

Résultats et discussion

I-Etude statistique :

Une étude statistique rétrospective portant sur 42 cas de tumeurs colorectales, recrutés et recensés au sein du service d'Anatomie Pathologique du CHU Hassan de Fès, a été réalisée par l'unité de génétique médicale et d'oncogénétique (UMGO), afin d'évaluer les caractéristiques épidémiologiques des tumeurs colorectales.

1) Répartition des tumeurs colorectales selon l'âge, le sexe et le milieu de résidence :

Dans notre série, l'âge médian des patients ayant des tumeurs colorectales malignes est de 64 ans, avec des extrêmes de 22 ans et de 84 ans.

Comparativement à une autre étude rétrospective, qui a été réalisée sur des malades atteints de cancer colorectal hospitalisés à la clinique chirurgicale « C » du CHU IBN SINA de Rabat durant une période de 20 ans allant de 1981 à 2000, sur 549 patients. L'âge moyen des patients était de 50 ans avec des extrêmes allant de 16 à 85 ans.

Et d'après une étude descriptive intitulée « les aspects épidémiologiques des cancers au CHU HASSAN II de Fès » réalisée au sein du service d'anatomie pathologique du CHU HASSAN II de Fès pendant une période s'étalant du 1er Octobre 2003 au 30 Juin 2004, l'âge moyen des patients était de 60 ans pour les cancers coliques

En France, le cancer colique est rare avant 50 ans (6 % des cas), alors qu'au Maroc le CCR est plus fréquent avant 50 ans d'après plusieurs études. L'incidence augmente ensuite rapidement avec l'âge. La proportion de cas diagnostiqués double chaque décennie entre 40 et 70 ans dans les deux sexes. L'âge moyen au diagnostic est de 69,5 ans chez l'homme et 72,8 ans chez la femme. L'augmentation de l'incidence du cancer colique pourrait être liée au vieillissement de la population.

Ces résultats sont comparable avec nos résultats, sauf qu'il ya une petite différence qui est expliquée par la taille de l'échantillon qui n'est pas représentative.

Ensuite, notre étude montre qu'il y avait une légère prédominance masculine avec 54,4% des hommes et 43% de femmes (figure 21). Comparativement à l'étude réalisée par la clinique chirurgicale « C » du CHU IBN SINA de Rabat, constatant ainsi une nette prédominance masculine avec un sexe ratio de 1,66 (60,1% d'hommes et 38,8% de femmes), et celui trouvé par **Viguiet J .et ces collègues en 2003** qui a noté une prédominance masculine, avec un sexe ratio de 1,5. Et que Le risque cumulé de développer un cancer colique entre 30 et 74 ans est de 3,4 % chez l'homme et 1,6 % chez la femme, nés entre 1937 et 1945.

Donc, les trois études confirment que les hommes sont plus susceptibles de développer le cancer colorectal que les femmes. Cette prédominance masculine est nette dans les deux

études de CHU IBN SINA de Rabat et celui trouvé par **Viguié J .et ses collègues en 2003** en France. Par contre les résultats trouvés dans le CHU Hassan II de Fès n'est pas très significatifs vue la taille restreinte de l'échantillon étudié.

Par la suite, notre étude a trouvé une différence d'incidence entre le milieu urbain (57 %) et le milieu rural (43%).

Tandis que l'étude épidémiologique faite au sein du service d'Hépatogastroentérologie du CHU Hassan II Fès en 2008, par Najoua BENSEDDIK, et qui a porté sur 160 patients, a révélé une différence significative entre ces deux milieux avec 64,7% pour le milieu urbain et 35,3 attribué au milieu rural. Cette différence est généralement attribuée à des facteurs de risque environnementaux, notamment les habitudes alimentaires différentes, comme il a été décrit dans la littérature [36].

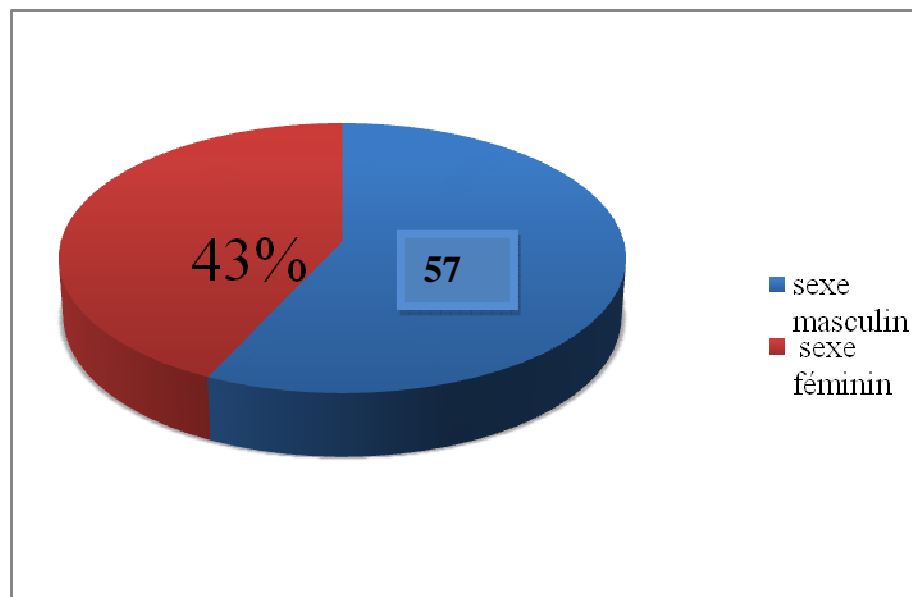


Figure 21 : la répartition du CCR selon le sexe

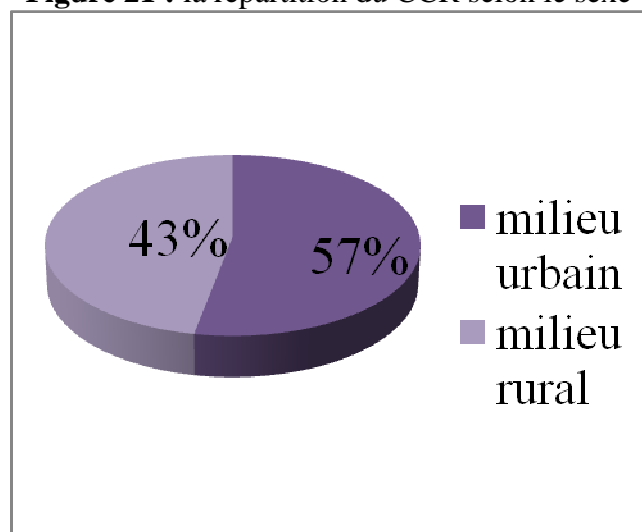


Figure 22 : répartition du CCR selon le milieu de résidence (N= 42)

Enfin, la localisation de la tumeur chez 8 patients a été déterminée dans la figure (23)

