

Intérêt des Dosages Sériques de la Protéine C Réactive (CRP), de l'Antigène Carcino Embryonnaire (ACE) et de la Lactico-déshydrogénase (LDH) dans le Cancer Colorectal.

Hajer Abaza*, Abderraouf Ghanem*, Aouatef Jmal*, Hamouda Boussen***, Latifa Harzallah*, Khaled Rahal**, Fethi Guemira*.

*- Service de Biologie Clinique. **- Service de chirurgie. ***- service de médecine.
Institut Salah Azaiz Tunis.

H.Abaza, A. Ghanem, A. Jmal, H. Boussen, L. Harzallah, K. Rahal, F. Guemira.

H.Abaza, A. Ghanem, A. Jmal, H. Boussen, L. Harzallah, K. Rahal, F. Guemira.

Intérêt des dosages sériques de la protéine c réactive (crp), de l'antigène carcino embryonnaire (ace) et de la lactico-déshydrogénase (ldh) dans le cancer colorectal.

Importance of determination of protein C reactive (CRP), antigen carcino embryonnaire (ACE) and lactico-déshydrogénase (LDH) in cancer colorectal

LA TUNISIE MEDICALE - 2010 ; Vol 88 (n°06) : 409 - 413

LA TUNISIE MEDICALE - 2010 ; Vol 88 (n°06) : 409 - 413

R É S U M É

But : Evaluer et montrer l'intérêt du dosage de la réactive C protéine (CRP), de l'Antigène carcino embryonnaire et de la lactico-déshydrogénase (LDH) dans le cancer colorectal.

Méthodes: Notre travail prospectif a concerné 30 malades présentant un cancer colorectal, colligés sur une période de 13 mois allant de Mars 2003 à avril 2004. La population témoin constituée par 30 individus non cancéreux en bonne santé, a la même représentation selon l'âge et le sexe. Tous nos malades ont eu trois prélèvements de sang veineux : le premier avant tout prélèvement, le second 24 à 48 heures après la chirurgie et le troisième six mois le premier prélèvement.

Résultats : La comparaison des moyennes entre les malades et les témoins montre l'existence d'une différence significative pour les trois paramètres étudiés (CRP, LDH et ACE) avec un p respectivement de (0,001 ; 0,023 et 0,001). Nous avons trouvé une différence significative pour les trois paramètres étudiés en comparant les valeurs selon les stades.

Au cours de l'évolution, nous avons noté une normalisation de la moyenne de la LDH, de la CRP et de l'ACE chez tous les patients dont l'évolution était favorable. L'étude des survies à 2 ans montre que les survies étaient meilleures pour les malades ayant un taux normal de la CRP, de la LDH et de l'ACE.

Conclusion : Le dosage de la CRP, LDH et ACE est utilisé pour le suivi.

S U M M A R Y

Aim : Evaluate and show the importance of CRP, ACE and LDH in colorectal cancer.

Methods: Our prospective study interested 30 patients, from 26 to 93 years old and present a colorectal cancer, confirmed histologically, during the period going from March 2003 to April 2004, and 30 healthy controls. A blood sample was collected from each patient respectively in preoperative, 48 hours before any treatment, and 6 months after surgical operation to measure serum LDH, CRP, and ACE.

Results: The mean serum of LDH, CRP and ACE values were significant higher in patients than those in controls (p respectively: 0,01; 0,04 et 0,01). Moreover, the level of three parameters varied significantly with stages of tumor. After follow up, we have noticed a normalisation of the mean of the level of LDH, CRP and ACE with favorable evolution. Analysis of survival at 2 years shows that survival is better in patients with normal value of CRP, ACE and LDH.

Conclusion : CRP, LDH and ACE values have a great importance during follows up after colorectal cancer surgery.

M o t s - c l é s

Cancer colorectal, lactico-déshydrogénase, protéine C réactive, Antigène carcino embryonnaire, survie.

Key - words

Colorectal cancer, lactic deshydrogenase, C reactive protein, antigen carcino embryonnaire, survival.

Le cancer, qu'il soit sporadique, familial ou héréditaire, résulte d'une prolifération cellulaire qui échappe aux régulations homéostatiques de l'organisme et engendre des modifications cellulaires aussi bien structurales, morphologiques que métaboliques. La cellule se distingue de la cellule saine par son métabolisme et relargue notamment dans les liquides biologiques, des substances spécifiques que l'on peut distinguer de l'état biologique basal de la cellule saine.

