

Cromogranina A: un panorama general y perspectivas futuras

CARLES VILLABONA

Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. España.

CHROMOGRANIN A: GENERAL PANORAMA AND FUTURE PERSPECTIVES

Chromogranin A (CgA) is a protein that forms part of the granin family. This protein includes up to 7 distinct molecules and is stored in the chromaffin granules. Granins are widely distributed in neuroendocrine and endocrine cells, as well as in some nervous system neurons. CgA has autocrine, paracrine and endocrine functions and is considered essential in the production and storage of secretory granules as well as in the secretion of secretory granule amines. CgA proteolysis gives rise to distinct, biologically active peptides, especially pancreastatin, vasostatin, catestatin and parastatin.

Although several methods for CgA determination are currently available, there are considerable difficulties in the quantification of this protein.

Blood CgA measurement is a universal marker of neuroendocrine tumors. The greatest elevations appear in metastatic carcinoid tumors. Blood CgA measurement is useful both in diagnosis and in monitoring treatment response, as well as in disease recurrence or persistence.

CgA determination has also been shown to be useful in other, non-endocrine tumors, especially prostate cancer, colon cancer, and small cell lung cancer. CgA is also useful in the diagnosis and follow-up of pheochromocytoma and seems particularly helpful in distinguishing benign from malignant pheochromocytomas.

Other potential uses of CgA are as a marker in hypertension and in some neuropsychiatric diseases (Alzheimer's disease, Parkinson's disease), as a marker of some types of organ failure (heart disease, liver failure, renal insufficiency) and as an index of adrenergic hyperactivity (inflammatory diseases such as rheumatoid arthritis). However, the precise role of CgA in these diseases has not been fully elucidated.

Key words: Chromogranin A. Neuroendocrine tumors. Carcinoid tumors. Pheochromocytoma. Non-neuroendocrine tumors.

La cromogranina A (CgA) es una proteína que forma parte de la familia de las graninas que incluye hasta 7 moléculas distintas y que se almacena en los gránulos cromafines. Las graninas se hallan ampliamente distribuidas en las células neuroendocrinas y endocrinas, y en algunas neuronas del sistema nervioso.

La CgA tiene funciones autocrinas, paracrinas y endocrinas y se considera crucial en la formación y almacenamiento del gránulo secretor, así como en la secreción de aminas de dichos gránulos. La proteólisis de la CgA da lugar a diferentes péptidos biológicamente activos especialmente pancreastatina, vasostatina, catestatina y parastatina.

En la actualidad, si bien se dispone de diferentes métodos de determinación de la CgA, existen considerables dificultades metodológicas en su cuantificación.

La determinación en sangre de CgA constituye el marcador universal de los tumores neuroendocrinos (TNE). Las mayores elevaciones aparecen en los tumores carcinoides metastásicos. La cuantificación de la CgA es útil tanto en el diagnóstico como en la monitorización de la respuesta al tratamiento y en la recurrencia o persistencia de la enfermedad.

La determinación de CgA se ha demostrado también útil en otros tumores no neuroendocrinos especialmente de próstata, cáncer de colon y pulmonar de célula pequeña. Igualmente, la CgA ha mostrado su utilidad en el diagnóstico y seguimiento del feocromocitoma, en particular parece ser de ayuda en distinguir el benigno del maligno.

Otros usos potenciales de la CgA son como marcador en la hipertensión arterial, en algunas enfermedades neuropsiquiátricas (enfermedad de Alzheimer, enfermedad de Parkinson), como marcador de fracaso de algunos órganos (patología cardíaca, insuficiencia hepática, insuficiencia renal) y como índice de hiperactividad adrenérgica (enfermedades inflamatorias, como artritis reumatoide) si bien el papel exacto en estas patologías no se halla bien elucidado.

Palabras clave: Cromogranina A. Tumores neuroendocrinos. Tumores carcinoides. Feocromocitoma. Tumores no neuroendocrinos

Correspondencia: Dr. C. Villabona.
Servicio de Endocrinología y Nutrición. Hospital Universitario de Bellvitge.
Feixa Llarga, s/n. 08907 L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. España.
Correo electrónico: 13861cva@comb.es

INTRODUCCIÓN

Hace ya más de 40 años en el estudio de los mecanismos de secreción de catecolaminas se identificó una proteína de alto peso molecular liberada de los gránulos cromafines tras la estimulación de los nervios espláncnicos de forma conjunta con éstas. Poco después se acuñó el término de cromogranina A (CgA) para denominar esta proteína. Inicialmente se consideraba una molécula inespecífica, de significado incierto, probablemente en relación tan sólo con los mecanismos de almacenamiento de los gránulos. En los últimos años a la luz de los nuevos conocimientos de sus propiedades y nuevas acciones ha habido un considerable interés especialmente al observar su utilidad como marcador principalmente de los tumores neuroendocrinos (TNE), así como de otras enfermedades. Igualmente el reconocimiento de su función como prohormona precursora de otras sustancias bioactivas ha abierto nuevas expectativas y se han incrementado notablemente las futuras utilidades de esta molécula.

CARACTERÍSTICAS DE LA CROMOGRANINA A

La CgA es una proteína que forma parte de las graninas (cromograninas o secretograninas) que se almacena en los gránulos secretores electrón-densos, junto con calcio, nucleótidos, aminas biógenas, neurotransmisores y otras hormonas peptídicas, de las células neuroendocrinas y muchas células neuronales, y se libera por exocitosis. La familia de las graninas agrupa 3 graninas: la CgA, que fue la primera en aislarse de las células cromafines de la médula adrenal; la cromogranina B, llamada también secretogranina I, caracterizada a partir de un línea celular de feocromocitoma de rata, y la cromogranina C, también conocida como secretogranina II, descrita por vez primera en la hipófisis anterior. Otras 4 proteínas secretoras ácidas se consideran también miembros de la familia de las graninas: secretogranina III, secretogranina IV, secretogranina V y secretogranina VI. Todas ellas comparten un péptido señalizador en el extremo carboxiterminal que permite la transferencia de estas proteínas de los ribosomas al retículo endoplasmático y al aparato de Golgi, donde presentan modificaciones postraduccionales¹⁻¹¹.

Las graninas se hallan ampliamente distribuidas en las células endocrinas, neuroendocrinas y en numerosas neuronas del sistema nervioso central y periférico. La médula adrenal es el lugar de mayor producción y almacenamiento de CgA; la hipófisis contiene un 25% del total, el estómago, el intestino delgado y el páncreas contienen alrededor del 5% cada uno, mientras que el resto de las glándulas endocrinas representan menos del 1% (células C parafoliculares del tiroides, células paratiroides, etc.)⁴. La CgA se ha hallado también en

células neuroendocrinas aisladas en otros órganos, como el corazón, la mama, el pulmón y la próstata⁴. En el sistema nervioso central, la CgA se ha detectado en neuronas del córtex cerebral, el hipocampo, la amígdala y el cerebelo¹².

El gen de la CgA se halla localizado en humanos en el cromosoma 14q32, y consta de 8 exones y 7 intrones, y codifica una glucoproteína ácida soluble, con una estructura polipeptídica lineal, de 439 aminoácidos, con un peso molecular de 49 kDa. La molécula tiene un 25% de residuos ácidos con carga negativa y presenta procesos, tras la traducción, de fosforilación, sulfatación y O-glucosilación. El gen humano, así como la molécula de CgA humana, es muy similar a los correspondientes murino y bovino de la CgA¹³.

La estructura de la CgA, de forma similar a las otras graninas, consta de 2 pares de residuos de cisteína en la parte N-terminal y de 10 pares de aminoácidos ácidos, como el ácido aspártico, el ácido glutámico y la prolina que, al ser reconocidos por endopeptidasas, son lugares de fragmentación y de producción potencial de péptidos bioactivos a través de un proceso de proteólisis postraduccion. La presencia de estos aminoácidos confiere a la molécula de CgA la tendencia a unirse con baja afinidad y alta capacidad al calcio, y en un ambiente rico en este catión y con un pH bajo se facilita la agregación de las moléculas. Las modificaciones proteolíticas parecen ser tejido-específicas y dan lugar a diferentes péptidos biológicamente activos, que colaboran en la distribución y el almacenamiento de hormonas peptídicas y neuropéptidos^{2-4,11}. La distribución de cada una de las graninas varía también en función del tejido. Por ejemplo, la cromogranina C o secretogranina II se expresa de forma importante en las células gonadotropas comparadas con otras células hipofisarias o en las células productoras de glucagón respecto a otras células de los islotes^{4,12}. En ratones *knock-out* de algunas endopeptidasas, como consecuencia de la falta de fragmentación de las graninas, se produce un procesamiento deficiente de las hormonas de los islotes pancreáticos, y aparecen hipoglucemia, hiperinsulinemia e hiperglucagonemia¹⁴. Inversamente, el ratón transgénico que contiene el promotor del gen de la CgA muestra, además de la expresión específica neuroendocrina, la respuesta al estímulo colinérgico-nicotínico y a la gastrina¹⁵.