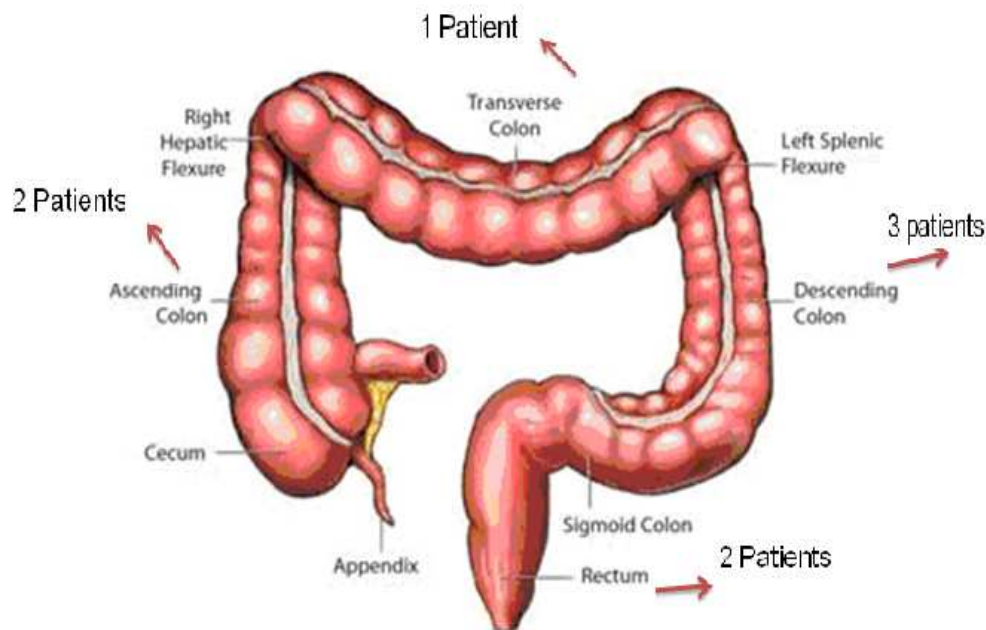


Figure 23 : localisation de la tumeur dans le colon

La taille des échantillons de notre étude reste insuffisante pour déterminer le pourcentage de la localisation de la tumeur dans le colon, mais il s'agit d'un pourcentage de (52,9%) de cancer colorectal au niveau du colon et de (47,1%) au niveau du rectum.

Avant de passer à l'étude immunohistochimique, une étude histologique est nécessaire pour déterminer le type de tumeur, son aspect ainsi que son stadification afin de déterminer l'étendue de la tumeur, et le choix du traitement, et il tient également compte de la propagation de la tumeur dans les organes voisins ou plus éloignés (métastases).

D'après plusieurs études qui est faite par **Faivre J** en France en 2001, Le cancer colorectal se situe le plus souvent au niveau du colon proximal, viennent ensuite le rectum et en dernier lieu le colon distal.

La pathologie moléculaire a montré aussi des différences d'emplacement : les tumeurs avec un haut niveau d'instabilité des microsatellites (MSI-H) où les mutations RAS proto-oncogène sont plus fréquemment localisées au niveau du coecum, du colon ascendant et du colon transverse.

A partir de nos résultats, on conclue que Les adénocarcinomes représentent 94% des cancers colorectaux. Le grade histologique de malignité défini par le degré de différenciation est un facteur prédictif aussi bien de l'invasion locorégionale, que de la dissémination métastatique. On définit 4 types de tumeurs :

- A) Tumeurs bien différenciées, B) Tumeurs moyennement différenciées, C) Tumeurs peu ou indifférenciées et D) Adénocarcinome colloïde ou mucineux.

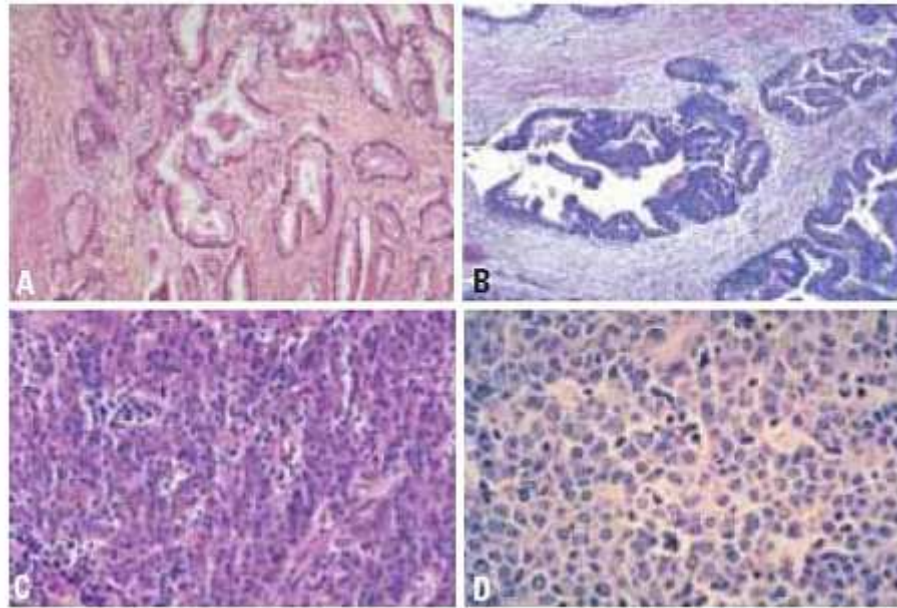


Figure 24 : adénocarcinomes colorectaux à leurs différents stades de différenciation
Et enfin, le stade de la tumeur colorectale est déterminé par le pathologiste par microscopie, pour le bon choix de traitement ainsi d'étude moléculaire.

II- Etude immunohistochimique :

Sur 42 patients, une série de 15 patients a fait l'objet d'une étude immunohistochimique, visant à étudier l'expression des protéines de réparation des mésappariement, afin de garantir aux patients une meilleure prise en charge et un bon choix thérapeutique.

L'analyse immunohistochimique des protéines de réparation des mésappariement a été effectuée dans le laboratoire d'anatomie pathologique, sur une coupe histologique d'une tumeur colorectale.

Les résultats obtenus sont les suivants :

