

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2022

Любимова Н.В., Тимофеев Ю.С., Маркович А.А., Лебедева А.В., Карамышева Е.И., Делекторская В.В., Кушлинский Н.Е.

## ХРОМОГРАНИН В В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНЫХ НЕЙРОЭНДОКРИННЫМИ ОПУХОЛЯМИ

ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, 115552, Москва, Россия

*Нейроэндокринные опухоли (НЭО) представляют собой гетерогенную группу неоплазий из клеток диффузной нейроэндокринной системы. Хромогранин В (ХгВ) является кислым белком семейства гранинов, который аналогично ХгА может быть использован для выявления опухолей нейроэндокринного природы. Представлены анализ уровней и оценка диагностической эффективности ХгВ в сыворотке крови больных НЭО различных локализаций.*

*Обследованы пациенты с НЭО (n=121), ранее не получавшие специфического лечения следующих локализаций: 74 – поджелудочная железа, 20 – желудок, 12 – толстая кишка, 15 – другие локализации (легкие, простата, молочная железа, НЭО без выявленного первичного очага). В качестве контроля обследовали 54 практически здоровых доноров. Определение ХгВ в сыворотке крови проводили методом ИФА в плащечном формате на анализаторе ВЕР 2000 с использованием стандартизованной тест-системы Human Chromogranin B (USCN, КНР). Выявили, что уровни ХгВ в общей группе НЭО (медиана 18,9 нг/мл) были статистически значимо выше, чем в контрольной группе (8,8 нг/мл). Наиболее высокая медиана маркера обнаружена в группе больных НЭО толстой кишки (21,2 нг/мл), что превышало медиану контрольной группы более чем в 2,4 раза. По данным ROC-анализа в общей группе НЭО относительно контрольной группы площадь под кривой AUC составила 0,88 (95%ДИ 0,83-0,929). При пороговом уровне ХгВ 15,8 нг/мл диагностическая чувствительность составила 69,4% при специфичности 96,3%. Наиболее высокая диагностическая чувствительность была характерна для группы НЭО толстой кишки (75,0%) и поджелудочной железы (71,2%). Проведенное исследование показало значимость ХгВ как потенциального биохимического маркера, альтернативного ХгА, при НЭО различных локализаций.*

**Ключевые слова:** хромогранин В; нейроэндокринные опухоли; опухолевый маркер.

**Для цитирования:** Любимова Н.В., Тимофеев Ю.С., Маркович А.А., Лебедева А.В., Карамышева Е.И., Делекторская В.В., Кушлинский Н.Е. Хромогранин В в сыворотке крови больных нейроэндокринными опухолями. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2022; 67 (8): 440-443. DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-8-440-443>

**Для корреспонденции:** Любимова Нина Васильевна, д-р биол. наук, проф., вед. науч. сотр. лаб. клин. биохимии; e-mail: [biochimia@yandex.ru](mailto:biochimia@yandex.ru)

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

Поступила 30.05.2022

Принята к печати 10.06.2022

Опубликовано 15.08.2022

*Lyubimova N.V., Timofeev Yu.S., Markovich A.A., Lebedeva A.V., Karamisheva E.I., Delektorskaya V.V., Kushlinskii N.E.*

### CHROMOGRANIN B IN BLOOD SERUM OF PATIENTS WITH NEUROENDOCRINE TUMORS

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Russian Federation, 115552, Moscow, Russia

*Neuroendocrine tumors (NETs) are a heterogeneous group of neoplasms from cells of the diffuse neuroendocrine system. Chromogranin B (CgB) is an acidic protein of the granin family, which can be used to detect the tumours of neuroendocrine nature. Analysis of levels and evaluation of the diagnostic efficiency of CgB in the blood serum of patients with NETs of various localizations. Patients with NETs (n=121) without specific treatment were examined. In the study were presented next localizations: 74 – pancreas, 20 – stomach, 12 – large intestine, 15 – other localizations (lungs, mammary gland, prostate gland, NETs with unidentified primary). 54 practically healthy donors were examined as control group. The determination of CgB in blood serum was performed with ELISA method on BEP 2000 analyzer using a standardized test system Human Chromogranin B (USCN, China). CgB levels in common NET group (median 18.9 ng/mL) were statistically significantly higher than in the control group (8.8 ng/mL). The highest median was obtained in group of intestinal NETs (21.2 ng/ml), which exceeded the median of the control group by more than 2.4 times. According to ROC analysis in the common NET group relative to the control group, the area under the curve AUC was 0.88 (95% CI 0.83-0.929). According to cut-off level of CgB – 15.8 ng/ml, the diagnostic sensitivity was 69.4%, with a specificity of 96.3%. The highest diagnostic sensitivity was in the group of the intestinal NETs (75.0%) and pancreas (71.2%). The study showed the significance of CgB as a potential biochemical marker of NETs with various localizations, alternative to CgA.*