FUNCIONES DE LA CROMOGRANINA A

La CgA y otras graninas tienen funciones autocrinas, paracrinas y endocrinas. La CgA se considera crucial en la granulogénesis, es decir, en la formación y el almacenamiento del gránulo secretor⁷. En el interior del gránulo de secreción, la CgA, al igual que otras graninas, gracias, como se ha dicho, al pH ácido y a la presencia de calcio, interactúa con otros componentes de la matriz del gránulo, como las catecolaminas, la serotonina y la histamina, lo que sugiere que

TABLA 1. Funciones de la cromogranina A

Control de las concentraciones intracelulares de calcio
Acción de chaperón durante el almacenamiento de las proteínas de secreción en los gránulos secretores
Acción de interruptor <i>on/off</i> de la biogénesis y de la secreción de aminas de los gránulos de secreción
Prohormona precursora de péptidos activos (pancreastatina, vasostatina, catestatina, parastatina, etc.)
Inhibición de la rotura proteolítica de prohormonas por proteasas o tripsina
Facilita la adhesión celular
Papel en la proliferación de la célula neuroendocrina
Control de la presión arterial, mediante la acción de la catestatina
Papel en la infección sistémica

las graninas participan en la constitución del gránulo actuando con chaperones⁷. El ratón que no expresa CgA presenta, entre otros efectos: una disminución del tamaño y del número de los gránulos cromafines, un aumento de las catecolaminas en plasma y de las concentraciones plasmáticas de neuropéptido Y, una pérdida de la variación diurna de la presión arterial, un aumento de la masa y de las dimensiones de la cavidad del ventrículo izquierdo, y una disminución del contenido de las catecolaminas adrenales y del neuropéptido Y^{14,16}. Con la reintroducción de la CgA por transfección se consigue reestablecer las características normales de los gránulos de secreción, se normaliza la presión arterial, de forma que la CgA actúa como un mecanismo de interruptor del gránulo secretor^{16,17}. En la tabla 1 se exponen las funciones más importantes de la CgA.

LA CROMOGRANINA A COMO PRECURSORA DE OTROS PÉPTIDOS ACTIVOS

Las graninas, tanto la CgA como la cromogranina B y la secretogranina, se consideran prohormonas, precursoras de otros péptidos. En efecto, tras la rotura postraducción, presentan un proceso proteolítico que da lugar a fragmentos que son péptidos funcionales bioactivos. En el caso de la CgA sus fragmentos biológicamente activos más importantes son la *pancreastatina*, la *vasostatina*, la *catestatina* y la *parastatina*, entre otros^{4,6,9-11}.

La pancreastatina produce una inhibición de la secreción de insulina por la célula β con aumento de la glucemia¹⁸. Asimismo, activa la glucogenólisis hepática, produce una disminución de la captación de glucosa y disminuye la síntesis de glucógeno en el hepatocito, adipocito y el músculo esquelético^{11,18,19}. La pancreastatina produce también inhibición de la liberación de la amilasa del páncreas exocrino, de la liberación de ácido de las células parietales del estómago y de la liberación de paratirina (PTH) de las células principales de la glándula paratiroidea¹⁹. La pancreastatina parece actuar a través de receptores unidos a la proteína G^{4,18,20}.

Otros productos derivados de la CgA son las vasostatinas I y II (también llamada β -granina) de efectos anti-adrenérgicos que inhiben la vasoconstricción, modulan la adhesión de las células musculares lisas y los fibroblastos y la interacción de éstos con la matriz extracelular^{11,21}.

Las vasostatinas producen una relajación de los miocitos del músculo liso a través de la apertura de los canales de potasio de la superficie de la célula hiperpolarizada²². La vasostatina I, además, modula la adhesión de los fibroblastos y favorece la apoptosis neuronal mediada por las células de la microglía. Al igual que otros productos derivados de la CgA, las vasostatinas inhiben la liberación de la PTH de las células principales de la glándula paratiroidea^{9,10,22}.

La catestatina es un péptido de 20 aminoácidos derivado de la CgA bovina que ha despertado considerable interés dado que se ha involucrado en la hipertensión arterial (véase más adelante). El mecanismo de acción se cree que ocurre a través de la unión directa al receptor nicotínico del sistema colinérgico. El bloqueo específico de dicho receptor da lugar a una inhibición de la liberación de catecolaminas de las células cromafines del sistema simpático-adrenal, y se considera el antagonista endógeno más potente de dicho receptor^{23,24}. La catestatina también previene la desensibilización de la liberación de catecolaminas de las células cromafines que está inducida por la estimulación repetida de agonistas nicotínicos²⁵. Por todo ello, se considera que esta proteína contribuye al mecanismo de *feedback* negativo autocrino/paracrino que regula la liberación de catecolaminas del sistema simpático-adrenal^{8,26}.

El ratón *knock-out* del gen de la CgA presenta un aumento de la presión arterial¹⁶. La expresión transgénica de la CgA, así como la inyección de catestatina humana, restablece la presión arterial a la normalidad¹⁶. La catestatina además es un potente vasodilatador a través de la estimulación de la liberación de histamina. Esta proteína tiene también un efecto antimicrobiano^{8,10,11}.

Otro fragmento derivado de la CgA, la parastatina, tiene efecto inhibitorio de la secreción de PTH estimulada por los niveles disminuidos de calcio de las células principales de las glándulas paratiroides^{6,10,11}.

Por último, otros fragmentos menos conocidos derivados de la CgA son la procromacina, la cromacina I y la cromacina II, que tienen actividad antibacteriana, y la cromofungina, con efectos antifúngicos al favorecer la formación de canales iónicos en las membranas^{11,27}. Otros péptidos derivados de la CgA son la cromostatina, WE-14, GE-25, etc. de significado no bien conocido^{8,10,11}.

La inhibición de la secreción de proopiomelanocortina (POMC) no se ha atribuido específicamente a ningún fragmento derivado de la CgA sino que se considera un efecto general de ésta²⁸.

DIFICULTADES METODOLÓGICAS DE LA DETERMINACIÓN DE CROMOGRANINA A

La CgA se puede cuantificar en suero, plasma y orina por métodos competitivos. La inmunorreactividad de la molécula es estable *in vitro*, y soporta los 37 °C de forma prolongada, así como la congelación y descongelación.

Desde hace años se dispone de diversos inmunoanálisis comerciales para la cuantificación de CgA. El primer radioinmunoensayo data de 1984²⁹. Aunque se dispone de anticuerpos dirigidos contra epítomos de los extremos C-terminal o N-terminal, los ensayos dirigidos contra el dominio central parecen ser los más exactos³⁰.

En la actualidad, se dispone tanto de técnicas inmunoenzimáticas (ELISA) como de inmunoisotópicas (IRMA o RIA). Sin embargo, debido a los diferentes diseños de los estudios, diferentes anticuerpos utilizados (monoclonales o policlonales), estandarización o diferentes unidades empleadas, los resultados obtenidos difieren según el método utilizado para su determinación. La falta de un estándar reconocido internacionalmente para la determinación de CgA, así como la marcada diferencia en cuanto al reconocimiento de los tipos de fragmentos de CgA por cada uno de los inmunoanálisis, y debido a que cada uno tiene un diseño diferente en cuanto a los epítomos reconocidos, da lugar a la necesidad de evaluar el grado de intercambiabilidad de los resultados obtenidos, así como establecer los diferentes puntos de corte y la correlación clínica entre los 3 inmunoanálisis existentes³¹⁻³⁶.

En general, la determinación de CgA intacta en plasma tiene una mayor sensibilidad para el diagnóstico de los TNE que la cuantificación de diferentes fragmentos. Igualmente, suele haber una correlación estrecha entre los resultados de los enzimoimmunoensayos y los radioinmunoensayos³¹⁻³⁶. El límite de detección suele ser más bajo con los enzimoimmunoensayos que con los radioinmunoensayos, aunque los radioinmunoensayos abarcan un rango más amplio de concentraciones^{33,34}.

En la tabla 2 se exponen las dificultades metodológicas de cuantificación de la CgA y en la figura 1, los diferentes métodos de determinación de la CgA.

UTILIDAD DE LA CROMOGRANINA A EN TUMORES NEUROENDOCRINOS

La determinación de CgA en sangre es el mejor y considerado el marcador universal de los TNE. Tiene una sensibilidad diagnóstica que oscila entre el 50 y el 100%, y es del 80-100% para los tumores funcionantes y del 50-70% para los no funcionantes³⁷⁻⁴⁴.

