



UNIVERSITÀ DEGLI STUDI DI PALERMO

Dottorato di Ricerca in Medicina Molecolare e Clinica

Coordinatore: Prof. Antonino Tuttolomondo

**RENAL SALT WASTING: UNA SINDROME DA
INAPPROPRIATA SECREZIONE DI URODILATINA?
UNO STUDIO PILOTA**

Tesi di Dottorato del

Dr. Della Corte Vittoriano

Coordinatore:

Ch.mo Prof. Antonino Tuttolomondo

Tutor:

Ch.mo Prof. Antonino Tuttolomondo

XXXIV° Ciclo - Settore Disciplinare MED. 09

INDICE

CAPITOLO I: INTRODUZIONE E OBIETTIVI DELLO STUDIO

1.1 LO STATO DELL'ARTE	2
1.2 CONSIDERAZIONI SULLA VALUTAZIONE DEL ECV	3
1.3 CONSIDERAZIONI SULLA PATOGENESI	4
1.4 L'URODILATINA	7
1.5 OBIETTIVI DELLO STUDIO	10

CAPITOLO II: MATERIALI E METODI

2.1 POPOLAZIONE STUDIATA	11
2.2 ANALISI BIOCHIMICA	12
2.3 ANALISI STATISTICA	13

CAPITOLO III: RISULTATI E DISCUSSIONE

3.1 RISULTATI	14
3.2 DISCUSSIONE	16

FIGURE E TABELLE	21
-------------------------------	-----------

BIBLIOGRAFIA	26
---------------------------	-----------

INTRODUZIONE E OBIETTIVI DELLO STUDIO

LO STATO DELL'ARTE

La Renal Salt Wasting Syndrome (RSW) è una sindrome clinica con caratteristiche laboratoristiche del tutto sovrapponibili con la sindrome da inappropriata secrezione di ADH (SIADH) quali iponatriemia, funzione surrenale, tiroidea e renale nella norma, urine concentrate con un sodio urinario (U_{Na}) di solito > 30 mEq/l, elevata frazione escreta dell'urato (FE_{urate}) e ipouricemia [1]. La fondamentale differenza tra le due sindromi sta nel volume extracellulare (ECV) e quindi nel bilancio idrico. Nella RSW infatti avremo una riduzione del ECV a causa di un bilancio idrico negativo, mentre nella SIADH avremo un ECV normale o lievemente aumentato con un bilancio sostanzialmente in equilibrio[1]. Ed è proprio la difficoltà che si può avere nella pratica clinica a differenziare le condizioni del ECV che rende ardua la diagnosi differenziale tra le due sindromi. Inoltre, a differenza della SIADH in cui è stato identificato un preciso meccanismo fisiopatologico responsabile della sindrome e il protagonista di tale meccanismo (l'ADH appunto) [2], questo non è ancora avvenuto per la RSW, contribuendo non solo a rendere difficoltosa la diagnosi ma anche ad alimentare un certo scetticismo verso l'esistenza stessa della sindrome da parte di numerosi autori[3,4].

CONSIDERAZIONI SULLA VALUTAZIONE DEL ECV

Per quanto riguarda la distinzione tra RSW e SIADH, il gold standard per la determinazione del volume extracellulare è rappresentato dalle metodiche di diluizione con radioisotopi (ad es. tecniche che utilizzano emazie marcate con radiocromato o albumina marcata con radioiodio) in quanto risultano tecniche affidabili e altamente riproducibili [5,6,7,8]. Tuttavia tali metodiche risultano scarsamente utili nella pratica clinica in quanto non danno risultati immediati, sono piuttosto complesse da eseguire ed hanno un costo elevato. Di recente è stato proposto un metodo alternativo per la distinzione tra RSW e SIADH rappresentato dal dosaggio della frazione escreta dell'urato (Fractional Excretion urate, FEurate)[9]. Maesaka et al. hanno osservato che sia nella SIADH che nella RSW troveremo un alto FEurate (> 11%). Con la correzione della natriemia, il FEurate tenderà a normalizzarsi nella SIADH (4% - 11%) mentre rimarrà > 11% nella RSW. Un FEurate iniziale <4% sarà invece indicativo di deplezione di volume, mentre un normale FEurate iniziale (4% - 11%) porterà a pensare a un Reset Osmostat o a una polidipsia psicogena[9].

CONSIDERAZIONI SULLA PATOGENESI

Come abbiamo già detto, a differenza della SIADH in cui è stato individuato un preciso meccanismo fisiopatologico, così non è per la RSW. Riuscire a chiarire la patogenesi della RSW è uno dei principali traguardi da conquistare poiché potrebbe aiutare ad affermare questa sindrome tra le principali cause di iponatriemia (come già diverse evidenze ci indicano), eliminare gli scetticismi che tuttora sono presenti nei suoi confronti e facilitare la diagnosi. In via preliminare ricordiamo che la RSW è stata all'inizio descritta in letteratura da Peters et al. nel 1950 in un lavoro che descriveva tre pazienti con malattie neurologiche e iponatriemia per cui veniva coniato il termine di "Cerebral Salt Wasting syndrome" (CSW) [34]. In effetti, la maggior parte dei casi clinici riguarda pazienti con patologie intracraniche (come trauma cranico, tumore cerebrale, chirurgia intracranica, ictus, emorragia cerebrale) e fra le più studiate troviamo l'emorragia subaracnoidea (subarachnoid hemorrhage, SAH) [35]. Ultimamente, tuttavia, questa sindrome è stata descritta anche in pazienti senza patologie intracraniche, come ad es. pazienti con trauma cranico minore in assenza di emorragia intracranica, frattura cranica o contusione cerebrale e in pazienti senza disturbi intracranici con frattura dell'anca, carcinoma broncogenico, malattia di Hodgkin non complicata, carcinoma pancreatico metastatico e polmonite [36,37,38]. Per questo motivo la letteratura ha ribattezzato la CSW con il nome di Renal Salt Wasting (RSW) syndrome[38]. Per quanto riguarda i meccanismi fisiopatologici finora chiamati a spiegare la RSW, possiamo ricordare un'alterazione delle afferenze simpatiche renali e il coinvolgimento dei peptidi natriuretici (NP)[10]. Le evidenze disponibili suggeriscono che

l'aumento dell'attività dei nervi simpatici renali provoca una contrazione delle cellule muscolari lisce vascolari dei vasi arteriosi di resistenza, principalmente le arteriole afferenti ed efferenti e, in misura minore, le arterie interlobulari, che poi porta ad una diminuzione del flusso sanguigno renale[11]. Sebbene nelle malattie intracraniche come l'emorragia subaracnoidea (SAH), si verifichi iperattività del sistema nervoso simpatico, è stato suggerito che una lesione cerebrale acuta possa in definitiva portare a un'interruzione delle efferenze simpatiche[12]. La diminuzione dell'attività simpatica renale causerebbe un aumento del flusso sanguigno renale e della filtrazione glomerulare, diminuzione del rilascio di renina con diminuzione del riassorbimento tubulare renale di sodio[13]. Tuttavia, come accettato ormai dalla letteratura, l'RSW può verificarsi anche in soggetti senza patologie intracraniche[14], ed è probabile che un ruolo importante sia svolto dai NP. I NP costituiscono una famiglia di peptidi con una struttura ciclica che possiedono proprietà diuretiche e natriuretiche, nonché altre importanti proprietà tra cui quelle vasoattive e quelle relative al metabolismo di diversi organi[15]. Inizialmente sono stati scoperti e descritti il peptide natriuretico atriale (atrial natriuretic peptide, ANP), il peptide natriuretico cerebrale (brain natriuretic peptide, BNP) e il peptide natriuretico di tipo C (C-type natriuretic peptide, CNP), tuttavia la famiglia si è gradualmente espansa con la scoperta di altri membri come il peptide natriuretico Dendroaspis (DNP), guanilina, uroguanilina e urodilatina[15-18]. Quindi il quadro è diventato più complicato tanto che oggi si parla di "puzzle dei peptidi natriuretici". ANP, BNP e DNP sono peptidi con azione principalmente endocrina con potenti azioni diuretiche e natriuretiche[15,16]. Diversi studi hanno