**Key words:** chromogranin B; neuroendocrine tumors; biochemical marker.

**For citation:** Lyubimova N.V., Timofeev Yu.S., Markovich A.A., Lebedeva A.V., Karamisheva E.I., Delektorskaya V.V., Kushlinskii N.E. Chromogranin B in blood serum of patients with neuroendocrine tumors. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2022; 67 (8): 440-443 (in Russ.). DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2022-67-8-440-443>

**For correspondence:** Lyubimova Nina Vasilyevna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Leading Researcher of the Laboratory of Clinical Biochemistry; e-mail: [biochimia@yandex.ru](mailto:biochimia@yandex.ru)

#### Information about authors:

Lyubimova N.V., <https://orcid.org/0000-0003-0430-2754>;  
Timofeev Yu.S., <https://orcid.org/0000-0001-9305-6713>;  
Markovich A.A., <https://orcid.org/0000-0002-5548-1724>;  
Lebedeva A.V., <https://orcid.org/0000-0001-5881-1795>;

Karamisheva E.I., <https://orcid.org/0000-0001-8791-5358>;  
Delektorskaya V.V., <https://orcid.org/0000-0002-4550-2069>;  
Kushlinskii N.E., <https://orcid.org/0000-0002-3898-4127>.

**Conflict of interests.** *The authors declare no conflict of interests.*

**Acknowledgment.** *The study had no sponsor support.*

Received 30.05.2022  
Accepted 10.06.2022  
Published 15.08.2022

**Введение.** Нейроэндокринные опухоли (НЭО) представляют собой крайне гетерогенную группу новообразований, происходящих из клеток диффузной нейроэндокринной системы, для которых свойственна продукция биологически-активных соединений [1–4]. В настоящее время в качестве маркеров НЭО представлена большая группа белков, пептидов и биогенных аминов, среди которых наиболее востребованным является хромогранин А (ХгА) [5–10]. Однако недостаточная диагностическая эффективность используемых маркеров обуславливает поиск новых биохимических факторов в качестве потенциальных биомаркеров НЭО [2, 11, 12].

Одним из таких соединений является хромогранин В (ХгВ) – белок семейства граинов/секретогранинов, которые накапливаются в секреторных гранулах, формирующихся в различных типах клеток диффузной нейроэндокринной системы. По своей химической природе ХгВ представляет собой растворимый кислый белок, состоящий из 657 аминокислотных остатков, который является более стабильным по сравнению с ХгА, включающим в себя 439 аминокислотных остатков. Как и ХгА, ХгВ и его производные (секретолитин, хромабадин и т.д.) участвуют в различных регуляторных процессах в эндокринной и сердечно-сосудистой системах, однако до настоящего времени их функции остаются до конца не изученными [13–15].

В литературе представлены данные о большей специфичности ХгВ по сравнению с другими маркерами НЭО. Так, в отличие от ХгА, на секрецию ХгВ не влияют антисекреторные препараты (ингибиторы протонной помпы), которые часто используют в лечении больных НЭО поджелудочной железы и желудочно-кишечного тракта, а также такие факторы, как почечная и сердечная недостаточность [13].

В настоящее время существуют отдельные публикации, посвященные анализу сывороточных уровней ХгВ у больных НЭО, в которых представлены достаточно противоречивые данные [14–16]. В этом аспекте, целесообразно расширение исследований ХгВ как биохимического маркера опухолей нейроэндокринной природы, альтернативного ХгА.

Цель настоящего исследования – анализ уровней и оценка диагностической эффективности ХгВ в сыворотке крови больных НЭО различных локализаций.

