

Prática clínica

## Copeptina: utilidade na prática clínica

Pedro Rodrigues<sup>a,b,\*</sup>, José Luís Castedo<sup>a</sup>, João Tiago Guimarães<sup>b,c</sup>, Davide Carvalho<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup>Serviço de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo, Centro Hospitalar de São João, Porto, Portugal

<sup>b</sup>Faculdade de Medicina, Universidade do Porto, Porto, Portugal

<sup>c</sup>Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar de São João, Porto, Portugal

### INFORMAÇÃO DO ARTIGO

*História do artigo:*

Recebido a 21 de março de 2012

Aceite a 11 de outubro de 2012

*Palavras-chave:*

Copeptina

Arginina vasopressina

Diabetes insípida

Doença aguda

### RESUMO

A arginina vasopressina é uma hormona fundamental na manutenção do equilíbrio hídrico e do tónus vascular. No entanto, o doseamento laboratorial é difícil e impossibilita o seu uso por rotina na prática clínica. A arginina vasopressina tem origem num peptídeo precursor juntamente com a copeptina, que é produzida numa razão equimolar e é mais estável em circulação e fácil de dosear. A quantidade de copeptina libertada é um marcador da produção de arginina vasopressina. Recentemente, foi demonstrado que o doseamento de copeptina pode ser útil em vários contextos clínicos, como no diagnóstico diferencial de diabetes insípida. Acresce que a copeptina tem sido proposta como um marcador de prognóstico em doentes com doenças agudas.

©2012 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos os direitos reservados.

### Copeptin: Usefulness in clinical practice

#### ABSTRACT

Arginine vasopressin is a key hormone in maintaining fluid balance and vascular tone. Nevertheless, laboratory measurement is difficult and precludes its routine use in clinical practice. Arginine vasopressin derives from a larger precursor peptide along with copeptin, which is released in an equimolar ratio and is more stable in circulation and easy to determine. Copeptin was found to be a surrogate marker for arginine vasopressin release. Recently, copeptin measurement has been shown to be useful in various clinical contexts, such as the differential diagnosis of diabetes insipidus. Also, it has been proposed as a prognostic marker in patients with acute illnesses.

©2012 Sociedade Portuguesa de Endocrinologia, Diabetes e Metabolismo. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

*Keywords:*

Copeptin

Arginine vasopressin

Diabetes insipidus

Acute illness

### Introdução

A arginina vasopressina (AVP), também conhecida por hormona antidiurética (HAD), é sintetizada pelos neurónios magnocelulares do hipotálamo e segregada para a circulação sanguínea pela hipófise posterior. O estado de hiperosmolaridade é o principal estímulo para a secreção de AVP, mas a diminuição de volume sanguíneo também induz a sua produção<sup>1</sup>.

Após a sua libertação para a corrente sanguínea, a AVP atua a nível periférico através da ligação a três receptores:  $V_{1a}$ ,  $V_{1b}$  e  $V_2$ . Os receptores  $V_{1a}$  são responsáveis pelos efeitos vasoconstritores. Os receptores  $V_{1b}$  estão presentes na hipófise anterior e ilhéus pancreáticos, sendo responsáveis pelos seus efeitos endócrinos. A ativação dos receptores  $V_2$  a nível dos ductos coletores renais é responsável pelos efeitos antidiuréticos<sup>1</sup>.

Além das ações osmóticas, hemodinâmicas e endócrinas, também têm sido descritos efeitos adicionais da AVP no sistema nervoso central, na regulação da temperatura corporal e na contractilidade muscular cardíaca<sup>2,3</sup>.

\*Autor para correspondência.

Correio electrónico: pmm\_rodrigues@hotmail.com (P. Rodrigues).

## Fisiopatologia

A patogenia de várias doenças está relacionada com distúrbios primários ou secundários do sistema AVP.