tentato di valutare la relazione tra questi peptidi natriuretici e RSW, tuttavia i risultati sono stati controversi perché i livelli di questi peptidi non sono sempre elevati nella RSW e inoltre l'aumento di questi peptidi non sempre è correlato al livello di sodiemia[10,19-22]. Tuttavia, alcuni studi hanno dimostrato che questi peptidi come l'ANP potrebbero non essere gli attori principali nella regolazione della manipolazione renale del sodio[17]. Le prime indicazioni che l'ANP potrebbe non essere il regolatore fisiologico dell'escrezione di Na⁺ provengono da uno studio in cui la pressione atriale sinistra veniva elevata in due gruppi di cani, uno normale e l'altro con cuore denervato. L'elevata pressione atriale aumentava l'ANP circolante in quantità simili in ciascun gruppo di cani, tuttavia, solo i cani normali sviluppavano un aumento della diuresi e natriuresi durante questi esperimenti[23] indicando che la risposta renale indotta dalla distensione atriale richiedeva nervi cardiaci intatti e non il solo rilascio di ANP. Uno studio che ha valutato il ritmo circadiano dell'ANP nel plasma ha dimostrato che non vi era alcuna relazione tra la sodiemia e livelli ANP circolanti[24].

L'URODILATINA

L'urodilatina è un peptide natriuretico isolato dall'urina umana e appartiene alla famiglia dei peptidi natriuretici di tipo A. L'urodilatina viene elaborata in modo differente in un peptide di 32 aminoacidi dallo stesso precursore dell'ANP (Figura 1). È sintetizzato nelle cellule tubulari renali e secreto a livello luminale. Dopo la secrezione dalle cellule epiteliali dei tubuli distali, l'urodilatina interagisce a valle nei segmenti distali del nefrone con recettori localizzati nel lume per cui regola il riassorbimento di sodio e acqua. Pertanto, la funzione fisiologica del sistema renale dell'urodilatina è quella di regolatore intrarenale paracrino dell'omeostasi di sodio e acqua, considerando l'urodilatina come un vero e proprio peptide regolatore natriuretico-diuretico. Tuttavia, la regolazione da cui dipende la secrezione di Urodilatina non è ancora chiara.

Dopo l'isolamento del peptide natriuretico urodilatina dall'urina umana, sempre più dati sono stati generati sostenendo l'opinione che in realtà non l'ANP ma l'urodilatina sembra essere il peptide natriuretico responsabile nella manipolazione renale di sodio. Drummer e collaboratori hanno trovato interessante che non l'ANP nel plasma, ma l'urodilatina nelle urine correlava strettamente alle risposte natriuretiche osservate in seguito all'infusione salina acuta. Lo stesso gruppo ha dimostrato che la natriuresi a seguito dell'ingestione di pasti con diverse concentrazioni di sale era accompagnata da un aumento dell'escrezione di urodilatina piuttosto che dall'aumento dell'ANP circolante[25]. Inoltre è stata osservata una correlazione negativa tra ANP plasmatico e escrezione renale di sodio durante la distensione atriale sinistra nei cani con denervazione cardiaca[26]. In totale, questo

insieme di evidenze suggerisce che sia l'urodilatina, piuttosto che l'ANP, il membro della famiglia dei peptidi natriuretici che è principalmente coinvolto nella regolazione fisiologica della escrezione renale del sodio. Al contrario, a causa della rapida secrezione di ANP come risposta ad alcuni stimoli cardiovascolari e a causa di numerosi effetti sul sistema cardiovascolare, sembra ragionevole postulare che l'obiettivo primario dell'ANP sia il sistema cardiovascolare e non il rene. Poiché l'urodilatina è stata isolata dall'urina umana e non è stata trovata nel plasma[27], si suppone che il peptide sia sintetizzato, processato e secreto a livello del rene. Nel rene umano, l'analisi immunocitochimica ha dimostrato che l'urodilatina è presente nelle cellule tubulari distali[28]. questi dati suggeriscono che l'urodilatina è prodotta da cellule tubulari corticali distali ed è secreta nelle urine per indurre la natriuresi mediante interazione con il recettore dei peptidi natriuretici A (Natriuretic peptide receptor A, NPR-A), localizzato su cellule del tubulo a livello midollare[29].

Tuttavia, i meccanismi precisi che regolano la produzione e l'escrezione di urodilatina e il suo preciso ruolo fisiologico restano ancora da definire. I dati di Heringlake e colleghi hanno suggerito che l'escrezione di urodilatina può essere effettivamente influenzata dai cambiamenti della pressione di perfusione arteriosa e renale. Hanno trovato nel rene di ratto perfuso isolato che la pressione di perfusione renale e la pressione arteriosa sono determinanti dell'escrezione di urodilatina[30]. Inoltre, è stato riportato che l'allungamento atriale sinistro stimola l'escrezione di urodilatina[26]. In risposta all'infusione endovenosa di soluzione salina e alla distensione atriale sinistra, Goetz e colleghi hanno osservato nei cani coscienti che l'escrezione di sodio correlava

meglio con l'urodilatina nelle urine che con l'ANP nel sangue. È interessante notare che questo effetto è stato abolito nei cani denervati dal cuore suggerendo un asse neuronale tra cuore e rene. Inoltre, utilizzando la tecnica di infusione split, l'infusione di soluzione salina ipertonica nell'arteria carotide dei cani coscienti ha indotto un aumento di urodilatina e di escrezione di sodio suggerendo un legame neuronale tra i chemocettori cefalici del sodio e la secrezione di urodilatina nel rene[31]. Tuttavia, questi effetti sulla funzione renale erano anche rilevabili se i reni venivano denervati[32], suggerendo un ulteriore fattore umorale che trasmetteva l'aumento della concentrazione cerebrale di sodio ai reni. Inoltre, è stata discussa un'influenza neuronale che spiega un aumento dell'urodilatina e dell'escrezione di sodio dopo l'immersione in acqua negli uomini. Qui, il sistema nervoso simpatico renale o i nervi dopaminergici possono aver portato al rilascio di urodilatina[33]. Concludendo, sono stati discussi diversi meccanismi responsabili dell'attivazione del rilascio di urodilatina nel rene come la distensione atriale sinistra, la concentrazione di sodio cefalico, la pressione di perfusione ematica renale e fattori umorali o neuronali. Tuttavia, lo stimolo iniziale diretto o trasmesso attraverso i nervi o gli ormoni sembra essere la concentrazione extracellulare di sodio.

L'urodilatina è stata isolata intorno agli anni 80 e, dopo i primi studi che hanno cercato di comprenderne il ruolo fisiologico, lo studio di questa molecola è stato (in modo forse troppo precoce secondo noi) abbandonato, probabilmente in favore degli altri NP quali ANP e BNP che trovandosi nel plasma e avendo una funzione endocrina ed un ruolo importante nelle patologie cardiovascolari quali lo scompenso cardiaco, hanno trascinato l'attenzione della ricerca a discapito dell'urodilatina.

