

## A infertilidade masculina como possível fator de risco para o desenvolvimento de Cancro da Próstata: o papel do património genético

*Male infertility as a possible risk factor for prostate cancer: the role of genetics*

**Autores:**

Fábio Escórcio Almeida<sup>1</sup>, Severino Ribeiro<sup>2</sup>, Avelino Fraga<sup>3</sup>

**Instituição:**

<sup>1</sup>Interno Complementar do Serviço de Urologia do Centro Hospitalar do Porto, Porto

<sup>2</sup>Consultor de Urologia do Serviço de Urologia do Centro Hospitalar do Porto, Porto

<sup>3</sup>Diretor do Serviço de Urologia do Centro Hospitalar do Porto, Porto

**Correspondência:**

Fábio Almeida

Largo Prof. Abel Salazar, 4099-001 Porto

Tel. 222 077 500

E-mail: fa1escorcio@gmail.com

Data de Submissão: 23 de Setembro de 2011 | Data de Aceitação: 15 de Junho de 2012

### Resumo

**Introdução:** O Cancro da Próstata (CaP) é a neoplasia mais frequente no homem, sendo uma patologia heterogénea com múltiplos fatores de risco. A evidência epidemiológica da relação entre o número de filhos e o risco de CaP permanece controversa, no entanto, o fator infertilidade mostrou conduzir a um aumento do risco para o desenvolvimento desta neoplasia, nomeadamente CaP agressivo. Assim, estudos específicos em indivíduos inférteis são necessários para testar a hipótese de relação entre esta condição clínica e o desenvolvimento de CaP.

Existem evidências do papel da variação genética individual em ambas as patologias, tendo sido identificados diversos loci de suscetibilidade comuns. Características genéticas específicas em genes do genoma nuclear e mitocondrial parecem predispor os indivíduos para o desenvolvimento de CaP e interferir também em processos relacionados com a espermatogénese. Deste modo, a análise de variantes genéticas funcionais responsáveis por alterações intracelulares em ambas as patologias, permitirá compreender se indivíduos mais suscetíveis de desenvolver infertilidade apresentam simultaneamente, maior risco de desenvolvimento de CaP, concretamente CaP agressivo.

Com base nos dados da literatura pretendeu-se avaliar a possibilidade de a infertilidade masculina poder constituir um fator de risco independente para o cancro da próstata e averiguar quais os possíveis polimorfismos genéticos associados a estas duas patologias.

**Material e Métodos:** Foi realizada uma pesquisa em bases de dados de publicações médicas (Pubmed, Medline), limitada aos últimos 10 anos e com as palavras-chave: *male infertility*, *prostate cancer* e *genetic polymorphisms*.

**Resultados:** Foram selecionados 45 artigos, 3 dos quais artigos de revisão. É interessante verificar que o artigo de revisão mais antigo data de 2002, o que revela um interesse recente sobre esta problemática.

**Conclusões:** Embora os dados obtidos com esta revisão apontem para uma possível ligação entre a infertilidade masculina e um maior risco de cancro da próstata de alto grau, o número de publicações relacionadas com este tema é reduzido, nomeadamente artigos de revisão, para fortalecer a infertilidade masculina como um fator de risco independente para o cancro da próstata.

**Palavras-chave:** Cancro da Próstata, infertilidade masculina, polimorfismos genéticos.

### Abstract

**Introduction:** Prostate cancer (PCa) is the most common malignancy in man, being a heterogeneous disease with multiple risk factors. Epidemiological evidence of the relationship between the number of children and the risk of

*PCa remains controversial, however the infertility factor lead to an increased risk for developing this cancer, particularly aggressive Pca. Specific studies in infertile individuals are needed to test the hypothesis of a relationship between this condition and the development of clinical PCa.*

*There is evidence of the role of individual genetic variation in both pathologies, having been identified several common susceptibility loci. Genetic characteristics of specific in nuclear and mitochondrial genomes appear to predispose individuals to the development of PCa and also interfere in processes related to spermatogenesis. Thus, the analysis of functional genetic variants responsible for intracellular changes in both pathologies, will allow to understand if individuals more likely to develop infertility have an increased risk of developing PCa, particularly aggressive PCa.*

*Based on literature data we intended to evaluate the possibility of male infertility could be an independent risk factor for prostate cancer and find out the possible genetic polymorphisms associated with these two diseases.*

**Material and methods:** *A search in a database of medical publications (PubMed, Medline) was performed, limited to the last 10 years using the keywords: “male infertility”, “prostate cancer” and “genetic polymorphisms”.*