MLH1 tissu non tumoral : expression +

tissu tumoral : expression +

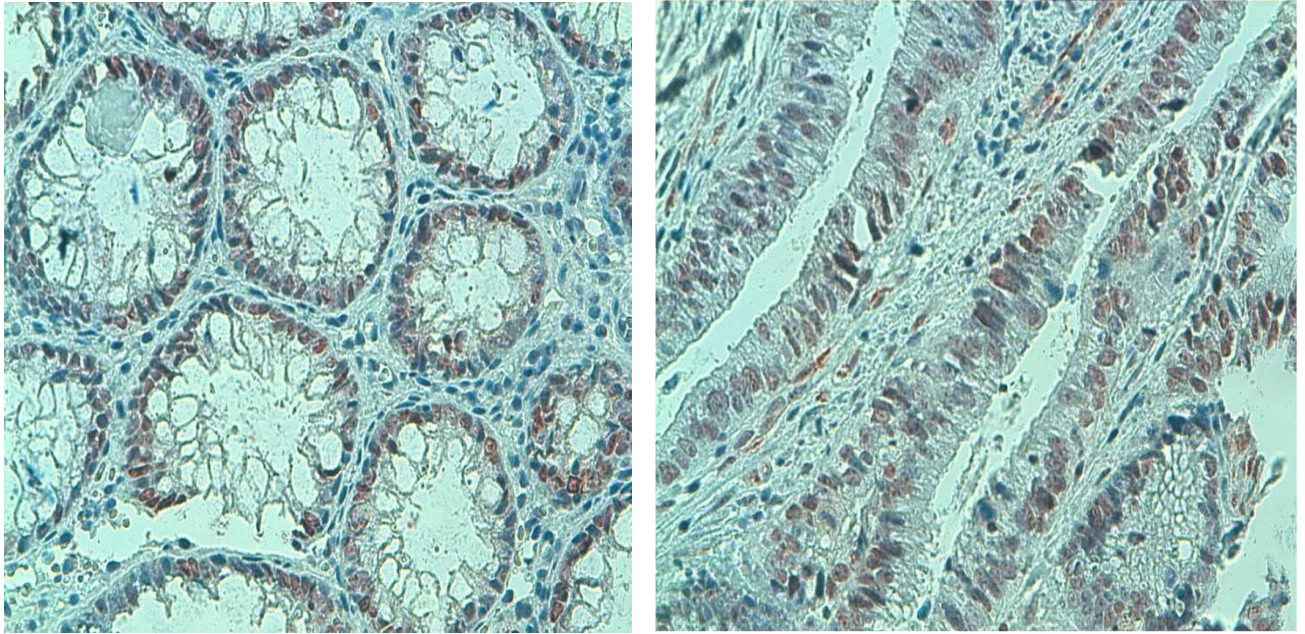


Figure 25 : résultats d'immunohistochimie présentant une expression de la protéine MLH1 du tissu sain et tumoral.

Le résultat montre sur le fragment de tissu tumoral, des glandes adénocarcinomeuses présentant une expression normale de la protéine MLH1 par la présence de coloration des noyaux. Cela ne permettra pas de savoir s'il ya une mutation ou pas, mais il faut s'assurer par l'étude moléculaire.

MSH2 : Tissu non tumoral: expression +

Tumeur: expression -

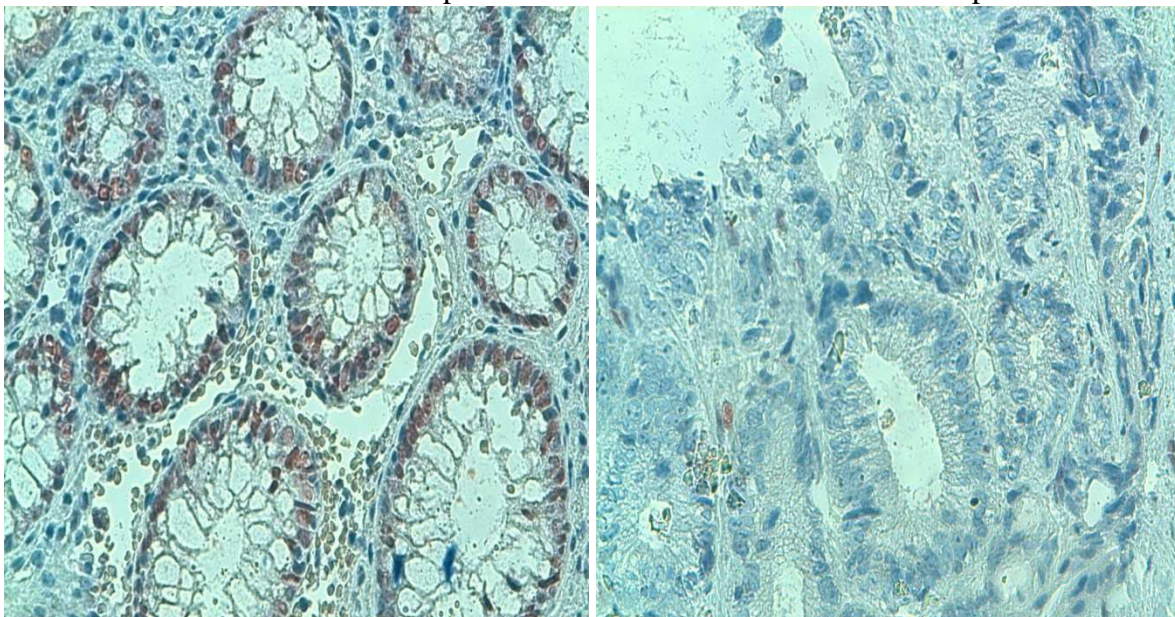
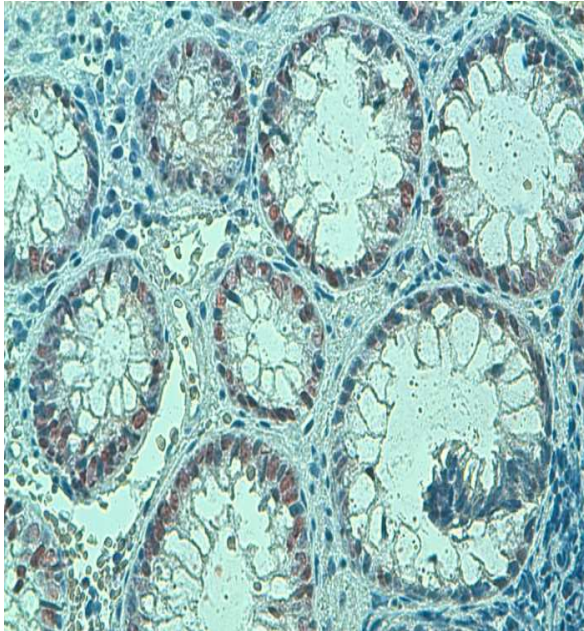


Figure 26 : résultat d'immunohistochimie présentant une extinction d'expression de la protéine MSH2 de tissu tumoral et expression de MSH2 de tissu sain grâce a la coloration du noyau.

MSH6 : Tissu non tumoral: expression +



Tumeur : expression -

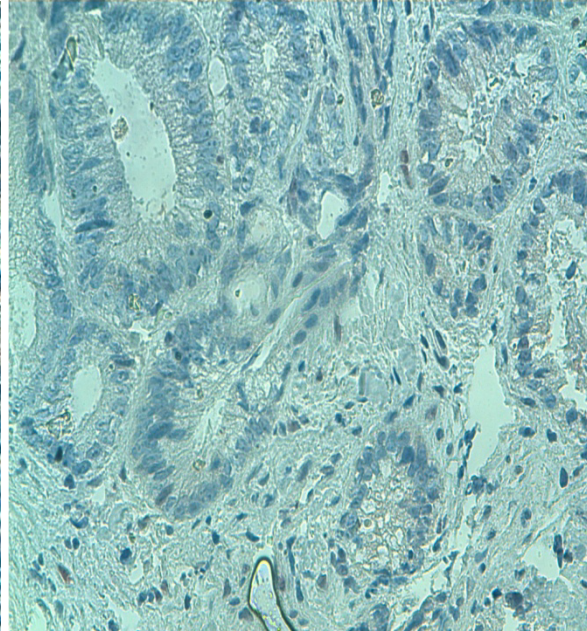


Figure 27 : résultat d'immunohistochimie présentant une extinction d'expression de la protéine MSH6 de tissu tumoral et expression de la protéine du tissu sain.

L'immunohistochimie qui est faite pour 15 cas, a montré une extinction de protéines de 7 cas :

- 3 patients ont une double extinction :
 - 2 patients ont une extinction de protéines (MLH1 ; PMS2)
 - 1 patient a une extinction de protéines (MSH2 ; MSH6)
- 1 patient a une triple extinction :
 - Extinction de protéines (MSH2 ; MSH6 ; PMS2)
- 1 patient a une extinction de la protéine : PMS2
- 1 patient a une extinction de la protéine : MLH1
- 1 patient a une extinction de la protéine : MSH6

L'expression des principales protéines du système MMR peut être actuellement étudiée à l'aide d'anticorps mono-clonaux disponibles dans le commerce depuis 1996 : hMLH1, hMSH2, hMSH6 et hPMS2.

