

Pregledni prispevek/Review article

# KROMOGRANIN A IN NJEGOVA KLINIČNA UPORABNOST

CROMOGRANIN A AND ITS CLINICAL USE

---

*Rudi Pavlin*

Inštitut za patološko fiziologijo, Medicinska fakulteta, Zaloška 4, 1105 Ljubljana

---

 Prispelo 2003-03-10, sprejeto 2003-04-07; ZDRAV VESTN 2003; 72: 507-13

**Ključne besede:** kromogranin A; diagnostične vrednosti; neuroendokrini tumorji; enterokromafine celice želodca

**Izvelek** – Izhodišča. Staro splošno mnenje je bilo, da je sredica nadobistnice predvsem pomembna za ustrezen odziv na stres. Zdaj spoznavamo njen širši pomen. S kromograninom A, izločkom svojih kromafinih celic, in njegovimi peptidi na široko posega v fiziološka in patološka dogajanja v telesu. Določanje serumske koncentracije kromogranina A je dandanes najbolj v rabi kot pomoč pri diagnosticiranju predvsem neuroendokrinih tumorjev prebavne cevi.

Zaključki. V prispevku so opisani: njegova razširjenost v organizmu, biokemija in normalne in patološke vrednosti pri različnih patoloških procesih.

**Key words:** chromogranin A; diagnostic values; neuroendocrine tumors; gastric enterochromaffine cells

**Abstract** – Background. An old widely accepted opinion was that the medullary part of the suprarenal gland was primarily responsible for a adequate response to stress. Recently a broader significance of the gland has been recognised. The chromogranin A which is produced and secreted by its enterochromaffine cells is extensively involved in several physiological and pathological processes in the body. Determination of the serum concentration of chromogranin A is nowadays extremely useful for diagnosis of the neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract.

Conclusions. In the present article its localisation in the body and its biochemistry are described, as well as normal serum concentration values and their changes in various pathological states.

## Uvod

Pred dobrimi tremi desetletji so Blaschko in sod. v kromafinih celicah sredice goveje nadobistnice našli in opisali nenavadna barvna zrnca in jim dali ime kromogranini (1). Naslednji raziskovalci so še istega leta (1967) ugotovili, da jih kromafine celice ne le sintetizirajo, ampak tudi izločajo v kri hkrati s svojimi specifičnimi izločki (2). Tako se npr. pridružijo adrenalinu in noradrenalinu, izločenima iz mešičkov kromafinih celic, zato so jih nekateri imenovali tudi sekretogranini. Danes, po toliko letih od prvih opisov, še vedno ne poznamo glavnega fiziološkega pomena teh kromograninov, čeprav po drugi strani kar dobro poznamo njihovo biokemično in genetsko sestavo in nekatere učinke ter jih merimo kvantitativno v serumu pri številnih patoloških procesih. Vemo tudi, da so kromafina zrnca številna, premera 150–350 nm in da je najmočnejše v njih poleg kateholaminov zastopan kromogranin A (KgA), poleg njega pa so še druge KgA bolj ali manj sorodne snovi (npr. kromogranina B in C, peptidni hormoni) pa tudi kemično nesorodne snovi (npr. enkefalini, ATP, dopaminska betahidroksilaza, različne proteaze) (3). Histološko imajo te celice veliko afiniteto za kromove soli in zato ime kromafine celice in kromafina zrnca. Ime KgA je danes bolj v rabi kot ime sekretogranin I. Kromogranina B in C sta imunološko različna od KgA (4). Originalno so kromogranin B našli v hipofizi (4).

## Splošno o kromograninih

Kemično so kisli glikoproteini, topni v vodi, bogati glutaminske kisline (25%), aspartatne kisline in prolina (10%), sposobni vezanja kalcija in preprostega glikoziliranja, fosfatiranja in sulfatiranja (5, 6). Vsi imajo po več dibazičnih aminokislin (v eni molekuli KgA jih je 8 do 14), ki so pripravno mesto za njihovo morebitno proteolitično cepitev. Zato nekateri menijo, da so kromogranini predstopnja različnih biološko aktivnih peptidov. Spričo svojih bioloških značilnosti in klinične diagnostične uporabnosti je najpomembnejši med njimi KgA (sl. 1). Ugotovili so, da je v posameznem kromafinem zrcu goveda okoli 5000 molekul KgA (3).

$$\text{H}_2\text{N-peptid-vazostatin (1-76)-betagranin (1-113)-kromostatina (124-143)-pankreatatin (248-293)-parastatin (347-439)-COOH}$$

Sl. 1. Poenostavljena shematična struktura človeškega kromogranina A (v oklepajih so zaporedja aminokislin).

Koncentracijo serumskega KgA merijo z encimskim imuno-adsorbentnim testom in z radioimunskim testom (3). Občutljivost imunskega testa je 1 pg, radioimunskega pa 100 pg (3). KgA je zanesljiv in najbolj občutljiv biološki označevalec

večine neuroendokrinih tumorjev (NET), imunohistokemija pa pomaga pri ugotavljanju neuroendokrine narave tumorja (3). KgA je v vsaki neuroendokrini celici (7). Celice, ki niso neuroendokrinih izvora, nimajo KgA, npr. folikularne celice ščitnice, celice skorje nadobistnice, ki izločajo steroidne hormone, in spolne celice. KgA pa vselej najdemo v kromafinih celicah sredice nadobistnice, endokrinih celicah sprednje hipofize, parafolikularnih celicah ščitnice, glavnih celicah paratireoidee, otočnih celicah trebušne slinavke, neuroendokrinih celicah bronhusov in prebavne cevi, enterokromafinih celicah prostate, Merkllovih celicah kože (3, 6). Pozitivno se obarvajo tudi enterokromafine celice pri kroničnem gastritisu (6, 8). KgA je iz teh celic in ne iz gastrin izdelujočih celic. KgA je tudi v celicah vranice, bezgavk in priželjca.

Široka razprostranjenost KgA govori za njegovo pomembnost pri sekretornih celicah, vendar je v raznih tipih celic v različnih koncentracijah. Tudi drugi granini so tam, vendar v koncentracijah, različnih od KgA, kar spet nakazuje poseben pomen KgA.

KgA je tudi v živčnem tkivu. Ugotovili so ga v možganski skorji in možganski sredici, v sprednji in srednji hipofizi. Je tudi v motoričnih lumbalnih celicah in holinergičnih živčnih končičih v skeletnih mišicah (3) ter v perifernem simpatičnem živčevju.

KgA je zelo zanesljivo orodje za diagnozo NET (razpr. 1). Iz razpredelnice vidimo tudi, v katerih tumorjih so ga do zdaj našli. Največje vrednosti so izmerili pri karcinomih srednjega pračrevesa, feokromocitomi so na drugem mestu (7). Časovno povečevanje koncentracije KgA v kaki novotvorbi napoveduje napredovanje rasti tumorja.

Razpr. 1. Natančnost kromogranina A kot označevalca kakega NET (prirejeno po 6).

