

بررسی نقش پلی مورفیسم rs2227956 ژن HSPA1L در ناباروری ایدیوپاتیک مردان

لیلا کهن^{۱*}، امید طبیعی^۲

۱- گروه زیست شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

۲- گروه منابع طبیعی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۱/۲۳

تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۴/۰۷/۰۲

چکیده

زمینه و هدف: ناباروری مردان یک بیماری چند عاملی است که در نتیجه بر هم کنش بین فاکتورهای ژنتیکی و محیطی بروز می کند. علی رغم پیشرفت های روش شناختی، هنوز علت ۲۵٪ از موارد ناباروری ناشناخته باقی مانده است. پروتئین های شوک حرارتی (HSP)، چاپرون های مولکولی هستند که در مراحل مختلف اسپرماتوژنز درگیر می باشند. مطالعه حاضر به منظور بررسی نقش پلی مورفیسم ژنی HSPA1L rs2227956 در ناباروری ایدیوپاتیک مردان صورت گرفته است.

مواد و روش ها: این مطالعه ی مورد-شاهدی بر روی ۳۴۲ نفر، متشکل از ۱۴۳ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۱۹۹ مرد سالم به عنوان کنترل انجام شد. بعد از استخراج DNA از خون محیطی، تعیین ژنوتیپ به وسیله ی روش PCR-RFLP انجام شد. جهت بررسی ارتباط بین پلی مورفیسم و ناباروری مردان از آنالیز رگرسیون لوجستیک استفاده گردید.

نتایج: تفاوت معنی داری در توزیع ژنوتیپ ها بین افراد کنترل و نابارور مشاهده شد. نتایج نشان داد که افراد حامل ژنوتیپ TC و CC در خطر بیشتری برای ناباروری مردان هستند. همچنین، ارتباط معنی داری بین آلل C و ناباروری در مردان مشاهده شد. **نتیجه گیری:** پلی مورفیسم HSPA1L rs2227956 با خطر ناباروری ایدیوپاتیک در مردان همراه است.

کلمات کلیدی: ناباروری مردان، ایدیوپاتیک، HSP، پلی مورفیسم

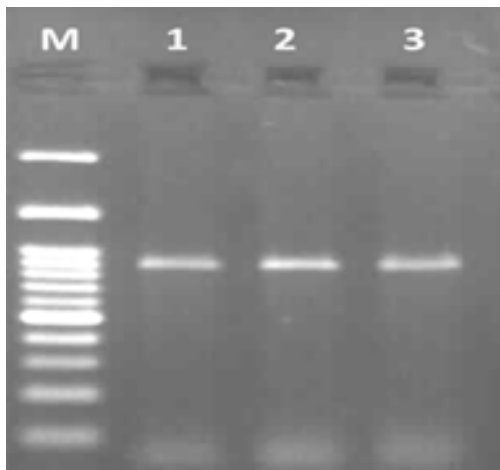
مقدمه

دستگاه تناسلی، واریکوسل، شیمی درمانی، عوامل هورمونی و برخی داروها اشاره کرد (۴). مهم ترین عوامل ژنتیکی درگیر در ناباروری مردان نیز شامل ریزحذف های کروموزوم Y، ناهنجاری های کروموزومی و جهش های تک ژنی می باشد (۵). پروتئین های شوک حرارتی (HSPs)، گروهی از پروتئین های همولوگ هستند که توسط یک خانواده چند ژنی کد شده و در هموستازی، تنظیم آپتوز، فولدینگ پروتئین ها و حفظ دیگر فرآیندهای فیزیولوژیک از جمله اسپرماتوژنز نقش مهمی دارند (۶). در پستانداران این پروتئین ها، بر اساس اندازه و عملکرد به ۶ گروه (HSPH) HSP100، (HSPC) HSP90، HSP70، (HSPA) HSP60، (HSPD) HSP40 و HSP27 تقسیم می شوند (۷، ۸). در این میان، خانواده HSP70 از جمله حفاظت شده ترین گروه HSP ها در بین گونه های مختلف موجودات هستند (۹). مطالعات پیشین حاکی از اهمیت نقش HSP ها در فرآیند اسپرماتوژنز بوده و نشان دادند که تخریب ژن HSP70-2

