



Chromogranina A (CgA) — charakterystyka dostępnych metod badawczych i uwarunkowań mogących mieć wpływ na uzyskane wyniki

Chromogranin A (CgA) — characteristic of the currently available laboratory methods and conditions which can influence the results

Piotr Glinicki, Wojciech Jeske

Klinika Endokrynologii, Centrum Medycznego Kształcenia Podyplomowego, Warszawa

Streszczenie

Chromogranina A (CgA) jest głównym, niespecyficznym markerem guzów neuroendokrynych (NET, *neuroendocrine tumors*). Wykorzystuje się ją w diagnostyce i kontroli efektów leczenia pacjentów z NET. Dostępne są komercyjne testy pozwalające oznaczyć stężenie CgA w surowicy lub osoczu. Metody te cechują się różnie wysoką czułością i swoistością oraz różnią się wieloma parametrami analitycznymi. Istnieje wiele czynników i patologii mogących wpływać na wynik oznaczenia stężenia CgA. Dlatego wydaje się, że omówienie tych zagadnień może być przydatne w praktyce laboratoryjnej i klinicznej. (*Endokrynol Pol* 2009; 60 (5): 415–419)

Słowa kluczowe: chromogranina A, CgA-IRMA, CgA-RIA, CgA-ELISA, guzy neuroendokryne

Abstract

Chromogranin A is a main, nonspecific neuroendocrine tumor marker (NET). It's estimation was applied for diagnostic purposes and for monitoring the treatment of NET. Currently few commercial assays are available allowing measurement of CgA concentration in serum or plasma. These methods have various sensitivity and specificity and differ in many analytical parameters. Numerous factors and pathologies may influence the outcome of the CgA measurement. Therefore, a review article on this matter may be useful for clinical and laboratory practice. (*Pol J Endocrinol* 2009; 60 (5): 415–419)

Key words: chromogranin A, CgA-IRMA, CgA-RIA, CgA-ELISA, neuroendocrine tumors

Wstęp

Chromograninę A (CgA) obecnie uważa się za główny niespecyficzny marker guzów neuroendokrynych (NET, *neuroendocrine tumors*). Na rynku powszechnie dostępne są testy pozwalające oznaczyć stężenie tego białka w surowicy bądź osoczu. Metody te odznaczają się różnie wysoką czułością i specyficznością oraz różnią się wieloma parametrami analitycznymi. Ponadto postuluje się, że wiele czynników może mieć wpływ na uzyskane wyniki. W związku z tym omówienie tych zagadnień wydaje się istotne dla praktyki klinicznej i właściwej oceny otrzymanych wyników.

Charakterystyka i rola fizjologiczna

Chromogranina A (CgA) jest kwaśną hydrofilową glikoproteiną o masie 49 kDa, zbudowaną z 439 aminokwasów. Gen kodujący CgA jest zlokalizowany na chro-

mosomie 14. Chromogranina A należy do rodziny granin, to znaczy kwaśnych glikoprotein obecnych w ziarnistościach wydzielniczych większości prawidłowych i nowotworowych komórek neuroendokrynych, zaliczanych do systemu rozsianych komórek endokrynych (APUD, *amine precursor uptake and decarboxylation*), do których należą również między innymi chromogranina B (CgB) oraz sekretogranina II (SgII, CgC) [1, 2].

Dotychczas do końca nie poznano funkcji biologicznych tych białek. Przypisuje się im wiele funkcji biochemicznych w procesach wydzielniczych [3, 4]. Procesy biochemiczne, w których uczestniczy CgA, mogą zachodzić zarówno poza komórką (prekursor białek biorących udział w różnych typach sekrecji), jak i wewnątrz komórki (kształtowanie procesów proteolitycznych hormonów peptydowych i neuropeptydów, funkcje magazynowe oraz regulatorowe) [5–7].

Chromogranina A działa jak prohormon. Po degradacji CgA zostają uwolnione biologicznie aktywne peptydy



(m.in. wazostatyna, chromostatyna, pankreostatyna), które pełnią różne parakryne i autokryne funkcje [8].