Tuttavia, le sindromi quali la RSW ci fanno sentire il bisogno di avere più dati riguardo l'urodilatina. Se è vero infatti che la RSW è una sindrome con perdita di liquidi e sodio a livello renale, in cui il rene sembra giocare un ruolo centrale (come abbiamo detto questa sindrome è stata rinominata da Cerebral salt wasting a Renal salt wasting proprio a indicare la centralità del rene) ci sembra paradossale andare a ricercare i possibili responsabili di questa sindrome solo tra ANP e BNP o addirittura andare a ricercare nuovi peptidi natriuretici [39] senza prima indagare ed eventualmente approfondire quale possa essere il ruolo di una molecola così importante e già conosciuta (anche se forse ancora in modo limitato) come l'urodilatina, prodotta proprio dal rene, con un ruolo nella modulazione della sodiemia ancora più importante degli altri NP come l'ANP.

OBIETTIVI DELLO STUDIO

Per tutte le motivazioni soprariportate, abbiamo condotto il presente studio con i seguenti obiettivi principali:

- valutare le differenze dei valori di urodilatina urinaria nei pazienti con RSW rispetto ai soggetti con iponatriemia da altre cause
- valutare le differenze dei valori di urodilatina urinaria nei pazienti con RSW rispetto ai soggetti senza iponatriemia

MATERIALI E METODI

POPOLAZIONE STUDIATA

Abbiamo eseguito uno studio retrospettivo osservazionale presso l'Azienda Ospedaliera Universitaria Policlinico "P.Giaccone" di Palermo.

I pazienti reclutati dal reparto di medicina interna con stroke care di questo ospedale, sono stati suddivisi in 3 gruppi: un gruppo di pazienti senza iponatriemia e due gruppi di pazienti con iponatriemia di cui uno costituito dai pazienti con RSW e l'altro costituito da pazienti con iponatriemia da altre cause. La diagnosi di RSW è stata effettuata utilizzando i criteri nella Tabella 1. In particolare, per differenziare la RSW dalla SIADH sono stati inseriti nel gruppo RSW soltanto i pazienti con una poliuria (definita come l'emissione di urine > 30 ml/kg/die[41]) non spiegabile con le comuni cause (insufficienza renale, diuresi osmotica, diabete insipido centrale, diabete insipido nefrogeno, polidipsia... vedi tabella 2), in associazione ad un bilancio idrico nettamente negativo ($\text{output} - \text{input} > 500$ ml/die). Essendo il problema diagnostico principale quello della diagnosi differenziale con la SIADH, selezionare questo tipo di pazienti ci ha consentito di escludere con ragionevole accuratezza i pazienti con SIADH, i quali non possono avere per definizione (vista la funzione intrinseca dell'ADH che è appunto un ormone antidiuretico) una poliuria che non sia spiegabile con le comuni cause sopraelencate. A tal proposito si fa presente che non è stato possibile utilizzare il FEurate per la diagnosi differenziale per motivazioni riportate nella discussione.

ANALISI BIOCHIMICA

Sono stati dosati i comuni parametri biochimici di routine in ogni paziente al momento dell'ospedalizzazione dopo aver raccolto i campioni. L'urodilatina è stata dosata su campioni di urina raccolti alle 6:00 e alle 14:00 il giorno del ricovero e conservati a -80°C fino all'analisi. Il pro-ANP è stato dosato su plasma ottenuto per centrifugazione del campione di sangue intero raccolto in provette K3-EDTA al momento del ricovero e conservato a -80°C fino all'analisi.

I parametri biochimici sierici e urinari, tra cui alanina aminotransferasi (ALT), aspartato aminotransferasi (AST), bilirubina totale, creatinina sierica (sCR), acido urico, glucosio, TSH, albumina, cortisolo, sodio e potassio, sono stati misurati su Cobas® 8000's (Roche, Basilea, Svizzera), secondo le procedure indicate dal produttore. La velocità di filtrazione glomerulare (GFR) è stata calcolata utilizzando l'equazione CKD-EPI indicando la razza, il sesso e l'sCR specificati in mg/dL[44].

I livelli di urodilatina e pro-ANP sono stati misurati mediante kit di test di immunoassorbimento enzimatico (ELISA) disponibili in commercio, secondo le istruzioni del produttore (rispettivamente BMA Biomedicals, Svizzera e Biomedica Medizinprodukte GmbH).

I test ematologici, incluso l'ematocrito, sono stati eseguiti sull'analizzatore ematologico Sysmex XN-9000 (Sysmex Corporation, Kobe, Giappone).

Tutte le analisi biochimiche di routine sono state eseguite presso il Dipartimento di Medicina di Laboratorio - Ospedale Universitario "P. Giaccone" di Palermo, e la misurazione dell'urodilatina e del pro-ANP è stata eseguita presso l'Istituto di Biochimica Clinica, Medicina

Molecolare Clinica e Medicina Clinica di Laboratorio - Ospedale Universitario "P. Giaccone" di Palermo.

ANALISI STATISTICA

Le analisi statistiche sono state eseguite dal software statistico SPSS v.17.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) e R Language v.4.0.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria). La distribuzione della normalità è stata valutata preliminarmente mediante qq plot e test di Shapiro-Wilk. Le variabili quantitative sono state espresse dall'intervallo mediano e interquartile (IQR), mentre le variabili qualitative dalla frequenza assoluta o relativa. Le differenze tra i gruppi per le variabili continue sono state stimate mediante il test di Kruskal-Wallis (> 2 gruppi) o di Mann-Whitney (2 gruppi) con la correzione di Bonferroni quando necessario. Le differenze tra i gruppi appaiati sono state studiate mediante il test dei ranghi firmati di Wilcoxon non parametrico. La correlazione è stata valutata mediante il test di Spearman non parametrico. L'accuratezza diagnostica per la diagnosi RSW è stata valutata mediante l'analisi della curva ROC (Receiver Operating Characteristic) e riportata come Area Under the Curve (AUC) e intervallo di confidenza al 95% calcolato con il metodo DeLong. Il miglior cut-off è stato valutato dall'indice di Youden.

RISULTATI E DISCUSSIONE

RISULTATI

Sono stati studiati trentanove soggetti. Sono stati suddivisi in sottogruppi, in base alla diagnosi clinica o ai livelli di sodiemia, in pazienti con RSW (n=6), pazienti con iponatriemia (n=17) e pazienti senza iponatriemia (n=16). Le caratteristiche demografiche, cliniche e biochimiche della popolazione in studio sono riportate nella Tabella 3. Sono stati reclutati in totale 23 pazienti con iponatriemia. Di questi, 6 pazienti rientravano nei criteri diagnostici della RSW, 2 avevano una SIADH, 4 una iponatriemia correlata ad insuff. Renale (GFR < 45ml/min), 1 caso di ipotiroidismo, 8 casi di iponatriemia correlata a farmaci (uso di diuretici prevalentemente), 2 casi di ipocorticosurrenalismo.