A diabetes insípida (DI) central caracteriza-se pela diminuição ou ausência de secreção de AVP com consequente diminuição da capacidade de concentração renal de urina, causando poliúria e polidipsia. A diminuição ou ausência de secreção de AVP pode resultar de um ou mais defeitos a nível dos receptores osmóticos hipotalâmicos, núcleos supraóptico ou paraventricular ou trato supraopticohipofisário<sup>4</sup>. A DI nefrogénica caracteriza-se pela diminuição da capacidade de concentração de urina devido a resistência dos nefrónios distais à ação da AVP<sup>5</sup>. A síndrome de secreção inapropriada de HAD caracteriza-se pela produção de AVP na ausência de estímulos hemodinâmicos ou osmóticos. O excesso de secreção de AVP pode ter origem na neuro-hipófise ou num local ectópico, como em casos de neoplasia<sup>1</sup>.

O envolvimento secundário da AVP na patogenia de outras doenças tem sido descrito para patologias como insuficiência cardíaca crónica, insuficiência hepática crónica e doenças críticas agudas<sup>6,7</sup>.

Tendo em conta o contributo da AVP na fisiopatologia de várias doenças agudas e crónicas, seria importante o doseamento dos seus níveis plasmáticos para o diagnóstico de distúrbios do sistema de regulação osmótica e para a monitorização do tratamento de doentes com patologia cardiovascular. No entanto, a fiabilidade dos métodos laboratoriais para a determinação das concentrações de AVP não é a ideal<sup>8-10</sup> (Tabela 1).

## Copeptina

### Caracterização, processamento e função fisiológica

A AVP tem origem num peptídeo precursor de 164 aminoácidos designado preprovasopressina, que é formada por um peptídeo de sinalização, AVP, neurofina II e copeptina<sup>11</sup> (Figura 1). A copeptina foi isolada e descrita pela primeira vez por Holwerda em 1972<sup>12</sup>. Trata-se de um peptídeo glicosilado, formado por 39 aminoácidos com um segmento central rico em leucina, que constitui porção C-terminal da preprovasopressina<sup>11</sup>.

A preprovasopressina é sintetizada nos núcleos magnocelulares do hipotálamo e sujeita a uma cascata de reações enzimáticas

**Tabela 1**

Desvantagens do doseamento laboratorial da arginina vasopressina

- Mais de 90% da AVP em circulação encontra-se ligada a plaquetas, resultando na subestimação da quantidade de AVP realmente libertada
- Períodos de armazenamento prolongados de amostras sanguíneas não processadas ou remoção incompleta das plaquetas de amostras plasmáticas podem resultar em resultados falsamente elevados
- Após secreção, a AVP tem uma depuração rápida da circulação, com uma semivida *in vivo* de 24 minutos
- Em plasma isolado, a AVP é instável mesmo quando armazenada a -20 °C
- Por ser de pequenas dimensões, a AVP não pode ser doseada por imunoensaios tipo sanduíche mas apenas por imunoensaios competitivos que são menos sensíveis e requerem procedimentos pré-analíticos complexos

AVP: arginina vasopressina.  
Adaptado de Morgenthaler<sup>1</sup>.

para dar origem a peptídeos bioativos. Após clivagem do peptídeo de sinalização, forma-se a provasopressina, que é armazenada em grânulos neurosecretores e posteriormente clivada em peptídeos durante o transporte axonal dos núcleos hipotalâmicos para a neurohipófise. Este processamento decorre em duas etapas: a primeira clivagem liberta a AVP e a segunda separa a neurofina II da copeptina<sup>13</sup>.

A função fisiológica precisa da copeptina ainda permanece desconhecida. Recentemente, foi sugerido que desempenha um papel importante na correção da conformação estrutural da provasopressina como pré-requisito para uma maturação proteolítica eficiente<sup>14</sup>. Pensa-se que a copeptina interatua com o sistema calnexina-calreticulina, que monitoriza o processamento proteico, diminuindo a formação de peptídeos inativos e aumentando a formação de hormonas ativas<sup>15,16</sup>. Desta forma, a ausência de copeptina e a consequente ineficácia no processamento proteico poderá contribuir para a patogénese da DI central<sup>14</sup>.

### Doseamento laboratorial

A copeptina é produzida juntamente com a AVP em concentrações equimolares. Tal como a concentração de peptídeo C reflete a secreção de insulina, também a quantidade de copeptina libertada reflete a produção de AVP<sup>1</sup>.

