Arak Medical University Journal (AMUJ)
2017; 20(125): 94-101

Original Article

Association of HSPA1B rs6457452 Genetic Variant with Idiopathic Male Infertility

Elahe Kohan[1], Leila Kohan[2*], Maryam Maghbol[3]

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

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

Archive of SID

www.SID.ir

مقاله پژوهشی

مجله علمی پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی اراک
سال ۲۰، شماره ۸ (شماره پیاپی ۱۲۵)، آبان ۱۳۹۶، ۱۰۱-۹۴

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

الهه کهن[۱]، لیلا کهن[۲*]، مریم مقبول[۳]

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 مولتی‌فاکتوریال است که در نتیجه بر هم 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 واریانت¬های ژنتیکی HSPA1B rs6457452 در ناباروی مردان صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها: این مطالعه‌ی مورد-شاهدی بر روی ۵۱۶ نفر متشکل از ۳۰۸ مرد مبتلا به ناباروری ایدوپاتیک 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 پلی‌مورفیسم و ناباروری مردان از آنالیز رگرسیون لوجستیک 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: 1.153-6.545, p=0.023) از لحاظ ناباروری مردان، بیشتر تحت خطر هستند. هم‌چنین، ارتباط معنی‌داری بین آلل T (OR=1.695, 95%CI: 1.220-2.355, p<0.001) و ناباروری در مردان مشاهده شد.

نتیجه‌گیری: این مطالعه برای اولین بار نشان داد که پلی‌مورفیسم 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، پلی‌مورفیسم، پروتئین شوک حرارتی

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

Email: Kohan@iaua.ac.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

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 علت 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 می رسد همانند بسیاری از کشورهای منطقه و جهان بین ۱۵ تا ۲۰درصد 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 نمی باشد. به نظر می‌رسد که ناباروری ایدیوپاتیک می‌تواند حاصل جهش¬ها و یا تغییرات دیگر در ژن‌های درگیر در اسپرماتوژنز باشد (۳). آنالیز پلی‌مورفیسم در ژن‌های دخیل در اسپرماتوژنز یکی از زمینه های تحقیق در ژنتیک ناباروری مردان می‌باشد. پلی‌مورفیسم یا واریانت‌های ژنتیکی در این ژن‌ها می‌تواند یک عامل خطرساز باشد که برخی از این واریانت‌ها در ژن‌های خاص باعث اختلالات خفیف تا شدید در اسپرماتوژنز و در باروری مردان می گردد (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 پروتئین ها را کاتالیز می کند.

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

هم‌چنین مشخص شده که پروتئین HSPA1B در اسپرماتوسیت‌ها و اسپرماتیدهای نرمال 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). به‌علاوه 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 آپپتوز 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

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

مطالعه در این تحقیق، ۵۱۶ نفر با دامنه سنی۵۷-۲۲ سال و میانگین سنی ۷/۲۳۴±۳۵/۴۰۳ سال بود. جدول ۲ میانگین سنی و تعداد افراد در گروه‌های کنترل و نابارور را نشان می‌دهد. نمونه‌های بیماران، پس از تائید پزشک متخصص به عنوان ناباروری آیدیوپاتیک، از مرکز نازایی خصوصی 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 تائید 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. این روش به طور کلی شامل ۳ مرحله لیز کردن سلول با دترجنت یا شوینده، حذف پروتئین‌ها با نمک و رسوب دادن DNA با اتانول می‌باشد.

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 پروتئین‌ها، NaCl و کلروفرم 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 پلی‌مورفیسم HSPA1B rs6457452 به کمک روش Tetra-ARMS PCR تعیین شد. جهت طراحی پرایمرها از نرم‌افزار 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 می‌کرد و به عنوان کنترل داخلی به کار رفت. هم‌چنین 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 می‌کردند و در واقع به کمک محصول PCR به‌دست آمده از این دو پرایمر، موجبات تمایز بین دو آلل امکان پذیر می‌گردید.

جدول ۱ توالی پرایمرهای مورد استفاده را نشان می‌دهد.