**Results:** *45 articles were retrieved, from which 3 were review articles, and the oldest review article dating from 2002 shows a recent interest on this issue.*

**Conclusions:** *Although the data obtained with this review point to a possible link between male infertility and increased risk of prostate cancer of high grade, the number of publications related to this subject is reduced, including review articles, to strengthen male infertility as an independent risk factor for prostate cancer.*

**Keywords:** *Prostate cancer, male infertility, genetic polymorphisms.*

## Introdução

O Cancro da Próstata (CaP) é um importante problema de saúde pública na população masculina. Nos países desenvolvidos, o CaP é o cancro mais frequentemente diagnosticado<sup>1</sup>, sendo a primeira malignidade urológica e a segunda causa de morte em grande escala nos países industrializados<sup>2</sup>.

A progressão natural da doença, o aumento da esperança média de vida, juntamente com o aumento do rastreio pelo teste do antígeno específico da próstata (PSA), tem conduzido ao aumento significativo da incidência clínica aparente de CaP<sup>3</sup>. Na Europa, estima-se que sejam diagnosticados 2,6 milhões de novos casos de CaP por ano<sup>4</sup>. Em Portugal, os resultados relativos à incidência e mortalidade do CaP são similares ao resto dos países europeus correspondendo a 21,4% dos cancros diagnosticados, sendo o quarto cancro a provocar mais mortes (13,8%). Apesar de ser a maior neoplasia diagnosticada no homem, a sua etiologia não está bem compreendida, sendo os principais fatores de risco a idade, história familiar e etnia<sup>5</sup>. Ao longo dos anos, as condições ambientais e as características genéticas das populações têm sofrido fortes mudanças, contribuindo assim para uma alteração da epidemiologia do cancro. Recentemente, tem sido proposto que a paternidade possa estar associada com o CaP, no entanto, os resultados obtidos nos estudos epidemiológicos ainda não são esclarecedores<sup>6</sup>.

A infertilidade afeta homens e mulheres por todo o mundo, estando presente em cerca de 15% dos casais em idade reprodutiva<sup>7</sup>, abrangendo 120 mil casais em Portugal. Cerca de 30 a 50% da infertilidade é causada por fatores masculinos<sup>8</sup>. Estes podem ser divididos em causas genéticas e não genéticas. Entre as causas genéticas, podem-se referir as mutações no Recetor Transmembrar da Fibrose Cística (CFTR), as mutações no Recetor de Androgéneos (AR) e as anomalias cromossómicas, nomeadamente as microdeleções do cromossoma Y (Yq11.2). As causas não genéticas podem ser adquiridas (e.g. Varicocele) ou congénitas (e.g. anorquidia bilateral).

Estudos recentes demonstraram uma possível ligação entre o fator infertilidade e o risco de CaP, tendo sido revelado que os indivíduos com o fator infertilidade têm um aumento de risco para o desenvolvimento subsequente de CaP de elevado grau histológico. No entanto, estes autores afirmam a necessidade de realizar estudos adicionais em vias de sinalização intracelulares comuns, que envolvam genes tanto localizados no genoma nuclear (nos cromossomas sexuais e autossómicos) como no genoma mitocondrial<sup>9</sup>.

Através da ligação destas áreas clínicas, podem-se propor alguns polimorfismos em genes que poderão ser objeto de estudo em futuras investigações, tais como os genes *TSPY*, *AR*, *eNOS*, *SHBG*, *ESR*, *MTHFR*, *COI* e *ATP6*. A definição de perfis genéticos com base em polimorfismos funcionais nestes genes, permitirá a caracterização de potenciais grupos de risco para o desenvolvimento/progressão da doença.

Com base nos dados da literatura, pretendeu-se avaliar a possibilidade de a infertilidade masculina poder constituir um fator de risco independente para o cancro da próstata e averiguar quais os possíveis polimorfismos genéticos associados a estas duas patologias.

### Material e Métodos

Foi pesquisada a bibliografia existente indexada na *Medline* (através do site *Pubmed* da *U.S. National Library of Medicine*) com as palavras-chave: *male infertility*, *prostate cancer* e *genetic polymorphisms*. A pesquisa foi limitada aos anos de 2001 a 2011.

### Resultados

Foram selecionados 45 artigos, 3 dos quais artigos de revisão. Foram compilados os dados referentes à associação da infertilidade masculina e CaP, bem como os estudos de polimorfismos genéticos que, teoricamente, estão associados a ambas as patologias.