A neurofina II apresenta uma estrutura complexa que envolve sete ligações dissulfídicas intramoleculares e tem tendência para se ligar à AVP, não sendo o doseamento alternativo ideal para refletir a secreção de AVP. A copeptina não apresenta essas limitações e o seu doseamento laboratorial tem vantagens em relação ao da AVP (Tabela 2).

A determinação laboratorial da copeptina, recentemente descrita, consiste num doseamento imunoluminométrico tipo sanduíche no qual são utilizados dois anticorpos policlonais dirigidos à sequência de aminoácidos 132-164 na região C-terminal do peptídeo precursor preprovasopressina<sup>17</sup> (Figura 2).

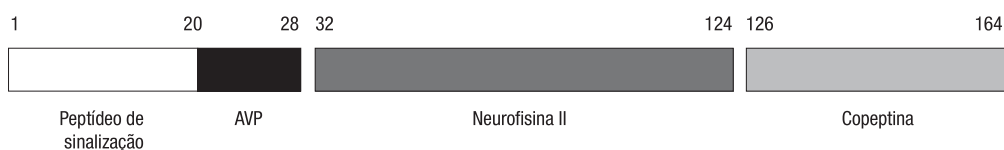
Em 359 indivíduos saudáveis (153 homens e 206 mulheres), a concentração plasmática mediana de copeptina foi de 4,2 pmol/L (variação: 1,0-13,8 pmol/L; intervalo de confiança a 95%: 4,0-4,4 pmol/L).

**Tabela 2**

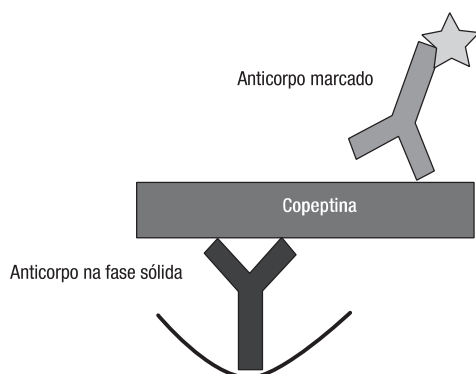
Vantagens do doseamento laboratorial de copeptina

- O doseamento de copeptina requer apenas 50 µL de soro ou plasma, enquanto o doseamento de AVP necessita ≥ 1 mL de plasma
- Não são necessárias etapas de extração ou outros procedimentos pré-analíticos
- Os resultados estão disponíveis em aproximadamente 3 horas, enquanto a maioria dos imunoensaios competitivos descritos para a AVP necessita mais de 12 a 24 horas
- O imunoensaio para a copeptina tem elevada sensibilidade, com um limiar de deteção analítica de 1,7 pmol/
- O coeficiente de variação interlaboratorial é < 20% para todas as concentrações de copeptina
- O imunoensaio disponível permite detetar a copeptina no plasma ou soro de 97% de indivíduos saudáveis independentemente da osmolaridade, enquanto a AVP habitualmente não é detetável em amostras plasmáticas com osmolaridade baixa
- Ao contrário da AVP, a copeptina é extremamente estável em amostras *ex vivo* de soro ou plasma. Demonstrou-se que a estabilidade *ex vivo* da copeptina no soro ou plasma é de pelo menos 7 dias à temperatura ambiente e 14 dias a 4 °C

AVP: arginina vasopressina.  
Adaptado de Morgenthaler<sup>1</sup>.



**Figura 1.** Representação esquemática do peptídeo precursor preprovasopressina. Os números indicam aminoácidos da proteína humana. AVP: arginina vasopressina. Adaptado de Morgenthaler<sup>1</sup>.



**Figura 2.** Doseamento da coceptina por imunoenensaio tipo sanduíche. Um anticorpo policlonal (na figura anticorpo em baixo) dirigido à sequência de aminoácidos 132-147 da preprovasopressina está ligado à fase sólida; um segundo anticorpo policlonal (na figura anticorpo em cima) dirigido à sequência de aminoácidos 149-164 da preprovasopressina é marcado (estrela) para ser detetado por quimioluminescência. Adaptado de Morgenthaler<sup>1</sup>.