**Материал и методы.** В исследование включены 121 больная НЭО, которые не получали какого-либо противоопухолевого лечения до поступления в ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Среди пациентов с НЭО было 89 женщин и 32 мужчины, медиана возраста составила 60,2 (49,8–65,7) года. В контрольную группу вошли 54 практически здоровых донора, среди которых 34 женщины и 20 мужчин, медиана возраста 45,5 (32,5–60,0) лет.

Все процедуры, выполненные в исследовании с участием больных и здоровых доноров, соответствуют эти-

ческим стандартам этического комитета организации (протокол № 6 от 12.04.2022 г.) и Хельсинкской декларации 1964 г. и ее последующим изменениям или сопоставимым нормам этики. От каждого из включенных в исследование участника получено информированное добровольное согласие.

Обследованные больные составили 3 группы с локализацией НЭО в поджелудочной железе ( $n=74$ ), желудке ( $n=20$ ) и толстой кишке ( $n=12$ ). Также была выделена группа с различными локализациями НЭО, в которую вошли 15 больных НЭО легкого, простаты и молочной железы, а также НЭО из неустановленного первичного очага. Среди общей группы больных НЭО у 36 пациентов отмечены клинические признаки карциноидного синдрома. У 60 больных НЭО были выявлены метастазы в печени и у 11 – в лимфоузлов. У большинства пациентов проводили оценку степени злокачественности НЭО по Grade, при этом у 17 больных отмечена степень злокачественности G1, у 50 – G2 и у 20 – G3.

Уровни ХгВ определяли методом иммуноферментного анализа в автоматическом формате на анализаторе BEP 2000 Advance (Siemens, Германия) с использованием стандартизированной тест-системы Human Chromogranin B (USCN Clone Cloud Inc, КНР) в сыворотке крови, взятой натощак из кубитальной вены. Статистический анализ проводили с использованием комплекта программ Statistica 10 (непараметрические методы исследования) и SPSS (ROC анализ).

**Результаты и обсуждение.** Сывороточные концентрации ХгВ определены у 121 больного НЭО, при этом медиана уровня маркера (18,95 нг/мл) с высокой степенью статистической значимости ( $p=0,00000001$ ) превышала медиану, полученную в контрольной группе (8,81 нг/мл).

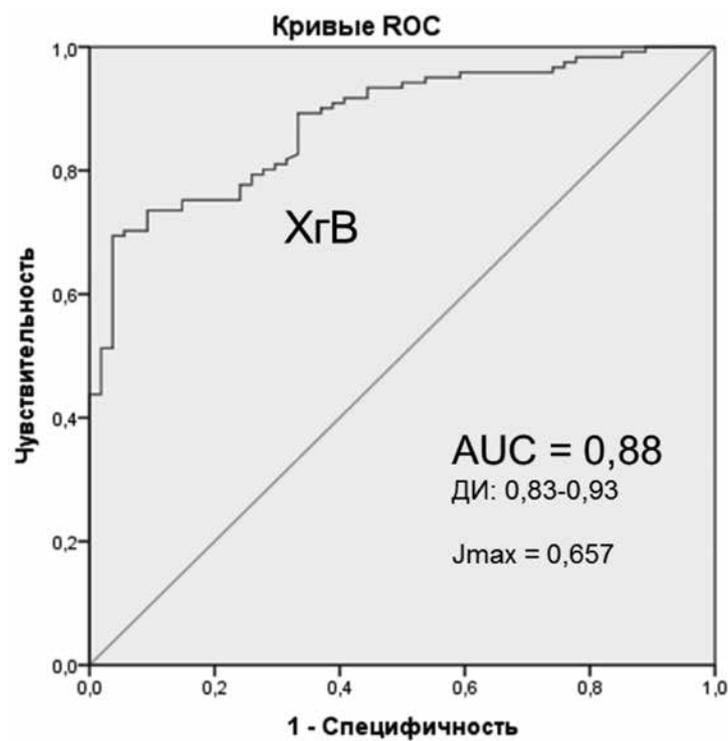
Подробные результаты анализа ХгВ в различных группах больных НЭО приведены в табл. 1.