یکی از مشکلات بهداشتی در جهان امروز که تقریباً ۱۵٪ زوجها را در سنین باروری درگیر می کند، ناباروری است. براساس تعریف سازمان بهداشت جهانی (WHO)، ناباروری به حالتی اطلاق می شود که زوجین پس از یک سال مقاربت های متوالی، منظم و بدون استفاده از روش های پیشگیری، با عدم موفقیت در باروری مواجه می شوند (۱). در حدود نیمی از موارد ناباروری یک عامل مردانه دخیل است. علی رغم پیشرفت های چشمگیر در روش های تشخیصی، بیش از ۲۵٪ از مردان، آنالیز مایع منی غیرطبیعی داشته و این بیماری با علت ناشناخته گزارش می شود؛ این شرایط تحت عنوان ناباروری ایدیوپاتیک شناخته می شود (۲). به طور معمول عوامل ژنتیکی و غیر-ژنتیکی دو عامل ناباروری در مردان هستند (۳). از عوامل غیر-ژنتیکی دخیل در ناباروری مردان می توان به عفونت های

* نویسنده مسئول: لیلا کهن، گروه زیست شناسی، واحد ارسنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، ارسنجان، ایران.
Email: Kohan@iaua.ac.ir

۹۵ به مدت ۱ دقیقه، اتصال پرایمر 55°C به مدت ۱ دقیقه و طولیل سازی 72°C به مدت ۱ دقیقه انجام گرفت و در نهایت طولیل سازی نهایی در دمای 72°C به مدت ۵ دقیقه صورت گرفت. سپس جهت بررسی تکثیر موفق قطعه مورد نظر، ۱۰ میکرولیتر از محصول PCR بر روی ژل آگارز ۲٪ و به کمک رنگ آمیزی اتیدیوم بروماید مورد آزمایش قرار گرفت که باند ۸۷۸bp حاکی از تکثیر موفق این ناحیه بود (شکل ۱).



شکل ۱- نتیجه تکثیر ناحیه پلی مورفیک توسط PCR. باند ۸۷۸ bp در ستون‌های ۱، ۲ و ۳ نشانگر تکثیر موفق قطعه است. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی

به منظور تعیین ژنوتیپ و انجام RFLP، از آنزیم NCOI استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۷/۵ میکرولیتر محصول PCR، ۱/۲۵ میکرولیتر بافر، ۰/۵ میکرولیتر آنزیم و ۳/۲۵ میکرولیتر آب مقطر بود که به مدت ۱۶ ساعت در دمای 37°C قرار داده شد. پس از هضم آنزیمی و الکتروفورز نمونه‌ها، ژنوتیپ

منجر به توقف میوز و ناباروری در مردان می‌گردد (۱۰، ۱۱). ژن HSPA1L، عضوی از خانواده HSP70 بوده که به طور عمده در بیضه بیان می‌شود و به عنوان آنتی‌ژن غالب در سطح اسپرم شناخته شده است (۱۲). هدف از مطالعه حاضر، بررسی نقش احتمالی پلی مورفیسم rs2227956 ژن HSPA1L، که به صورت HSPA1L 2437C/T نیز نامیده می‌شود، در ناباروری ایدیوپاتیک مردان بوده است.

مواد و روش‌ها

این مطالعه مورد-شاهدی بر روی ۳۴۲ مرد شامل ۱۴۳ مرد مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک و ۱۹۹ مرد سالم به عنوان گروه کنترل انجام شد. نمونه‌های بیماران، پس از تأیید پزشک متخصص به عنوان ناباروری ایدیوپاتیک، از مرکز نازایی دکتر رستمی در شیراز جمع‌آوری شدند. معیارهای خروج از مطالعه عبارت بودند از: واریکوسل، عفونت دستگاه تناسلی، مصرف داروی مرتبط با ناباروری، ناهنجاری کروموزومی و ریزحذف‌های 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 تیوب‌های حاوی EDTA ریخته شد.

