



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS MÉDICAS

MARZA DE SOUSA ZARANZA

**BIOMARCADORES ENDOTELIAIS EM PACIENTES CRÍTICOS COM COVID-19:
POTENCIAIS PREDITORES DA NECESSIDADE DE DIÁLISE E PROGNÓSTICO**

FORTALEZA-CE

2023

MARZA DE SOUSA ZARANZA

BIOMARCADORES ENDOTELIAIS EM PACIENTES CRÍTICOS COM COVID-19:
POTENCIAIS PREDITORES DA NECESSIDADE DE DIÁLISE E PROGNÓSTICO

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Médicas.

Orientadora: Profa. Dra. Elizabeth De Francesco Daher

FORTALEZA-CE

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

Z39b Zaranza, Marza de Sousa.

Biomarcadores endoteliais em pacientes críticos com COVID-19: potenciais preditores da necessidade de diálise e prognóstico / Marza de Sousa Zaranza. – 2023.

92 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, Fortaleza, 2023.

Orientação: Prof. Dr. Elizabeth De Francesco Daher.

Coorientação: Prof. Dr. Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque.

1. COVID-19. 2. Diálise. 3. Endotélio. 4. Biomarcadores. 5. Injúria Renal Aguda. I. Título.

CDD 610

MARZA DE SOUSA ZARANZA

BIOMARCADORES ENDOTELIAIS EM PACIENTES CRÍTICOS COM COVID-19:
POTENCIAIS PREDITORES DA NECESSIDADE DE DIÁLISE E PROGNÓSTICO

Dissertação apresentada à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Ciências Médicas, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do grau de Mestre em Ciências Médicas.

Aprovada em: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Elizabeth De Francesco Daher - Orientadora
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Gdayllon Cavalcante Meneses
Universidade Federal do Ceará - UFC

Prof. Dr. Geraldo Bezerra da Silva Junior
Universidade de Fortaleza - UNIFOR

AGRADECIMENTOS

À Deus, por ter sido meu Guia e Protetor, a quem eu agradeço diariamente pelo dom da vida e por todas as conquistas.

Aos pacientes, personagens principais desse estudo, que confiaram na ciência e nos profissionais de saúde no momento de maior fragilidade de suas vidas.

Aos familiares dos pacientes, que sofriam por estarem distantes de seu ente querido enfermo, sem contato algum que não fosse as notícias dadas por telefone por estranhos nos quais precisavam confiar e, ainda assim, autorizaram a participação de seu familiar nesse estudo.

À Profa. Dra. Elizabeth Daher, por quem eu tenho profundo respeito e admiração desde os tempos da faculdade. Agradeço pelos ensinamentos, idéias e confiança em meu trabalho.

À Profa. Dra. Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque, que acreditou no meu potencial em participar de uma pesquisa e me incentivou a me candidatar à vaga de Mestrado. Agradeço pelo apoio fraternal, por suas idéias e colaboração na construção desse trabalho.

Ao Prof. Dr. Gdayllon Cavalcante Meneses, pela humildade e infinita paciência ao ensinar bioestatística, pelas idéias brilhantes e pela grande contribuição com esse trabalho.

Ao Prof. Dr. Geraldo Bezerra da Silva Junior, pela confiança em me deixar fazer parte do grupo de pesquisa e pelas suas sugestões e colaborações com esse trabalho.

Aos Profs. Drs. Reinaldo Barreto Oriá e Alice Maria Costa Martins e toda equipe dos laboratórios LABICONTE e LBFBC pela contribuição nessa pesquisa.

Às minhas amigas Natália e Nilcyeli, amizade que amadureceu numa época de grande dificuldade, em plena pandemia, por ouvirem meus desabafos, pelos cafés divididos e pelas idéias, bom humor e todo apoio durante o desenvolvimento desse trabalho.

Às minhas colegas do grupo de pesquisa: Ana Paula, Andréa e Márcia. Obrigada pela contribuição nessa pesquisa.

Aos estudantes que fazem parte do grupo de pesquisa, sobretudo Álvaro: não sei o que seria do projeto sem a grande ajuda de vocês. Vocês voarão muito alto!

Ao meu amigo Gregório, com quem dividi diariamente durante a pandemia as angústias de coordenar as UTIs COVID do IJF. Obrigada pela parceria e confiança no meu trabalho.

A todos os médicos e membros da equipe multiprofissional que atuaram na linha de frente das UTIs COVID do IJF, pelos quais terei eterna gratidão pela confiança e pelo trabalho que desenvolveram.

