

وحصوات المثناة دورا مهما في زيادة خطر الاصابة بسرطان المثناة [9]. تساعد دراسة حالة تعدد الأشكال Polymorphisms على التمييز بين الأشكال الموروثة المختلفة من في جينات مختلفة، إذ يمتلك البشر عدداً كبيراً من التعدد الشكلي في القطع المختلفة من الجين في الحامض النووي منقوص الأوكسجين DNA ، ويمكن تقييم مدى تأثير عوامل الخطورة والاستعداد الوراثي للكثير من الأمراض والاضطرابات مثل السرطان وأمراض القلب والسكري من خلال التعدد الشكلي ، ومن الجينات المهمة ذات التعدد الشكلي والتي لها دور بارز في حدوث سرطان المثناة P53 codons 72 polymorphism ، MTHFR A1298C& MDM2T309GPolymorphis ، C677T Polymorphism .

استهدفت الدراسة الحالية

دراسة تأثير عوامل الخطورة على التعددات الشكلية المفردة (SNPs) والطرز الجينية في الجينات (P53 codons 72 polymorphism ، MTHFR A1298C& C677T Polymorphism ، MDM2T309GPolymorphis) ودورها في حدوث سرطان المثناة.

المواد وطرائق العمل Materials & Methods

جمع العينات sample collection

جمعت عينات الدراسة من المرضى المراجعين لمركز الإمام الحسين (عليه السلام) للأورام السرطانية وأمراض الدم في مستشفى الحسين (عليه السلام) التعليمي ومستشفى السفير في محافظة كربلاء المقدسة. شملت الدراسة (100) عينة وقد قسمت العينات إلى (60) مريض بعد تشخيصهم سريريا من قبل الجراح المختص بالإضافة إلى (40) فردا من الأصحاء مظهريا . جمعت المعلومات من المرضى وكذلك مجموعة السيطرة اعتمادا على استمارة استبيان خاصة أعدت ، لغرض دراسة تأثير بعض عوامل الخطورة وعلاقتها بالطرز الجينية للتعددات الشكلية لسرطان المثناة ومن هذه العوامل العمر ، الجنس، محل السكن، التدخين ، أمراض المثناة الأخرى، التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان ،درجة المرض .

سحب 4 مل من الدم الوريدي من المرضى المراجعين لمركز الإمام الحسين (عليه السلام) للأورام وأمراض الدم في مدينة الإمام الحسين(عليه السلام) الطبية التعليمية ومستشفى السفير ومجموعة السيطرة وقد تم تقسيم عينة الدم إلى: 2 مل تم وضعها في أنابيب مانعة للتخثر EDTA ومن ثم نقلت في صندوق مبرد إلى مختبر الدراسات العليا في قسم علوم الحياة بكلية التربية للعلوم الصرفة/ جامعة كربلاء لإجراء الفحوصات الجزيئية لها. و 2 مل وضعت في أنابيب مانعة للتخثر EDTA لغرض إجراء اختبار الدم لغرض إجراء صورة الدم الكاملة (Complete blood picture (CBP) لمرضى سرطان المثناة ، بعد تشخيصهم سريريا من قبل الجراح المختص عن طريق التنظير وكذلك مجموعة السيطرة.

تم تحديد الطرز الجينية للتعددات الشكلية P53 codons 72 polymorphism ، MTHFR A1298C& C677T ، Polymorphism ، MDM2T309GPolymorphis باستخدام التقنيات الجزيئية PCR-RFLP و PCR و DNA Sequencing . و تم تحليل النتائج إحصائيا باستخدام برنامج التحليل الإحصائي SPSS V.22 (SPSS) حيث تم اعتماد مستوى المعنوية $P \leq 0.01$ و $P \geq 0.05$ لتحديد الفروقات الإحصائية والمعنوية للنتائج .

• اختيار البودائ Primers

تم اختيار البودائ (Primers) كما في الجدول (1) لغرض إجراء الكشف الجزيئي عن تعدد اشكال النيوكليوتيدات المفردة SNPs .

جدول (1) البودائ المستخدمة في الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي في جينات الدراسة

Name of gene	Sequence of Primers	Product Size(bp)	Reference
P53 (Arg)	F : 5'-TCC CCC TTG CCG TCC CAA-3' R : 5'-CTG GTG CAG GGG CCA CGC-3'	141bp	Soulitzis <i>et al.</i> ,2002
P53 (Pro)	F:5'-GCC AGA GGC TGC TCC CCC-3' R: 5'-CGT GCA AGT CACA AGACTT-3'	177bp	Soulitzis <i>et al.</i> ,2002
MTHFR A1298C	F:5'-AAGGAGGAGCTGCTGAAGATG-3' 3'-R: 5'-CTTTGCCATGTCCACAGCATG	237bp	Cai <i>et al.</i> ,2009
MTHFR C677T	F:5'-TGAAGGAGAAGGTGTCTGCGGGA-3' R: 5'-AGGACGGTGCGGTGAGAGTG-3'	198bp	Cai <i>et al.</i> ,2009
MDM2 T309G	F:5'-GCTTTGCGGAGGTTTTGTT-3 R: 5'-TCAAGTTCAGACACGTTCCG-3		

الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي في جين P53 codon 72 Arg and Pro alleles
يوضح الجدولين (2) و(3) البرامج المستخدمة في تقنية الـ PCR لغرض الكشف الجزيئي عن الاليلين (Arg و Pro) في جين P53 codon 72

جدول (2) البرنامج المستخدم للكشف عن Arg allele في جين P53 codon 72

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	95C°	min.5	1
2	Denaturation	95C°	30sec.	35
3	Annealing	63 C°	30sec.	
4	Extension	72C°	1 min.	
5	Final Extension	72C°	5 min.	1
6	Final hold	4	-	

جدول (3) البرنامج المستخدم للكشف عن Pro allele في جين P53 codon 72

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	95C°	5min.	1
2	Denaturation	95C°	30sec.	35
3	Annealing	60C°	30sec.	
4	Extension	72C°	1min.	
5	Final Extension	72C°	5 min.	1
6	Final hold	4	-	

ب- الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي A1298C و C677T في جين MTHFR
يوضح الجدول رقم (4) البرنامج المستخدم في تقنية الـ PCR لغرض الكشف الجزيئي عن التعددين الشكليين A1298C و C677T في جين MTHFR .

جدول (4) البرنامج المستخدم للكشف عن التعدد الشكلي A1298C و C677T في جين MTHFR

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	95C°	5min.	1
2	Denaturation	95C°	30sec.	35
3	Annealing	63 C°	30sec.	
4	Extension	72C°	1 min.	
5	Final Extension	72C°	5 min.	1
6	Final hold	4	-	

ج- الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي MDM2 T309G
يوضح الجدول رقم (5) البرنامج المستخدم في تقنية الـ PCR لغرض الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي MDM2 T309G ،
وان هذا البرنامج قد صمم من قبلنا بعد اجراء Optimization

جدول (5) البرنامج المستخدم للكشف عن التعدد الشكلي T309G في جين MDM2

No.	Steps	Temperature	Time	No. of cycles
1	Initial Denaturation	94C°	3min.	1
2	Denaturation	94C°	30 sec.	35
3	Annealing	55C°	sec. 30	
4	Extension	72C°	sec.03	
5	Final Extension	72C°	5 min.	1
6	Final hold	4	-	

الكشف الجزيئي باستخدام تقنية RFLP

استخدمت نواتج الـ PCR للجينات المشمولة بالدراسة وهي MTHFR ذو التعددين الشكليين A1298C و C677T وجين MDM2 ذو التعدد الشكلي T309G لغرض الكشف الجزيئي بتقنية الـ RFLP .
أ- الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي A1298C في جين MTHFR

تم الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي MTHFR A1298C باستخدام تقنية RFLP ، حيث حضن ناتج الجين المذكور وقطع بواسطة استخدام 1 µl من الانزيم القاطع المسمى MboII عن طريق إضافته إلى 10 µl من ناتج الجين المذكور و إضافة 5 µl من 10X NE Buffer ليكمل الحجم إلى 20 µl بواسطة إضافة 4 µl ماء مزال الايونات وحضن المزيج بدرجة 37°C في الحمام المائي لمدة 15 دقيقة .

ب- الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي C677T في جين MTHFR

تم تقطيع ناتج البلمرة المتسلسل الخاص بالتعدد الشكلي C677T في جين MTHFR عن طريق استخدام الانزيم القاطع Hinf I وذلك بإضافة 10 µl من ناتج بلمرة الجين المذكور في انبوبة اختبار صغيرة ثم اضيفت إليها 0.5 µl من الانزيم القاطع Hinf I وكذلك 2 µl من 10X AccCut TM Red Buffer و 7.5 µl من 1X Dilution Buffer ليصبح حجم المزيج الكلي 20 µl بعدها حضن المزيج بدرجة 37°C في الحمام المائي لمدة 3 ساعات .

ج- الكشف الجزيئي عن التعدد الشكلي MDM2 T309G

قطع ناتج الـ PCR في هذا الجين عن طريق تقنية RFLP عن طريق اخذ 1 µl من ناتج هذا الجين و إضافة 0.2 µl من Acetylated BSA و 2 µl من RE 10X Buffer و 16.3 µl ماء مزال الايونات ، ثم حرك المزيج بواسطة الماصة Micropipette ثم اضيف إلى المزيج 0.5 µl من الانزيم القاطع MspA1 ليصبح حجم المزيج الكلي 20 µl وقد حرك المزيج بواسطة جهاز الطرد المركزي المبرد لتواني قليلة وقد حضن بدرجة حرارة 37°C ولمدة 4 ساعات .

الكشف الجزيئي باستخدام تحديد تتابعات الحمض النووي DNA Sequencing methods

بعد إجراء فحص الـ PCR تم اختيار 4 عينات لكل جين وكانت (3 عينات من المرضى مقابل 1 عينة سيطرة) ، أرسلت تلك العينات مع بوائدها إلى شركة ماكروجين في كوريا (Macrogen Inc. Geumchen, Seoul, South Korea) المتخصصة في تحليل نواتج الـ sequencing لتلك العينات . تم اعتماد نواتج تفاعل الـ PCR لجين P53 ذو التعددين الشكليين P53 codon Arg72Pro polymorphism (البالغ طولهما 141 bp و 177) على التوالي ، أما الاطوال (237 bp و 198) فكانت لجين ذو التعددين الشكليين MTHFR (A1298C,C677T polymorphism) ، في حين كان الطول (309 bp) يمثل الجين MDM2 T309G Polymorphism ، تمت مقارنة نتيجة التتابعات مع مثيلاتها من تتابعات الحمض النووي للجينات المذكورة سابقاً والمسجلة عالمياً حيث تم استخراج قاعدة البيانات المرجعية (reference) (GenBank acc. AB082923.1, NC_000001.11, and NM_001126118.1) من موقع بنك الجينات (https://www.ncbi.nlm.nih.gov) ، تم تحليل نواتج تسلسل عينات الـ PCR وتنقيحها واصطفافها وتحليلها جنباً إلى جنب مع عينات الـ NCBI بواسطة برنامج BioEdit Sequence Alignment Editor Software Version 7.1 ((DNASTAR, Madison, WI, USA).