استخراج DNA از خون به روش Salting out انجام گرفت. جهت تعیین ژنوتیپ از روش PCR-RFLP استفاده شد (۱۳). پرایمرهای اختصاصی جهت تکثیر ناحیه پلی مورفیک در جدول ۱ آمده است. واکنش PCR در حجم ۲۵ میکرولیتر شامل ۱۰ پیکومول از هر کدام از پرایمرهای HSP-F و HSP-R، ۲۰۰

جدول ۱- توالی پرایمرهای مورد استفاده در واکنش PCR

اندازه محصول PCR	توالی پرایمر (۵'→۳')	نام پرایمر	پلی مورفیسم
۸۷۸bp	GGACAAGTCTGAGAAGGTACAG GTAACCTAGATTCAGGTCTGG	HSP-F HSP-R	rs2227956

CC باند ۸۷۸، ژنوتیپ TT باند ۵۵۱ و ۳۲۷ و ژنوتیپ CT باندهای ۸۷۸، ۵۵۱ و ۳۲۷ را نشان دادند (شکل ۲).

آنالیز آماری با استفاده از نرم افزار SPSS و پیراست ۱۶ صورت گرفت. جهت بررسی اختلاف توزیع ژنوتیپ‌ها بین دو گروه بیمار

میکرومولار dNTP، ۳ واحد Taq DNA polymerase، ۱/۵ میلی مولار MgCl_2 ، ۲/۵ میکرولیتر (1X) 10X PCR buffer و ۲۰۰ نانوگرم از DNA الگو و ۱۷ میکرولیتر آب مقطر در نظر گرفته شد. برنامه PCR به صورت دناتوراسیون اولیه در دمای 95°C به مدت ۵ دقیقه و سپس ۳۵ سیکل PCR شامل دناتوراسیون $^{\circ}\text{C}$

جدول ۳- توزیع ژنوتیپ ها و فراوانی آللی در دو گروه کنترل و نابارور

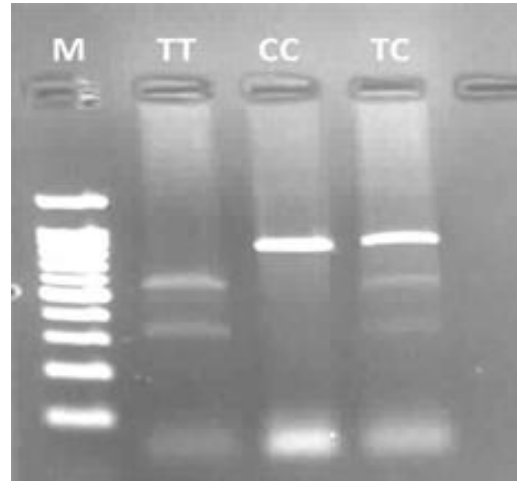
ژنوتیپ	کنترل (%)	نابارور (%)
پلی مورفیسم		
TT	۱۴۷ (۷۳/۹)	۸۴ (۵۸/۷)
TC	۴۶ (۲۳/۱)	۴۸ (۳۳/۶)
CC	۶ (۳)	۱۱ (۷/۷)
آلل		
T	۳۴۰ (۸۵)	۲۱۶ (۷۵)
C	۵۸ (۱۵)	۷۰ (۲۵)

CC ارتباط معنی داری با ناباروری دارند. همچنین در مدل ژنتیک غالب برای آلل C، ژنوتیپ های TC+CC در مقابل ژنوتیپ TT، باعث افزایش خطر ابتلا به ناباروری می گردند. بررسی فراوانی آللی نیز نشان داد که آلل C با افزایش خطر ابتلا به ناباروری همراه می باشد (OR=۱/۹) (جدول ۴).

جدول ۴- ارتباط بین پلی مورفیسم rs2227956 و ناباروری مردان

ژنوتیپ/آلل	OR (۹۵% CI)	P
مدل هم بارز		
TT	۱ (رفرنس)	-
TC	۱/۸ (۱/۳-۱)	۰/۰۱
CC	۳/۲ (۱/۸-۱/۹)	۰/۰۳
مدل غالب		
TT	۱ (رفرنس)	-
TC+CC	۲ (۱/۳-۲/۱)	۰/۰۰۳
مدل مغلوب		
TT+TC	۱ (رفرنس)	-
CC	۲/۷ (۰/۷-۹۷/۴)	۰/۰۶
آلل		
T	۱ (رفرنس)	-
C	۱/۹ (۱/۲-۳/۸)	۰/۰۰۱

و کنترل از آزمون رگرسیون لجستیک استفاده گردید و سطح معنی داری نیز کمتر از ۰/۰۵ در نظر گرفته شد.