Les cancers colorectaux représentent 10 à 15% de l'ensemble des cancers dans le monde [1]. En Tunisie, le cancer colorectal constitue le deuxième cancer digestif après le cancer gastrique [2]. Les marqueurs tumoraux utilisés dans la prise en charge des cancers colorectaux ne sont ni spécifiques de cancers, ni spécifiques d'organes. Dans ce travail prospectif, nous nous sommes proposés d'évaluer et de montrer l'intérêt du dosage de la protéine C réactive (CRP), de l'antigène carcino embryonnaire (ACE) et de la lactico déshydrogénase (LDH) dans le cancer colorectal.

MATERIEL ET METHODES

Notre travail prospectif a intéressé 30 malades présentant un cancer colorectal, pris en charge par le comité thérapeutique de Chirurgie de l'Institut Salah Azaiz et colligés sur une période de 13 mois allant de Mars 2003 à Avril 2004. La population témoin a été représentée par 30 individus non cancéreux en bonne santé, ayant la même représentation selon l'âge et le sexe.

Tous nos malades ont eu trois prélèvements de sang veineux : le premier avant tout traitement, le second 24 à 48 heures après la chirurgie et le troisième six mois après le premier prélèvement. Les sujets témoins ont eu un seul prélèvement. L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide d'un logiciel SPSS.

* La comparaison des moyennes entre les malades et les témoins, a été effectuée par le test non paramétrique de Mann Witney.

* La survie a été évaluée par la méthode de Kaplan- Meier.

* La comparaison des différentes courbes de survie a été faite par le test de Log-Rank.

* Une valeur de $p < 0,05$ a été considérée comme statistiquement significative.

RESULTATS

L'âge moyen de nos patients était de 61 ± 15 ans avec des extrêmes de 26 et de 93 ans.

Nos malades sont répartis en 17 hommes et 13 femmes avec un sex- ratio de 1,3. La localisation tumorale était rectale, colique et rectosigmoïdienne respectivement dans 60%, 23,3% et 16,7% des cas. Au moment du diagnostic 9 malades étaient métastatiques d'emblée (6 hépatiques, 1 pulmonaire, 1 ovarienne avec métastases hépatiques et pulmonaires).

Le diagnostic des tumeurs colorectales a été confirmé par l'examen anatomopathologique. Il s'agissait d'un

adénocarcinome bien différencié dans 76% des cas, moyennement différencié dans 17% des cas et indifférencié dans 7% des cas. Après le bilan d'extension et à l'issue des constatations opératoires et histologiques ; 3,3% de nos malades étaient classés stade A, 50% stade B, 16,7% stade C et 30% stade D.

Les moyennes et les écart- types des paramètres étudiés chez les malades (avant traitement) et les témoins sont illustrés dans le tableau I. Nous avons noté :

* Une élévation de la CRP (>10 mg/l) chez 22 malades (73,3% des cas).

* Une augmentation de l'activité de la LDH (> 400 UI/l) chez 21 malades (70% des cas).

* Un taux élevé de l'ACE (> 10 ng/ml) chez 20 patients (66,6% des cas).

La comparaison des moyennes entre les malades et les témoins montre l'existence d'une différence significative pour les 3 paramètres étudiés (CRP, LDH et ACE) avec un p respectivement de (0,001 ; 0,023 et 0,001) (tableau I).

Tableau 1 : Comparaison des moyennes des paramètres biochimiques étudiés entre les malades et les témoins.

Paramètres	Malades	Témoins	p
CRP (mg/l)	58 ± 47	$8,1 \pm 6,9$	0,001
LDH (UI/l)	628 ± 552	386 ± 64	0,023
ACE (ng/ml)	59 ± 51	$5,2 \pm 3$	0,001

Par ailleurs nous avons comparé les moyennes des paramètres étudiés selon les données cliniques (type histologique, siège de la tumeur, stade de la tumeur). Nous avons noté une différence significative entre les malades ayant une forme histologique bien différenciée (23 cas) et ceux ayant une forme moyennement différenciée et indifférenciée (7 cas) pour la CRP et l'ACE (Tableau II).