D'après les résultats d'études de Svrcek M et al., faites en 2007, montrent qu'en cas de perte d'expression de la protéine hMLH1, on observe une perte d'expression conjointe de la protéine hPMS2. De la même manière, l'extinction de la protéine hMSH2 s'accompagne d'une extinction de la protéine hMSH6. À l'inverse, hMLH1 reste stable en l'absence de la protéine hPMS2 probablement du fait d'interactions avec d'autres homologues de MutL, tels que hPMS1 ou hMLH3, ce qui est confondu avec nos résultats.

Alors on peut aussi conclure que l'extinction de la protéine MLH1 peut être liée, soit à une mutation constitutionnelle de gène *MLH1* soit à une méthylation de son promoteur, en

relation, avec un mécanisme de sénescence de l'épithélium colique, qui est observé dans les cancers MSI sporadiques.

L'IHC peut toutefois être mise en défaut en cas de mutations faux sens, responsable d'une perte de fonction d'un gène *MMR*, sans perte d'expression du gène concerné.

Enfin, il est important d'avoir à l'esprit que les techniques d'IHC ne sont pas encore suffisamment standardisées, ni parfaitement reproductibles d'un cas à l'autre (en particulier avec hMLH1), ce qui rend leur interprétation difficile, vue sa grande sensibilité. D'où la nécessité d'une étude moléculaire.

III- Etude moléculaire :

Une série de 15 patients a fait l'objet d'une analyse moléculaire, visant à amplifier les gènes *MMR* et les analyser, ainsi que les gènes *KRAS* et *BRAF* et les séquencer

Même si on a trouvé l'extinction des protéines à partir de 7 cas, il est obligatoire de confirmer les résultats par la biologie moléculaire de tous les échantillons.

1) Amplification par PCR :

1.1 Résultats de PCR multiplex des Loci MSI :

Les produits d'amplification ont été visualisés sous U.V après électrophorèse sur gel d'agarose à 4%. Au premier temps ils ont faits 5 amorces, les résultats sont les suivants :

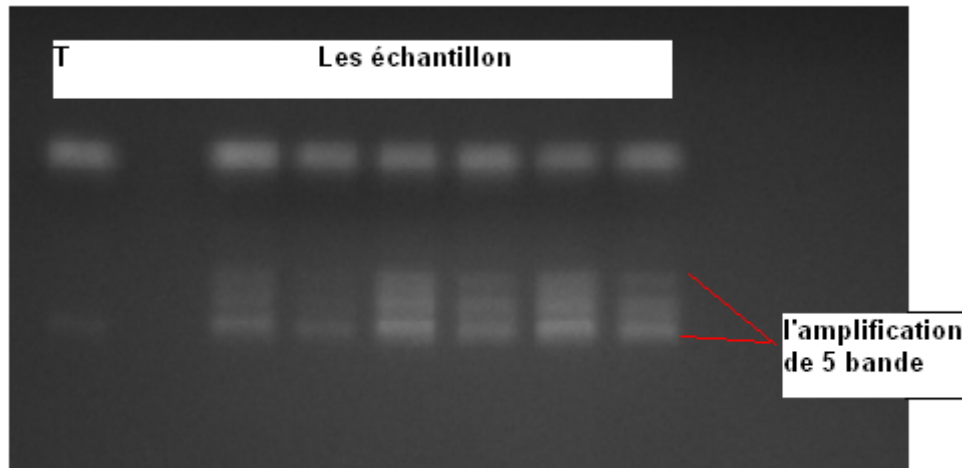


Figure 28 :

Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 4% des produits PCR des gènes *MMR* (5 amorces).

D'après la migration des amorces sur gel d'agarose on a pu remarquer le fonctionnement que de 3 amorces : NR22, NR24 et BAT25, vue la perte de la fluorescence.

La spécificité des séquences d'ADN amplifiés a été confirmée par comparaison à un marqueur de taille de dilution de 1/10.

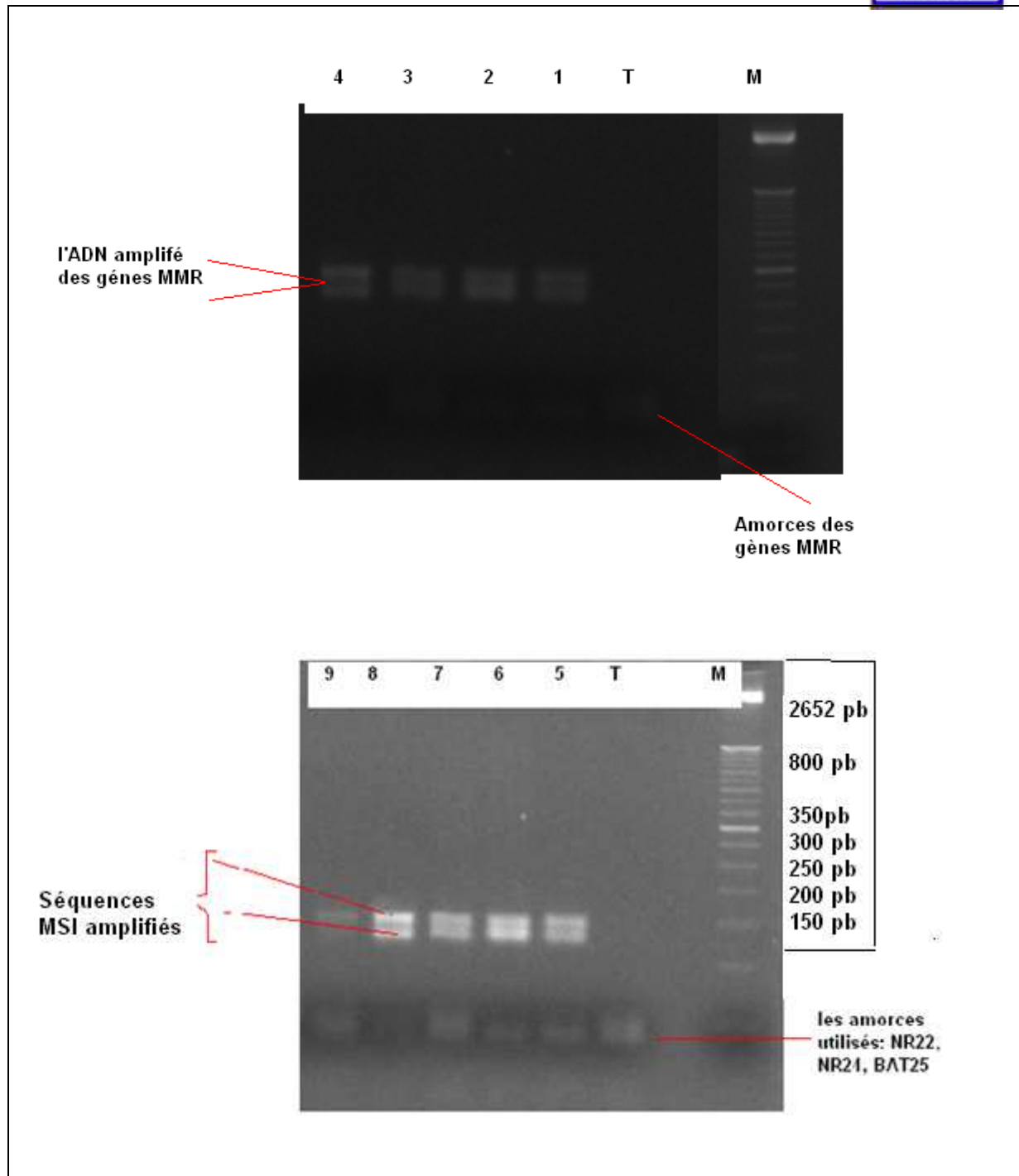


Figure 29 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 4% des produits PCR des gènes MMR

