DOI: 10.22122/jims.v38i608.13242 Published by Vesnu Publications

مجله دانشکده پزشکی اصفهان سال سی و هشتم/شماره‌ی ۶۰۸/هفته‌ی چهارم اسفند ۱۳۹۹

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۴/۳۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۷/۱۹ تاریخ چاپ: ۱۳۹۹/۱۲/۲۸

# فراوانی متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در بافت تومورال کولورکتال در مقایسه با بافت سالم اطراف آن

مهسا خدادوستان[۱]، مسعود عطایی خوراسگانی[۲]، فریده صابری[۳]، نسیم جعفری[۴]، علیرضا شواخی[۵]، احمد شواخی[۶]، رسول صالحی[۷]

مقاله پژوهشی

## چکیده

**مقدمه:** سرطان کولورکتال، یکی از انواع شایع سرطان‌ها می‌باشد. روش‌های تهاجمی و غیر تهاجمی مختلفی برای تشخیص این سرطان وجود دارد. تشخیص با نشانگرهای مولکولی در مراحل اولیه، یک روش مناسب است. هدف از اجرای این تحقیق، ارزیابی میزان فراوانی متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در بافت سرطانی در ناحیه‌ی کولورکتال در مقایسه با بافت سالم اطراف آن بود.

**روش‌ها:** این مطالعه‌ی مقطعی در سال‌های بین ۹۸-۱۳۹۵، روی ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال انجام شد. DNA از ۵۰ نمونه‌ی Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) بافت سرطان کولورکتال در مراحل اولیه (مراحل ۱ و ۲) و همچنین، بافت سالم اطراف تومور، استخراج گردید. با استفاده از روش پارافینه، متیلاسیون DNA مقاوم به اندونوکلئاز اندازه‌گیری و میزان فراوانی پروموتر ژن GRASP در هر دو نمونه محاسبه و مقایسه گردید.

**یافته‌ها:** متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در بافت سرطان کولورکتال در مراحل اولیه در مقایسه با بافت سالم اطراف تومور به میزان قابل توجهی افزایش یافت. متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در نمونه‌های سرطان (P < ۰/۰۰۰۱، ۷۰/۴۷ درصد) در مقایسه با نمونه‌های سالم بافت اطراف (P < ۰/۰۰۰۱، ۳۸/۰۸ درصد) بود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد فراوانی متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در بافت مبتلا به سرطان کولورکتال، به صورت قابل توجهی بیشتر از بافت سالم اطراف می‌باشد.

**واژگان کلیدی:** متیلاسیون؛ نواحی پروموتر؛ پروتئین GRASP؛ تشخیص زودرس سرطان

**ارجاع:** خدادوستان مهسا، عطایی خوراسگانی مسعود، صابری فریده، جعفری نسیم، شواخی علیرضا، شواخی احمد، صالحی رسول. **فراوانی متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در بافت تومورال کولورکتال در مقایسه با بافت سالم اطراف آن.** مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۳۹۹؛ ۳۸ (۶۰۸): ۱۰۴۷-۱۰۴۳.

## مقدمه

سرطان کولورکتال، شایع‌ترین سرطان در حال افزایش در جهان و علت بیش از ۶۰۰۰۰۰ مرگ در سراسر جهان است (۴-۱). میزان بروز بیماری و مرگ و میر تا سال ۲۰۳۰ افزایش می‌یابد و با تشخیص تومور در مراحل اولیه (مراحل ۲-۱)، این مرگ و میر کاهش می‌یابد (۶-۵). افزایش مرگ و میر و بروز این سرطان به چند دلیل اتفاق می‌افتد که یکی از دلایل آن، عدم وجود یک روش ساده و قابل قبول بر پایه‌ی تفاوت‌های ژنتیکی در جمعیت‌های مختلف می‌باشد (۸-۷).