Tableau 2 : Comparaison des moyennes selon le type histologique

Paramètres	Bien différencié	Moyennement différencié et indifférencié	p
LDH (UI/l)	610 ± 308	634 ± 304	0,9
CRP (mg/l)	48 ± 32	$73,4 \pm 31$	0,01
ACE (ng/ml)	41 ± 27	65 ± 32	0,04

Nous avons trouvé aussi, une différence statistiquement significative pour les 3 paramètres étudiés en comparant les valeurs selon les stades (Tableau III).

Tableau 3 : Comparaison des moyennes selon la localisation tumorale.

Paramètres	Rectum	Colon + rectosigmoïde	p
LDH (UI/l)	681 ± 339	580 ± 331	0,08
CRP (mg/l)	$59,5 \pm 45$	$56,5 \pm 23$	0,09
ACE (ng/ml)	61 ± 23	58 ± 23	0,5

Par contre nous n'avons pas trouvé de différence significative pour les paramètres étudiés selon la localisation tumorale (Tableau IV).

Tableau 4 : Comparaison des moyennes selon le stade de la maladie.

Paramètres	Stades A, B et C	Stade D	p
LDH (UI/l)	308 ± 106	729 ± 249	0,005
CRP (mg/l)	42 ± 20	70 ± 45	0,04
ACE (ng/ml)	33 ± 17	73 ± 43	0,008

Au cours de l'évolution, nous avons noté une normalisation de la moyenne de la LDH, de la CRP et de l'ACE chez tous les patients dont l'évolution était favorable.

Par contre, les malades ayant une évolution défavorable, ont gardé une valeur moyenne pathologique pour tous les paramètres étudiés (figures 1, 2 et 3).

Figure 1 : Evolution du taux de la LDH

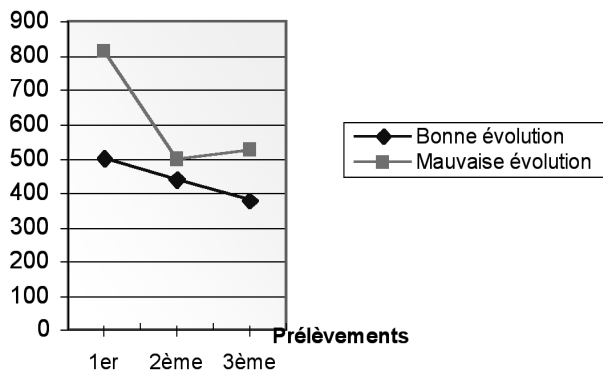


Figure 2 : Evolution du taux de la CRP

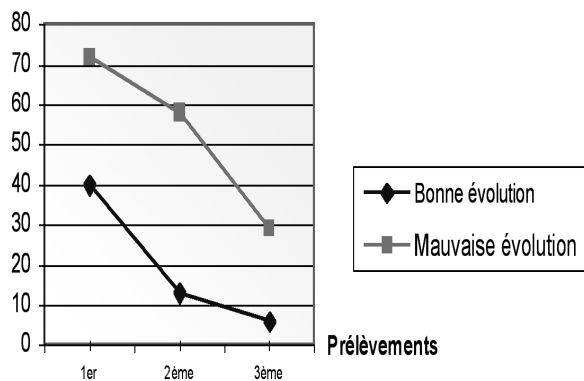
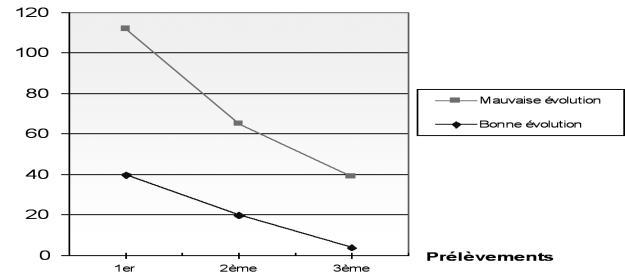
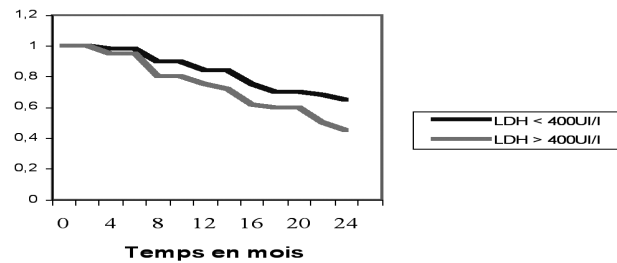