À equipe de gestores do Instituto Dr. José Frota (IJF) que atuou durante a pandemia e apoiou o desenvolvimento da pesquisa da qual originou esse trabalho.

Aos meus amigos e amigas, pela lealdade e parceria e por terem dividido comigo tantos momentos importantes, tanto bons quanto ruins.

À toda a minha família, por sempre terem me motivado a estudar desde a infância, terem acreditado no meu potencial e investido tempo, dinheiro e amor em mim. Tudo que consegui dedico a Deus e a vocês.

RESUMO

Introdução: A injúria renal aguda em pacientes internados em UTI por COVID-19, tem importante impacto no prognóstico dessa população e a disfunção endotelial encontra-se no cerne da fisiopatologia da injúria renal. Pacientes com necessidade de diálise apresentam elevadas taxas de mortalidade e estudos são necessários para desenvolver melhores estratégias de identificação precoce desses indivíduos.

Objetivos: Descrever as características clínicas e laboratoriais dos pacientes com COVID-19 que necessitaram de diálise durante internamento na UTI, avaliar o desempenho de biomarcadores endoteliais para prever a necessidade de diálise e prognóstico dessa população. **Métodos:** Este é um estudo prospectivo com 58 pacientes com COVID-19 não vacinados internados na UTI. Foram analisados exames bioquímicos e os biomarcadores vasculares VCAM-1, Syndecan-1, Angiopoetina-1 e Angiopoeitina-2. A gravidade dos pacientes internados na UTI foi estimada por meio do escore SAPS3 e todos os dados da UTI foram calculados a partir do Sistema Epimed™ ®. Os dados foram analisados usando o software SPSS para Macintosh, versão 23 (Armonk, NY: IBM Corp.). Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo para todos os testes analíticos.

Resultados: Dentre os 58 pacientes do estudo, 37 (63,79%) evoluíram com necessidade de diálise durante o internamento na UTI. Esses pacientes eram mais velhos ($62,4 \pm 12,5$ vs. $53,5 \pm 16,5$ anos, $p=0,037$) e tinham maior prevalência de IRA (95% vs 39%, $p < 0,001$). O grupo da diálise fez mais uso de vasopressor (70% vs. 26%, $p=0,001$) e ventilação mecânica (95% vs. 69%, $p=0,022$) e apresentou maior taxa de mortalidade em comparação com o grupo que não dialisou (76,2% vs. 23,8%, $p < 0,001$). O SAPS3 foi maior em pacientes que necessitaram de diálise ($63 \pm 13,8$ vs. $49,5 \pm 14,2$, $p < 0,001$) e esses apresentaram menor nível de plaquetas e maiores níveis de LDH, uréia e creatinina. O VCAM-1 e a relação Ang-2/Ang-1 estavam aumentados no grupo que necessitou de diálise. A relação Ang-2/Ang-1 teve melhor AUC-ROC (0,684 –95%CI: 0,536 a 0,833; $p=0,022$), seguida por VCAM-1 (0,673 – 95%CI: 0,521 a 0,826; $p=0,031$). Em uma abordagem combinada usando níveis de VCAM-1 e Syndecan-1 e relação Ang-2/Ang-1, a AUC-ROC melhorou para 0,713 – 95%CI: 0,568 a 0,858; $p=0,008$. Pacientes com níveis acima dos níveis de corte de syndecan-1, VCAM-1 e relação Ang-2/Ang-1 precisaram de diálise mais precocemente. Idade mais avançada, uso de vasopressores, escore SAPS3 mais elevado, níveis de LDH, VCAM-1, Syndecan-1, relação Ang-2/Ang-1 e diminuição dos níveis de plaquetas contribuíram para a necessidade de diálise (hazard ratio $> 1,00$).

Conclusão: Pacientes não vacinados portadores de formas críticas de COVID-19 e que necessitaram de diálise durante internamento na UTI tinham idade mais avançada, maior necessidade de vasopressores e ventilação mecânica na admissão na UTI, escore SAPS3 mais elevado e maior mortalidade. Níveis de biomarcadores endoteliais acima do ponto de corte determinado no estudo associaram-se com maior mortalidade e evolução mais rápida da injúria renal até o início da hemodiálise. VCAM-1 e razão Ang-2/Ang-1 demonstraram uma boa performance na predição da necessidade de diálise e a análise combinada desses dois marcadores, juntamente com os níveis de Syndecan-1, apresentaram uma performance ainda melhor.

