

Departament de Medicina.
Universitat Autònoma de Barcelona

Nivells en sèrum de Cromogranina A i enolasa com a factors pronòstics en Càncer de pròstata resistent a la castració

Treball de recerca

Autora: Núria Sala González

Director del treball: Dr. Pablo Maroto Rey

Setembre 2011

ÍNDEX

Resum	1
Introducció	2
Material i mètodes.....	4
Resultats	5
Discussió	11
Conclusió.....	13

RESUM

INTRODUCCIÓ: L'evolució natural del càncer de pròstata és cap a una situació d' hormono-resistència. Un possible factor associat a aquesta desdiferenciació és l'adquisició de trets neuroendocrins. La cromogranina A en sèrum és un marcador que s'associa amb tumors amb diferenciació neuroendocrina

OBJETIU: Analitzar els marcadors neuroendocrins, cromogranina A (CgA) i enolasa, com a possibles factors pronòstics en pacients amb càncer de pròstata resistents a la castració

MATERIAL I MÈTODES: Es va analitzar de forma prospectiva la CgA i l'enolasa en sèrum de 50 pacients amb càncer de pròstata resistent a la castració. Es va definir un valor elevat de CgA en sèrum si era > 100 ug/L i enolasa > 16 ug/L.

RESULTATS. Mediana d'edat del diagnòstic va ser: 64.5(48-85). El 52% (n=26) tenien metástasis òssies, 24% (n=12) disseminació adenopàtica, 12% (n=6) disseminació visceral i 12% (n=6) malaltia local. El 22% (n=11) tenien nivells elevats d'enolasa; 50% tenien nivells elevats de CgA. La supervivència global mediana va ser de 29 mesos. La supervivència dels pacients amb CgA elevada va ser de 18 mesos vs 64 mesos quan eren normals (p=0.03); els pacients amb nivells d'enolasa elevats tenien supervivència de 9 mesos vs 47 mesos si els nivells d'enolasa eren normals (p<0.001). Pacients amb cromogranina i enolasa elevats tenien una supervivència de 6 mesos vs 27 mesos els que només tenien un marcador alterat i 64 mesos si no en tenien cap (p<0.001).

CONCLUSIÓ: L'anàlisi prospectiu realitzat suggereix que l'alteració en sèrum de cromogranina i enolasa podria ser factor pronòstic en pacients amb càncer de pròstata resistents a la castració.

INTRODUCCIÓ

El càncer de pròstata és el tercer tumor més freqüent en el homes. La mediana d'edat al diagnòstic és de 70 anys. Existeixen varis factors que utilitzem habitualment per valorar el pronòstic i la supervivència dels pacients amb càncer de pròstata, com ara el TNM com a més usat i important. En el cas de tumors limitats a la pròstata, sabem que la seva supervivència és superior a 5 anys, mentres que els localment avançats la supervivència mitja no supera els 5 anys i en el cas del pacients metastàsics, la supervivència és de 2 anys aproximadament.

L'evolució natural del càncer de pròstata és molt heterogènia, des de tumors amb evolució indolent i lenta a tumors amb comportament agressiu. En el últims anys, s'han intentat trobar nous factors pronòstics i predictius que ens ajudin a diferenciar les diferents evolucions d'una teòrica mateixa malaltia tumoral i la resposta al tractament.

Existeixen factors pronòstics en el càncer de pròstata que ens ajuden a escollir el tractament òptim per a cada pacient, com ara el Gleason, el PSA, l'edat del pacient, el seu performance estatus i les comorbilitats, entre d'altres

S'ha evidenciat que entre els 20-70% tumors de pròstata(2), segons les sèries, tenen displàsia focal neuroendocrina al diagnòstic detectable per immunohistoquímica. Aquesta troballa es pot associar a progressió del càncer de pròstata a una fase hormonoindepenènciat. Els mecanismes pels quals això succeeix no estar del tot ben establert però existeixen diferents hipòtesis com ara: 1) les cèl·lules neuroendocrines no tenen receptor d'andrògens i per tant no són sensibles al tractament hormonal; 2) les cèl·lules neuroendocrines poden segregar factors de creixement i hormones que estimularien el creixement i l'agressivitat de les cèl·lules exocrines del càncer de pròstata.

Els valors de cromogranina A i enolasa podrien estar en relació a la diferenciació neuroendocrina del carcinoma de pròstata (10,12) . La cromogranina A en sèrum sembla que és el marcador més utilitzat per demostrar la diferenciació neuroendocrina de la glàndula prostàtica.

La cromogranina A és una proteïna que s'emmagatzema als grànuls secretors electro-densos , juntament amb el calci, nucleòtids, amines, neurotransmissors i altres hormones peptídiques, de les cèl·lules neuroendocrines i moltes cèl·lules neuronals i s'allibera per exocitosis.