Figure 3 : evolution du taux de la ACE



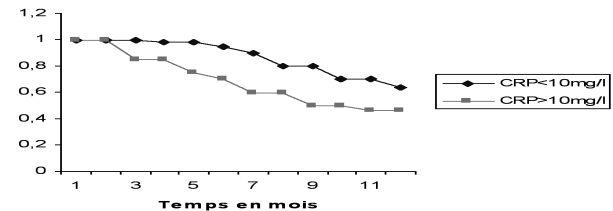
Dans notre série, la survie globale, était de 63,3% à 1 an et de 48,9% à 2 ans. La comparaison de la survie à 2 ans chez les malades ayant un taux normal de LDH avant traitement et ceux ayant un taux élevé a montré une différence significative ($p=0,03$) (Figure 4).

Figure 4 : comparaison des survies selon le taux de la LDH



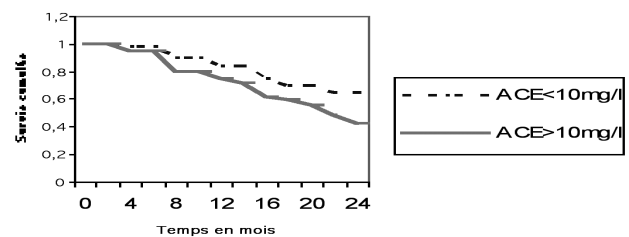
Les patients ayant un taux initial de CRP inférieur à 10 mg/l avaient une survie significativement meilleure que les patients ayant un taux initial de CRP supérieur à 10mg/l ($p = 0,04$) (Figure 5).

Figure 5 : comparaison des survies selon le taux de la CRP



Les patients ayant un taux initial d'ACE inférieur à 10 ng/ml avaient une survie à 2 ans significativement meilleure par rapport aux patients ayant un taux d'ACE supérieur à 10 ng/ml ($p = 0,04$) (Figure 6).

Figure 6 : comparaison des survies selon le taux de l'ACE



DISCUSSION

La gamme des marqueurs tumoraux dosable s'élargit de jour au jour, et même si certains auteurs ne sont pas discriminatifs d'un processus bénin ou malin, leur utilité reste considérable dans l'appréciation de l'effet thérapeutique et dans la surveillance de l'évaluation après traitement.

L'ACE est une protéine oncofœtale, synthétisée principalement dans certaines portions du tube digestif : langue, œsophage distal, intestin grêle, colon et rectum. Cette protéine est très fortement exprimée par de nombreux adénocarcinomes, en particulier colorectaux, mammaires et pulmonaires [3]. Dans le cancer du colon, le gène de l'ACE est surexprimé. Bien qu'il reste le marqueur tumoral circulant le plus demandé dans les cancers du tractus gastro-intestinal, la place et l'utilité réelle de l'ACE, dans l'exploration de ces cancers, ont fait l'objet de nombreuses et longues controverses [1,4].