Dos indivíduos avaliados, 2,5% apresentaram valores de coceptina abaixo do limiar de detecção analítica de 1,7 pmol/L. Ao contrário de outros biomarcadores, não se verificaram diferenças significativas nas concentrações plasmáticas de coceptina em diferentes grupos etários. Embora tenha sido descrita uma diferença significativa na concentração mediana de coceptina entre homens e mulheres (5,2 vs 3,7 pmol/L,  $p < 0,0001$ ), a variação foi comparável nos dois subgrupos<sup>17</sup>.

Tal como a AVP, os níveis de coceptina em indivíduos saudáveis são regulados num determinado intervalo mas podem variar de acordo com determinados estados fisiológicos. Em jejum e após exercício físico a concentração de coceptina aumenta para valores normais altos e após sobrecarga oral de água diminui rapidamente para valores normais baixos<sup>17</sup>.

### Copeptina na prática clínica

A AVP desempenha um papel fisiológico importante nos sistemas de regulação osmótica e cardiovascular. No entanto, o seu doseamento tem sido reservado para contextos endócrinos específicos e não tem sido implementado na prática clínica do dia a dia. A coceptina pode ser considerada um bom marcador de libertação de AVP: os dois peptídeos apresentam uma boa correlação, são libertados estequiometricamente e o doseamento laboratorial de coceptina não apresenta as limitações técnicas assinaladas para a AVP. A utilidade prática da coceptina tem sido demonstrada em vários contextos clínicos.

### Síndrome polidipsia-poliúria

A síndrome polidipsia-poliúria compreende três entidades principais: DI central, DI nefrogénica e polidipsia primária. Em termos conceptuais, o diagnóstico diferencial deveria ser facilmente exequível através do teste de restrição hídrica padrão, incluindo a determinação da osmolaridade urinária após um período de desidratação seguido da administração de desmopressina (também designado por «teste indireto»). No entanto, a interpretação dos resultados na prática pode ser difícil, dado que a presença de diurese crónica pode causar alterações do gradiente de concentração medular renal e consequente diminuição da expressão dos canais aquaporina-2 no túbulo proximal e ducto colector<sup>18</sup>.

Doentes com formas leves de DI central representam um desafio diagnóstico particular, porque a maioria mantém uma capacidade considerável de produzir HAD perante desidratação grave. Da

mesma forma, doentes com DI nefrogénica adquirida podem apresentar uma resistência apenas parcial à ação da HAD, resultando numa variação significativa na capacidade de concentrar urina.

Pelos motivos enunciados, foi inicialmente recomendada a determinação da HAD plasmática antes e após o teste de restrição hídrica para permitir uma classificação mais fidedigna em relação à obtida apenas com a osmolaridade urinária<sup>19</sup>. No entanto, até à data, o doseamento laboratorial de HAD não se afirmou como teste diagnóstico de referência, devido principalmente a limitações metodológicas.

Recentemente, a utilidade da coceptina no diagnóstico diferencial de doentes com síndrome polidipsia-poliúria foi avaliada e comparada com o teste de restrição hídrica clássico<sup>20</sup>. Cinquenta doentes com síndrome polidipsia-poliúria realizaram o teste de restrição hídrica com determinação dos valores plasmáticos de HAD e coceptina. O diagnóstico de referência foi baseado na informação clínica e na resposta ao tratamento. O teste de restrição hídrica indireto permitiu um diagnóstico correto em 70% dos doentes. O teste direto diagnosticou corretamente 46% dos casos com o doseamento de HAD e 72% dos casos com o doseamento de coceptina. Um único doseamento basal de coceptina permitiu a identificação de doentes com DI nefrogénica (valores superiores a 20 pmol/L) e com DI central completa (valores inferiores a 2,6 pmol/L). O diagnóstico diferencial entre polidipsia primária e DI central parcial foi menos linear. Nesse contexto, apesar de ter havido melhores resultados com um único doseamento de coceptina no final do teste em comparação com a osmolaridade urinária, o indicador com melhor precisão diagnóstica foi a razão  $\Delta$  coceptina<sub>[08h-16h]</sub> / concentração sérica de sódio<sub>[16h]</sub> (sensibilidade de 86% e especificidade de 100%). Estes dados apontam o doseamento de coceptina como uma ferramenta promissora em doentes com síndrome polidipsia-poliúria, melhorando significativamente a precisão diagnóstica do teste de restrição hídrica direto.