A associação da infertilidade masculina com o risco de CaP revelou resultados contraditórios. Da revisão da literatura efetuada, destacaram-se 4 artigos, descritos de seguida, em que foram efetuados trabalhos epidemiológicos sobre a possível associação da infertilidade masculina com maior risco de desenvolver CaP.

Segundo o estudo *The Jerusalem Perinatal Study*<sup>28</sup>, homens com história de terem gerado nados mortos ou paternidade reduzida tinham um maior risco de desenvolver CaP, comparado com homens sem estes antecedentes. Os autores levantaram a hipótese de defeitos genéticos no cromossoma Y que possam ter uma ligação comum entre o CaP e uma diminuição da capacidade de gerar filhos do sexo masculino. Neste mesmo estudo, os homens com menos filhos do sexo masculino tinham maior probabilidade de desenvolver CaP. No subgrupo de homens que desenvolveram CaP, aqueles que tinham menos filhos do sexo masculino apresentaram risco mais elevado de mortalidade específica da doença, sugerindo que estes homens teriam tumores mais agressivos.

Giwerzman *et al.* verificou que homens sem filhos apresentavam menor risco de desenvolver CaP em comparação com homens que tinham pelo menos dois filhos. Os autores sugeriram uma relação inversa, entre a fertilidade e o risco de CaP.

Jørgensen *et al.*<sup>29</sup>, num estudo de larga escala, verificaram que os homens sem filhos tinham uma

redução de 16% no risco de desenvolver CaP em comparação com homens com filhos. No sub-grupo de homens com filhos, o risco de desenvolver CaP diminuiu significativamente com o número de filhos, independentemente do sexo dos descendentes. É importante referir que os autores salientam o facto de que o grupo de homens sem filhos é muito heterogéneo já que inclui homens inférteis, homens sem oportunidade para criar uma família, opção individual e homens com parceira infértil. Não conseguem assim, inferir que fatores associados a não ter filhos foram responsáveis por este menor risco de CaP. No intuito de tentar explicar os resultados obtidos com o seu estudo, os autores debruçaram-se sobre o papel dos níveis de androgéneos e sua relação com o CaP e infertilidade masculina. Teoricamente, níveis de androgéneos mais baixos condicionam uma espermatogénese menos eficaz e produzem uma menor estimulação do tecido prostático, o que poderia tornar plausível uma associação biológica entre a infertilidade masculina e um menor risco de CaP. Contudo, o papel dos androgéneos no CaP é controverso, tendo sido verificado em estudos de revisão que os níveis séricos de androgéneos endógenos não estão associados ao risco de desenvolvimento de CaP. Deve ser salientado que nessas revisões, não foi incluída a informação sobre a fertilidade desses doentes, portanto a hipótese de que níveis séricos mais baixos de androgéneos possam estar associados a um menor risco de CaP no sub-grupo de doentes sem filhos, ainda está por ser provada. Um outro argumento que os autores usam para reforçar os seus dados, prende-se com a associação de concentrações baixas de androgéneos intra-prostáticos que se correlacionam com menores concentrações de androgéneos no plasma do líquido seminal, conforme são verificadas em homens inférteis.

Walsh *et al.*<sup>9</sup> estudaram uma população de 22.000 homens submetidos a avaliação de fertilidade. Os autores verificaram uma forte associação entre infertilidade e o subsequente diagnóstico de CaP de alto grau. A principal mais-valia que este estudo apresenta, é o facto de estudar um sub-grupo de doentes em que comprovadamente foi identificado um fator masculino para a sua infertilidade (apresentação clínica e parâmetros de líquido seminal anormais). 4.548 homens (24%) tinham um fator masculino para a sua infertilidade, enquanto que 14.557 (76%) não tinham fator masculino. De uma forma geral, os homens no grupo de infertilidade não apresentavam maior risco de CaP em relação à população geral. Contudo, no sub-grupo de homens com fator masculino para a sua infertilidade apresentavam um risco 2,8 vezes superior para desenvolver qualquer CaP em comparação com homens

sem fator masculino de infertilidade. Verificaram igualmente, que por cada ano após o diagnóstico de infertilidade apresentavam um risco 1,2 vezes superior de desenvolver CaP. Numa análise estatística mais aprofundada, verificaram que neste sub-grupo de fator masculino de infertilidade existia um risco 1,6 vezes superior para o diagnóstico de CaP (Gleason 5 a 7), bem como um risco 2,6 vezes superior de diagnóstico de CaP (Gleason 8 a 10). Como possível explicação teórica destes resultados, os autores referem que exposições exógenas e endógenas comuns possam estar subjacentes à infertilidade masculina e CaP. Alterações genéticas no cromossoma Y, associadas a reparações deficientes no DNA, estão relacionadas com casos graves de infertilidade masculina. A reparação deficiente do DNA é também uma etapa conhecida da tumorigénese podendo assim explicar uma possível ligação entre as duas patologias e em particular, o maior risco de tumores de alto grau nos homens com fator masculino de infertilidade.