Chromogranina A jako krążący marker nowotworowy

Komórki neuroendokryne produkują specyficzne peptydy, aminy biogenne i hormony. Badanie ich stężenia we krwi wykorzystuje się w diagnostyce biochemicznej NET, ocenie skuteczności radykalnego leczenia operacyjnego, monitorowaniu efektów leczenia farmakologicznego oraz w rokowaniu.

Markery nowotworowe dzielą się na specyficzne (charakterystyczne dla poszczególnych guzów) i niespecyficzne — wydzielane przez komórki i tkanki neuroendokryne, niezależnie od ich lokalizacji [9, 10].

Chromogranina A stanowi najczęściej używany wskaźnik niespecyficzny dla nowotworów neuroendokrynych, ponieważ jest białkiem produkowanym, magazynowanym i uwalnianym przez komórki neuroendokryne i wydzielanym do krwi razem z innymi hormonami na drodze egzocytozy [11].

Stężenia CgA są znacząco podwyższone w większości NET, chociaż w bardzo małych guzkach (oprócz *gastrinoma*) jej stężenie może mieścić się w granicach normy, na przykład w *insulinoma*, *paraganglioma*, małych rakowiakach oskrzeli i guzach przysadki [12].

Szczególnie wysokie wartości obserwuje się w zespole rakowiaka, w którym stężenie CgA może być podwyższone nawet kilkaset razy. Chromogranina A w guzach neuroendokrynych żołądkowo-jelitowo-trzustkowych (GEP-NET, *gastro-entero-pancreatic neuroendocrine tumors*) może służyć także jako niezależny czynnik prognostyczny przeżycia u chorych z NET [13], jednak czułość tego badania jest różna w różnych guzach zależnie od ich położenia i waha się między 10–100%, a swoistość wynosi 68–100%. Najwyższą czułość zaobserwowano w przypadkach *gastrinoma*, *glukagonoma* i w rakowiakach. Jednoczesne oznaczanie innych markerów razem z CgA zwiększa czułość testu. Ostatnie badania wykazały, że stężenie krążącej chromograniny A wiąże się ze stopniem różnicowania nowotworów neuroendokrynych (w nisko zróżnicowanych stężenia CgA są niższe niż w guzach wysoko zróżnicowanych) i istnieje korelacja między stężeniem CgA a masą nowotworu. Najwyższe stężenia CgA obserwowano w przypadkach z przerzutami do wątroby [14–17].

Oznaczanie CgA poza guzami z grupy GEP-NET może mieć znaczenie w pheochromocytoma, neuroblastoma, raku drobnokomórkowym płuc, raku rdzenia słupka, raku prostaty [18].

W monitorowaniu leczenia zaleca się oznaczać stężenie CgA co 2–3 miesiące w guzach nisko zróżnicowa-

nych, natomiast w pozostałych przypadkach co 6–12 miesięcy [19].

Metody badawcze

Chromograninę A uznano za marker nowotworowy w połowie lat 80 XX wieku. Pierwszym testem była wprowadzona w 1983 roku metoda do oznaczania CgA techniką RIA [20]. Od tego czasu nastąpił dalszy rozwój metod badania tego białka, służący celom klinicznym i naukowym.

Obecnie dostępne są już komercyjne testy do oznaczania stężenia CgA bazujące na metodach izotopowych: IRMA i RIA (immunoradiometrycznych i radioimmunologicznych) oraz metodzie nieizotopowej — enzymoimmunologicznej (ELISA).

Najczęściej stosowanymi testami są: IRMA; CGA-RIA CT, CIS-bio International-Shering (CIS), (Gif-sur-Yvette, Francja); DAKO Chromogranin A ELISA kit, DAKO A/S, (Glostrup, Dania) oraz metoda RIA firmy EuroDiagnostica (ED) (Malmö, Szwecja), proponowana także przez firmę BioSource (Belgia).