La cromogranina A es pot quantificar en sèrum, plasma, orina i teixit. Actualment es disposa de tècniques d'immunoenzimàtiques (ELISA), i immunoisotòpiques (IRMA o RIA) per la seva detecció i quantificació. Els diferents dissenys dels estudis realitzats fins a dia d'avui, els diferents anticossos utilitzats (mono o policlonals) i la falta d'estandarització de les unitats usades, fan que els resultats dels diferents estudis difereixin entre ells. Un altre factor que

podria fer variar els resultats dels diferents estudis són els falsos positius en els nivells de cromogranina A, que poden estar relacionats amb: 1) insuficiència renal; 2) gastritis atròfica; 3) HTA mal controlada; 4) tractament amb inhibidor de protons; 5) i nitrats; entre d'altres factors.

El valor pronòstic de la detecció de cromogranina A en el teixit prostàtic està en discussió; alguns treballs demostren que una expressió elevada de cromogranina(CgA) en teixit es relaciona amb mal pronòstic (1,3) i altres no ho poden demostrar (4). La concordança entre la positivitat en teixit i la seva detecció en nivel plasmàtics és d'un 60%, mentres que el 30% tenen CgA en teixit positiva però negativa en plasma, i un 10% a la inversa(1). Els nivells de cromogranina en sèrum estan elevats en un percentatge molt variable dels pacients amb càncer de pròstata, depenent de l'estadiatge i l'estat hormonal del tumor (5)(Taula 1).

Taula 1

Autor	Mostra	Característiques pacients	n	(%)
Berruti et al(10)	Sèrum	Metastàsics resistents a la castració	45	(43,3)
Taplin.et al(12)	Sèrum	Metastàsics /Resistents a la castració	160	(49)
Berruti et al(1)	Sèrum	Hormono-sensibles	40	(22,8)
Sciarra et al(16)	Sèrum	No-metastàsics; Hormono-sensibles	264	
		CgA >60	91	(35)
		CgA >90	17	(6,4)
		metastàsics, hormono sensibles	89	
		CgA >60	89	(100)
		CgA >90	62	(69,7)
Appetecchia et al(2)	Sèrum	No-metastàsics; Hormono-sensibles	114	(23,5)

El valor de l'enolasa en sèrum i teixit en aquest context és més desconegut, però sembla que la determinació en plasma d'enolasa en pacients amb càncer de pròstata metastàtic sembla associar-se amb pitjor pronòstic (6).

En el nostre treball analitzem els marcadors neuroendocrins, cromogranina A i enolasa, com a possibles factors pronòstics en pacients amb càncer de pròstata resistents a la castració.

MATERIAL I MÈTODES

L'anàlisi prospectiu de factors pronòstics inclou 50 pacients diagnosticats de càncer de pròstata resistents a la castració durant el període novembre 2008 – maig 2010 a l'hospital de Sant Pau de Barcelona.

Els pacients elegibles tenien diagnòstic histològic de càncer de pròstata, alguns d'ells prostatectomitzats, altres tractats amb radioteràpia i altres sense tractament local. Tots ells rebien tractament amb anàlegs de la hormona lliberadora de gonadotropines (LHRH) amb criteris de castració bioquímica. Els criteris de progressió bioquímica van ser definits com dues elevacions consecutives de PSA, aparició de nova lesió radiològica a la gammagrafia i/o TC, augment de les lesions conegudes. Tots ells tenien un PS entre 0 a 2.

Els 50 pacients diagnosticats de càncer de pròstata resistents a la castració en progressió clínica i/o bioquímica i/o radiològica, se'ls realitzava determinació en sèrum de forma prospectiva de nivells de cromogranina A, enolasa, així com factors pronòstics coneguts en càncer de pròstata: fosfatasa alcalina, LDH, albúmina, hemoglobina i PSA (14). Independenent dels nivells de marcadors obtinguts els pacient iniciaven tractament amb quimioteràpia en primera línia amb docetaxel.

Les concentracions sèriques de Cromogranina A (CgA) es van analitzar mitjançant el mètode ELISA (EDI™ Epitope Diagnostics, Inc) , els de PSA mitjançant Immulite 2000 de Siemens, l'enolasa (NSE) amb Modular Analytics E170 de Roche, i els altres paràmetres amb els mètodes habituals.

Es va considerar nivells normals d'enolasa inferiors a 16 ug/L i normals de cromogranina A inferiors a 100 ug/L. Igualment es van establir els valors normals de fosfatasa alcalina inferiors a 130 U/L, LDH inferiors a 480 U/L, albúmina superior a 34 gr/L segons els paràmetres de determinació habituals. L' hemoglobina i el PSA es van realitzar els dos grups de pacients a partir de la mediana de tots els valors de cadascun dels factors(14,15).