En los TNE la cuantificación de CgA en sangre se ha demostrado útil tanto en el diagnóstico como en la respuesta tras la cirugía, y en el seguimiento de los TNE para monitorizar la respuesta al tratamiento mé-

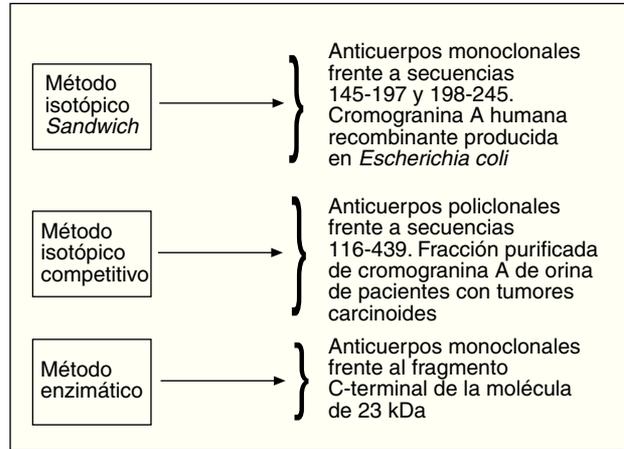


Fig. 1. Métodos de determinación de la cromogranina A.

dico, así como la recurrencia o persistencia de la enfermedad ya que las concentraciones de CgA ascienden prematuramente incluso en pacientes asintomáticos. En este sentido, estudios recientes han demostrado que la determinación de CgA es el indicador más temprano de recurrencia de TNE gastroenteropancreáticos de intestino medio tras una cirugía radical, superior a la determinación de ácido hidroxiiindolacético (5-HIAA) y técnicas con radioisótopos⁴⁵⁻⁴⁸. De hecho, algunos grupos recomiendan su determinación en los protocolos de seguimiento de estos tumores, con una periodicidad de 6 meses, con técnicas radiológicas como la ecografía o la tomografía computarizada practicadas anualmente^{40,45}.

Las concentraciones plasmáticas más elevadas de CgA, que alcanzan 1.000 veces el valor superior de la normalidad, aparecen en los tumores carcinoides metastásicos, sobre todo del intestino medio. Se ha demostrado una estrecha correlación entre los niveles plasmáticos de CgA y la masa tumoral⁴⁹. En los tumores carcinoides del intestino medio, las concentraciones elevadas de CgA son un predictor independiente de la mortalidad⁵⁰.

La estabilidad de la CgA es un punto a favor de su determinación en el diagnóstico y en el control de los tumores carcinoides, y es el parámetro de más utilidad en la detección y en el control de estos tumores, superior a otros marcadores como el 5-HIAA y la enolasa neuronal específica^{51,52}. En TNE no metastásicos el valor diagnóstico de los valores de CgA es, sin embargo, bajo^{52,53}.

TABLA 2. Dificultades metodológicas de la cromogranina A

Detección de diferentes fragmentos Uso de anticuerpos monoclonales o policlonales Marcador isotópico o enzimático Expresión de resultados en diferentes unidades (ng/ml, U/l, nmol/l)
--

La determinación combinada del polipéptido pancreático (PP) incrementa la sensibilidad diagnóstica en los TNE gastroenteropancreáticos especialmente en los tumores pancreáticos no funcionantes⁵³.

La CgA se halla elevada en muchos pacientes con carcinoma medular de tiroides, tumores de páncreas endocrino, carcinoma pulmonar de célula pequeña y otros tumores^{54,55}.

En niños con sospecha de neuroblastoma la determinación plasmática de CgA tiene una sensibilidad aproximada del 90% y una especificidad del 100%⁵⁶. Se ha demostrado su correlación con el tamaño tumoral por lo que se considera un marcador para el seguimiento de la respuesta al tratamiento y un predictor de la supervivencia⁵⁶.

Las concentraciones plasmáticas de CgA se han hallado elevadas también en la hiperplasia de las glándulas paratiroideas e hiperplasia de las células C del tiroides; por ello la determinación plasmática de CgA no ayuda a distinguir la hiperplasia del adenoma o el carcinoma de células neuroendocrinas⁸.

En ocasiones la determinación en plasma de otras graninas o su detección inmunohistoquímica puede ser de ayuda diagnóstica⁵⁷. Derivados de la cromogranina B, como la secretoneurina, aparecen elevados en pacientes con TNE o feocromocitomas⁵⁸. La secretogranina V puede estar elevada en algunos TNE y carcinomas pulmonares de célula pequeña^{57,58}.

En los TNE pancreáticos secretores de glucagon, somatostatina o VIP, la CgA sérica se halla habitualmente elevada y sirve para la monitorización de estos pacientes. Es controvertida, sin embargo, su determinación en los gastrinomas⁵⁹. La elevación de la CgA parece reflejar la hiperplasia de las células enterocromafines-*like* del estómago mediada por la gastrina más que ser reflejo del tamaño del gastrinoma, y la exéresis del estómago por se reduce los valores de CgA sin escisión del gastrinoma^{59,60}. Los valores de CgA se correlacionan positivamente con la masa de las células enterocromafines-*like* en pacientes con gastritis crónica atrófica, gastrinoma y neoplasia endocrina múltiple que pueden desarrollar tumores carcinoides gástricos malignos^{42,61}.

Los valores de CgA aparecen también elevados en el hiperparatiroidismo primario, especialmente aquellos que tienen también el síndrome de Zollinger-Ellison asociado, de forma que la paratiroidectomía consigue disminuir los valores plasmáticos de CgA⁶¹. También en la neoplasia endocrina múltiple se ha demostrado una correlación entre la masa tumoral y los valores circulantes de CgA⁶¹.

CROMOGRANINA A Y TUMORES NO NEUROENDOCRINOS

La CgA se libera también de tumores de células no neuroendocrinas, de manera que es un marcador sensible de estos tumores^{8,35}.

Las concentraciones séricas de CgA pueden aparecer elevadas en tumores como el adenocarcinoma de próstata, el carcinoma pulmonar de células pequeñas, de colon/recto, mama y páncreas, lo que sugiere que algunos tumores no neuroendocrinos pueden tener un componente neuroendocrino^{8,37,62}. En particular, se ha descrito diferenciación neuroendocrina en tumores de próstata, colorrectal, de mama, en el cáncer gástrico, de ovario, de páncreas, de hígado y pulmonar de célula no pequeña. La función de las células neuroendocrinas en estos tumores no se halla bien elucidada, aunque se ha sugerido que las cromograninas pueden desempeñar un papel en el crecimiento tumoral o en la progresión⁶².

En varones con carcinoma de próstata, la cuantificación de CgA puede ser útil para establecer el diagnóstico y el pronóstico de la enfermedad. Cussenot et al⁶³, en un estudio realizado en 135 pacientes con cáncer de próstata y 28 pacientes con hiperplasia prostática benigna, hallaron que las concentraciones séricas de CgA fueron el mejor marcador para identificar la diferenciación neuroendocrina durante la progresión del cáncer de próstata avanzado. Un estudio en EE.UU. en 82 pacientes con cáncer de próstata obtuvo unos resultados similares⁶⁴. Los valores séricos de CgA fueron de ayuda para identificar a los pacientes con cáncer de próstata avanzado que no presentaban valores elevados de antígeno específico prostático (PSA)⁶⁵. Los valores plasmáticos elevados de CgA en el cáncer de próstata pueden ser un signo de resistencia a la terapia de supresión hormonal, y por tanto se asocian a un peor pronóstico⁶³. En general, unos valores elevados son indicativos de un mal pronóstico de la enfermedad^{65,66}. Los valores plasmáticos de CgA son discretos en comparación con los que aparecen en los TNE⁶⁷.

Aproximadamente el 50% de los cánceres prostáticos contienen células neuroendocrinas. Algunos autores consideran que los adenocarcinomas de próstata con diferenciación neuroendocrina tienden a ser más agresivos⁶⁸. Los valores de CgA podrían reflejar la actividad neuroendocrina del carcinoma de próstata, y la CgA parece ser el mejor marcador de la actividad neuroendocrina en la glándula prostática⁶⁹. En este sentido, Angelsen et al⁶⁹ demostraron una correlación entre el número de células neuroendocrinas positivas para CgA y los valores séricos de CgA en pacientes con adenocarcinoma de próstata. De igual forma los valores elevados de CgA en suero aparecen mayormente en pacientes con enfermedad metastásica y tumores de próstata no sensibles a los andrógenos. No obstante, si la actividad neuroendocrina influyera en la progresión y el crecimiento del cáncer de próstata, cabría esperar una correlación entre un marcador neuroendocrino como la CgA con unas características patológicas más adversas y predecir la extensión del tumor antes de la cirugía. Sin embargo, la cantidad de células neuroendocrinas necesarias para detectar valores plasmáticos elevados de CgA en plasma está por determinar⁶³.

Se considera que la CgA proporciona información complementaria a la obtenida con el PSA, aunque no hay asociación entre PSA y CgA⁶⁷. De esta forma, si bien el PSA, pero no la CgA, se correlaciona con la escala de Gleason, tanto el PSA como la CgA muestran una correlación similar con la estadificación⁶⁷.

En los tumores pulmonares de célula pequeña los valores de CgA se han utilizado para controlar la respuesta al tratamiento y la recurrencia de la enfermedad, pero debido a su baja sensibilidad el valor de la CgA en este tipo de tumores es bajo⁸. Contrariamente a lo que sucede con otros tumores, algunos estudios indican que los carcinomas pulmonares de células pequeñas con células neuroendocrinas pueden tener un mejor pronóstico, pero otros estudios no han hallado correlación entre la presencia de células neuroendocrinas en el tejido tumoral y la supervivencia del paciente^{8,37}. En general, los pacientes con diferenciación neuroendocrina parecen responder mejor a la quimioterapia comparados con aquellos sin esa diferenciación. Cabe considerar también que en el contexto de una neoplasia no endocrina no puede descartarse la coexistencia de un tumor neuroendocrino oculto que produzca CgA en aquellos pacientes con elevación de los niveles séricos de CgA.