### Distúrbios eletrolíticos

As alterações do equilíbrio do sódio são comuns em pacientes hospitalizados estando relacionadas principalmente com alterações da homeostase da água. A hiponatremia é o distúrbio hidroelectrolítico mais frequente, apresentando uma prevalência de 15 a 30%. A hipernatremia é menos frequente, ocorrendo em cerca de 1 a 3% dos casos<sup>21</sup>. Ambos os distúrbios estão associados a morbidade e mortalidade substanciais<sup>22,23</sup>.

A determinação da causa da hiponatremia baseada em sinais clínicos e avaliação laboratorial de rotina tem uma sensibilidade e especificidade inferior a 50%. Estima-se que o diagnóstico etiológico correto com base nos algoritmos de rotina seja feito apenas em 10% dos doentes, com a consequente possibilidade de consequências clínicas significativas nos casos de tratamento inadequado<sup>24,25</sup>.

A HAD é a hormona mais importante envolvida na regulação do volume e equilíbrio osmótico. A determinação da concentração plasmática da coceptina tem sido sugerida para o diagnóstico diferencial de hiponatremia, de forma a tornar a abordagem diagnóstica menos complexa e a implementar atempadamente a estratégia terapêutica mais adequada.

Num estudo recentemente publicado foi avaliada a utilidade da coceptina no diagnóstico diferencial de distúrbios do equilíbrio do sódio em doentes internados com infeções do trato respiratório inferior, pneumonias adquiridas na comunidade e acidentes vasculares cerebrais agudos<sup>26</sup>. Os autores concluíram que nesta população os níveis de coceptina foram semelhantes para as várias etiologias de alterações leves do balanço de sódio e que a sua determinação acrescentou escassa informação ao algoritmo diagnóstico tradicional. O estímulo não osmótico associado ao stress da doença aguda foi apontado como o principal fator de confusão ao sobrepor-se ao estímulo osmótico.

No entanto, outro estudo recente demonstrou a utilidade da copeptina no diagnóstico diferencial de doentes com hiponatremia hiposmolar isolada<sup>27</sup>. Numa amostra de 106 doentes com hiponatremia, os autores concluíram que a combinação de um valor de copeptina inferior a 3 pmol/L com uma osmolaridade urinária inferior a 200 mOsm/Kg permitiu o diagnóstico correto de polidipsia primária em 100% de casos suspeitos. No entanto, apresentou utilidade limitada no diagnóstico diferencial entre a síndrome de secreção inapropriada de HAD e estados de depleção de sódio. Nesse contexto, a razão copeptina / sódio urinário foi um índice mais útil, inclusivamente superior aos critérios de referência. Uma razão copeptina / sódio urinário inferior a 30 pmol/mmol foi superior na identificação correta da síndrome de secreção inapropriada de HAD em comparação com os parâmetros padrão (sódio urinário, valor sérico de uratos e excreção fraccional de sódio).

#### Doenças agudas

A AVP é uma das principais hormonas envolvidas na fisiopatologia da doença aguda. A determinação da copeptina tem sido proposta como marcador prognóstico de doenças agudas, como sépsis, infeções respiratórias, doença cardíaca e doença vascular cerebral<sup>28</sup>.

Num estudo efetuado com 101 doentes internados numa unidade de cuidados intensivos, os valores de copeptina aumentaram significativamente de acordo com a gravidade da sépsis<sup>29</sup>. A concentração mediana de copeptina foi de 4,1 pmol/L em controlos saudáveis mas significativamente superior em doentes com sépsis (50,0 pmol/L), sépsis grave (73,6 pmol/L) e choque séptico (171,5 pmol/L). O doseamento de copeptina parece ter valor prognóstico, dado que, no momento da admissão, a sua concentração mediana foi significativamente superior no grupo de não sobreviventes (171,5 pmol/L) em comparação com o grupo de sobreviventes (86,8 pmol/L). Comparativamente com o sistema de pontuação APACHE II, o sistema de classificação clínica de referência em doentes em estado crítico, o doseamento de copeptina forneceu informação prognóstica semelhante.