متیلاسیون، یک عامل مهم در تنظیم بیان ژن و رشد ارگانیسم است. با هایپرمتیلاسیون، یک گروه متیل به پنجمین سیتوزین توالی CPG اضافه می‌شود که به طور عمده در ناحیه‌ی پروموتر با آنزیم DNA methyltransferase قرار می‌گیرد (۹). هایپرمتیلاسیون، مهم‌ترین تغییر اپی‌ژنتیک در سرطان کولورکتال است که منجر به کاهش یا افزایش بیان ژن می‌شود. بنابراین، بررسی میزان متیلاسیون

۱- استادیار، گروه گوارش و کبد، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۲- استادیار، گروه گوارش و کبد، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خمین، خمین، ایران

۳- دکتری ژنتیک، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۴- استادیار، گروه رادیولوژی فک و صورت، دانشکده‌ی دندان‌پزشکی، واحد خوراسگان، دانشگاه آزاد اسلامی، اصفهان، ایران

۵- دانشجوی پزشکی، گروه داخلی، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

۶- استاد، گروه گوارش و کبد، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

۷- استاد، گروه ژنتیک، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی اصفهان، اصفهان، ایران

**نویسنده‌ی مسؤول:** مسعود عطایی خوراسگانی ؛ استادیار، گروه گوارش و کبد، دانشکده‌ی پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی خمین، خمین، ایران

Email: m.ataie1360@yahoo.com

This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 Unported License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

DNA یک روش تشخیصی مناسب است (۱۰).

چندین روش تهاجمی و غیر تهاجمی برای غربالگری سرطان کولورکتال وجود دارد؛ با این که کولونوسکوپی استاندارد طلایی تشخیص سرطان‌های کولورکتال می‌باشد، اما یک روش تهاجمی و گران قیمت است. همچنین، باید بیمار قبل از آن آمادگی لازم را دریافت کند (۷). روش‌های غیر تهاجمی نظیر Fecal occult blood test (FOBT) FOBT حساسیت پایین‌تر و نتایج مثبت کاذب بالاتری دارند (۸).

Stool DNA test، می‌تواند متیلاسیون غیر طبیعی در بافت ریزش کرده در مدفوع را تشخیص دهد (۱۱). با این حال، استخراج DNA با کیفیت از مدفوع دشوار است. بافت یا نمونه‌های پارافینه، نزدیک‌ترین حالت متیلاسیون را به مدفوع دارند. بنابراین، واکاوی متیلاسیون بافتی به نظر می‌رسد که یک روش خوب برای رسیدن به نشانگرهای زیستی در واکاوی نمونه‌های مدفوع باشد (۱۲).

ژن GRASP به عنوان یک پروتئین غشایی عمل می‌کند (۱۳). این مکانیزم، نقش مهمی را در آبشار متیلاسیون در آدنوم‌های پیشرفته و سرطان ایفا می‌کند. به همین دلیل، به نظر می‌رسد که ارزیابی فراوانی متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در مراحل اولیه‌ی تومور در مقایسه با بافت سالم اطراف دسترسی به روش‌های غربالگری را آسان‌تر کند.

هدف از انجام این مطالعه، ارزیابی فراوانی متیلاسیون پروموتور ژن GRASP در بافت سرطانی کولورکتال در مقایسه با بافت سالم اطراف آن بود.

## روش‌ها

مطالعه به صورت مقطعی بر روی ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال قابل عمل مراجعه کننده به بیمارستان الزهرای (س) اصفهان در سال‌های ۹۸-۱۳۹۵ با کد اخلاق ir.mui.med.rec.1397.133 انجام شد. بیماران قابل عمل بر اساس مرحله (Stage) بیماری عمل شدند و مرحله‌بندی بر اساس معیارهای پاتولوژی مشخص شد. سپس، نمونه‌ی بافت سرطانی و بافت سالم تعیین گردید. از بین بیماران با مراحل پایین (Stage 1-2) ۵۰ بیمار انتخاب شدند و از آنان نمونه‌ی بافت پارافینه از بافت سرطانی و بافت سالم حاشیه تهیه شد. نمونه‌ها توسط تکنسین آزمایشگاه با مدرک کارشناسی علوم آزمایشگاهی تهیه و در دمای ۴- درجه‌ی سانتی‌گراد قرار گرفت.

DNA با روش Phenol-chloroform استخراج شد و کیفیت و کمیت DNA استخراج شده با روش اسپکتروفتومتری با امواج ۲۶۰/۲۸۰ و الکتروفورز در ژل آگارز ۱ درصد ارزیابی شد.