De igual forma se ha detectado inmunorreactividad de CgA en células de tumores colorrectales y carcinomas de mama, aunque el valor diagnóstico o pronóstico no está bien establecido⁷⁰. En el caso del cáncer colorrectal, un estudio noruego, en una serie de 91 pacientes, halló una diferenciación neuroendocrina en el 40% de los tumores⁷¹. Los valores plasmáticos de CgA se hallaban elevados en una gran proporción de pacientes y se sugería que la diferenciación neuroendocrina en este cáncer es un índice de mal pronóstico. Estos autores sugieren que la CgA puede ser útil como marcador pronóstico del cáncer colorrectal especialmente para identificar a los pacientes en riesgo.

Otros tumores de diferenciación neuroendocrina parcial (carcinoma de células renales, coriocarcinoma, timoma, melanoma maligno, etc.) no se han asociado a valores elevados de CgA^{8,72,73}.

CROMOGRANINA A Y TUMORES HIPOFISARIOS

Diferentes estudios han mostrado inmunorreactividad para CgA en adenomas hipofisarios, particularmente en los adenomas secretores de folitropina (FSH), mientras que otros adenomas hipofisarios son negativos o débilmente positivos en escasas células, y se ha sugerido que puede utilizarse como marcador de adenomas hipofisarios humanos, especialmente los no secretores y los gonadotropinomas⁷⁴. Algunos estudios analizan la CgA sérica basal y tras estímulo con tirotrina (TRH). Sin embargo, el porcentaje de pacientes con tumores hipofisarios no funcionantes con valores séricos elevados de CgA es bajo, sin apreciarse

cambios tras la administración de TRH⁷⁵. De igual forma, los valores de CgA aparecen elevados en pocos casos en pacientes con acromegalia y prolactinoma, y se concluye que no parece ser un marcador especialmente útil en el diagnóstico, abordaje y seguimiento de los tumores hipofisarios⁷⁵. En adenomas productores de prolactina, la determinación de CgA puede ser negativa, y no así la de cromogranina B y la secretogranina II, así como los derivados de cromogranina B^{56,58}.

CROMOGRANINA A Y FEOCROMOCITOMA

Diferentes estudios indican que en el feocromocitoma la cuantificación de CgA en plasma puede ser de ayuda como marcador del tejido cromafín, y se considera un parámetro útil tanto en el diagnóstico como en el seguimiento del feocromocitoma intervenido⁷⁶. De hecho la demostración inmunohistoquímica de CgA en un tumor adrenal es muy indicativa de feocromocitoma. En los casos de feocromocitoma esporádico, la sensibilidad oscila entre el 80 y el 100%, con una especificidad de entre el 70 y el 96% para el diagnóstico⁷⁶⁻⁸⁰. En una serie reciente de 25 pacientes con feocromocitoma la CgA determinada por RIA aparecía elevada en todos los pacientes, y con un *cut-off* de 130 ng/ml en 24 de los 25 pacientes aparecía elevada. Se halló una correlación positiva entre la concentración plasmática de CgA y el tamaño del tumor y un *score* de malignidad del feocromocitoma^{76,81}. Cuando se comparó la CgA con otras pruebas de laboratorio para el diagnóstico de feocromocitoma, como la adrenalina, la noradrenalina, el ácido vanililmandélico y las metanefrinas en orina determinadas por HPLC, la cuantificación de la CgA sérica por un método inmunoradiométrico mostró una sensibilidad y una especificidad mayores, y se puede emplear como única prueba para el diagnóstico del feocromocitoma^{78,81}. Comparado con la determinación de metanefrinas fraccionadas en plasma, consideradas como método de referencia para el diagnóstico de feocromocitoma la determinación de CgA fue casi equivalente⁸⁰. A mayor abundamiento, la combinación de la determinación de CgA en plasma y las catecolaminas en orina (tanto la adrenalina y la noradrenalina como la metanefrina y la normetanefrina) presentaba en un estudio una sensibilidad para el diagnóstico de feocromocitoma del 100%⁷⁶. En un reciente y extenso estudio la cuantificación plasmática de la CgA o metanefrinas fraccionadas urinarias mejoraba la exactitud diagnóstica en pacientes con elevaciones discretas de las metanefrinas fraccionadas plasmáticas⁸². Diferentes fármacos utilizados en el tratamiento del feocromocitoma no parecen influir de forma importante en los valores plasmáticos de CgA.

Es de especial interés, a diferencia de los valores plasmáticos y urinarios de adrenalina y noradrenalina, que la CgA sea de ayuda en distinguir el feocromocito-

ma benigno del maligno⁸³. En un estudio reciente los valores de CgA en el feocromocitoma maligno fueron más de 15 veces superiores a los valores alcanzados en el feocromocitoma benigno. Estos resultados, sin embargo, no son reproducidos en otros estudios^{76,77,84,85}.

Al igual que ocurre en los TNE gastroenteropancreáticos los valores de CgA se normalizan en la mayor parte de los casos tras la cirugía del feocromocitoma y se elevan de nuevo tras la recurrencia del tumor, de forma que puede considerarse un marcador en el seguimiento del feocromocitoma intervenido^{76,81}. Dado que la secreción de catecolaminas en el feocromocitoma puede ser episódica, la determinación de CgA puede ser de gran valor en los casos en que las catecolaminas urinarias sean negativas; no obstante, puede haber falsos positivos⁷⁹.

La CgA parece ser también de utilidad como marcador de enfermedades genéticas como la enfermedad de Von Hippel-Lindau (VHL), neoplasia endocrina múltiple tipo 2 (NEM-2) o neurofibromatosis. En este sentido, la determinación de CgA se ha mostrado útil en diferenciar el feocromocitoma asociado a la enfermedad VHL del que aparece en el contexto del NEM-2. Se ha demostrado que la expresión de CgA de tumores de pacientes con NEM-2, tanto el ARNm como la proteína, así como los valores en plasma, son mucho más elevados en los casos de NEM 2 que en los casos con enfermedad VHL. Sin embargo, los valores plasmáticos de catecolaminas son más elevados a igualdad de tamaño tumoral en la enfermedad VHL que en los casos de NEM-2, lo que se cree que puede ocurrir por un fenómeno de *downregulation* en las vías de secreción de los péptidos activos. Algunos estudios indican, sin embargo, que la determinación plasmática de CgA tiene una sensibilidad más baja en los feocromocitomas hereditarios que en los casos esporádicos^{76,86}. Esto es en parte comprensible si consideramos que existe una correlación entre los valores plasmáticos de CgA y el tamaño del tumor, y que aparecen valores normales de CgA en los feocromocitomas hereditarios y lesiones de pequeño tamaño⁸⁷. Los valores elevados de CgA pueden no ser de ayuda en el diagnóstico del feocromocitoma en pacientes con deterioro de la función renal^{12,88}.

CROMOGRANINA A Y OTROS TUMORES ADRENALES

La CgA se ha estudiado en tumores adrenocorticales sólidos, descubiertos de forma incidental (incidentaloma). Si bien la mayoría son benignos y no funcionantes, hasta un 10% de ellos corresponden a feocromocitomas, cuyo diagnóstico debe ser efectuado lo antes posible, dado el riesgo potencial de la liberación de catecolaminas por manipulación del tumor o punción. Por ello el cribado de este tipo de tumor debe ser obligado en el estudio sistemático de cualquier incidentaloma antes de cualquier procedimiento diagnóstico invasivo o terapéutico. En un estudio reciente, llevado a cabo en pacientes

con incidentaloma adrenal, la determinación de CgA sérica fue capaz de detectar a todos los pacientes con feocromocitoma demostrado histológicamente⁸⁰. En esta serie ningún paciente con concentraciones séricas de CgA normales desarrolló sintomatología hiperadrenérgica ni se observó un incremento progresivo de la CgA. Se concluye que unos valores séricos de CgA negativos pueden ser de ayuda en descartar el empleo de otras técnicas de imagen como la gammagrafía con metayodobencilguanidina (MIBG)⁸⁰.

Se ha sugerido que la capacidad de sintetizar CgA implica una diferenciación neuroendocrina de los tumores de origen epitelial y que este hecho se acompaña de un peor pronóstico; por ello, el estudio de la CgA en tumores corticoadrenales podría tener interés en detectar aquellos tumores con peor pronóstico. En este sentido, en una serie de 80 pacientes con tumores corticoadrenales no funcionantes presumiblemente adenomas benignos, los valores plasmáticos de CgA aparecieron elevados de forma significativa en los individuos con tumor adrenal respecto a controles y se hallaba elevada en el 25% de los pacientes. Sin embargo, el tejido de los 15 tumores intervenidos no expresaba inmunoreactividad de CgA, de manera que la hipersecreción de CgA no era producida por el tejido adenomatoso. De igual forma, no se observó modificaciones de los valores antes y tras la cirugía de los tumores adrenales. Los individuos con tumores adrenales no intervenidos no desarrollaron signos o síntomas de transformación maligna de los tumores y se consideró que la hipersecreción de CgA no representa un marcador humoral de transformación maligna de adenomas corticoadrenales^{79,89-91}.

