

## Association of HSPA1B rs6457452 Genetic Variant with Idiopathic Male Infertility

Elahe Kohan<sup>1</sup>, Leila Kohan<sup>2\*</sup>, Maryam Maghbol<sup>3</sup>

1. Medical Student, School of Medicine, Fassa University of Medical Sciences, Fassa, Iran

2. Assistant Professor, PhD in Cell and Molecular Biology, Department of Biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran

3. Assistant Professor, MD in Pathology, Department of Pathology, Fassa University of Medical Sciences, Fassa, Iran

Received: 13 Aug 2017, Accepted: 11 Oct 2017

### Abstract

**Background:** Male infertility is a multifactorial disease resulting from the interaction between the genetic and environmental factors. Spermatogenic Failure accounts for more than half of male infertility cases. Heat shock proteins (HSPs) are the molecular chaperones that are involved in different developmental stages of spermatogenesis. The current study was planned to investigate the role of HSPA1B rs6457452 genetic variants in male infertility.

**Material and Methods:** This case control study was conducted on 516 subjects consisted of 308 patients with idiopathic male infertility and 208 control subjects. After DNA extraction from peripheral blood, genotype determination was done by Tetra-ARMS PCR method. Logistic regression analysis was used to estimate the association between the polymorphism and male infertility.

**Results:** A significant difference was observed in genotype distributions between cases and controls. Results showed individuals with TC (OR=1.552, 95%CI: 1.032-2.334, p=0.035) and TT (OR=2.746, 95%CI: 1.153-6.545, p=0.023) genotype had an increased risk of male infertility. Also, there was a significant association between T allele (OR=1.695, 95%CI: 1.220-2.355, p<0.001) and male infertility.

**Conclusion:** This study showed for the first time that HSPA1B rs6457452 polymorphism is associated with infertility risk in Iranian men and the T allele may act as a dominant allele for increasing the risk of male infertility.

**Keywords:** Heat shock protein, Idiopathic, Male infertility, Polymorphism

\*Corresponding Author:

Address: Department of Biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Fars Province, Iran.

Email: kohan@iaua.ac.ir

## بررسی ارتباط واریانت ژنتیکی HSPA1B rs6457452 با ناباروری ایدیوپاتیک در مردان

الهه کهن<sup>۱</sup>، لیلا کهن<sup>۲\*</sup>، مریم مقبول<sup>۳</sup>

۱. دانشجوی پزشکی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

۲. استادیار، دکتری تخصصی زیست شناسی سلولی و مولکولی، گروه زیست شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

۳. استادیار، متخصص پاتولوژی، گروه پاتولوژی، دانشگاه علوم پزشکی فسا، فسا، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۲۲، تاریخ پذیرش: ۹۶/۷/۱۹

### چکیده

**زمینه و هدف:** ناباروری مردان یک بیماری مولتی فاکتوریال است که در نتیجه برهم کنش بین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی بروز می‌کند. بیش از نیمی از موارد ناباروری در مردان به علت اختلال در اسپرماتوژنز و در نتیجه اختلالات اسپرم می‌باشد. پروتئین‌های شوک حرارتی (HSP)، چاپرون‌های مولکولی هستند که در مراحل مختلف اسپرماتوژنز دخالت دارند. مطالعه حاضر با هدف بررسی نقش واریانت‌های ژنتیکی HSPA1B rs6457452 در ناباروری مردان صورت گرفته است.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه‌ی مورد-شاهدی بر روی ۵۱۶ نفر متشکل از ۳۰۸ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۲۰۸ مرد سالم به عنوان کنترل انجام شد. بعد از استخراج DNA از خون محیطی، تعیین ژنوتیپ با روش Tetra-ARMS PCR انجام شد. جهت بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم و ناباروری مردان از آنالیز رگرسیون لجستیک استفاده شد.

