

Biyo- ve İmmünohistokimyasal-Belirteç Olarak Kromogranin A (Cg A)

Yasemin YUYUCU KARABULUT

Çankırı Devlet Hastanesi, Patoloji Bölümü, Çankırı

Kromograninler nörosekretuar granüllerde bulunan asidik glikoproteinlerdir (1). Üç çeşittir; kromogranin A, B ve C (1). Kromogranin A (CgA) ilk olarak 1965 yılında Banks ve Helle tarafından tanımlanmıştır (2). Bu araştırmacılar, Cg A'nın adrenal medulladaki kromaffin hücrelerin sekretuar granüllerinde bulunan soluble bir protein olduğunu ve uyarılmış adrenal medulladan katekolaminler ile birlikte salındığını ileri sürmüşlerdir. Daha sonra yapılan çalışmalarda Cg A'nın tüm endokrin, nöroendokrin ve sinir sistemindeki sekretuar veziküllerde yaygın olarak bulunduğu anlaşılmıştır (3,4). Bu dokularda peptid ve amin hormonlarla birlikte bulunan CgA, buradaki sekretuar proteinlerin düzenlenmesinde görev alan, asidik bir glikoproteindir. Bu dokuların yanında gastrointestinal sistem, adeno ve nörohipofiz, immun sistem ve atrial miyokardium ile merkezi sinir sisteminin bir çok alanındaki "densecore sinaptik granüllerde" bulunmaktadır (3,4).

Cg A'nın YAPISI ve GÖREVLERİ

Dört yüz otuz dokuz aminoasitten (a.a) oluşan Cg A, 49 kDa ağırlığındadır. Hidrofilik ve asidik özelliği yanında sıcakta stabil olması en önemli özelliğidir. Cg A'nın moleküler yapısı incelendiğinde iki kısımdan oluştuğu, C-terminal alanın dimer-tetramer dengenin sağlanmasında önemli olduğu, mikromolar konsantrasyonda olan N-terminal alanın ise, dimer formunda olup hızlı ayrılmadan sorumlu olduğu anlaşılmıştır (5). Pro-peptid olarak sentezlenen Cg A depolandığı granül-

lerde, çeşitli proteazlar tarafından N-terminalinde lokalize olan peptidten başlayan bir sinyal ile spesifik ayrılmaya uğrar. Molekül yapısında bulunan ve özellikle C terminal alanında yaygın olarak bulunan çift bazik a.a alanları spesifik proteazların potansiyel proteolitik alanlarını oluşturur. N-terminalinde bulunan 17 ve 38. pozisyonundaki iki sistein a.a rezidüsü arasındaki disülfid köprüsü Cg A ile ilişkili çeşitli biyolojik aktivitelerde yol göstericidir. Cg A'nın posttranslasyonel modifikasyonunda; O-glikolizasyon, fosforilasyon ve sulfasyon önemli biyolojik olaylardır (5).

Cg A ve türevlerinin bir çok hemostatik yolda önemli fizyolojik görevleri vardır. Çeşitli hormonların yanısıra birlikte salgılandığı bir çok nörotransmitterin sekestrasyonunda ve sekresyonunun düzenlenmesinde de rol oynamaktadır. Cg A'nın dokuya spesifik proteazlar tarafından ayrılması ile oluşan biyolojik aktif peptidler, tekrar otokrin, parakrin ve endokrin etkiler göstermektedir. Katekolaminerjik hücrelerde oluşan katestatin, katekolamin sekresyonunu inhibe eder ve vazodilatasyon aktivitesi vardır. Pankreatik peptid olan pankreastatin glukoz ve lipid metabolizmasının düzenlenmesinde görev almaktadır. 1-76. a.a rezidüsünden oluşan vasostatin-1 damar duvarında vazokonstriksiyonun inhibisyonu, paratroid hormon sekresyonunun inhibisyonu, nöronal/mikroglial hücre kültürlerinde nörotoksik, antibakteriyel ve antifungal etkileri bulunurken, 1-113. a.a rezidülerinden oluşan vasostatin-2 kan damarındaki vazokonstriksiyonu baskılamaktadır. Vasostatin-1 ile ilgili yapılan in vitro çalışmalarda gösterilmiştir