النتائج والمناقشة Results& Discussion

هدفت الدراسة الى تحديد تأثير عوامل الخطورة على الطرز الجينية للتعددات الشكلية P53 codons 72 polymorphism ، MTHFR A1298C& C677T Polymorphism ، MDM2T309G Polymorphism في جينات الدراسة وتأثيرها على نسب الإصابة بسرطان المثانة البولي الانتقالي ومنها:

العمر- تعد دراسة العمر من احد عوامل الخطورة المهمة في سرطان المثانة فمن خلال نتائج جدول (6) والخاص بعلاقة المرضى والاصحاء بالعمر حسب التعدد الشكلي الجيني يتضح ان الفئة العمرية المحصورة بين (61-80) سنة قد سجلت اعلى نسبة اصابة بسرطان المثانة في الطراز الجيني Arg/ Pro في التعدد الشكلي لجين P53 gene codons 72 اذ بلغت 19(31.7%) ، اما في الأصحاء فان اعلى نسبة سجلت في الفئة العمرية (41-60) سنة مع الطراز الجيني Arg/ Pro وبلغت 8(20%) ، وقد تبين من نتائج التحليل الاحصائي الى عدم وجود فروقات معنوية في الفئات العمرية اقل من 41 سنة و 41-60 سنة للمرضى والاصحاء ، ولكن ظهرت فروقات دالة معنوية في الفئات العمرية 61 - 80 سنة و 81 فأكثر سنة بين المرضى والاصحاء وظهرت فروقات دالة معنوية للمرضى في الطرازين الجينيين Arg/Arg و Arg/ Pro بين كل الفئات العمرية، حيث اشارت الدراسة التي قام بها [12] الى ان نسبة الفئات العمرية الاكبر من 60 سنة كانت (46.6) مع الطراز الجيني Arg/Arg بينما نجد النسبة (53.4) قد سجلت مع الطراز الجيني Arg/ Pro ولم تسجل اي نتيجة في الطراز الجيني Pro/ Pro في المرضى ، اما في الفئة العمرية الاقل من 60 سنة فقد سجلت اعلى النسب في الطراز الجيني Arg/Arg 73 بينما كانت نسبة الطراز الجيني Arg/ Pro 27 ولم تسجل أي نسبة تذكر في المرضى في الطراز الجيني Pro/ Pro ولكن سجلت نسبة 1.2 فقط في الاصحاء لنفس الفئة العمرية المذكورة، وظهرت دراسة [18] انه لا توجد علاقة معنوية بين الطراز الجيني Pro/ Pro وبين عمر وجنس مرضى سرطان المثانة وهذا مطابق لنتائج الدراسة الحالية. كما اشارت نتائج الجدول (1) الى ان الفئة العمرية (41-60) سنة في الاصحاء كانت الاعلى نسبة اذ بلغت 10(25%) في الطراز الجيني AC في التعدد الشكلي لجين MTHFR A1298C اما في المرضى فقد سجلت اعلى نسبة في الفئة العمرية (61-80) سنة اذ بلغت و 17(28.3%) في الطراز الجيني AC ، ويتضح من

التحليل الاحصائي الى عدم وجود فروقات معنوية بين الطرز الجينية للفئات العمرية المذكورة في المرضى والاصحاء، ولكن ظهرت فروقات احصائية عالية المعنوية بين المرضى مع الطرازين الجينيين AA و AC .

اما فيما يخص التعدد الشكلي لجين MTHFR C677T فيتضح من نتائج الجدول (6) اعلى نسبة 15(25.5%) سجلت في مرضى الطراز الجيني CC ثم تلتها النسبة 14(23.3%) في الطراز الجيني CT وكانت في الفئة العمرية (61-80) سنة، اما في الاصحاء فقد سجلت الفئة العمرية (41-60) سنة اعلى نسب وبلغت 6(15%) في الطراز الجيني CC كما وسجلت نفس النسبة في الفئة العمرية (41-60) سنة ، ومن خلال ملاحظة نتائج التحليل الاحصائي يتبين عدم وجود اختلافات احصائية بين الطرز الجينية للفئات العمرية المذكورة في المرضى والاصحاء ، ولكن ظهرت فروقات دالة معنوية بين المرضى في الطراز الجيني CC. اظهرت دراسة الباحث ([38] الى ان التعدد الشكلي C677T و A1298C قد ظهرا في الاصحاء اكثر من المرضى بعمر 67 سنة في افريقيا ، وفي دراسة اجريت في الصين اوضحت ارتباط بين التعددين الشكليين الجينيين A1298C و MTHFR C677T مع الاصابة بسرطان المثانة، وان اعلى نسب للإصابة سجلت في الفئة العمرية 63 سنة ولم تظهر هناك أي علاقة معنوية بين الفئات العمرية مع الاصابة بسرطان المثانة ([43]، وهذا يختلف مع نتائج الدراسة الحالية التي اظهرت اختلافا واضحا بين الطرز الجينية وبين الفئات العمرية حيث اظهر الطرازين الجينيين AC و AA في التعدد الشكلي (A1298C) اختلافا بين كل الفئات العمرية قيد الدراسة، اما التعدد الشكلي (C677T) فقد سجل فرقا بين كل الفئات العمرية مع الطراز الجيني CC وارتباط هذا الطراز مع خطر الاصابة بسرطان المثانة للفئتين العمريتين 61-80 و 41-60 سنة. وفيما يخص تأثير الفئات العمرية على التعدد الشكلي في جين MDM2 T309G فقد بلغت اعلى نسبة 8(20%) للأصحاء في الطرز الجيني TT و TG في الفئتين العمرية (41-60) سنة والفئة (اقل من 41) سنة على التوالي، اما في المرضى فقد اخذت الفئة العمرية (41-60) سنة اعلى نسبة وكانت في الطراز الجيني TG وبلغت 15(25%) ثم تلتها الفئة العمرية (61-80) سنة عند نفس الطراز الجيني وبنسبة 14(23.3%) ، ومن خلال النتائج الخاصة بالتحليل الاحصائي يتضح عدم وجود فروقات معنوية بين فئات الطرز الجينية بين المرضى والاصحاء باستثناء الفئة العمرية (41-60) سنة فأنها اظهرت فروقات معنوية بين الطرز الجينية للمرضى والاصحاء وكذلك ظهرت اختلافات عالية المعنوية بين الفئات العمرية للمرضى في الطرازين الجينيين GG و TG . اظهرت دراسة الباحثان [44] ان اختلاف توزيع الطرز الجينية في جين MDM2 T309G يرتبط مع العمر ، وخصوصا في الفئة العمرية 60 سنة، في حين اوضحت دراسة [45] الى ان الفئات العمرية الصغيرة وبالتحديد الشباب هم الاكثر عرضة للإصابة بسرطانات الخلايا البولية وهم الاكثر تغيرات جينية عدائية [46]، وهذا يختلف مع نتائج الدراسة الحالية التي اظهرت ان الفئتين العمريتين 41-60 و 61-80 سنة هي الاعلى اصابة بين باقي الفئات وكذلك اظهرت اختلافات بين الطرز الجينية بين المرضى والاصحاء.

جدول (6) علاقة المرضى والاصحاء بالعمر حسب التعدد الشكلي الجيني

المعنوية	Genotype الطراز الجيني							الفئات العمرية	الجينات
	اصحاء			مرضى					
	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	العدد		
0.31	3	4	3	0	4	2	العدد	اقل من 41 سنة	P53 gene codons 72 polymorphism
	7.5	10	7.5	0	6.7	3.3	%		
0.49	4	8	2	2	12	3	العدد	60-41 سنة	
	10	20	5	3.3	20	5	%		
0.02	4	3	2	2	19	8	العدد	80-61 سنة	
	10	7.5	5	3.3	31.7	13.3	%		
0.04	1	3	3	0	8	0	العدد	81 فاكثر سنة	
	2.5	7.5	7.5	0	13.3	0	%		
	0.57	0.29	0.94	1.00	0.01	0.09		المعنوية	
	CC	AC	AA	CC	AC	AA			
0.38	0	3	7	1	2	3	العدد	اقل من 41 سنة	MTHFR A1298C Polymorphism
	0	7.5	17.5	1.7	3.3	5	%		
0.45	0	10	4	1	9	7	العدد	60-41 سنة	
	0	25	10	1.7	15	11.7	%		
0.14	1	6	2	0	17	12	العدد	80-61 سنة	
	2.5	15	5	0	28.3	20	%		
0.25	0	3	4	0	6	2	العدد	81 فاكثر سنة	
	0	7.5	10	0	10	3.3	%		
	1.00	0.11	0.39	1.00	0.00	0.02		المعنوية	
	TT	CT	CC	TT	CT	CC			
0.73	1	6	3	0	4	2	العدد	اقل من 41 سنة	MTHFR C677T Polymorphism
	2.5	15	7.5	0	6.7	3.3	%		
0.13	3	5	6	0	8	9	العدد	60-41 سنة	
	7.5	12.5	15	0	13.3	15	%		
0.19	1	4	4	0	14	15	العدد	80-61 سنة	
	2.5	10	10	0	23.3	25	%		
0.99	1	5	1	1	6	1	العدد	81 فاكثر سنة	
	2.5	12.5	2.5	1.7	10	1.7	%		
	0.57	0.94	0.29	1.00	0.07	0.00		المعنوية	
	TT	TG	GG	TT	TG	GG			
0.84	1	8	1	1	4	1	العدد	اقل من 41 سنة	MDM2 T309G Polymorphism
	2.5	20	2.5	1.7	6.7	1.7	%		
0.00	8	4	2	0	15	2	العدد	60-41 سنة	
	20	10	5	0	25	3.3	%		
0.93	4	4	1	4	14	11	العدد	80-61 سنة	
	10	10	2.5	6.7	23.3	18.3	%		
0.62	2	3	2	1	3	4	العدد	81 فاكثر سنة	
	5	7.5	5	1.7	5	6.7	%		
	0.05	0.38	0.88	0.22	0.00	0.00		المعنوية	

اما بخصوص الجنس فيعتبر عوامل الخطورة والتي لها ارتباط مع الطرز الجينية ومن خلال دراسة نتائج الجدول (7) الذي يبين علاقة العينات المرضى والاصحاء بالجنس حسب الطرز الجينية والتعدد الشكلي الجيني يتضح انه في جين P53 gene codons 72 المرضى الذكور والاناث هم اعلى نسبة اصابة في الطراز الجيني Arg/ Pro حيث بلغت 38(63%) و 5(8.3%) على التوالي. اما في الاصحاء فكانت اعلى نسبة اصابة من الذكور والاناث في الطراز الجيني Arg/ Pro حيث بلغت 11(27.5%) و 7(17.5%) على التوالي، ومن خلال النتائج الاحصائية يتضح انه لا توجد فروقات دالة معنوية بين اناث المرضى والاصحاء بالنسبة للطرز الجينية الانفة الذكر بينما وجدت فروقات دالة معنوية بين الذكور المرضى والاصحاء بين جميع الطرز الجينية، كما واطهر الطراز الجيني Arg/ Arg فروقات دالة معنوية بين الذكور والاناث ضمن المرضى وضمن الاصحاء. . يعد الجنس من المؤشرات المهمة في سرطان المثانة وهو احد عوامل الخطورة، حيث يعتبر الرجال الاكثر اصابة من النساء، حيث اشار [17] الى ان الذكور يصابون بنسبة 82% والنساء بنسبة 70% في حين اختلفت دراسة [18] والتي اشارت الى ان التعدد الشكلي P53codons72 ليس له أي علاقة بحدوث سرطان المثانة ولا يعتبر كمؤشر لحدوث الاصابة بين الرجال والنساء، وهذا مطابق لنتائج الدراسة الحالية، وان الاشخاص الحاملين للطراز الجيني Pro/Pro هم اكثر عرضة للاصابة بسرطان المثانة بالنسبة للجنس وهذا عكس نتائج الدراسة الحالية التي تظهر ان الطراز الجيني Pro/Pro ليس له أي علاقة مع سرطان المثانة في الرجال والنساء.