Poiché i livelli di urodilatina misurati alle 6 del mattino non erano significativamente diversi da quelli misurati alle 14:00 ($p=0,05$), i livelli medi di urodilatina (media dei livelli alle 6:00 e alle 14:00) sono stati utilizzati per tutte le altre analisi successive. È interessante notare che i livelli medi di urodilatina erano significativamente diversi tra i 3 sottogruppi (test KW complessivo $p = 0,003$) (Figura 2). Inoltre, tenendo conto della correzione di Bonferroni, i pazienti con RSW mostrano livelli medi di urodilatina significativamente più elevati rispetto a entrambi i pazienti con (mediana 5,46 vs 0,57 ng/mL, $p=0,006$) o senza iponatriemia (mediana 5,46 vs 0,27 ng/mL, $p<0,001$) (Figura 2). Livelli medi più elevati statisticamente significativi di urodilatina sono stati osservati anche quando i pazienti con RSW sono stati confrontati con gli altri due gruppi di pazienti considerati insieme (5,46 vs 0,32 ng/mL, test MW $p<0,001$).

Al contrario, i livelli di proANP non erano statisticamente differenti tra i 3 sottogruppi (test KS complessivo $p=0,266$) o tra pazienti con RSW e pazienti con/senza iponatriemia (4,9 vs 9,7 nM, test MW $p=0,122$).

Nell'intero campione indagato, non è stata rilevata alcuna associazione tra proANP e livelli medi di urodilatina (ρ di Spearman= $0,059$, $p=0,739$). Tuttavia, alcune correlazioni sono risultate statisticamente significative quando l'analisi è stata eseguita all'interno di sottogruppi. In particolare, nei pazienti con RSW la proANP era altamente inversamente correlata alla produzione di urina nelle 24 ore ($\rho=-0,975$, $p=0,005$).

Il potere diagnostico dei livelli medi di urodilatina per la diagnosi di RSW è stato valutato mediante la curva ROC (Figura 3). L'area sotto la curva (AUC) era 0,94 (IC 95% 0,86-1,00). Il miglior cut-off per i livelli medi di urodilatina, secondo l'indice di Youden, era di 2,87 ng/mL. A questo cut-off sensibilità, specificità, valore predittivo positivo e valore predittivo negativo erano, rispettivamente, 1,00, 0,88, 0,60 e 1,00.

DISCUSSIONE

Questo è il primo studio in letteratura in cui sono stati dosati i livelli di urodilatina urinaria in pazienti con RSW.

In via preliminare possiamo notare come questo studio conferma il dato già emerso dalla letteratura che sostiene come la RSW sia una causa di iponatriemia anche più comune della SIADH [40] (abbiamo reclutato 23 pazienti con iponatriemia, di cui 6 pazienti rientravano nei criteri diagnostici della RSW e 2 avevano una SIADH).

Abbiamo inoltre osservato come i pazienti con RSW mostrano livelli medi di urodilatina significativamente più elevati rispetto a entrambi i pazienti con (mediana 5,46 vs 0,57 ng/mL, $p=0,006$) o senza iponatriemia (mediana 5,46 vs 0,27 ng/mL, $p<0,001$) (Figura 2). Livelli medi più elevati statisticamente significativi di urodilatina sono stati osservati anche quando i pazienti con RSW sono stati confrontati con gli altri due gruppi di pazienti considerati insieme (5,46 vs 0,32 ng/mL, test MW $p<0,001$). Abbiamo visto come l'urodilatina sia una molecola fondamentale nella regolazione dei livelli di sodiemia, tuttavia i dati appena citati dimostrano come l'urodilatina urinaria sia significativamente aumentata nel gruppo di pazienti con RSW non solo in confronto ai pazienti senza iponatriemia ma anche rispetto ai pazienti con iponatriemia da altre cause. Questo suggerisce un ruolo importante dell'urodilatina nella patogenesi della RSW, entrando in gioco invece diversi altri meccanismi nella genesi dell'iponatriemia da cause diverse dalla RSW.

La presenza di livelli di urodilatina nettamente più elevati nel gruppo con RSW rispetto agli altri gruppi potrebbe indicare un ruolo importante di questa molecola nella fisiopatologia di questa ancora controversa

sindrome (in particolare riguardo a processi patogenetici che ne stanno alla base).

Il ruolo centrale dell'urodilatina nella RSW è suggerito anche dal fatto che non sono state riscontrate differenze statisticamente significative nei livelli di proANP nei tre gruppi (overall KS test $p=0.266$), o tra i pazienti con RSW e i controlli con o senza iponatriemia (4.9 vs 9.7 nM, MW test $p=0.122$). Quindi, così come altri studi in letteratura hanno evidenziato, i peptidi natriuretici circolanti come l'ANP non sembrano avere un ruolo in tale sindrome. Un altro dato a supporto di questa tesi è stato evidenziato in questo studio in cui, nel gruppo dei pazienti con RSW, i livelli di proANP sono inversamente correlati all'output urinario delle 24 ore ($\rho=-0.975$, $p=0.005$), a dimostrazione del fatto che il principale responsabile della diuresi massiva in questi pazienti è proprio l'urodilatina, mentre i livelli di ANP circolante sono invece ridotti per un probabile meccanismo di feedback negativo messo in atto per cercare di contenere la perdita renale di acqua e sodio in questi pazienti. In effetti non è la prima volta che si sente parlare di meccanismi compensatori in corso di sindromi quali RSW o SIADH. Il mantenimento della stabilità emodinamica è certamente una priorità per il nostro organismo rispetto al mantenimento dei livelli di sodiemia, infatti nell'ambito della RSW è stata descritta una "appropriata" secrezione di ADH che va a compensare le perdite renali di liquidi, come anche nella SIADH è stato descritto un meccanismo di compensazione in cui la pitressina determina una downregulation dei recettori V2 sul tubulo distale del nefrone andando ad equilibrare nuovamente il bilancio idrico.

Potremmo ritenere che, al pari della SIADH, anche nella RSW ci sia una inappropriata secrezione di una molecola natriuretica, e che questa sia proprio l'urodilatina. Che sia proprio l'urodilatina la molecola chiave per spiegare tale sindrome?. Chiaramente si tratta di uno studio pilota che necessita di ulteriori conferme future, ma il titolo di questo articolo volutamente provocatorio ha proprio l'obiettivo di richiamare l'attenzione della letteratura sull'urodilatina, augurandoci che ulteriori studi vengano a spiegare i numerosi interrogativi che ancora non trovano una risposta. Poco si sa ancora infatti su quali siano gli stimoli che portino alla secrezione dell'urodilatina da parte del rene, alcuni studi indicano che i livelli di sodio ematico siano il principale stimolo, ma su come la natriemia possa stimolare o meno la secrezione di urodilatina non è ancora chiaro. Potrebbe quindi esserci una ulteriore molecola a con proprietà endocrine che vada a stimolare la secrezione della urodilatina, o magari un ulteriore importante ruolo potrebbe essere giocato dalle afferenze simpatiche renali. Bisogna considerare inoltre che, avendo inserito nel gruppo di casi con RSW soltanto pazienti con poliuria non spiegabile con i comuni metodi, è possibile che abbiamo selezionato soltanto una sottopopolazione di pazienti con RSW in fase "iperacuta". Sappiamo infatti che la RSW può essere una sindrome insidiosa, dall'andamento oscillante e con effetti sulla natriemia e sulla diuresi non sempre così spiccati[14,42]. Sono stati ad esempio descritti di recente anche casi di RSW in assenza di iponatriemia[42]. Pertanto è da chiarire se la secrezione di urodilatina rimanga significativamente elevata anche nei pazienti con una RSW "moderata", o se sia invece una caratteristica dei pazienti con RSW in fase "acuta". Ulteriori studi ci aiuteranno sicuramente a dirimere anche

questo interrogativo. Questa importante differenza nei livelli di urodilatina urinaria potrebbe essere molto utile in ambito diagnostico. L'analisi delle curve ROC (figura 3) ha infatti mostrato un'area sotto la curva (AUC) di 0.94 (95%CI 0.86-1.00), con il migliore cut-off come valore di urodilatina di 2.87 ng/mL. A Questo valore corrisponde una sensibilità di 1.00, specificità di 0.88, valore predittivo positivo di 0.60 e negativo di 1.00. Questi dati suggeriscono un forte potere diagnostico dell'urodilatina che, se confermato da ulteriori studi, potrà essere di grande ausilio nella pratica clinica considerando le difficoltà che ad oggi esistono nel fare diagnosi di RSW e che non abbiamo ancora a disposizione un marcatore biologico per la diagnosi di tale sindrome.