L'élévation du taux sérique de l'ACE varie selon les études de 43 à 63% dans les cancers colorectaux [2, 3, 5]. Dans notre étude, elle était de 66,6%. De nombreuses études [3, 6, 7] ont montré que la sensibilité de l'ACE varie selon les stades, elle est faible pour les stades précoces et augmente au fur et à mesure que le stade est plus avancé. Nos résultats confirment les données de la littérature puisque nous avons trouvé une différence significative de l'ACE selon les stades de la maladie. Cependant, l'ACE garde son intérêt dans le suivi de la maladie. Selon la littérature, sa normalisation est obtenue en 30 jours en moyenne après résection complète de la tumeur primitive. La persistance 6 semaines après traitement chirurgical d'une valeur élevée de l'ACE indique la présence de reliquats tumoraux [8, 9]. L'analyse de nos résultats confirme ces données, puisque nous avons trouvé une corrélation entre l'évolution de la maladie et la variation sérique de ce marqueur. Par ailleurs une concentration sérique initiale élevée de l'ACE est un facteur de pronostic défavorable [10, 11, 12]. La valeur préopératoire de l'ACE peut être utile, pour distinguer, parmi les patients sans envahissement ganglionnaire, ceux qui sont à haut risque de récurrence. Dans une étude japonaise multicentrique [13] individualisant 610 cancers coliques, le risque relatif de récurrence, associé à une concentration sérique préopératoire de l'ACE supérieure à 2,2 ng/ml, est évalué à 1,55 ($p = 0,022$). Une étude menée par Slentz et al [4] sur 428 sujets atteints de cancer colorectal rapporte un taux de survie à 5 ans significativement meilleur chez les patients ayant un taux initial d'ACE normal ($<5\text{ ng/ml}$), comparés à ceux avec un taux élevé ($>5\text{ ng/ml}$) (64% vs 53%, $p < 0,05$). Nos résultats montrent que le taux de survie à 2 ans chez nos malades était significativement meilleur chez les patients ayant un taux initial inférieur ou égal à 10 ng/ml , par rapport à ceux dont le taux est supérieur à 10 ng/ml (68% vs 44%, $p = 0,04$).

La CRP est la protéine classique de la phase aiguë de l'inflammation. Elle est synthétisée dans le foie, en réponse à des stimuli inflammatoires où l'IL6 joue un rôle essentiel [14, 15]. Elle a été largement utilisée en clinique dans le diagnostic, l'évaluation du pronostic et la surveillance de l'efficacité des traitements de nombreuses maladies humaines à composante

inflammatoire, telles que les infections bactériennes, les maladies inflammatoires, la nécrose ischémique et dans certains cancers (les lymphomes, la maladie de Hodgkin, les carcinomes et les sarcomes) [16, 15]. Au cours des cancers, l'élévation de la CRP est attribuée à une stimulation de sa synthèse hépatique par les cytokines proinflammatoires IL1, IL6 et TNF dont l'élévation serait liée au potentiel malin de ces tumeurs et à l'état de cachexie [17, 18].

La corrélation de son taux avec le stade de la maladie a été retrouvée par plusieurs auteurs [15, 19]. Nielson et al [19] dans leur étude sur 594 patients atteints d'un cancer colorectal trouvent que l'élévation de la moyenne de la CRP est corrélée avec le stade de la maladie, avec des valeurs plus élevées chez les patients au stades avancés.

Dans notre série 22 malades (73,3% des cas) avaient un taux sérique élevé de la CRP. En outre nous avons noté qu'il existe une différence significative entre les moyennes de la CRP des malades avec métastases et ceux sans métastases ($p = 0,04$).

L'élévation de la CRP dans les cancers serait donc un indicateur du potentiel malin et un critère de présomption de la présence de métastases.

La valeur pronostique de la CRP a été démontrée dans de nombreuses formes de cancer tels que le cancer de la prostate, le cancer de la vessie, le cancer rénal, le carcinome hépatique, le cancer colorectal...[20, 21, 22, 23]. Dans le cancer colorectal, une étude menée par Nozoe et al [18] sur 120 malades, rapporte un taux de survie à 2 ans significativement meilleur chez les malades avec une valeur préopératoire de la CRP normale par rapport à ceux ayant un taux élevé (89,8% vs 47,3%, $p < 0,001$). Nikitea et al [24] trouvent dans leur étude, réalisée sur 74 malades, qu'un taux initial élevé de CRP avant traitement prévoit un mauvais pronostic et inversement.

Dans notre étude, nous avons noté une différence significative entre le taux préopératoire de la CRP chez les malades à évolution clinique différente (favorable vs défavorable) ($p = 0,001$). En plus, les malades ayant un taux initial inférieur ou égal à 10 mg/l présentent une survie à 2 ans significativement meilleure que ceux dont le taux est supérieur à 10 mg/l (64,8% vs 46%, $p = 0,04$). Nos résultats confirment les données de la littérature [19, 24]. La LDH est une enzyme d'oxydoréduction qui participe à l'étape finale de la voie glycolytique en catalysant la réaction réversible entre l'acide lactique et l'acide pyruvique. L'élévation de la LDH sérique s'observe dans des affections aussi diverses que les processus néoplasiques, les anémies hémolytiques et mégaloblastiques, les infarctus du myocarde, les hépatopathies et les dommages musculaires squelettiques [25, 26, 27].