واوضح الجدول (7) علاقة التعدد الشكلي لجين MTHFR A1298C مع الجنس حيث ان اعلى نسبة اصابة 33(63.3%) 3(5%) سجلت في الذكور والاناث المرضى في الطراز الجيني AC، اما في الاصحاء فان اعلى نسبة سجلت في الطراز الجيني AC اذ بلغت في الذكور 12(30.5%) وفي الاناث كانت النسبة 10(25%)، وان النتائج الاحصائية تشير الى ان عدم وجود علاقة معنوية بين الذكور والاناث بشكل عام، ولكن ظهرت فروقات عالية المعنوية بين المرضى الذكور والاناث في الطراز الجيني AA وAC بينما لم يظهر الطراز الجيني CC اي فرق معنوي بين الذكور والاناث المرضى، كما واطهر الاصحاء فروقات دالة معنوية بين الذكور والاناث في الطراز الجيني AA ولم يظهر الطرازين الجينيين الاخرين أي فرق معنوي يذكر بين الذكور والاناث. اما في مما يخص التعدد الشكلي في جين MTHFR C677T فان الاناث والذكور الاصحاء ذو الطرز الجيني CT قد سجلا اعلى نسبة 11(27.5%) و 9(22.5%) على التوالي، اما في المرضى فقد سجل الطراز الجيني CT اعلى نسب اصابة في الذكور والاناث اذ بلغت 28(46.7%) و 4(6.7%) على التوالي، ومن خلال النتائج الاحصائية نلاحظ انه لا توجد فروقات دالة معنوية بين اناث الاصحاء والمرضى، بينما نجد فروقات عالية المعنوية بين المرضى الذكور والاناث وخصوصا مع الطرازين الجينيين CC وCT كما وظهرت ايضا فروقات دالة معنوية بين ذكور واناث الاصحاء مع الطراز الجيني CC. يعتبر الجنس من عوامل الخطورة المهمة المتميزة في سرطان المثانة، وتشير دراسة [19] الى ان جين MTHFR يشفر أنزيم MTHFR الذي يلعب دور مهم في

مثيلة الDNA ودورة الفوليت اللذان يشتركان في تنظيم عملية تكوين النطف spermatogenesis وبناء الDNA وان أي خلل في هذا الجين يؤثر في الخصوبة وعلى عملية تكوين النطف وقلة الحيامن، اما في النساء فانه يسبب العقم وتكيس المبايض وامراض اخرى، بينما اشارت الدراسات الى ان التعدد الشكلي MTHFR C677T يؤثر على الرجال والنساء بصورة متساوية [20] وهذا مخالف لنتائج الدراسة الحالية التي اظهرت اختلاف معنوي في الطراز الجيني CT بين الذكور والاناث كما وظهرت تلك الفروقات بين الطرز الجينية في ذكور المرضى والاصحاء. وبين الجدول (7) ايضا علاقة التعدد الشكلي والطرز الجينية في جين MDM2 T309G مع الجنس، ان الطراز الجيني TG سجل اعلى نسبة في الذكور وبلغت 31(51.7%) وسجل اعلى نسبة في الاناث وبلغت 5(8.3%)، وفي الاصحاء ساد الطراز الجيني TG في الاناث والذكور وبنسب 7(17.5%) و 12(30%) على التوالي، وان النتائج الاحصائية تظهر عدم وجود فروقات احصائية بين الذكور المرضى والاصحاء واناث المرضى والاصحاء بشكل عام مع الطرز الجينية، بينما ظهرت فروقات عالية المعنوية بين المرضى في الطراز الجيني TG و GG ولم تظهر فروقات دالة معنوية في TT وكذلك لم توجد أي فروقات تذكر بين الطرز الجينية الخاصة بالاصحاء، تحدث اغلب حالات الاصابة بسرطان المثانة في الذكور بأوروبا وشمال أفريقيا وشمال امريكا [21]، وان النتائج التي توصل اليها [22] اوضحت ان النساء هن الاكثر اصابة بسرطانات الجهاز البولي من الذكور وأشار كذلك الى وجود ارتباط مؤثر بين الاستروجين وبين الطراز الجيني GG، حيث يحث الاستروجين على زيادة استنساخ MDM2 كما انه يرتبط مع MDM2 SNP309 وهذا الارتباط يكون مع عامل الاستنساخ Sp1 وهذا يؤثر على الطراز الجيني GG ويجعله محفز لتكوين السرطان ولذلك النساء هن الاكثر اصابة من الرجال وهذا لم يطابق نتائج الدراسة التي اظهرت عدم وجود أي تأثير لهذا الجين بتعدده الشكلي على الاصابة بسرطان المثانة، كما وبينت نتائج الدراسة ايضا الى ان الذكور هم الاعلى نسب اصابة من الاناث.

جدول (7) علاقة العينات المرضى والاصحاء بالجنس حسب التعدد الشكلي الجيني

المعنوية	الطرز الجيني Genotype							الجنس	الجينات
	اصحاء			مرضى					
	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	Arg/Arg		
0.64	3	7	4	1	5	1	العدد	انثى	P53 gene codons 72 polymorphism
	7.5	17.5	10	1.7	8.3	1.7	%		
0.00	9	11	6	3	38	12	العدد	ذكر	
	22.5	27.5	15	5	63.3	20	%		
	0.08	0.53	0.00	0.35	0.32	0.00			المعنوية
	CC	AC	AA	CC	AC	AA			
0.20	0	10	4	0	3	4	العدد	انثى	MTHFR A1298C Polymorphism
	0	25	10	0	5	6.7	%		
0.57	1	12	13	2	31	20	العدد	ذكر	
	2.5	30	32.5	3.3	51.7	33.3	%		
	1.00	0.67	0.03	0.89	0.00	0.00			المعنوية
	TT	CT	CC	TT	CT	CC			
0.30	1	11	2	0	4	3	العدد	انثى	MTHFR C677T Polymorphism
	2.5	27.5	5	0	6.7	5	%		
0.02	5	9	12	1	28	24	العدد	ذكر	
	12.5	22.5	30	1.7	46.7	40	%		
	0.10	0.66	0.01	1.00	0.00	0.00			المعنوية
	TT	TG	GG	TT	TG	GG			
0.57	6	7	1	0	5	2	العدد	انثى	MDM2 T309G Polymorphism
	15	17.5	2.5	0	8.3	3.3	%		
0.50	9	12	5	6	31	16	العدد	ذكر	
	22.5	30	12.5	10	51.7	26.7	%		
	0.44	0.25	0.10	0.04	0.00	0.00			المعنوية

يعتبر السكن من العوامل الخطرة للإصابة بسرطان المثانة ويتضح من النتائج الواردة في الجدول (8) والخاص بعلاقة المرضى والاصحاء بالسكن حسب التعدد الشكلي الجيني ان اعلى نسبة بلغت 3(5%) من المرضى الساكنين الريف ظهرت في الطرازين الجينيين Arg/Arg و Arg/Pro في جين ال P53 codon 72 ، في حين سجل المرضى الساكنين في الحضر اعلى نسبة 40(66.7%) في الطراز الجيني Arg/Pro. اما في الاصحاء فقد سجلت اعلى نسبة 7(17.5%) في اصحاء الريف ذو الطراز الجيني ، بينما سجلت اعلى نسبة 11(27.5%) لدى الساكنين في الحضر مع الطراز الجيني Arg/Pro Arg/Pro، واطهرت نتائج التحليل الاحصائي الى عدم وجود فروقات معنوية بين المرضى والاصحاء من سكنة الريف ، بينما كانت هناك فروقات عالية المعنوية بين المرضى والاصحاء الساكنين في الحضر، وقد اظهر الطراز الجيني Arg/Pro فروقات عالية المعنوية بين المرضى الساكنين الريف والحضر، في حين لم تسجل الطرز الجينية الاخرى اي دلالات معنوية بين الساكنين في الريف والحضر لمجموعتي المرضى والاصحاء وهذا يؤشر الى وجود علاقة معنوية بين الطراز الجيني Arg/Pro والسكن في مناطق الحضر. يختلف توزيع الطرز الجينية في التعدد الشكلي P53 codons 72 باختلاف المناطق الجغرافية في العالم، ففي دراسة للباحث [35] اشار الى انخفاض خطر الإصابة بسرطان المثانة بين الاسيويين مع ظهور احد الطرز الجينية (Arg/Arg, Pro/Pro) بينما يرتفع خطر الإصابة في الطرز الجينية الثلاث (Arg/Pro, Pro/Pro, Arg/Arg) كما وتعلب العوامل البيئية دورا فعالا في التفاعل مع الجينات والتأثير على عملها. اما في بولندا فقد ظهرت جميع الطرز الجينية لكنها اكثرها نسبة وأخطرها ارتبط مع الطراز الجيني Arg/Arg [12]، اما نتائج دراستنا فقد اظهرت اختلاف في توزيع نسب الطرز الجينية مع ظهور جميع الطرز ولكن لم تسجل الطرز اي اختلاف بين مناطق السكن في الريف والمدينة، باستثناء الطرز الجيني Arg/Pro

الذي اختلف بين مرضى الساكنين الريف والساكنين مركز المدينة. تلعب بعض العوامل مثل المؤثرات الوراثية والبيئية ونمط الحياة دورا كبيرا في تطور المرض ([36]. كما اشارت نتائج الجدول (8) الى وجود اختلاف بين نسب الساكنين في الريف عن الحضر في مجموعتي المرضى والاصحاء في التعدد الشكلي لجين MTHFR A1298C اذ كانت بأعلى نسبة 14(35%) في الطراز الجيني AC في اصحاء الحضر ، اما في اصحاء الريف فابرز الطراز الجيني AA بأعلى نسبة بلغت 9(22.5) ثم تلاه الطراز الجيني AC 8(20%) ، وفي المرضى سجل مرضى الحضر والريف اعلى نسبة في الطراز الجيني AC وبلغت 30(50%) و 4(6.7%) على التوالي، اما من الناحية الاحصائية فلم تظهر اي فروقات معنوية بين المرضى والاصحاء في الريف والحضر ولكن ظهر اختلاف عالي المعنوية بين مرضى الريف والحضر في الطرازين الجينين AA و AC.