**یافته‌ها:** تفاوت معنی‌داری در توزیع ژنوتیپ‌ها بین افراد کنترل و نابارور مشاهده شد. نتایج نشان داد که افراد حامل ژنوتیپ TC (OR=1.552, 95%CI: 1.032-2.334, p=0.035) و TT (OR=2.746, 95%CI: 1.153-) از لحاظ ناباروری مردان، بیشتر تحت خطر هستند. همچنین، ارتباط معنی‌داری بین آلل T (6.545, p=0.023) و ناباروری در مردان مشاهده شد. (OR=1.695, 95%CI: 1.220-2.355, p<0.001)

**نتیجه‌گیری:** این مطالعه برای اولین بار نشان داد که پلی مورفیسم HSPA1B rs6457452 با خطر ابتلا به ناباروری در مردان ایرانی همراه است و آلل T می‌تواند به عنوان یک آلل غالب، خطر ابتلا به ناباروری را افزایش دهد.

**واژگان کلیدی:** ناباروری مردان، ایدیوپاتیک، پلی مورفیسم، پروتئین شوک حرارتی

\*نویسنده مسئول: ایران، استان فارس، ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان، گروه زیست شناسی

Email: Kohan@iaua.ac.ir

## مقدمه

طبق تعریف سازمان جهانی بهداشت (WHO)، ناباروری به حالتی اطلاق می‌شود که زوجین پس از یک سال مقاربت‌های متوالی، منظم و بدون استفاده از روش‌های پیشگیری، با عدم موفقیت در باروری مواجه می‌شوند. ناباروری، یکی از مشکلات مهم در زندگی حدود ۲۵ درصد از زوجها است و این در حالی است که تقریباً ۴۰ درصد از موارد ناباروری مربوط به مرد، ۴۰ درصد مربوط به زن و باقی موارد مربوط به هر دو می‌باشد (۱). هر چند آمار دقیقی از میزان ناباروری در ایران وجود ندارد، اما به نظر می‌رسد همانند بسیاری از کشورهای منطقه و جهان بین ۱۵ تا ۲۰ درصد باشد (۲).

با وجود تلاش‌های صورت گرفته در یافتن دقیق طبیعت ناباروری در مردان، بیشتر مردان مبتلا به ناباروری با منشا ناشناخته (آیدیوپاتیک) هستند، چرا که مکانیسم دقیق نقص در عملکرد اسپرم به طور واضحی مشخص نمی‌باشد. به نظر می‌رسد که ناباروری ایدیوپاتیک می‌تواند حاصل جهش‌ها و یا تغییرات دیگر در ژن‌های درگیر در اسپرماتوژنز باشد (۳). آنالیز پلی‌مورفیسم در ژن‌های دخیل در اسپرماتوژنز یکی از زمینه‌های تحقیق در ژنتیک ناباروری مردان می‌باشد. پلی‌مورفیسم یا واریانت‌های ژنتیکی در این ژن‌ها می‌تواند یک عامل خطر ساز باشد که برخی از این واریانت‌ها در ژن‌های خاص باعث اختلالات خفیف تا شدید در اسپرماتوژنز و در باروری مردان می‌گردد (۴).

چاپرون‌های مولکولی، خانواده‌ای بزرگ از پروتئین‌ها هستند که در مقاومت سلول به استرس‌های محیطی دخیل می‌باشند، این پروتئین‌ها به طور معمول، پروتئین‌های شوک حرارتی (Heat shock proteins: HSPs) نامیده می‌شوند (۵). در پستانداران HSP ها به ۶ گروه HSP100(HSPH)، HSP90(HSPC)، HSP70(HSPA)، HSP60(HSPD)، HSP40 و HSP27 تقسیم می‌شوند که علاوه بر نقش حفاظتی اولیه، در

بسیاری از اعمال سلولی نظیر متابولیسم، رشد، تمایز و آپوپتوز نیز شرکت دارند (۶، ۷). پروتئین HSPA1B یکی از اعضای خانواده HSP70 می‌باشد که فولدینگ صحیح پروتئین‌ها را کاتالیز می‌کند.

مطالعات اخیر نشان داده که تخریب ژن HSPA1B در مدل موشی، منجر به توقف میوز، آپیتوز سلول‌های جنسی و ناباروری در جنس نر می‌گردد (۸).