Palavras-chave: COVID-19, Diálise, Endotélio, Biomarcadores, Injúria Renal Aguda

ABSTRACT

Introduction: Acute kidney injury in patients admitted to the ICU due to COVID-19 has an important impact on the prognosis of this population and endothelial dysfunction is at the heart of the pathophysiology of kidney injury. Patients requiring dialysis have high mortality rates and studies are needed to develop better strategies for early identification of these individuals. **Aim:** To describe the clinical and laboratory characteristics of patients with COVID-19 who required dialysis during ICU stay, evaluate the performance of endothelial biomarkers to predict the need for dialysis and prognosis of this population. **Methods:** This is a prospective study with 58 unvaccinated COVID-19 patients admitted to the ICU. Biochemical tests and the vascular biomarkers VCAM-1, Syndecan-1, Angiopoietin-1 and Angiopoietin-2 were analyzed. The severity of patients admitted to the ICU was estimated using the SAPS3 score and all ICU data were calculated from the Epimed™ ® System. Data were analyzed using SPSS software for Macintosh, version 23 (Armonk, NY: IBM Corp.). A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant for all analytical tests. **Results:** Among the 58 patients in the study, 37 (63.79%) developed the need for dialysis during their stay in the ICU. These patients were older (62.4 ± 12.5 vs. 53.5 ± 16.5 years, $p = 0.037$) and had a higher prevalence of AKI (95% vs. 39%, $p < 0.001$). The dialysis group used more vasopressors (70% vs. 26%, $p = 0.001$) and mechanical ventilation (95% vs. 69%, $p = 0.022$) and had a higher mortality rate compared to the group that did not undergo dialysis (76.2% vs. 23.8%, $p < 0.001$). SAPS3 was higher in patients who required dialysis (63 ± 13.8 vs. 49.5 ± 14.2 , $p < 0.001$) and they had lower platelet levels and higher LDH, urea and creatinine levels. VCAM-1 and the Ang-2/Ang-1 ratio were increased in the group that required dialysis. The Ang-2/Ang-1 ratio had better AUC-ROC (0.684 –95%CI: 0.536 to 0.833; $p = 0.022$), followed by VCAM-1 (0.673 –95%CI: 0.521 to 0.826; $p = 0.031$). In a combined approach using VCAM-1 and Syndecan-1 levels and Ang-2/Ang-1 ratio, AUC-ROC improved to 0.713 –95%CI: 0.568 to 0.858; $p = 0.008$. Patients with levels above the cutoff levels of syndecan-1, VCAM-1 and Ang-2/Ang-1 ratio required dialysis earlier. Older age, use of vasopressors, higher SAPS3 score, LDH, VCAM-1, Syndecan-1 levels, Ang-2/Ang-1 ratio and decreased platelet levels contributed to the need for dialysis (hazard ratio > 1 , $p < 0.001$). **Conclusion:** Unvaccinated patients with critical forms of COVID-19 who required dialysis during ICU stay were older, had a greater need for vasopressors and mechanical ventilation upon admission to the ICU, had a higher SAPS3 score and had higher mortality. Levels of endothelial biomarkers above the cutoff point determined in the study were associated with higher mortality and faster progression of kidney injury until the start of hemodialysis. VCAM-1 and Ang-2/Ang-1 ratio demonstrated a good performance in predicting the need for dialysis and the combined analysis of these two markers, together with Syndecan-1 levels, showed an even better performance.

Keywords: COVID-19, Dialysis, Endothelium, Biomarkers, Acute Kidney Injury

LISTA DE ABREVIATURAS

| | |
|------------|--|
| COVID-19 | Coronavírus Disease-2019 |
| SARS-CoV-2 | <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2</i> |
| SRAG | Síndrome Respiratória Aguda Grave |
| RT-PCR | <i>Reverse transcription polymerase chain reaction</i> |
| OMS | Organização Mundial de Saúde |
| RNA | <i>Ribonucleic acid</i> |
| SARS-CoV | <i>Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus</i> |
| MERS-CoV | <i>Middle East Respiratory Syndrome</i> |
| UTI | Unidade de Terapia Intensiva |
| PTT | Púrpura trombocitopênica trombótica |
| SAA | Síndrome antifosfolipídica |
| ECA 2 | Enzima Conversora da Angiotensina 2 |
| SRAA | Sistema renina-angiotensina-aldosterona |
| IFN I | Interferon I |
| NETs | <i>Neutrophil extracellular trap</i> |
| PAMPs | <i>Pathogen-associated molecular pattern</i> |
| DAMPs | <i>Damage-associated molecular pattern</i> |
| EUA | Estados Unidos da América |
| SDRA | Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo |
| Cr | Creatinina |
| TFG | Taxa de filtração glomerular |
| VCAM-1 | <i>Vascular Cell Adhesion Protein-1</i> |
| CE | Células endoteliais |
| ICAM-1 | <i>Intercell Adhesion Molecula-1</i> |