اما بالنسبة للتعدد الشكلي لجين MTHFR C677T فنلاحظ من خلال النتائج المثبتة في الجدول (8) ان الطراز الجيني CT قد سجل اعلى نسبة 5(8.3%) في المرضى من سكنة الريف ، اما مرضى الحضر فابرز الطراز CT بأعلى نسبة 27(45%) ، اما في الاصحاء فسجل الاصحاء الساكنين في الريف نسبة اعلى 11(27.5%) من الحضر 9(22.5%) في الطراز الجيني CT ونلاحظ من خلال النتائج الاحصائية الى عدم وجود علاقة معنوية بين الطرز الجينية مع مرضى واصحاء الريف، بينما ظهرت فروقات عالية المعنوية بين مرضى واصحاء الحضر وظهرت نفس الاختلافات كذلك بين المرضى ذاتهم ضمن الحضر والريف في الطرازين الجينين CC و CT. مما يعكس علاقة معنوية بين هذين الطرازين الجينين CC و CT والمرضى المصابين بسرطان المثانة البولية الانتقالي الساكنين في مناطق الحضر(مركز المدينة). تعد العوامل البيئية احد عوامل الخطورة للإصابة بسرطان المثانة ، ويختلف توزيع التعدد الشكلي A1298C ، MTHFR C677T باختلاف المناطق الجغرافية والمجاميع العراقية وخصوصا التعدد الشكلي C677T فمثلا وجد ان الاليل CT هو الاكثر ظهورا في شمال الهند وبنسبة 16.7(%) في حين نجد نسبته في شرق الهند 1.1(%) [34] كما ان الاليل T هو الاقل ظهورا بين المجاميع القبلية ويعزى ذلك الى قلة الفوليت وذلك لان مجاميع كثيرة في الهند يكون غذائهم نباتي وهذا يشير الى انخفاض في فيتامين B12 بينما نجد ان هذا الاليل في امريكا الاكثر ظهورا بسبب التنوع الغذائي والعوامل الاقتصادية وخصوصا حامض الفوليك وفيتامين B12 ، و اشار [37] الى ان التعددين الشكليين A1298C و MTHFR C677T قد ظهرا بشكل مختلف في الصين ، وان التعدد الشكلي A1298C المتباين الزيجة يظهر بشكل مختلف من قارة الى اخرى حيث ان الاليل C يظهر بنسبة 18(70%) في شرق اسيا، وبنسبة 17-44% في اسيا، وفي اوروبا 24-40% ، وفي جنوب امريكا 15% اما في شمالها فيظهر بنسبة 14.7% . ويتضح من خلال نتائج الجدول(8) ان اعلى نسبة في الاصحاء من الساكنين في الريف والحضر قد سجلت في الطراز الجيني TG في التعدد الشكلي لجين T309G MDM2 حيث بلغت 9(22.5%) و 10(25%) على التوالي، وفي المرضى فقد سجل الطراز الجيني TG ايضا اعلى نسبة في الحضر والريف وبنسبة 30(50%) و 6(10%) على التوالي، ونستدل من النتائج الاحصائية الى عدم وجود اختلافات معنوية بين المرضى والاصحاء ساكني الريف والحضر ، في حين ظهرت فروقات دالة معنوية مع الطرز الجينية GG و TG بين مرضى الريف والحضر، مما يدل على وجود ارتباط معنوي بين الطرازين الجينين GG و TG والسكن في مناطق الحضر(مركز المدينة) للمرضى المصابين بسرطان المثانة البولية الانتقالي. يختلف الاستعداد للإصابة بمرض سرطان المثانة من دولة واخرى وبين مراكز المدن وريفها، ونتائج الدراسة الحالية مطابقة لما وجدته [16]والذي اشار في دراسته الى اختلاف توزيع الطرز الجينية وعدم ظهورها في كل الناس واختلاف ظهورها في اسيا والقوقازيين بسبب العرق والرقعة الجغرافية اما في دراستنا فنجد تطابق مع الدراستين المذكورتين من حيث عدم وجود ارتباط بين الإصابة بسرطان المثانة وبين التعدد الشكلي MDM2 SNP309 T>G ولكن هناك اختلاف في توزيع الطرز الجينية بين مركز المدينة وريفها مع تصدر الطراز الجيني TG اعلى النسب في المرضى والاصحاء ثم ظهور الطراز الجيني GG بنسبة اعلى في مرضى المدينة بالمقارنة مع ريفها وظهور الطراز الجيني TT في اصحاء المدينة بنسبة اعلى من الطراز الجيني، وهذا يشير الى اختلاف توزيع الطرز الجينية بين المدن وكذلك بين الدول والقارات مع اختلاف توزيعها ضمن القارة .

جدول (8) علاقة المرضى والاصحاء بالسكن حسب التعدد الشكلي الجيني

المعنوية	الطراز الجيني Genotype							السكن	الجينات
	اصحاء				مرضى				
	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	العدد		
0.696	5	7	5	1	3	3	العدد	ريف	P53 gene codons 72 polymorphism
	12.5	17.5	12.5	1.7	5	5	%		
0.009	7	11	5	3	40	10	العدد	حضر	
	17.5	27.5	12.5	5	66.7	16.7	%		
	0.564	0.346	1.000	0.317	0.000	0.052			المعنوية
	CC	AC	AA	CC	AC	AA			
0.653	0	8	9	0	4	3	العدد	ريف	MTHFR A1298C Polymorphism
	0	20	22.5	0	6.7	5	%		
0.920	1	14	8	2	30	21	العدد	حضر	

	2.5	35	20	3.3	50	35	%		
	1.000	0.201	0.808	0.890	0.000	0.000			المعنوية
	TT	CT	CC	TT	CT	CC			
0.750	0	11	6	0	5	2	العدد	ريف	MTHFR MTHFR C677T Polymorphism
	0	27.5	15	0	8.3	3.3	%		
0.004	6	9	8	1	27	25	العدد	حضر	
	15	22.5	20	1.7	45	41.7	%		
	0.040	0.655	0.593	1.000	0.000	0.000			المعنوية
	TT	TG	GG	TT	TG	GG			
0.125	7	9	1	1	6	0	العدد	ريف	MDM2 T309G Polymorphism
	17.5	22.5	2.5	1.7	10	0	%		
0.305	8	10	5	5	30	18	العدد	حضر	
	20	25	12.5	8.3	50	30	%		
	0.796	0.819	0.102	0.102	0.000	0.000			المعنوية

من عوامل الخطورة المهمة والتي لها علاقة بحدوث سرطان المثانة التدخين فعند دراسة نتائج جدول (9) والذي يوضح علاقة المرضى والاصحاء بالتدخين حسب التعدد الشكلي الجيني للجينات المدروسة (P53 codons 72 ، MTHFR A1298C ، MTHFR C677T ، MDM2 T309G)، حيث يتضح ان اعلى نسبة في جين P53 codons 72 في المرضى المدخنين وغير المدخنين كانت في الطراز الجيني Arg/ Pro وبلغت 41(68.3%) و 2(3.3%) على التوالي . اما في مجموعة الاصحاء فقد وجد ان الطراز الجيني Arg/ Pro قد سجل نسبة مرتفعة عند غير المدخنين اذ بلغت 16(40%) ، بينما سجلت اعلى نسبة 3(7.5%) عند المدخنين في الطراز الجيني Arg/ Arg ، ومن خلال النتائج الاحصائية يتضح عدم ظهور علاقة معنوية بين المدخنين وغير المدخنين في الطرز الجينية Arg/ Arg و Arg/ Pro و Pro/ Pro بين المرضى والاصحاء ، ولكن ظهرت فروقات دالة معنوية بين الاصحاء في الطرازين الجينيين Arg/ Pro و Pro/ Pro في حين لم يظهر الطراز الجيني Arg/ Arg أي علاقة مع التدخين. اما في المرضى فلم تظهر أي علاقة معنوية مع الطرازين الجينيين Arg/ Arg و Pro/ Pro في المدخنين، بينما ظهرت علاقة دالة معنوية فقط مع الطراز الجيني Arg/ Pro في المرضى المدخنين .

تلعب عوامل الخطورة دورا كبيرا في زيادة الاستعداد للإصابة بسرطان المثانة ومن هذه العوامل التدخين الحاوي على العديد من المواد المسرطنة [10] ، وتلعب هذه المواد المسرطنة دورا كبيرا ومؤثرا في احداث الطفرات في جين P53 المسببة لسرطان المثانة مما يؤدي الى احداث ضرر في ال DNA و انظمة اصلاحه(11). و اشارت دراسة قام بها [12] الى توزيع الطرز الجينية في جين P53 codons 72 حسب حالة التدخين ، حيث يظهر الطراز الجيني Arg/Pro بشكل كبير في الاصحاء الغير مدخنين. اما بالنسبة للتعدد الشكلي لجين MTHFR A1298C فقد اظهرت النتائج ان اعلى نسبة 34(56.7%) كانت نسبة المرضى المدخنين في الطراز الجيني AC ، اما غير المدخنين من المرضى فاسجل الطراز الجيني AA اعلى نسبة وبلغت 2(3.3%). اما في الاصحاء فقد برز الطراز الجيني AC عند غير المدخنين والمدخنين بنسبة عالية وبلغت 17(42.5%) و 5(12.5%) على التوالي ، وان النتائج الاحصائية تشير ان للتدخين علاقة دالة معنوية مع الطرز الجينية AA و AC في المرضى ومع AA في الاصحاء ولم يظهر الطراز الجيني CC أي معنوية مع المرضى والاصحاء وكذلك الطراز الجيني AC في الاصحاء. ولم تظهر فروقات احصائية بين المرضى والاصحاء المدخنين وغير المدخنين. وفيما يخص التعدد الشكلي في جين MTHFR C677T فان الطراز الجيني CT مع المرضى المدخنين سجل اعلى نسبة 31(51.7%) بينما ظهر باقل نسبة في الطرازين الجينيين CT و CC 1(1.7%) في المرضى غير المدخنين ، اما في الاصحاء فظهر الطراز الجيني CT في الاصحاء غير المدخنين والمدخنين بنسب اعلى 17(42.5%) و 3(7.5%) وتظهر النتائج الاحصائية ظهور فروقات دالة معنوية بين المرضى المدخنين والغير مدخنين بين الطرز الجينية ماعدا الطراز الجيني TT فظهر علاقة غير معنوية مع التدخين ، وكذلك ظهرت علاقة فروقات معنوية مع الطرازين الجينيين CT و CC بين المرضى المدخنين وغير المدخنين وكذلك الاصحاء، في حين لم تظهر أي علاقة معنوية مع TT.