El seguiment de l'estat vital dels pacients, es va realitzar en base a la informació de les històries clíniques i el seguiment passiu sistemàtic utilitzant la informació proporcionada per l'Índice Nacional de Defunciones. Tots els pacients tenen un seguiment del seu estat vital fins a 31 de desembre de 2010.

ANALISIS ESTADÍSTIC

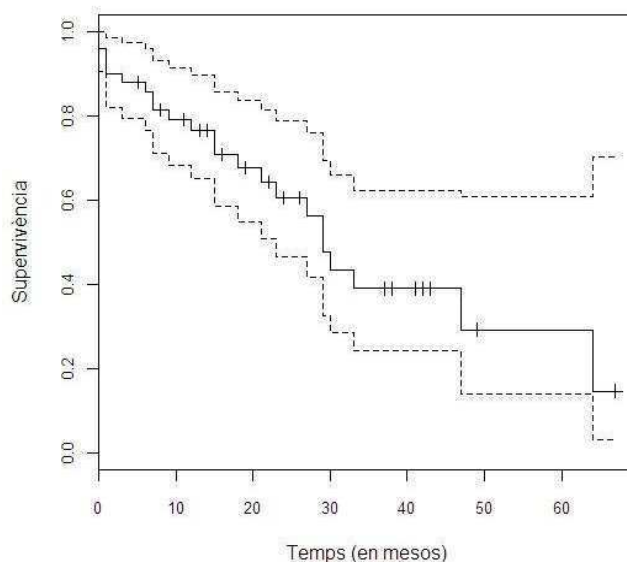
S'ha realitzat una descripció univariant de les variables categòriques mitjançant les freqüències absolutes i relatives i de les variables contínues a través de la mediana i el rang (mínim i màxim).

Mitjançant el mètode de Kaplan-Meier pel càlcul de les probabilitats de supervivència es va estimar el temps de supervivència, en mesos, des del moment de diagnòstic de HR fins a la data de defunció o la última data de seguiment. Per avaluar la influència dels diferents factors pronòstics sobre el temps de supervivència, es varen comparar les corbes pel mètode de log-rank. S'ha fixat un nivell de significació del 5%. Per a l'anàlisi es varen utilitzar els programes SPSS versió 19 i R 2.13.0 (www.r-project.org).

RESULTATS

La taula 2 mostra les característiques dels pacients. La mediana d'edat va ser de 64.5 anys (rang 48-85). El 52% (n=26) tenien metàstasis òssies, el 24% (n=12) tenien disseminació adenopàtica, el 12% (n=6) tenien disseminació visceral i el 12% (n=6) tenien només malaltia local. El 22% (n=11) tenien nivells elevats d'enolasa mentre el 78% (n=39) els tenien normals; el 50% tenien nivells elevats de cromogranina. En el moment de finalitzar el seguiment de l'estudi el desembre del 2010, 23 pacients (46%) estaven morts. La supervivència global mediana de tots els pacients va ser de 29 mesos (IC 95% 24.8-33.2 mesos) (Figura 1)