ki, fibroblast ve düz kas hücre adhezyonu üzerinde indirekt etkileri ile birlikte; bazal membran komponentlerinde (kollajen tip IV, laminin) ve duktal morfogenezde rol olan Cg A rezidülerinin yeniden yapılanmasında görev almaktadır (5).

Cg A- Bağlı Peptidlerin Görevleri (5)

1. İnflamasyonda bakterisidal ve antifungal aktivite,
2. Kardiyovasküler reaksiyonlarda inhibitör düzenleyici etki (vazodilatasyon, negatif inotropik etki),
3. İmmunitenin başlangıcında ve enerji metabolizmasında görevli,
4. Kalsiyum dengelenmesi,
5. Hücre adezyonu ve yayılması,
6. Apoptozisin indüklenmesi,

Post-translasyonel modifikasyonun düzeyi ve proteolitik yollar, dokudan dokuya farklılık gösterir. Bu farklılığı analitik açıdan değerlendirdiğimizde, Cg A'nın yüksek antijenik heterojeniteye sahip olduğu bildirilmektedir (6).

Nöroendokrin sistemde yaygın ekspresyonuna bağlı olarak Cg A nöroendokrin hücreler için genel bir biyomarkerdir ve yüksek Cg A seviyeleri nöroendokrin tümörlerin tespitinde yardımcıdır (7).

Cg A biyolojik sıvılarda ve dokularda RIA, ELISA, western blott, immunofloresans mikroskopi ve immunohistokimyasal olarak tespit edilebilmektedir.

İmmunassay metodu kullanılarak tespit edilen dolaşımdaki Cg A düzeyleri, normal olgularda 0,5-2 nM arasındadır (8). Gastrointestinal sistem kökenli nöroendokrin tümörler, gas-

