de Consentimento Livre Esclarecido, conforme Parecer 4.100.044 aprovado pelo Comitê de Ética da UFU. Destas amostras, 40 foram diagnosticadas com CaP e 32 com HPB, todas sem tratamento prévio e sem história familiar de CaP.

O grupo de estudo apresentou média idade de 64,7 anos, variando de 41 a 85 anos para pacientes portadores de CaP, e média de 71,3 anos, variando de 59 a 82 anos para paciente acometidos com HPB. As características histopatológicas dos tumores foram de 72,5% (T1 e T2) e 27,5% (T3). A dosagem do PSA sérico pré-operatório foi de 7,37 (variando de 1,9 a 58,3) para os pacientes com CaP e de 7,4 (variando de 1,24 a 30,1) para os pacientes com HPB.

3.2 Extração de DNA

O DNA foi extraído seguindo o protocolo previamente publicado por Sambrook (1989) e sua qualidade avaliada em gel de agarose 0,8%, imerso em tampão TBE (45mM Tris Borato, pH 8,3 e 1mM EDTA) 0,5X, corado com GelRed 1X (Uniscience) e visualizado por luz ultravioleta (sistema de vídeo documentação – Loccus Biotecnologia).

3.3 Levantamento de dados em bancos públicos e pré-seleção de espécies de fungos

Inicialmente, a busca acerca da composição de espécies de fungos em tecidos com CaP foi realizada em dados públicos presentes no banco *Cancer Mycobiome Atlas* (CMA) (<http://cancermycobiome.ucsd.edu/>). Foram utilizadas espécies identificadas pelos centros de sequenciamento *Havard Medical School*, *Washington University School of Medicine*, *Broad Insitute of MIT* e *University of North Carolina* e selecionadas aquelas compartilhadas com a *Weizmann Institute of Science* (WIS).

As espécies identificadas foram organizadas em tabelas comparativas e analisadas quanto à frequência e abundância relativa em cada banco. As espécies comuns de contaminação ambiental ou sem associação a humanos não foram utilizadas.

3.4 Oligonucleotídeos iniciadores e PCR *in-silico*.

Para a validação da qualidade do DNA extraído foram utilizados oligonucleotídeos específicos para o gene *Toll-like 4* (TLR4) humano (5'-GGTTGCTGTTCTCAAAGTGATTTTGGGAGAA-3' e 5'-CCTGAAGACTGGAGAGTGAGTTAAATGCT-3'). Para a espécie de fungo selecionada, as sequências dos oligonucleotídeos foram projetadas de genes ITS (*Internal Transcribed Spacer*) ou genes conservados usando o banco de dados GenBank e artigos publicados anteriormente para *M. globosa* CBS 7966, *refseq* GCF_000181695.2.

As sequências foram validadas utilizando o *software* Primer-BLAST (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/>) e *Serial Cloner* 2.6 (http://serialbasics.free.fr/Serial_Cloner.html) considerando os parâmetros: tamanho do *primer* (18-25 pb), temperatura de anelamento (T_m entre 55–60 °C), porcentagem GC% (entre 50% a 60%), ausência de dímeros ou estruturas secundárias e especificidade intraespécie. Os

conjuntos de oligonucleotídeos específicos para *M. globosa* foram: ITS3*Forward I* (F): 5'-GGCCAAGCGCGCTCT-3' e ITS*Reverse* (R): 5'-CCACAACCAAATGCTCTCCTACAG-3' (OKUNO *et al.*, 2023).

3.5 Amplificação por qPCR

Inicialmente o DNA foi qualificado a partir da amplificação do fragmento do gene *TLR4*, por qPCR, otimizada para um volume total de 10µL contendo 1X de kit PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific, EUA), 1,25 µM de cada oligonucleotídeo e 2 µL de DNA. Para *M. globosa* as reações também foram preparadas para um volume total de 10µL contendo 0,9X de kit PowerUp™ SYBR™ Green Master Mix (Thermo Fisher Scientific, EUA), 12,5 µM de cada oligonucleotídeo, 1X de Enhancer (Thermo Fisher Scientific, EUA) e 2 µL de DNA. A amplificação para ambos os alvos foi conduzida em termociclador StepOnePlus™ (Thermo Fisher, EUA) com 35 ciclos configurados a 95°C por 3s e 64°C por 30s. Os dados foram analisados utilizando o software do equipamento considerando as curvas de amplificação e de dissociação para confirmação da especificidade do método.

3.6 Análises Estatísticas

Os dados foram apropriadamente tabulados e posteriormente analisados utilizando o teste de Qui-quadrado com o auxílio do *software* GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, La Jolla, CA, USA). Os resultados foram comparados conforme o diagnóstico, idade, níveis de PSA sérico, TNM e score de Gleason. Foram considerados significantes valores de $p < 0,05$.

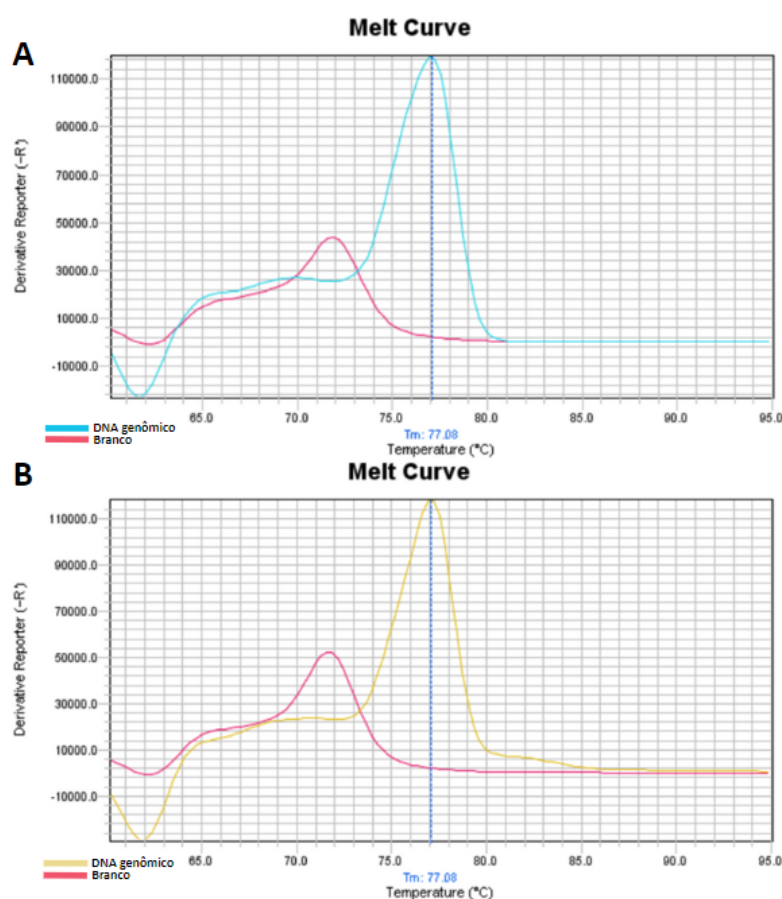
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Qualificação das amostras de DNA

Em um primeiro momento foi realizada a qualificação das amostras de DNA a partir da amplificação do gene humano *TLR4* por qPCR. A qPCR é uma ferramenta primordial no diagnóstico molecular, detectando, com precisão, sensibilidade e especificidade alvos de interesse (Sridhar *et al.*, 2019). No presente estudo foi utilizado SYBR Green, um corante

fluorescente intercalante de DNA de fita dupla, com custo-benefício atrativo, mas que carece de especificidade (Schreier *et al.*, 2019; Debnath *et al.*, 2025). Nesse sentido, a Temperatura de *Melting* (T_m) foi analisada, condição na qual 50% do DNA amplificado se dissociou em fita simples, o que está intimamente relacionado com o comprimento e composição de guanina e citosina dos produtos gerados (Bustin; Huggett, 2017). Para a amplificação de *TLR4* foi observado um único pico de dissociação com T_m de 77,08 °C (Figura 5) evidenciando a especificidade dos *primers* e a qualidade do DNA.