شکل ۱- نتیجه تکثیر ناحیه پلی مورفیک توسط PCR. باند ۸۷۸ bp در ستون های ۱، ۲ و ۳ نشانگر تکثیر موفق قطعه است. M: مارکر ۱۰۰ جفت بازی

نتایج

تعداد کل افراد مورد مطالعه در این تحقیق، ۳۴۲ نفر با دامنه سنی ۲۳-۵۵ سال بود. جدول ۲ میانگین سنی و تعداد افراد در گروه های کنترل و نابارور را نشان می دهد. مقایسه میانگین سن

جدول ۲- مشخصات افراد مورد مطالعه

منغیر	نابارور	کنترل	کل
تعداد	۱۴۳	۱۹۹	۳۴۲
میانگین سن	۷±۳۵	۶±۳۶/۲	۳۵/۶±۶/۶

دو گروه کنترل و نابارور نشان داد که اختلاف آماری معنی داری بین میانگین سنی دو گروه وجود ندارد ($P=۰/۱۹$).

جدول ۳ توزیع ژنوتیپ ها و فراوانی آللی پلی مورفیسم rs2227956 را در دو گروه کنترل و بیمار نشان می دهد. آنالیز داده ها نشان داد که گروه کنترل ($P=۰/۳$, $df=۲$, $\chi^2=۱/۰۲$) و بیمار ($P=۰/۲۷$, $df=۲$, $\chi^2=۱/۲$) برای توزیع ژنوتیپ های پلی- مورفیسم مذکور در تعادل هاردی-واینبرگ می باشند. بررسی ارتباط بین ژنوتیپ ها و ناباروری نشان داد که ژنوتیپ های TC و

بحث و نتیجه گیری

پس از آن تحقیقات نشان دادند که کاهش بیان HSPA می‌تواند منجر به ناباروری در مردان گردد (۲۴). Ciftci و همکاران در سال ۲۰۱۵ برای اولین بار، ارتباط پلی مورفیسم‌های HSPA1L rs2227956 و HSPA1B rs1061581 را با ناباروری مردان بررسی کردند؛ نتایج حاصل از تحقیق این گروه، ارتباط معنی‌داری را بین پلی مورفیسم‌های مذکور و ناباروری مردان نشان نداد (۲۵). در مطالعه حاضر پلی مورفیسم rs2227956 HSPA1L در مردان مبتلا به ناباروری ایدیوپاتیک مورد بررسی قرار گرفت. این پلی-مورفیسم در جایگاه +۲۴۳۷ ژن HSPA1L قرار داشته و موجب جایگزینی اسیدآمینه ترئونین به جای متیونین در موقعیت ۴۹۳ پروتئین می‌شود (۱۷). اسید آمینه ۴۹۳ در جایگاه اتصال این چاپرون با پروتئین‌های دیگر می‌باشد. از آنجایی که متیونین یک اسیدآمینه آب‌گریز و ترئونین یک اسیدآمینه آب دوست است، جایگزینی این اسیدآمینه موجب کاهش قطبیت این چاپرون و در نتیجه کم شدن قدرت آن برای اتصال با پروتئین‌های هدف می‌گردد (۲۶). نتایج تحقیق حاضر بیانگر ارتباط معنی‌دار بین پلی مورفیسم rs2227956 HSPA1L و ناباروری مردان بود. یکی از محدودیت‌های این تحقیق، محدود بودن تعداد افراد مشارکت کننده در آن می‌باشد، بنابراین پیشنهاد می‌شود که جهت تأیید نتایج، مشابه تحقیق حاضر، در مقیاس بزرگتر و در جمعیت‌های نژادی دیگر تکرار گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان در قالب طرح تحقیقاتی صورت گرفته است، که بدین وسیله نویسندگان مقاله از معاونت پژوهش و فناوری واحد ارسنجان و کلیه افراد شرکت کننده در این طرح تقدیر و تشکر می‌نمایند.

تعارض منافع

نویسندگان هیچ گونه تعارض منافی را اعلام نکرده‌اند.

نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که بین پلی مورفیسم rs2227946 ژن HSPA1L و خطر ناباروری در مردان ارتباط معنی‌داری وجود دارد، به طوری که ژنوتیپ‌های TC و CC با افزایش خطر ابتلا به ناباروری همراه بوده و آلل C در پلی-مورفیسم rs2227956 به عنوان یک آلل پر خطر ریسک ابتلا به ناباروری را در مردان افزایش می‌دهد.