Figura 1: Supervivència global

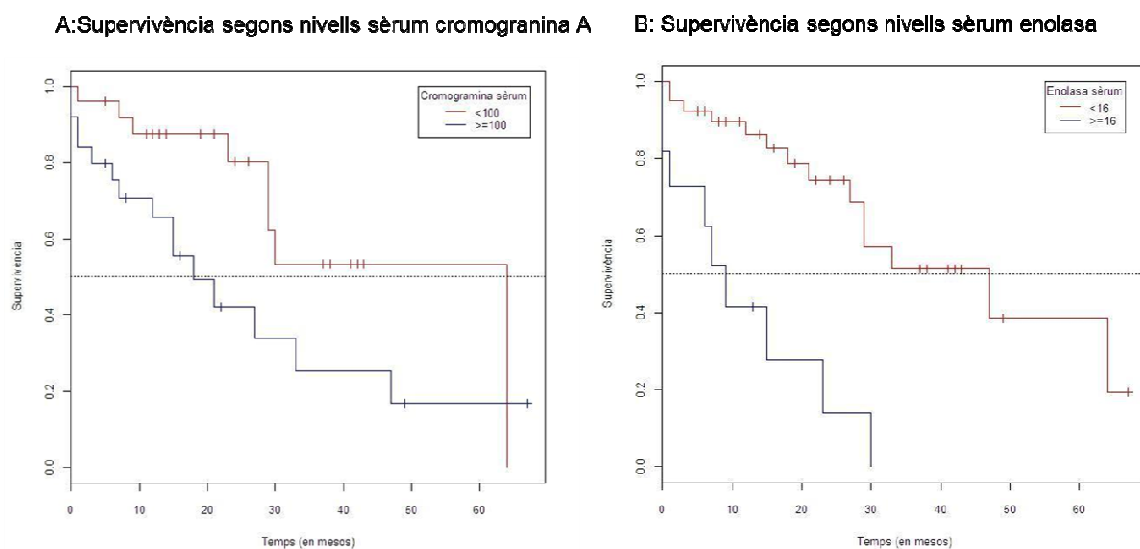


Taula 2: Característiques pacients		
	n	(%)
Edat mediana	64,5 anys	
Rang(mínim-màxim)	(rang 48-85)	
Gleason		
<8	17	(34)
≥8	26	(52)
perduts	7	(14)
PSA		
<12,2 ug/L	25	(50)
≥12,2 ug/L	25	(50)
Temps doblatge PSA		
<3 mesos	28	(56)
≥3 mesos	18	(36)
perduts	4	(8)
Disseminació		
os	26	(52)
ganglionar	12	(24)
visceral	6	(12)
local	6	(12)
Enolasa sèrum		
<16 ug/L	39	(78)
≥16ug/L	11	(22)
Cromogranina A sèrum		
<100 ug/L	25	(50)
≥100 ug/L	25	(50)
Enolasa/Cromogranina A		
0 valors alterats	21	(42)
1 valor alterat	22	(44)
2 valors alterats	7	(14)
LDH		
<480 U/L	31	(62)
≥480U/L	14	(28)
Perduts	5	(10)
Albúmina		
<34 gr/L	44	(88)
≥34 gr/L	4	(8)
Perduts	2	(4)
Hemoglobina		
<12,7 gr/dL	24	(48)
≥12,7 gr/dL	26	(52)
Fosfatasa alcalina		
<130 U/L	31	(62)
≥130 U/L	17	(34)
Perduts	2	(4)
Karnofsky		
<80	8	(16)
80	9	(18)
90-100	33	(66)

La taula 3, mostra els resultats de l'anàlisi univariat. Els nivells d'enolasa i cromogranina elevats, valors de LDH elevada, albúmina baixa, una hemoglobina inferior a 12 gr/dL, un PSA superior a 12.2 ug/L, la presència de disseminació visceral i un performance status(PS) inferior a 80, semblen definir de forma estadísticament significativa pacients amb càncer de pròstata resistents a la castració amb una pitjor supervivència.

La supervivència dels pacients amb cromogranina A elevada va ser significativament inferior a la dels pacients amb cromogranina A en sèrum normal, 18 mesos versus 64 mesos, respectivament ($p=0.03$); els pacients amb nivells d'enolasa en sang elevats també tenien supervivència inferior respecte aquells pacients amb nivells d'enolasa en sang normal (9 mesos vs 47 mesos) ($p<0.001$) (figura 2)

Figura 2

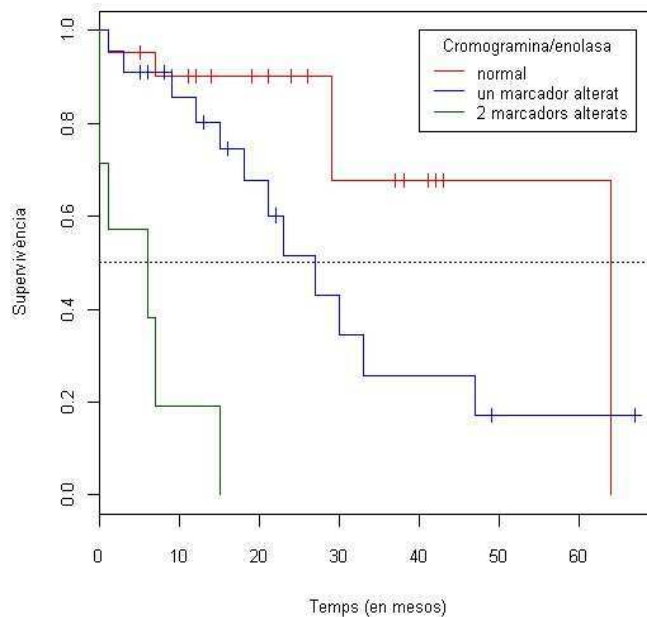


Es varen analitzar els pacients amb nivells de cromogranina A i enolasa elevats versus els pacients amb un sol d'aquests valors elevats o bé amb els dos valors dins dels paràmetres de la normalitat. Com es mostra a la Figura 2C, els pacients amb els dos paràmetres elevats tenien una supervivència significativament menor que els pacients amb un o cap d'ells alterat (6 mesos vs 27 mesos vs 64 mesos, respectivament, $p<0.001$).