هم‌چنین مشخص شده که پروتئین HSPA1B در اسپرماتوسیت‌ها و اسپرماتیدهای نر مال و بالغ بیان می‌شود و بیان آن در بیضه‌هایی که بلوغ سلول در آنها متوقف شده و بیماران مبتلا به سندروم سرتولی پایین است؛ بنابراین کاهش بیان ژن HSPA1B با پاتوژنز ناباروری در مردان مرتبط می‌باشد (۹). به علاوه در مطالعات متعددی گزارش شده که بیان پروتئین‌های HSP70 در اسپرماتیدهایی که در معرض حرارت قرار گرفته‌اند، افزایش می‌یابد و این افزایش بیان به عنوان یک مکانیسم حفاظتی علیه آپیتوز در اسپرم عمل می‌کند (۸). بنابراین با توجه به اهمیت نقش HSPA1B به عنوان یکی از اعضای خانواده پروتئینی HSP70، در تکامل و بلوغ اسپرم، به نظر می‌رسد پلی‌مورفیسم‌های عملکردی در ژن کد کننده این پروتئین، می‌تواند با تاثیر بر کیفیت و کمیت اسپرم مرتبط با ناباروری در مردان باشد.

از آنجایی که مطالعات محدودی در ارتباط با نقش پلی‌مورفیسم‌های اعضای خانواده ژنی HSP70 در ناباروری مردان صورت گرفته، لذا در این تحقیق اثر واریانت ژنتیکی HSPA1B rs6457452 به عنوان ریسک فاکتورهای احتمالی در ناباروری ایدیوپاتیک مردان مورد بررسی قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۵۱۶ مرد با قومیت فارس شامل ۳۰۸ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۲۰۸ مرد سالم به عنوان گروه کنترل انجام شد. تعداد کل افراد مورد

کلوفرم اضافه می شود. پس از سانتریفیوژ، به محلول رویی اتانول سرد اضافه شده و با ظاهر شدن کلاف DNA و رسوب توسط سانتریفیوژ، رسوب DNA در آب مقطر استریل حل شده و در فریزر نگهداری شد.

تعیین ژنوتیپ پلی مورفیسم HSPA1B rs6457452 به کمک روش Tetra-ARMS PCR تعیین شد. جهت طراحی پرایمرها از نرم افزار Oligo ویراست ۷ استفاده گردید. در روش Tetra-ARMS PCR مورد استفاده، از دو پرایمر خارجی FO و RO استفاده شد که برای هر دو آلل C و T مشترک بوده و ایجاد یک محصول با طول ۶۵۲ جفت باز می کرد و به عنوان کنترل داخلی به کار رفت. هم چنین از دو پرایمر داخلی FI و RI استفاده شد که این پرایمرها برای هر آلل، اختصاصی عمل کرده و برای آلل C یک محصول ۲۸۰ جفت بازی و برای آلل T یک محصول ۴۱۷ جفت بازی ایجاد می کردند و در واقع به کمک محصول PCR به دست آمده از این دو پرایمر، موجبات تمایز بین دو آلل امکان پذیر می گردید.

جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده را نشان می دهد.

جدول ۱. توالی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش Tetra-ARMS PCR

پلی مورفیسم	پرایمرها	Sequence (5' to 3')
HSPA1B	FI	GGAGCTGCTGCGAGGGTTCAGC
rs6457452	RI	CGGGAGTCACTCTCGAAAGACGCAA
	FO	CTCCAAAGTCATCCGACCAATCTCGC
	RO	TCTCCACCTTGCCGTGTTGGAACA

چرخه شامل دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتی گراد برای مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر ۶۵ درجه سانتی گراد برای مدت ۳۵ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی گراد، برای مدت ۴۵ ثانیه به منظور گسترش انجام شد.