Le résultat PCR montre 3 bandes correspondant à la séquence amplifiée des gènes MMR de taille proche et approximative de (140, 135, 125 pb), pour 15 patients atteints du cancer colorectal. Les puits T correspondent aux témoins négatifs exempts d'ADN, et les puits M correspondent au marqueur de taille.

Cet ADN amplifié a été analysé au CURI pour la recherche du phénotype d'instabilité des microsatellites.

En effet, la comparaison des cellules tumorales vs cellules normales est rendue nécessaire par le polymorphisme des marqueurs utilisés.

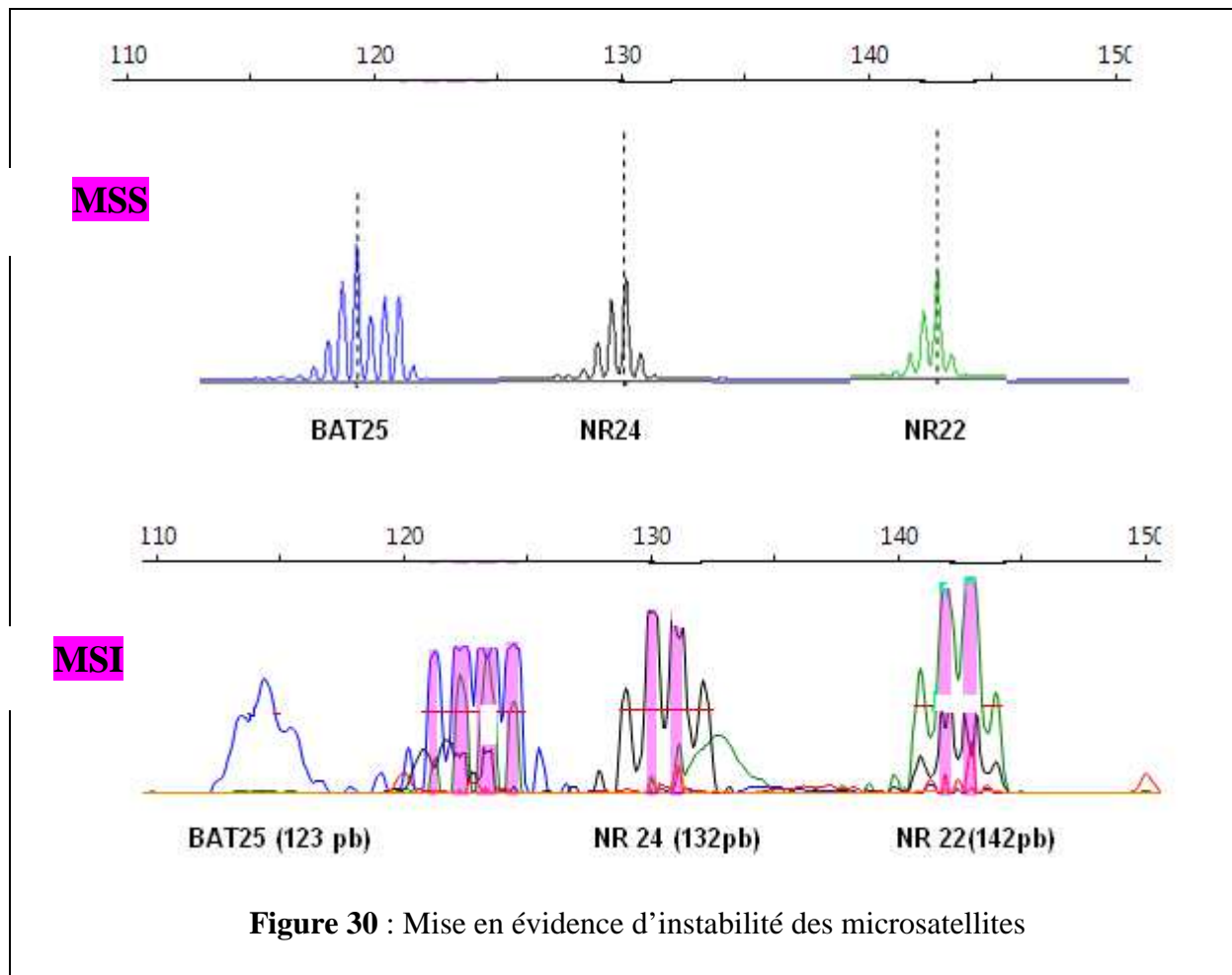


Figure 30 : Mise en évidence d'instabilité des microsatellites

Pour parler d'instabilité de microsatellites à l'aide de ces marqueurs, seulement 3 marqueurs des 5 sont instables. (d'après **Buhard O et ces collègues ., 2006**), Dans le cas contraire, il n'y a pas d'instabilité de microsatellites.

Certains auteurs parlent de MSI-L (MSI-low) lorsqu'il y a un marqueur instable, et de statut MSS (MSI-stable) lorsqu'aucun marqueur n'est instable.

En pratique, deux ou plus de marqueurs instables signent le statut MSI positif et zéro ou un marqueur instable signe l'absence de statut MSI (MSI négatif).

Après PCR multiplex l'utilisation de marqueurs quasi-monomorphiques a permis de démontrer qu'il était inutile d'étudier l'ADN normal du patient, l'ADN tumoral étant suffisamment informatif pour déterminer le statut MSI avec ces marqueurs.

D'après l'analyse qu'on a effectuée au CURI on a obtenu une instabilité microsatellitaire de 12 patients, dont 7 seulement ont une extinction de l'expression des protéines de réparation des mésappariement. Donc on parle d'instabilité des microsatellites (MSI-H). Ce qui confirme la sensibilité et la faible reproductibilité de technique d'immunohistochimie. (Figure 29).

Cependant, l'analyse de ce profil génétique pourrait permettre de préciser son pronostic et de mieux cibler la chimiothérapie.

Plusieurs études faites par (**Gryfe R et al., en 2000** et **Ribic CM et al., en 2003**) rapportent une augmentation de la survie des patients porteurs d'une tumeur MSI par rapport aux

tumeurs MSS (stabilité des microsatellites), indépendamment des autres facteurs pronostiques. Cette notion est encore controversée, mais semble très prometteuse.

Trois molécules de chimiothérapie ont fait la preuve de leur efficacité dans le CCR : il s'agit du 5-FU, avec ou sans levamisole, de l'oxaliplatine, et de l'irinotecan (ou CPT11).