Pacients amb LDH normal tenien una supervivència de 33 mesos (IC 95% 25.6 -40.6) vs 23 mesos (IC 95% 0-52.9) els pacients que la tenien elevada ($p= 0.011$).

Els 4 pacients (8%) que tenien l'albumina baixa, van tenir una supervivència d' 1 mes (IC 95% 0.15 -1.8) versus 30 mesos (IC 95% 24-35.9) els que la tenien normal ($p=0.001$).

Figura 3: Supervivència segons alteració cromogranina i/o enolasa



En el cas de l'hemoglobina, quan obteníem el punt de tall en la mediana dels nostres valors, 12.7 gr/dL, no s'objectivaven diferències en supervivència entre el grup que tenia valors inferiors a 12.7 gr/dL i el que tenia valors inferiors o iguals, amb supervivències de 29 mesos pels dos grups ($p=0.365$); mentres que si el punt de tall de l'hemoglobina era de 12 gr/dL sí que s'observaven diferències en supervivència, 9 mesos (IC 95% 0-19.7) en el grup d'hemoglobina inferior a 12 gr/dL i de 47 mesos (IC 95% 24.7-69.3) en el grup amb hemoglobina igual o superior a 12 gr/dL ($p=0.001$). Una explicació a aquest fet seria que 12.7 gr/dL és un valor molt pròxim a la normalitat, mentres que una hemoglobina de 12 gr/dL en un home es considera anèmia lleu.

Taula 3: Anàlisi univariat

	Supervivència			
	n.risk*	Median	95% CI	P**
Enolasa sèrum				
< 16 ug/L	39	47	20.6 - 73.4	<0.001
≥ 16 ug/L	11	9	4.6 - 13.4	
Cromogranina sèrum				
< 100 ug/L	25	64	n.d	0.030
≥ 100 ug/L	25	18	8.1 - 27.9	
Fosfatasa alcalina				
< 130 U/L	31	33	17.9 - 48.1	0.226
≥ 130 U/L	17	29	8.5 - 49.5	
LDH				
< 480 U/L	31	33	25.6 - 40.4	0.011
≥ 480 U/L	14	23	0 - 52.9	
Albúmina sèrum				
< 34 gr/L	4	1	0.2 - 1.8	<0.001
≥ 34 gr/L	44	30	24.0 - 36.0	
Karnofsky				
<80	8	3	0-16.1	0.001
80	9	33	15.9-50.1	
90-100	33	47	22.9-71.1	
Temps de doblatge PSA (mesos)				
< 3	28	29	25.4 - 32.6	0.498
≥ 3	18	n.d	n.d	
Gleason				
< 8	17	30	19.2 - 40.7	0.744
≥ 8	26	29	10.7 - 47.3	
Patró disseminació				
os	26	30	24.6 - 35.4	0.008
adenopatic	12	23	13.4 - 32.6	
visceral	6	6	0 - 17.8	
local	6	nd	nd	
Cromogranina/Enolasa				
Normal	21	64	nd	<0.001
1 marcador alterat	22	27	17.8-36.2	
2 marcadors alterats	7	6	0-16.3	
Hemoglobina mediana				
< 12.7 gr/dl	24	29	13.1-44.9	0.365
≥ 12.7 gr/dl	26	29	11.0-47.0	
Hemoglobina				
< 12.0 gr/dL	15	9	0-19.7	<0.001
≥ 12.0 gr/dL	35	47	24.7-69.3	
PSA				
< 12.2 ug/L	25	nd	nd	0.011
≥ 12.2 ug/L	25	27	17.5-36.5	