Podstawową różnicą między tymi metodami badawczymi jest zastosowanie odmiennych konstrukcji testów oraz różnych przeciwciał i inaczej kalibrowanych standardów. Użyte w tych metodach przeciwciała monoklonalne lub poliklonalne są skierowane przeciwko różnym domenom cząsteczki chromograniny A lub jej fragmentów. Test IRMA (CIS) zawiera 2 monoklonalne przeciwciała skierowane do centralnej cząsteczki peptydu (CgA 145–197 i 198–245), które wiążą głównie całą nienaruszoną cząsteczkę CgA (intact). W metodzie firmy ED (RIA) użyto 1 poliklonalnego przeciwciała rozpoznającego sekwencję aminokwasów w pozycji 116–439 cząsteczki CgA, które wiąże całą cząsteczkę CgA i odszczepione fragmenty. Natomiast w teście ELISA (DAKO) zastosowano 2 poliklonalne przeciwciała skierowane do 23-kDa C-końcowego fragmentu cząsteczki CgA, dzięki czemu istnieje też możliwość wiązania pewnej liczby fragmentów tego białka.

W metodach IRMA i RIA znacznikiem jest 125-I, którym wyznakowane jest jedno z przeciwciał w metodzie IRMA i samo CgA w metodzie RIA, natomiast w teście ELISA jako znacznika jednego z przeciwciał użyto enzymu peroksydazy. Testy IRMA oraz ELISA mają konstrukcję kompleksu immunologicznego typu kanapkowego (*sandwich*) z wykorzystaniem fazy stałej. Taka konstrukcja testu stwarza możliwość zastosowania więcej niż jednego specyficznego przeciwciała, które mogą być skierowane przeciwko różnym, odległym przestrzennie epitopom cząsteczki CgA. Natomiast w teście firmy ED (RIA) zastosowano klasyczną, kompetycyjną metodę radioimmunologiczną.

Tabela I. Porównanie trzech testów do oznaczania CgA w surowicy i/lub osoczu [21]

Table I. The comparison of three assays for measurement CgA concentration in serum and/or plasma [21]

	IRMA	ELISA	RIA
Przeciwciała	2 monoklonalne	2 poliklonalne	1 poliklonalne
Standard	rh CgA	23kD fragment C-końcowy CgA	Frakcja CgA oczyszczona z moczu pacjenta z rakiem
Jednostka	ng/ml	j./l	nmol/l
Górna granica normy	Surowica: 98 ng/ml Osocze (EDTA): 150 ng/ml	Surowica: 19 j./l	Surowica: 4 nmol/l
Specyficzność	93%	85%	88%
Czułość	67%	85%	93%
Wartość predykcyjna dodatnia	97%	91%	93%
Wartość predykcyjna ujemna	63%	76%	88%

Brak międzynarodowego standardu CgA sprawia, że porównanie otrzymywanych wyników z poszczególnych testów jest trudne i dlatego zaleca się, aby wykonywać oznaczenia chromograniny A tym samym testem w trakcie diagnostyki i na późniejszych etapach procesu terapeutycznego. W wyżej wymienionych metodach różne było źródło sposobu pozyskania standardu CgA i dlatego różne są też jednostki i zakres pomiarowy. W testach firmy CIS użyto rekombinowanej ludzkiej cząsteczki CgA (*E. coli*, rh-CgA) i wyniki są podawane w ng/ml. W metodzie ELISA firmy DAKO użyto jako standardu 23-kDa C-końcowego fragmentu CgA, a wynik wyrażono w j./l. W teście firmy ED użyto w tym celu oczyszczonej frakcji CgA (o sekwencji 116–439 aminokwasów), uzyskanej z moczu pacjenta z rakiem, a wynik wyrażono w nmol/l [21, 22].

Czułość i specyficzność metod oznaczania chromograniny A różni się między testami. Według Stridsberga i wsp. metoda IRMA (CIS) ma 67-procentową czułość i 96-procentową specyficzność, metoda ELISA (DAKO) ma czułość i specyficzność wynoszącą 85%, natomiast w teście RIA (ED) czułość jest 93-procentowa, a specyficzność 88-procentowa [21].

Porównanie opisanych parametrów trzech dostępnych testów do oznaczania CgA przedstawiono w tabeli I.