يحتوي دخان السكاثر على العديد من العوامل المؤكسدة والجذور الحرة وان التعرض لدخان السكاثر يرتبط مع قلة الفوليت وفيتامين B12 ومضادات الاكسدة والتي تلعب دور مهم في سرطان المثانة ، كما و اوضحت دراسة [13] عدم وجود أي علاقة بين الاصابة بسرطان المثانة وبين التعددين الشكليين في جين MTHFR في حين اشارت دراسة (14) الى وجود علاقة قوية بين هذا الجين بتعددية الشكليين وبين سرطان المثانة. يظهر من خلال نتائج الجدول (1) ان المدخنين وغير المدخنين المرضى ظهوروا بأعلى نسبة مع الطراز الجيني TG ومقدرها 34(56.7%) و 2(3.3%) على التوالي ، اما فيما يخص الاصحاء فسجل غير المدخنين في الطراز TG والطراز TT اعلى نسبة وبلغت 15(37.5%) ، وسجلت اعلى نسبة 4(10%) في الطراز الجيني TG لدى المدخنين ، و اشارت النتائج الاحصائية ظهور فروقات دالة معنوية بين المرضى المدخنين وغير المدخنين وخصوصا في

الطرازين الجينيين TG و GG، أما في الاصحاء فإظهار الطراز الجيني TT اختلافات دالة معنوية بين المدخنين وغير المدخنين ولم يظهر الطرازين الآخرين أي فروقات معنوية ، كما ولم تختلف الطرز الجينية من الناحية الاحصائية ضمن المرضى والاصحاء الغير المدخنين و المدخنين. يعد التدخين من اهم عوامل الخطورة القوية المرتبطة مع خطر الإصابة بسرطان المثانة حيث يزيد دخان السكائر خطر الإصابة بسرطان الجهاز البولي بثلاثة اضعاف [15] ، وأشار [16] في دراسته الى عدم وجود اي علاقة بين MDM2 T309G Polymorphism وبين التدخين من حيث الإصابة بسرطان المثانة، وأوضح كذلك الى عدم وجود اي علاقة معنوية بين الطرز الجينية وبين التدخين وهذا لم يتفق مع نتائج الدراسة الحالية التي اشارت الى وجود علاقة بين بعض الطرز الجينية TG و GG في المرضى، والطراز T/T في الاصحاء وبين التدخين.

جدول (9) علاقة المرضى والاصحاء بالتدخين حسب التعدد الشكلي الجيني

المعنوية	الطراز الجيني Genotype							مستويات التدخين	الجينات
	اصحاء			مرضى					
0.35	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	العدد	غير مدخن	P53 gene codons 72 polymorphism
	11	16	7	0	2	0	%		
	27.5	40	17.5	0	3.3	0	%		
0.18	1	2	3	4	41	13	العدد	مدخن	
	2.5	5	7.5	6.7	68.3	21.7	%		
	0.004	0.001	0.206	0.2	0.000	0.2			
0.35	CC	AC	AA	CC	AC	AA	العدد	غير مدخن	MTHFR A1298C Polymorphism
	1	17	16	0	0	2	%		
	2.5	42.5	40	0	0	3.3	%		
0.49	0	5	1	2	34	22	العدد	مدخن	
	0	12.5	2.5	3.3	56.7	36.7	%		
	0.2	0.010	0.000	0.2	0.000	0.000			
0.86	TT	CT	CC	TT	CT	CC	العدد	غير مدخن	MTHFR C677T Polymorphism
	4	17	13	0	1	1	%		
	10	42.5	32.5	0	1.7	1.7	%		
0.00	2	3	1	1	31	26	العدد	مدخن	
	5	7.5%	2.5	1.7	51.7	43.3	%		
	0.410	0.002	0.001	0.2	0.000	0.000			
0.31	TT	TG	GG	TT	TG	GG	العدد	غير مدخن	MDM2 T309G Polymorphism
	15	15	4	0	2	0	%		
	37.5	37.5	10	0	3.3	0	%		
0.12	0	0	2	6	34	18	العدد	مدخن	
	0	0	5	10	56.7	30	%		
	0.000	0.012	0.041	0.0400	0.000	0.000			

تعتبر دراسة عامل التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان من عوامل الخطورة المهمة فعند استعراض نتائج جدول (10) والخاص بإيضاح علاقة التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان مع جينات الدراسة وطرزها الجينية وتعدد أشكالها الجيني نجد ان أعلى نسبة عند المرضى في جين P53 gene codons 72 الذين لا يوجد لديهم اي تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان كانت في الطرز الجيني Arg/ Pro وبلغت 34(56.7%) بينما بلغت نسبة المرضى الذين يملكون تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان 9(15%) عند نفس الطراز، وعلى العكس من ذلك نجد ان نسبة الاصحاء الذين يملكون تاريخ عائلي للإصابة كانت مرتفعة وبلغت 15(37.5%) في الطراز الجيني Arg/ Pro بينما ظهرت بنسب متساوية 3(7.5%) عند الطرازين الجينيين Arg/Arg و Arg/ Pro في الاصحاء الخاليين من اي تاريخ عائلي مع السرطان، ومن خلال النتائج الاحصائية نستدل على عدم وجود علاقة في الطرز الجينية بين المرضى وبين الاصحاء الذين يملكون تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان من عدم امتلاكه ولكن ظهرت فروقات عالية المعنوية في الطرز الجينية Arg/ Arg و Arg/ Pro بين المرضى الذين لديهم تاريخ عائلي للسرطان من عدمه وكذلك ظهرت نفس الفروقات في الاصحاء في الطرازين الجينيين Arg/ Pro و Pro / Pro .

تعد وراثة السرطان احد وابرز عوامل الخطورة ، واشارت دراسة [38] ان الاشخاص ذو التاريخ العائلي هم اكثر الاشخاص المتأهين وذو الاستجابة العالية للإصابة بسرطان المثانة في المستقبل ، كما يمكن معرفة التغيرات الحاصلة في جينات سرطان المثانة ومدى الاستجابة للعلاج الكيميائي، واطهرت دراسة [39] زيادة في مضاعفة تعبير جين MDM2 بحوالي 8 مرات وسرعة في تكوين الاورام عند الاشخاص المتوارثين للطفرات في جين p53 . واطهرت نتائج الجدول (10) ان هناك اختلاف نسبي بين المرضى والاصحاء الذين لا يملكون تاريخ عائلي للسرطان في التعدد الشكلي لجين MTHFR A1298C اذ بلغت أعلى نسبة 26(43.3%) في الطراز الجيني AC في المرضى الذين لا يملكون اي تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان مقابل أعلى نسبة 8(13.3%) في المرضى الذين يملكون تاريخ للإصابة بالسرطان عند نفس الطراز الجيني ، اما في الاصحاء فأسجلت أعلى نسب في الاشخاص الذين يملكون تاريخ والاشخاص الذين لا يملكون أي تاريخ عائلي في الطراز الجيني AC وبلغت 17(42.5%) و 5(12.5%) على التوالي ، وقد اظهر التحليل الاحصائي عدم وجود فروقات معنوية بين المرضى والاصحاء ذو التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان من عدمه ، بينما ظهرت اختلافات عالية المعنوية ضمن المرضى والاصحاء في الطرز الجينية AA و AC . وفيما يخص نتائج التعدد الشكلي في جين MTHFR C677T فنلاحظ في الجدول (10) ان المرضى الذين لا يملكون أي تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان والمرضى الذين يملكون تاريخ عائلي للسرطان ظهورا بأعلى نسبة 25(41.7%) و 7(11.7%) في الطراز الجيني CT ، اما في الاصحاء فكانت أعلى نسبة 3(7.5%) ممن لا يملكون أي تاريخ عائلي مع السرطان في الاشخاص ذو الطراز الجيني CT بينما مثلت أعلى نسبة 17(42.5%) الاشخاص ذو الطراز الجيني CT والذين يملكون تاريخ وراثي للإصابة بالسرطان وتبين من خلال التحليل الاحصائي الى عدم وجود علاقة معنوية بين الطرز الجينية للمرضى والاصحاء ذو التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان ، في حين ظهرت فروقات عالية المعنوية بين الطرز الجينية في المرضى والاصحاء الذين لا يملكون أي تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان وظهرت نفس الفروقات ضمن المرضى والاصحاء في الطرز الجينية CC و CT . اشارت دراسة [40] الى ان هناك ارتباط بين التعددين الشكليين C677T و MTHFR A1298C وبين خطر الاصابة بسرطان المثانة في حالة وجود تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان، وان MTHFR 677*T و MTHFR A1298C* في مرضى سرطان المثانة ذو التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان يظهران بشكل مختلف ، فالطرز الجيني AC في التعدد الشكلي MTHFR 1298 المتباين الزيجة يسود في كل مرضى سرطان المثانة الانتقالي ذو التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان، كما ان MTHFR 677*T و MTHFR 1298* المتباين الزيجة يتوزعان ويظهران بشكل مختلف بين المرضى، وان MTHFR A1298C المتباين الزيجة يظهر ارتباط معنوي مع سرطان المثانة في حالة وجود تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان الانتقالي مقارنة مع MTHFR C677T الذي لم يظهر هذا الارتباط [41] وهذا مطابق لنتائج الدراسة الحالية التي اظهرت اختلافات في توزيع الطرز الجينية بين التعددين الشكليين كما وظهر الطرز الجيني AC في التعدد الشكلي MTHFR 1298 مع سرطان المثانة في حالة عدم وجود تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان بشكل أعلى من حالة وجود تاريخ عائلي للإصابة بالسرطان ، كما هو الحال في الطراز الجيني CT في التعدد الشكلي MTHFR C677T الذي ظهر ايضا بشكل مرتفع مع مرضى سرطان المثانة الذين لا يملكون تاريخ عائلي للمرض وان الطرازين الجينيين المذكورين في التعددين الشكليين C677T و MTHFR A1298C قد ظهرا بشكل مرتفع مع الاصحاء ذو التاريخ العائلي للمرض . ويتضح من خلال الجدول (10) ان مرضى الطراز الجيني TG في التعدد الشكلي MDM2 T309G الذين لا يوجد لديهم تاريخ عائلي قد ظهوروا بأعلى نسبة 30(50%) وظهرت أعلى نسبة 6(10%) في المرضى الذين يملكون تاريخ عائلي عند نفس الطراز الجيني ، اما في الاصحاء فابرز الطراز الجيني TG بأعلى نسبة في الاشخاص الذين يملكون تاريخ عائلي وبلغت 15(37.5%) ثم تلاه الطراز الجيني TT بنسبة 14(35%) ، اما الاشخاص الذين لا يملكون أي تاريخ للإصابة بالسرطان فابرز الطراز الجيني TG بأعلى نسبة 4(10%) ، ومن خلال النتائج الاحصائية يتضح عدم وجود فروقات احصائية بين طرز المرضى والاصحاء ذو التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان والذين لا يملكون أي تاريخ وراثي للإصابة بالسرطان، في حين ظهرت فروقات عالية المعنوية بين المرضى وبين الاصحاء في الطرازين الجينيين GG و TG في المرضى و TG و TT في الاصحاء . يتضاعف خطر الاصابة بسرطان المثانة بمرتين في حالة وجود تاريخ وراثي للمرض [42] كما ان الاشخاص ذو التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان يمكن التكهون باصابتهم بالمستقبل ، واوضحت الدراسة ايضا ان خطر الاصابة بسرطان المثانة يزداد بحوالي ضعفين في الاشخاص ذو التاريخ العائلي للإصابة بالسرطان ولديهم استعداد للتغيرات الجينية ومنها التغيير في جين MDM2 الذي يلعب دور في حدوث سرطان المثانة، وهذا ما اشارت اليه نتائج الدراسة التي بينت وجود اختلافات بين الطرز الجينية في حالة وجود التاريخ العائلي لمرض السرطان من عدمه .