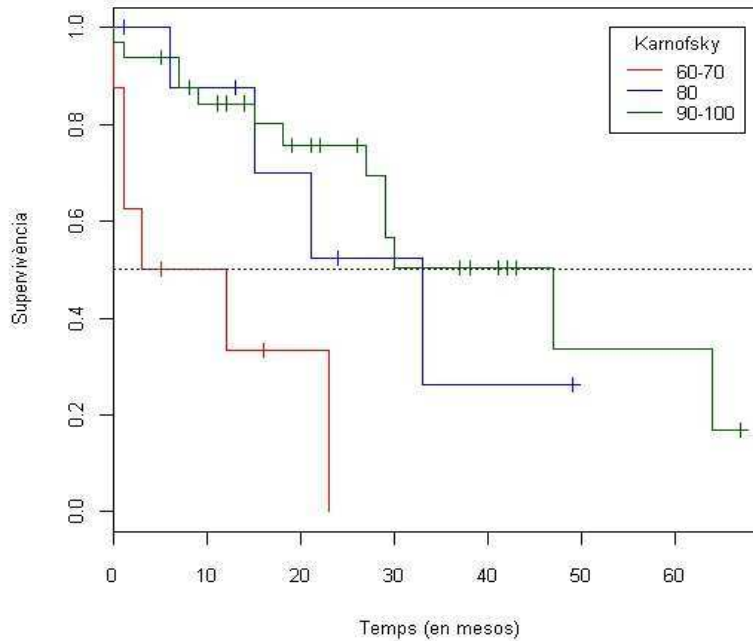
* inici estudi

** log-rank

Els pacients que tenien un Karnofsky inferior al 80% tenien una supervivència de 10 mesos (IC 95% 2.7 -17.9), mentres que els que tenien un Karnofsky del 80% tenien una supervivència de 28.6 mesos (IC 95% 16.5 -40.6) i superior o igual a 90% la tenien de 39.4 mesos (IC 95%

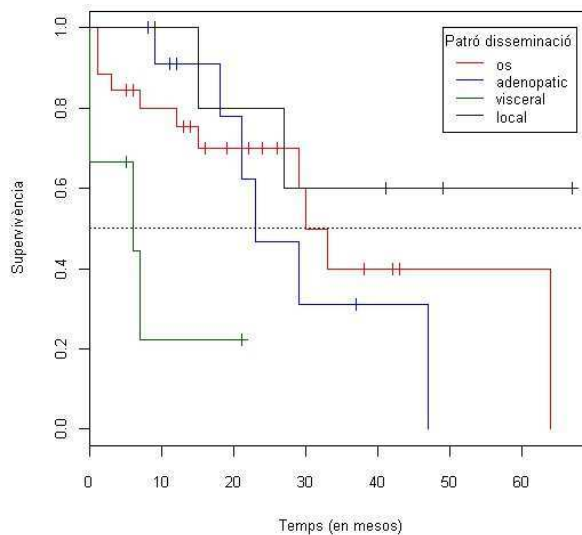
29-49.6). La figura 4, mostra la supervivència segons el Karnofsky. Els resultats juntament amb l'observació de la gràfica ens pot suggerir que els pacients amb índex de Karnofsky superior o igual a 80% tenen una evolució més favorable en comparació dels pacients amb un índex de Karnofsky inferior a 80%, malgrat no haver realitzat comparació entre aquests dos grups.

Figura 4: Supervivència segons Karnofsky



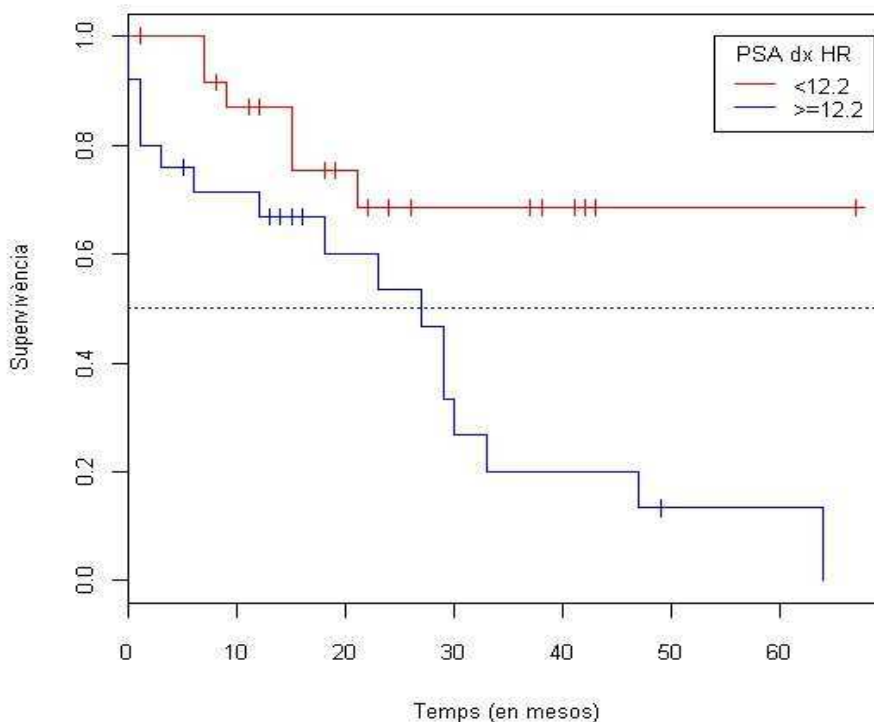
Quan mirem l'evolució dels pacients segons el tipus de disseminació que presenten (figura 5), veiem que els pacients amb malaltia visceral tenien pitjor supervivència que la resta de pacients, 6 mesos (IC 95% 0-17.8) vs els 30 mesos (IC 95% 24.6-35.4) i 23 mesos (IC 95% 13.4-32.6) dels pacients que tenen malaltia òssia i adenopàtica respectivament.