L'ajout de l'oxaliplatine au 5FU (FOLFOX) améliore le traitement adjuvant des CCR de stade III en réduisant le risque de récurrence et en améliorant la survie globale.

Dans une étude récente, le phénotype MSI était associé à une meilleure réponse au traitement par FOLFOX.

Cette étude suggère également que seules les tumeurs surexprimant p53 bénéficieraient de l'ajout de l'oxaliplatine au 5FU.

Par ailleurs, en 2003 une étude rapportait aussi que la présence de MSI était prédictive de la réponse à l'irinotecan (inhibiteur de la topo-isomérase I) chez les patients à un stade avancé du cancer. La discussion est cependant encore ouverte

Toutes ces données sont à interpréter avec précaution pour leur utilisation en pratique clinique et nécessitent d'être confirmées par des études prospectives randomisées.

La mutation du gène BRAF (V600E) est présente dans environ 40 % des cancers du côlon sporadique ayant un statut MSI positif. D'où la nécessité d'une étude moléculaire de ce gène.

1.2 Résultats de PCR du gène BRAF exon 15 :

Nous avons effectué la PCR du gène BRAF pour 15 patients, dans le but de rechercher la mutation ponctuelle de ce gène dans l'exon 15. Cet exon comprend le codon 600 du gène BRAF, où se produit fréquemment la mutation de ce gène comme la plupart des auteurs l'ont rapporté [36].

Ensuite, les produits d'amplification ont été visualisés sous UV après électrophorèse sur gel d'agarose à 2%. La spécificité des séquences d'ADN amplifiées a été confirmée par comparaison à un marqueur de taille.

Les résultats de PCR sont les suivants :

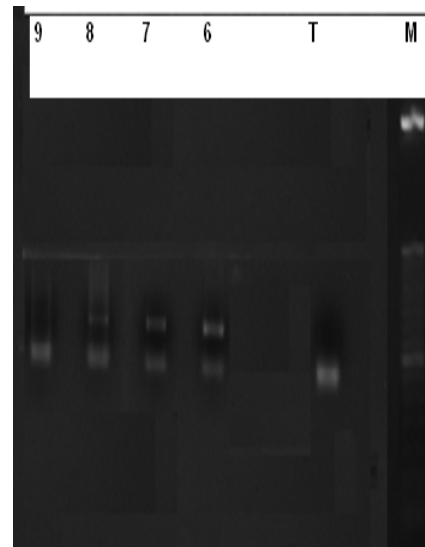
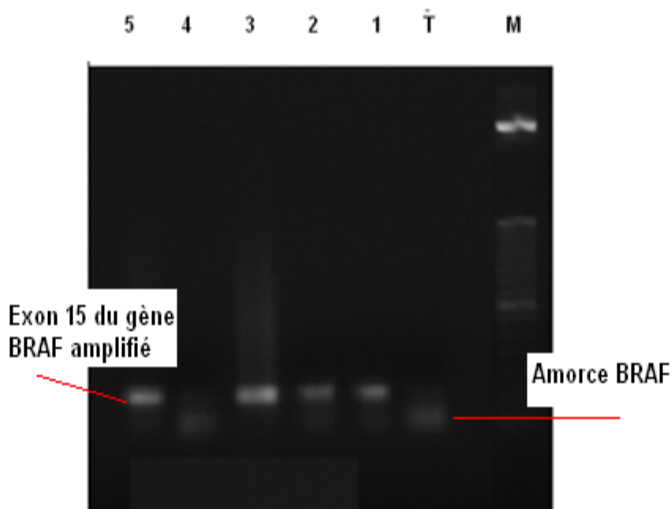
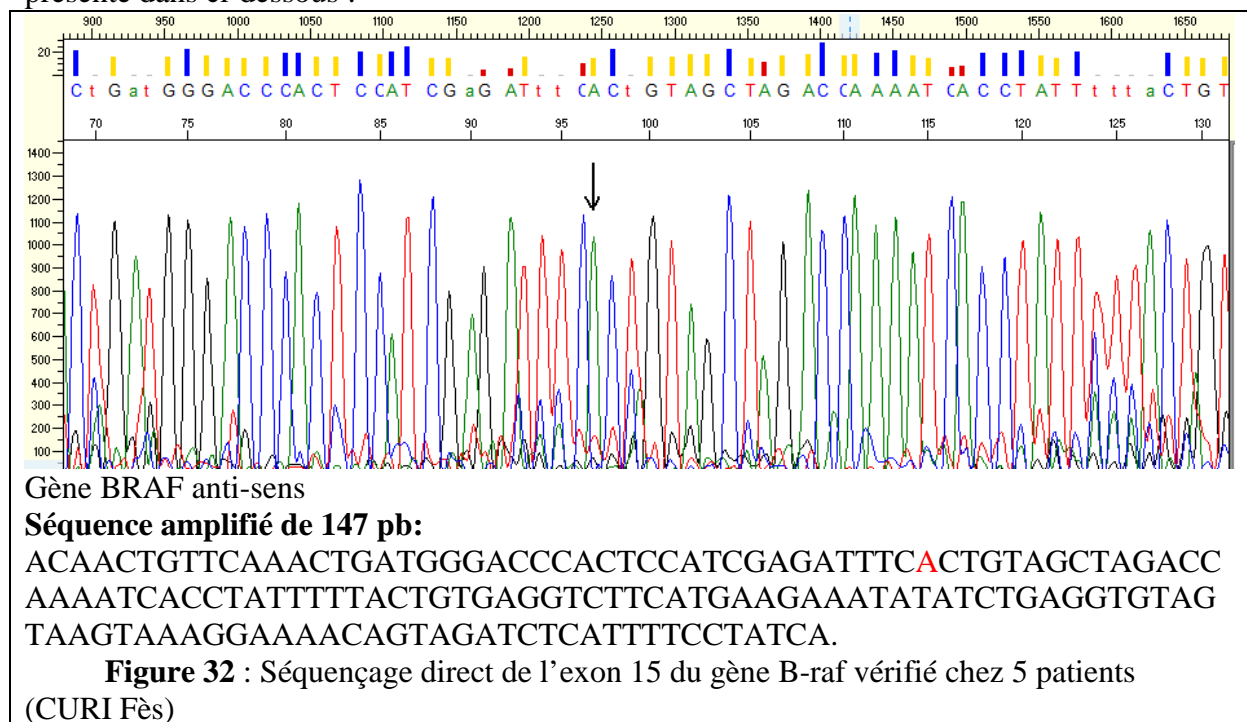


Figure 31 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des produits PCR du gène BRAF exon 15

Le résultat PCR montre une bande correspondant à la séquence amplifiée de l'exon 15 du gène BRAF d'une taille approximative de (143), pour 15 patients atteints du cancer colorectal. Les puits T correspondent aux témoins négatifs exempts d'ADN, et les puits M correspondent au marqueur de taille.

Les ADN amplifiés doit être séquencer afin de mettre en évidence la présence ou non de la mutation ponctuelle T1799A touchant l'exon 15 de ce gène. Cependant on n'a pas pu séquencer l'ADN des 15 patients.