جهت بررسی کمی متیلاسیون پروموتر ژن‌ها، از روش هضم به کمک آنزیم محدود کننده‌ی حساس به متیلاسیون Hin6I و همچنین، آنزیم‌های برنده‌ی مستقل از متیلاسیون XbaI و DraI استفاده شد. در این روش، برای هر نمونه، دو میکروتیوب آماده شد. در میکروتیوب اول که Methylation-quantification digestion (MQD) نام داشت، عمل هضم DNA با کمک آنزیم حساس به متیلاسیون و در میکروتیوب دوم که methylation-independent calibrator digestion (CalD) نام داشت، عمل هضم با کمک آنزیم‌های مستقل از متیلاسیون انجام گرفت. میکروتیوب دوم (CalD) در این روش نقش کالیبراتور را برای هر نمونه و در هر مرحله‌ی Real time polymerase chain reaction (Real-time PCR) داشت. میکروتیوب MQD، حاوی ۵ میکرولیتر DNA، ۲ میکرولیتر آنزیم Hin6I و ۲ میکرولیتر بافر ۱۰X تانگو بود که با کمک آب‌مقطر به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر رسید. میکروتیوب CalD، حاوی ۵ میکرولیتر DNA، ۱ میکرولیتر آنزیم XbaI، ۱ میکرولیتر آنزیم DraI و ۲ میکرولیتر بافر ۱۰X تانگو بود که بار دیگر با کمک آب‌مقطر به حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر رسانده شد. عمل هضم برای مدت زمان ۴ ساعت در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد انجام شد و سپس، آنزیم‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه‌ی سانتی‌گراد غیر فعال شدند. پس از انجام عمل هضم آنزیمی و غیر فعال شدن آنزیم‌ها، میکروتیوب‌ها در دمای ۴ درجه‌ی سانتی‌گراد تا انجام مرحله‌ی بعد ذخیره شدند.

برای انجام واکنش Real-time PCR با حجم نهایی ۲۰ میکرولیتر، ۱ میکرولیتر DNAی هضم شده، ۰/۵ میکرولیتر از هر پرایمر و ۵ میکرولیتر سایبرگرین استفاده شد و به دنبال آن از دستگاه Real-time PCR استفاده گردید.

برای تهیه‌ی شاهد مثبت از کیت مربوط استفاده شد. برای این هدف به میکروتیوب حداکثر ۱µg DNAی استخراج شده را به همراه ۱ میکرولیتر آنزیم متیل ترانسفراز (M.SssI) و ۲ میکرولیتر بافر 10X متیل ترانسفراز و ۰/۴ میکرولیتر S-آدنوزین متیونین (SAM) اضافه گردید و با کمک آب‌مقطر به حجم ۲۰ میکرولیتر رسانده شد و برای مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۳۷ درجه‌ی سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس، جهت غیر فعال‌سازی آنزیم، میکروتیوب‌ها در دمای ۶۵ درجه‌ی سانتی‌گراد برای مدت ۲۰ دقیقه قرار داده شد. در هر نوبت، Real-time PCR نیز یک تیوب شاهد منفی که حاوی همه‌ی مواد واکنش به جز DNA بود و همچنین، یک تیوب شاهد مثبت که حاوی DNAی ژنومیک بود، همراه نمونه‌ها قرار گرفت. شروع چرخه‌های حرارتی برای Real-time PCR، ابتدا با رساندن دمای محلول به ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه انجام شد. چرخه‌های حرارتی واکنش Real-time PCR شامل ۹۵ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۲۰ ثانیه، ۵۹ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه و ۴۰ چرخه‌ی حرارتی در ۷۲ درجه‌ی سانتی‌گراد به مدت ۳۰ ثانیه بودند. در نهایت، درصد متیلاسیون ژن‌ها با کمک فرمول زیر محاسبه شد:

درصد متیلاسیون
$= ۲^{\Delta Ct} \times ۱۰۰$ ($\Delta Ct$ = Calibrator – Ct Quantification)