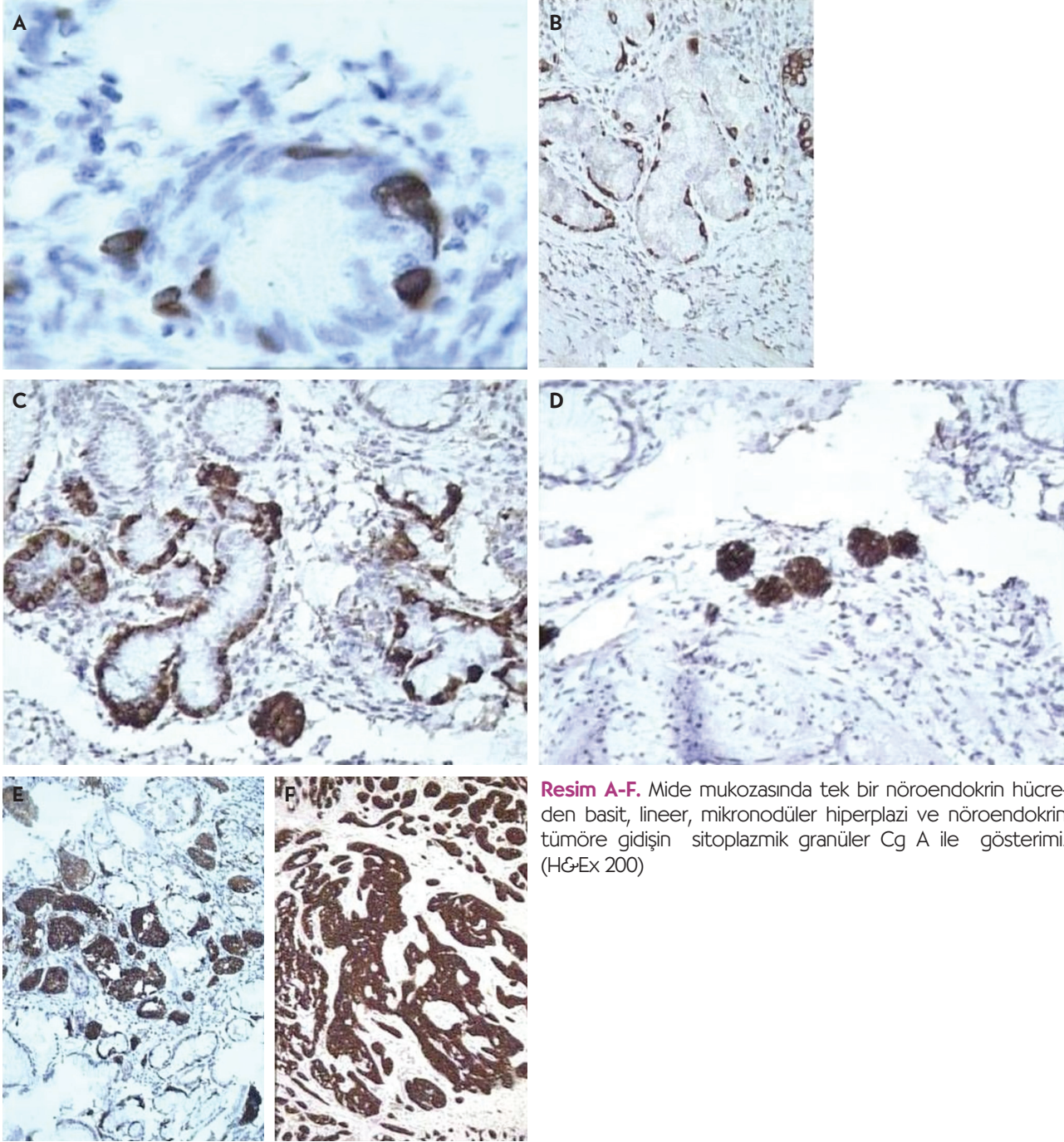
troenteropatik nöroendokrin tümörler (GEP-NET) olarak adlandırılırlar ve GEP-NET olgularında dolaşımdaki Cg A düzeylerinde 100 kata varan artışlar izlenebilir (7). Ancak Cg A seviyesinin GEP-NET'lerde bir biyomarker olarak kullanımını kısıtlayan bazı durumlar vardır. Proton pompa inhibitörlerinin kullanımı sırasında gastrin salgısının artışına bağlı Cg A seviyesi kanda yükselmekte ve bu nedenle ölçüm için ilacın 6 aya varan sürelerde kesilmesi önerilmektedir. Tanısı konulmuş bir hastada takipte bunun fazla bir önemi olmamasına rağmen, tanı konulacak hastada bu durum önem taşımaktadır (9). Ayrıca Cg A seviyelerinin kronik atrofik gastritli olgularda, irritable barsak hastalığında (10) ve inflamatuvar barsak hastalığında da yükselebildiği (11), yemek (12) ve egzersizle (13) ilişkili olarak da değişebildiği bildirilmekte olup ayrıca neoplastik ve non neoplastik çok sayıda faktörün, CgA'nın dolaşımdaki seviyelerini etkileyebildiği ispatlanmıştır (Tablo 1) (7).

Literatürde dolaşımdaki Cg A seviyesinin tümörün histolojik karakteri ve yayılımı ile ilişkisini gösteren farklı sensitivite ve spesifite değerleri bildirmektedir (14-19). GEP-NET olgularında tedavi öncesi Cg A seviyesinin ölçümünün prognostik gösterge olarak yararlı olduğu çeşitli çalışmalarla kanıtlanmış olmakla birlikte yakın zamanda yapılan çalışmalarda özellikle tedavi başlangıcından sonraki 4 hafta içinde ölçülen "erken cevap" olarak tanımlanan Cg A değerlerinin prognostik belirteç olarak daha kullanışlı olduğu vurgulanmaktadır (20, 21).