Neuroendokrini tumor	Natančnost (v odstotkih)
Karcinoid	80-100
Rak trebušne slinavke	100
Nedejavni tumor trebušne slinavke	70
Karcinoid + rak pankreatičnega otočka	80-100
Gastrinom	100
Karcinoid sprednjega pračrevesa	79
Karcinoid srednjega pračrevesa	87
Drobnocelični pljučni rak	45-75
Feokromocitom	60-90
Medularni rak ščitnice	47-100
Nevroblastom	33
Tumor aortnega teslesa	100

## Biokemija

KgA je pri človeku molekularne mase 48-60 kDa in je veriga 439 aminokislin (pri prašiču 430, pri miški 445) (6). Je močno hidrofilen z izoelektrično točko 4,5-5,0. Nekatera območja molekule KgA so homologna poznanim, kalcij vezujočim beljakovinam, npr. kalmodulinu. Proteaze v mešičku ga cepijo v peptide še za njegovega bivanja v celici. Pri tem sodeluje fibrinolitični encim plazmin (9). S cepljenjem nastajajo različni peptidi (vazostatin, betagranin, kromostatin, pankreastatin, parastatin, katestatin, neuropeptid Y in še drugi, ki jih manj poznamo). Izločajo se iz celice in imajo akrine in oddaljene učinke. Nekateri teh učinkov poznamo. Zanimivo je, da vplivajo tudi nazaj na sekretorno aktivnost endokrine celice, najbrž prek vpliva na specifične receptorje. Po vsebnosti številnih parov bazičnih aminokislin v KgA sklepamo, da bodo prej ali slej odkriti še drugi biološko aktivni peptidi (7). Mehaničnem, s katerim do zdaj odkriti peptidi iz KgA izvajajo svoje biološke učinke, je le malo pojasnjen. Še najbolj verjetno je posreden, prek receptorjev. Ne poznamo dejavnika za pregradnjo KgA v zaželeni peptid kot odgovor te ali one nevro-

endokrine celice. Vemo le, da so odgovori različni od tkiva do tkiva (6). Seveda pa mora celica imeti ustrezen receptor za določen peptid.

Oglejmo si nekaj bolj poznanih peptidov. *Pankreastatin* zavira izločanje inzulina in glukagona iz endokrinega dela trebušne slinavke. Poleg tega vpliva na izločanje iz parietalnih neuroendokrinih celic trebušne slinavke (6). *Betagranin* zavira izločanje iz paratireoidnih celic. *Vazostatin* zavira krčenje gladkih mišic žil in spodbuja adhezijo celic prek svojega vpliva na integrine (11, 12). Vrh tega pri zmanjšani koncentraciji serumskega kalcija zavira sproščanje paratireoidnega hormona in s svojim derivatom, imenovanim kromofungin, deluje celo antifungalno (13). *Katestatin* zavira nikotinsko holinergično sproščanje kateholaminov (14). *Parastatin* zavira izločanje paratireoidnega hormona iz paratireoidne žleze po dražljaju z majhno koncentracijo kalcija (7). *Kromostatin* vpliva na aktivnost kalcijevih kanalčkov v adrenalnih kromafinih celicah in zavira izločanje kateholaminov iz teh celic (15). Poznamo že njegov receptor. V trebušni slinavki zavira izločanje inzulina (16). *Neuropeptid Y* zvečuje vazokonstriktorsko aktivnost kateholaminov (17).

## Normalne vrednosti

Normalne vrednosti KgA v serumu odraslega človeka naj bi bile v območju med 20 in 100 µg/L seruma. Različni avtorji navajajo za normalne različne vrednosti, čeprav dosežene z isto metodo, večinoma radioimunska (razpr. 2). O vzrokih za te odklone lahko samo ugibamo (posebnosti oziroma odkloni v tehniki merjenja; shranjevanje seruma - KgA je razmeroma stabilna snov; stanje osebe, ki se ji odvzema kri - fiziološka simpatikoadrenalna aktivnost [18]; verjetne so tudi dnevne variacije [19, 20]) in mogoče še kaj.

Razpr. 2. Normalne vrednosti KgA pri človeku (v µg/L seruma).

Vrednosti	Avtor
48 ± 3,0	58
52	59
54 ± 3	18
57 ± 2	33
63 ± 5	93
78 ± 9	87
129 ± 12	86
102-322 (povpr. 212)	62

Normalne vrednosti so torej različne. Nobels (72) razločuje normalne vrednosti glede na starost in spol človeka. Tako imata oba spola v starosti od 6 do 50 let normalno povprečno vrednost 90 ± 24 µg/L, moški, starejši od 50 let, 106 ± 22, ženske nad 50 let pa 110 ± 36 µg/L. Nekaj avtorjev uporablja U (mednarodna enota), npr. Pirker 16,6 U/L (64), Bajetta 34,7 U/L (49), Tomassetti < 5 U/L (92).

Vrednosti odklona pa so pomembne pri preračunavanju odstotka zvečanja ali zmanjšanja koncentracije KgA pri posamezni bolezni in posameznem avtorju. Zato je dobro pri ustreznem navajanju poleg absolutnih števil vseh upoštevati odstotek zvečanja oziroma zmanjšanja pri posameznem avtorju za posamezno bolezen oziroma tumor.

So pa že opisani spodrsaljki pri tolmačenju koncentracij KgA. Napačno pozitivne dvige aktivnosti so videli pri bolnikih z okvaro ledvic, okvaro jeter, pri atrofičnem gastritisu in pri vnetni črevesni bolezni (6). Tudi bolniki, ki jemljejo zaviralce protonske črpalke, imajo lahen porast koncentracije KgA zavoljo hiperplazije želodčnih enterokromafinih celic po hipergastrinemiji (več v poglavju Želodec). Zelo velik telesni napor ali telesna travma do dvakrat zvečata vrednosti KgA (21).

Pri človeku je največja zaloga KgA v sredici nadobistnice. V hipofizi je četrt te količine (kar je presenetljivo veliko), v trebušni slinavki, želodcu in črevesju po 5%, v drugih endokrinih žlezah pa manj kot 1% (3). Poleg tega so našli KgA v razpršenih neuroendokrinih celicah v raznih organih, npr. v prostati,

pljučih in dojkah in še drugod (vranica, bezgavke, paratireoidea) (3). Peptide iz K<sub>g</sub>A so našli celo v mioendokrinih celicah srca hkrati z natriuretičnim peptidom (22).

Kaj je vzrok za normalno spontano sproščanje K<sub>g</sub>A iz sredice nadobistnice pri človeku, še ni pojasnjeno. Človeški serumski K<sub>g</sub>A kaže pulzatični ritem z vrhom vsakih 51 minut (18). Infuzija somatostatina zavre temeljne koncentracije K<sub>g</sub>A in zmanjša frekvenco in amplitudo sproščanja K<sub>g</sub>A (18). Zanimivo je, da se serumske koncentracije kateholaminov pri tem ne spremenijo, kar govori za to, da somatostatin bodisi zavre sproščanje K<sub>g</sub>A iz nesimpatikoadrenalnih virov ali pa da moti prestop K<sub>g</sub>A prek limfe v krvni obtok (18).

Na vprašanje, kaj zvečuje koncentracijo serumskega K<sub>g</sub>A, tudi če ni neuroendokrinega tumorja ali kake druge bolezni, je dal delni odgovor poskus, da so selektivno dražili različne endokrine žleze, koncentracija serumskega K<sub>g</sub>A pa se je zvečala edino po draženju sredice nadobistnice (18). Zvečala se je tudi po dodatku tiramina (25).

### Filogenija

Velike študije so bile napravljene na tkivih goveda, pri človeku je večina raziskav bila narejena na nadobistnicah in feokromocitomih, K<sub>g</sub>A je navzoč že zgodaj v evoluciji živih bitij. Imunska reaktivnost so ugotovili v protozojih, v parameciji, v drozofili (7). Ta ugotovitev kaže na funkcionalni pomen K<sub>g</sub>A v evoluciji. Našli so ga v različnih živalskih vrstah: žabi, ribi, raku, pticah, piščancih, plazilcih (5).

### Ontogenija

Pri človeku so prvi pojav K<sub>g</sub>A zaznali v zasnovi nadobistnic 6. do 8. tednu gestacijske dobe, pri 9. tednu pa že v velikih celicah, predstopnjah kromafinih celic (3). V endokrinih celicah prebavil se je imunoreaktivnost K<sub>g</sub>A pojavila hkrati s tipičnim peptidom teh celic, somatostatinom, v 8. tednu nosečnosti. Ob koncu nosečnosti sta pojav K<sub>g</sub>A in pojav adrenalina/noradrenalina časovno usklajena. To si razlagajo z indukcijo metilacije spričo povečane koncentracije kortizona v tem času (3).