Materiał do badania i zakres referencyjny

Materiałem do badania według większości autorów może być osocze lub surowica. W metodach IRMA i RIA można oznaczać stężenie CgA zarówno w surowicy, jak i w osoczu, ponadto firma ED dopuszcza używanie osocza pobranego na EDTA albo heparynę. W teście ELISA stosuje się osocze (EDTA lub heparyna). W niektórych starszych metodach (RIA) zalecano oziębienie pobranej próbki krwi w lodzie i szybkie jej zabezpieczenie (odwirowanie i zamrożenie osocza), natomiast inni

uważają, że kilkakrotne zamrażanie i rozmrażanie nie uszkadza cząsteczki CgA. Można więc zastanawiać się, czy wobec postulowanej stabilności tego białka na zmiany temperatury należy przywiązywać wagę do tego, czy badanie CgA jest wykonywane w surowicy, czy w osoczu oraz czy ma znaczenie rodzaj użytego antykoagulantu. W niniejszej sprawie nie ma jednak ujednoczonych poglądów. Uwagę autorów niniejszej pracy zwróciła jednak podana na stronie internetowej producenta zestawów CIS informacja mówiąca, że górna granica zakresu referencyjnego dla CgA oznaczanego w osoczu z EDTA jest znacznie wyższa niż w surowicy i wynosi aż 150 ng/ml v. 98 ng/ml. Powstaje pytanie, jak wytłumaczyć te duże różnice i czy dotyczą one także innych dostępnych metod badania CgA.

Czy takim wytłumaczeniem może być to, że CgA jest białkiem wiążącym jony wapnia i w obecności wolnych kationów jej cząsteczka może ulegać agregacji [12, 23]? Użycie więc jako antykoagulantu wersenianu sodu lub potasu (EDTA), który silnie wiąże jony wapnia, może *in vitro* w probówce zapobiegać takiej agregacji. Czy w związku z tym można uznać, że oznaczanie CgA w surowicy albo w osoczu z heparyną jest mniej pewne i wartościowe niż oznaczanie w osoczu z EDTA? Na razie trudno jest na te pytania odpowiedzieć z pełnym przekonaniem. Na marginesie warto przypomnieć, że próbki osocza po rozmrożeniu i zamieszaniu na mieszadło (vorteksie) powinny być odwirowane (5–10 min/3500 obr./min) w celu oddzielenia strzępów włókna. Wiadomo bowiem, że oznaczenie wielu różnych parametrów może być zafalszowane, jeśli badane próbki zawierają fibrynę, są mętne, zhemolizowane lub lipemiczne.

We krwi osób zdrowych znajduje się pewna ilość CgA i stężenie to nie zależy od płci i wieku, natomiast warto pamiętać, że po posiłku stężenie chromograniny A może ulegać podwyższeniu.

Bardzo ważnym kryterium w interpretacji każdego wyniku badania jest właściwie ustalony zakres referencyjny, a w przypadku CgA szczególnie istotna jest górna wartość tego zakresu określana jako „graniczna” (*cut-off*). W teście ELISA (DAKO) zakres referencyjny dla próbek osocza wynosi 2–18 j./l. W metodzie RIA (EuroDiagnostic i BioSource) za punkt odcięcia przyjęto 4 nmol/l. W metodzie IRMA (CIS), jak już wspomniano, zróżnicowano niedawno tak zwany górny pułap na 150 ng/ml dla osocza z EDTA i 98 ng/ml dla surowicy.

Autorzy niniejszej pracy, na podstawie własnych obserwacji przeprowadzonych na kilkunastu próbkach surowicy i osocza z EDTA pobieranych jednocześnie u tych samych pacjentów, stwierdzili, że te różnice faktycznie sięgają około 40–50% przy stężeniach 40–150 ng/ml i około 25–30% przy stężeniach 300–400 ng/ml.

Badanie porównawcze trzech wyżej wymienionych zestawów, wykonane przez Stridsberga i wsp. [21] na niezbyt dużym materiale u 77 pacjentów (46 z guzami GEP-NET i 31 bez tych guzów), opierało się na próbkach osocza z heparyną i autorzy przyjęli dla zestawu CIS górną wartość odcięcia na 99 ng/ml (tj. taką jak dla próbek surowicy), uzyskując 67-procentową czułość przy bardzo wysokiej 96-procentowej specyficzności. W tym aspekcie ważna wydaje się publikacja Zatelli i wsp. [24], w której, na podstawie znacznie większego materiału próbek surowic i osocza pochodzących od 202 pacjentów z GEP-NET i 130 osób zdrowych, autorzy porównali wyniki uzyskane w metodach CIS i DAKO i wyznaczyli znacznie niższy pułap górnej wartości granicznej dla metody IRMA-CIS (53 ng/ml), a tylko trochę niższy (16 j./l) dla zestawów ELISA-DAKO, uzyskując ich zdaniem optymalne wskaźniki czułości i specyficzności dla tych testów, takie jak 78% i 71% dla metody firmy CIS oraz 84% i 85% dla metody firmy DAKO. Autorzy ci jednak nie podają, czy badano próbki osocza z EDTA czy z heparyną. Powstaje więc ważne pytanie, który punkt odcięcia dla metody CIS jest prawdziwy i czy te zaskakujące duże różnice mogą być w części tłumaczone znanym już wpływem na sekrecję CgA różnych czynników albo towarzyszących innym zaburzeń lub chorób, których producent zestawów CIS nie uwzględnił, opracowując zakres referencyjny [24].