Nesta revisão da literatura foram identificadas várias alterações genéticas que, segundo os dados abaixo descritos, estão associadas a infertilidade masculina e CaP.

As microdelecções do cromossoma Y, mais precisamente na região Yq11, são a causa genética mais frequente de infertilidade masculina. A importância do cromossoma Y no CaP foi sugerida, através de descobertas citogenéticas, onde se observou que a perda de segmentos neste cromossoma é a alteração mais frequente em tecidos de CaP. Alguns estudos referiram alterações na expressão de genes localizados neste cromossoma, em pacientes com esta patologia, estando alguns destes associados também a infertilidade masculina<sup>10,11</sup>. Entre os genes localizados neste cromossoma encontra-se o gene *TSPY* (Yp11.2). Este é expresso nos testículos, sendo a sua proteína localizada na espermatogónia, encontrando-se em 21-35 cópias de *TSPY* no cromossoma Y. Este gene regula a espermatogénese, encontrando-se em número menor de cópias nos pacientes inférteis<sup>12</sup>. Vários estudos revelaram a existência de uma regulação por metilação em CaP, podendo ter um potencial papel ou influenciar a oncogénese da próstata e assim, uma função no desenvolvimento de CaP<sup>10,11,13</sup>.

O crescimento e a diferenciação da próstata são controlados por androgéneos tais como a testosterona e a 5 $\alpha$ -dihidrotestosterona. Os seus efeitos são mediados pela interação com recetores de androgéneos (AR) que são expressos nas células epiteliais prostáticas<sup>14</sup>. O gene do AR, encontra-se no cromossoma X, tendo um papel na meiose e na espermatogénese, sendo que, cerca de 2% dos homens com infertilidade contém mutações neste gene.

Algumas destas mutações podem conduzir também à insensibilidade androgénica, fator de risco em CaP. Dois polimorfismos, no exão 1 deste gene, que codificam cadeias de poliglicinas e poliglutaminas podem estar associados tanto com a infertilidade masculina, por erros na espermatogénese<sup>15</sup>, como com o aumento do risco de desenvolvimento de CaP<sup>16</sup>. Um número elevado destas cópias está associado a infertilidade e a um risco mais reduzido de CaP<sup>29</sup>.

Existem ainda vários polimorfismos em genes autosómicos comuns às duas patologias referidas.

O óxido nítrico (NO) induz a citotoxicidade e a angiogénese e pode ter um papel na carcinogénese, sendo modulado por exposição ambiental<sup>17</sup>. O gene codificante da sintase de óxido nítrico (NOS) localiza-se no cromossoma 7 e desempenha um papel importante no desenvolvimento vascular. A expressão de NOS indutivo (gene *NOS2A*) encontra-se aumentada em carcinoma da próstata e a NOS endotelial (gene *eNOS*) surge como protetor das células prostáticas, pela indução de apoptose. A presença do polimorfismo *eNOS4a/b* com o alelo a, no gene *eNOS*, está associada com risco para CaP, um Grau de Gleason maior que 7 e risco para progressão de doença maligna<sup>18,19</sup>. O polimorfismo -786T>C também é considerado uma alteração importante no promotor do gene *NOS* podendo afetar a progressão de CaP<sup>20</sup>. Ambos os polimorfismos (-786T>C e 4a4b) localizados no gene *eNOS*, foram associados também a maior predisposição para a infertilidade masculina<sup>16</sup>.

O gene *SHBG* codificante de uma globulina de ligação a hormonas encontra-se localizado no cromossoma 17, sendo responsável pelo controlo da concentração de androgéneos nos testículos. A variação genética -67G>A revelou estar associada a defeitos na espermatogénese<sup>21</sup>, que poderá ser explicada por afetar os níveis de *SHBG* e logo testosterona<sup>22</sup>. O papel desta alteração no desenvolvimento de CaP ainda não se encontra bem definido, sendo necessários mais estudos para comprovar a associação<sup>23</sup>.