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

پلی‌مورفیسم	پرایمرها	Sequence (5' to 3')
HSPA1B rs6457452	FI	GGAGCTGCTGCGAGGGTCAGC
	RI	CGGGAGTCACTCTCGAAAGACGCAA
	FO	CTCCAAAGTCATCCGACCAATCTCGC
	RO	TCTCCACCTTGCCGTGTTGGAACA

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

برنامه‌ی PCR به‌صورت یک مرحله ذوب ابتدایی ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای مدت ۵ دقیقه و در ادامه ۳۵ چرخه شامل دناتوراسیون ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۴۵ ثانیه، اتصال پرایمر ۶۵ درجه سانتی‌گراد برای مدت ۳۵ ثانیه و دمای ۷۲ درجه سانتی‌گراد، برای مدت ۴۵ ثانیه به‌منظور گسترش انجام شد.

این مرحله با ۱ سیکل شامل ۷۲ سانتی‌گراد برای مدت ۵ دقیقه به‌منظور طویل‌سازی نهایی دنبال شد. سپس جهت بررسی تکثیر موفق قطعات مورد نظر، ۱۰ میکرولیتر از

Archive of SID

www.SID.ir

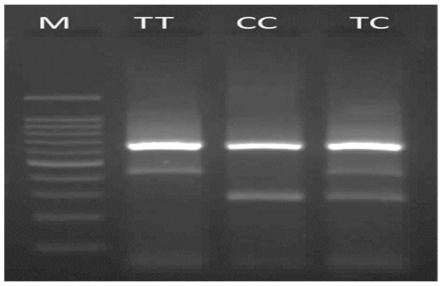
Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

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 مجددا 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 لوجستیک، 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 معنی‌داری بین میانگین سنی دو گروه وجود ندارد (p=۰/۸۹۹)(جدول ۲).



شکل ۱. نتیجه ژل الکتروفورز محصولات Tetra-ARMS-PCR برای پلی‌مورفیسم 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 می‌باشد.

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 می‌دهند، در حالی که بین سایر پارامترهای اسپرم و ناباروری آیدوپاتیک 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 پلی‌مورفیسم مورد مطالعه را در دو گروه کنترل و بیمار نشان می‌دهد. فراوانی ژنوتیپ‌های CC، TC و TT در گروه کنترل به‌ترتیب۱۵۳ (۷۳/۶ درصد)، ۴۸ (۲۳/۱ درصد) و۷ (۳/۴ درصد) و در گروه بیمار۱۹۱ (۶۲ درصد)

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

۹۳، (۳۰/۲ درصد) و ۲۴ (۷/۸ درصد) بود. بررسی توزیع ژنوتیپ‌ها نشان داد که گروه کنترل در تعادل هاردی-واینبرگ می‌باشد (χ2:1.692, 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 1.153-6.545, p=0.023) 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 ۳۸۴ (۸۵ درصد) و ۴۷۵ (۷۷ درصد)و فراوانی آلل T در گروه کنترل و بیمار به ترتیب ۶۲ (۱۵ درصد)و۱۴۱ (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 ٤. 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، آپپتوز اسپرماتوسیت‌های مرحله پاکی‌تن و نهایتا 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. اخیرا 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)، HSP70-Hom (HSPA1L) شناسایی

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

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 پلی مورفیسم‌های عملکردی در ژنهای کد کننده 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 طوری‌که ژنوتیپ‌های TC و TT با افزایش خطر ابتلا به ناباروری همراه بوده و آلل T در این پلی‌مورفیسم به عنوان یک آلل پر خطر ریسک ابتلا به ناباروری را در مردان افزایش می‌دهد. پلی مورفیسم 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 می شود (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 نتایج حاصل از تحقیق این گروه، ارتباط معنی‌داری را بین پلی-مورفیسم¬های 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 ژنوتیپ-های 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 حرفه ای می‌باشد که بدین وسیله نویسندگان مقاله از کارشناس محترم آزمایشگاه ژنتیک بابت همکاری صمیمانه در پیشبرد مراحل عملی تحقیق و همچنین از کلیه شرکت کنندگان 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.

Archive of SID

www.SID.ir

Downloaded from amuj.arakmu.ac.ir at 15:14 +0330 on Saturday January 6th 2018

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 failledmeosis, erm 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, Koksal M, Yeni E, Yagmur I. Genetic polymorphisms of hspa1b and hspa1l in infertile men. J Pak Med Assoc. 2015; 65:701-4.

Archive of SID

www.SID.ir