این مرحله با ۱ سیکل شامل ۷۲ سانتی گراد برای مدت ۵ دقیقه به منظور طویل سازی نهایی دنبال شد. سپس جهت بررسی تکثیر موفق قطعات مورد نظر، ۱۰ میکرولیتر از

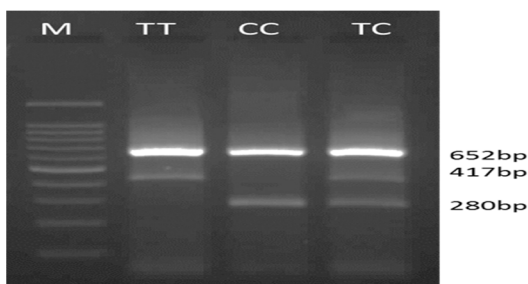
مطالعه در این تحقیق، ۵۱۶ نفر با دامنه سنی ۲۲-۵۷ سال و میانگین سنی  $35/40.3 \pm 7/234$  سال بود. جدول ۲ میانگین سنی و تعداد افراد در گروه های کنترل و نابارور را نشان می دهد. نمونه های بیماران، پس از تأیید پزشک متخصص به عنوان ناباروری آیدیوپاتیک، از مرکز نازایی خصوصی در شیراز جمع آوری شدند. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: واریکوسل، عفونت دستگاه تناسلی، مصرف داروی مرتبط با ناباروری، ناهنجاری کروموزومی و ریزحذف های کروموزوم Y. گروه کنترل شامل مردانی بودند که حداقل یک فرزند داشته و پزشک متخصص عدم وجود هر گونه اختلال مربوط به باروری را در آنها تأیید کرده بود. پس از اخذ رضایت آگاهانه از افراد، ۲ سی سی خون از آنها گرفته شده و درون تیوب های حاوی EDTA ریخته شد.

استخراج DNA از خون به روش Salting out انجام گرفت. این روش به طور کلی شامل ۳ مرحله لیز کردن سلول با دترجنت یا شوینده، حذف پروتئین ها با نمک و رسوب دادن DNA با اتانول می باشد.

روش کار به طور خلاصه بدین صورت است که ۰/۵ سی سی از خون را با بافر لیز کننده مخلوط کرده و بعد از چند مرتبه شستشو، جهت جداسازی پروتئین ها، NaCl و

واکنش Tetra-ARMS PCR در حجم نهایی ۱۲/۵ میکرولیتر شامل ۶/۲۵ میلی مولار از Master mix (Ampliqon، کره)، ۵ پیکومول/میکرولیتر از پرایمرهای FO و RO، ۵ پیکومول/میکرولیتر از پرایمرهای RI و FI و ۰/۵ میکرولیتر از DNA انجام شد.

برنامه ی PCR به صورت یک مرحله ذوب ابتدایی ۹۵ درجه ی سانتی گراد برای مدت ۵ دقیقه و در ادامه ۳۵



شکل ۱. نتیجه ژل الکتروفورز محصولات Tetra-ARMS- PCR برای پلی مورفیسم HSPA1B rs6457452. ستون M، مربوط به 100bp DNA Ladder، باند ۵۶۲ bp مربوط با کنترل داخلی، باند ۲۸۰ bp مربوط به آلل C و باند ۴۱۷ bp مربوط به آلل T می باشد.

محصول PCR روی ژل آگارز ۲ درصد الکتروفورز شد. به علاوه، به منظور اطمینان از خوانش صحیح ژنوتیپها با روش مذکور، حدود ۲۰ درصد نمونهها به طور تصادفی انتخاب شده و مجدداً تعیین ژنوتیپ گردیدند که نتایج حاصله، نتیجه پیشین را تایید نمود. جهت بررسی ارتباط بین ژنوتیپهای پلی- مورفیسم HSPA1B rs6457452 با ناباروری آیدیوپاتیک در مردان از نرم افزار SPSS ویراست ۱۹ و روشهای آنالیز آماری  $\chi^2$ ، رگرسیون لجستیک، محاسبه OR با فاصله اطمینان ۹۵ درصد استفاده شد.

### یافته‌ها

نتیجه‌ی حاصل از الکتروفورز محصولات Tetra-ARMS PCR جهت تعیین ژنوتیپ HSPA1B rs6457452 در شکل ۱ نشان داده شده است. باند ۶۵۲ bp در کلیه نمونهها، به عنوان کنترل داخلی مشاهده شد. علاوه بر این باند، آلل T، قطعه ۴۱۷ bp، آلل C، قطعه ۲۸۰ bp را روی ژل نشان دادند.