### Biosinteza

Verjetno je za K<sub>g</sub>A le en gen (3). Človeški gen sestavlja 8 eksonov, lokus je na kromosomu 14, 32 in je tak pri vseh živalskih vrstah (24, 25). Sinteza kromogranina ni odvisna od sinteze ustreznega hormona oziroma neuropeptida v mešičku. Sinteza močno zvečujejo steroidi, zlasti kortikosteroidi (26). V poskusu po hipofizektomiji upade sinteza K<sub>g</sub>A zavoljo atrofije nadobistnic po pomanjkanju kortikosteroidov. In nasprotno: poskusno dajanje kortizola je zvečalo koncentracijo K<sub>g</sub>A (27). Mehanizem vplivanja kortizola na indukcijo biosinteze K<sub>g</sub>A ni znan. Estrogen pospešuje sintezo v hipofizi, ne pa v nadobistnici (28, 29). Hipoglikemija po inzulinu je močan dražljaj za izločanje K<sub>g</sub>A iz nadobistnic, serumska koncentracija K<sub>g</sub>A se je zvečala 1,7- do 14-krat (30). Pri bilateralno adrenalektomiranih bolnikih pa tega zvečanja ni bilo, kar dokazuje sredico nadobistnice kot vir za zvečanje serumske koncentracije K<sub>g</sub>A pri hipoglikemičnih stanjih (26).

## Izločanje, navzočnost v serumu in cerebrospinalni tekočini in končna usoda

Izločanje kateholaminov iz sredice nadobistnice vselej spremlja izločanje vseh topnih sestavin kromafinih zrn, vključno K<sub>g</sub>A (31, 32). Isto velja tudi pri izločanju noradrenalina iz simpatičnega živca, pri izločanju parathormona in insulina. Pri izločanju gre za mehanizem eksocitoze. Po izločanju iz kromafinega organa preide K<sub>g</sub>A v krvni obtok prek kapilar ali limfe. Za sredico nadobistnice so ugotovili, da se nasprotno

od kateholaminov večina K<sub>g</sub>A izloča v limfne žilice (3). Na ml človeškega seruma so z radioimunskim testom izmerili okoli 30–50 ng/ml pri zdravih kontrolah (33, 34), pri bolnikih z endokrinim tumorjem pa pomembna zvečanja. Nadalje, in to zna biti pomembno za kliniko, se je po blokadi simpatičnega živčevja z ganglijskim blokatorjem ali z neselektivnim blokatorjem neuroendokrinega izločanja, somatostatinom, serumska koncentracija zmanjšala za 25 do 48% (35). Polovična življenjska doba K<sub>g</sub>A v serumu je okoli 18 minut (36).

Nepojasnjeno je, zakaj je normalna koncentracija K<sub>g</sub>A v človeški cerebrospinalni tekočini 170 ng/ml (37, 38), torej večja od serumske. Mogoče gre za zvečano izločanje K<sub>g</sub>A iz možganov ali za daljše preživetje v cerebrospinalni tekočini (6). Serumska koncentracija je večja od normalne, kot smo že omenili, tudi pri popuščanju ledvic, kar pove, da sta ledvici mogoče bistveni za odstranjevanje K<sub>g</sub>A iz obtoka (39). Zato je ocena delovanja ledvic res potrebna za pravilno razlago zvečanja serumske koncentracije K<sub>g</sub>A (18). V ledvicah so ugotovili K<sub>g</sub>A v proksimalnih tubularnih celicah, kar govori za glomerulsko filtracijo K<sub>g</sub>A z naslednjo lizosomsko absorpcijo in razgradnjo. Proteaze v zrnih cepijo kromogranine normalno in spontano v raznih neuroendokrinih mešičkih z različno hitrostjo. V sredici nadobistnice je ta proces razmeroma počasen. K<sub>g</sub>A »živi« v kromafinih zrnih blizu 7 dni (40). Kako je s proteolizo v različnih tkivih? V trebušni slinavki teče proteoliza zelo hitro. Proteoliza K<sub>g</sub>A teče tudi po sprostitvi iz neuroendokrinih celic. Kako je s proteolizo v razmerah in vivo, ne vemo. Prvi poskusi so bili narejeni z reserpinom, ki je pospešil proteolizo K<sub>g</sub>A v kromafinih celicah (41).

Proteaze, ki sodelujejo pri proteolizi v pankreatičnih celicah, so že opisane. Po učinku so podobne tripsinu. Prav nenavadno spoznanje pa je, da je acetilholinesteraza vključena v razgradnjo K<sub>g</sub>A (42). So pa tudi ugovori (43).

### Uravnavanje biosinteze in izločanja K<sub>g</sub>A

Kot smo že omenili, se hkrati z ustreznimi hormoni ali neurotransmitorji iz neuroendokrinih celic izloča tudi K<sub>g</sub>A, npr. po splahnličnem draženju sredice nadobistnice. Podobno zmanjšanje koncentracije Ca<sup>2+</sup> v serumu hkrati z izločanjem paratireoidnega hormona pritegne tudi izločanje K<sub>g</sub>A. Kompenzacijsko se nato zveča sinteza K<sub>g</sub>A. Pri tem je odločilnega pomena sprostitvev znotrajceličnega Ca<sup>2+</sup>. Na tak način delujejo tudi drugi aktivatorji sinteze K<sub>g</sub>A, npr. bradikinin, prostaglandini E<sub>2</sub> in angiotenzin II (7). Ti dejavniki ne vplivajo na izločanje, ampak le na kopičenje K<sub>g</sub>A v celici. Neodvisno od teh dejavnikov delujejo steroidni hormoni. Glukokortikoidi spodbujajo, estrogeni pa zavirajo gensko ekspresijo za K<sub>g</sub>A v hipofizi, ravno nasprotno pa vplivajo na sintezo ustreznega hormona. Vendar so ti učinki nestanovitni, odvisni so od različnih dejavnikov v celici (7). Po dolgotrajnejšem dajanju verapamila pa se zmanjša serumska koncentracija tako K<sub>g</sub>A kot kateholaminov (44).

Ker so peptidi iz K<sub>g</sub>A v fizioloških koncentracijah zelo močni, domnevajo, da sodelujejo pri uravnavanju izločanja ustreznega peptidnega hormona. Zakaj pa bi endokrina celica zavirala sproščanje lastnega transmittorja in s tem zavrla njegovo delovanje, s tem da hkrati izloča močan statin (npr. kromostatin, pankreastatin, neuropeptid Y), ostaja čudno in nepojasnjeno. Koeslag s sod. (22) je postavil domnevo, da gre za obliko homeostaze s protiuravnavanjem. Verjetno obstaja časovni zamik med učinkom nadzorovane spremenljivke in nasprotnega uravnalnega dejavnika, katerega odgovor varira med obema. Tako naj bi nasprotno uravnalni par hormonov vodil nadzor nad koncentracijo glukoze v krvi. Drug primer: majhne vrednosti serumskega kalcija spodbude izločanje paratireoidnega hormona iz paratireoidnih žlez, hkrati pa zavirajo izločanje kalcitonina iz celic C ščitnice. Z naraščajočimi vrednostmi serumskega kalcija se zmanjša izločanje

paratiroidnega hormona, zveča pa kalcitonina, obeh skoraj linearno. Izločanje obeh hormonov pa zavira KgA, odvisno od odmerka. Skratka, medsebojno učinkovanje para nasprotno uravnajočih hormonov, ki se hkrati izločata v krvi s statinom, ki je sposoben, da zavre oba člana, napravlja fiziološko ravnovesje. To razloži, da ta sistem vsak odmik od ravnotežja avtomatično, preprosto in grobo povrne v prvotno ravnovesje. Rezultat je homeostaza. Dosežena je brez živčnega sodelovanja. Ta zamisel ne samo da razloži, zakaj je nasprotno uravnavna hormonska kontrola tako splošna v homeostazi, ampak tudi, prvič do zdaj, skuša pojasniti temeljni fiziološki pomen peptidov, izhajajoč iz KgA. Pove tudi, zakaj pomanjkanje (ali prebitok pri adenomatoznem izločanju) vsaj enega v nasprotno urejevalnem paru hormonov zapusti uničujoče posledice. Homeostaza je uničena. Hkrati nam pove, da se ravnotežje v protieuravnalnem sistemu ne da rekreirati, niti približno, s hormonskim nadomestnim dajanjem (22).