Figura 5 – Curva de *melting* obtida por qPCR para validação do DNA genômico. Verifica-se um único pico de dissociação em T_m 77,08°C. (A) Amostra de paciente com câncer de próstata (linha azul). (B) Amostra de pacientes com hiperplasia prostática benigna (linha amarela). O controle negativo (CNE) (linha rosa), demonstra a ausência de contaminação. O pico em $T_m \cong 71,80$ °C evidencia a presença de dímeros de *primers*.



Fonte: Software StepOnePlus™

O controle negativo (CNE) da amplificação, no qual não foi adicionado DNA, apresentou pico com $T_m \cong 71,80$ °C correspondente a dímeros e estruturas secundárias dos oligonucleotídeos, sem indícios de contaminação. A formação de produtos indesejáveis como dímeros e *hairpins* é um problema conhecido em ensaios moleculares (Meagher *et al.*, 2018).

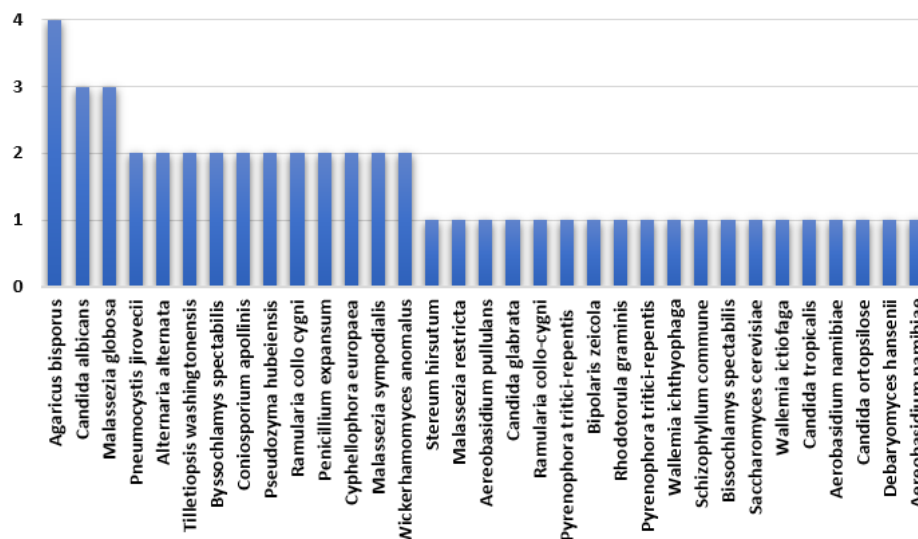
Os dímeros são formados pela complementariedade da sequência entre o primer F e R (*primers* cruzados) ou por dois *primers* idênticos (F/F e/ou R/R – autodímeros). Nos *hairpins* o *primer* anela nele mesmo, formando estruturas semelhantes a um grampo (Fröder *et al.*, 2024). Sua presença no CNE é esperada, pois, na ausência do alvo, podem anelar entre si ou formar estruturas secundárias, caracterizadas por Tm inferior àquela observada quando o DNA está presente.

O gene *TLR4* codifica para uma proteína responsável pela produção dos receptores *Toll-Like* na membrana citoplasmática (Jiang *et al.*, 2016). Esse receptor é caracterizado pela atividade regulatória das respostas imunes inatas e adquiridas, por intermédio do reconhecimento de estruturas de agentes patogênicos como bactérias gram-negativas e fungos (Jiao *et al.*, 2016). Portanto, sua sequência encontra-se no material genético dos pacientes e, espera-se sua amplificação em todas as amostras. Essa validação é importante, pois garante a exclusão de amostras falso-negativas, decorrentes de problemas no processo de extração, nos equipamentos e/ou na manipulação. Para todas as amostras incluídas neste estudo foi observada a amplificação do fragmento do gene *TLR4*, confirmando, assim, a viabilidade do DNA extraído.

4.2 Seleção de espécies de fungo e detecção molecular

Para a seleção das espécies de fungos foram consideradas as espécies identificadas pelos centros de sequenciamento *Havard Medical School*, *Washington University School of Medicine*, *Broad Insitute of MIT* e *University of North Carolina*. A análise considerou 22 espécies, sendo que *Agaricus bisporus* foi identificada em 4 bancos, *Candida albicans* e *M. globosa* em 3 e as demais espécies em apenas um centro (Figura 6). Uma análise conduzida por Dohlman (2022), demonstrou que as sequências alinhadas ao genoma de *A.bisporus* corresponde a fragmentos pontuais e não sequencias completas, com distribuição previsível, na qual as leituras se concentram nas mesmas regiões específicas do genoma, comportamento típico de contaminação. *C. albicans* não foi considerada, pois estudo prévio já evidenciou que não há prevalência de DNA da espécie em pacientes com CaP (Bergh *et al.*, 2007). As demais espécies foram detectadas em apenas um banco de dados e a ausência de reprodutibilidade entre os centros de sequenciamento reduz a robustez biológica e indica maior probabilidade de contaminação (Eisenhofer *et al.*, 2019).

Figura 6- Distribuição das espécies de fungos identificadas nos centros de sequenciamento de *Havard Medical School*, *Washington University School of Medicine*, *Broad Institute of MIT* e *University of North Carolina*. O eixo X representa as diferentes espécies detectadas, enquanto o eixo Y indica o número de registros. Destacam-se *Agaricus bisporus*, identificada em 4 centros e *Candida albicans* e *Malassezia globosa*, observadas em 3 centros.