Как видно из данных табл. 1, при всех анализируемых нами локализациях уровни ХгВ статистически значимо отличались от такового показателя в контрольной группе. Наиболее высокая медиана уровня ХгВ выявлена в группе больных НЭО толстой кишки (21,23 нг/мл), что статистически значимо превышало медиану маркера в контроле более чем в 2,4 раза ( $p=0,000001$ ). Степень повышения секреции ХгВ в других группах больных НЭО была несколько ниже (до 2 раз), однако также статистически значимо отличалась от контрольной группы ( $p=0,000106$ ). Статистических различий между полученными медианами ХгВ в отдельных группах пациентов не выявлено.

Медиана концентрации ХгВ у больных с метастазами в печени (21,3 нг/мл) была статистически значимо выше, чем у больных с локализованными формами заболевания (17,2 нг/мл;  $p=0,044$ ). Уровни ХгВ у больных с метастатическим поражением лимфоузлов не показали статистически значимых отличий от больных НЭО с метастазами в печени и локализованными формами НЭО ( $p>0,05$ ). При этом, как при локализованных формах НЭО, так и при

НЭО с метастатическим поражением печени/лимфоузлов уровни ХгВ статистически значимо превышали показатель маркера в контрольной группе ( $p < 0,00001$ ).

Сывороточные уровни ХгВ, выявленные в насто-



ROC-анализ ХгВ в общей группе больных НЭО относительно контрольной группы.

Таблица 1

Уровни ХгВ в сыворотке крови больных НЭО и в контрольной группе

Группы обследованных	n	Медиана	Квартили	Интервал мин-макс	p
Общая группа НЭО	121	18,95	14,21–25,9	3,38–47,93	0,0000001*
Поджелудочная железа	74	19,60	14,70–26,01	4,16–47,93	0,0000001*
Желудок	20	16,60	11,07–21,70	3,38–36,00	0,000106*
Толстая кишка	12	21,23	15,45–28,00	9,45–39,12	0,000001*
Различные локализации	15	19,61	14,64–4,06	9,50–38,48	0,000001*
Карциноидный синдром +	36	17,56	12,60–23,57	8,20–32,36	0,0000001*
Карциноидный синдром –	85	19,60	14,76–26,01	3,38–47,93	0,0000001*
МТС в печени	60	21,32	15,30–27,20	6,24–47,93	0,0000001* 0,044**
МТС в лимфоузлах	11	23,34	12,54–25,99	8,9–39,12	0,000005*
МТС не выявлены	50	17,20	12,70–21,50	3,38–36,50	0,0000001*
Контрольная группа	54	8,81	6,46–12,72	1,51–20,15	–

Примечание. n – число обследованных; \* – отличия от контрольной группы; \*\* – отличия от группы НЭО без МТС.

ящем исследовании, не зависели от функциональной активности опухоли. Так, медианы концентрации белка у больных с карциноидным синдромом и без его признаков не показали статистически значимых различий между собой ( $p = 0,16$ ), однако обе группы больных отличались от показателя маркера в контрольной группе ( $p < 0,0000001$ ).

Следует также отметить, что нами не выявлено статистически значимой зависимости между уровнями ХгВ и возрастом пациентов, а также степенью злокачественности опухоли по шкале Grade.

Для оценки возможности применения ХгВ в качестве биохимического маркера НЭО нами проведен ROC-анализ результатов его определения в общей группе больных НЭО относительно контрольной группы. Как следует из рисунка, в результате анализа получен достаточно высокий показатель площади под кривой (Area Under Curve) –  $AUC = 0,88$  (95% ДИ 0,83-0,929). Для выбора порогового уровня маркера была использована методика расчета максимального коэффициента Юдена  $J_{max} = 0,657$ , при котором порог составил 15,8 нг/мл. При полученном пороговом значении ХгВ специфичность в контрольной группе составила 96,3%, при этом диагностическая чувствительность в общей группе достигала 69,4%.

Далее была определена частота превышения рассчитанного порогового уровня (15,8 нг/мл) у обследованных пациентов с различными локализациями НЭО и в подгруппах, составленных по клинико-морфологическим признакам заболевания (табл. 2.)