Figura 5: Supervivència segons patró de disseminació



Els nivells de PSA en el període de resistència a la castració, en el nostre estudi semblen definir el pronòstic advers del pacients amb els nivells més alts. En el nostre cas, vam realitzar el punt de tall en la mediana dels nostres valors i vam observar que els pacients amb nivells de PSA igual o superiors a 12.2ug/L tenien pitjor supervivència que els pacient amb nivells infeior, 27 mesos vs nd, respectivament ($p=0.011$) .

Figura 6: Supervivència segons nivells de PSA en període de resistència a la castració



Per contra, ni els nivells de fosfatasa alcalina, ni el temps de doblatge de PSA ni el Gleason al diagnòstic en el nostre estudi semblen ser factors que influeixin en l'evolució dels pacients amb càncer de pròstata resistent a la castració.

DISCUSSIÓ

La diferenciació neuroendocrina és un tret objectivat en el càncer de pròstata i s'ha detectat en teixit entre el 20 -90% del casos segons les sèries(7,8).

El paper d'aquestes cèl·lules en càncer de pròstata no està ben establert; existeixen sèries que postulen que la demostració histopatològica de cèl·lules neuroendocrines en teixit de càncer de pròstata va associat a un pitjor pronòstic (9), mentres que altres, com l'estudi de Noordzj et al (4), no van poder demostrar-ho.

Sabem que la cromogranina A i l'enolasa són els marcadors de tumors neuroendocrins més estudiats i que la cromogranina A està elevada en sèrum en pacients amb càncer de tiroides, de pàncrees endocrí, carcinoma de pulmó de cèl·lula petita i de pròstata. Basant-nos en el coneixement de la diferenciació neuroendocrina del càncer de pròstata existeixen sèries que han intentat investigar el valor de marcadors neuroendocrins en sèrum en els pacients amb càncer de pròstata. Berruti et al (10) va objectivar en la seva sèrie que els pacients amb valors elevats de cromogranina A en sèrum tenien un pitjor pronòstic. El mateix autor va objectivar en un altre estudi (1) que hi havia una discordança entre els valors de cromogranina en sèrum i la detecció en teixit en el 40% de la seva sèrie, pel que suggeria que les dues tècniques podien ser complementàries.

En el nostre estudi, la determinació de cromogranina i enolasa en sèrum es va realitzar en el moment del diagnòstic de càncer de pròstata resistents a la castració tant en pacients que havien estat prostatectomitzats, com en pacient que havien realitzat tractament amb radioteràpia radical, com en pacients que només havien realitzat tractament amb hormonal (donat el debut metastàtic). La heterogenicitat en els tractaments realitzats, poden esbiaixar els resultats donat que es modifica el volum tumoral.

L'enolasa és un marcador neuroendocrí menys estudiat en aquest contexte amb resultats discordants. Kamiya et al (6) va objectivar que els nivells elevats d'enolasa en sèrum amb pacients amb càncer de pròstata metastàtic homonosensibles estava relacionat amb un pitjor pronòstic i que no hi havia relació entre els nivells en sèrum de cromogranina A i enolasa.

En la nostra sèrie, encara que amb una mostra de pacients petita i l'anàlisi univariat, objectivem que factors pronòstics coneguts en càncer de pròstata també descriuen l'evolució dels nostres pacients. En el cas de l'albumina, només tenim 4 pacients amb albumina baixa però aquesta sembla definir pacients amb mal pronòstic; tot i les limitacions del nostre anàlisi.

Quan analitzem el paper que poden tenir els marcadors neuroendocrins en els nostres pacients, objectivem que els pacients amb valors de cromogranina elevats tenen pitjor pronòstic i observem el mateix amb l'enolasa. Igualment suggereix que els pacients amb càncer de pròstata resistents a la castració que no té cap marcador neuroendocrí elevat (ni cromogranina ni enolasa) té una supervivència mediana de 64 mesos, els que tenen un marcador neuroendocrí elevat, cromogranina A o enolasa (n=22) tenen una supervivència mediana de 27 mesos o bé en tenen dos, cromogranina A i enolasa, (n=7) tenen una supervivència, al voltant dels 6 mesos. No sabem si aquesta és deguda a una menor resposta al tractament quimioteràpic pel fet de tenir un tumor amb diferenciació neuroendocrina que s'associés a homonoresistència i/o quimioresistència o bé que els pacients tenen un pitjor pronòstic de base.

Quan analitzem el valor de PSA en el moment que establím que els pacients són resistents a la castració, sembla definir una pitjor supervivència en els nostres pacients quan el valor és elevat, tot suggerint que un gran volum de malaltia tumoral és un factor advers.