HIPERTENSIÓN ARTERIAL

El valor basal en plasma de CgA se correlaciona con el tono simpático, y estudios en individuos gemelos señalan que los valores plasmáticos de CgA son en parte heredados⁹². Comparado con sujetos control normotensos los pacientes con hipertensión arterial esencial pueden tener unos valores plasmáticos de CgA más elevados⁹².

Dado que en la hipertensión arterial se ha incriminado la existencia de un estado de hiperactividad del sistema simpático-adrenal, se ha especulado que una alteración de la regulación de la catestatina, que inhibe la liberación de catecolaminas, podría desempeñar un papel en la patogenia de la hipertensión arterial. De hecho, estudios recientes han mostrado que los valores de catestatina, en plasma se hallan disminuidos en sujetos con hipertensión arterial esencial e incluso en individuos normotensos con riesgo genético de desarrollar hipertensión arterial. En este sentido, además se ha hallado que los niveles séricos disminuidos de catestatina se correlacionan con la secreción aumentada de adrenalina suprarrenal y un aumento de la respuesta a sustancias presoras⁹³. El péptido derivado de la CgA pancreatina

se halla elevado en individuos no obesos con hipertensión arterial esencial, y se ha especulado que su acción puede contribuir a la resistencia a la insulina que se asocia con frecuencia a la hipertensión arterial⁹⁴.

Recientemente, se ha estudiado los polimorfismos del gen de la CgA con el fin de conocer si predicen las complicaciones de la hipertensión arterial en los órganos diana con la enfermedad renal avanzada. En individuos de raza negra con hipertensión arterial y enfermedad renal avanzada los haplotipos ATC y TC se hallaban presentes con más frecuencia de forma significativa respecto a sujetos control. Sorprendentemente, los valores circulantes de catestatina se hallan significativamente disminuidos a pesar de que en la nefropatía avanzada aparecen habitualmente elevados dada la disminución de la eliminación renal. La variante TC parece disminuir la expresión del gen y explicaría la disminución de la catestatina⁹⁵.

CROMOGRANINA A Y ENFERMEDADES NEUROPSIQUIÁTRICAS

Aunque se ha hallado CgA en el líquido cefalorraquídeo (LCR) los valores de CgA en el LCR no se correlacionan con la actividad neuronal adrenérgica⁹⁶.

Algunos estudios señalan que diferentes graninas se hallan alteradas en la enfermedad de Alzheimer (EA)⁹⁷. Por lo que respecta a la CgA, alrededor del 30% de las placas de beta-amiloide muestran presencia de CgA, porcentaje superior a la cromogranina B o a la secretoneurina, así como a la sinaptofisina o calbindina. La CgA se acumula también en los cuerpos de Levy y en las neuronas edematosas de la enfermedad de Pick⁹⁸. La CgA se halla expresada en células de la glía, y algunos estudios indican que la CgA activa las células de la microglía y con ello contribuye a la degeneración neuronal⁹⁹. Cerca del 40% de las placas con inmunorreactividad para CgA aparecen rodeadas de microglía activada⁹⁷. Se considera que en la EA la CgA es un mediador entre los mecanismos inflamatorios neuronales y de la glía^{97,99}.

En pacientes con enfermedad de Parkinson los valores de CgA en el LCR se hallan disminuidos, lo que podría plantearse como marcador en esta enfermedad⁹⁶. Se ha detectado una acumulación de CgA en la sustancia negra en la enfermedad de Parkinson⁹⁶.

En enfermedades psiquiátricas como la esquizofrenia los valores de CgA, así como la cromogranina B, pero no la C, aparecen disminuidos en el LCR, aunque su significado es desconocido¹⁰⁰.

CROMOGRANINA A EN PATOLOGÍA CARDÍACA, INSUFICIENCIA RENAL E INSUFICIENCIA HEPÁTICA

En la insuficiencia cardíaca aparecen unos valores plasmáticos aumentados de CgA. Sin embargo, y pese

a que el corazón se comporta como un órgano endocrino, no parece que la elevación de CgA, al igual que otras moléculas como el factor de necrosis tumoral alfa o interleucina (IL) 1 beta, provenga únicamente del tejido miocárdico dañado.

En concreto, son las vasostatinas, péptidos producidos a partir de la proteólisis de la porción aminoterminal de la CgA, las que se liberan de las terminaciones simpáticas e inhiben la vasoconstricción arterial. Además, las vasostatinas con un efecto contrario a las sustancias adrenérgicas parecen tener un efecto inotrópico negativo en el corazón aislado. En particular parece que la vasostatina 1 es la causa última del efecto de las cromograninas en el miocardio¹⁰¹⁻¹⁰³.

Un estudio reciente cuantificó la CgA en plasma y llevó a cabo inmunohistoquímica con anticuerpos anti-CgA en biopsias miocárdicas en 40 pacientes con miocardiopatía dilatada y 20 pacientes con miocardiopatía hipertrofica¹⁰². En todos los pacientes los valores plasmáticos de CgA se hallaban elevados, con una correlación positiva entre los valores plasmáticos de CgA y la presión telediastólica del ventrículo izquierdo así como con los valores plasmáticos de péptido natriurético cerebral (BNP)¹⁰². Los estudios de inmunohistoquímica mostraron expresión de CgA en el citoplasma y colocalización con BNP en todos los pacientes a diferencia de los controles¹⁰². Las técnicas de ELISA mostraron CgA en el miocardio patológico, pero no en el sano. Igualmente se detectaron fragmentos en plasma correspondientes a vasostatina 1 que ejercían efectos inotrópicos negativos cuando se infundían a corazón de rata. Estos autores sugieren que la CgA podría ser un regulador neuroendocrino de la función cardíaca y una molécula diana terapéutica en la insuficiencia cardíaca¹⁰².

De igual forma, los valores de CgA se han correlacionado con la gravedad de la insuficiencia cardíaca. El grado IV de insuficiencia cardíaca (New York Heart Association) se acompaña de unos valores de CgA que son 7-8 veces los valores normales¹⁰⁴.

La insuficiencia renal, con un aclaramiento de creatinina inferior a 70 ml/min, es una conocida situación en la que existe elevación de las concentraciones plasmáticas de CgA, presumiblemente por acumulación de ésta y otros fragmentos derivados⁸⁸.

Igualmente, en el fallo hepático existe elevación moderada de los valores plasmáticos de CgA posiblemente por alteración en la metabolización de esta molécula¹⁰⁵.

LA CROMOGRANINA A COMO MARCADOR DE OTRAS ENFERMEDADES

Además de las situaciones comentadas previamente, pueden aparecer valores plasmáticos elevados de CgA en pacientes con gastritis atrófica con hipergastrinemia (tipo A), otros estados de hipergastrinemia y en el síndrome de Cushing¹⁰⁶.

TABLA 3. Usos potenciales de la cromogranina A

Marcador en el cribado de tumor neuroendocrino
Utilidad en seguimiento de tumores neuroendocrinos
Respuesta al tratamiento (médico-quirúrgico)
Persistencia
Recidiva
Marcador de tumores no neuroendocrinos
Próstata
Otros: cáncer de colon, pulmonar de célula pequeña
Inmunohistoquímica de tumores hipofisarios
Diagnóstico y seguimiento del feocromocitoma
Diagnóstico diferencial: malignidad/benignidad
Marcador en incidentalomas adrenales
Marcador en la hipertensión arterial
Catestatina: polimorfismos
Marcador en enfermedades neuropsiquiátricas
Enfermedad de Alzheimer
Enfermedad de Parkinson
Marcador de fallo orgánico
Insuficiencia cardíaca/infarto de miocardio
Otros
Marcador de índice de hiperactividad adrenérgica:
Lupus eritematoso, artritis reumatoide, etc.
Marcador de estrés psicológico: determinación en saliva

También algunos fármacos, como los inhibidores de la bomba de protones (IBP) y los corticoides, pueden producir elevación de los niveles séricos de CgA. Posiblemente, dado su amplio uso, los IBP, son en la actualidad la causa más frecuente de elevación espúrea de los niveles plasmáticos de CgA. Su empleo, tanto a corto, medio o largo plazo, puede provocar elevación de los valores plasmáticos de CgA. Hasta tal punto los IBP pueden modificar los valores plasmáticos de CgA que incluso una dosis única de estos fármacos puede producir una elevación de ésta. Por todo ello se aconseja la retirada de éstos antes de la determinación plasmática de CgA. Una semana de supresión parece un plazo razonable antes de su determinación^{91,107,108}.