Из всех локализаций наиболее высокая диагностическая чувствительность маркера была характерна для группы больных НЭО толстой кишки (75,0%). При НЭО поджелудочной железы повышенные уровни маркера выявляли у 71,2% больных. В то же время у больных НЭО желудка частота повышения ХгВ была ниже и составила 55,0%. В группе больных с различными локализациями НЭО значения маркера превышали пороговый уровень у большинства пациентов (75,0%). При анализе диагностической чувствительности в зависимости от распространенности процесса наиболее высокая чувствительность выявлена у больных с метастатическим поражением печени (75,0%) и лимфатических узлов (72,7%), тогда как при локализованных формах НЭО ХгВ был повышен у меньшего числа пациентов (63,3%). При дополнительном анализе с учетом результатов морфологического исследования наибольшая частота повышения ХгВ в сыворотке крови установлена для опухолей со степенью злокачественности Grade 2 и Grade 3 (72,0% и 70,0% соответственно), однако статистически значимых различий относительно группы НЭО Grade 1 получено не было (64,7%).

В целом, представленные нами результаты подтверждаются данными литературы других исследователей.

Первые работы, посвященные ХгВ, выполнены М. Stritsberg и соавт. [13,14] методом радиоиммунологического анализа (РИА), при этом обнаружено повышение в высоком проценте случаев не только ХгА, но и ХгВ у больных НЭО поджелудочной железы и других локализаций опухоли. Важным преимуществом ХгВ, на которое указывают разные авторы, является его независимость от таких факторов,

Таблица 2  
**Частота превышения порогового уровня ХгВ в различных группах НЭО**

Группы обследованных	n	Частота повышения ХгВ	
Общая группа НЭО	121	69,4%	
По локализации	Желудок	20	55,0%
	Поджелудочная железа	74	71,2%
	Толстая кишка	12	75,0%
	Различные локализации	15	75,0%
По наличию карциноидного синдрома	КС +	36	63,9%
	КС –	85	71,8%
	МТС не выявлены	50	63,3%
По наличию метастазов	МТС в печени	60	75,0%
	МТС в лимфоузлах	11	72,7%
	Grade 1	17	64,7%
По степени злокачественности Grade	Grade 2	50	72,0%
	Grade 3	20	70,0%

как сопутствующие почечная и сердечно-сосудистая недостаточность, а также прием пациентами антисекреторных препаратов, которые могут влиять на секрецию ХгА, что осложняет интерпретацию результатов определения этого маркера [11–13, 15].

Исследование ХгВ, выполненное методом РИА у больных НЭО поджелудочной железы показало его достаточно высокую диагностическую эффективность, независимую от использования ингибиторов протонной помпы и возраста обследуемых пациентов [16]. По мнению авторов, ХгВ может использоваться в качестве дополнительного диагностического маркера опухолей этой локализации, что подтверждается также полученными нами данными о достаточно высокой диагностической чувствительности ХгВ при НЭО поджелудочной железы. Согласно сравнительному обзору, в последнее время отмечается повышенное внимание к комплексному исследованию гранинов, как одному из подходов к улучшению диагностической эффективности ХгА и ХгВ, благодаря их комплементарности [15].

Ретроспективное исследование свидетельствует о целесообразности в дальнейшем исследовать ХгВ в комплексе с ХгА для получения оптимальных диагностических пороговых уровней в целях повышения точности диагностики НЭО [17].

Таким образом, за последние два десятилетия в мировой литературе накоплены данные о возможности совместного применения ХгВ и ХгА при НЭО различных локализаций [13, 15, 16], что также является одной из задач дальнейших исследований на больших выборках больных НЭО.

**Заключение.** Проведенное нами исследование показало значимость ХгВ как потенциального биохимического маркера НЭО альтернативного ХгА у больных НЭО различных локализаций. В перспективе целесо-

образно провести комплексное сравнительное исследование белков семейства гранинов в целях повышения эффективности выявления опухолей нейроэндокринной природы, а также их биохимического мониторинга на фоне проводимой терапии.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1-8, 10-17 см. REFERENCES)

9. Любимова Н.В., Томс М.Г., Чурикова Т.К., Харитиди Т.Ю. Клиническое значение хромогранина А при нейроэндокринных опухолях желудочно-кишечного тракта. *Альманах клинической медицины*. 2015; 41:35–9.