Alors que, d'après les résultats précédents faite au laboratoire du génétiques au CHU Hassan II, la séquence du gène BRAF, et la position de la mutation ponctuelle si elle existe est présenté dans ci-dessous :



N.B : la base A en rouge montre la localisation de la mutation si elle existe. (A/T)

B-raf :

Score = 272 bits (147), Expect = 3e-71
 Identities = 147/147 (100%), Gaps = 0/147 (0%)
 Strand=Plus/Plus

```

Query 1
ACA A C T G T T C A A A C T G A T G G G A C C C A C T C C A T C G A G A T T T C A C T G T A G C T A G A C C A A A A T 60
|||||
Sbjct 1048718
ACA A C T G T T C A A A C T G A T G G G A C C C A C T C C A T C G A G A T T T C A C T G T A G C T A G A C C A A A A T 1048777

Query 61
C A C C T A T T T T T A C T G T G A G G T C T T C A T G A A G A A A T A T A T C T G A G G T G T A G T A A G T A A A G G 120
|||||
Sbjct 1048778
C A C C T A T T T T T A C T G T G A G G T C T T C A T G A A G A A A T A T A T C T G A G G T G T A G T A A G T A A A G G 1048837
  
```

```

Query 121      AAAACAGTAGATCTCATTTCCTATCA 147
                |||
Sbjct 1048838 AAAACAGTAGATCTCATTTCCTATCA 1048864
  
```

Figure 33 : Alignement entre le segment du gène BRAF amplifié par l’amorce BRAF-15R et le segment de référence dans les bases de données.

L’alignement montre un degré d’homologie de 100% pour la séquence de l’exon 15 du gène BRAF, ce qui confirme l’absence de la mutation T1799A. De façon plus spécifique, les mutations de gène BRAF surviennent presque exclusivement dans des CCR MSI sporadiques présentant une méthylation du gène MLH1.

Ces données suggèrent que les mutations activatrices de BRAF sont liées au caractère sporadique du phénotype MSI. Cette mutation est retrouvée plus rarement dans les cancers du côlon sporadiques sans MSI [37]. Dans ce dernier cas, elle serait associée à un moins bon pronostic [58]. La mutation V600E est ainsi étroitement corrélée à l’hyperméthylation du promoteur du gène MLH1 et donc à l’absence d’expression de ce dernier gène.

D’après un travail de Kadiyska et al., 2007, la mutation a été détectée chez 8 sur 140 patients atteints de CCR (5,7%) et présentant des caractéristiques communes telles que le statut MSI et la localisation approximative de la tumeur

Certains auteurs ont alors proposé d’associer systématiquement la recherche de cette mutation à la recherche de MSI, la présence de la mutation V600E affirmant un cancer sporadique en présence d’une tumeur colique avec MSI ce qui éviterait la recherche de mutations dans les gènes MMR.

Par ailleurs, la mutation sur le gène BRAF est le plus souvent mutuellement exclusive avec la mutation sur le gène KRAS, les mutations sur ce dernier gène étant essentiellement associées à un cancer du côlon sans instabilité de microsatellites.

D’après l’étude de Laurent-Puig P et al., en 2009 ; cinquante pour cent des malades dont le cancer ne présente pas de mutation de gène KRAS ne répondent pas aux anticorps anti-EGFR. Dans ce contexte, la mutation activatrice de BRAF, pourrait constituer d’autres biomarqueurs de résistance. Les mutations de BRAF, mutuellement exclusives de celles de KRAS, constituent un facteur de résistance aux anticorps anti-EGFR obéissant aux mêmes mécanismes que les mutations de KRAS. Il existe un point chaud de mutation au niveau du quinzième exon du gène BRAF, représentant plus de 90 % des mutations observées, responsable du changement d’une valine en acide glutamique en position 600 (V600E), du fait de la transversion T1799A. La région mutée correspond au domaine kinase de la protéine, qui est une sérine/thréonine kinase. La mutation de BRAF, outre sa valeur prédictive négative, représente également un facteur de très mauvais pronostic.

Donc on peut conclure que le rôle des mutations du gène BRAF chez les patients traités par des agents anti-EGFR est identique à celui joué par les mutations du gène KRAS. Ils proposent que l’analyse combinée des mutations de KRAS et BRAF soit utilisée pour sélectionner prospectivement les patients atteints de CCR éligibles pour un traitement par les anti-EGFR.

D’où la nécessité d’étudier par la biologie moléculaire la mutation du gène KRAS.

1.3 Résultats de PCR du gène KRAS exon 2 :

La PCR a été réussie pour les 15 patients en utilisant les deux amorces **KRAS 2 bis +** et **KRAS 2 bis-**. Ensuite, les produits d’amplification ont été visualisés sous UV après électrophorèse sur gel d’agarose à 2%. La spécificité des séquences d’ADN amplifiées a été confirmée par comparaison à un marqueur de taille. (Figure 34).

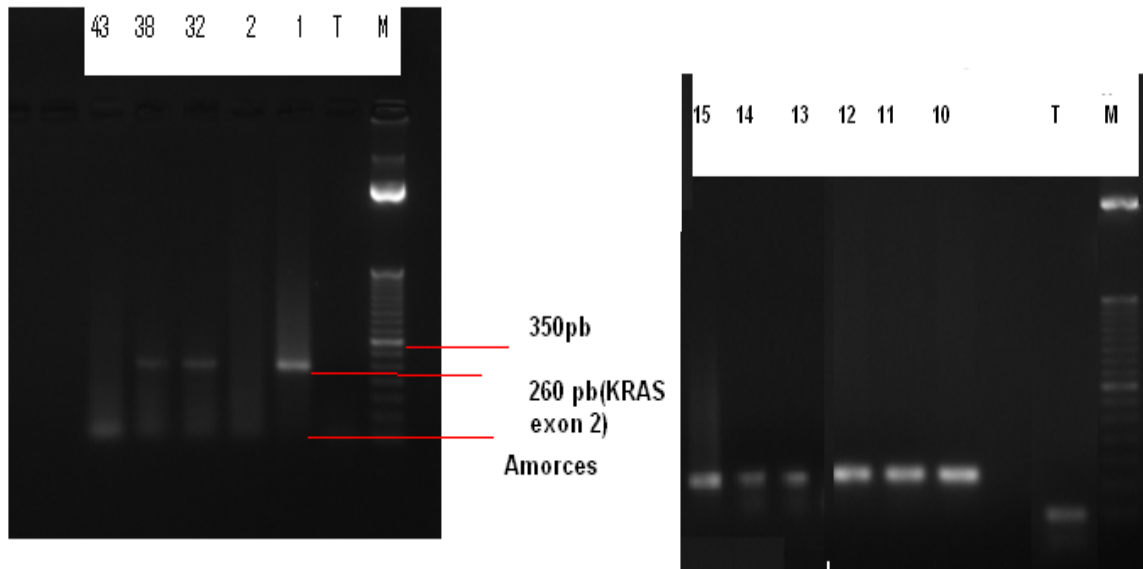


Figure 34 : Profil d'électrophorèse sur gel d'agarose à 2% des produits PCR du gène KRAS exon 2

Le résultat PCR montre une bande correspondant à la séquence amplifiée de l'exon 2 du gène KRAS d'une taille approximative de (110), pour 15 patients atteints du cancer colorectal. Les puits **T** correspondent aux témoins négatifs exempts d'ADN, et les puits **M** correspondent au marqueur de taille.