Os estrogéneos parecem estar envolvidos no desenvolvimento de CaP, uma vez que polimorfismos genéticos nos seus recetores  $\alpha$  (*ESR1*) e  $\beta$  (*ESR2*) têm sido associados ao aumento de risco para esta patologia<sup>24</sup>. O gene de recetor de estrogéneos (*ESR*), encontra-se localizado no cromossoma 6, sendo a região promotora variável no número de repetições em tandem (TA)<sub>n</sub>. O aumento de repetições conduz à redução da expressão do gene *ESR*, estando assim associada a baixos níveis de espermatogénese e ao aumento de risco para CaP<sup>25</sup>.

A reductase metil-tetrahydrofolato é codificada pelo gene *MTHFR*, localizado no cromossoma 1p, estando envolvida no metabolismo do ácido fólico, metilação de DNA e processo de espermatogénese. O polimorfismo 677 C>T pode conduzir à desregulação do metabolismo de ácido fólico causando erros na metilação e logo, afetando a espermatogénese. Os indivíduos com o genótipo CT têm 65% da função da proteína, e com o genótipo TT apenas têm uma actividade de 30%. Este polimorfismo foi já associado à infertilidade em homens asiáticos, africanos e indianos. Em Caucásianos, este polimorfismo revelou um efeito protetor para CaP<sup>26</sup>, no entanto, esta associação para CaP revela a necessidade de confirmação através do aumento de estudos neste polimorfismo em doentes com doença prostática<sup>27</sup>.

### Discussão

O estudo de polimorfismos genéticos funcionais com impacto na biodisponibilidade/quantidade da respetiva proteína poderão influenciar importantes processos celulares comuns à infertilidade e ao desenvolvimento/progressão de CaP. A caracterização genética individual permitirá identificar grupos de risco para o desenvolvimento/progressão de CaP dentro do grupo de indivíduos com história clínica de infertilidade. A definição destes grupos permitirá que os indivíduos com infertilidade masculina possam ser orientados para um rastreio mais precoce de CaP. Muitas interrogações podem ser colocadas em relação a sinais que poderão conduzir a um potencial diagnóstico, tanto do CaP e dos eventos precoces da carcinogénese como da infertilidade masculina. Desta forma, estudos nesta área poderão levar à descoberta de novos marcadores moleculares, que num futuro próximo poderão revolucionar o diagnóstico de ambas as patologias.

### Conclusões

Ainda não existem dados suficientes para confirmar a associação da infertilidade masculina com um maior risco de CaP. De facto, alguns estudos mostram mesmo resultados contraditórios. Contudo, os estudos mais recentes que foram revistos mostram uma possível ligação da infertilidade masculina com um risco mais elevado de CaP de alto grau. São necessários mais estudos multicêntricos que possam corroborar estas afirmações.

### Bibliografia

- Damber JE, Aus G. Prostate cancer. *Lancet* 2008; 371(9625):1710-21.
- Greenlee RT, Murray T, Bolden S, Wingo PA. Cancer statistics, 2000. *CA Cancer J Clin* 2000; 50(1):7-33.
- Crawford ED, Andriole GL, Marberger M, Rittmaster RS. Reduction in the risk of prostate cancer: future directions after the Prostate Cancer Prevention Trial. *Urology* 2010;75(3):502-9.
- Heidenreich A, Aus G, Bolla M. European Association of Urology. [EAU guidelines on prostate cancer]. *Actas Urol Esp* 2009;33(2): 113-26.
- Nicolaiew N, Cancel-Tassin G, Azzouzi AR, et al. Association between estrogen and androgen receptor genes and prostate cancer risk. *Eur J Endocrinol* 2009;160(1):101-6.
- Grönberg H. Prostate cancer epidemiology. *Lancet* 2003;361(9360):859-64.
- de Kretser DM. Male infertility. *Lancet* 1997; 349(9054):787-90
- Lipshultz LI, Infertility. *J Urol* 1997;57(3):847-8.
- Walsh TJ, Schembri M, Turek PJ, et al. Increased risk of high-grade prostate cancer among men. *Cancer* 2010;116(9):2140-7.
- Dasari VK, Deng D, Perinchery G, Yeh CC, Dahiya R. DNA methylation regulates the expression of Y chromosome specific genes in prostate cancer. *J Urol* 2002;167(1):335-8.
- Lau YF, Zhang J. Expression analysis of thirty one Y chromosome genes in human prostate cancer. *Mol Carcinog* 2000;27(4):308-21.
- Giachini C, Nuti F, Turner DJ, et al. TSPY1 copy number variation influences spermatogenesis and shows differences among Y lineages. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(10):4016-22.
- Carvalho R, Pinheiro MF, Medeiros R. Localization of candidate genes in a region of high frequency of microvariant alleles for prostate cancer susceptibility: the chromosome region Yp11.2 genetic variation. *DNA Cell Biol* 2010;29(1):3-7.
- De Marzo AM, Nelson WG, Meeker AK, Coffey DS. Stem cell features of benign and malignant prostate epithelial cells. *J Urol* 1998;160(6 Pt 2):2381-92.
- Li Y, Wang LA, Wu TX. [Association of male infertility with (CAG)<sub>n</sub> polymorphism of the androgen receptor gene: a meta-analysis]. *Zhonghua Nan Ke Xue* 2009;15(9):809-13.
- Yun YJ, Park JH, Song SH, Lee S. The association of 4a4b polymorphism of endothelial nitric oxide synthase (eNOS) gene with the sperm morphology in Korean infertile men. *Fertil Steril* 2008;90(4):1126-31.