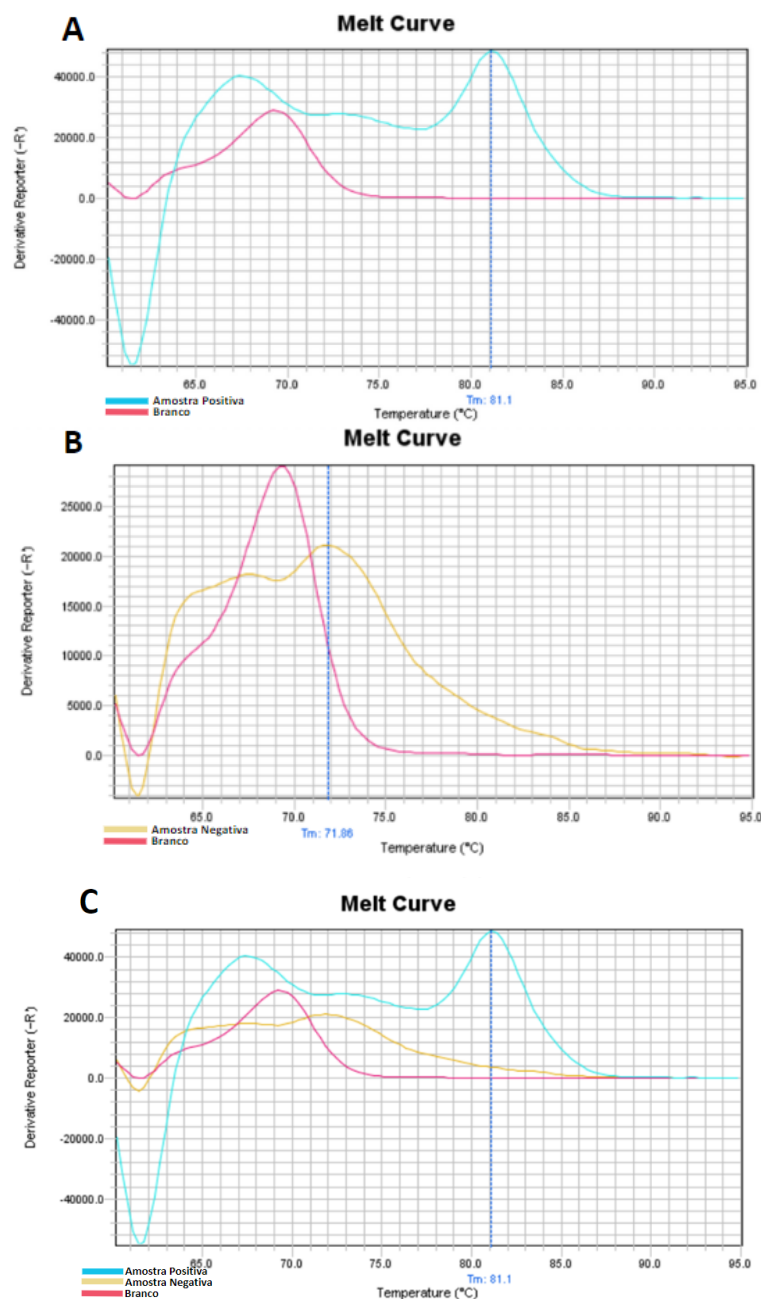


Fonte: próprio autor.

Considerando que a *M. globosa* foi observada em 3 centros de sequenciamento, indicando possível relevância biológica, justificando sua inclusão no estudo. Além disso, é uma espécie recorrente em diferentes neoplasias, sem traços de contaminação (Zong; Zhou; Zhang, 2023). Essa espécie foi identificada por Guého e equipe em 1996, caracterizada como uma levedura pertencente ao grupo dos basidiomicetos com capacidade de produzir e armazenar grandes quantidades de lipídios intracelulares (Theelen *et al.*, 2018). Em 2024, Liu e colaboradores demonstraram que a *M. globosa* coloniza o tecido adiposo mamário murino, contribuindo para o crescimento tumoral (Liu *et al.*, 2024). Além disso, foi correlacionada com a sobrevida de pacientes com câncer de estômago (Zhang *et al.*, 2022) e adenocarcinoma pancreático (Okuno *et al.*, 2023). Nosso estudo é pioneiro em avaliar essa espécie em CaP.

Para sua detecção, foi conduzido um ensaio de qPCR qualitativa utilizando o reagente *enhancer*, um conjunto de aditivos químicos que reduz a estabilidade excessiva das ligações de hidrogênio, facilitando a desnaturação das regiões guanina/citosina (Obradovic *et al.*, 2013; Schrader *et al.*, 2012). O foco nesse ensaio está na especificidade da amplificação, com um único pico de dissociação, de modo que o *enhancer* favorece a detecção de alvos pouco frequentes na amostra. O DNA de *M. globosa* foi identificado, com um pico de dissociação na $T_m = 81,1^\circ\text{C}$ (Figura 7-A) e dímeros e/ou *hairpins* com $T_m < 72,0^\circ\text{C}$ em amostras negativas (Figura 7-B). Não houve amplificações inespecíficas, conforme demonstrado na Figura 7-C.

Figura 7 – Curva de *melting* obtida por qPCR para detecção de *Malassezia globosa*. A positividade é demonstrada pela presença do pico na $T_m = 81,1$ °C. (A) Amostra positiva (B) Amostra negativa. O pico em $T_m = 71,0$ °C corresponde a dímeros de *primer*. (C) Sobreposição das curvas positiva, negativa e do controle negativo.



Fonte: Software StepOnePlus™

Finalmente, a correlação entre a detecção de *M. globosa* e as características clínicas dos pacientes foi analisada (Tabela 1). A espécie de fungo não foi capaz de discriminar pacientes com CaP daqueles com HPB. Além disso, não foram observadas associações estatisticamente significantes com idade, PSA pré-operatório de 4 ng/mL, escore de Gleason e TNM. Contudo,

a presença desse fungo foi maior em pacientes com níveis de PSA pré-operatório superior a 10 ng/mL ($p = 0,0108$).

Tabela 1- Distribuição das amostras positivas e negativas para *Malassezia globosa* segundo as variáveis clínicas avaliadas.

Variação	N	<i>Malassezia globosa</i>		Valor de P
		Positivo N (%)	Negativo N (%)	
Patologia				0.6924
CAP	40	28 (70.00)	12 (30.00)	
HPB	32	21 (65.62)	11 (34.38)	
Idade (anos)				0,6773
<65	18	12 (66.67)	6 (33.33)	
>=65	22	16 (72.72)	6 (27.28)	
PSA Pré 4				0,8181
<4	4	3 (75.00)	1 (25.00)	
>=4	36	25 (69.44)	11 (30.56)	
PSA Pré 10				0,0108*
<10	29	17 (58.62)	12 (41.38)	
>=10	11	11 (100)	0 (0)	
Escore de Gleason				0,9444
<7	23	16 (69.56)	7 (30.44)	
>=7	17	12 (70.58)	5 (29.42)	
Gleason = 7				0,3502
(3+4)	12	9 (75.00)	3 (25.00)	
(4+3)	4	2 (50.00)	2 (50.00)	
TNM				0,5886
1 e 2	29	21 (72.41)	8 (27.59)	
3	11	7 (63.64)	4 (36.36)	

Fonte: Próprio autor.