*واکاوی آماری:* میزان متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در نمونه‌های مبتلا به سرطان و بافت سالم اطراف آن با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۲۰ (version 20, IBM Corporation, Armonk, NY) تجزیه و تحلیل شد. ارتباط بین میزان متیلاسیون کولورکتال و بافت سالم و مراحل ۱ و ۲، آزمون‌های $\chi^2$ Pearson با Confidence interval (CI) ۹۵ درصد محاسبه شد و $P < ۰/۰۵۰۰$ به عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## یافته‌ها

در این مطالعه، از ۵۰ بیمار مبتلا به سرطان کولورکتال، DNA استخراج شده از نمونه‌های پارافینه از ۵۰ بافت سرطانی کولورکتال در مقایسه با بافت سالم اطراف تومور بررسی شد.

میانگین سنی در بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال ۶۲/۷۶ سال (با محدوده‌ی ۸۷-۲۲ سال) بود. بیشتر افراد مبتلا (۵۲ درصد) مرد بودند. میانگین وزن بیماران ۱۲/۲۹ ± ۶۷/۴۶ کیلوگرم (با محدوده‌ی ۹۸-۴۰ کیلوگرم) و میانگین قد ۷/۸۱ ± ۱۶۴/۷۶ سانتی‌متر (با محدوده‌ی ۱۸۲-۱۵۰ سانتی‌متر) بود، ۱۸ درصد سیگار مصرف می‌کردند و ۲۶ درصد بیماران فعالیت فیزیکی مناسبی داشتند.

در بین بیماران مبتلا به سرطان کولورکتال، ۳۸ درصد در مرحله‌ی ۱ بودند؛ یعنی تومور محدود به کولون بود و به بافت اطراف تهاجم نداشت. درگیری لنفاوی و متاستاز دیده نشد و ۶۲ درصد بیماران در مرحله‌ی ۲ بودند؛ یعنی حداقل درگیری بافت اطراف کولون وجود داشت و درگیری لنفاوی و متاستاز وجود نداشت. همچنین، ۲۲ درصد سرطان‌ها در رکتوم و ۷۸ درصد در کولون بودند.

میزان متیلاسیون در بیماران مبتلا به سرطان ۷۱/۴۲ درصد در کولون و ۶۷/۰۹ درصد در رکتوم بود. میزان متیلاسیون در مرحله‌ی ۱ بیماری (۶۸/۰۲ درصد) و در مرحله‌ی ۲ بیماری (۷۱/۷۹ درصد) بود.

متیلاسیون پروموتر ژن GRASP تفاوت قابل توجهی در نمونه‌های سرطان (۷۰/۴۷ درصد) ($P < ۰/۰۰۰۱$) در مقایسه با نمونه‌های بافت سالم اطراف آن (۳۸/۰۸ درصد) ($P < ۰/۰۰۰۱$) داشت.

## بحث

هایپرمتیلاسیون DNA، یکی از اختلالات ژنتیکی شایع در سرطان کولورکتال است (۱۴). به همین دلیل، بررسی‌های وسیع ژنوم از لحاظ هایپرمتیلاسیون مرتبط با سرطان کولورکتال انجام شده است (۱۶-۱۴). این مطالعه، اولین گزارش از متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در نمونه‌ی Formalin-fixed paraffin-embedded (FFPE) در سرطان کلورکتال در مراحل اولیه در ایران است. در این مطالعه، روش اندازه‌گیری کمی متیلاسیون DNA مقاوم اندونوکلئاز با موفقیت ۱۰۰ درصد در همه‌ی نمونه‌ها انجام شد. در مطالعه‌ی حاضر، متیلاسیون ژن GRASP در مقایسه با بافت طبیعی به میزان قابل توجهی افزایش یافته بود که مشابه با مطالعات قبلی بود (۱۷). در مطالعه‌ی Begg و همکاران نیز میزان متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در مقایسه با بافت سالم اطراف، افزایش قابل توجهی داشت (۱۷). در مطالعه‌ی Mitchell و همکاران نیز میزان متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در مقایسه با بافت سالم اطراف، افزایش قابل توجهی داشت و این ژن را به عنوان روشی برای تشخیص سرطان در مراحل اولیه پیشنهاد نمود (۱۲). ژن GRASP به جز سرطان کولورکتال در سرطان کبد و پروستات نیز افزایش می‌یابد (۱۵، ۱۳).