Como se ha demostrado en sujetos sanos, la CgA es un excelente indicador de la actividad simpática por lo que no es de extrañar que en diferentes enfermedades inflamatorias aparezcan elevadas las concentraciones séricas de esta molécula¹¹⁰⁻¹¹². Estudios recientes indican que en el lupus eritematoso sistémico y la artritis reumatoide (AR) los valores séricos de CgA se hallan elevados comparados con los sujetos normales¹⁰⁹. En los pacientes con AR, si bien se demostró positividad de CgA en células sinoviales del tejido inflamatorio, se sugería que el origen de la CgA sería la médula adrenal como reflejo de la hiperactividad simpática¹⁰⁹.

En los últimos años se ha despertado un considerable interés en el estudio de la CgA salivar, como índice para evaluar el estrés psicológico. La CgA en humanos es producida por las glándulas submandibulares y secretada en la saliva aunque no se hallan bien establecidos los valores normales de esta sustancia en el fluido salival^{113,114}. Algunos estudios evalúan el estrés psicológico en respuesta a una batería de pruebas cognitivas y cuantifican CgA en saliva. Estos estudios sugieren que los cambios observados en las concentraciones salivales de CgA reflejan la exposición a un estrés psico-

lógico en humanos expuestos a trabajos cognitivos y pueden ser un buen índice en la evaluación del estrés^{113,114}.

En resumen, a las ya bien conocidas utilidades clínicas de la cuantificación de la CgA en el diagnóstico y seguimiento de los TNE, en los últimos años se han abierto numerosas expectativas con la determinación plasmática de CgA en otras enfermedades, desde otros tumores no neuroendocrinos, tumores hipofisarios, feocromocitoma, incidentalomas adrenales, hipertensión arterial, diferentes enfermedades neuropsiquiátricas, insuficiencia cardíaca hasta otras entidades en que parece existir una activación del sistema simpático. En la tabla 3 se exponen los usos potenciales de la CgA. Probablemente, se han abierto numerosas incógnitas que se irán desvelando en los próximos años.

BIBLIOGRAFÍA

1. Simon JP, Aunis D. Biochemistry of the chromogranin A protein family. *Biochem J.* 1989;262:1-13.
2. Huttner WB, Gerdes HH, Rosa P. The granin (chromogranin/secretogranin) family. *Trends Biochem Sci.* 1991;16:27-30.
3. Winkler H, Fischer-Colbrie R. The chromogranins A and B: the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience.* 1992;49:497-528.
4. Fischer-Colbrie R, Laslop A, Kirchmair R. Secretogranin II: molecular properties, regulation of biosynthesis and processing to the neuropeptide secretoneurin. *Prog Neurobiol.* 1995;46:49-70.
5. Wiedermann CJ. Secretoneurin: a functional neuropeptide in health and disease. *Peptides.* 2000;21:1289-98.
6. Helle KB, Aunis D. A physiological role for the granins as prohormones for homeostatically regulatory peptides? A working hypothesis for future research. *Adv Exp Med Biol.* 2000;482:389-97.
7. Kim T, Tao-Cheng JH, Eiden LE, Peng Loh Y. The role of chromogranin A and the control of secretory granule genesis and maturation. *Trends Endocrinol Metab.* 2003;14:56-7.
8. Taupenot L, Harper KL, O'Connor DT. The chromogranin-secretogranin family. *N Engl J Med.* 2003;348:1134-49.
9. Tota B, Quintieri AM, Di Felice V, Cerra MC. New biological aspects of chromogranin A-derived peptides: focus on vasostatins. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol.* 2007;147:11-8.
10. Helle KB, Corti A, Metz-Boutigue H, Tota B. The endocrine role for chromogranin A: a prohormone for peptides with regulatory properties. *Cell Mol Life Sci.* 2007;64:2863-86.
11. Montero-Hadjadje M, Vaingankar S, Elias S, Tostivint H, Mahata SK, Anouar Y. Chromogranins A and B and secretogranin II: evolutionary and functional aspects. *Acta Physiol (Oxf).* 2008;192:309-24.
12. Woulfe J, Deng D, Muñoz D. Chromogranina A in the central nervous system of the rat: pan-neuronal expression of its mRNA and selective expression of the protein. *Neuropeptides.* 1999;33:285-300.
13. Canaff L, Bevan S, Wheeler DG, Moulard AJ, Rehfuss RP, White JH, et al. Análisis de molecular mechanisms controlling neuroendocrine cell specific transcription of the chromogranin A gene. *Endocrinology.* 1998;139:1184-96.

14. Westphal CH, Muller L, Zhou A, Zhu X, Bonner-Weir S, Schambelan M, et al. The neuroendocrine protein 7B2 is required for peptide hormone processing in vivo and provides a novel mechanism for pituitary Cushing's disease. *Cell*. 1999;96:689-700.
15. Hocker M, Cramer T, O'Connor DT, Rosewicz S, Viedwmann B, Wang TC. Neuroendocrine-specific and gastrin-dependent expression of a chromogranin A-luciferase fusion gene in transgenic mice. *Gastroenterology*. 2001;121:43-55.
16. Mahapatra NR, O'Connor DT, Vaingankar SM, Hikim AP, Mahata M, Ray S, et al. Hypertension from targeted ablation of chromogranin A can be rescued by the human ortholog. *J Clin Invest*. 2005;115:1942-52.
17. Kim T, Tao-Cheng JH, Eiden L, Loh YP. Chromogranin A, an "on/off" switch controlling dense-core secretory granule biogenesis. *Cell*. 2001;106:499-509.
18. Sanchez-Margalet V, Gonzalez-Yanes C, Santos-Alvarez J, Najib S. Pancreastatin: biological effects and mechanism of action. *Adv Exp Med Biol*. 2000;482:247-62.
19. Cadman PE, Rao F, Mahata SK, O'Connor DT. Studies of the disglycemic peptide, pancreastatin, using human forearm model. *Ann N Y Acad Sci*. 2002;971:528-9.
20. Sanchez-Margalet V, Lucas M, Goberna R. Pancreastatin: further evidence for its consideration as a regulatory peptide. *J Mol Endocrinol*. 1996;16:1-8.
21. Ratti S, Curnis F, Longhi R, Corti A, Gasparri A, Sacchi A, et al. Structure-activity relationships of chromogranin A in cell adhesion: identification of an adhesion site for fibroblasts and smooth muscle cell. *J Biol Chem*. 2000;275:257-63.
22. Helle KB. Vasostats: vascular targets. *Adv Exp Med Biol*. 2000;482:225-38.
23. Mahata SK, O'Connor DT, Mahata M, Yoo SH, Taupenot L, Wu H, et al. Novel autocrine feedback control of catecholamine release: a discrete chromogranin A fragment is a noncompetitive nicotinic cholinergic antagonist. *J Clin Invest*. 1997;100:1623-33.
24. Simon JP, Bader MF, Aunis D. Secretion from chromaffin cells is controlled by chromogranin A-derived peptides. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1988;85:1712-6.
25. Mahata SK, Mahata M, Parmer RJ, O'Connor DT. Desensitization of catecholamine release: the novel catecholamine release inhibitory peptide catestatin (chromogranin a344-364) acts at the receptor to prevent nicotinic cholinergic tolerance. *J Biol Chem*. 1999;274:2920-8.
26. Kim T, Loh P. Chromogranin A: a surprising link between granule biogenesis and hypertension. *J Clin Invest*. 2005;115:1711-3.
27. Lugardon K, Chasserot-Golaz S, Kieffer AE, Maget-Dana R, Nullans G, Kieffer B, et al. Structural and biological characterization of chromofungin, the antifungal chromogranin A-(47-66)-derived peptide. *J Biol Chem*. 2001;276:35875-82.
28. Wand GS, Takiyuddin M, O'Connor DT, Levine MA. A proposed role for chromogranin A as a glucocorticoid-responsive autocrine inhibitor of proopiomelanocortin secretion. *Endocrinology*. 1991;128:1345-51.
29. 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. *N Engl J Med*. 1984;311:764-70.
30. Degorce F. Assessment of chromogranin A using two-site immunoassay. Selection of a monoclonal antibody pair unaffected by human chromogranin A processing. *Adv Exp Med Biol*. 2000;482:339-350.
31. Leon A, Torta M, Dittadi R, Degli Uberti E, Ambrosio MR, Delle Fave G, et al. Comparison between two methods in the determination of circulating chromogranin A in neuroendocrine tumors (NETs): results of a prospective multicenter observational study. *Int J Biol Markers*. 2005;20:156-68.
32. Dittadi R, Meo S, Gion M. Biological variation of plasma chromogranin A. *Clin Chem Lab Med*. 2004;42:109-10.
33. Syversen U, Jacobsen MB, O'Connor DT, Ronning K, Waldum HL. Immunoassays for measurement of chromogranin A and pancreastatin-like immunoreactivity in humans: correspondence in patients with neuroendocrine neoplasia. *Neuropeptides*. 1994;26:201-6.
34. Italian Network for Quality Assessment of Tumor Biomarkers Group. An Italian program of external quality control for chromogranin A (CgA) assay: state of the art of CgA measurement. *Int J Biol Markers*. 2005;20:264-8.
35. Stridsberg M, Eriksson B, Oberg K, Janson ET. A comparison between three commercial kits for chromogranin A measurements. *J Endocrinol*. 2003;177:337-41.
36. Ferrari L, Seregni E, Lucignani G, Bajetta E, Martinetti A, Aliberti G, et al. Accuracy and clinical correlates of two different methods for chromogranin A assay in neuroendocrine tumors. *Int J Biol Markers*. 2004;19:295-304.
37. Nobels FR, Kwekkeboom DJ, Bouillon R, Lamberts SW. Chromogranin A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumours. *Eur J Clin Invest*. 1998;28:431-40.
38. 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;19:3415-27.
39. Ardill JE, Eriksson B. The importance of the measurement of circulating markers in patients with neuroendocrine tumours of the pancreas and gut. *Endocr Relat Cancer*. 2003;10:459-62.
40. Nehar D, Lombard-Bohas C, Olivieri S, Claustrat B, Chayvialle JA, Penes MC, et al. Interest of chromogranin A for diagnosis and follow-up of endocrine tumours. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004;60:644-52.
41. Zatelli MC, Torta M, Leon A, Ambrosio MR, Gion M, Tomassetti P, et al. Chromogranin A as a marker of neuroendocrine neoplasia: an Italian Multicenter Study. *Endocr Relat Cancer*. 2007;14:473-82.
42. Campana D, Nori F, Piscitelli L, Morselli-Labate AM, Pezzilli R, Corinaldesi R, et al. Chromogranin A: is it a useful marker of neuroendocrine tumors? *J Clin Oncol*. 2007;25:1967-73.
43. Zatelli MC, Torta M, Leon A, Ambrosio MR, Gion M, Tomassetti P, et al. Chromogranin A as a marker of neuroendocrine neoplasia: an Italian multicenter study. *ENETS*. Barcelona; 2007.
44. Campana D, Nori F, Piscitelli L, Morselli-Labate AM, Pezzilli R, Corinaldesi R, et al. Chromogranin A in neuroendocrine tumors. *ENETS*. Barcelona; 2007.
45. Wellin S, Strisberg M, Cunningham J, et al. Elevated chromogranin A is the first indication of recurrence in radically operated midgut carcinoid tumors. *ENETS*. Barcelona; 2007.
46. Sondana K, Sem J, Heinle F, Fjetland L, Gudlaugsson E, Syversen U. Chromogranin A a marker of the therapeutic success of resection of neuroendocrine liver metastases: preliminary report. *World J Surg*. 2004;28:890-5.
47. Rodrigues M, Gabriel M, Heute D, Putzer D, Griesmacher A, Vigolini I. Concordance between results of somatostatin receptor scintigraphy with ¹¹¹In-DOTA-DPhe-Tyr-octreotide and chromogranin A assay in patients with neuroendocrine tumours. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008 Apr 19 [Epub ahead of print].
48. Korse CM, Bonfrer JMG, Aaronson NK, et al. Chromogranin A is recommended over 5-hydroxy indole acetic acid in symptomatic evaluation during treatment of patients with neuroendocrine tumors. *ENETS*. Paris; 2008.
49. Kolby L, Bernhardt P, Sward C, Johanson V, Ahlman H, Forssell-Aronsson E, et al. Chromogranin A as a determinant of midgut carcinoid tumour volume. *Regul Pept*. 2004;120:269-73.