| | |
|------------------|--|
| TNF | <i>Tumor necrosis factor</i> |
| IL-1 | Interleucina-1 |
| Ang-1 | Angiopietina-1 |
| Ang-2 | Angiopietina-2 |
| IJF | Instituto Doutor José Frota |
| UPA | Unidade de Pronto Atendimento |
| DRC | Doença renal crônica |
| SAPS3 | <i>Simplified Acute Physiology Score 3</i> |
| PaO ₂ | Pressão parcial de oxigênio arterial |
| FiO ₂ | Oxigênio fracionado inspirado |
| KDIGO | <i>Kidney Disease Improving Global Outcome</i> |
| PCR | Proteína-C reativa |
| AST | Aspartate aminotransferase |
| ALT | Aspartate alanintransferase |
| LDH | <i>Lactate Dehydrogenase</i> |
| VMI | Ventilação mecânica invasiva |
| PEEP | Pressão expiratória final positiva |
| TSR | Terapia Substitutiva Renal |

LISTA DE FIGURAS

| | | |
|-------------------|--|----|
| Figura 1 - | Fisiopatologia da IRA associada à COVID-19 | 22 |
| Figura 2 - | Pacientes críticos COVID-19 incluídos no estudo | 34 |
| Figura 3 - | Níveis de biomarcadores endoteliais sistêmicos de pacientes críticos com COVID-19 de acordo com a necessidade de diálise | 38 |
| Figura 4 - | Níveis dos biomarcadores endoteliais na admissão da UTI e sua associação com a necessidade de diálise em pacientes graves com COVID-19 | 40 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|---|----|
| Tabela 1 - Características, SAPS3 e parâmetros laboratoriais dos pacientes críticos com COVID-19 no momento da admissão na UTI de acordo com a necessidade de diálise durante o internamento na UTI..... | 35 |
| Tabela 2 - Níveis dos biomarcadores endoteliais na admissão da UTI e sua associação com a necessidade de diálise em pacientes graves com COVID-19..... | 37 |
| Tabela 3 - Predição da performance dos biomarcadores endoteliais para a necessidade de diálise em pacientes graves com COVID-19..... | 39 |
| Tabela 4 - Regressão de Cox para necessidade de diálise com valores não ajustados e modelos de acordo com a presença ou ausência de plaquetas..... | 41 |

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1. INTRODUÇÃO | 14 |
| 1.1. Histórico | 15 |
| 1.2. Epidemiologia | 16 |
| 1.3. Etiologia e transmissão | 16 |
| 1.4. Quadro clínico e Prognóstico | 18 |
| 1.5. Fisiopatologia da Lesão Endotelial associada à COVID-19 | 19 |
| 1.6. Injúria Renal Aguda associada à COVID-19 | 21 |
| 1.7. Biomarcadores endoteliais e Injúria Renal Aguda | 23 |
| 1.7.1 VCAM-1 | 24 |
| 1.7.2. Syndecan-1 | 25 |
| 1.7.3 Angiopoeitinas 1 e 2 | 25 |
| 1.8. Justificativa do Estudo | 26 |
| 2. OBJETIVOS | 27 |
| 2.1. Objetivo Geral | 27 |
| 2.2. Objetivos Específicos | 27 |
| 3. MÉTODOLOGIA | 28 |
| 3.1. Desenho do Estudo | 28 |
| 3.2. Caracterização do Local do Estudo | 28 |
| 3.3. População do Estudo | 29 |
| 3.4. Coleta de Dados Clínicos | 29 |
| 3.5. Parâmetros estudados | 30 |
| 3.5.1. Parâmetros clínicos | 30 |
| 3.5.2. Parâmetros laboratoriais | 30 |
| 3.6. Métodos analíticos | 31 |
| 3.7. Coleta de Material Biológico e de Biomarcadores endoteliais | 31 |

| | |
|--|-----------|
| 3.8. Análise estatística | 32 |
| 3.9. Ética | 33 |
| 4. RESULTADOS | 34 |
| 4.1. Características de pacientes com COVID-19 internados em UTI e necessidade de diálise | 34 |
| 4.2. Níveis precoces de biomarcadores endoteliais e necessidade de diálise em pacientes críticos com COVID-19 | 36 |
| 5. DISCUSSÃO | 42 |
| 6. CONCLUSÃO | 47 |
| REFERÊNCIAS | 48 |
| APÊNDICE A - Termo de Consentimento Livro e Esclarecido | 56 |
| APÊNDICE B - Questionário de Coleta de Dados | 59 |
| ANEXO A - Parecer de Aprovação do Comitê de Ética | 68 |
| ANEXO B – PUBLICAÇÃO | 78 |