Dolaşımdaki Cg A düzeyleri, kronik kalp yetmezliği (KKY)'nin şiddetiyle de orantılı olarak artış göstermektedir ve KKY'de mortalite açısından bağımsız bir prediktif faktör olduğu düşünülmektedir (8).

Tablo 1. Plazma Cg A seviyesinde artışa neden olan neoplastik ve non-neoplastik nedenler

Neoplastik nedenler	GEP-NET	Gastrik, pankreatik, ince barsak ve kolorektal yerleşimli nöroendokrin tümörler
	NET	Küçük hücreli akciğer karsinomu, medüller tiroid karsinomu, nöroblastom, feokromastoma, pitüiter tümörler, paraganglioma
	Adenokarsinom	Pankreatik adenokarsinom, hepatosellüler karsinom, meme, kolon, over ve prostat kanserleri
Non-neoplastik nedenler	İnflamatuvar hastalıklar	Sistemik romatoid artrit, dev hücreli artrit, kronik bronşit, kronik obstrüktif akciğer hastalıkları
	Gastrointestinal hastalıklar	Kronik atrofik gastrit, pankreatit, inflamatuvar barsak hastalığı, karaciğer sirozu, kronik hepatit
	Endokrin hastalıklar	Hiperparatiroidizm, hipertiroidizm
	Kardiyovasküler hastalıklar	Arteriyel hipertansiyon, kardiyak yetmezlik, akut koroner sendrom
	Renal hastalıklar	Renal yetmezlik
	İlaçlar	Proton pompa inhibitörleri, H ₂ reseptör antagonistleri, kortikoidler



Resim A-F. Mide mukozasında tek bir nöroendokrin hücre-den basit, lineer, mikronodüler hiperplazi ve nöroendokrin tümöre gidişin sitoplazmik granüler Cg A ile gösterimi. (HG&Ex 200)

Aynı zamanda Cg A özellikle nöroendokrin neoplazilerde yaygın olarak kullanılan bir immünohistokimyasal belirteçtir (22). Özellikle gastroenteropatik nöroendokrin tümörlerin tanısında CgA en güvenilir immünohistokimyasal belirteç olmakla birlikte özellikle rektal ve appendisyal yerleşimli nöroendokrin tümörlerde ekspresyonu sınırlıdır. Bu lokalizasyonlar söz konusu olduğunda Cg A yerini diğer sekreteruar granül

markerları olan Cg B ve sekretogranine bırakır (23). Cg A özellikle gastrik nöroendokrin lezyonlarda hiperplaziden nöroendokrin tümöre gidişin monitörizasyonunda yardımcıdır (Resim A-F).

Son dönemdeki yayınlar göstermektedir ki, özellikle “biyomarker kimliği” ile Cg A uzunca bir süre daha akademik çalışmalara ilham kaynağı olmaya devam edecektir.