Inoltre bisogna considerare le criticità di questo studio, anzitutto il numero ridotto di pazienti con RSW reclutati. Questo è stato dovuto sia all'utilizzo di criteri molto stringenti per la diagnosi di RSW, sia alla attuale pandemia che non ci ha permesso di ampliare il reclutamento coinvolgendo altri reparti ospedalieri. Purtroppo, come già detto, non è stato possibile utilizzare il FEurate per la diagnosi di RSW. Infatti, la necessità calcolare il FEurate dopo correzione dei valori di natriemia può scontrarsi con le difficoltà della gestione clinica di pazienti acuti. Può essere difficile riportare in tempi utili la natriemia nel range di normalità, e potrebbe essere necessario per vari motivi introdurre in terapia farmaci che potrebbero interferire l'escrezione dell'urato e quindi con il calcolo del FEurato. Proprio a causa di queste problematiche pratiche, considerando anche che tutti i soggetti arruolati sono stati reclutati dal reparto di medicina interna del policlinico di palermo dove si trovavano a causa di patologia acuta, nel nostro studio abbiamo preferito limitarci a dosare il FEurato solo al

tempo 0, rinunciando ad effettuare il secondo dosaggio. Ci auguriamo di continuare ad ampliare il nostro database e di poter riportare ulteriori risultati in futuro.

Il kit utilizzato non distingue l'urodilatina dall'ANP, e questo potrebbe porre dei dubbi sulla specificità del dosaggio dell'urodilatina urinaria che potrebbe essere alterata dalla presenza di ANP nelle urine. Tuttavia è da considerare che l'ANP viene rapidamente degradato a livello del tubulo renale al contrario dell'urodilatina che invece risulta resistente a tale degradazione, e che l'utilizzo di kit specifici in passato ha dimostrato che la quasi totalità dei peptidi natriuretici dosabili nelle urine è appresentato proprio dall'urodilatina (eventuali differenze sono attribuibili alle procedure di estrazione e purificazione) [43]. Inoltre, l'analisi statistica non ha evidenziato nessuna correlazione tra i livelli circolanti di proANP e i livelli di urodilatina urinaria in tutta la popolazione studiata (Speaman's $\rho=0.059$, $p=0.739$).

Considerando che il kit ELISA utilizzato in questo studio per il dosaggio dell'urodilatina era complesso da utilizzare, sarebbe desiderabile sviluppare kit più facili da usare per facilitare il dosaggio di questa molecola.

In conclusione, questo studio pilota ha mostrato interessanti risultati riguardanti il dosaggio dell'urodilatina urinaria nei pazienti con RSW, con risvolti potenzialmente chiarificatori e di pratica utilità sia riguardo la patogenesi di questa sindrome che riguardo ai suoi criteri diagnostici e dunque sulla gestione clinica dei pazienti. Ci auguriamo che ulteriori studi futuri possano continuare a far luce su questo interessante argomento.

FIGURE E TABELLE

Figura 1. Sintesi dell'urodilatina.

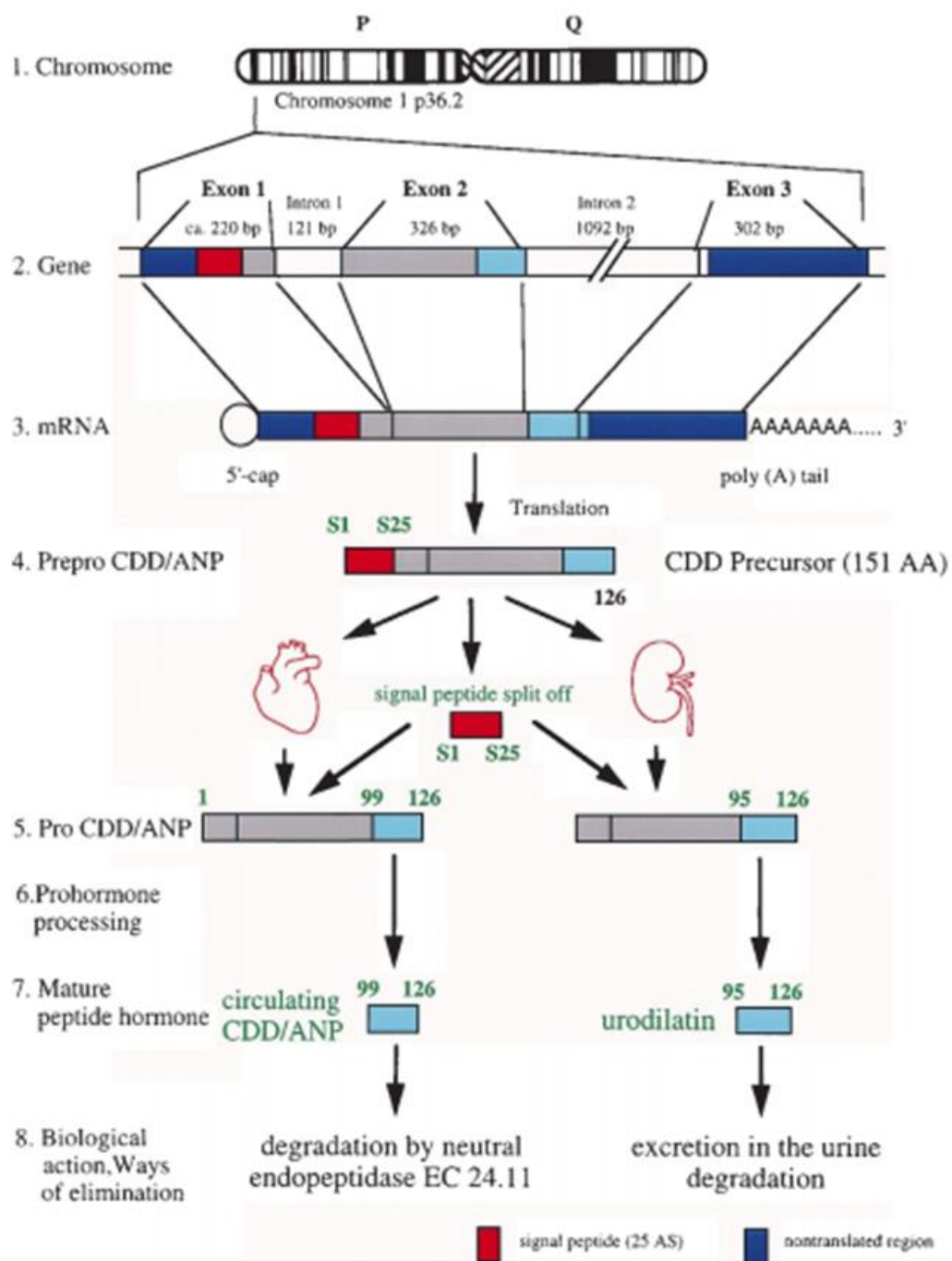


Figura 2. Boxplot dei livelli medi di urodilatina tra i sottogruppi studiati. I valori anomali sono rappresentati da punti