جدول (10) علاقة المرضى والاصحاء بالتاريخ العائلي للمرض حسب التعدد الشكلي الجيني

المعنوية	الطرز الجيني genotype							التاريخ العائلي	الجينات
	اصحاء			مرضى					
	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	Pro/Pro	Arg/Pro	Arg/Arg	Arg/Arg		
0.33	1	3	3	3	34	11	العدد	لا يوجد تاريخ عائلي	P53 gene codons 72 polymorphism
	2.5	7.5	7.5	5	56.7	18.3	%		
0.17	11	15	7	1	9	2	العدد	يوجد تاريخ عائلي	
	27.5	37.5	17.5	1.7	15	3.3	%		
	0.00	0.01	0.21	0.32	0.00	0.01		المعنوية	
	CC	AC	AA	CC	AC	AA			
0.65	0	5	2	2	26	20	العدد	لا يوجد تاريخ عائلي	MTHFR A1298C Polymorphism
	0	12.5	5	3.3	43.3	33.3	%		
0.60	1	17	15	0	8	4	العدد	يوجد تاريخ عائلي	
	2.5	42.5	37.5	0	13.3	6.7	%		
	1.00	0.01	0.00	0.89	0.00	0.00		المعنوية	
	TT	CT	CC	TT	CT	CC			
0.02	2	3	2	1	25	22	العدد	لا يوجد تاريخ عائلي	MTHFR MTHFR C677T Polymorphism
	5	7.5	5	1.7	41.7	36.7	%		
0.45	4	17	12	0	7	5	العدد	يوجد تاريخ عائلي	
	10	42.5	30	0	11.7	8.3	%		
	0.41	0.00	0.01	1.00	0.00	0.00		المعنوية	
	TT	TG	GG	TT	TG	GG			
0.24	1	4	2	4	30	14	العدد	لا يوجد تاريخ عائلي	MDM2 T309G Polymorphism
	2.5	10	5	6.7	50	23.3	%		
0.84	14	15	4	2	6	4	العدد	يوجد تاريخ عائلي	
	35	37.5	10	3.3	10	6.7	%		
	0.00	0.01	0.41	0.41	0.00	0.02		المعنوية	

من عوامل الخطورة والتشخيصية لسرطان المثانة هي درجة المرض حيث توضح النتائج المبينة في الجدول (11) علاقة المرضى بدرجة المرض حسب التعدد الشكلي الجيني ، ان المرضى مع الطراز الجيني Arg/ Pro في جين ال P53 gene codons 72 لديهم نسبة عالية للإصابة بسرطان المثانة ذو الدرجة المنخفضة 33(55%) في حين مثل الطرازين Arg/Arg و Pro / Pro اقل نسبة 2(3.3%) عند درجة المرض المرتفعة ، وتشير النتائج الاحصائية الى وجود فروقات عالية المعنوية بين المرضى ذو الدرجة المرتفعة مع الطرازين الجينين Arg/Arg و Arg/ Pro ماعدا الطراز الجيني Pro / Pro فانه لم يظهر اي فروقات معنوية بين الدرجة المرتفعة والمنخفضة مع المرضى المصابين بسرطان المثانة البولية الانتقالي.

تعد درجة المرض من المؤشرات المهمة في تشخيص المرض وتقدمه ، ويرتبط التعدد الشكلي في جين P53 codons 72 مع درجة المرض، ويتباين توزيع الطرز الجينية حسب درجة المرض ففي دراسة [12] يتضح ان نسبة الإصابة بسرطان المثانة هي الاعلى في المرضى ذو الدرجة المرتفعة من مرضى الدرجة المنخفضة، ، بينما اختلفت دراسة [22] والتي اشارت الى عدم وجود علاقة معنوية بين الطرز الجينية المختلفة وبين درجة المرض ومرحلته ، وأشار الى ارتفاع نسب الطرازين الجينين Arg/ Pro و Pro / Pro مع مرضى الدرجة المنخفضة ولكن بصورة غير معنوية من الناحية الاحصائية ، وهذا يتفق مع نتائج الدراسة الحالية التي اظهرت اختلافات معنوية بين الدرجتين المرتفعة (المنخفضة- المرتفعة) مع الطرز الجينية. واطهر الجدول (11) ان الطراز الجيني AC في التعدد الشكلي الجيني MTHFR A1298C قد سجل اعلى نسبة 27(45%) لدرجة المرض المنخفضة بينما ظهر الطراز الجيني CC باقل نسبة 1(1.7%) عند مرضى الدرجة المرتفعة ، يتضح من المؤشرات الاحصائية ان الطرز الجينية لم تظهر دلالة معنوية في درجة المرض المرتفعة ، وعلى العكس من ذلك نلاحظ وجود علاقة دالة معنوية بين درجة المرض المنخفضة والطرز الجينية للتعدد الشكلي MTHFR A1298C. كما اظهرت نتائج التحليل الاحصائي ايضا وجود فروقات معنوية بين درجتي المرض المرتفعة والمنخفضة للطرز الجينية AA و AC مما يشير الى ارتباط هذين الطرازين الجينين مع درجة المرض المنخفضة ، في حين لم يظهر الطراز الجيني CC أي علاقة معنوية بين درجتي المرض المختلفة . اما في

التعدد الشكلي لجين MTHFR C677T فنلاحظ ان الطراز الجيني CT البارز في مرضى الدرجة المنخفضة وبنسبة بلغت 27(45%) في حين ظهر الطراز الجيني TT باقل نسبة 1(1.7%) في مرضى الدرجة المرتفعة ، وتشير النتائج الاحصائية الى عدم وجود علاقة دالة معنوية بين درجتى المرض المرتفعة والمنخفضة مع الطرز الجينية الثلاث ، بينما ظهرت علاقة دالة معنوية بين الدرجتين المرتفعة والمنخفضة في الطرازين الجينيين CC و CT ولم يظهر الطراز الجيني TT اي علاقة معنوية بين درجتى المرض. تعد درجة المرض وايضا مرحلته من المؤشرات التنبؤية المهمة في تقدم سرطان المثانة وهناك دراستان تناولت تقدم سرطان المثانة وعدائيته حيث اشار ([23] الى ان (pTa or G1+G2) هي ضمن الدرجات المنخفضة وهي اقل خطورة وان pT1 or G2B+G3+G4 ذات خطورة عالية وضمن الدرجات العالية ، في حين قسم الباحث [14] درجة الورم الى قسمين هما : درجة منخفضة (G1) او درجة مرتفعة (G2+G3) high ، و اشارت دراسة الباحث [24] الذي اعتبر درجة المرض ومرحلته من العوامل المهمة لتقدم المرض الى تصنيف الاورام الى درجة منخفضة (G1 or pTa and pT1) وهي الاكثر حدوثا، ودرجة مرتفعة (G2 and G3 or ≥ pT2) وهي مؤشر على تقدم المرض وكذلك الموت، وتظهر نتائج الباحث الى ان درجة المرض ومرحلته تعد من عوامل التكهّن بسرطان المثانة حيث ان اورام الدرجة المنخفضة (السطحية) وتشمل (G1 or pTa and pT1) تشخص بواسطة تكرار رجوعها على العكس من اورام الدرجة المرتفعة وتضم (G2 and G3 or . pT2) التي تشير الى تقدم الورم وموت المريض . وتبين من خلال نتائج الجدول (11) الى ان الطراز الجيني TG في جين T309G MDM2 قد سجل اعلى نسب الاصابة في درجة المرض المنخفضة 27(45%) بينما سجلت اقل نسبة 1(1.7%) عند الطراز الجيني TT في مرضى الدرجة المرتفعة ، وتشير النتائج الاحصائية الى عدم وجود أي علاقة دالة معنوية بين مرضى الدرجتين المرتفعة والمنخفضة في الطراز الجيني TT، بينما ظهرت فروقات دالة معنوية بين درجتى المرض وضمن نفس الدرجة في الطرازين الجينيين GG و TG. كما اظهرت النتائج الاحصائية وجود فروقات معنوية بين الطرز الجينية الثلاثة لكل من درجتى المرض المرتفعة والمنخفضة وهذه النتائج تشير الى العلاقة المهمة بين الطرز الجينية GG و TG وبين الدرجة المنخفضة للإصابة بسرطان المثانة البولية الانتقالي. يظهر لدرجة المرض تأثير على التعدد الشكلي الجيني MDM2 T309G ، و اشار [25] الى ان الاشخاص الذين يحملون الاليل G وكذلك الطراز الجيني GG هم اكثر عرضة للإصابة بسرطان المثانة ذو الدرجة المنخفضة ، وهذه النتائج اتفقت مع نتائج الباحث [26] الذي اشار الى ان التعدد الشكلي MDM2 T309G يرتبط مع درجة المرض المنخفضة في الفوقازين . بينما اوضح [27] ان 50% من سرطان المثانة والطفرات الحاصلة في جين MDM2 تعزى الى الدرجة المرتفعة ، وهذا يختلف مع نتائج الدراسة التي تشير الى ارتفاع نسب الاصابة في المرضى ذو الدرجة المنخفضة .