Os níveis circulantes de copeptina estão correlacionados com a gravidade clínica de infeções respiratórias, sobretudo em doentes com pneumonia. Num estudo efetuado com 545 doentes internados por infeções do trato respiratório inferior, a concentração mediana de copeptina foi significativamente superior em comparação com controlos (25,3 pmol/L vs 5,0 pmol/L,  $p < 0,001$ )<sup>30</sup>. Foram observados valores mais elevados em doentes com pneumonia adquirida na comunidade (30,5 pmol/L) e aumento dos níveis de copeptina de acordo com a gravidade da pneumonia. À admissão, a concentração mediana de copeptina foi superior nos doentes não sobreviventes do que nos sobreviventes (70,0 pmol/L vs 24,3 pmol/L,  $p < 0,001$ ). Os resultados de outro estudo sugeriram o doseamento de copeptina como bom marcador de prognóstico a curto e a longo prazo em doentes internados por exacerbações agudas de doença pulmonar obstrutiva crónica<sup>31</sup>.

Níveis elevados de AVP têm sido associados a pior prognóstico em doentes com insuficiência cardíaca crónica. Em dois estudos recentes, 268 e 137 doentes com insuficiência cardíaca crónica e concentrações elevadas de copeptina apresentaram pior prognóstico do que doentes com concentrações baixas<sup>32,33</sup>. Além disso, a combinação do doseamento de copeptina com o de peptídeo natriurético auricular melhorou a informação prognóstica. O doseamento de copeptina em 980 doentes após enfarte agudo do miocárdio mostrou ser um fator predictor independente de mortalidade ou insuficiência cardíaca<sup>34</sup>.

Tem sido descrito aumento dos níveis de AVP em doentes com doença vascular cerebral aguda. Num estudo efetuado com 362 doentes internados por acidente vascular cerebral isquémico, a utilidade do doseamento de copeptina foi superior à de outros parâmetros laboratoriais (glicemia, proteína C reativa ou contagem

de leucócitos) ou clínicos (pressão arterial, temperatura). Além disso, melhorou a informação prognóstica do sistema de pontuação clínica NIHSS (*National Institute of Health Stroke Scale*)<sup>35</sup>.

#### Diabetes mellitus e resistência à insulina

Nos últimos anos, tem sido sugerido um papel do sistema AVP na homeostase da glicose, resistência à insulina e desenvolvimento de diabetes mellitus. A AVP parece modelar a glicogenólise hepática através dos receptores  $V_{1a}$  e a secreção de insulina e glucagon através dos receptores  $V_{1b}$ <sup>36</sup>. Doentes diabéticos com mau controlo metabólico apresentam níveis plasmáticos elevados de AVP e a infusão de AVP em indivíduos saudáveis causa aumento dos níveis de glicose<sup>2</sup>. A resistência à ação da AVP a nível dos receptores  $V_{1a}$  hepáticos parece causar aumento dos níveis de AVP que, por sua vez, estimula os receptores  $V_{1b}$  e contribui para a resistência à insulina e desenvolvimento de diabetes mellitus. Num estudo prospetivo com 4742 doentes, verificou-se que níveis elevados de copeptina predizem um risco aumentado de diabetes mellitus independentemente de outros fatores de risco, nomeadamente glicose plasmática em jejum e insulina em jejum<sup>37</sup>. Noutro estudo, foi avaliada a utilidade da copeptina como marcador de resistência à insulina e síndrome metabólica<sup>38</sup>, tendo-se verificado correlações estatisticamente significativas entre os níveis plasmáticos de copeptina e índice de massa corporal, glicose plasmática em jejum, insulina em jejum, índices de resistência à insulina, triglicéridos e colesterol HDL (*high density lipoprotein*).

#### Conclusões

Os mecanismos patogénicos de várias doenças envolvem distúrbios primários ou secundários do sistema AVP. No entanto, a determinação dos níveis de AVP na prática clínica apresenta limitações metodológicas consideráveis. O doseamento laboratorial de copeptina permite de forma fiável avaliar a concentração plasmática de AVP e tem-se mostrado útil em vários contextos clínicos, quer no diagnóstico diferencial de distúrbios do equilíbrio osmótico e eletrolítico, quer como marcador prognóstico de várias doenças agudas e crónicas.