1. INTRODUÇÃO

A infecção causada pelo novo vírus SARS-CoV-2, denominado COVID-19, apresenta amplo espectro clínico. Os casos mais complicados foram caracterizados pelo desenvolvimento de síndrome respiratória aguda grave (SRAG), bem como outras disfunções orgânicas (WANG *et al.*, 2020; ZHU *et al.*, 2020). Nesse contexto, a Injúria Renal Aguda (IRA) ganhou notoriedade e gerou grande preocupação mundial devido à alta demanda por terapias de alto custo, como a hemodiálise, e ao risco iminente de colapso do sistema de saúde (CHENG *et al.*, 2020; HIRSCH *et al.*, 2020).

O rápido desenvolvimento de vacinas eficazes contra o SARS-CoV-2 e sua distribuição em massa para a população a nível mundial, provou ser uma estratégia de sucesso para reduzir a transmissão viral e proporcionar redução da mortalidade por formas críticas da doença (ZHENG *et al.*, 2022). Contudo, ressalta-se que a vacinação pode não eliminar o risco de infecção (BROSH-NISSIMOV *et al.*, 2021), devendo medidas preventivas de controle serem adotadas, especialmente para grupos de alto risco, bem como o aumento flutuante do número de casos devido o surgimento de novas variantes do vírus permanece uma preocupação das autoridades de saúde, sobretudo em locais com baixa adesão da população às doses de reforço da vacina (ZHENG *et al.*, 2022). Ainda não há estudos avaliando o impacto da vacinação no desenvolvimento da injúria renal aguda grave em pacientes gravemente enfermos.

O vírus SARS-CoV-2 pode induzir inflamação sistêmica e hipercitocinemia. A desregulação imune e a consequente hiperatividade inflamatória resultam em disfunção endotelial sistêmica e estado de hipercoagulabilidade. Esses mecanismos podem resultar em IRA por depleção de volume intravascular, hipotensão e consequente hipoperfusão renal, levando a IRA pré-renal, ou mesmo injúria tubular aguda. A “tempestade de citocinas” pode estar intimamente relacionada ao dano alveolar e tubular em pacientes com SRAG, caracterizando um *crosstalk* pulmão-rim (JOSE *et al.*, 2020; YE *et al.*, 2020).

A injúria renal aguda em pacientes com COVID-19 é multifatorial e inclui agravamento de doenças pré-existentes, resposta inflamatória aguda, síndrome cardiorrenal, instabilidade hemodinâmica e hipovolemia. A incidência é semelhante à

relatada em outras pandemias, principalmente na gripe H1N1, sugerindo que a resposta inflamatória sistêmica pode ser o principal contribuinte para IRA grave no cenário de doença crítica relacionada ao vírus (PETTILÄ *et al.*, 2011). Ainda não existem terapias ou estratégias eficazes para reduzir a incidência de IRA nessa população de pacientes (SU *et al.*, 2020; RONCO *et al.*, 2020) e a hemodiálise continua sendo a principal terapia de suporte em pacientes que desenvolvem dano renal grave, apresentando forte associação com altas taxas de mortalidade (HIRSCH *et al.*, 2020).

A disfunção endotelial e a coagulopatia foram relatadas como a base da IRA grave associada ao COVID-19. Os biomarcadores endoteliais podem detectar precocemente a injúria renal e permitir a adoção de medidas eficazes para prevenir a progressão da doença e suas complicações (MOTA *et al.*, 2021). Esse achado poderia facilitar o acompanhamento de pacientes de maior risco.

1.1. Histórico

Em dezembro de 2019, as autoridades internacionais voltaram os olhos para a província de Wuhan, localizada em Hubei, China, devido ao surgimento de uma série de casos de pneumonia de causa desconhecida, interligados pela exposição ao mercado atacadista de frutos do mar de Huanan (WANG *et al.*, 2020).