As células tumorais da próstata, assim como as células benignas, possuem capacidade de produzir PSA (Vinaik *et al.*, 2025). O aumento da concentração de PSA está relacionada à ativação do receptor de andrógeno e o consequente aumento na transcrição do gene *KLK3*, que codifica para o PSA. Adicionalmente, a disruptura da barreira tecidual nativa e a perda da estrutura glandular da próstata permite que o PSA entre na circulação sanguínea (Shang; Myers; Brown, 2002; Balk; Ko; Bubley, 2003; Maeda-Minami *et al.*, 2023). Níveis elevados (> 10 ng/mL) são comumente associados a um maior risco de CaP e a maiores chances de doença avançada (David; Leslie, 2024), o que evidencia a importância de nossos achados e sugerindo que a presença de *M. globosa* possa contribuir para a progressão da doença.

Cerca de 20% dos cânceres e infecções estão associados à inflamação crônica, impulsionada por diversos microrganismos, incluindo os fungos (Zhao *et al.*, 2021). A

inflamação crônica torna as células mais suscetíveis a mutações, favorecendo a tumorigênese (Anuja *et al.*, 2016). Além disso, *M. globosa* encontra-se associada ao acúmulo de lipídeos, uma vez que espécies desse gênero são lipofílicos obrigatórios, incapazes de sintetizar ácidos graxos de cadeia média e longa, dependendo exclusivamente da disponibilidade de lipídeos do hospedeiro (Theelen *et al.*, 2018). O microambiente prostático é enriquecido em lipídeos, seja por alterações no metabolismo lipídico durante o desenvolvimento do tumor ou por dislipidemia sistêmica (Wu *et al.*, 2014; Galbraith; Leung; Ahmad, 2018). Assim, sugerimos que esse microambiente favorece a presença de *M. globosa*. Além disso, o acúmulo de lipídeos no CaP pode contribuir para o aumento da expressão e liberação de PSA, por meio da ativação da via androgênica mediada por hormônios esteroides derivados do colesterol, como os andrógenos (Butler; Centenera; Swinnen, 2016). Dessa forma, os níveis elevados de PSA ($> 10\text{ng/mL}$) podem refletir um microambiente metabolicamente ativo, influenciado não somente pelo tumor em si, mas também pela atividade de fungos lipofílicos, com *M. globosa*.

Importante também salientar as limitações deste estudo. Apenas amostras de sangue periférico foram incluídas. Amostras de sangue são complexas e sua composição pode refletir outras alterações presentes no organismo além daquelas associadas ao tumor (Clancy; Nguyen, 2018). Massari e colegas (2019) demonstraram que fungos podem ser encontrados no intestino, na cavidade oral e na urina. Portanto, essas amostras e o tecido acometido pela doença também devem ser analisados. Adicionalmente, o número amostral foi restrito, fazendo-se necessária uma ampliação dos pacientes voluntários, incluindo aqueles de diferentes centros oncológicos. Entretanto, este é o primeiro estudo a demonstrar que *M. globosa* está mais presente em indivíduos com níveis de PSA pré-operatório superior a 10 ng/mL , evidenciando a importância de se analisar o perfil e a influência de fungos na presença e progressão do CaP.

5 CONCLUSÃO

A partir da análise dos dados disponibilizados por quatro centros de sequenciamento, a espécie de fungo *M. globosa* foi selecionada e sua detecção molecular por qPCR em amostras de sangue de pacientes com CaP e HPB foi eficientemente realizada. Pacientes positivos apresentaram uma única curva de dissociação referente ao fragmento amplificado. Contudo, a presença de *M. globosa* não foi capaz de discriminar pacientes com CaP daqueles com HPB, e não houve associação estatisticamente significativa com idade, escore de Gleason e

estadiamento TNM. Interessantemente, a espécie foi frequente em pacientes com níveis de PSA pré-operatório superiores a 10 ng/mL, sugerindo uma possível relação entre *M. globosa* e alterações no metabolismo de lipídeos de células tumorais prostáticas, uma vez que se trata de um fungo com caráter lipofílico obrigatório.

Portanto, esse estudo é pioneiro ao demonstrar uma maior frequência de *M. globosa* em indivíduos com níveis elevados de PSA pré-operatório, evidenciando a importância dos fungos na compreensão da biologia do CaP. Além disso, os resultados abrem caminhos para o desenvolvimento de novas estratégias diagnósticas e terapêuticas baseadas na interação entre hospedeiro e microrganismos.

REFERÊNCIAS

- ALTWAIJRY, N. *et al.* Regression of prostate tumors after intravenous administration of lactoferrin-bearing polypropylenimine dendriplexes encoding TNF- α , TRAIL, and interleukin-12. **Drug Delivery**, v. 25, n. 1, p. 679–689, 2018. DOI: 10.1080/10717544.2018.1440666. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10717544.2018.1440666>. Acesso em: 7 ago. 2025.
- ANUJA, K *et al.* Prolonged inflammatory microenvironment is crucial for pro-neoplastic growth and genome instability: a detailed review. **Inflammation Research**, v. 66, p. 119–128, 2016. DOI: 10.1007/s00011-016-0985-3. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00011-016-0985-3>. Acesso em: 14 jan. 2026
- BALK, S. P.; KO, Y. J.; BUBLEY, G. J. Biology of prostate-specific antigen. **Journal of Clinical Oncology**, v. 21, n. 2, p. 383-391, 15 jan. 2003. DOI: 10.1200/JCO.2003.02.083. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12525533/>. Acesso em: 28 jan. 2026
- BANERJEE, S. *et al.* Microbiome signatures in prostate cancer. **Carcinogenesis**, v. 40, n. 6, p. 749–764, jul. 2019. Disponível em: <https://academic.oup.com/carcin/article/40/6/749/5476847>. Acesso em: 19 dez. 2023.
- BERGENGREN, O. *et al.* 2022 update on prostate cancer epidemiology and risk factors: a systematic review. **European Urology**, v. 84, n. 2, p. 191–206, ago. 2023. DOI: 10.1016/j.eururo.2023.04.021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.eururo.2023.04.021>. Acesso em: 23 set. 2025.
- BERGH, J *et al.* No link between viral findings in the prostate and subsequent cancer development. **British Journal of Cancer**, v. 96, p. 137–139, 2007. DOI: 10.1038/sj.bjc.6603480. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/6603480>. Acesso em: 28 jan. 2026.
- BHANJI, Y. *et al.* Prostate cancer predisposition. **Urologic Clinics of North America**, v. 48, n. 3, p. 283–296, 2021. DOI: 10.1016/j.ucl.2021.03.001. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ucl.2021.03.001>. Acesso em: 25 set. 2025.
- BLILIE, A. *et al.* Artificial intelligence-assisted prostate cancer diagnosis for reduced use of immunohistochemistry. 2025. **Preprint**. Disponível em: <http://arxiv.org/abs/2504.00979>. Acesso em: 22 jul. 2025.
- BROOKMAN-MAY, S. D. *et al.* Latest evidence on the impact of smoking, sports, and sexual activity as modifiable lifestyle risk factors for prostate cancer incidence, recurrence, and progression: a systematic review of the literature by the European Association of Urology Section of Oncological Urology (ESOU). **European Urology Focus**, v. 5, n. 5, p. 756–787, 2019. DOI: 10.1016/j.euf.2018.02.007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.euf.2018.02.007>. Acesso em: 25 set. 2025.