## Delovanje

Eno od najbolj preučevanih področij delovanja KgA je, da je KgA predstopnja aktivnih peptidov. Številni peptidi, izšli iz KgA, to potrjujejo. Ker pa so našli KgA tudi v tistih nevroendokrinih zrcih, ki ne vsebujejo kateholaminov, je odpadla prva teorija o delovanju KgA, da namreč vpliva izključno na vezavo kateholaminskih molekul v mešičku, vpliva pa tudi na genezo sekretornih zrc v nevroendokrinih celicah (45).

KgA veže v mešičkih kar veliko kalcija (152 nmolov na mg beljakovine v disociacijsko konstanto 54  $\mu\text{M}$ ) (3). Seveda je zanimivo vprašanje, kakšne so funkcionalne posledice te vezave kalcija s KgA? Mogoče KgA deluje kot beljakovina pri koncentriranju hormonov (46, 47). Kalcij bi zvečeval vezavo kateholaminov na KgA.

Skratka, KgA naj bi znotrajcelično:

- bil predstopnja biološko aktivnih peptidov,
- vezal kalcij in kateholamine,
- zaviral serinske proteaze,
- induciral sintezo mešičkov in jih stabiliziral proti rupturi (5, 30).

## Nevroendokrini tumorji

So novotvorbe, ki rastejo počasi in so klinično včasih težko ugotovljive. Večinoma izdelujejo in izločajo biološko aktivne snovi, ki so odgovorne za dostikrat hude simptome. Hormone in peptide, sproščene iz biološko aktivnih NET, uporabljamo kot označevalce tumorja, treba pa bi bilo dobiti tudi občutljive označevalce za tiste NET, ki so »biokemično nemi« in zato še težje ugotovljivi. Našli so, da so v serumu pri bolnikih z NET ne glede na hormonsko aktivnost ali neaktivnost vselej zvečane serumske koncentracije KgA. Ker ima KgA veliko senzibilnost in specifičnost, ga uspešno uporabljamo za diagnozo, prognozo in sledenje NET. To se je posebno izkazalo pri karcinoidih NET v prebavni cevi (6), kjer se je KgA izkazal kot najbolj zanesljiv in natančen (6, 48, 49). KgA je tudi uporaben test za označevanje NET brez hormonske aktivnosti (48, 50, 51). Pri NET je na splošno občutljivost med 70 in 95%, specifičnost pa med 70 in 80% (6) (razpr. 1).

NET v prebavilih sestavljajo predvsem karcinoidi in tumorji pankreatičnih otočkov, katerih polovica maligno degenerira (51). KgA je tudi tu odličen zaznamovalec (6, 48, 51). Največje vrednosti pa so našli pri karcinoidih srednjega pračrevesa. KgA v krvi zdravih ljudi je bil 0,4 do 2 nM, pri NET pa je porastel na 200 nM (52). Prav vsi bolniki z radiološko vidnim NET trebušne slinavke so imeli zvečane vrednosti serumskega KgA (51).

Po radikalni tumorrektomiji so se koncentracije KgA normalizirale, ob zdravljenju s somatostatinom pa hitro zmanjšale (6). Zato dandanes merjenje KgA pri teh tumorjih prinaša diagnozo, ocenitev naravnega razvoja tumorja in ovrednotenje uspeha zdravljenja (49, 53). Določanje KgA v serumu in po potrebi 5-HIAA v seču sta zdaj prednostna pred drugimi meritvami: neuropeptidom K, snovjo P, vazoaktivnim intestinalnim peptidom ali provokativnimi testi (49). Pri meritvah KgA so ugotovili, da večje vrednosti KgA ustrezajo bolj napredovalim tumorjem in njihovi invazivnosti (54). Posebno velja to za karcinoide (52).

Kaže, da KgA ni le preprost označevalec tumorja, pač pa tudi pospeševalec rasti tumorja (55). Kako učinkuje na rast tumorja, ne vemo. Zdravljenje s somatostatinom je simptomatsko (35, 50, 56), idealna pa je kirurška odstranitev tumorja (55).

## Feokromocitom in drugi endokrini tumorji

KgA ima pri feokromocitomu diagnostično občutljivost 83%, specifičnost pa 96%. Serumske vrednosti so izmerili značilno večje od vrednosti pri zdravih ljudeh (228 U/L nasproti 30 U/L) [53]; 1614 ng/ml nasproti 129 ng/ml [36]). Te vrednosti so skladne s kateholaminskimi v seču, trdijo Boosma in sod. (54). Strindberg in Husebuye (55) pa menita, da je KgA samostojen označevalec brez soglasnosti z izvidom seča. Pri okvarjenih ledvicah se vrednosti pri feokromocitomu zmanjšajo (56). Ni povezave med zvečanjem krvnega tlaka in stopnjo zvečanja serumskega KgA (57). Rao s sod. je pri benignem feokromocitomu izmeril  $188 \pm 40,5$  ng/ml serumskega KgA, pri malignem pa  $2932 \pm 96$  ng/ml (58). Po kemoterapiji sta se pri obeh tipih feokromocitoma vrednosti KgA zmanjšali. Vsi omenjeni avtorji in drugi (6, 59) se strinjajo, da je pozitivna povezava med serumsko koncentracijo KgA in gmoto feokromocitoma, ki pa se normalizira po kirurški odstranitvi feokromocitoma (53, 59).

Pri nevroblastomu je specifičnost KgA 83%, nevronske specifične enolaze pa 50%. Zanesljivost KgA za diagnozo nevroblastoma je odvisna od stopnje bolezni. Izvid KgA je koristen tudi pri kemoterapiji, ker odseva spremembe skladno z objektivnim odgovorom.

Za diagnozo *medularnega tumorja ščitnice*, *nevroektodermalnega tumorja* in *tumorja Merkllovih celic* KgA ni najbolj specifičen. Pač pa je za *pljučne karcinoide* in *tumorje gastroenteropankreasa*. Občutljivost je močno odvisna od razširitve bolezni ali razvitosti funkcionalnih tumorjev, največja je pri zasevkih. Po zdravljenju z bio- ali kemoterapijo se je vrednost KgA zmanjšala ali ostala nespremenjena (60).

Kar zadeva *tumorje v pljučih*, je vrednotenje KgA koristno le pri karcinoidih. Merjenje KgA pri drobnoceličnih tumorjih nima dodatne vrednosti glede na vrednotenje z nevronske specifično enolazo.

Velikocelični raki pljuč z nevroendokrini lastnostmi so klinično bolj napadalni od klasičnih velikoceličnih rakov in imajo velike vrednosti KgA.

In končno, KgA ima diagnostično vrednost pri zasevkih nevroendokrinih tumorjev, katerih primarnega sedeža ne poznamo. Tričetrtek takih bolnikov ima vrednosti KgA nad normalnimi (60).

## Kanceroid

Kanceroidni tumorji so hud diagnostični in terapevtski izziv. Pri diagnosticiranju je določanje serumskih vrednosti KgA dostikrat zelo koristno (61). Vsi dobro diferencirani gastrointestinalni NET so pozitivni na KgA, najbolj pa je v prebavni cevi zvečana koncentracija KgA pri kanceroidih srednjega pračrevesa (distalni del dvanajstnika in vse črevo do sredine transverzalnega kolona). Avtorji navajajo vrednosti od 155 do 100.000  $\mu\text{g/L}$  (62-65).