Devido à experiência com epidemias anteriores de SARS-CoV em 2002 e 2003 na China e MERS-CoV em 2012 no Oriente Médio, rapidamente as autoridades de saúde chinesas apressaram-se para investigar, caracterizar e controlar a doença e em 31 de dezembro de 2019 o Centro chinês de prevenção e controle de doenças (CDC Chinês) enviou uma equipe para conduzir uma investigação epidemiológica e etiológica em Hubei. Em 7 de janeiro de 2020, cientistas chineses isolaram, a partir de células epiteliais das vias aéreas de pacientes, o sequenciamento genético de um novo coronavírus (2019-nCoV), posteriormente denominado coronavírus 2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), permitindo o desenvolvimento de teste diagnóstico RT-PCR em tempo real que auxiliaria a estimar o real impacto da doença. Após 4 dias, em 11 de janeiro de 2020, tínhamos o primeiro caso fatal da doença e em menos de 1 semana, já haviam casos confirmados na Tailândia, Japão e Coreia (WANG *et al.*, 2020).

Em 23 de janeiro de 2020, já haviam casos confirmados em mais de 30 províncias da China, incluindo Hong Kong, Macau e Taiwan, inclusive infecções confirmadas em trabalhadores de saúde que cuidavam de pacientes infectados pelo 2019-nCoV, indicando transmissão de humano para humano (WANG *et al.*, 2020).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) declarou em 30 de janeiro de 2020 que o surto de SARS-CoV-2 é um problema de saúde pública de interesse internacional e, em 11 de fevereiro, anuncia o nome da nova doença causada por esse novo coronavírus: COVID-19. Em 11 de março de 2020, a OMS declara COVID-19 uma pandemia (CARVALHO *et al.*, 2021).

1.2. Epidemiologia

Desde o relato dos primeiros doentes em dezembro de 2019, acumula-se mais de 764 milhões de casos confirmados de COVID-19 ao redor do mundo, incluindo quase 7 milhões de mortes de acordo com a Organização Mundial de Saúde. (WHO, 2023).

No Brasil, um dos países que tiveram maior destaque mundial pelo número alarmante de casos durante o auge da pandemia em 2020 e 2021, até o momento, contabiliza cerca de 37 mil casos confirmados de infecção pelo SARS-CoV-2, ocupando o 6º lugar dentre os países em número de casos, contudo, sendo o 2º lugar em número absoluto de mortes com um total lamentável de mais de 701.000 mortos em decorrência da doença (WHO, 2023).

No final de março de 2020, foram confirmados os primeiros casos de COVID-19 em residentes do município de Fortaleza. Desde então, foram registrados mais de 344mil casos confirmados da doença na cidade e quase 12mil óbitos (SMS, 2023).

1.3. Etiologia e Transmissão

Os coronavírus são vírus de RNA envelopados que podem infectar humanos, outros mamíferos e aves e causar sintomas variados a depender do sistema afetado, incluindo alterações respiratórias, gastrointestinais, hepáticas, renais, neurológicas, dentre outras.

Existiam 6 espécies de coronavírus capazes de causar doenças em humanos até o final de 2019, sendo 4 delas prevalentes e causadoras de sintomas de resfriado comum, enquanto as outras 2 são de origem zoonótica capazes de causar manifestações mais graves e até fatais - trata-se do coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV) e do coronavírus da síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS-CoV).

A análise filogenética relevou que o SARS-CoV-2 pertence ao gênero betacoronavírus, que inclui coronavírus descobertos em morcegos e outros animais selvagens, sendo o sétimo membro da família dos coronavírus que infectam humanos (ZHU *et al.*, 2020).

Ainda no início do surto, hipóteses com relação à capacidade de transmissão interpessoal da doença foram levantadas e o estudo de um grupo familiar chinês mostrou de 5 indivíduos infectados que estiveram em Wuhan provavelmente infectaram um sexto familiar que não havia viajado (CHAN *et al.*, 2020), bem como chamou atenção a possibilidade de indivíduos que ainda não haviam apresentado sintomas de transmitir a doença (ROTHER *et al.*, 2020).

Menos de 2 meses após os primeiros relatórios, três características principais da COVID-19 foram estabelecidas: uma transmissão eficiente interpessoal através de secreções respiratórias; indícios de que as pessoas podem transmitir o vírus antes de apresentarem sintomas, ou mesmo sem nunca apresentar sintomas; e o período de incubação em torno de 5 a 7 dias.

Em dezembro de 2020, as autoridades de saúde inglesa anunciaram a identificação da variante B.1.1.7 que possuía um grande número de mutações e uma alta taxa de transmissibilidade, alertando o mundo para o risco das chamadas VOCs (*variants of concern*) (VOLZ *et al.*, 2021). Após semanas, novas VOCs foram reportadas com características similares, como, por exemplo, a variante P.1 no Brasil (FARIA *et al.*, 2021), que foi responsável pelo colapso do sistema de saúde na cidade de Manaus.