اخیراً مشخص شده که پروتئین‌های HSP در تمام مراحل تکامل اسپرم دخالت دارند (۱۴). این پروتئین‌ها در سطح اسپرم انسان وجود داشته و به نظر می‌رسد که اعضای خانواده HSP70 از فراوان‌ترین پروتئین‌های سطح اسپرم باشند (۱۵، ۱۶). تاکنون چندین ژن مجزا به نام‌های HSP70-1 (HSPA1B) HSP70-2، HSP70-Hom (HSPA1L) شناسایی شدند که اعضای خانواده‌ی HSP70 را کد می‌کنند. این ژن‌ها در ناحیه MHC کلاس ۳ (MHC III) روی بازوی کوتاه کروموزوم شماره ۶ (6p21.3) قرار گرفته و فاقد اینترون هستند (۱۷). اعضای خانواده HSP70، در پاسخ به محرک‌های مختلف مانند حرارت بالا، سموم، داروها، استرس اکسیداتیو، ویروس‌ها، آسیب بافتی، اشعه UV و کمبود اکسیژن بیان شده و نقش مهمی در فولدینگ صحیح پروتئین‌ها، رشد نرمال و تمایز انواع سلول‌ها، کنترل پاسخ‌های سلولی به استرس و آپتوز ایفا می‌کنند (۱۸). مطالعات نشان دادند که واریانت‌های ژنتیکی در HSP70 با تغییر در بیان پروتئین و یا عملکرد آن، در مستعد کردن افراد به برخی بیماری‌ها نظیر لوپوس اریتماتوز (۱۹)، هپاتوسلولار کارسینوما (۱۳) بیماری قلبی عروقی (۲۰)، آب مروارید (۲۱) و اسکیزوفرنی (۲۲) نقش دارند (۱۱). در سال ۱۹۹۶، برای اولین بار Dix و همکاران گزارش کردند که حذف ژن HSPA2 در موش نر موجب توقف میوز، آپتوز اسپرماتوسیت‌های مرحله پاک‌ی تن و نهایتاً ناباروری می‌شود (۲۳)، این تحقیق بینش جدیدی را در ارتباط با نقش HSPها در ناباروری مردان به وجود آورد و پیشنهاد کرد که HSPها در تکامل سلول‌های زاینده جنس نر شرکت می‌کنند.

References

1. Hamada AJ, Esteves SC, Agarwal A. A comprehensive review of genetics and genetic testing in azoospermia. Clinics. 2013;68(1):39-60.
2. Kara E, Simoni M. Genetic screening for infertility: When should it be done? Middle East Fertil Soc J. 2010;15(3):139-45.