Operacijsko zdravljenje se je izkazalo kot najboljše, nekaj uspehov pa so dosegli s somatostatinom (66) ali lanreotidom (67). Pri zasevkih karcinoida v jetrih so vrednosti KgA zelo velike (959 do 8374 µg/L) (63). Bolniki s karcinoidom srednjega pračrevesa s serumsko vrednostjo nad 5000 µg/L imajo slabo prognozo (63).

Kar zadeva karcinoid v želodcu, smo že omenili, da je KgA v serumu občutljiv označevalec gmote enterokromafinskih celic in je izmeritev nujna pri bolnikih, ki dolgo prejemajo inhibitorje protonske črpalke. Koncentracija KgA je najbolj zvečana pri bolnikih s tipom 3 gastritisa, torej pri tistih, ki so brez hipergastrinemije kljub dolgoletnemu zauživanju statinov (68).

Pri primarnem kanceroidu v jetrih je 84% bolnikov imelo imunohistološko dokazan KgA (69).

## Želodec

Pri dolgotrajnem zaviranju želodčne kisline je serumska koncentracija KgA kazalnik navzočnosti in stopnje hiperplazije enterokromafinskih celic v želodčnem fundusu. Ključni dražljaj za to je antralni gastrin s svojim vplivom na izločanje histamina (70). Pri tem je KgA enako senzibilen test kot serumski gastrin, vendar bolj specifičen za ugotovitev hiperplazije (senzitivnost 91,3 pri obeh, specifičnost 73% nasproti 43%) (71). Pri gastrinomu ima koncentracijo KgA zvečano 100% bolnikov, pri feokromocitomu 89%, pri karcinoidih 80% (72).

Že predčasne toksikološke raziskave so pokazale, da se pri podganah, ki so dolgo časa dobivale antagonist histaminskih receptorjev tipa 2 ali inhibitorje protonske črpalke, razvije hiperplazija želodčnih enterokromafinskih celic in nato karcinoidni tumor (71). Gastrin namreč spodbuja tudi nastajanje KgA (70). Večina človeških želodčnih karcinoidov zraste pri tipu A kroničnega gastritisa ali pri bolnikih z gastrinomom (73). Tudi pri bolnikih s perniciozno anemijo je pred razvojem želodčnega karcinoida vselej obilna hipergastrinemija, ki lahko traja več kot desetletje (71, 73).

Poškodbe endoskopsko niso vidne, nujen je histološki pregled (za hiperplazijo enterokromafinskih celic), zato se poškodbe dostikrat prezrejo (71). Enterokromafinske celice spuščajo v obtok KgA včasih že pri kratkotrajnem močnem zaviranju želodčne kisline. Normalno je serumskega KgA 4 nmol/L, gastrina pa 85 ng/L (71). Vrednosti gastrina so večje v skupini, zdravljeni s statini, kot pri histaminskih antagonistih, zato so tudi večje vrednosti KgA (71, 74). Ti izsledki govorijo za to, da se hiperplazija enterokromafinskih celic v fundusu lahko razvije po dolgotrajnem zavoru želodčne kisline s katerimkoli tipom antisekretornega zdravila. Bolniki na dolgotrajnem zdravljenju izločanja kisline bi morali biti rutinsko pregledovani na hiperplazijo želodčnih enterokromafinskih celic, da bi preprečili nastajanje želodčnih karcinoidov. Posebno velja za bolnike, ki morajo dosmrtno jemati supresive, npr. pri gastroezofagealni refluksni bolezni, ki se ne more zdraviti kirurško. Pri teh bolnikih je bolje določati KgA kot pa gastrin. Močno zvečana koncentracija KgA v serumu velja za indikacijo za endoskopski histološki pregled želodčne sluznice (73, 75). Kleveland je ugotovil, da zdravljenje z omeprazolom, daljše od treh mesecev, že lahko zveča serumske vrednosti KgA (75). Tudi pri atrofičnem gastritisu je sekundarna hipergastrinemija povzročila hiperplazijo enterokromafinskih celic s porastom KgA. Še nespoznani atrofični gastritis je vsekakor s svojim morebitnim porastom KgA v krvi pomemben za diagnozo nevroendokrinega tumorja (68, 75). Največja izmerjena vrednost KgA je bila 52.340 µg/L pri karcinoidu tega območja (72). Zvečane vrednosti so tudi v želodcu v skladu z velikostjo tumorja, zato so majhni tumorji teže spoznavni (72). (Nevronsko specifična enolaza je pokazala največje vrednosti pri drobnoceličnem raku pljuč in pri Merklom tumorju.)

Po vsem tem najbrž ni čudno, da je izšel članek z naslovom: Is profound acid inhibition safe? (76).

## Prostata

So primeri, ko je vrednost za prostato specifičnega antigena normalna, ravno tako kisle fosfataze in ko z rektalnim pregledom ne ugotovimo malignega tumorja, bolnik pa le ima karcinom prostate. Večinoma gre za močno razrast nevroendokrinih celic v prostati s porastom KgA (77–79). To so primeri, ko lahko merjenje serumske koncentracije KgA diagnostično pomaga (77, 79–83). KgA tudi označuje ponovitev bolezni ali kaže na slabo prognozo pri od androgena neodvisnem odpornem raku, se pravi, odpornem proti hormonskemu zdravljenju (82, 84). Avtorji so ugotovili zvečano serumske koncentracije KgA pri okoli polovici bolnikov v napredovalem stadiju raka prostate. Razvoj bolezni poskušajo (včasih kar uspešno!) zavreti s somatostatinom (79) ali lanreotidom (85).

## KgA pri nemalignomskih procesih

*Esencialna hipertenzija.* Ni dokazov, da bi KgA neposredno vplival na krvni tlak. Po drugi strani znotrajcelična dejavnost KgA teoretično dopušča to možnost, saj KgA veže kalcij, veže kateholamine, stopi v kompleks z ATP, deluje kot izmenjevalec ionov, zavira serinsko proteazo in zmanjšuje ozmotski tlak kromafinega mešička in ga s tem stabilizira proti razpoku (30, 45). Vzroka za zvečanje koncentracije KgA ne poznamo (18, 86, 87), kaže pa, da je hipertenzija adrenergičnega izvora, ni pa genetično pogojena. Določanje KgA v serumu je klinično zlasti koristno pri diferencialni diagnozi feokromocitoma ob sočasni esencialni hipertenziji (6). Pri zadnji bolezni je serumska koncentracija zvečana za kakih 40%, enako pri renovaskularni hipertenziji, pri parenhimski bolezni ledvic za kakih 400% in pri feokromocitomu za 1400% nad normalno. Ob normalni vrednosti KgA 54 ng/ml so vrednosti pri navedenih procesih 75–75–221–7023 (18). Pri zdravljenju hipertenzije npr. z zaviralci angiotenzinske konvertaze, diuretiki ali adrenergičnimi antagonistami se koncentracija KgA ne spremeni, spreminjajo pa jo simpatikolitiki (18, 21), kar govori za prebitek ekscitotične simpatoadrenalne aktivnosti pri esencialni hipertenziji (86). Iz tega, da se KgA in kateholamini skupaj sproščajo iz shranjevalnih mešičkov, in ker se KgA encimsko ne presnovi, bi serumski KgA moral odsevati sproščanje noradrenalina iz simpatičnih končičev (87).

Odrasli *diabetiki* imajo normalne koncentracije KgA (18), kar nakazuje, da sprememba koncentracije inzulina ni posledica

Razpr. 3. Zvečane serumske koncentracije KgA pri nekaterih patoloških procesih (µg/L) (normalna koncentracija je 20 do 90 µg/L).