Ensuite les ADNs amplifiés correspondant au gène KRAS ont été séquencés afin de mettre en évidence la présence ou non des mutations touchant plus fréquemment les codons 12 et 13 de l'exon 2. Les résultats sont les suivants :

La séquence sauvage du gène KRAS exon 2 est la suivante:

Codon
d'initiation
cgggtttgtatt agGCCTGCTGAA↓A [ATG] ACTG AATATAAACTTGTGGTAGTTGGAGCTGGTGGCG
TAGGCAAGAGTGCCTTGACGATACAGCTAATTCAGAATCATTTTGTGGACGAATA
TGATCCAACAATAGAGgtaaactctgttttaatatgcatattactggtgcaggaccattcttgatacagataaacccg
codon 12
codon 13

D'après nos résultats la séquence qu'on trouve est ci-dessous :

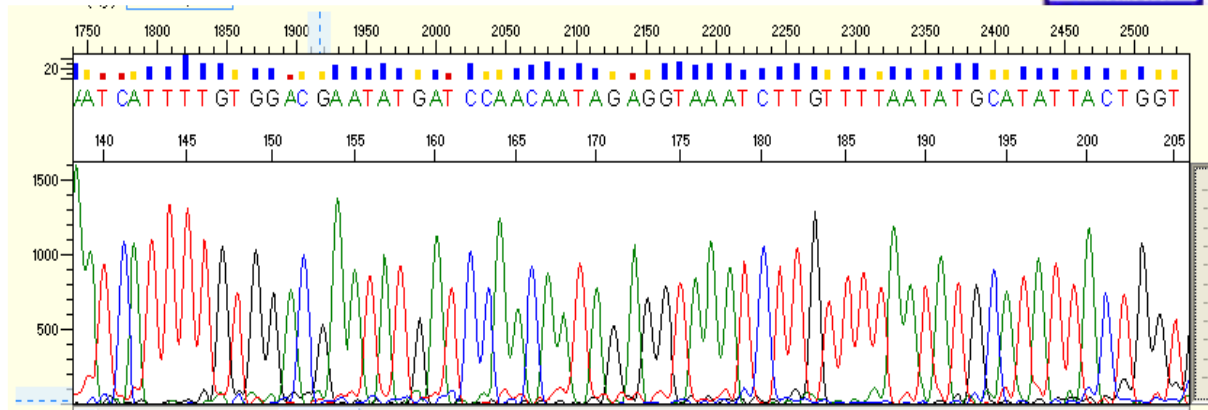


Figure 35: Séquençage direct de l'exon 2 du gène KRAS (CURI Fès)

La séquence amplifiée exon 2 de 115 pb:

GAGCTGGTGGCGTAGGCAAGAGTGCCTTGACGATACAGCTAATTCAGAATCATT
TGTGGACGAATATGATCCAACAATAGAGGTAAATCTTGTTTT

Le codon en rouge = codon 12 "G/A" "GT"

}

La position des mutations si elles existent

Le codon en bleu = codon 13 "G/A" "C"

Score = 180 bits (97), Expect = 1e-43
Identities = 97/97 (100%), Gaps = 0/97 (0%)
Strand=Plus/Minus

```

Query 1
GAGCTGGTGGCGTAGGCAAGAGTGCCTTGACGATACAGCTAATTCAGAATCATT TGTGG 60
|||||
Sbjct 18158414
GAGCTGGTGGCGTAGGCAAGAGTGCCTTGACGATACAGCTAATTCAGAATCATT TGTGG 18158355

Query 61
ACGAATATGATCCAACAATAGAGGTAAATCTTGTTTT 97
|||||
Sbjct 18158354
ACGAATATGATCCAACAATAGAGGTAAATCTTGTTTT 18158318

```

Figure 36 : Alignement entre le segment du gène KRAS amplifié par l'amorce KRAS 2-Bis+ et le segment de référence dans les bases de données.

L'alignement montre un degré d'homologie de 100% pour toutes les séquences de l'exon 2 qu'on a séquencé, ce qui confirme l'absence de la mutation des codons 12 et 13.

De nombreuses études ont démontré qu'en absence de mutations KRAS, le cetuximab et le panitumumab seuls ou en association avec d'autres anticancéreux (cf. 5-fluoro-uracil, irinotecan, oxaliplatine) amélioreraient la survie des patients et le taux de réponse anti-tumorale. En particulier le rôle du gène oncogénique KRAS a fait l'objet d'analyse approfondies ayant

abouti à la conclusion que la survenue de mutations de KRAS constitue un marqueur prédictif de la résistance aux anti-EGFR.

Quatre-vingt-dix pour cent de ces mutations sont situées sur les codons 12 et 13 du gène codant pour KRAS (70 % pour le codon 12 et 30 % pour le codon 13). Dans quelques cas, on en retrouve au niveau des codons 61 et 63. Rouleau E et al., en 2008 a été démontré, par ailleurs, que ces mutations étaient mutuellement exclusives de celles présentes sur le gène EGFR.

Plusieurs études ont comparé les patients ayant une mutation KRAS et ceux ne l'ayant pas au cours d'un traitement avec un anti-EGFR. De manière générale, chez les patients n'ayant pas la mutation KRAS sur les codons 12 et 13, 59,3 % obtenaient une réponse anti-tumorale lors d'un traitement contenant du cetuximab contre 43,2 % parmi ceux qui ne prenaient pas de cetuximab. En présence d'une mutation sur un des deux codons, il n'y avait plus de différence de réponse avec ou sans cetuximab. De manière plus générale, 3 % des sujets ayant une mutation KRAS répondent au traitement par les anti-EGFR contre 27 % des sujets n'ayant pas de mutation KRAS.

Conclusion et perspectives

L'utilisation de la biologie moléculaire et la génétique est devenue désormais un outil clé dans le diagnostic du cancer colorectal. Elles permettent à la fois la détermination des facteurs prédictifs de réponse aux thérapies ciblées anti-EGFR, par la recherche de mutations des gènes KRAS et BRAF et sélectionner les patients ayant une absence de mutations de ces gènes, pour prescrire un anticancéreux et éviter un traitement coûteux, non dénué d'effets toxiques potentiels.

mais aussi la détermination du statut MSI des tumeurs qui devrait être entreprise chez tout sujet présentant un cancer du colon avant l'âge de 60 ans pour adapter le traitement, et pour mieux déterminer le pronostic et de modifier les indications de chimiothérapie.

Vu l'importance de ce sujet certes très vaste et qui demande un travail laborieux, on n'a pas pu cerner toutes les études devant être mise en œuvre pour le dépistage et l'évaluation de la prédisposition héréditaire au CCR, nous citons :

- Etude des autres gènes de la prédisposition héréditaire au cancer colorectal par amplification et recherche de leur mutation caractéristiques à savoir :
 - Gènes MMR du système de réparation des mésappariements de l'ADN : MSH2, MLH1, PMS1, PMS2 ET MSH6 impliqués dans le syndrome HNPCC
 - Gène APC impliqué dans la polypose adénomateuse familiale PAF
 - Gène KRAS
- Analyse d'instabilité des microsatellites MSI par PCR multiplex
- Analyse de perte d'hétérozygotie qui atteint les chromosomes 5 et 18
- Caryotype métaphasique sur tumeur pour mise en évidence de la monosomie 18 dans les tumeurs colorectales
- Technique FISH sur tissu tumoral pour la détection du nombre de copies du gène de l'EGFR dans les tumeurs colorectales avant et après traitement avec les anticorps anti-EGFR.