در مطالعه‌ی دیگری، ۴۲ ژن برای تشخیص ژن‌های متیله بررسی شد و بیان کرد ژن GRASP در ۵۰ درصد بافت‌های سرطانی و ۱۰ درصد بافت‌های طبیعی اطراف وجود داشته است (۱۲).

مطالعه‌ی حاضر نشان داد افزایش قابل توجه متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در مقایسه با بافت سالم اطراف ایجاد می‌شود که از آن می‌توان برای مطالعات آینده جهت تشخیص سرطان کولورکتال در مراحل اولیه، به صورت آزمون غربالگری این ژن در مدفوع و یا خون استفاده نمود.

## نتیجه‌گیری

متیلاسیون پروموتر ژن GRASP در بافت سرطان کولورکتال در مقایسه با بافت سالم اطراف آن افزایش قابل توجهی دارد که این افزایش، می‌تواند در آینده برای تشخیص تومور در مراحل اولیه کمک کننده باشد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله برگرفته از پایان‌نامه‌ی به شماره‌ی ۳۹۷۳۷۹ بود. بدین وسیله، از گروه ژنتیک دانشکده‌ی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان جهت همکاری صمیمانه‌ای که با پژوهشگران داشتند، سپاسگزاری می‌شود.

## References

1. Jemal A, Bray F, Center MM, Ferlay J, Ward E, Forman D. Global cancer statistics. CA Cancer J Clin 2011; 61(2): 69-90.
2. Markowitz SD, Bertagnolli MM. Molecular origins of cancer: Molecular basis of colorectal cancer. N Engl J Med 2009; 361(25): 2449-60.
3. Pritchard CC, Grady WM. Colorectal cancer molecular biology moves into clinical practice. Gut 2011; 60(1): 116-29.
4. Malekzadeh R, Bishehsari F, Mahdavinia M, Ansari

R. Epidemiology and molecular genetics of colorectal cancer in Iran: A review. Arch Iran Med 2009; 12(2): 161-9.
5. Arnold M, Sierra MS, Laversanne M, Soerjomataram I, Jemal A, Bray F. Global patterns and trends in colorectal cancer incidence and mortality. Gut 2017; 66(4): 683-91.
6. Schrock A, Leisse A, de VL, Gevensleben H, Droge F, Franzen A, et al. Free-circulating methylated DNA in blood for diagnosis, staging, prognosis, and monitoring of head and neck squamous cell carcinoma patients: An observational prospective cohort study. Clin Chem 2017; 63(7): 1288-96.
7. Ness RM, Holmes AM, Klein R, Dittus R. Cost-utility of one-time colonoscopic screening for colorectal cancer at various ages. Am J Gastroenterol 2000; 95(7): 1800-11.
8. Fisher JA, Fikry C, Troxel AB. Cutting cost and increasing access to colorectal cancer screening: Another approach to following the guidelines. Cancer Epidemiol Biomarkers Prev 2006; 15(1): 108-13.
9. Carmona FJ, Azuara D, Berenguer-Llergo A, Fernandez AF, Biondo S, de Oca J, et al. DNA methylation biomarkers for noninvasive diagnosis of colorectal cancer. Cancer Prev Res (Phila) 2013; 6(7): 656-65.
10. Wagner PD, Verma M, Srivastava S. Challenges for biomarkers in cancer detection. Ann N Y Acad Sci 2004; 1022: 9-16.
11. Imperiale TF, Ransohoff DF, Itzkowitz SH. Multitarget stool DNA testing for colorectal-cancer screening. N Engl J Med 2014; 371(2): 187-8.
12. Mitchell SM, Ross JP, Drew HR, Ho T, Brown GS, Saunders NF, et al. A panel of genes methylated with high frequency in colorectal cancer. BMC Cancer 2014; 14: 54.
13. Mahapatra S, Klee EW, Young CY, Sun Z, Jimenez RE, Klee GG, et al. Global methylation profiling for risk prediction of prostate cancer. Clin Cancer Res 2012; 18(10): 2882-95.
14. Mori Y, Olaru AV, Cheng Y, Agarwal R, Yang J, Luvsanjav D, et al. Novel candidate colorectal cancer biomarkers identified by methylation microarray-based scanning. Endocr Relat Cancer 2011; 18(4): 465-78.
15. Yamada N, Yasui K, Dohi O, Gen Y, Tomie A, Kitaichi T, et al. Genome-wide DNA methylation analysis in hepatocellular carcinoma. Oncol Rep 2016; 35(4): 2228-36.
16. Azuara D, Rodriguez-Moranta F, de Oca J, Soriano-Izquierdo A, Mora J, Guardiola J, et al. Novel methylation panel for the early detection of colorectal tumors in stool DNA. Clin Colorectal Cancer 2010; 9(3): 168-76.
17. Beggs AD, Jones A, El-Bahrawy M, Abulafi M, Hodgson SV, Tomlinson IP. Whole-genome methylation analysis of benign and malignant colorectal tumours. J Pathol 2013; 229(5): 697-704.