مقایسه میانگین سن دو گروه کنترل و نابارور نشان داد که اختلاف آماری معنی داری بین میانگین سنی دو گروه وجود ندارد ( $p=0/899$ ) (جدول ۲).

جدول ۲. مشخصات سنی گروه سالم و بیمار

گروه	دامنه سنی	میانگین سنی	تعداد
تعداد کل	۲۲-۵۷	۳۵/۸±۷/۴	۵۱۶
بیمار	۲۲-۵۵	۳۵/۱±۷/۱	۳۰۸
کنترل	۲۲-۵۸	۳۶/۷±۷/۹	۲۰۸

میانگین متغیرهای پارامترهای اسپرم در دو گروه کنترل و بیمار در جدول ۳ نشان داده شده است. مقایسه میانگین متغیرها در دو گروه نشان داد که تعداد کل اسپرم، حرکت کل و غلظت اسپرم اختلاف آماری معنی داری را در دو گروه کنترل و بیمار نشان می دهند، در حالی که بین سایر پارامترهای اسپرم و ناباروری آیدیوپاتیک مردان ارتباطی مشاهده نشد.

جدول ۳. مقایسه میانگین پارامترهای اسپرم در افراد کنترل و بیمار

پارامترهای اسپرم	بیمار	کنترل	p
مورفولوژی اسپرم (درصد)	۳۳/۲۹۰±۲۰/۹۱۴	۳۴/۶۸۸±۱۵/۲۶۰	۰/۵۰۴
تعداد کل اسپرم ( $10^6$ per ejaculate)	۹۵/۲±۱۳۰	۱۳۰±۱۳۳	۰/۰۴
حرکت پیشرونده اسپرم (درصد)	۵۲/۳±۵۲/۷	۶۰/۲±۴۵	۰/۳۹
درصد اسپرم زنده	۵۷/۴۱۲±۲۳/۰۸۲	۶۱/۲۵۹±۱۹/۹۳۹	۰/۳۶۳
حرکت کل اسپرم (درصد)	۳۲/۶±۲۳	۴۷/۳±۱۶/۸	<۰/۰۰۱
غلظت اسپرم ( $10^6$ per ml)	۴۵/۱±۴۵/۸	۷۵/۹±۴۴/۴	<۰/۰۰۱

جدول ۴ فراوانی آللی و ژنوتیپی پلی مورفیسم مورد مطالعه را در دو گروه کنترل و بیمار نشان می دهد. فراوانی ژنوتیپهای CC، TC و TT در گروه کنترل به ترتیب ۱۵۳ (درصد ۷۳/۶)، ۴۸ (درصد ۲۳/۱) و ۷ (درصد ۳/۴) درصد) و در گروه بیمار ۱۹۱ (درصد ۶۲)

۹۳ (۳۰/۲ درصد) و ۲۴ (۷/۸ درصد) بود. بررسی توزیع ژنوتیپ‌ها نشان داد که گروه کنترل در تعادل هاردی-واینبرگ می‌باشد (2:1.692, df: 1, P: 0.193). هم‌چنین، بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم HSPA1B rs6457452 و ناباروری آیدیوپاتیک مردان نشان داد که ژنوتیپ‌های TC (OR=1.552, 95%CI: 1.032-2.334, p=0.035) و TT (OR=2.746, 95%CI: ) با افزایش احتمال خطر ناباروری در مردان همراه می‌باشند و افراد حامل آلل T (ژنوتیپ‌های TT+TC) در مقابل افراد دارای ژنوتیپ CC در خطر بیشتری برای ناباروری می‌باشند (OR=1.704, 95%CI: 1.160-2.503, p=0.007). به علاوه فراوانی آلل C در گروه کنترل و بیمار به ترتیب ۶۲ (۱۵ درصد) و ۱۴۱ (۲۳ درصد) بود. نتایج حاصل از آنالیز آماری نشان داد که آلل T به عنوان یک آلل پرخطر ریسک ابتلا به ناباروری را افزایش می‌دهد (OR=1.695, 95%CI: 1.220-2.355, p<0.001).