#### Bibliografia

- Morgenthaler NG, Struck J, Jochberger S, Dünser MW. Copeptin: clinical use of a new biomarker. *Trends Endocrinol Metab.* 2007;19:43-9.
- Holmes CL, Landry DW, Granton JT. Science review: vasopressin and the cardiovascular system part 1 – receptor physiology. *Crit Care.* 2003;7:427-34.
- Holmes CL, Landry DW, Granton JT. Science review: vasopressin and the cardiovascular system part 2 – clinical physiology. *Crit Care.* 2004;8:15-23.
- Maghnie M. Diabetes insipidus. *Horm Res.* 2003;59:42-54.
- Garofeanu CG, Weir M, Rosas-Arellano MP, Henson G, Garg AX, Clark WF. Causes of reversible nephrogenic diabetes insipidus: a systematic review. *Am J Kidney Dis.* 2005;45:626-37.
- Griebel G, Stemmelin J, Gal CS, Soubrie P. Non-peptide vasopressin V1b receptor antagonists as potential drugs for the treatment of stress-related disorders. *Curr Pharm Des.* 2005;11:1549-59.
- Griebel G, Simiand J, Stemmelin J, Gal CS, Steinberg R. The vasopressin V1b receptor as a therapeutic target in stress-related disorders. *Curr Drug Targets CNS Neurol.* 2003; 2:191-200.
- Preibisz JJ, Sealey JE, Laragh JH, Cody RJ, Weksler BB. Plasma and platelet vasopressin in essential hypertension and congestive heart failure. *Hypertension.* 1983;5:129-38.
- Kluge M, Riedl S, Erhart-Hofmann, Hartmann J, Waldhauser F. Improved extraction procedure and RIA for determination of arginine8-vasopressin in plasma: role of premeasurement sample treatment and reference values in children. *Clin Chem.* 1999;45:98-103.
- Robertson GL, Mahr EA, Athar S, Sinha T. Development and clinical application of a new method for the radioimmunoassay of arginine vasopressin in human plasma. *J Clin Invest.* 1973;52:2340-52.