Wpływ różnych czynników *in vitro* i *in vivo* na oznaczenie CgA

We wszystkich publikacjach zwraca się uwagę na różne czynniki lub inne patologie, które mogą mieć wpływ na uzyskane wyniki CgA. Na przykład nie wszyscy lekarze zlecający badanie CgA pamiętają, że krew powin-

na być pobrana na czczo, co najmniej 8 godzin po ostatnim posiłku.

Należy także upewnić się, że pacjent nie stosuje leków, które mogą istotnie wpływać na produkcję lub uwalnianie CgA z licznie rozsianych w przewodzie pokarmowym komórek enterochromafinowych.

W wielu publikacjach zwraca się uwagę na fakt, że potencjalny silny wpływ na sekrecję CgA mają leki z grupy inhibitorów pompy protonowej (np. omeprazol), po których stężenie CgA może wzrastać nawet do wartości obserwowanych w GEP-NET z przerzutami do wątroby. Wpływ ten zależy jednak od czasu stosowania tych leków i od indywidualnej reakcji pacjenta. Dlatego, o ile to możliwe, zaleca się, aby leki te odstawić co najmniej 7–14 dni przed pobraniem krwi na CgA. Wzrost stężenia CgA występuje również w trakcie stosowania inhibitorów receptorów H-2 (np. ranitydyny). Pewien wpływ pobudzający na CgA mają też glikokortykoidy. Stosowanie glikokortykosteroidów może powodować nawet 2-krotny wzrost stężenia CgA, poza tym w niektórych czynnych guzkach kory nadnerczy wydzielających w nadmiarze kortyzol stężenie CgA może być trochę podwyższone, mimo że w zasadzie nie są to guzy z grupy NET [25–27].

Wśród różnych chorób (lub zaburzeń funkcji), w których można obserwować mniej lub bardziej podwyższone stężenia CgA, największą uwagę przywiązuje się do przebiegającego często skrycie zanikowego niedożyty błony śluzowej żołądka typu A, w którym, zapewne na skutek braku sekrecji kwasu solnego i wzrostu stężenia gastryny, dochodzi do pobudzenia i ewentualnie przerostu komórek enterochromafinowych [28].

Podwyższone stężenia CgA obserwuje się również w zaawansowanej, przewlekłej niewydolności nerek (przy stężeniu kreatyniny ≥ 4 mg/dl stężenia CgA mogą także dochodzić do wartości obserwowanych w NET), w niewydolności serca, w niektórych chorobach zapalnych jelit (np. w chorobie Crohna), w nowotworach wątroby, trzustki, okrężnicy, raku sutka, nerki, prostaty, a także w reumatoidalnym zapaleniu stawów, przebiegającym z wysokim poziomem czynnika reumatoidalnego [29].

Wybrane, najważniejsze przyczyny podwyższenia CgA, niezależnego od NET, podano w tabeli II.

W związku z tym, zlecając wykonanie oznaczenia chromograniny A i interpretując wyniki, należy uwzględnić wszystkie patologie mogące powodować zwiększone wytwarzanie tego peptydu oraz właściwie umiejscowić oznaczenia CgA w algorytmie diagnostycznym. Monitorowanie stężenia CgA w trakcie leczenia wydaje się dobrym markerem oceny skuteczności postępowania terapeutycznego, ale należy uwzględnić obserwowane samoistne wahania w stężeniach CgA, które określa się na około 20% [30].