جدول ۴. بررسی ارتباط بین پلی‌مورفیسم rs6457452 در ژن HSPA1B و خطر ناباروری مردان

ژنوتیپ	کنترل (درصد)	بیمار (درصد)	OR(%95CI)	p
CC	۱۵۳(۷۳/۶)	۱۹۱(۶۲)	۱	-
TC	۴۸(۲۳/۱)	۹۳(۳۰/۲)	۱/۵۵۲(۱/۰۳۲-۲/۳۳۴)	۰/۰۳۵
TT	۷ (۳/۴)	۲۴(۷/۸)	۲/۷۴۶(۱/۱۵۳-۶/۵۴۵)	۰/۰۲۳
TC+TT	۵۵(۲۶/۴)	۱۱۷(۳۸)	۱/۷۰۴(۱/۱۶۰-۲/۵۰۳)	۰/۰۰۷
آلل				
C	۳۵۴(۸۵)	۴۷۵(۷۷)	۱	-
T	۶۲(۱۵)	۱۴۱(۲۳)	۱/۶۹۵(۱/۲۲۰-۲/۳۵۵)	<۰/۰۰۱

## بحث

پیشرفت تحقیقات و گسترش کاربرد روش‌های مولکولی در تشخیص و درمان علل ناباروری نشان می‌دهد که دلیل بسیاری از موارد ناباروری با علت ناشناخته، به اختلالات ژنتیکی و کروموزومی بر می‌گردد که با پیشرفت علم پزشکی این علل شناسایی گردیده و همواره از میزان موارد نابارور با علت ناشناخته کاسته می‌شود. برخی مطالعات نشان داده‌اند که بروز اختلال در ژن‌ها می‌تواند باعث اختلال در روند اسپرماتوژنز و به دنبال آن ناباروری شود (۱۰، ۱۱).

پروتئین‌های شوک حرارتی مولکول‌های بسیار حفاظت شده‌ای هستند که در همه موجودات از باکتری و مخمر تا انسان بیان می‌شوند. عملکرد این دسته از پروتئین‌ها به دامنه وسیعی از فعالیت‌های سلولی مانند کنترل سیگنال‌های سلولی، تاخوردگی پروتئین‌ها، تنظیم پاسخ‌های ایمنی و آپوپتوز، تاثیرگذار می‌باشد. این مسأله موجب قرار گرفتن

پروتئین‌های HSP در زمره مهم‌ترین مولکول‌های سلولی گردیده است (۱۲).

در سال ۱۹۹۶، برای اولین بار دیکس و همکاران گزارش کردند که حذف ژن HSP70-2 در موش نر موجب توقف میوز، آپتوز اسپرماتوسیت‌های مرحله پاک‌تن و نهایتاً ناباروری می‌شود (۸)، این تحقیق بینش جدیدی را در ارتباط با نقش HSP ها در ناباروری مردان به وجود آورد و پیشنهاد کرد که HSPها در تکامل سلول‌های زاینده جنس نر شرکت می‌کنند. اخیراً مشخص شده که پروتئین‌های HSP در تمام مراحل تکامل اسپرم دخالت دارند (۱۳). این پروتئین‌ها در سطح اسپرم انسان وجود داشته و به نظر می‌رسد که اعضای خانواده HSP70 از فراوانترین پروتئین‌های سطح اسپرم باشند (۱۴، ۱۵). تاکنون چندین ژن مجزا از اعضای خانواده HSP70 به نام‌های HSP70-1، HSP70-2، HSPA1B (HSPA1L)، HSP70-Hom (HSPA1L) شناسایی

نتایج حاصل از تحقیق این گروه، ارتباط معنی‌داری را بین پلی-مورفیسم‌های مذکور و ناباروری مردان نشان نداد (۲۰). نتایج مطالعه حاضر بیان‌گر ارتباط بین واریانت ژنتیکی HSPA1B rs6457452 و ناباروری در مردان بود. بر اساس جستجو در سایت‌های معتبر علمی به نظر می‌رسد که تاکنون مطالعه‌ای در ارتباط با این واریانت ژنتیکی و ناباروری مردان انجام نشده است و تحقیق حاضر اولین مطالعه در این زمینه می‌باشد، بنابراین جهت تایید نتایج حاضر، پیشنهاد می‌گردد که این مطالعه در جمعیت‌های نژادی مختلف نیز مورد بررسی قرار گیرد.

### نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که بین پلی-مورفیسم HSPA1B rs6457452 و استعداد ابتلا به ناباروری در مردان ارتباط وجود دارد، به طوری که ژنوتیپ‌های TC و TT در مقابل ژنوتیپ CC خطر ابتلا به ناباروری را افزایش داده و همچنین آلل T در جایگاه پلی‌مورفیک rs6457452 در مدل ژنتیک غالب، به عنوان یک آلل پرخطر برای ابتلا به ناباروری مردان مطرح می‌باشد.

### تشکر و قدردانی

این مطالعه برگرفته از پایان نامه دکترای حرفه‌ای می‌باشد که بدین وسیله نویسندگان مقاله از کارشناس محترم آزمایشگاه ژنتیک بابت همکاری صمیمانه در پیشبرد مراحل عملی تحقیق و همچنین از کلیه شرکت‌کنندگان در مطالعه قدردانی و تشکر می‌نمایند.

### منابع

1. Kara E, Simoni M. Genetic screening for infertility: When should it be done? Middle East Fertil Soc J. 2010; 15:139-45.
2. Amini P, Maroufizadeh S, Omani Samani R. Evaluating the factor structure, item analyses, and internal consistency of hospital anxiety and depression scale in Iranian infertile patients. Int J Reprod Biomed (Yazd). 2017; 15:287-296.

شدند. این ژن‌ها در ناحیه MHC کلاس ۳ (MHC III) روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ (6p21.3) قرار گرفته‌اند (۱۶). سان و همکاران، طی مقاله‌ای مشخص کردند که پروتئین HSPA در سلول‌های ژرمینال مردانه انسان به مقدار زیاد و در بیضه افرادی با سندرم سلول‌های سرتولی و سایر بافت‌ها به مقدار اندکی بیان می‌شود، بنابراین این پروتئین ممکن است نقش مهمی را در میوز بیضه انسان بازی کند (۱۷). همچنین در سال ۲۰۰۶ مطالعات لیما و همکاران نشان داد که ژن HSPA2 در افراد بالغ مبتلا به واریکوسل و الیگوزواسپرمی در مقایسه با گروه کنترل بیان کمتری دارد (۱۸).

با توجه به اهمیت نقش چاپرون‌های HSP70 در تکامل و بلوغ اسپرم، به نظر می‌رسد پلی‌مورفیسم‌های عملکردی در ژنهای کدکننده این پروتئین‌ها، می‌تواند با تاثیر بر کیفیت و کمیت اسپرم مرتبط با ناباروری در مردان باشد، لذا در این تحقیق واریانت ژنتیکی HSPA1B rs6457452 به عنوان ریسک فاکتورهای احتمالی برای ناباروری ایدیوپاتیک در مردان مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که بین پلی‌مورفیسم HSPA1B rs6457452 و خطر ناباروری در مردان ارتباط معنی‌داری وجود دارد؛ به طوری که ژنوتیپ‌های TC و TT با افزایش خطر ابتلا به ناباروری همراه بوده و آلل T در این پلی‌مورفیسم به عنوان یک آلل پرخطر ریسک ابتلا به ناباروری را در مردان افزایش می‌دهد. پلی‌مورفیسم تک نوکلئوتیدی HSPA1B rs6457452 مورد مطالعه در این پژوهش، در ناحیه 5'UTR ژن HSPA1B قرار گرفته که موجب جا به جایی T به C می‌شود. گو و همکاران در سال ۲۰۱۱ نشان دادند که حضور آلل T در این جایگاه، موجب کاهش بیان ژن HSPA1B و استعداد ابتلا به سرطان ریه می‌شود (۱۹). مطالعه‌ی دیگری در سال ۲۰۱۵ توسط سیفتسی و همکاران، در ارتباط با پلی‌مورفیسم‌های HSPA1L rs2227956 و HSPA1B rs1061581 با ناباروری مردان انجام شد که