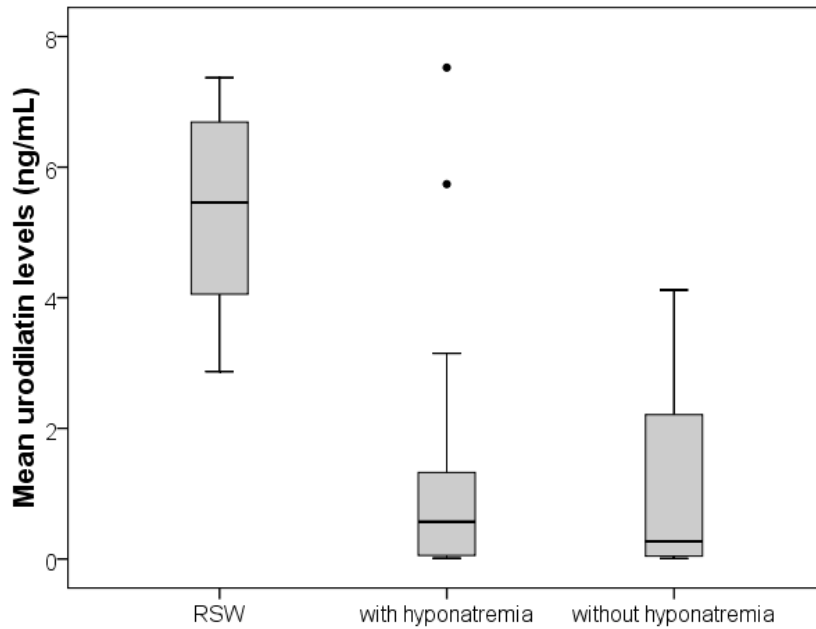


Figura 3. Curva ROC per i livelli medi di urodilatina per predire RSW

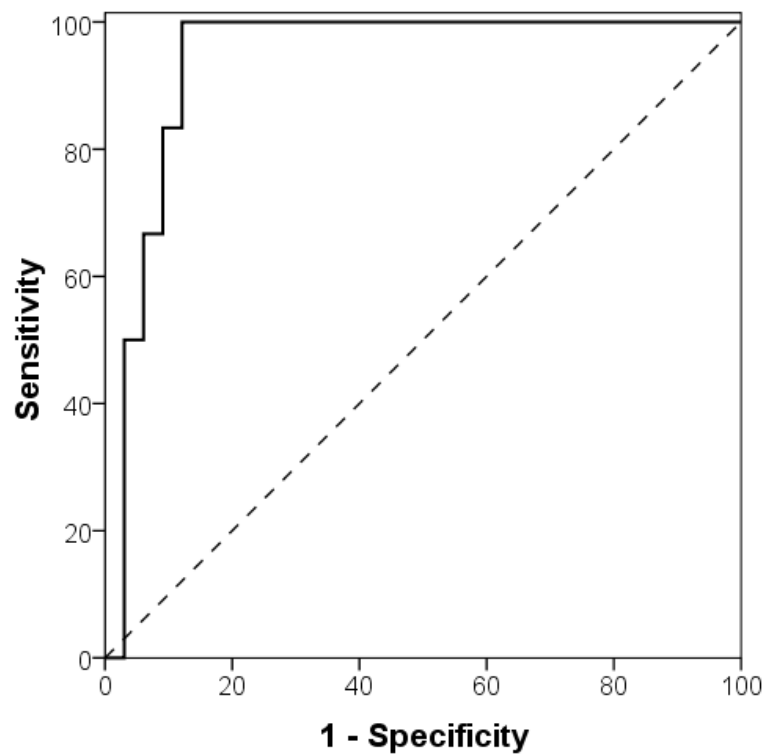


Tabella 1. Criteri diagnostici della RSW

CRITERI DIAGNOSTICI DELLA RSW
<ul style="list-style-type: none">- Iponatriemia: sodiemia < 135 mEq/l- Ipo-osmolarità plasmatica (< 270 mOsm/l)- Una elevato: > 40 mEq/l- Esclusione di altre cause di perdita renale di sodio (diuretici, danno tubulare acuto, insufficienza renale, ecc.)- Riduzione del ECV- Bilancio idrico negativo- Poliuria (emissione di urine > 30 ml/kg/die) in assenza di altre cause (vedi tabella 2)- FEurate elevato (> 11%)

Tabella 2. Cause di poliuria

CAUSE DI POLIURIA	
Diuresi acqua [†]	
Diabete insipido centrale (parziale o completo)	
- Ereditario	
- Acquisito (a seguito di lesioni, tumori o altre lesioni)	
Diabete insipido nefrogeno	
- Amiloidosi	
- Farmaci (litio, cidofovir, foscarnet)	
- Ipercalcemia (dovuta a cancro, iperparatiroidismo, o malattia granulomatosa)	
- Patologie ereditarie	
- Ipokaliemia	
- Uropatia ostruttiva	
- Drepanocitosi	
- <u>Sindrome di Sjögren</u>	
Polidipsia	
- Primaria (lesioni ipotalamiche nel centro della sete)	
- Psicogena	
Eccessiva somministrazione di liquido ipotonico EV	
Uso di diuretici	
Diabete insipido adipico (una malattia ipotalamica caratterizzata da una perdita di sete in risposta a ipernatriemia accompagnato da diabete insipido)	
Diabete insipido gestazionale (derivante da un aumento del metabolismo dell'ormone antidiuretico)	
Diuresi di soluti [†]	
Diabete mellito non controllato	
Infusioni saline isotoniche o ipertoniche	
Alimentazione enterale iperproteica	
Risoluzione dell'ostruzione delle vie urinarie	
<p><i>* La maggior parte dei pazienti deve essere sottoposta a misurazione dell'osmolarità di urina e plasma e della natriemia.</i></p> <p><i>† L'osmolarità urinaria è di solito < 300 mOsm/kg (300 mmol/kg) nella diuresi dell'acqua e > 300 mOsm/kg (300 mmol/kg) nella diuresi di soluti.</i></p> <p><i>ADH = ormone antidiuretico.</i></p>	

Tabella 3. Caratteristiche dei sottogruppi oggetto di indagine. Le variabili qualitative sono espresse dalle frequenze, mentre le variabili continue sono riassunte dall'intervallo mediano e interquartile.