50. 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;19:3415-27.
51. Nobels FB, Kwekkeboom DJ, Coopmans CH, Schoenmakers CH, Lindemans J, De Herder WW, 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 Endocrinol Metab.* 1997;82:2622-8.
52. Lamberts SW, Hofland LJ, Nobels FR. Neuroendocrine tumor markers. *Front Neuroendocrinol.* 2001;22:309-39.
53. Panzuto F, Severi C, Cannizaro R, Falconi M, Angeletti S, Pasquali A, et al. Utility of combined use of plasma levels of chromogranin A and pancreatic polypeptide in the diagnosis of gastrointestinal and pancreatic endocrine tumors. *J Endocrinol Invest.* 2004;27:6-11.
54. Tropea F, Baldari S, Restifo G, Fiorillo MT, Surace P, Herberg A. Evaluation of chromogranin A expression in patients with non-neuroendocrine tumours. *Clin Drug Investig.* 2006;26:715-22.
55. Wu JT, Erickson AJ, Tsao KC, Wu TL, Sun CF. Elevated serum chromogranin A is detectable in patients with carcinomas at advanced disease stages. *Ann Clin Lab Sci.* 2000;30:175-8.
56. Hsiao RJ, Seeger RC, Yu AL, O'Connor DT. Chromogranin A in children with neuroblastoma: serum concentration parallels disease stage and predicts survival. *J Clin Invest.* 1990;85:1555-9.
57. Stridsberg M, Oberg K, Li Q, Engstrom U, Lundqvist G. Measurements of chromogranin A, chromogranin B (secretogranin I), chromogranin C (secretogranin II) and pancreastatin in plasma and urine from patients with carcinoid tumours and endocrine pancreatic tumours. *J Endocrinol.* 1995;144:49-59.
58. Stridsberg M, Oberg K, Fellstrom B, Kristiansson G, Tiensuu Janson E. Measurements of chromogranin B can serve as a complement to chromogranin A. *Regul Pept.* 2007;139:80-3.
59. Stabile BE, Howard TJ, Passaro E Jr, O'Connor DT. Source of plasma chromogranin A elevation in gastrinoma patients. *Arch Surg.* 1990;125:451-3.
60. Syversen U, Ramstad H, Gamme K, Qvigstad G, Falkmer S, Waldum HL. Clinical significance of elevated serum chromogranin A levels. *Scand J Gastroenterol.* 2004;39:969-73.
61. Granberg D, Strisberg M, Seensalu R, Eriksson B, Lundqvist G, Oberg K, et al. Plasma chromogranin A in patients with multiple endocrine neoplasia type I. *J Clin Endocrinol Metab.* 1999; 84:2712-7.
62. Berruti A, Mosca A, Tucci M, Terrone C, Torta M, Tarabuzzi R, et al. Independent prognostic role of circulating chromogranin A in prostate cancer patients with hormone-refractory disease. *Endocr Relat Cancer.* 2005;12:109-17.
63. Cussenot O, Villette JM, Valeri G, Cariou G, Desgrandchamps F, Cortesse A, et al. Plasma neuroendocrine markers in patients with benign prostatic hyperplasia and prostatic carcinoma. *J Urol.* 1996;155:1340-3.
64. Deftos LJ, Nakada S, Burton DW, Di Sant'Agnese PA, Cockett AT, Abrahamsson PA. Immunoassay and immunohistology studies of chromogranin A as a neuroendocrine marker in patients with carcinoma of the prostate. *Urol.* 1996;48:58-62.
65. Grimaldi F, Valotto C, Barbina G, Visentini D, Trianni A, Cerruto MA, et al. The possible role of chromogranin A as a prognostic factor in organ-confined prostate cancer. *Int J Biol Markers.* 2006;21:229-34.
66. Sciarra A, Gentile V, Monti S, Dattilo C, Gomez AA, Salciccia S, et al. Comparison of chromogranin A, insulin-like growth factor 1 and prostate-specific antigen serum markers in prostate adenocarcinoma and benign prostatic hyperplasia. *Urol Int.* 2008;80:68-73.
67. Sciarra A, Voria G, Monti S, Mazzone L, Mariotti G, Pozza M, et al. Clinical understaging in patients with prostate adenocarcinoma submitted to radical prostatectomy: predictive value of serum chromogranin A. *Prostate.* 2004;58:421-8.
68. Bonkoff H. Neuroendocrine cells in benign and malignant prostatic tissue: morphogenesis, proliferation, and androgen receptor status. *Prostate.* 1998; Suppl 8:18-22.
69. Angelsen A, Syversen U, Stridsberg M, Haugen OA, Mjone-rod OKR, Waldum HL. Use of neuroendocrine serum markers in the follow-up of patients with cancer of the prostate. *Prostate.* 1997;31:110-7.
70. Giovannella L, Marelli M, Ceriani L, Giardina G, Garancini S, Colombo L. Evaluation of chromogranin A expression in serum and tissues of breast cancer patients. *Int J Biol Markers.* 2001;16:268-72.
71. Syversen U, Halvorsen T, Marvik R, Waldum HL. Neuroendocrine differentiation in colorectal carcinomas. *Eur J Gastroenterol Hepatol.* 1995;7:667-74.
72. Gregorc V, Spreafico A, Floriani I, Colombo B, Ludovini V, Pistola L, Bellezza G, et al. Prognostic value of circulating chromogranin A and soluble tumor necrosis factor receptors in advanced non small cell lung cancer. *Cancer.* 2007;110:845-53.
73. Spadaro A, Ajello A, Morace C, Zirilli A, D'arrigo G, Luigiano C, et al. Serum chromogranin-A in hepatocellular carcinoma: diagnostic utility and limits. *World J Gastroenterol.* 2005;11:1987-90.
74. Vidal N, Paules MJ, Villabona C, Gómez JM, Ferrer R. Cromogranina A en adenomas hipofisarios humanos. *Rev Esp Patol.* 2003;36:189-94.
75. Gussi IL, Young J, Baudin E, Bidart JM, Chanson P. Chromogranin A as serum marker of pituitary adenomas. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2003;59:644-8.
76. Grossrubatscher E, Dalino P, Vignati F, Gambacorta M, Pugliese R, Boniardi M, et al. The role of chromogranin A of patients with pheochromocytoma. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2006;65:287-93.
77. Hsiao RJ, Parmer RJ, Takiyyuddin MA, O'Connor DT. Chromogranin A storage and secretion: sensitivity and specificity for the diagnosis of pheochromocytoma. *Medicine (Baltimore).* 1991;70:33-45.
78. Giovannella L, Ceriani L. Serum chromogranin A immunoradiometric assay in the diagnosis of pheochromocytoma. *Int J Biol Markers.* 2002;17:130-4.
79. Giovannella L. Serum chromogranin-A assay in differential diagnosis of incidentally discovered adrenal masses. *Anticancer Res.* 2005;25:1547-50.
80. Giovannella L, Ceriani L, Balerna M, Keller F, Taborelli M, Marone C, et al. Diagnostic value of serum chromogranin-A combined with MIBG scintigraphy in patients with adrenal incidentalomas. *Q J Nucl Med Mol Imaging.* 2008;52:84-8.
81. Bilek R, Safarik L, Ciprova V, Vlcek P, Lisa L. Chromogranin A, a member of neuroendocrine secretory proteins as a selective marker for laboratory diagnosis of pheochromocytoma. *Physiol Res.* 2008 [Epub ahead of print].
82. Algeciras-Schimmich A, Preissner CM, Young WF, Singh RJ, Grebe SKG. Plasma chromogranin A or urine fractionated metanephrines follow-up testing improves the diagnostic accuracy of plasma fractionated metanephrines for pheochromocytoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93:91-5.
83. Portela-Gomes GM, Stridsberg M, Grimelius L, Falkmer UG, Falkmer S. Expression of chromogranins A, B, and C (secretogranin II) in human adrenal medulla and in benign and malignant pheochromocytomas. An immunohistochemical study with region-specific antibodies. *APMIS.* 2004;112:663-76.
84. Stridsberg M, Husebye ES. Chromogranin A and chromogranin B are sensitive circulating markers for pheochromocytoma. *European J Endocrinol.* 1997;136:67-73.
85. Van der Harst E, De Herder WW, De Krijger RR, Bruining HA, Binjer HJ, Lamberts SW, et al. The value of plasma mar-