BUSTIN, S.; HUGGETT, J. qPCR primer design revisited. *Biomolecular Detection and Quantification*, v. 14, n. 1, p. 19–28, dez. 2017. DOI: 10.1016/j.bdq.2017.11.001. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29201647/>. Acesso em: 5 jan. 2026.

BUTLER, L.; CENTENERA, M.; SWINNEN V. Androgen control of lipid metabolism in prostate cancer: novel insights and future applications. **Endocrine-Related Cancer**, v. 23, n. 5, p. R219-R227, 2016. DOI: 10.1530/ERC-15-0556. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27130044/>. Acesso em: 30 jan. 2026

CLANCY, J.; NGUYEN, M. Diagnosing invasive candidiasis. **Clinical Microbiology Reviews**, Washington, v. 31, n. 3, e00017-17, 2018. DOI: 10.1128/CMR.00017-17.

COOPER, G. M. **The development and causes of cancer**. In: COOPER, G. M. *The cell: a molecular approach*. 2. ed. Sunderland (MA): Sinauer Associates, 2000. cap. 15.

COSTA, G. J. *et al.* Tumor-node-metastasis staging and treatment patterns of 73,167 patients with lung cancer in Brazil. **Jornal Brasileiro de Pneumologia**, v. 46, n. 1, p. e20180251, 2020. DOI: 10.1590/1806-3713/e20180251. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1806-3713/e20180251>. Acesso em: 29 ago. 2025.

CULLIN, N. *et al.* Microbiome and cancer. *Cancer Cell*, v. 39, n. 10, p. 1317–1341, 2021. Disponível em: [https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108\(21\)00362-4](https://www.cell.com/cancer-cell/fulltext/S1535-6108(21)00362-4). Acesso em: 3 out. 2025.

DAVID, K.; LESLIE, W. Prostate-Specific Antigen. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): **StatPearls Publishing**; 2024 Jan–. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557495> . Acesso em: 05 fev. 2026.

DEBNATH, P. *et al.* Disease diagnosis for tilapia pathogens. In: *Tilapia: aquaculture, biology and health management*. CABI eBooks, p. 520–597, 13 jan. 2025. DOI: 10.1079/9781800629455.0011. Disponível em: <https://research-scotland.ac.uk/handle/20.500.12594/31389>. Acesso em: 5 jan. 2026.

DITE, G. S. *et al.* Development and validation of a simple prostate cancer risk prediction model based on age, family history, and polygenic risk. **The Prostate**, v. 83, n. 10, p. 962–969, 16 abr. 2023. DOI: 10.1002/pros.24536. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pros.24536>. Acesso em: 23 set. 2025.

DOHLMAN, B *et al.* A pan-cancer mycobiome analysis reveals fungal involvement in gastrointestinal and lung tumors. **Cell**, v. 185, n. 20, p. 3807–3822.e12, 29 set. 2022. DOI: 10.1016/j.cell.2022.09.015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC9564002/> . Acesso em: 28 jan. 2026

EGEVAD, L *et al.* Gleason scores provide more accurate prognostic information than grade groups. **Pathology**, v. 57, n. 3, p. 293–296, 2025. DOI: 10.1016/j.pathol.2024.12.633. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.pathol.2024.12.633>. Acesso em: 2 set. 2025.

EISENHOFER, R *et al.* Contamination in low microbial biomass microbiome studies: Issues and recommendations. **Trends in Microbiology**, v. 27, n. 2, p. 105-117, fev. 2019. DOI: 10.1016/j.tim.2018.11.003. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0966842X18302531?via%3Dihub>. Acesso em: 28 jan. 2026.

EL-SAYED, A.; ALEYA, L.; KAMEL, M. Microbiota's role in health and diseases. **Environmental Science and Pollution Research International**, v. 28, n. 28, p. 36967–36983, 27 maio 2021. DOI: 10.1007/s11356-021-14593-z. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8155182/>. Acesso em: 30 set. 2025.

EL TEKLE, G.; GARRETT, W. S. Bacteria in cancer initiation, promotion and progression. *Nature Reviews Cancer*, v. 23, n. 9, p. 600–618, set. 2023. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41568-023-00587-5>. Acesso em: 28 out. 2023.

FERLAY, J et al. Global Cancer Observatory: Cancer Today. Lyon: International Agency for Research on Cancer, 2024. Disponível em: <https://gco.iarc.who.int/today>. Acesso em: 13 jun. 2025.

FERREIRA, M *et al.* Gastric microbial community profiling reveals a dysbiotic cancer-associated microbiota. **Gut**, London, v. 67, n. 2, p. 226-236, 2018. DOI: 10.1136/gutjnl-2017-314205. Disponível em: <https://gut.bmj.com/content/67/2/226>. Acesso em: 8 nov. 2025.

FINUCANE, T. E. “Urinary tract infection” and the microbiome. **The American Journal of Medicine**, v. 130, n. 3, p. e97–e98, 2017. Disponível em: [https://www.amjmed.com/article/S0002-9343\(16\)31022-8/fulltext](https://www.amjmed.com/article/S0002-9343(16)31022-8/fulltext). Acesso em: 3 out. 2023.

FRÖDER, H; GHENO, B P; RIGHI, E. Avaliação e padronização da PCR em tempo real para identificação de espécies animais em alimentos processados. **Revista Foco**, v. 17, n. 4, e137, 2024. DOI: 10.54751/revistafoco.v17n4-137. Disponível em: <https://ojs.focopublicacoes.com.br/foco/article/view/4863/3546>. Acesso em: 12 de jan 2026.

GALBRAITH, L; LEUNG, H; AHMAD, I. Lipid pathway deregulation in advanced prostate cancer. **Pharmacological Research**, v. 131, p. 177–184, 2018. DOI: 10.1016/j.phrs.2018.02.022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1043661818300094?via%3Dihub>. Acesso em: 30 jan. 2026.

GALEY, L. *et al.* PSA, an outdated biomarker for prostate cancer: in search of a more specific biomarker, citrate takes the spotlight. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 243, p. 106588, out. 2024. DOI: 10.1016/j.jsbmb.2024.106588. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2024.106588>. Acesso em: 7 ago. 2025.

GANDAGLIA, G. *et al.* Epidemiology and prevention of prostate cancer. **European Urology Oncology**, v. 4, n. 6, p. 877–892, 2021. DOI: 10.1016/j.euo.2021.09.006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.euo.2021.09.006>. Acesso em: 23 set. 2025.

GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de histologia em cores**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

GE, Y. *et al.* The association between inflammatory bowel disease and prostate cancer risk: a meta-analysis. **Prostate Cancer and Prostatic Diseases**, 7 out. 2019. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31591455/>. Acesso em: 15 dez. 2023.

GUÉHO, E.; MIDGLEY, G.; GUILLOT, J. The genus *Malassezia* with description of four new species. **Antonie van Leeuwenhoek**, v. 69, n. 4, p. 337–355, maio 1996. DOI: 10.1007/BF00399623. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00399623>. Acesso em: 14 jan. 2026.