Os genomas de vírus de RNA são particularmente propensos à mutação, contudo, o SARS-CoV-2, assim como os demais coronavírus relacionados, codifica um domínio que reduz sua taxa de mutação relativa aos demais vírus de RNA que

não possuem tal domínio (como influenza, HIV e vírus da hepatite C) (VASILAROU, *et al.*, 2021).

Recentemente, a Organização Mundial de Saúde declarou que a COVID-19 não é mais uma emergência de saúde pública a nível global (WHO, 2023). Contudo, o surgimento de novas variantes permitindo a transmissão para pessoas vacinadas é esperado e a virulência pode aumentar ou diminuir, a depender das características adquiridas. Tal fenômeno deve ser monitorizado de perto para diminuir o risco de uma nova pandemia, bem como deve-se reforçar a vacinação completa, inclusive com doses de reforço e medidas de prevenção, sobretudo na população de imunocomprometidos (OTTO, *et al.*, 2021).

1.4. Quadro Clínico e Prognóstico

A COVID-19 pode acometer indivíduos de qualquer sexo e idade, contudo, homens idosos e portadores de comorbidades, com destaque para hipertensão, diabetes mellitus e obesidade, são os grupos mais propensos a desenvolver formas graves da doença e necessitam de internação hospitalar, enquanto jovens saudáveis, em geral, são assintomáticos ou oligossintomáticos (GUAN *et al.*, 2020; RICHARDSON *et al.*, 2020).

Os sintomas mais comuns são febre, fadiga e tosse seca. Outros sintomas incluem alterações do olfato, cefaléia, odinofagia, anorexia, diarreia, náuseas e vômitos (WU *et al.*, 2020). A maioria dos sintomas aparecem após um período de incubação de 1 a 14 dias (mais comumente após 5 dias) e são autolimitados com resolução espontânea e necessidade do uso de medicações para controle dos sintomas apenas.

Naqueles pacientes com indicação de internamento hospitalar, a dispnéia é um sintoma prevalente na admissão e, em geral, desenvolve-se após cerca de 8 dias do início da doença (WU *et al.*, 2020). Dentre os sinais clínicos, a hipóxia é o de maior relevância, associando-se à evolução para a forma crítica da COVID-19 (PETRILLI *et al.*, 2020). Grande parte desses pacientes vai apresentar o achado de pneumonia bilateral nos exames radiológicos e evoluir com Síndrome Respiratória Aguda Grave (SRAG).

Em um estudo com 72.314 pacientes na China, evidenciou-se que 81% dos pacientes desenvolveram formas leves da doença, 14% foram casos graves com necessidade de internamento na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) e 5% foram casos críticos nos quais os pacientes evoluíram com disfunções de múltiplos órgãos, insuficiência respiratória e choque séptico (WU *et al.*, 2020).

Pacientes que evoluem com múltiplas disfunções orgânicas apresentam pior prognóstico e apresentam elevadas taxas de mortalidade, em especial idosos e pacientes com necessidade de uso de monitorização e terapias invasivas de suporte à vida na UTI, tais como ventilação mecânica invasiva e diálise, podendo chegar a mais de 95% de mortalidade (RICHARDSON *et al.*, 2020).

Devido ao impacto social e econômico da pandemia, a comunidade científica esforçou-se para o desenvolvimento de vacinas em tempo recorde. Em uma revisão que incluiu 51 estudos em 14 países que tratavam da eficácia das vacinas contra a COVID-19, os resultados sugerem diminuição da necessidade de hospitalização, prevenção de desenvolvimento de formas grave, diminuição da necessidade de internação na UTI e redução da mortalidade na população completamente vacinada (ZHENG *et al.*, 2022).

Paciente imunocomprometidos, incluindo indivíduos com malignidades hematológicas e de órgãos sólidos ou submetidos a transplante de células-tronco ou órgãos sólidos, bem como pacientes com erros inatos de imunidade ou doenças autoimunes dermatológicas e sistêmicas, compõe uma população de alto risco de evolução desfavorável. Apesar dos estudos não demonstrarem suscetibilidade aumentada à infecção pelo SARS-CoV-2 em comparação com a população geral, a gravidade da doença, a dinâmica e a persistência da soroconversão após a infecção podem diferir. Além disso, esse grupo possui taxas de mortalidade significativamente mais altas. Neste contexto, é de extrema importância investigar o impacto da vacinação neste grupo de pacientes (MOHAMED, *et al.*, 2022).