	Patients with RSW (n=6)	Patients with hyponatremia (n=17)	Patients without hypoNa (n=16)	P-value
Demographic				
Sex, M	83%	77%	56%	
Age, years	68 (62-88)	70 (60-77)	72 (64-84)	0.413
Clinical				
Height, cm	170 (168-175)	170 (165-175)	165 (150-170)	0.543
Weight, kg	70 (70-100)	75 (70-82)	78 (64-90)	0.083
BMI, kg/m ²	29.4 (22.9-35.8)	27.7 (22.9-30.1)	28.3 (25.4-31.1)	0.956
PAS, mmHg	120 (110-130)	130 (120-145)	120 (110-133)	0.717
PAD, mmHg	70 (70-85)	75 (70-85)	70 (60-73)	0.141
24h urine output, mL	3550 (2200-5475)	2400 (1250-4050)	2400 (1469-3950)	0.355
Hypertension	2/6	15/17	8/16	0.381
Diabetes	0/6	8/17	6/16	0.010
Ischemic heart disease	1/6	6/17	6/16	0.127
Heart failure	0/6	2/17	5/16	0.809
Cerebrovascular disease	2/6	2/17	0/16	0.274
COPD	0/6	2/17	4/16	0.077
Atrial fibrillation	1/6	1/17	4/16	0.506
Kidney failure	0/6	7/17	5/16	0.285
Chronic liver disease	1/6	1/17	1/16	0.211
Osteoporosis	0/6	1/17	1/16	0.539
Cancer disease	1/6	3/17	3/16	1.000
Diuretics	0/6	11/17	9/16	0.020
Hyponatremia	6/6	17/17	0/16	<0.001
Intracranial pathology	3/6	3/17	0/16	0.016
Biochemical				
ProANP, nM	4.9 (1.0-10.3)	9.8 (4.2-13.2)	9.7 (4.9-11.3)	0.266
Urodilatin at 6 a.m., ng/mL	7.04 (3.16-7.55)	0.15 (0.01-1.83)	0.09 (0.01-1.30)	0.007
Urodilatin at 2 p.m., ng/mL	5.37 (2.69-5.87)	0.77 (0.07-2.06)	0.37 (0.01-2.77)	0.140
Mean urodilatin, ng/mL	5.46 (3.76-6.86)	0.57 (0.05-1.60)	0.27 (0.03-2.27)	0.003
Ht	0.34 (0.25-0.40)	0.31 (0.25-0.35)	0.32 (0.29-0.35)	0.484
Uric acid (S), mg/dL	4.9 (3.8-5.7)	5.9 (4.3-8.3)	7.4 (6.1-9.2)	0.141
Creatinine (S), mg/dL	0.81 (0.67-1.16)	0.94 (0.66-2.69)	1.31 (0.84-1.83)	0.434
Uric acid (U)	32.0 (23.8-63.3)	16.0 (9.5-27.5)	15.0 (7.3-26.8)	0.037
Creatinine (U)	46.2 (30.4-60.5)	33.0 (22.3-57.9)	39.8 (24.3-60.6)	0.795
Na (S), mM	132 (128-134)	129 (124-133)	142 (139-144)	<0.001
Na (U), mM	101 (75-126)	81 (42-102)	101 (66-112)	0.218
Osmolality (S)	284 (280-301)	292 (264-327)	313 (297-319)	0.104
Osmolality (U)	316 (211-706)	262 (144-539)	395 (276-779)	0.276
Glucose (S), mg/dL	91 (88-98)	90 (76-130)	117 (88-145)	0.205
BUN (S), mg/dL	42 (19-77)	45 (21-145)	68 (31-97)	0.696
K (S), mM	4.15 (3.88-4.56)	4.40 (3.83-4.77)	3.74 (3.42-4.09)	0.037
GFR	91 (62-97)	79 (26-93)	46 (31-80)	0.150
Albumin (S), g/dL	33 (30-35)	33 (22-37)	34 (29-35)	0.993
AST, U/L	24 (9-28)	39 (15-85)	24 (18-32)	0.452
ALT, U/L	14 (6-22)	41 (10-72)	21 (9-28)	0.237
Total bilirubin	0.68 (0.41-1.20)	0.60 (0.40-2.12)	0.50 (0.30-0.98)	0.656
TSH	0.77 (0.60-1.73)	1.29 (0.70-2.17)	1.72 (1.31-3.31)	0.192
Cortisol	14.3 (2.3-17.2)	13.4 (8.6-18.9)	11.3 (8.0-18.2)	0.799

BMI, body mass index; Ht, hematocrit; BUN, Blood Urea Nitrogen; S, serum; U, urinary; GFR, Glomerular Filtration Rate; AST, aspartate aminotransferase; ALT, alanine aminotransferase; TSH, thyroid stimulating hormone; COPD, Chronic obstructive pulmonary disease

BIBLIOGRAFIA

1. Maesaka JK, Imbriano LJ, Miyawaki N. Evolution and evolving resolution of controversy over existence and prevalence of cerebral/renal salt wasting. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2020 Mar;29(2):213-220. doi: 10.1097/MNH.0000000000000592. PMID: 31904619.
2. Schwartz WB, Bennett W, Curelop S, Bartter FC. A syndrome of renal sodium loss and hyponatremia probably resulting from inappropriate secretion of antidiuretic hormone. *Am J Med* (1957) 23(4):529–42.
3. Maesaka JK, Gupta S, Fishbane S. Cerebral salt-wasting syndrome: does it exist? *Nephron* 1999; 82:100–9.
4. Oh MS, Carroll HJ. Cerebral salt-wasting syndrome. We need better proof of its existence. *Nephron* 1999; 82:110–4.
5. Recommended methods for measurement of red-cell and plasma volume: International Committee for Standardization in Haematology. *J Nucl Med*. 1980 Aug;21(8):793-800. PMID: 7400838.
6. Nelson, P.B.; Seif, S.M.; Maroon, J.C.; Robinson, A.G. Hyponatremia in intracranial disease: Perhaps not the syndrome of inappropriate secretion of antidiuretic hormone (SIADH). *J. Neurosurg*. 1981, 55, 938–941.
7. Wijdicks, E.F.; Vermeulen, M.; Haaf, J.A.; Hijdra, A.; Bakker, W.H.; van Gijn, J. Volume depletion and natriuresis in patients with a ruptured intracranial aneurysm. *Ann. Neurol*. 1985, 18, 211–216.
8. Sivakumar, V.; Rajshekhar, V.; Chandy, M.J. Management of neurosurgical patient with hyponatremia and natriuresis. *Neurosurgery* 1994, 43, 269–274.
9. Maesaka JK, Imbriano L, Mattana J, Gallagher D, Bade N, Sharif S. Differentiating SIADH from Cerebral/Renal Salt Wasting: Failure of the Volume Approach and Need for a New Approach to Hyponatremia. *J Clin Med*. 2014 Dec 8;3(4):1373-85. doi: 10.3390/jcm3041373. PMID: 26237607; PMCID: PMC4470189.
10. Cerdà-Esteve M, Cuadrado-Godia E, Chillaron JJ, Pont-Sunyer C, Cucurella G, Fernández M, Goday A, Cano-Pérez JF, Rodríguez-Campello A, Roquer J. Cerebral salt wasting syndrome: review. *Eur J Intern Med*. 2008 Jun;19(4):249-54. Epub 2008 Mar 7.