Tabela II. Wpływ różnych czynników lub chorób na wyniki oznaczania CgA**Table II. The impact of various factors or diseases on the results of concentration CgA**

Istotny wzrost stężenia CgA obserwuje się często:

- w *gastritis atroficans* (A)
- u osób leczonych inhibitorami pompy protonowej
- u osób z upośledzeniem funkcji nerek
- w raku i przerzucie prostaty
- u osób z podwyższonym RF (IgM)

Niewielkie podwyższenie stężenia CgA może wystąpić:

- w przypadkach upośledzenia funkcji wątroby
- w chorobach zapalnych jelit
- w hiperkortykocozemii i stanach wzmożonego napięcia układu sympatycznego

RF (*reumatoid factor*) — czynnik reumatoidalny

Kończąc rozważania na temat CgA, warto jeszcze przypomnieć ogólną uwagę, że przy stosowaniu metod immunochemicznych istnieje możliwość otrzymania wyników „fałszywie dodatnich” lub „fałszywie ujemnych”, spowodowanych wpływem *in vitro* różnego rodzaju przeciwciał obecnych w próbkach pochodzących od pacjentów (np. przeciwciał heterofilnych, czynnika reumatoidalnego, przeciwciał anty-awidyna) i ich reakcji z przeciwciałami użytymi w teście. Obecnie jednak producenci znajdują już sposoby pozwalające zapobiec tym niespecyficznym reakcjom.

Podsumowanie

O diagnostyce biochemicznej w przebiegu chorób nowotworowych dyskutuje się od wielu lat. Niewątpliwie stanowi ona ważne źródło informacji o chorym. Możliwość oznaczania różnych markerów nowotworowych pozwala na śledzenie procesu chorobowego oraz ocenę jego dynamiki i skuteczności leczenia, a także ułatwia prognozowanie.

Chromogranina A jest ważnym, niespecyficznym markerem nowotworów wywodzących się z komórek neuroendokrynych, ale jej pomiar nie różnicuje w pełni osób zdrowych od chorych. Monitorując efekty leczenia, należy posługiwać się tą samą metodyką badania stężenia CgA.

Autorzy niniejszej pracy wyrażają nadzieję, że przedstawienie charakterystyki dostępnych na rynku testów do pomiaru stężenia CgA i zwrócenie uwagi na uwarunkowania mogące mieć wpływ na uzyskane wyniki będą przydatne w praktyce klinicznej.

Piśmiennictwo

1. Deftos LJ. Chromogranin A: its role in endocrine function and as an endocrine and neuroendocrine tumor marker. *Endocr Rev* 1991; 12: 181–187.