Bolezen	Koncentracija KgA	Lit.
Feokromocitom (benigni)	188 ± 40,5	58
Feokromocitom (maligni)	2932 ± 960	58
Feokromocitom	1614 ± 408	86
Feokromocitom	702 ± 289	20
Feokromocitom	736 ± 399	33
Karcinoid sprednjega pračrevesa	847	63
Karcinoid srednjega pračrevesa	2325	63
Karcinoid zadnjega pračrevesa	727	63
Karcinoid	688	72
Karcinoid (metastaze)	35.400 ± 17.400	33
Karcinoid srednjega pračrevesa (metastaze v jetrih)	83.740	63
Tumor aortnega tesca	215	33
Rak pljuč (velikocelični)	221 ± 51	33
Medularni rak ščitnice	564 ± 134	33
Adenom paratireoidee	218 ± 15	33
Hiperplazija paratireoidee	1680 ± 1450	33
Ledvični sekundarni paratireoidizem	3320 ± 1062	33
Esencialna hipertenzija	198 ± 32	86
Esencialna hipertenzija	74 ± 7	20
Renovaskularna hipertenzija	75 ± 10	20
Ledvična parenhimski bolezen	221 ± 20	20
Ledvična parenhimski bolezen	191 ± 36	86

sistemskega KgA (čeprav je ta predstopnja pankreastatina) (3).

Pri *odpovedovanju ledvic* se koncentracija KgA v serumu zveča skladno s stopnjo odpovedovanja (39). Zato je za pravilno ocenjevanje zvečanja koncentracije KgA v serumu treba upoštevati delovanje ledvic (18). Tramonti in sod. so pri 102 bolnikih s hudo ledvično boleznijo izmerili vrednosti serumskega KgA, ki so bile do 22-krat večje od normalnih (88).

Določanje serumske vrednosti KgA se je izkazalo koristno tudi pri diagnosticiranju klinično nemih *adenomov hipofize* (89). KgA aktivira mikroglijo, ki nato s svojimi nevrotoksini uničuje nevrone (90). Pri *Alzheimerjevi bolezni* se močno zveča koncentracija KgA v senilnih lehah (91).

Zvečanih serumskih vrednosti KgA niso našli pri Hodgkinovem limfomu, meningeomu, astrocitomu in adenokarcinomu uterusa (72).

## Sklep

Naše poznavanje KgA se je v zadnjem desetletju dramatično zvečalo. KgA je tako indikator simpatoadrenalne aktivnosti kot označevalec neuroendokrinih novotvorb. Poznamo strukturne posebnosti molekule KgA, urejevanje njegove biosinteze in izločanja in vpliv na sekretorno aktivnost neuroendokrinih celic. Diagnostična meritev KgA pri neuroendokrinih tumorjih ima veliko vrednost. Z njim ločujemo neuroendokrine tumorje od neneuroendokrinih; ima veliko senzibilnost, da zana majhne tumorje in njegov pomen je v primerjavi z drugimi neuroendokrinih označevalci (npr. z nevronske specifično enolazo) izrazito večji. Spoznava njegove genske strukture je razjasnila tudi evlucijske razmere med živalskimi vrstami.

V prispevku smo skušali opisati zgradbo in biokemične lastnosti KgA, uravnavanje njegove biosinteze in njegovo rabo kot tumorskega označevalca. Vseh njegovih dejavnosti pa za zdaj še ne poznamo.

## Literatura

- Blaschko H, Comline RS, Schneider PH, Silver M, Smith AD. Secretion of a chromaffin granule protein, chromogranin, from the adrenal gland after splanchnic stimulation. *Nature* 1967; 215: 58-9.
- Schneider FH, Smith AD, Winkler H. Secretion from the adrenal medulla: biochemical evidence for exocytosis. *Br J Pharmacol Chemother* 1967; 31: 94-104.
- Winkler H, Fischer-Colbrie R. The chromogranins A and B the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience* 1992; 49: 497-528.
- Rosa P, Zanini A. Purification of a sulfated secretory protein from the adenohipophysis. Immunochemical evidence that similar macromolecules are present in other glands. *Eur J Cell Biol* 1983; 31: 94-8.
- Laslop A, Mahata SK. Neuropeptides and chromogranins. *Ann NY Acad Sci* 2002; 971: 294-9.
- Ferrari L, Seregni E, Bajetta E, Martinetti A, Bombardieri E. The biological characteristics of chromogranin A and its role as a circulating marker in neuroendocrine tumours. *Anticancer Res* 1999; 19: 3415-28.
- Hendy GN, Bevan S, Mattei MG, Moulant AJ. Chromogranin A. *Clin Invest Med* 1995; 18: 47-65.
- Buffa R, Mare P, Gini A, Salvatore M. Chromogranins A and B and secretogranin II in hormonally identified endocrine cells of the gut and the pancreas. *Basic Appl Histochem* 1988; 32: 471-84.
- Trifaro JM. Molecular biology of the chromatin cell. *Ann NY Acad Sci* 2002; 971: 11-8.
- Bulenda D, Gratzl M. Matrix free  $Ca^{2+}$  in isolated chromaffin vesicles. *Biochemistry* 1985; 24: 7760-5.
- Benedum UM, Bauerle PA, Konecki DS, Frank E, Powell J, Mallet J. The primary structure of bovine chromogranin A: a representative of a class of acidic secretory proteins common to a variety of peptidergic cells. *EMBO J* 1986; 5: 1495-502.
- Eriksson B, Öberg K, Stridsberg M. Tumor markers in neuroendocrine tumours. *Digestion* 2000; 62: Suppl 1: 33-8.
- Maget-Dana R, Metz-Boutique MH, Helle KB. The N-terminal domain of chromogranin A (CgA-40) interacts with monolayers of membrane lipids of fungal and mammalian compositions. *Ann NY Acad Sci* 2002; 971: 362-5.