**DOI:** *10.22122/jims.v38i608.13242* *Published by Vesnu Publications*

**Journal of Isfahan Medical School** **Vol. 38, No. 608, 4th Week, March 2021**

Received: 21.07.2020 Accepted: 10.10.2020 Published: 26.03.2021

# The Frequency of GRASP Gene's Promoter Methylation in Colorectal Cancer Tissue Compared with Healthy Surrounding Tissue

Mahsa Khodadoostan[1], Masoud Ataie-Khorasghani[2], Faride Saberi[3], Nasim Jafari-Pozve[4], Alireza Shavakhi, Ahmad Shavakhi[6], Rasoul Salehi[7]

**Original Article**

## Abstract

**Background:** The colorectal cancer (CRC) is one of the most common cancers. There are several invasive and noninvasive methods for detecting CRC. Diagnosis based on the molecular markers in early stages seems to be a good choice. The aim of present study was evaluating the methylation in GRASP gen promoter in colorectal cancer tissue compared with healthy surrounding tissue.

**Methods:** This cross-sectional study was performed on 50 patients suffered from CRC during 2016-2019. The DNA was extracted from 50 Formalin-Fixed Paraffin-Embedded (FFPE) samples of CRC tissues in early stages (I and II), and normal surrounding tissues. In paraffin method, methylation-quantification of endonuclease-resistant DNA was calculated, and their frequency were compared in both groups.

**Findings:** GRASP gene's promoter was highly methylated in patients with CRC in early stages compared to their normal margins. GRASP gen promoter methylation was 70.47% ($P < 0.00001$) in CRC tissue compared with 38.08% in normal margin ($P < 0.0001$).

**Conclusion:** The results showed that frequency of Grasp gen's promoter methylation in colorectal cancerous tissue was significantly more than normal surrounding tissue.

**Keywords:** Methylation; Promoter Regions, Genetic; Grasp protein; Early detection of cancer

**Citation:** Khodadoostan M, Ataie-Khorasgani M, Saberi F, Jafari-Pozve N, Shavakhi A, Shavakhi A, et al. **The Frequency of GRASP Gene's Promoter Methylation in Colorectal Cancer Tissue Compared with Healthy Surrounding Tissue.** J Isfahan Med Sch 2021; 38(608): 1043-7.

1- Assistant Professor, Department of Gastroenterology and Hepatology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
2- Assistant Professor, Department of Gastroenterology and Hepatology, School of Medicine, Khomein University of Medical Sciences, Khomein, Iran
3- PhD in Genetics, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
4- Assistant Professor, Department of Maxillofacial Radiology, School of Dentistry, Isfahan (Khorasgan) Branch, Islamic Azad University, Isfahan, Iran
5- Student of Medicine, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Shakrekord University of Medical Sciences, Shakrekord, Iran
6- Professor, Department of Gastroenterology and Hepatology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
7- Professor, Department of Genetics and Molecular Biology, School of Medicine, Isfahan University of Medical Sciences, Isfahan, Iran
**Corresponding Author:** Masoud Ataie-Khorasghani, Assistant Professor, Department of Gastroenterology and Hepatology, School of Medicine, Khomein University of Medical Sciences, Khomein, Iran; Email: m.ataie1360@yahoo.com