GRAHAM, N. J.; SOUTER, L. H.; SALAMI, S. S. A systematic review of family history, race/ethnicity, and genetic risk on prostate cancer detection and outcomes: considerations in PSA-based screening. **Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations**, 15 jul. 2024. DOI: 10.1016/j.urolonc.2024.05.014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.urolonc.2024.05.014>. Acesso em: 23 set. 2025.

HAFFNER, M. C. *et al.* Genomic and phenotypic heterogeneity in prostate cancer. **Nature Reviews Urology**, v. 18, n. 2, p. 79–92, fev. 2021. DOI: 10.1038/s41585-020-00400-w. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41585-020-00400-w>. Acesso em: 22 jul. 2025.

HANAHAN, D. Hallmarks of cancer: new dimensions. **Cancer Discovery**, v. 12, n. 1, p. 31–46, jan. 2022. DOI: 10.1158/2159-8290.CD-21-1059. Disponível em: <https://doi.org/10.1158/2159-8290.CD-21-1059>. Acesso em: 13 jun. 2025.

HANAHAN, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell**, v. 144, n. 5, p. 646–674, mar. 2011. DOI: 10.1016/j.cell.2011.02.013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>. Acesso em: 13 jun. 2025.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). Estimativa 2026: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2026. Disponível em: https://ninho.inca.gov.br/jspui/bitstream/123456789/17914/1/Estima2026_completo%20%281%29.pdf. Acesso em: 24 fev. 2026.

JIANG, S *et al.* TLR10 is a negative regulator of both MyD88-dependent and independent TLR signaling. **Journal of Immunology**, v. 196, n. 9, p. 3834–3841, 2016. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4868647/>. Acesso em: 5 jan. 2026.

JIAO, Y *et al.* Toll-like receptor 4 gene is associated with recurrent spontaneous miscarriage in Uygur and Han women in Xinjiang. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 12, n. 5, p. 3268–3274, 2016. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5103775>. Acesso em: 5 jan. 2026.

JIN, M. *et al.* The role of intestinal microbiota in cardiovascular disease. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 23, n. 4, p. 2343–2350, abr. 2019. DOI: 10.1111/jcmm.14152. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jcmm.14152>. Acesso em: 30 set. 2025.

KLEIN, E. A.; SILVERMAN, R. Inflammation, infection, and prostate cancer. **Current Opinion in Urology**, v. 18, n. 3, p. 315–319, 2008. DOI: 10.1097/MOU.0b013e3282f9b3b7. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MOU.0b013e3282f9b3b7>. Acesso em: 27 set. 2025.

KOREVAAR, S. *et al.* Incidental detection of prostate cancer with computed tomography scans. **Scientific Reports**, v. 11, n. 1, p. 7956, 2021. DOI: 10.1038/s41598-021-86972-y. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-86972-y>. Acesso em: 7 ago. 2025.

KRILAVIČIŪTĖ, A. *et al.* Digital rectal examination is not a useful screening test for prostate cancer. **European Urology Oncology**, v. 6, n. 6, p. 645–647, dez. 2023. DOI: 10.1016/j.euo.2023.09.008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.euo.2023.09.008>. Acesso em: 29 ago. 2025.

KRUGER, F. P. G.; CAVALCANTI, G. *et al.* Conhecimento e atitudes sobre o câncer de próstata no Brasil: revisão integrativa. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 64, n. 4, p. 561–567, 2018. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2018v64n4.206. Disponível em: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2018v64n4.206>. Acesso em: 22 jul. 2025.

LEEM, J *et al.* Increased WIP1 Expression With Aging Suppresses the Capacity of Oocytes to Respond to and Repair DNA Damage. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, v. 9, p. 1–15, 24 dez. 2021. DOI: 10.3389/fcell.2021.810928. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/cell-and-developmental-biology/articles/10.3389/fcell.2021.810928/full>. Acesso em: 18 set. 2025

LI, J. *et al.* Ethnical disparities of prostate cancer predisposition: genetic polymorphisms in androgen-related genes. **American Journal of Cancer Research**, v. 3, n. 2, p. 127–151, 2013. Disponível em: <https://www.ajcr.us>. Acesso em: 23 set. 2025.

LIMA, H.; LORENZETTI, F. Hiperplasia Prostática Benigna. In: NARDOZZA JÚNIOR, A.; ZERATI FILHO, M.; REIS, R. B. (org.). *Urologia Fundamental*. São Paulo: Planmark, 2010. cap. 22, p. 195-204. Disponível em: https://www.saudedireta.com.br/docsupload/1331413833Urologia_cap22.pdf. Acesso em: 13 jun. 2025.

LIMA, J. *et al.* Noções Básicas de Oncologia Para Profissionais da Saúde. Teresina: Universidade Federal do Piauí, [s.d.]. Disponível em: <https://doutorsabas.com.br/wp-content/uploads/2018/04/LIVRO-NOCOES-BASICAS-DE-ONCOLOGIA.pdf>. Acesso em: 13 jun. 2025.

LIU, M.-M. *et al.* Breast cancer colonization by *Malassezia globosa* accelerates tumor growth. *mBio*, 5 set. 2024. DOI: 10.1128/mbio.01993-24. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC11481877/> . Acesso em: 14 jan. 2026.

LOPEZ, P. *et al.* Interventions for improving body composition in men with prostate cancer: a systematic review and network meta-analysis. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 54, n. 5, p. 728–740, 22 dez. 2021. DOI: 10.1249/MSS.0000000000002878. Disponível em: <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000002878>. Acesso em: 25 set. 2025.

MAEDA-MINAMI, A *et al.* Association of PSA variability with prostate cancer development using large-scale medical information data: a retrospective cohort study. *Genes and Environment*, v. 45, art. 25, 2023. DOI: 10.1186/s41021-023-00280-7. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1186/s41021-023-00280-7>. Acesso em: 28 jan. 2026

MARINO, P. *et al.* Healthy lifestyle and cancer risk: modifiable risk factors to prevent cancer. **Nutrients**, v. 16, n. 6, p. 800, mar. 2024. DOI: 10.3390/nu16060800. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu16060800>. Acesso em: 27 set. 2025.

MASSARI, F.; *et al.* The human microbiota and prostate cancer: friend or foe? *Cancers*, v. 11, n. 4, p. 459, 31 mar. 2019. DOI: 10.3390/cancers11040459. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6521295/>. Acesso em: 17 jan. 2026.

MCNEAL, J. E. Regional morphology and pathology of the prostate. **American Journal of Clinical Pathology**, v. 49, n. 3, p. 347–357, mar. 1968. DOI: 10.1093/ajcp/49.3.347. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ajcp/49.3.347>. Acesso em: 13 jun. 2026.

MEAGHER, R. J.; PRIYE, A.; LIGHT, Y. K.; HUANG, C.; WANG, E. Impact of primer dimers and self-amplifying hairpins on reverse transcription loop-mediated isothermal amplification detection of viral RNA. *The Analyst*, v. 143, n. 8, p. 1924–1933, 16 abr. 2018. DOI: 10.1039/c7an01897e. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5922443/>. Acesso em: 5 jan. 2026.