11. Ulla C. Kopp. *Neural Control of Renal Function*. San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2011.
12. Harrigan M. Cerebral salt wasting syndrome. *Crit Care Clin* 2001;17:125–37.
13. DiBona GF. Neural control of the kidney: functionally specific renal sympathetic nerve fibers. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2000 Nov;279(5):R1517–24.
14. Della Corte V, Tuttolomondo A, Pecoraro R, Pinto A. Chronic hyponatremia in a patient with renal salt wasting and without cerebral disease: relationship between RSW, risk of fractures and cognitive impairment. *Intern Emerg Med*. 2018 Dec;13(8):1167-1171. doi: 10.1007/s11739-018-1926-7. Epub 2018 Aug 13. PMID: 30105494.
15. Potter LR, Yoder AR, Flora DR, Antos LK, Dickey DM. Natriuretic peptides: their structures, receptors, physiologic functions and therapeutic applications. *Handb Exp Pharmacol*. 2009;(191):341-66.
16. Lisy O, Jougasaki M, Heublein DM, Schirger JA, Chen HH, Wennberg PW, Burnett JC. Renal actions of synthetic dendroaspis natriuretic peptide. *Kidney Int*. 1999 Aug;56(2):502-8.
17. Hirsch JR, Meyer M, Forssmann WG. ANP and urodilatin: who is who in the kidney. *Eur J Med Res*. 2006 Oct 27;11(10):447-54.
18. Forte LR Jr. Uroguanylin and guanylin peptides: pharmacology and experimental therapeutics. *Pharmacol Ther*. 2004 Nov;104(2):137-62.
19. Costa KN, Nakamura HM, Cruz LR, Miranda LS, Santos-Neto RC, Cosme Sde L, Casulari LA. Hyponatremia and brain injury: absence of alterations of serum brain natriuretic peptide and vasopressin. *Arq Neuropsiquiatr*. 2009 Dec; 67(4):1037-44.
20. Zhang W, Li S, Visocchi M, Wang X, Jiang J. Clinical analysis of hyponatremia in acute craniocerebral injury. *J Emerg Med*. 2010 Aug; 39(2):151-7.
21. Askar A, Tarif N. Cerebral salt wasting in a patient with head trauma: management with saline hydration and fludrocortisone. *Saudi J Kidney Dis Transpl*. 2007 Mar; 18(1):95-9.
22. Jan Leonard, Raymond E. Garrett, Kristin Salottolo, Denetta S. Slone, Charles W. Mains, Matthew M. Carrick, and David Bar. Cerebral salt wasting after traumatic brain injury: a review of the literature. *Scand J Trauma Resusc Emerg Med*. 2015; 23: 98.

23. Goetz KL, Wang BC, Geer PG, Leadley RJJr, Reinhardt HW. Atrial stretch increases sodium excretion independently of release of atrial peptides. *Am.J.Physiol.* 250: R946-R950, 1986.
24. Leppaluoto J, Ruskoaho H. Atrial natriuretic peptide, renin activity, aldosterone, urine volume and electrolytes during a 24-h sleep-wake cycle in man. *Acta Physiol. Scand.* 139(1):47-53, 1990.
25. Drummer C, Franck W, Heer M, Forssmann W-G, Gerzer R, Goetz K. Postprandial natriuresis in humans: further evidence that urodilatin, not ANP, modulates sodium excretion. *Am.J.Physiol.* 270:F301-F310, 1996.
26. Goetz K, Drummer C, Zhu JL, Leadley R, Fiedler F, Gerzer R. Evidence that urodilatin, rather than ANP, regulates renal sodium excretion. *J.Am.Soc.Nephrol.* 1:867- 874, 1990.
27. Drummer C, Fiedler F, Bub A, Kleefeld D, Dimitriades E, Gerzer R, Forssmann W-G. Development and application of a urodilatin (CDD/ANP-95-126)-specific radioimmunoassay. *Pflügers Arch.* 423:372-377, 1993.
28. Herten M, Lenz W, Gerzer R, Drummer C. The renal natriuretic peptide urodilatin is present in human kidney. *Nephrol.Dial.Transplant.* 13:2529-2535, 1998.
29. Endlich K, Forssmann W-G, Steinhausen M. Effects of urodilatin in the rat kidney: comparison with ANF and interaction with vasoactive substances. *Kidney Int.* 47: 1558-1568, 1995.
30. Heringlake M, Wagner K, Schumacher J, Pagel H. Urinary excretion of urodilatin is increased during pressure natriuresis in the isolated perfused rat kidney. *Am.J.Physiol. Renal Physiol.* 277:347-351, 1999.
31. Emmeluth C, Drummer C, Gerzer R, Bie P. Roles of cephalic Na⁺ concentration and urodilatin in control of renal Na⁺ excretion. *Am.J.Physiol.* 262:F513-F516, 1992.
32. Emmeluth C, Goetz KL, Drummer C, Gerzer R, Forssmann W-G, Bie P. Natriuresis caused by increased carotid Na⁺ concentration after renal denervation. *Am.J.Physiol.* 270:F510-F517, 1996.
33. Norsk P, Drummer C, Johansen LB, Gerzer R. Effect of water immersion on renal natriuretic peptide (urodilatin) excretion in humans. *J.Appl.Physiol.* 74:2881-2885, 1993.

34. Peters JP, Welt LG, Sims EA, Orloff J, Needham J (1950) A saltwasting syndrome associated with cerebral disease. *Trans Assoc Am Physicians* 63:57–64
35. Cerdà-Esteve M, Cuadrado-Godia E, Chillaron JJ, Pont-Sunyer C, Cucurella G, Fernández M, Goday A, Cano-Pérez JF, Rodríguez-Campello A, Roquer J. Cerebral salt wasting syndrome: review. *Eur J Intern Med.* 2008 Jun;19(4):249-54. doi: 10.1016/j.ejim.2007.06.019. Epub 2008 Mar 7. PMID: 18471672.
36. Fukuoka T, Tsurumi Y, Tsurumi . Cerebral Salt-Wasting Syndrome Caused by Minor Head Injury. *Case Rep Emerg Med.* 2017; 2017:8692017. Epub 2017 Jan 17.
37. Solomon Bitew, Louis Imbriano, Nobuyuki Miyawaki, Steven Fishbane, and John K. Maesaka. More on Renal Salt Wasting Without Cerebral Disease: Response to Saline Infusion. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2009 Feb; 4(2): 309–315.
38. JK Maesaka, N Miyawaki, T Palaia, S Fishbane and JHC Durham. Renal salt wasting without cerebral disease: Diagnostic value of urate determinations in hyponatremia. *Kidney Int.* 2007 Apr;71(8):822-6. Epub 2007 Feb 21.
39. Maesaka JK, Imbriano LJ, Pinkhasov A, Muralidharan R, Song X, Russo LM, Comper WD. Identification of a Novel Natriuretic Protein in Patients With Cerebral-Renal Salt Wasting-Implications for Enhanced Diagnosis. *Am J Med Sci.* 2021 Feb;361(2):261-268. doi: 10.1016/j.amjms.2020.07.015. Epub 2020 Jul 13. PMID: 33526214.
40. Maesaka JK, Imbriano LJ, Miyawaki N. High Prevalence of Renal Salt Wasting Without Cerebral Disease as Cause of Hyponatremia in General Medical Wards. *Am J Med Sci.* 2018 Jul;356(1):15-22. doi: 10.1016/j.amjms.2018.03.020. Epub 2018 Apr 7. PMID: 30049325.
41. Borgmann H. (2014) Polyuria. In: Merseburger A., Kuczyk M., Moul J. (eds) *Urology at a Glance.* Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-642-54859-8_5.
42. Maesaka JK, Imbriano LJ, Miyawaki N. Evolution and evolving resolution of controversy over existence and prevalence of cerebral/renal salt wasting. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2020 Mar;29(2):213-220. doi: 10.1097/MNH.0000000000000592. PMID: 31904619.

43. Abassi, Z.A., Golomb, E., Klein, H. and Keiser, H.R. (1992), Urodilatin: A Natriuretic Peptide of Renal Origin. *Cardiovascular Drug Reviews*, 10: 199-210. <https://doi.org/10.1111/j.1527-3466.1992.tb00246.x>
44. Levey, A.S.; Stevens, L.A. Estimating GFR using the CKD epidemiology collaboration (CKD-EPI) creatinine equation: More accurate GFR estimates, lower CKD prevalence estimates, and better risk predictions. *Am. J. Kidney Dis.* 2010, 55, 622–627