جدول (11) علاقة المرضى بدرجة المرض حسب التعدد الشكلي الجيني

المعنوية	الطراز الجيني Genotype				درجة المرض	الجينات	
	مرضى						
	Pro/ Pro	Arg/ Pro	Arg/ Arg	Arg/ Arg			
0.01	2	10	2	العدد	مرتفعة	P53 gene codons 72 polymorphism	
	3.3	16.7	3.3	%			
0.00	2	33	11	العدد	منخفضة		
	3.3	55	18.3	%			
				المعنوية			
				1.00	0.00	0.01	
				CC	AC	AA	
0.11	1	7	6	العدد	مرتفعة	MTHFR A1298C Polymorphism	
	1.7	11.7	10	%			
0.00	1	27	18	العدد	منخفضة		
	1.7	45	30	%			
				المعنوية			
				1.00	0.00	0.01	
				TT	CT	CC	
0.07	1	5	8	العدد	مرتفعة	MTHFR C677T Polymorphism	
	1.7	8.3	13.3	%			
0.24	0	27	19	العدد	منخفضة		
	0	45	31.7	%			
				المعنوية			
				1.00	0.00	0.03	
				TT	TG	GG	
0.03	1	9	4	العدد	مرتفعة	MDM2 T309G Polymorphis	
	1.7	15	6.7	%			
0.00	5	27	14	العدد	منخفضة		
	8.3	45	23.3	%			
				المعنوية			
				0.10	0.00	0.02	

من عوامل الخطورة المهمة الواجب تسليط الضوء عليها هي امراض المثانة الاخرى وان النتائج الموضحة في الجدول (12) والذي يبين علاقة المرضى بأمراض المثانة الاخرى حسب التعدد الشكلي الجيني تظهر علاقة التعدد الشكلي في جين P53 gene codons 72 مع امراض المثانة الاخرى، حيث ان المرضى مع الطراز الجيني Arg/Pro المصابين بأمراض المثانة الاخرى ظهوروا بأعلى نسبة 32(53.3%) في حين كانت اعلى نسبة 11(18.3%) في المرضى الذين لا توجد لديهم امراض في المثانة ولنفس الطراز الجيني Arg/ Pro ، وتبين النتائج الاحصائية الى وجود علاقة معنوية بين الطراز الجيني Arg/ Arg وبين المرضى المصابين وغير المصابين بأمراض المثانة الاخرى ، وكذلك ظهرت فروقات عالية المعنوية بين المرضى المصابين بأمراض المثانة الاخرى والمرضى الغير مصابين بأمراض المثانة الاخرى . اشارت دراسة الباحث [28] الى وجود علاقة بين الاصابة بفايروس human papillomavirus (HPV) وبين خطر الاصابة بسرطان المثانة ، حيث وجدنا [29] في بحثهما وجود فايروس (HPV) في الخلايا السرطانية الانتقالية والحشوية بنسبة 80% من كل الحالات التي فحصت في سرطان المثانة ، وقد وجد ان الافراد الحاملين للطراز الجيني Arg هم الاكثر تعرض للإصابة بهذا الفايروس الذي يساعد على تطور السرطان من الافراد المتباينين الزيجة حيث تسبب الاصابة بالعدوى الفيروسية المزمنة ضرر في ال DNA والى زيادة الاصابة بالسرطان والتأثير على وظيفة جين ال P53 . اما في التعدد الشكلي لجين MTHFR A1298C فيظهر الجدول (7) ان اعلى نسبة 28(46.7%) هم المرضى المصابين بأمراض من حملة الطراز الجيني AC ، بينما مثلت اعلى نسبة 6(10%) المرضى الخاليين من الامراض عند نفس الطراز الجيني ، وتشير المؤشرات الاحصائية الى عدم وجود فروقات معنوية بين المرضى غير المصابين بالأمراض المثانية الاخرى والمصابين بأمراض المثانة الاخرى مع الطرز الجيني AC وكذلك ظهرت نفس الفروقات المعنوية بين المرضى المصابين بأمراض اخرى في المثانة ، بينما لم تظهر أي فروقات معنوية في المرضى غير المصابين بأمراض المثانة الاخرى. ويتبين من نتائج الجدول(7) ان الطراز الجيني CT قد سجل اعلى نسبة 9(15%) في المرضى غير المصابين بأمراض اخرى في المثانة ، كما وسجلت اعلى نسبة 23(38.3%) في المرضى المصابين بأمراض مثانية اخرى مع الطرازين الجينين CC و CT ، وتشير النتائج الاحصائية الى ظهور علاقات معنوية بين الطرازين الجينين CC و CT وبين المرضى المصابين وغير المصابين بأمراض اخرى في المثانة ، كما وظهرت فروقات عالية المعنوية بين المرضى غير المصابين بأمراض المثانة الاخرى. ولكن لم تظهر فروقات معنوية بين المرضى المصابين بأمراض اخرى في المثانة وكذلك ظهرت هذه العلاقة في الطراز الجيني TT بين المرضى المصابين وغير المصابين باي مرض مثاني . واطهر الجدول (12) علاقة التعدد الشكلي في جين MDM2 T309G مع امراض المثانة الاخرى حيث سجلت اعلى نسبة 29(48.3%) في الطراز الجيني TG في المرضى المصابين بأمراض اخرى في المثانة ، بينما كانت النسبة 7(11.7%) في المرضى الغير مصابين باي مرض مثاني والحاملين لنفس الطراز الجيني ، وتشير المؤشرات الخاصة بالنتائج الاحصائية الى عدم وجود علاقة دالة معنوية بين المرضى المصابين وغير المصابين باي مرض مثاني وبين الطرازين الجينين GG و TT ، وظهرت نفس العلاقة مع المرضى غير المصابين بأمراض اخرى في المثانة، بينما اظهر الطراز الجيني TG فروقات عالية المعنوية بين المرضى المصابين وغير مصابين باي مرض مثاني اخرى ، وظهرت نفس العلاقة بين المرضى المصابين بأمراض مثانية اخرى. تعتبر الامراض التي تصيب المثانة من عوامل الخطورة والمساعدة لحدوث سرطان المثانة، مثل التهاب المجاري البولية الذي يصيب النساء اكثر من الرجال والمسبب للإصابة بسرطان المثانة في الدول النامية وكذلك التهاب المثانة والاصابة بحصوة المثانة يزيد من خطر الاصابة بسرطان المثانة [30] و اشار [31] الى ان الاصابة بالتهاب المثانة يرتبط مع سرطان الخلايا الحشوية في المثانة ، وكذلك الاصابة بالشقيقات او ما يعرف بالبلهارزيا التي تزيد من خطر الاصابة بسرطان المثانة عند الاصابة بها [32]. ان العديد من الامراض المعقدة مثل سرطان الظهارة البولية في المثانة قد يحدث بواسطة تأثير عوامل مختلفة ومنها تأثير ال SNP ، ولذلك فان معظم التغيرات الجينية الشائعة قد تكتشف بواسطة هذه ال SNP [33]. كما ان سرطان المثانة يزداد حدوثه عند اجراء عملية نقل الكلية عند المرضى الذين يعانون من مشاكل الجهاز البولي بالمقارنة مع الناس الاصحاء [34] وذلك بسبب اخذ العلاجات الكيميائية التي تضعف المناعة وكذلك بسبب الاصابة بالالتهابات الفيروسية التي تزيد من خطر الاصابة بالسرطان .

جدول (12) علاقة المرضى بأمراض المثانة الاخرى حسب التعدد الشكلي الجيني

المعنوية	الطراز الجيني Geneotype			العدد	امراض المثانة الاخرى	الجينات
	المرضى					
	Pro/ Pro	Arg/ Pro	Arg/ Arg			
0.03	0	11	3	العدد	لا يوجد	P53 gene codons 72 polymorphism
	0	18.3	5	%		
0.00	4	32	10	العدد	يوجد	
	6.7	53.3	16.7	%		
	0.60	0.00	0.05	المعنوية		
	CC	AC	AA			MTHFR A1298C Polymorphism
0.59	0	6	8	العدد	لا يوجد	
	0	10.0	13.3	%		
0.00	2	28	16	العدد	يوجد	

	3.3	46.7	26.7	%		
	0.89	0.00	0.10		المعنوية	
	TT	CT	CC			MTHFR C677T Polymorphism
0.03	1	9	4	العدد	لا يوجد	
	1.7	15	6.7	%		
1.00	0	23	23	العدد	يوجد	
	1.00	0.01	0.00		المعنوية	
	TT	GT	GG			MDM2 T309G Polymorphis
0.11	6	7	1	العدد	لا يوجد	
	10	11.7	1.7	%		
0.00	12	29	5	العدد	يوجد	
	0.16	0.00	0.10		المعنوية	

Refrance:

- 1- Kreeger, PK . ; & Lauffenburger,DA. (2010). Cancer systems biology: a network modeling perspective.
- 2- Isabelle, M.; Stone, N.; Barr, H.; Vipond, M.; Shepherd, N.; & Rogers, K. (2008). Lymph node pathology using optical spectroscopy in cancer diagnostics. Spectroscopy., 22: 97-104.
- 3- Ferlay, J.; Shin, H.R.; Bray, F.; Forman, D.; Mathers, C.; & Parkin, D.M. (2010). GLOBOCAN 2008 v2.0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide: IARC CancerBase No. 10 [Internet]., International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
- 4- Canadian cancer statistics. (2016). Canadian cancer society , Toronto , Canada
- 5- Siegel, RL.; Miller, KD.; Jemal ,A.(2016). Cancer statistics, 2016. CA: A Cancer Journal for Clinicians; 66: 7–30.
- 6- Cumberbatch, MG.; Rota, M.; Catto JWF, La.; Vecchia ,C.(2016). The role of tobacco smoke in bladder and kidney carcinogenesis: a comparison of exposures and meta-analysis of incidence and mortality risks Eur Urol;70:458–66.
- 7- Cumberbatch, MG.; Cox ,A.; Teare, D.; Catto, JW. (2015). Contemporary occupational carcinogen exposure and bladder cancer: a systematic review and meta-analysis. JAMA Oncol;1:1282–90.
- 8- Siegel, RL.; Miller ,KD.; Jemal, A.(2017). Cancer statistics. CA Cancer J Clin 67 (1):7- 30.
- 9- Tuccori, M.; Fillion, KB.; Yin ,H.; Yu, OH.; Platt, RW.; Azoulay, L.(2016). Pioglitazone use and risk of bladder cancer: population based cohort study. BMJ ;352:i1541.
- 10- Freedman, N.D.; Silverman, D.T.; Hollenbeck, A.R.; Schatzkin, A.; & Abnet, C.C. (2011). Association between smoking and risk of bladder cancer among men and women. JAMA 306, 737-745.
- 11- Wei, Q.; Cheng, L.; Amos, CI.; Wang ,LE.; Guo ,Z.; Hong ,WK; Spitz, MR.(2000). Repair of tobacco carcinogen-induced DNA adducts and lung cancer risk: a molecular epidemiologic study. J Natl Cancer Inst. 92:1764–1772. [PubMed:11058619].
- 12- Edyta, Borkowska.; Magdalena ,Traczyk.; Michał, Pietrusiński.; Józef ,Matych.; Bogdan ,Kałużewski.(2010). The significance of P53 gene codons 72 and 213 polymorphisms in urinary bladder cancer in Central Poland. Central European Journal of Urology., /63/1.
- 13- Wang, M.; Zhu, H.; Fu ,G.; Wang, M.; Zhang ,Z.; Lu ,Q.; Wang, S.; Zhang ,Z. (2009). Polymorphisms of methylenetetrahydrofolate reductase and methionine synthase genes and bladder cancer risk: a case-control study with meta-analysis. Clin Exp Med, 9, 9-19.
- 14- Safarinejad, MR.; Shafiei ,N.; Safarinejad ,S. (2010). Genetic susceptibility of methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene C677T, A1298C and G1793A polymorphisms with risk for bladder transitional cell carcinoma in men. Med Oncol.; DOI 10.1007/s12032-010-9723-9.