MODESTO, A. A. D. *et al.* Um novembro não tão azul: debatendo rastreamento de câncer de próstata e saúde do homem. **Interface – Comunicação, Saúde, Educação**, v. 22, n. 64, p. 251–262, 2018. DOI: 10.1590/1807-57622016.0288. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1807-57622016.0288>. Acesso em: 23 set. 2025.

MYDLO, J. H.; GODEC, C. J. **Prostate cancer: science and clinical practice**. Amsterdam; Boston: Elsevier/Academic Press, 2016.

NARUNSKY-HAZIZA, L. *et al.* Pan-cancer analyses reveal cancer-type-specific fungal ecologies and bacteriome interactions. *Cell*, v. 185, n. 20, p. 3789–3806.e17, set. 2022. DOI: 10.1016/j.cell.2022.09.005. Disponível em: [https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(22\)01127-8](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(22)01127-8). Acesso em: 15 dez. 2025.

NEUGENT, M. L. *et al.* Advances in understanding the human urinary microbiome and its potential role in urinary tract infection. *mBio*, v. 11, n. 2, 2020. Disponível em: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/mBio.00218-20>. Acesso em: 3 out. 2025.

OBRADOVIC, J. *et al.* Optimization of PCR conditions for amplification of GC-rich EGFR promoter sequence. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, v. 27, n. 6, p. 487–493, nov. 2013. DOI: 10.1002/jcla.21632. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24218132/>. Acesso em: 17 jan. 2026.

OKUNO, K. *et al.* Intratumoral *Malassezia globosa* levels predict survival and therapeutic response to adjuvant chemotherapy in patients with pancreatic ductal adenocarcinoma. *Gastroenterology*, v. 165, n. 2, p. 502–504.e2, 28 abr. 2023. DOI: 10.1053/j.gastro.2023.04.017. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC10405668/>. Acesso em: 14 jan. 2026.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE (OPAS). OMS revela principais causas de morte e incapacidade em todo o mundo entre 2000 e 2019. [S. l.]: OPAS, 2020. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/9-12-2020-oms-revela-principais-causas-morte-e-incapacidade-em-todo-mundo-entre-2000-e>. Acesso em: 13 jun. 2025.

ORTIZ, V.; AMBROGINI, C. Hiperplasia Prostática Benigna. *Medicina Atual*, [s.d.] 2006. Disponível em: <http://www.medicinaatual.com.br/secao/per/pdf/36.pdf>. Acesso em: 26 jul. 2025.

OSIECKI, R. *et al.* Prostate cancer morphologies: cribriform pattern and intraductal carcinoma relations to adverse pathological and clinical outcomes — systematic review and meta-analysis. **Cancers**, v. 15, n. 5, p. 1372, 21 fev. 2023. DOI: 10.3390/cancers15051372. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/cancers15051372>. Acesso em: 2 set. 2025.

PANZONE, J. *et al.* Transrectal ultrasound in prostate cancer: current utilization, integration with mpMRI, HIFU and other emerging applications. **Cancer Management and Research**, v. 14, p. 1209–1228, mar. 2022. Disponível em: <https://www.dovepress.com/cancer-management-and-research-journal>. Acesso em: 29 ago. 2025.

PASCUAL, I. P.; MARTÍNEZ, A. R.; DE LA FUENTE MORAL, S. Interacciones entre microbiota y huésped. **Medicine – Programa de Formación Médica Continuada Acreditado**, v. 13, n. 49, p. 2843–2852, 2022. Disponível em: <https://www.elsevier.es>. Acesso em: 30 set. 2025.

PERDANA, N. R. *et al.* The risk factors of prostate cancer and its prevention: a literature review. **Acta Medica Indonesiana**, v. 48, n. 3, p. 228–238, jul. 2016. Disponível em: <http://www.actamedindones.org>. Acesso em: 25 set. 2025.

REBELLO, R. J. *et al.* Prostate cancer. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 7, n. 1, 4 fev. 2021. DOI: 10.1038/s41572-020-00243-0. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-00243-0>. Acesso em: 22 jul. 2025.

RIZZO, A. *et al.* Microbiota and prostate cancer. *Seminars in Cancer Biology*, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34536504/>. Acesso em: 28 out. 2025.

ROY, S.; TRINCHIERI, G. Microbiota: a key orchestrator of cancer therapy. **Nature Reviews Cancer**, v. 17, n. 5, p. 271–285, maio 2017. DOI: 10.1038/nrc.2017.13. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrc.2017.13>. Acesso em: 30 set. 2025.

SAMBROOK, J.; FRITSCH, E. F.; MANIATIS, T. *Clonagem molecular: um manual de laboratório*. 2. ed. Cold Spring Harbor, NY: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

SANDHU, S. *et al.* Prostate cancer. **The Lancet**, v. 398, n. 10305, p. 1075–1090, 18 set. 2021. DOI: 10.1016/S0140-6736(21)00950-8. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)00950-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)00950-8). Acesso em: 22 jul. 2025.

SANTOS, M. O. *et al.* Estimativa de incidência de câncer no Brasil, 2023–2025. **Revista Brasileira de Cancerologia**, v. 69, n. 1, p. e-213700, 2023. DOI: 10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700. Disponível em: <https://doi.org/10.32635/2176-9745.RBC.2023v69n1.3700>. Acesso em: 13 jun. 2025.

SCIACQUA, A. *et al.* Minimally invasive treatment in benign prostatic hyperplasia (BPH). **Medicina**, v. 59, n. 2, p. 338, fev. 2023. DOI: 10.3390/medicina59020338. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/medicina59020338>. Acesso em: 13 jun. 2026.

SCHRADER, C.; SCHIELKE, A.; ELLERBROEK, L.; JOHNE, R. PCR inhibitors – occurrence, properties and removal. *Journal of Applied Microbiology*, v. 113, n. 5, p. 1014–1026, 24 jul. 2012. DOI: 10.1111/j.1365-2672.2012.05384.x. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22747964/>. Acesso em: 17 jan. 2026.

SCHREIER, S. *et al.* A simple and sensitive SYBR Gold-based assay to quantify DNA–protein interactions. *Plant Molecular Biology*, v. 101, n. 4–5, p. 499–506, 16 out. 2019. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11103-019-00922-x> . Acesso em: 5 jan. 2026.

SEKHOACHA, M. *et al.* Prostate cancer review: genetics, diagnosis, treatment options, and alternative approaches. **Molecules**, v. 27, n. 17, p. 5730, 5 set. 2022. DOI: 10.3390/molecules27175730. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules27175730>. Acesso em: 22 jul. 2025.

SHANG, Y.; MYERS, M.; BROWN, M. Formation of the androgen receptor transcription complex. *Molecular Cell*, v. 9, n. 3, p. 601–610, Mar. 2002. DOI: 10.1016/S1097-2765(02)00471-9. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1097276502004719> . Acesso em: 28 jan. 2026.

SHIAO, S. L. *et al.* Commensal bacteria and fungi differentially regulate tumor responses to radiation therapy. *Cancer Cell*, v. 39, n. 9, p. 1202–1213.e6, set. 2021. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1535610821003792?via%3Dihub>. Acesso em: 19 dez. 2025.