- kers for the clinical behaviour of pheochromocytomas. *Eur J Endocrinol.* 2002;147:85-94.
86. Cleary S, Phillips JK, Huynh TT, Pacak K, Fliedner S, Elkhouloun AG, et al. Chromogranin A expression in pheochromocytomas associated with von Hippel-Lindau syndrome and multiple endocrine neoplasia type 2. *Horm Metab Res.* 2007;39:876-83.
 87. D'Herbonez M, Gouze V, Huglo D, Nocaudie M, Pattou F, Proye C, et al. Chromogranin A assay and 131 I-MIBG scintigraphy for diagnosis and follow-up of pheochromocytoma. *J Nucl Med.* 2001;42:993-7.
 88. Hsiao RJ, Mezger MS, O'Connor DT. Chromogranin A in uremia: progressive retention of immunoreactive fragments. *Kidney Int.* 1990;37:955-64.
 89. Bernini G, Moretti A, Fontana V, Orlandini C, Miccoli P, Berti P, et al. Plasma chromogranin A in incidental non-functioning, benign, solid adrenocortical tumors. *Eur J Endocrinol.* 2004;151:215-22.
 90. Bernini GP, Moretti A, Borgioli M, Bardini M, Miccoli P, Berti P, et al. Plasma and tissue chromogranin in patients with adrenocortical adenomas. *J Endocrinol Invest.* 2004;27:821-5.
 91. Igaz P, Mullner K, Hargitai B, Igaz I, Tombol Z, Racz K, et al. Marked chromogranin A elevation in a patient with bilateral adrenal incidentalomas, and its rapid normalization after discontinuation of proton pump inhibitor therapy. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2007;67:805-8.
 92. Takiyuddin MA, Parmer RJ, Kailasam MT, Cervenka JH, Kennedy B, Ziegler MG, et al. Chromogranin A in human hypertension: influence of heredity. *Hypertension.* 1995;26:213-20.
 93. O'Connor DT, Kailasam MT, Kennedy BP, Ziegler MG, Yanaihara N, Parmer RJ. Early decline in the catecholamine release-inhibitory peptide catestatin in humans at genetic risk of hypertension. *J Hypertens.* 2002;20:1335-45.
 94. Sanchez-Margalet V, Valle M, Lobon JA, Maldonado A, Escobar-Jimenez F, Oliván J, et al. Increased plasma pancreastatin-like immunoreactivity levels in non-obese patients with essential hypertension. *J Hypertens.* 1995;13:251-8.
 95. Salem RM, Cadman PE, Chen Y, Rao F, Wen G, Hamilton BA, et al. Chromogranin A polymorphisms are associated with hypertensive renal disease. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:600-14.
 96. O'Connor DT, Cervenka JH, Stone RA, Parmer RJ, Franco-Bourland RE, Madrazo I, et al. Chromogranin A immunoreactivity in human cerebrospinal fluid: properties, relationship to noradrenergic neuronal activity, and variation in neurologic disease. *Neurosci.* 1993;56:999-1007.
 97. Lechner T, Adlassnig C, Humpel C, Kaufmann WA, Maier H, Reinstadler-Kramer K, et al. Chromogranin peptides in Alzheimer's disease. *Exp Gerontol.* 2004;39:101-13.
 98. 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.
 99. Ciesielski-Treska J, Ulrich G, Chasserot-Golaz S, Zwiller J, Revel MO, Aunis D, et al. Mechanisms underlying neuronal death induced by chromogranin A-activated microglia. *J Biol Chem.* 2001;276:13113-20.
 100. Landen M, Grenfeldt B, Davidsson P, Stridsberg M, Regland B, Gottfries CG, et al. Reduction of chromogranin A and B but not C in the cerebrospinal fluid in subjects with schizophrenia. *Eur Neuropsychopharmacol.* 1999;9:311-5.
 101. Schulze PC. Chromogranin A: friend or foe of the failing myocardium? *Eur Heart J.* 2007;28:1052-3.
 102. Pieroni M, Corti A, Tota B, Curnis F, Angelone T, Colombo B, et al. Myocardial production of chromogranin A in human heart: a new regulatory peptide of cardiac function. *Eur Heart J.* 2007;28:117-27.
 103. Estensen ME, Hognestad A, Syversen U, Squire I, Ng L, Kjekshus J, et al. Prognostic value of plasma chromogranin A levels in patients with complicated myocardial infarction. *Am Heart J.* 2006;152:e1-6.
 104. Corti A, Ferrari R, Ceconi C. Chromogranin A and tumor necrosis factor-alpha (TNF) in chronic heart failure. *Adv Exp Med Biol.* 2000;482:351-9.
 105. O'Connor DT, Pandlan 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.
 106. Vezzosi D, Ducreux M, Guigay J, et al. Chromogranin A (CgA) measurement in metastatic gastroenteropancreatic well-differentiated endocrine carcinoma (GEP WDEC): assessment of CgA causes of false positive in routine clinical practice. *ENETS. Paris, 2008.*
 107. Guisti M, Sidoti M, Augeri C, Rabitti C, Minuto F. Effect of short-term treatment with low dosages of the proton-pump inhibitor omeprazole on serum chromogranin A levels in man. *Eur J Endocrinol.* 2004;150:299-303.
 108. Sanduleanu S, Stridsberg M, Jonkers D, Hameeteman W, Biemond I, Lundqvist G, et al. Serum gastrin and chromogranin A during medium- and long term acid suppressive therapy: a case-control study. *Alim Pharmacol Therapeut.* 1999;13:145-53.
 109. Capellino S, Lowin T, Angele P, Falk W, Grifka J, Straub RH. Increased chromogranin A levels indicate sympathetic hyperactivity in patients with rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *J Rheumatol.* 2008;35:91-9.
 110. Cryer PE, Worstman J, Shah SD, Nowak RM, Deftos LJ. Plasma chromogranin A as a marker of sympathochromaffin activity in humans. *Am J Physiol.* 1991;260:E243-346.
 111. Takiyuddin MA, Cervenka JH, Pnadian 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 Metab.* 1990;71:360-9.
 112. Dekkers JC, Geenen R, Godaert GL, Bijlsma JW, Van Doornen LJ. Elevated sympathetic nervous system activity in patients with recently rheumatoid arthritis with active disease. *Clin Exp Rheumatol.* 2004;22:63-70.
 113. Toda M, Den R, Nagasawa S, Kitamura K, Morimoto K. Relationship between lifestyle scores and salivary stress markers cortisol and chromogranin A. *Arch Environ Occup Health.* 2005;60:266-9.
 114. Kanamaru Y, Kikukawa A, Shimamura K. Salivary chromogranin-A as a marker of psychological stress during a cognitive test battery in humans. *Stress.* 2006;9:127-31.