2. Ferrari L, Seregini E, Bajetta E i wsp. The biological characteristics of chromogranin A and its role as a circulating marker in neuroendocrine tumors. *Anticancer Res* 1999; 19: 3415–3427.
3. Hendy GN, Bevan S, Mattei MG i wsp. Chromogranin A. *Clin Invest Med* 1995; 18: 47–65.
4. Feldman SA, Eiden LE. The chromogranins: their roles in secretion from neuroendocrine cells and as marker for neuroendocrine neoplasia. *Endocr Pathol* 2003; 14: 3–23.
5. Iacangelo AL, Aiden LE. Chromogranin A: current status as a precursor for bioactive peptides and a granulogenic/sorting factor in the regulated secretory pathway. *Regul Pept* 1995; 58: 65–88.
6. Tota B, Quintieri AM, Di Felice V i wsp. New biological aspects of chromogranin A-derived peptides: focus on vasostatins. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2007; 147: 11–18.
7. Hendy GN, Li T, Girard M i wsp. Targeted ablation of the chromogranin a (Chga) gene: normal neuroendocrine dense-core secretory granules and increased expression of other granins. *Mol Endocrinol* 2006; 20: 1935–1947.
8. Helle KB. The granin family of uniquely acidic proteins of the diffuse neuroendocrine system: comparative and functional aspects. *Biol Rev Camb Philos Soc* 2004; 79: 769–794.
9. Szczelbawska D. Diagnostyka i leczenie guzów neuroendokrynych przewodu pokarmowego w świetle aktualnie obowiązujących standardów. *Pol Merk Lek* 2007; 131: 437–441.
10. Kos-Kudła B, Foltyn W, Zemczak A i wsp. Diagnostyka i leczenie guzów neuroendokrynych żołądkowo-jelitowo-trzustkowych (GEP-NET). *Przeg Gastroenter* 2006; 1: 3–9.
11. Rosa P, Gerdes HH. The granin protein family: markers for neuroendocrine cells and tolls for the diagnosis of neuroendocrine tumors. *J Endocrinol Invest* 1994; 17: 207–225.
12. Nobels FRE, Kwekkeboom DJ, Bouillon R i wsp. Chromogranin A: its clinical value as marker of neuroendocrine tumors. *Eur J Clin Invest* 1998; 28: 431–440.
13. Kos-Kudła B, Bolanowski M, Handkiewicz-Junak D i wsp. Zalecenia diagnostyczno-lecznicze w guzach neuroendokrynych układu pokarmowego (rekomendowane przez Polską Sieć Guzów Neuroendokrynych). *Endokrynol Pol* 2008; 59: 41–56.
14. De Herder WW. Biochemistry of neuroendocrine tumors. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 2007; 21: 33–41.
15. Nobels FR, Kwekkeboom DJ, Coopmans W i wsp. Chromogranin A as serum marker for neuroendocrine neoplasia: comparison with neuron-specific enolase and the alpha-subunit of glycoprotein hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 1997; 82: 2622–2628.
16. Soborczyk A, Deptala A. Markery nowotworowe w praktyce klinicznej. *Choroby Serca i Naczyń* 2007; 4: 184–189.
17. Oberg K. Biochemical diagnosis of neuroendocrine GEP tumor. *Yale J Biol Med* 1997; 70: 501–508.
18. Baudin E, Bidart JM, Bachelot A i wsp. Impact of chromogranin A measurement in the work-up of neuroendocrine tumors. *Ann Oncol* 2001; 12 (supl. 2): 79–82.
19. Kos-Kudła B, Bolanowski M, Handkiewicz-Junak D i wsp. Zalecenia diagnostyczno-lecznicze w guzach neuroendokrynych układu pokarmowego. *Enokrynol Pol* 2008; 59: 41–56.
20. O'Connor DT, Deftos LJ. Secretion of chromogranin A by peptide-producing endocrine neoplasms. *N Engl J Med* 1986; 314: 1145–1151.
21. Stridsberg M, Eriksson B, Oberg K i wsp. A comparison between three commercial kits for chromogranin A measurements. *J Endocrinol* 2003; 177: 337–341.
22. Stridsberg M. Measurements of chromogranins and chromogranin-related peptides by immunological methods. *Adv Exp Med Biol* 2000; 482: 319–327.
23. Hyun Yoo S, Albanesi JP. Ca²⁺ — induced conformational change and aggregation of chromogranin A. *J Biol Chem* 1990; 265: 14414–14421.
24. Zatelli MC, Torta M, Leon A i wsp. Chromogranin A as a marker of neuroendocrine neoplasia: an Italian Multicenter Study. *Endocr Relat Cancer* 2007; 14: 473–483.
25. Syversen U, Ramstad H, Gamme K i wsp. Clinical significance of elevated serum chromogranin A levels. *Scand J Gastroenterol* 2004; 10: 969–973.
26. Waldum HL, Syversen U. Chromogranin A (CgA) and the enterochromaffin-like (ECL) cell. *Adv Exp Med Biol* 2000; 482: 361–367.
27. Sanduleanu S, De Bruine A, Stridsberg M i wsp. Serum chromogranin A as a screening test for gastric enterochromaffin-like cell hyperplasia during acid-suppressive therapy. *Eur J Clin Invest* 2001; 31: 802–811.
28. Abou-Saif A, Gibril F, Ojeaburu JV i wsp. Prospective study of the ability of serial measurements of serum chromogranin A and gastrin to detect changes in tumor burden in patients with gastrinomas. *Cancer* 2003; 98: 249–261.
29. Granberg D, Stridsberg M, Seensalu R i wsp. Plasma chromogranin A in patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 2712–2717.
30. Nehar D, Lombard-Bohas C, Olivieri S i wsp. Interest of chromogranin A for diagnosis and follow-up of endocrine tumours. *Clin Endocrinol* 2004; 60: 644–652.