3. Halder A, Kumar P, Jain M, Kalsi AK. Genomics: Tool to predict and prevent male infertility. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2017; 9:448-508.
4. Ivanov AV, Dedul AG, Fedotov YN, Komlichenko EV. Toward optimal set of single nucleotide polymorphism investigation before IVF. *Gynecol Endocrinol*. 2016; 32(sup2):11-18.
5. Purandhar K, Jena PK, Prajapati B, Rajput P, Seshadri S. Understanding the role of heat shock protein isoforms in male fertility, aging and apoptosis. *World J Mens Health*. 2014; 32(3):123-32.
6. Vos MJ, Hageman J, Carra S, Kampinga HH. Structural and functional diversities between members of the human HSPB, HSPH, HSPA, and DNAJ chaperone families. *Biochemistry*. 2008; 47: 7001-11.
7. Bukau B, Weissman J, Horwich A. Molecular chaperones and protein quality control. *Cell*. 2006; 125: 443-51.
8. Dix DJ, Allen JW, Collins BW, Mori C, Nakamura N, Poorman-Allen P, et al. Targeted gene disruption of HSP70-2 results failed meiosis, germ cell apoptosis and male infertility. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1996; 93: 3264-8.
9. Naaby-Hansen S, Herr JC. Heat shock proteins on the human sperm surface. *J Reprod Immunol*. 2010; 84:32-40.
10. Geisinger A, Benavente R. Mutations in Genes coding for Synaptonemal Complex Proteins and Their Impact on Human Fertility. *Cytogenet Genome Res* 2016; 150:77-85.
11. Luddi A, Crifasi L, Quagliarello A, Governini L, De Leo V, Piomboni P. Single nucleotide polymorphisms of USP26 in azoospermic men. *Syst Biol Reprod Med*. 2016; 62:372-378.
12. Jacob P, Hirt H, Bendahmane A. The heat-shock protein/chaperone network and multiple stress resistance. *Plant Biotechnol J*. 2017; 15:405-414.
13. Dun MD, Aitken RJ, Nixon B. The role of molecular chaperones in spermatogenesis and the post-testicular maturation of mammalian spermatozoa. *Hum Reprod Update*. 2012; 18:420-35.
14. Miller D, Brough S, al-Harbi O. Characterization and cellular distribution of human spermatozoal heat shock proteins. *Hum Reprod*. 1992; 7:637-45.
15. Kamaruddin M, Kroetsch T, Basrur PK, Hansen PJ, King WA. Immunolocalization of heat shock protein 70 in bovine spermatozoa. *Andrologia* 2004; 36:327-34.
16. Milner CM, Campbell RD. Structure and expression of the three MHC-linked HSP70 genes. *Immunogenetics* 1992; 32:242-251.
17. Son WY, Hwang SH, Han CT, Lee JH, Kim S, Kim YC. Specific expression of heat shock protein HspA2 in human male germ cells. *Mol Hum Reprod* 1999; 5:1122-6.
18. Lima SB, Cenedeze MA, Bertolla RP, Filho PA, Oehninger S, Cedenho AP. Expression of the HSPA2 gene in ejaculated spermatozoa from adolescents with and without varicocele. *Fertil Steril* 2006; 86:1659-63.
19. Guo H, Deng Q, Wu C, Hu L, Wei S, Xu P, et al. Variations in HSPA1B at 6p21.3 are associated with lung cancer risk and prognosis in Chinese populations. *Cancer Res*. 2011; 71:7576-86.
20. Ciftci H, Celepkolo B, Dilmec F, Koksall M, Yeni E, Yagmur I. Genetic polymorphisms of hspa1b and hspa11 in infertile men. *J Pak Med Assoc*. 2015; 65:701-4.