Dans les cancers l'activité totale de la LDH sérique est attribuée à une libération de l'enzyme à partir des cellules malignes. Il a été démontré que cette élévation est plus fréquente dans certains cancers tels que les leucémies, les lymphomes et les tumeurs à cellules germinales [26, 27]. Selon plusieurs études, dans plusieurs types de cancer, l'activité sérique de la LDH est corrélée au stade de la maladie [27, 25]. Dans notre étude, sa sensibilité varie selon le stade de la maladie. En effet, elle est de 61,9% pour les malades classés stades A, B et C et de 88,8% pour ceux classés stade D.

La comparaison des moyennes de la LDH entre les malades métastatiques (stade D) et non métastatiques (A, B et C) montre une différence significative ($p = 0,005$). Au cours du suivi, nous avons noté une baisse significative des valeurs de la LDH chez les malades avec évolution favorable. De ce fait la LDH sérique, serait intéressante à considérer comme marqueur biologique pour le suivi clinique (réponse au traitement et apparition des métastases) des malades ayant un cancer colorectal. En outre, la LDH possède une valeur pronostique démontrée dans de nombreuses formes de cancer (lymphomes non hodgkinien, tumeurs germinales, cancer de la sphère ORL, cancer colorectal...) [25, 26, 27]. C'est ainsi que des taux sériques élevés avant traitement prévoient un mauvais pronostic et inversement. Cerdan et al (20) dans leur étude sur 236 patients atteints de cancer colorectal, rapportent qu'un taux initial de LDH $> 190\text{mU/ml}$ multiplie le risque de décès par 1,64. Lin et al [28], sur une série de 45 malades trouvent que les

taux sériques de la LDH en préopératoire est un facteur majeur prédictif de survie. Ainsi la survie était significativement meilleure chez les malades ayant un taux initialement normal, comparés à ceux ayant un taux élevé ($p = 0,01$). Dans notre série la survie à 2 ans était significativement meilleure chez les patients ayant un taux initial normal de la LDH ($< 400\text{UI/l}$) comparés aux autres patients chez qui le taux était supérieur à 400UI/l (65% vs 45%, $p = 0,03$).

CONCLUSION

L'évaluation du pronostic ainsi que le suivi évolutif du cancer colorectal, l'intérêt doit se porter particulièrement à l'appréciation des taux sériques de l'ACE, de la LDH et de la CRP. Il serait donc intéressant d'évaluer à l'état basal en vue de suivre leur évolution après traitement dans le cancer colorectal.