En el nostre estudi el temps de doblatge de PSA no sembla ser pronòstic pels pacients amb un temps de doblatge curt. La disparitat de resultats entre estudis es pot explicar per la falta de consens alhora de calcular el temps de doblatge.

L'anàlisi del Gleason al diagnòstic no sembla ser factor que influeixi en l'evolució dels nostres pacients amb càncer de pròstata en fase d'hormonoïndependència. Una explicació podria ser la presència de majoria dels nostres pacients fossin d'alt risc i Gleason elevats.

CONCLUSIO

Els nivells en sèrum de marcadors neuroendocrins com la cromogranina i la enolasa podrien ser factor pronòstics, definint pacients amb càncer de pròstata resistents a la castració, amb una tumors més indiferenciats i amb pitjor pronòstic. Fan falten estudis prospectius amb tamany mostral més grans per validar i demostrar els resultats suggerits.

BIBLIOGRAFIA

- 1: Berruti A et al: Chromogranin A expresión in patients with hormone naïve prostate cancer predicts the development of hormone refractory disease. The Journal of urology. 178, 838-843, September 2007
- 2: Appetecchia M et al: Incidence of high chromogranin A serum levels in patients with non metastatic prostate adenocarcinoma . Journal of Experimental and Clinical Cancer REserch 29: 166 2010
- 3: Theodorescu D et al: Cathespin D and chromogranin A as predictors of long term disease specific survival after radical prostatectomy for localized carcinoma of the prostate. Cancer 80: 2109-2119, 1997
- 4: Noordzij M et al: The prognostic influence of neuroendocrine cells in prostate cancer: results of a long-term follow-up study with patients treated by radical prostatectomy. Int J Cancer 62: 252-258, 1995
5. Berruti A et al: Circulatin neuroendocrine markers in patients with prostate cancinoma. Cancer 88: 2590-2597, 2000

6. Kamiya et al: Pretreatment serum level of neuron specific enolase (NSE) as a prognostic factor in metastatic prostate cancer patients treated with endocrine therapy. *European Urology* 44: 309-314, 2003
7. Di Sant'Agnese: Neuroendocrine differentiation in carcinoma of the prostate: Diagnostic, prognostic, and therapeutic implications. *Cancer* 70:254-68, 1992
8. Di Sant'Agnese PA: Neuroendocrine differentiation in prostatic carcinoma. *Hum Pathol* 23:287-96, 1992
9. M Hammad Ather et al: Correlation of three immunohistochemically detected markers of neuroendocrine differentiation with clinical predictors of disease progression in prostate cancer. *BMC Urology* 8:21, 2008,
10. Berruti A et al: Independent prognostic role of circulating chromogranin A in prostate cancer patients with hormone-refractory disease. *Endocrine-Related Cancer* :2005 12 109-117, 2005
11. Isshiki S: Chromogranin A concentration as a serum marker to predict prognosis after endocrine therapy for prostate cancer. *The Journal of Urology* 167:512-515 2002
12. Taplin M: Prognostic significance of plasma chromogranin A levels in patients with hormone-refractory prostate cancer treated in Cancer and Leukemia Group B 9480 Study. *Urology* 66 (2), 2005
13. Ferrero-Poüs M et al: Serum Chromogranin A in advanced prostate cancer. *BJU* 88: 790-196, 2001
14. Halabi S, et al: Prognostic model for predicting survival in men with hormone-refractory metastatic prostate cancer. *J Clin Oncol* 21:1232-1237, 2003
15. Kantoff PW et al: Hydrocortisone with or without mitoxantrone in men with hormone-refractory prostate cancer: Results of the Cancer and Leukemia Group B 9182 Study. *Journal of Clinical Oncology* 17:2506-2513, 1999
16. Sciarra A. et al: Distribution of high chromogranin A serum levels in patients with nonmetastatic and metastatic prostate adenocarcinoma. *Urol Int* 82:147-151, 2009
17. Wu JT et al: Serum Chromogranin A: Early detection of hormonal resistance in prostate cancer patients. *Journal of Clinical Laboratory Analysis* 12:20-25, 1998

-
18. Sciarra A. et al: New perspective in the management of neuroendocrine differentiation in prostate adenocarcinoma. *Int J Clin Pract* 60:462-470,2006
 19. Komiya A. et al: Neuroendocrine differentiation in the progression of prostate cancer. *International Journal of Urology* 16:37-44, 2009
 20. Mohla S et al: The biology of hormone refractory breast and prostate cancer. *Cancer Biology and Therapy* 8:21 1-11, 2009
 21. Sasaki T. et al: Changes in chromogranin A serum levels during endocrine therapy in metastatic prostate cancer patients. *European Urology* 48:224-230, 2005