3. Hildebrand MS, Avenarius MR, Fellous M, Zhang Y, Meyer NC, Auer J, et al. Genetic male infertility and mutation of CATSPER ion channels. *Eur J Med Genet.* 2010;18(11):1178-84.
4. Wein AJ, Kavo LR, Novick AC, Partin AW, Peters CA. *Campbel-Walsh Urology.* 10th Edition. Philadelphia: W B Saunders; 2010, p. 25-30.
5. Coutton C, Satre V, Arnoult C, Ray P. Genetics of male infertility: the new players. *Med Sci.* 2012; 28(5):497-502.
6. 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.
7. 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.
8. Bukau B, Weissman J, Horwich A. Molecular chaperones and protein quality control. *Cell.* 2006;125(3): 443-51.
9. Beere HM, Green DR. Stress management heat shock protein-70 and the regulation of apoptosis. *Trends Cell Biol.* 2001;11(1):6-10.
10. Dix DJ, Rosario-Herrle M, Gotoh H, Mori C, Goulding EH, Barrett CV, et al. Developmentally regulated expression of hsp70-2 and hsp70-2/lacZ transgene during spermatogenesis. *Dev Biol.* 1996; 174(2):310-21.
11. Rockett JC, Mapp FL, Garges JB, Luft JC, Mori C, Dix DJ. Effects of hyperthermia on spermatogenesis, apoptosis, gene expression, and fertility in adult male mice. *Biol Reprod.* 2001;65(1): 229-39.
12. Naaby-Hansen S, Herr JC. Heat shock proteins on the human sperm surface. *J Reprod Immunol.* 2010;84(1):32-40.
13. Medhi S, Sarma MP, Asim M, Kar P. Genetic variants of heat shock protein A1L2437 and A1B1267 as possible risk factors for hepatocellular carcinoma in India. *J Viral Hepat.* 2013;20(4):141-7.
14. 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(4):420-35.
15. Miller D, Brough S, al-Harbi O. Characterization and cellular distribution of human spermatozoal heat shock proteins. *Hum Reprod.* 1992; 7:637-45.
16. Kamaruddin M, Kroetsch T, Basrur PK, Hansen PJ, King WA. Immunolocalization of heat shock protein 70 in bovine spermatozoa. *Andrologia.* 2004; 36: 327-34.
17. Milner CM, Campbell RD. Structure and expression of the three MHC-linked HSP70 genes. *Immunogenetics.* 1992;32(4):242-251.
18. Wang Y, Zhou F, Wu Y, Xu D, Li W, Liang S. The relationship between three heat shock protein 70 gene polymorphisms and susceptibility to lung cancer. *Clin Chem Lab Med.* 2010;48(11):1657-63.
19. Ramos PS, Williams AH, Ziegler JT, Comeau ME, Guy RT, Lessard CJ, et al. Genetic analyses of interferon pathway-related genes reveal multiple new loci associated with systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum.* 2011;63(7):2049-57.
20. Mardan-Nik M, Pasdar A, Jamialahmadi K, Biabangard-Zak A, Mirhafez SR, Ghalandari M, et al. Association of heat shock protein70-2 (HSP70-2) gene polymorphism with coronary artery disease in an Iranian population. *Gene.* 2014;550(2):180-4.
21. Zhang Y, Gong J, Zhang L, Xue D, Liu H, Liu P. Genetic polymorphisms of HSP70 in age-related cataract. *Cell Stress Chaperones.* 2013; 18(6): 703-9.
22. Bozidis P, Hyphantis T, Mantas C, Sotiropoulou M, Antypa N, Andreoulakis E. HSP70 polymorphisms in first psychotic episode drug-naïve schizophrenic patients. *Life Sci.* 2014; 100(2): 133-7.
23. Dix DJ, Allen JW, Collins BW, Mori C, Nakamura N, Poorman Allen P, et al. Targeted gene disruption of HSP70-2 results in failed meiosis, germ cell apoptosis, and male infertility. *PNAS.* 1996; 93(8): 3264.
24. Erata GO, Kocak Toker N, Durlanik O, Kadioglu A, Aktan G, Aykac Toker G. The role of heat shock protein 70 (HSP70) in male infertility: Is it a line of defense against sperm DNA fragmentation? *Fertile Sterile.* 2008;90(2):322-27.
25. 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(7):701-4.
26. Zhou F1, Wang F, Li F, Yuan J, Zeng H, Wei Q, et al. Association of hsp70-2 and hsp-hom gene polymorphisms with risk of acute high-altitude illness in a Chinese population. *Cell Stress Chaperones.* 2005;10(4):349-56.



Original Article

The Role of rs2227956 *HSPA1L* Gene Polymorphism in Idiopathic Male Infertility

Kohan L^{1*}, Tabiee O²

1- Department of biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran.

2- Department of natural resources, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran.

Received: 24 Sep 2015

Accepted: 12 Feb 2016

Abstract

Background & Objective: Male infertility is a multifactorial disease resulting from the interaction between the genetic and environmental factors. Despite the methodological advancements, the possible causes of infertility are still unknown for more than 25 percent of 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 *HSPA1L* rs2227956 gene polymorphism in the idiopathic infertility in males.

Material & Methods: This case control study was conducted on 342 subjects consisted of 143 patients with idiopathic male infertility and 199 control subjects. Followed by the DNA extraction from the peripheral blood, genotype determination was done by PCR-restriction fragment length polymorphism method. The logistic regression analysis was used to estimate the association between the polymorphism and male infertility.

Results: A significant difference was observed in the genotype distributions between the cases and controls. The results showed that the individuals with TC and CC genotype had an increased risk of male infertility. In addition, there was a significant association between C allele and male infertility.

Conclusion: *HSPA1L* rs2227956 polymorphism is associated with the idiopathic male infertility risk.

Key words: Male Infertility, Idiopathic, Polymorphism, HSP

*Corresponding author: Leila Kohan, Department of biology, Arsanjan Branch, Islamic Azad University, Arsanjan, Iran.
Email: kohan@iaua.ac.ir.