REFERENCES

- Oberg K. Circulating biomarkers in gastroenteropancreatic neuroendocrine tumours. *Endocr. Relat. Cancer*. 2011; 18(1):17–25.
- Aluri V., Dillon J.S. Biochemical testing in neuroendocrine tumors. *Endocrinol. Metab. Clin. North Am.* 2017; 46(3):669–77.
- Vinik A.I., Silva M.P., Woltering E.A. et al. Biochemical testing for neuroendocrine tumors. *Pancreas*. 2009; 38(8):876–89.
- Hofland J., Kaltsas G., de Herder W.W. Advances in the Diagnosis and Management of Well-Differentiated Neuroendocrine Neoplasms. *Endocr. Rev.* 2020; 41(2):371–403.
- Cheng Y., Sun Z., Bai C., Yan X., Qin R., Meng C., Ying H. Serum chromogranin A levels for the diagnosis and follow-up of well-differentiated non-functioning neuroendocrine tumors. *Tumour Biol*. 2016; 37(3):2863–9.
- Jun E., Kim S.C., Song K.B., Hwang D.W., Lee J.H., Shin S.H., Hong S.M., Park K.M., Lee Y.J. Diagnostic value of chromogranin A in pancreatic neuroendocrine tumors depends on tumor size: A prospective observational study from a single institute. *Surgery*. 2017; 162(1):120–30.
- Corti A., Marcucci F., Bachetti T. Circulating chromogranin A and its fragments as diagnostic and prognostic disease markers. *Pflugers Arch*. 2018; 470(1):199–210.
- Ma Z.Y., Gong Y.F., Zhuang H.K., Zhou Z.X., Huang S.Z., Zou Y.P. et al. Pancreatic neuroendocrine tumors: a review of serum biomarkers, staging, and management. *World J. Gastroenterol*. 2020; 26(19):2305–22.
- Lyubimova N.V., Toms M.G., Churikova T.K., Kharitidi T.Yu. Clinical significance of chromogranin A in neuroendocrine tumors of the gastrointestinal tract. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny*. 2015; 41:35–9. (in Russian)
- Laguette F., Anouar Y., Montero-Hadjadje M. Chromogranin A in the early steps of the neurosecretory pathway. *IUBMB Life*. 2020; 72(4):524–32.
- Pulvirenti A., Rao D., McIntyre C.A., Gonen M., Tang L.H., Klimstra D.S., Fleisher M., Ramanathan L.V., Reidy-Lagunes D., Allen P.J. Limited role of Chromogranin A as clinical biomarker for pancreatic neuroendocrine tumors. *HPB (Oxford)*. 2019; 21(5):612–8.
- Campana D., Nori F., Piscitelli L., Morselli-Labate A.M., Pezzilli R., Corinaldesi R., Tomassetti P. Chromogranin A: is it a useful marker of neuroendocrine tumors? *J. Clin. Oncol*. 2007; 25(15):1967–73.
- Stridsberg M., Eriksson B., Fellström B., Kristiansson G., Tiensuu Janson E. Measurement of chromogranin B can serve as a complement to chromogranin A. *Regulatory Peptides*. 2007; 193:80–3.
- Stridsberg M., Oberg K., Li Q., Engström U., Lundqvist G. Measurement 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(1):49–59.
- Bech P.R., Martin N.M., Ramachandran R., Bloom S.R. The biochemical utility of chromogranin A, chromogranin B and cocaine- and amphetamine-regulated transcript for neuroendocrine neoplasia. *Ann. Clin. Biochem*. 2014; 51(1):8–21.
- Miki M., Ito T., Hijioka M., Lee L., Yasunaga K., Ueda K., Fujiyama T., Tachibana Y., Kawabe K., Jensen R.T., Ogawa Y. Utility of chromogranin B as a biomarker in Japanese patients with pancreatic neuroendocrine tumors. *Jpn. J. Clin. Oncol*. 2017; 47(6):520–8.
- Monaghan P.J., Lamarca A., Valle J.W., Hubner R.A., Mansoor W., Trainer P.J., Darby D. Routine measurement of plasma chromogranin B has limited clinical utility in the management of patients with neuroendocrine tumours. *Clin. Endocrinol. (Oxf)*. 2016; 84(3):348–52.