- Parmer RJ, Zinder O. Catecholaminergic pathways, chromaffin cells, and human disease. *Ann NY Acad Sci* 2002; 971: 497-505.
- Galindo E, Mendez M, Calvo S et al. Chromostatin receptors control calcium channel activity in adrenal chromaffin cells. *J Biol Chem* 1992; 267: 407-12.
- Galindo E, Rill A, Bader MF, Aunis D. Chromostatin, a 20-amino acid peptide derived from chromogranin A, inhibits chromaffin cell secretion. *Proc Natl Acad Sci U. S. A.* 1991; 88: 1426-30.
- Cavadas C, Ribeiro AF, Cotrim MD, Mosimann F, Brunner HR, Grouzmann E. Catecholamine and neuropeptide Y secretion from human adrenal chromaffin cells. *Ann NY Acad Sci* 2002; 971: 332-4.
- Takiyuddin MA, Cervenka JH, Hsiao RJ, Barbosa JA, Parmer RJ, O'Connor DT. Chromogranin A. *Hypertension* 1990; 15: 237-46.
- Granberg D, Stridsberg M, Seensalu R et al. Plasma chromogranin A in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *J Clin Endocrinol Metabol* 1999; 84: 2712-7.
- Takiyuddin MA, Neumann HP, Cervenka JH et al. Ultradian variations of chromogranin A in humans. *Amer J Physiol* 1991; 261: R939-44.
- Takiyuddin MA, Brown MR, Dinh TQ, Cervenka JH, Braun SD, Parmer RJ. Sympatho-adrenal secretion in humans: factors governing catecholamine and storage vesicle peptide co-release. *J Auton Pharmacol* 1994; 14: 177-90.
- Koeslag JH, Saunders PT, Wessels JA. The chromogranins and the counter-regulatory hormones: do they make homeostatic sense? *J Physiol* 1999; 517 (3): 643-9.
- O'Connor DT, Frigon RP. Chromogranin A, the major catecholamine storage vesicle soluble protein. *J Biol Chem* 1984; 259: 3237-47.
- Gorr SU, Hamilton JW, Cohn DV. Sulfated secreted forms of bovine and porcine parathyroid chromogranin A (secretory protein-I). *J Biol Chem* 1991; 266: 5780-4.
- Gorr SU, Kumarasamy R, Dean WL, Cohn DV. New suggestions for the physiological role of secretory protein-I. *Neurosci Lett* 1987; 2: 251-5.
- Sietzen M, Schober M, Fischer-Colbrie R, Schermann D, Sperk G, Winkler H. Rat adrenal medulla: levels of chromogranins, enkephalins, dopamine beta-hydroxylase and of the amine transporter are changed by nervous activity and hypophysectomy. *Neuroscience* 1987; 22: 131-9.
- Rausch DM, Iacangelo A, Eiden LE. Glucocorticoid- and nerve growth factor-induced changes in chromogranin A expression define two different neuronal phenotypes in PC12 cells. *Molec Endoc* 1988; 2: 921-7.
- Anouar Y, Benie T, Demonti M, Counis R, Duval J. Estradiol negatively regulates secretogranin II and chromogranin A messenger ribonucleic acid levels in the female rat pituitary but not in the adrenal. *Endocrinology* 1991; 129: 2393-9.
- Fischer-Colbrie R, Schmid KW, Mahata SK, Mahata M, Laslop A, Bauer JW. Sex-related differences in chromogranin A, chromogranin B and secretogranin II gene expression in rat pituitary. *J Neuroendocrinol* 1992; 4: 125-30.
- Takiyuddin MA, Cervenka JH, Pandian MR, Stuenkel CA, Neumann HP, O'Connor DT. Neuroendocrine sources of chromogranin-A in normal man: clues from selective stimulation of endocrine glands. *J Clin Endocrinol Metabol* 1990; 71: 360-9.
- Banks P, Helle K. The release of protein from the stimulated adrenal medulla. *Biochem J* 1965; 97: 40c-1c.
- Winkler H. Occurrence and mechanism of exocytosis in the adrenal medulla and sympathetic nerve. In: Trendelenburg U, Weiner N eds. *Handbook of experimental pharmacology* 90/1. New York: Springer, 1988: 43-118.
- O'Connor DT, Deftos LJ. Secretion of chromogranin A by peptide producing endocrine neoplasms. *New Engl J Med* 1986; 314: 1145-51.
- O'Connor DT, Pandian MR, Carlton E, Cervenka JH, Hsiao RJ. Rapid radioimmunoassay of circulating chromogranin A: in vitro stability, exploration of the neuroendocrine character of neoplasia, and assessment of the effects of organ failure. *Clin Chem* 1989; 35: 1631-7.
- Takiyuddin MA, Baron AD, Cervenka JH et al. Suppression of chromogranin-A release from neuroendocrine sources in man: pharmacological studies. *J Clin Endocrinol Metab* 1991; 72: 616-22.
- O'Connor DT, Bernstein KN. Radioimmunoassay of chromogranin A in plasma as a measure of exocytotic sympathoadrenal activity in normal subjects and patients with pheochromocytoma. *New Engl J Med* 1984; 311: 764-70.
- Schults CW, O'Connor DT, Baird A et al. Clinical improvement in parkinsonian patients undergoing adrenal to caudate transplantation is not reflected by chromogranin A or basic fibroblast growth factor in ventricular fluid. *Expl Neurol* 1991; 111: 276-81.
- O'Connor DT, Cervenka JH, Stone RA, Parmer RJ, Franco-Bourland RE, Madrazo I. Chromogranin A immunoreactivity in human cerebrospinal fluid: properties, relationship to noradrenergic neuronal activity, and variation in neurologic disease. *Neuroscience* 1993; 56: 999-1007.
- Hsiao RJ, Mezger MS, O'Connor DT. Chromogranin A in uremia: progressive retention of immunoreactive fragments. *Kidney Int* 1990; 37: 955-64.
- Udenfriend S, Cooper JR, Clark CT, Baer JE. Rate of turnover of epinephrine in the adrenal medulla. *Science* 1953; 117: 663-5.
- Watkinson A, Robinson I. Reserpine-induced processing of chromogranin A in cultured bovine adrenal chromaffin cells. *J Neurochem* 1992; 58: 877-83.
- Small DH, Ismael Z, Chubb IW. Acetylcholinesterase hydrolyses chromogranin A to yield low molecular weight peptides. *Neuroscience* 1986; 19: 289-95.