KAYNAKLAR

1. Defetos IJ. Chromogranin A: its role in endocrine function and as an endocrine and neuroendocrine tumor marker. *Endocr Rev* 1991;12:181-7.
2. Banks P, Helle K. The release of protein from the stimulated adrenal medulla. *Biochem J* 1965;97:40C-41C.
3. Winkler H, Fischer-Colbrie R. The chromogranins A and B: the first 25 years and future perspectives. *Neuroscience* 1992;49: 497-528.
4. Moulant AJ, Bevan S, White JH, Hendy GN. Human chromogranin-A gene. Molecular cloning, structural analysis, and neuroendocrine cell-specific expression. *Biol Chem* 1994; 269:6918-26.
5. 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.
6. Metz-Boutigue MH, Garcia -Sablone P, Hogue-Angeletti R, Auris D. Intracellular and extracellular processing of chromogranin A. Determination of cleavage sites. *Eur J Biochem* 1993;217:247-57.
7. Modlin IM, Gustafsson BI, Moss SF, et al. Chromogranin A-biological function and clinical utility in neuro endocrine tumor disease. *Ann Surg Oncol* 2010;17:2427-43.
8. Ceconi C, Ferrari R, Bachetti T, et al. Chromogranin A in heart failure; a novel neurohumoral factor and a predictor for mortality. *Eur Heart J* 2002;23:967-74.
9. Sanduleanu S, Stridsberg M, Jonkers D, et al. Serum gastrin and chromogranin A during medium- and long-term acid suppressive therapy: a case-control study. *Aliment Pharmacol Ther* 1999;13:145-53.
10. Sidhu R, McAlindon ME, Leeds JS, et al. The role of serum chromogranin A in diarrhoea predominant irritable bowel syndrome. *J Gastrointest Liver Dis* 2009;18:23-6.
11. Sciola V, Massironi S, Conte D, et al. Plasma chromogranin a in patients with inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis* 2009;15:867-71.
12. Jianu CS, Fossmark R, Syversen U, et al. A meal test improves the specificity of chromogranin A as a marker of neuroendocrine neoplasia. *Tumour Biol* 2010;31:373-80.
13. Elias AN, Wilson AE, Pandian MR, Kayaleh R. Chromogranin A concentrations in plasma of physically active men after acute exercise. *Clin Chem* 1992;38:2348-9.
14. Molina R, Alvarez E, Aniel-Quiroga A, et al. Evaluation of chromogranin A determined by three different procedures in patients with benign diseases, neuroendocrine tumors and other malignancies. *Tumour Biol* 2011;32:13-22.
15. Schürmann G, Raeth U, Wiedenmann B, et al. Serum chromogranin A in the diagnosis and the follow-up of neuroendocrine tumors of the gastroenteropancreatic tract. *World J Surg* 1992;16:697-702.
16. Stridsberg M, Oberg K, Li Q, et al. 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.
17. Nobels FR, Kwekkeboom DJ, Coopmans W, et al. Chromogranin A as serum marker for neuroendocrine neoplasia: comparison with neuron-specific enolase and the a-subunit secreting of glycoprotein hormones. *J Clin Endocrinol Metab* 1997;82:2622-8.
18. Baudin E, Bidart JM, Bachelot A, et al. Impact of chromogranin A measurement in the work-up of neuroendocrine tumors. *Ann Oncol* 2001;12 (Suppl 2):S79-82.
19. Tomassetti P, Migliori M, Simoni P, et al. Diagnostic value of plasma chromogranin A in neuroendocrine tumours. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:55-8.
20. Yao JC, Lombard-Bohas C, Baudin E, et al. Daily oral everolimus activity in patients with metastatic pancreatic neuroendocrine tumors after failure of cytotoxic chemotherapy: a Phase II trial. *J Clin Oncol* 2010;28:69-76.
21. Yao JC, Pavel M, Phan AT, et al. Chromogranin A and neuron-specific enolase as prognostic markers in patients with advanced pNET treated with everolimus. *J Clin Endocrinol Metab* 2011;96:3741-9.
22. Zatelli M.C, Torta M, Leon A, et al. Chromogranin A as a marker of neuroendocrine neoplasia: an Italian Multicenter Study. *Endocr Relat Cancer* 2007;14:473-82.
23. Graeme Cook F. Neuroendocrin tumors of the Gastrointestinal tract and appendix. Surgical pathology of the gastrointestinal tract, liver, biliary tract and pancreas. In: Odze Robert D, Goldblum John R. (eds) *Surgical Pathology of the GI Tract, Liver, Biliary Tract, and Pancreas*. Philadelphia, Saunders 2009;653-80.



*Köy Hekimi (1650), David Teniers the Younger
(Belçika Kraliyet Güzel Sanatlar Müzesi-Koninklijke Musea voor Schone Kunsten van België, Brüksel).*