- <sup>17</sup>Lee KM, Kang D, Park SK, et al. Nitric oxide synthase gene polymorphisms and prostate cancer risk. *Carcinogenesis* 2009;30(4):621-5.
- <sup>18</sup>Medeiros R, Morais A, Vasconcelos A, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and genetic susceptibility to prostate cancer. *Eur J Cancer Prev* 2002;11(4):343-50.
- <sup>19</sup>Medeiros R, Morais A, Vasconcelos A, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene polymorphisms and the shedding of circulating tumour cells in the blood of prostate cancer patients. *Cancer Lett* 2003;189(1):85-90.
- <sup>20</sup>Marangoni K, Araújo TG, Neves AF, Goulart LR. The -786T>C promoter polymorphism of the NOS3 gene is associated with prostate cancer progression. *BMC Cancer* 2008;8:273.
- <sup>21</sup>Su MT, Chen CH, Kuo PH, et al. Polymorphisms of estrogen-related genes jointly confer susceptibility to human spermatogenic defect. *Fertil Steril* 2010 Jan;93(1):141-9.
- <sup>22</sup>Ahn J, Schumacher FR, Berndt SI, et al. Quantitative trait loci predicting circulating sex steroid hormones in men from the NCI-Breast and Prostate Cancer Cohort Consortium (BPC3). *Hum Mol Genet* 2009;18(19):3749-57.
- <sup>23</sup>Berndt SI, Chatterjee N, Huang WY, et al. Variant in sex hormone-binding globulin gene and the risk of prostate cancer. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16(1):165-8.
- <sup>24</sup>Chae YK, Huang HY, Strickland P, Hoffman SC, Helzlsouer K. Genetic polymorphisms of estrogen receptors alpha and beta and the risk of developing prostate cancer. *PLoS One* 2009;4(8):e6523.
- <sup>25</sup>McIntyre MH, Kantoff PW, Stampfer MJ, et al. Prostate cancer risk and ESR1 TA, ESR2 CA repeat polymorphisms. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2007;16(11):2233-6.
- <sup>26</sup>Bai JL, Zheng MH, Xia X, Ter-Minassian M, Chen YP, Chen F. MTHFR C677T polymorphism contributes to prostate cancer risk among Caucasians: A meta-analysis of 3511 cases and 2762 controls. *Eur J Cancer* 2009;45(8):1443-9.
- <sup>27</sup>Johansson M, Van Guelpen B, Hultdin J, et al. The MTHFR 677C --> T polymorphism and risk of prostate cancer: results from the CAPS study. *Cancer Causes Control* 2007;18(10):1169-74.
- <sup>28</sup>Harlap S, Paltiel O, Friedlander Y, et al. Prostate cancer in fathers with fewer male offspring: the Jerusalem Perinatal Study cohort. *J Natl Cancer Inst* 2007;99(1):77-81.
- <sup>29</sup>Jorgensen KT, Pedersen BV, Johansen C, Frisch M. Fatherhood status and prostate cancer risk. *Cancer* 2008;112(4):919-23.
- <sup>30</sup>Giwereman A, Richiardi L, Kaijser M, Ekblom A, Akre O. Reduced risk of prostate cancer in men who are childless as compared to those who have fathered a child: a population based case-control study. *Int J Cancer* 2005;115(6):994-7.