- 15- Corral, R.;Lewinger ,JP.; Van Den Berg. D.; Joshi, AD.; Yuan, JM.; Gago-Dominguez, M.; Cortessis, VK.; Pike, MC.; Conti, DV.; Thomas ,DC.; Edlund, CK.;Gao, YT.; Xiang, YB.; Zhang ,W.; Su, YC.; Stern, MC. (2014).Comprehensive analyses of DNA repair pathways, smoking and bladder cancer risk in Los Angeles and Shanghai. *Int J Cancer*. 135: 335.<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24382701>.
- 16- Linguo ,Xie.;Yan, Sun.; Tao, Chen1.;Dawei ,Tian.; Yujuan ,Li.;Yu Zhang.; Na ,Ding.; Zhonghua ,Shen.; Hao ,Xu.; Xuewu, Nian.; Nan, Sha.; Ruifa, Han .; Hailong, Hu.;Changli ,Wu.(2015). A ssociation between MDM2.
- 17- Volanis, D.; Kadiyska, T.; Galanis, A.; Delakas, D.; Logotheti, S.; Zoumpourlis, V. (2010). Environmental factors and genetic susceptibility promote urinary bladder cancer. *Toxicology Letters*, 193(2), 131–7 doi:10.1016/j.toxlet.2009.12.018
- 18- Lin, H.; Huang, CH.; Yu ,TJ.; Wu, WJ.; Yang, MC. & Lung, FW.(2011). p53 codon 72 polymorphism was associated with vulnerability, progression, but not prognosis of bladder cancer in Taiwanese population: an implication of structural equation modeling to manage risks of bladder cancer. *Urol Int* 86: 355-360.
- 19- Pandey, RK.; Ali, A.; Singh ,A.(2014). Methylenetetrahydrofolate reductase C677T variant in Indian children with craniosynostosis: Its role in the pathogenesis, risk of craniosynostosis. *Indian J Hum Genet*;20 :100.
- 20- Ni, W.; Li, H.; Wu, A.; Zhang ,P.; Yang, H.; Yang, X.; Huang ,X.; Jiang, L. (2015).Lack of association between genetic polymorphisms in three folate-related enzyme genes and male infertility in the Chinese population. *J Assist Reprod Genet*. Mar; 32(3):369-74.
- 21- Jemal A, Bray F, Center MM, , Ferlay ,J.; Ward ,E.; Forman ,D. (2011). Global cancer statistics. *CA Cancer J Clin*, **61**, 69-90.
- 22- Bond, GL.;& Levine, AJ.(2007). A single nucleotide polymorphism in the p53 pathway interacts with gender, environmental stresses and tumor genetics to influence cancer in humans. *Oncogene*.;26(9):1317–1323.
- 22- Pandith ,AA.; Shah ,ZA.; Khan ,NP.; Rasool ,R.; Afroze, D.; Yousuf ,A.;Wani ,S.; Siddiqi ,M . (2010). Role of TP53 Arg72Pro polymorphism in urinary bladder cancer predisposition and predictive impact of proline related genotype in advanced tumors in an ethnic Kashmiri population. *Cancer Genet Cytogenet*;203:263-8.
- 23-Sanyal ,S.; Ryk ,C.; De Verdier, PJ .; Steineck ,G.; Larsson ,P.; Onelöv ,E.; Hemminki, K.; Kumar, R. (2007). Polymorphisms in NQO1 and the clinical course of urinary bladder neoplasms. *Scand J Urol Nephrol*, 41, 182-90.
- 24- Soumaya ,Kouidhi.;Kamel, Rouissi1.; Sami, Khedhiri.; Slah ,Ouerhani.; Mohamed, Cherif.;Amel ,Benammar-Elgaaied.(2011). MTHFR Gene Polymorphisms and Bladder Cancer Susceptibility: a Meta-Analysis Including Race, Smoking Status and Tumour Stage. *Asian Pacific J Cancer Prev*, 12, 2227-2232.
- 25- Zhang, Y.; Sun ,Y.; Chen ,T.; Chen, T .; Hu, H .; Xie ,W .; Qiao ,Z.; Ding , N .; Xie , L.; Li ,Sheng .; Wang ,Wenlong .; Xing ,C.; Wang ,Yihan .; Qie, Yunkai .;& Wu ,Changli .(2014). Genetic variations rs11892031 and rs401681 are associated with bladder cancer risk in a Chinese popula-tion. *Int J Mol Sci*.;15(11):19330–19341.
- 26- Yang, J.; Gao, W.; Song ,NH.; Wang,W.; Zhang,JX.; Lu,P.; Hua,LX.; Gu,M. (2012).The risks, degree of malignancy and clinical progression of prostate cancer associated with the MDM2 T309G polymorphism: a meta-analysis. *Asian J Androl* 14:726–731.
- 27- Garcia-Closas M, Malats N, Silverman D, Dosemeci M, Kogevinas M, Hein DW, Tardon A, Serra C, Carrato A, Garcia-Closas R, Lloreta J, Castano-Vinyals G,Yeager M, Welch R, Chanock S, Chatterjee N, Wacholder S, Samanic C, Tora M, Fernandez F, Real FX and Rothman N.(2005). NAT2 slow acetylation, GSTM1 null genotype, and risk of bladder cancer:results from the Spanish Bladder Cancer Study and metaanalyses.*Lancet* 26: 649-659.
- 28- Gutierrez ,J.; Jimenez, A.; DeDios ,LJ.; Soto, MJ.; Sorlozano, A.(2006) Meta-analysisof studies analyzing the relationship between bladder cancer and infection by human papillomavirus. *J Urol* 176:2474–81.

- 29- Griffiths, T.R.L.; & Mellon , J.K.(2000). Human papillomavirus and urological tumours: II. Role in bladder, prostate, renal and testicular cancer.
- 30- Stenzl,A.;Witjes,A.;Cowan,N.C.;Lebert,T.;Santis,M.D.; Kuczyk, M.; Merseburger,A.S.; Sherif,A.;Ribal,M.J.(2011). Guidelines of bladder cancer muscle–invasive and metastatic. European Association of Urology (EAU updates series) 5-52.
- 31- Michaud, DS .(2007). Chronic inflammation and bladder cancer. *Urol Oncol* 25: 260–268.
- 32- Galsky, M. (2009). Diseases of the kidney & urinary tract ,8th ed. Lippincotte Williams &Wilkins.
- 33- Gibson, G. (2011). Rare and common variants: twenty arguments. *Nat Rev Genet* 13: 135–145.
- 34- Ehdaie, B.; Stukenborg, GJ.; Theodorescu ,D. (2009).Renal transplant recipients and patients with end stage renal disease present with more advanced bladder cancer. *J Urol* 182:1482e7.
- 35- Jiang, DK.; Ren ,WH.; Yao, L.; Wang, WZ.; Peng, B.; Yu, L.(2010). Meta-analysis of association between TP53 Arg72Pro polymorphism and bladder cancer risk. *Urology*;76:765.e1-765.e7.
- 36- McConkey, DJ.; Lee, S.; Choi ,W.; Tran, M.; Majewski ,T.; Lee, S.; Siefker-Radtke ,A.; Dinney ,C.; Czerniak, B. (2010). Molecular genetics of bladder cancer: Emerging mechanisms of tumor initiation and progression. *Urol Oncol*, 28, 429-40.
- 37- Saraswathy, KN.; Asghar, M.; Samtani ,R.; Murry ,B.; Mondal, PR.; Ghosh, PK.; Sachdeva, MP.(2012). Spectrum of MTHFR gene SNPs C677T and A1298C: a study among 23 population groups of India. *MolBiol Rep* 39 (4): 5025–31..
- 38- Hemminki, K.; Bermejo, JL.; Ji, J.; Kumar ,R.(2011). Familial bladder cancer and the related genes: *Curr Opin Urol*;21(5):386– 392.
- 39- Bond, G.L.; Hu, W.; Bond, E.E.; Robins,H.; Lutzker,S. G.; Arva,N.C.; Bargonetti, Jill .; Barte,F.I.; Taubert, Helge .; Wuerl, Peter.; Onel, Kenan .; Yip, Linwah.; Hwang ,SJ.; Strong,L.C.; Lozano, Guillermina.; Levine,A.J.(2004). A single nucleotide polymorphism in the MDM2 promoter attenuates the p53 tumor suppressor pathway and accelerates tumor formation in humans. *Cell.*;119:591–602.
- 40- Rouissi, K.; Ouerhani, S.; Oliveira ,E.; Marrakchi ,R.; Cherni, L.; Ben, Othman. F.; Ben, Slama.; MR ,Sfazi.; M , Ayed.; M , Chebil.; M , Amorim.; A, Prata.; MJ, Benammar Elgaaied, A.(2009).
- 41- Gülay, Güleç ,Ceylan.; Cavit, Ceylan.; Seda ,Yamak .(2015
CancerMethylenetetrahydrofolate Reductase Polymorphisms at Familial Bladder Cancer: Case Report. *J Clin Anal Med*;6(suppl 5): 668-70
- 42- Murta-Nascimento ,C.; Silverman ,DT.; Kogevinas, M.; García-Closas ,M.; Rothman, N.; Tardón, A.; García-Closas ,R.; Serra ,C.; Carrato, A.; Villanueva, C.; Dosemeci, M.; Real, FX.; Malats, N. (2007). Risk of blad–der cancer associated with family history of cancer: do low-penetrance polymorphisms account for the increase in risk? *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.*;16(8):1595–1600.
- 43- Dw ,Cai.; Xf ,Liu.; Rg ,Bu.; Xn, Chen.; L ,Ning.; Y ,Cheng.; & B ,Wu.(2009). Genetic Polymorphisms of *MTHFR* and Aberrant Promoter Hypermethylation of the *RASSF1A* Gene in Bladder Cancer Risk in a Chinese Population. *The Journal of International Medical Research* 37: 1882 – 1889.
- 44- Taylor ,JA.;& Kuchel ,GA.(2009). Bladder cancer in the elderly: clinical outcomes, basic mechanisms and future research directions. *Nat Clin Pract Urol*; 6: 135–144.
- 45- Nakamura, R.; Saikawa ,Y.; Takahashi, T.; Takeuchi ,H.; Asanuma ,H.; Yamada, Y.; Kitagawa, Y.(2011). Retrospective analysis of prognostic outcome of gastric cancer in young patients. *Int J Clin Oncol*;16:328-34. <http://dx.doi.org/10.1007/s10147-011-0185-7>. Epub Feb 8
- 46- Argani P, Olgac S, Tickoo SK, , Goldfischer ,M.; Moch, H.; Chan, DY.; Eble ,JN.; Bonsib, SM.;Jimeno, M.; Lloreta ,J.; Billis, A.; Hicks, J.; De Marzo, AM.; Reuter ,VE.; Ladanyi ,M.(2007). Xp11 Translocation renal cell carcinoma in adults: Expanded clinical, pathologic, and genetic spectrum.*Am J Surg Pathol*;31:1149-60. <http://dx.doi.org/10.1097/PAS.0b013e318031ffff>.