11. Land H, Schütz G, Schmale H, Richter D. Nucleotide sequence of cloned cDNA encoding bovine arginine vasopressin-neurophysin II precursor. *Nature*. 1982; 295: 299-303.
12. Holwerda DA. A glycopeptide from the posterior lobe of pig pituitaries. I. Isolation and characterization. *Eur J Biochem*. 1972;28:334-9.
13. Archer R, Chauvet J, Rouille Y. Dynamic processing of neuropeptides: sequential conformation shaping of neurohypophysial preprohormones during intraneural secretory transport. *J Mol Neurosci*. 2002;18:223-8.
14. Barat C, Simpson L, Breslow E. Properties of human vasopressin precursor constructs: inefficient monomer folding in the absence of copeptin as a potential contributor to diabetes insipidus. *Biochemistry*. 2004;43:8191-203.
15. Parodi AJ. Protein glycosylation and its role in protein folding. *Rev Biochem*. 2000; 69:69-93.
16. Schrag JD, Procopio DO, Cygler M, Thomas Dy, Bergeron JJ. Lectin control of protein folding and sorting in the secretory pathway. *Trends Biochem Sci*. 2003;28:49-57.
17. Morgenthaler NG, Struck J, Alonso C, Bermann A. Assay for the measurement of copeptin, a stable peptide derived from the precursor of vasopressin. *Clin Chem*. 2006;52:112-9.
18. Li C, Wang W, Kwon TH, Isikay L, Wen JC, Djurhuus JC, et al. Downregulation of AQP1, -2, and -3 after ureteral obstruction is associated with a long-term urine-concentrating defect. *Am J Renal Physiol*. 2001;281:163-71.
19. Zerbe RL, Robertson GL. A comparison of plasma vasopressin measurement with a standard indirect test in the differential diagnosis of polyuria. *N Engl J Med*. 1981;305:1539-46.
20. Fenske W, Quinkler M, Lorenz D, Kopf K, Haagen U, Papassotiriou J, et al. Copeptin in the differential diagnosis of the polydipsia-polyuria syndrome – revisiting the direct and indirect water deprivation tests. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96:1506-15.
21. Upadhyay A, Jaber BL, Madias NE. Incidence and prevalence of hyponatremia. *Am J Med*. 2006;119:30-5.
22. Reynolds RM, Seckl JR. Hyponatraemia for the clinical endocrinologist. *Clin Endocrinol*. 2005;63:366-74.
23. Borra SI, Beredo R, Kleinfeld M. Hyponatremia in the aging: causes, manifestations and outcome. *J Natl Med Assoc*. 1995;87:220-4.
24. Hoorn EJ, Halperin ML, Zietse R. Diagnostic approach to a patient with hyponatremia: traditional versus physiology-based opinions. *Qjm*. 2005;98:529-40.
25. Verbalis JG, Goldsmith SR, Greenberg A, Schrier RW, Sterns RH. Hyponatremia treatment guidelines 2007: expert panel recommendations. *Am J Med*. 2007;120: S1-S21.
26. Nigro N, Müller B, Morgenthaler NG, Fluri F, Schütz P, Neidert S, et al. The use of copeptin, the stable peptide of the vasopressin precursor, in the differential diagnosis of sodium imbalance in patients with acute diseases. *Swiss Med Wkly*. 2011;141:1-11.
27. Fenske W, Störk S, Blechschmidt A, Maier SG, Morgenthaler NG, Allolio B. Copeptin in the differential diagnosis of hyponatremia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009;94:123-9.
28. Katan M, Christ-Crain M. The stress hormone copeptin: a new prognostic biomarker in acute illness. *Swiss Med Wkly*. 2010;140:1-6.
29. Morgenthaler NG, Müller B, Struck J, Bergmann A, Redl H, Christ-Crain M. Copeptin, a stable peptide of the arginin vasopressin precursor, is elevated in hemorrhagic and septic shock. *Shock*. 2007;28:219-26.
30. Müller B, Morgenthaler NG, Stolz D, Schuetz P, Müller C, Bingisser R, et al. Circulating levels of copeptin, a novel biomarker, in lower respiratory tract infections. *Eur J Clin Invest*. 2007;37:145-52.
31. Stolz D, Christ-Crain M, Morgenthaler NG, Leuppi J, Miedinger D, Bingisser R, et al. Copeptin, C-reactive protein, and procalcitonin as prognostic biomarkers in acute exacerbation of COPD. *Chest*. 2007;131:1058-67.
32. Stoiser B, Mortl D, Hulsmann M, Berger R, Struck J, Morgenthaler NG, et al. Copeptin, a fragment of the vasopressin precursor, as a novel predictor of outcome in heart failure. *Eur J Clin Invest*. 2006;36:771-8.
33. Gegenhuber A, Struck J, Dieplinger B, Poelz W, Pacher R, Morgenthaler NG, et al. Comparative evaluation of B-type natriuretic peptide, mid-regional pro-A-type natriuretic peptide, mid-regional pro-adrenomedullin, and copeptin to predict 1-year mortality in patients with acute destabilized heart failure. *J Card Fail*. 2007;13:42-9.
34. Khan SQ, Dhillon OS, O'Brien RJ, Struck J, Quinn PA, Morgenthaler NG, et al. C-terminal pro-vasopressin (copeptin) as a novel and prognostic marker in acute myocardial infarction: Leicester Acute Myocardial Infarction (LAMP) study. *Circulation*. 2007;115:2103-10.
35. Katan M, Fluri F, Morgenthaler NG, Schuetz P, Zweifel C, Müller K, et al. Copeptin: a novel, independent prognostic marker in patients with ischemic stroke. *Ann Neurol*. 2009;66:799-808.
36. Abu-Basha EA, Yibchok-Anun S, Hsu WH. Glucose dependency of arginine vasopressin-induced insulin and glucagon release from the perfused rat pancreas. *Metabolism*. 2002;51:1184-90.
37. Enhörning S, Wang TJ, Nilsson P, Almgren P, Hedblad B, Berglund G, et al. Plasma copeptin and the risk of diabetes mellitus. *Circulation*. 2010;121:2102-8.
38. Saleem U, Khaleghi M, Morgenthaler NG, Bergmann A, Struck J, Mosley TH, et al. Plasma carboxy-terminal pro-vasopressin (copeptin): a novel marker of insulin resistance and metabolic syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2009; 94:2558-64.