SHEN, M. M.; ABATE-SHEN, C. Molecular genetics of prostate cancer: new prospects for old challenges. **Genes & Development**, v. 24, n. 18, p. 1967–2000, 2010. DOI: 10.1101/gad.1950410. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/gad.1950410>. Acesso em: 13 jun. 2026.

SHRESTHA, E. *et al.* Profiling the urinary microbiome in men with positive versus negative biopsies for prostate cancer. **Journal of Urology**, v. 199, n. 1, p. 161–171, jan. 2018. DOI: 10.1016/j.juro.2017.07.075. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.juro.2017.07.075>. Acesso em: 30 set. 2025.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ONCOLOGIA CLÍNICA. Diretrizes de tratamentos oncológicos – Próstata: doença localizada. São Paulo: SBOC, 2025. Disponível em: <https://sboc.org.br/images/Diretrizes-2025/pdf/Diretrizes-SBOC-2025---Prostata-localizado-v8-FINAL.pdf>. Acesso em: 14 set. 2025.

SRIDHAR, K. *et al.* Molecular genetic testing methodologies in hematopoietic diseases: current and future methods. *International Journal of Laboratory Hematology*, v. 41, n. S1, p. 102–116, maio 2019. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1111/ijlh.13024> . Acesso em: 5 jan. 2026.

SROUGI, M. *et al.* Doenças da próstata. **Revista da Faculdade de Medicina de São Paulo**, v. 87, n. 3, p. 166–177, jul./set. 2008. Disponível em: <https://www.revistas.usp.br>. Acesso em: 2 set. 2025.

TOFANI, A. C. A.; VAZ, C. E. Câncer de próstata, sentimento de impotência e fracasso ante os cartões IV e VI do Rorschach. **Revista Interamericana de Psicologia / Interamerican Journal of Psychology**, v. 41, n. 2, p. 197–204, 2007. Disponível em: <https://journal.sipsych.org/index.php/IJP>. Acesso em: 13 jun. 2026.

THEELEN, B. *et al.* *Malassezia* ecology, pathophysiology, and treatment. *Medical Mycology*, v. 56, n. suppl. 1, p. S10–S25, 10 mar. 2018. DOI: 10.1093/mmy/myx134. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/mmy/myx134>. Acesso em: 14 jan. 2026.

VALLES-COLOMER, M. *et al.* The neuroactive potential of the human gut microbiota in quality of life and depression. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 4, p. 623–632, 2019. DOI: 10.1038/s41564-018-0337-x. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41564-018-0337-x>. Acesso em: 30 set. 2025.

VER HEUL, A.; PLANER, J.; KAU, A. L. The human microbiota and asthma. **Clinical Reviews in Allergy & Immunology**, v. 57, n. 3, p. 350–363, 2018. DOI: 10.1007/s12016-018-8719-7. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12016-018-8719-7>. Acesso em: 30 set. 2025.

VIETRI, M. T. *et al.* Hereditary prostate cancer: genes related, target therapy and prevention. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 7, p. 3753, abr. 2021. DOI: 10.3390/ijms22073753. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms22073753>. Acesso em: 25 set. 2025.

VINAIK, M *et al.* Prostate-specific antigen screening for prostate cancer: Diagnostic performance, clinical thresholds, and strategies for refinement. *Urologic Oncology: Seminars and Original Investigations*, v. 43, n. 1, p. 41–48, 2025. DOI: 10.1016/j.urolonc.2024.06.003. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1078143924005052>. Acesso em: 27 jan. 2026.

VIZECHI, M. A. de F. *et al.* Immunohistochemistry as an aid in distinguishing between benign and malignant tumors. **Perspectivas Médicas**, v. 27, n. 1, p. 15–25, abr. 2016. Disponível em: <https://www.perspectivasmedicas.com.br>. Acesso em: 13 jun. 2025.

WASIM, S.; LEE, S.-Y.; KIM, J. Complexities of prostate cancer. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 22, p. 14257, nov. 2022. DOI: 10.3390/ijms232214257. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms232214257>. Acesso em: 22 jul. 2025.

WEEDEN, C. E. *et al.* Impact of risk factors on early cancer evolution. **Cell**, v. 186, n. 8, p. 1541–1563, 2023. DOI: 10.1016/j.cell.2023.03.013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2023.03.013>. Acesso em: 15 set. 2025.

WENSEL, C. R. *et al.* Next-generation sequencing: insights to advance clinical investigations of the microbiome. *The Journal of Clinical Investigation*, v. 132, n. 7, 2022. Disponível em: <https://www.jci.org/articles/view/156990>. Acesso em: 3 out. 2025.

WOLFE, A. J.; BRUBAKER, L. Urobiome updates: advances in urinary microbiome research. *Nature Reviews Urology*, v. 16, n. 2, p. 73–74, 2019. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41585-018-0140-6>. Acesso em: 3 out. 2025.

WU, X; DANIELS, G; LEE, P; MONACO, M. *Lipid metabolism in prostate cancer*. *American Journal of Clinical and Experimental Urology*, v. 2, n. 2, p. 111–120, 12 jul. 2014. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4219300/>. Acesso em: 30 jan. 2026.

XIE, Y. *et al.* Microbiota in tumors: from understanding to application. *Advanced Science*, v. 9, n. 21, p. 2200470, jul. 2022. DOI: 10.1002/advs.202200470. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/advs.202200470>. Acesso em: 28 out. 2025.

ZHANG, Z. *et al.* Identification of *Malassezia globosa* as a gastric fungus associated with PD-L1 expression and overall survival of patients with gastric cancer. *Journal of Immunology Research*, v. 2022, p. 1–16, 9 nov. 2022. DOI: 10.1155/2022/2430759. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9669766/>. Acesso em: 14 jan. 2026.

ZHAO, H.; WU, L.; YAN, G.; CHEN, Y.; ZHOU, M.; WU, Y.; LI, Y. Inflammation and tumor progression: signaling pathways and targeted intervention. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 6, n. 1, 12 jul. 2021. DOI: 10.1038/s41392-021-00658-5. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41392-021-00658-5>. Acesso em: 17 jan. 2026.

ZHAO, L.-Y. *et al.* Role of the gut microbiota in anticancer therapy: from molecular mechanisms to clinical applications. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 8, n. 1, p. 1–27, 13 maio 2023. DOI: 10.1038/s41392-023-01379-2. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01379-2>. Acesso em: 30 set. 2025.

ZHENG, H.-H. *et al.* The relationship of tumor microbiome and oral bacteria and intestinal dysbiosis in canine mammary tumor. *International Journal of Molecular Sciences*, v. 23, n. 18, p. 10928, set. 2022. DOI: 10.3390/ijms231810928. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/23/18/10928>. Acesso em: 28 out. 2025.

ZONG, Z.; ZHOU, F.; ZHANG, L. The fungal mycobiome: a new hallmark of cancer revealed by pan-cancer analyses. *Signal Transduction and Targeted Therapy*, v. 8, n. 1, p. 1–2, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01334-6>. Acesso em: 30 jan. 2026.