43. Small DH. Non-cholinergic actions of acetylcholinesterases: proteases regulating cell growth and development? *Trends Biochem Sci* 1990; 15: 213-6.
44. Palatini P. Heart rate as a risk factor for atherosclerosis and cardiovascular mortality. *Drugs* 1999; 57: 713-24.
45. Kim T, Tao-Cheng J, Eiden LE, Loh YP. Chromogranin A, an 'on/off' switch controlling dense-core secretory granule biogenesis. *Cell* 2001; 106: 499-509.
46. Videen JS, Mezger MS, Chag YM, O'Connor DT. Calcium and catecholamine interaction with adrenal chromogranins. *J Biol Chem* 1992; 267: 3066-73.
47. Westermann R, Stögbauer F, Unsicker K, Lietzke R. Calcium-dependence of chromogranin A-catecholamine interaction. *Fedn Eur Biochem Soc Lett* 1988; 239: 203-6.
48. Nobels FR, Kwekkeboom DJ, Bouillon R, Lamberts SW. Chromogranin A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumours. *Europ J Clin Invest* 1998; 28: 431-40.
49. Bajetta E, Ferrari L, Martinetti A et al. Chromogranin A, neuron specific enolase, carcinoembryonic antigen, and hydroxyindole acetic acid evaluation in patients with neuroendocrine tumors. *Cancer* 1999; 86: 858-65.
50. Schurmann G, Raeth U, Wiedenmann B, Buhr H, Herfarth C. Serum chromogranin A in the diagnosis and follow-up of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic tract. 1992; 16: 697-701.
51. Granberg D, Stridsberg M, Seensalu R et al. Plasma chromogranin A in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *J Clin Endocr Met* 1999; 84: 2712-7.
52. Colombo B, Curnis F, Foglieni C, Monno A, Arrigoni G, Corti A. Chromogranin A expression in neoplastic cells affects tumor growth and morphogenesis in mouse models. *Cancer Res* 2002; 62: 941-6.
53. Kimura N, Miura W, Noshiro T et al. Plasma chromogranin A in pheochromocytoma, primary hyperparathyroidism and pituitary adenoma in comparison with catecholamine, parathyroid hormone and pituitary hormones. *Endocr J* 1997; 44: 319-27.
54. Boomsma F, Bhaggoe UM, Man in't Veld AJ, Schalekamp MADH. Sensitivity and specificity of a new ELISA method for determination of chromogranin A in the diagnosis of pheochromocytoma and neuroblastoma. *Clin Chim Acta* 1995; 239: 57-63.
55. Stridsberg M, Husebye ES. Chromogranin A and chromogranin B are sensitive circulating markers for pheochromocytoma. *Eur J Endocrinol* 1997; 136: 67-73.
56. Canale MP, Bravo EL. Diagnostic specificity of serum chromogranin-A for pheochromocytoma in patients with renal dysfunction. *J Clin Endocr Met* 1994; 78: 1139-44.
57. Aardal S, Aardal NP, Larsen TH et al. Human pheochromocytoma: different patterns of catecholamines and chromogranins in the intact tumour, urine and serum in clinically unsuspected cases. *Scand J Clin Lab Invest* 1996; 56: 511-23.
58. Rao F, Keiser HR, O'Connor DT. Malignant and benign pheochromocytoma. *Ann NY Acad Sci* 2002; 971: 530-2.
59. Hsiao RJ, Neumann HP, Parmer RJ, Barbosa JA, O'Connor DT. Chromogranin A in familial pheochromocytoma: diagnostic screening value, prediction of tumor mass, and post-resection kinetics indicating two-compartment distribution. *Am J Med* 1990; 80: 607-13.
60. Seregni E, Ferrari L, Bajetta E, Martinetti A, Bombardieri E. Clinical significance of blood chromogranin A measurement in neuroendocrine tumours. *Ann Oncol* 2001; 12: Suppl 2: S69-S72.
61. Tiensuu Janson EM, Öberg KE. Carcinoid tumours. *Baillieres Clin Gastroenterol* 1996; 10: 589-601.
62. Eriksson B, Arnberg H, Lindgren PG et al. Neuroendocrine pancreatic tumours: clinical presentation, biochemical and histopathological findings in 84 patients. *J Intern Med* 1990; 228: 103-13.
63. Janson ET, Holmberg L, Stridsberg M et al. Carcinoid tumors: analysis of prognostic factors and survival in 301 patients from a referral center. *Ann Oncol* 1997; 8: 685-90.
64. Pirker RA, Pont J, Pöhl R, Schütz W, Griesmacher A, Müller MM. Usefulness of chromogranin A as a marker for detection of relapses of carcinoid tumours. *Clin Chem Lab Met* 1998; 36: 837-40.
65. Öberg K. Neuroendocrine gastrointestinal tumors - a condensed overview of diagnosis and treatment. *Ann Oncol* 1999; 10: Suppl 2: S3-8.
66. Boehme MW, Schmidt-Gayk H, Bihl H, Eisenhut M, Herfahrt CH, Kommerer B, Raeth U. Efficient symptomatic control of carcinoid tumors with somatostatin in patients with disease progression under alpha-interferon therapy. *Hepato-Gastroent* 1995; 42: 1053-61.
67. Eriksson B, Janson ET, Bax ND et al. The use of new somatostatin analogues, lanreotide and octastatin, in neuroendocrine gastrointestinal tumours. *Digestion* 1996; 57: Suppl 1: 77-80.
68. Granberg D, Wilander E, Stridsberg M, Granerus G, Skogseid B, Öberg K. Clinical symptoms, hormone profiles, treatment, and prognosis in patients with gastric carcinoids. *Gut* 1998; 43: 223-8.
69. Iwao M, Nakamuta M, Enjoji M et al. Primary hepatic carcinoid tumor: case report and review of 53 cases. *Med Sci Mon* 2001; 7: 746-50.
70. Zanner R, Gratzl M, Prinz C. Circle of life of secretory vesicles in gastric enterochromaffin-like cells. *Ann NY Acad Sci* 2002; 971: 389-96.
71. Sanduleanu S, De Brine A, Stridsberg M et al. Serum chromogranin A as a screening test for gastric enterochromaffin-like cell hyperplasia during acid-suppressive therapy. *Europ J Clin Invest* 2001; 31: 802-11.
72. Nobels FR, Kwekkeboom DJ, Coopmans W et al. Chromogranin A as a serum marker for neuroendocrine neoplasia: comparison with neuron-specific enolase and the alpha-subunit of glycoprotein hormones. *J Clin Endocr Met* 1997; 82: 2622-8.
73. Borch K, Stridsberg M, Burman P, Rehfeld JF. Basal chromogranin A and gastrin concentrations in circulation correlate to endocrine cell proliferation in type-A gastritis. *Scand J Gastroenterol* 1997; 32: 198-202.
74. Sagar M, Bertilsson L, Stridsberg M, Kjellin A, Mardh S, Seensalu R. Omeprazole and CYP2C19 polymorphism: effects of long-term treatment on gastrin, pepsinogen I and chromogranin A in patients with acid related disorders. *Aliment Pharm Ther* 2000; 14: 1495-502.
75. Kleveland O, Syversen U, Stordahl K, Waldum HL. Hypergastrinemia as a cause of chromogranin A increase in blood in patients suspected to have neuroendocrine tumor. *Digestion* 2001; 64: 71-4.
76. Waldum HL, Brenna E. Personal view: is profound acid inhibition safe? *Aliment Pharm Ther* 2000; 14: 15-22.
77. Kadmon D, Thompson TC, Lynch GR, Scardino PT. Elevated plasma chromogranin-A concentrations in prostatic carcinoma. *J Urology* 1991; 146: 358-61.
78. Angelsen A, Syversen U, Haugen OA, Stridsberg M, Mjølnerod OK, Waldum HL. Neuroendocrine differentiation in carcinomas of the prostate: do neuroendocrine serum markers reflect immunohistochemical findings? *Prostate* 1997; 30: 1-6.
79. Defos LJ, Abrahamsson PA. Granins and prostate cancer. *Urology* 1998; 51: Suppl 5A: 141-5.
80. Kimura N, Hoshi S, Takahashi M, Takeha S, Shizawa S, Nagura H. Plasma chromogranin A in prostatic carcinoma and neuroendocrine tumors. *J Urol* 1997; 157: 565-8.
81. Wu JT, Erickson AJ, Tsao KC, Wu TL, Sun CF. Elevated serum chromogranin A is detectable in patients with carcinoma in advanced disease stages. *Ann Clin Lab Sci* 2000; 30: 175-8.
82. Berutti A, Dogliotti L, Mosca A et al. Circulating neuroendocrine markers in patients with prostate carcinoma. *Cancer* 2000; 88: 2590-7.
83. Berutti A, Dogliotti L, Mosca A et al. Potential value of circulating chromogranin A in patients with prostate carcinoma. *Ann Oncol* 2001; 12: Suppl 2: S153-7.
84. Wu JT, Wu TL, Chang CP, Tsao KC, Sun CF. Different patterns of serum chromogranin A in patients with prostate cancer with and without undergoing hormonal therapy. *J Clin Lab Anal* 1999; 13: 308-11.
85. Berutti A, Dogliotti L, Mosca A et al. Effects of the somatostatin analog lanreotide on the circulating levels of chromogranin-A, prostate-specific antigen, and insulin-like growth factor-1 in advanced prostate cancer patients. *Prostate* 2001; 47: 205-11.
86. O'Connor DT. Plasma chromogranin A. Initial studies in human hypertension. *Hypertension* 1985; 7: 176-9.
87. Dimsdale J, O'Connor DT, Ziegler M, Mills P. Chromogranin A correlates with norepinephrine release rate. *Life Sci* 1992; 51: 519-25.
88. Tramonti G, Ferdeghini M, Annichiarico C et al. Relationship between renal function and blood level of chromogranin A. *Renal Fail* 2001; 23: 449-57.
89. Nobels FR, Kwekkeboom DJ, Coopmans W et al. A comparison between the diagnostic value of gonadotropins, alpha-subunit, and chromogranin-A and their response to thyrotropin-releasing hormone in clinically nonfunctioning, alpha-subunit-secreting, and gonadotroph pituitary adenomas. *J Clin Endocrin Met* 1993; 77: 784-9.
90. Kingham PJ, Cuzner ML, Pocock JM. Apoptotic pathways mobilized in microglia and neurons as a consequence of chromogranin A - induced microglial activation. *J Neurochem* 1993; 73: 538-47.
91. Yasuhara O, Kawamata T, Aimi Y, McGeer EG, McGeer PL. Expression of chromogranin A in lesions in the central nervous system from patients with neurological diseases. *Neurosci Lett* 1994; 170: 13-6.
92. Tomassetti P, Migliori M, Simoni P et al. Diagnostic value of plasma chromogranin A in neuroendocrine tumours. *Eur J Gastroent Hepat* 2001; 13: 55-8.
93. Takiyuddin MA, Parmer RJ, Kailasam MT et al. Chromogranin A in human hypertension. Influence of heredity. *Hypertension* 1995; 26: 213-20.