Références

1. Benhamiche AM. Cancer du colon : Epidémiologie descriptive et groupes à risque élevé. *Gastroentérol Clin Biol* 2004 ; 28 :21-32.
2. Bedioui H. La prise en charge des adénocarcinomes du colon. A propos de 55 cas. Thèse de Médecine Tunis 2001.
3. Bel Hadj Hmida Y, Tahri N, Sellami A, Yangui N, Jilidi R, Beyrouiti MI et al. Sensibilité, spécificité et valeur pronostique de l'ACE dans le cancer colorectal : résultats des séries tunisiennes et revue de la littérature. *Tunis Med* 2001 ; 79:434-40.
4. Slentz K, Senagore A, Hibbert J, Mazier WP, Talbott TM. Can preoperative and postoperative CEA predict survival after colon cancer resection? *Am Surg* 1994; 60: 528-32.
5. Hamdani I. Les cancers colorectaux. Profil épidémiologique et évolutif. A propos de 150 cas. Thèse Médecine Tunis 2004.
6. Fernandes L, Kim SB, Matos D. Cytokeratines and carcinoembryonic antigen in diagnosis, staging and prognosis of colorectal cancer. *World J Gastroenterol* 2005; 11:645-8.
7. Schwartz M K. Lactic dehydrogenase. An old enzyme reborn or a cancer marker. *Am J Clin Path* 1991; 96:441-3.
8. Bonthius D, Landheer M, Bilgen E, Sloomans F, Lier H. Small but significant survival benefit in patients who undergo routine follow-up after colorectal cancer surgery. *European Journal of Surgical oncology* 2004; 30:1093-7.
9. McCall JL, Black R, Rich C, Harvey J, Baker R, Watts J. The value of serum carcinoembryonic antigen in predicting recurrent disease following curative resection of colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 1994; 37:875.
10. Cerdan F, Diez M, Gomez JJ, Balibrea JL. The prognostic value of common predictive variables in rectal cancer. *Rev Esp Enferm Dig* 1995; 87:205-10.
11. Forones N, Tanaka M. CEA and CA19-9 as prognostic indexes in colorectal cancer. *Hepatogastroenterology* 1999; 46:905.
12. Reiter W, Stieber P, Reuter C, Nagel D, Lau-werner U. Multivariate analysis of the prognostic value of CEA and CA 19-9 serum levels in colorectal cancer. *Anticancer Res* 2000; 20:5195-8.
13. Chen CC, Yang Sh, Lin JK, Lin TC, Chen W Jiang JK et al. Is it reasonable to add preoperative serum level of CEA and CA 19-9 to staging for colorectal cancer? *J Surg Res* 2005; 124:169-74.
14. Casamassima A, Picciariello M, Quarranta M, Berardino R, Ranieri C et coll. C-reactive protein : a biomarker of survival in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with subcutaneous interleukin-2 based immunotherapy. *J Urol* 2005;173 :52-5.
15. Kami J, Kowalska M, Noacki M, Chwali M, Rysi A, Fuksiewicz M. CRP, TNF α , IL-1, IL6, IL8 and IL10 in blood serum of colorectal cancer patients. *Path Oncol Res* 2000;6:38-41.
16. Hatada T, Miki C. Nutritional status and postoperative cytokine response in colorectal cancer patients. *Cytokine* 2000; 12:1331-6.
17. Erlinger T, Platz E, Rifai N, Helzlsouer K. C-reactive protein and the risk of incident colorectal cancer. *JAMA* 2004; 291:585-90.
18. Nozoe T, Matsumata T, Kitamura M. Significance of preoperative elevation of serum C-reactive protein as an indicator for prognostic in colorectal cancer. *Am J Surg* 1998;176:335-8.
19. Nielson H, Christensen I, Sorensen S. Preoperative plasminogen activator inhibitor type-1 and serum C-reactive protein levels in patients with colorectal cancer. *Ann Surg Oncol* 2000; 7:617-23.
20. Elahi MM, Mc Milan D, Mc Ardle C, Angerson W, Sattar N. Score based on hypoalbuminemia and elevated C-reactive protein predicts survival in patients with advanced gastrointestinal cancer. *Nutr Cancer* 2004; 48:171-3.
21. Hashimoto K, Ikeda Y, Korenaga D, Tanoue K, Hamatake M. The impact of preoperative serum C-reactive protein on the prognosis of patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer* 2005; 103:1856-64.
22. Mahmoud FA, Rivera NI. The role of C-reactive protein as a prognostic indicator in advanced cancer. *Curr Oncol Rep* 2002; 4:250-5.
23. Miki C, Konishi N, Ojima E, Hatada T, Inoue Y, Kusonoki M. C-reactive protein as a prognostic variable that reflects uncontrolled up-regulation of the IL-1, IL-6 network system in colorectal carcinoma. *Dig Dis Sci* 2004; 49:970-6.
24. Nikiteas N, Tzanakis N, Gazouli M. Serum IL6, TNF α and CRP levels in greek colorectal cancer patients: prognostic implications. *World J Gastroenterol* 2005;21:1639-43.
25. Henk J, Gerard TB, Rusol PH. The clinical value of lactate dehydrogenase in serum: a quantitative review. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35:569-79.
26. Mate J, Duran R, Lara S, Pajares JM, Moreno R. A study of the lactic dehydrogenase isoenzyme patterns in the adenoma-carcinoma sequence of the colon. *Hepatogastroenterology* 1993; 40:471-4.
27. Griffini P, Freitas I, Vigorelli E, Van Noorden CJ. Changes in the zonation of lactate dehydrogenase activity in lobules of rat liver after experimentally induced colon carcinoma metastases. *Anticancer Res* 1994; 14:2537-40.
28. Lin JT, Wang WS, Yen CC, Liu JH, Yang MH. Outcome of colorectal carcinoma in patients under 40 years of age. *J Gastroenterol Hepatol* 2005; 20:900-5.