1.5. Fisiopatologia da Lesão Endotelial associada à COVID-19

A fisiopatologia da COVID-19 mostrou-se extremamente complexa, com múltiplos mecanismos associados, tais como: efeitos citopáticos diretos do vírus, resposta imune desregulada caracterizada pela "tempestade de citocinas",

coagulopatia secundária à lesão endotelial, trombose mediada por efeitos imunes, dentre outros.

Resposta imune inata hiperinflamatória e resposta adaptativa inadequada estão envolvidos na disfunção orgânica que pode acometer parte dos indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2. Também foi observado que tal desequilíbrio pode levar ao desencadeamento de condições autoimunes e autoinflamatórias (EIJK *et al.*, 2021). Várias condições autoimunes podem estar associadas à COVID-19, dentre elas púrpura trombocitopênica trombótica (PTT) (HINDILERDEN *et al.*, 2020) e síndrome antifosfolípídica (SAA) (ZHANG *et al.*, 2020), condições que cursam com lesão de células endoteliais, microangiopatia trombótica e hipercoagulabilidade.

O SARS-Cov-2 entra na célula através de ligação com o receptor Enzima Conversora da Angiotensina 2 (ECA 2), presente nas células dos túbulos proximais e podócitos renais, por exemplo, reduzindo a degradação de angiotensina II em angiotensina 1-7 que tem ação vasodilatadora e diminui a liberação de citocinas inflamatórias. Os níveis aumentados de angiotensina II promovem ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), levando à inflamação, fibrose e vasoconstrição (GABARRE *et al.*, 2020).

A entrada do vírus na célula também resulta em cascatas de sinalização que levam à produção de Interferon I (IFN I) e citocinas pró-inflamatórias que irão limitar a replicação viral e induzir à apoptose das células infectadas, levando ao controle da doença. Contudo, várias proteínas do SARS-CoV-2 podem suprimir tal cascata e retardar esse processo, levando a uma replicação viral exacerbada com maior disseminação viral, bem como culminando com hiperinflamação e lesão tecidual (TIAN *et al.*, 2020).

O sistema complemento também possui papel importante da fisiopatologia da doença, uma vez que sua ativação de forma exacerbada resulta de inflamação, disfunção endotelial e coagulação intravascular disseminada (NORIS *et al.*, 2020).

A resposta imune exacerbada, por sua vez, leva à formação de moléculas que resultam na expressão aumentada de fator tecidual, que ativa as vias intrínseca e extrínseca da coagulação, bem como à liberação de produtos denominados *neutrophil extracellular trap* (NETs) que, além de matar o patógeno, também podem induzir ao estado pró-coagulante (ENGELMANN *et al.*, 2013).

Quando as células endoteliais sofrem o efeito citopático direto do SARS-Cov-2, ou têm contato com *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) derivadas do vírus (tais como lipopolissacarídeos e citocinas pró-inflamatórias) ou *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) derivadas de células mortas, o endotélio torna-se ativado (LIBBY *et al.*, 2020).

1.6. Injúria Renal Aguda associada à COVID-19

Nas primeiras séries de casos publicadas, a incidência de Injúria Renal Aguda (IRA) nos pacientes hospitalizados por COVID-19 não parecia algo preocupante. Alguns trabalhos mostraram alterações nos níveis de creatinina sérica em apenas 10,8% dos pacientes (WANG *et al.*, 2020).

Ao longo da pandemia, análises posteriores demonstraram que a COVID-19 era capaz de causar disfunção de vários sistemas, além do respiratório. Nos pacientes graves com necessidade de internação hospitalar, sobretudo naqueles internados em Unidades de Terapia Intensiva, a IRA ganhou notoriedade por parte da comunidade acadêmica, sobretudo pela preocupação pela demanda de recursos de alto custo nos casos graves e risco de colapso do sistema de saúde. Estudos demonstraram uma incidência de quase 40% de IRA em pacientes hospitalizados (NG *et al.*, 2021). Relatos da Europa e dos EUA indicaram incidência muito elevada de IRA nos pacientes internados em UTI com até 45% desse grupo necessitando de terapia substitutiva renal (TSR) (HIRSCH *et al.*, 2020). A presença de IRA é fator de péssimo prognóstico nos pacientes com COVID-19 e associa-se ao aumento da mortalidade, especialmente naqueles com necessidade de diálise (GUPTA *et al.*, 2021).

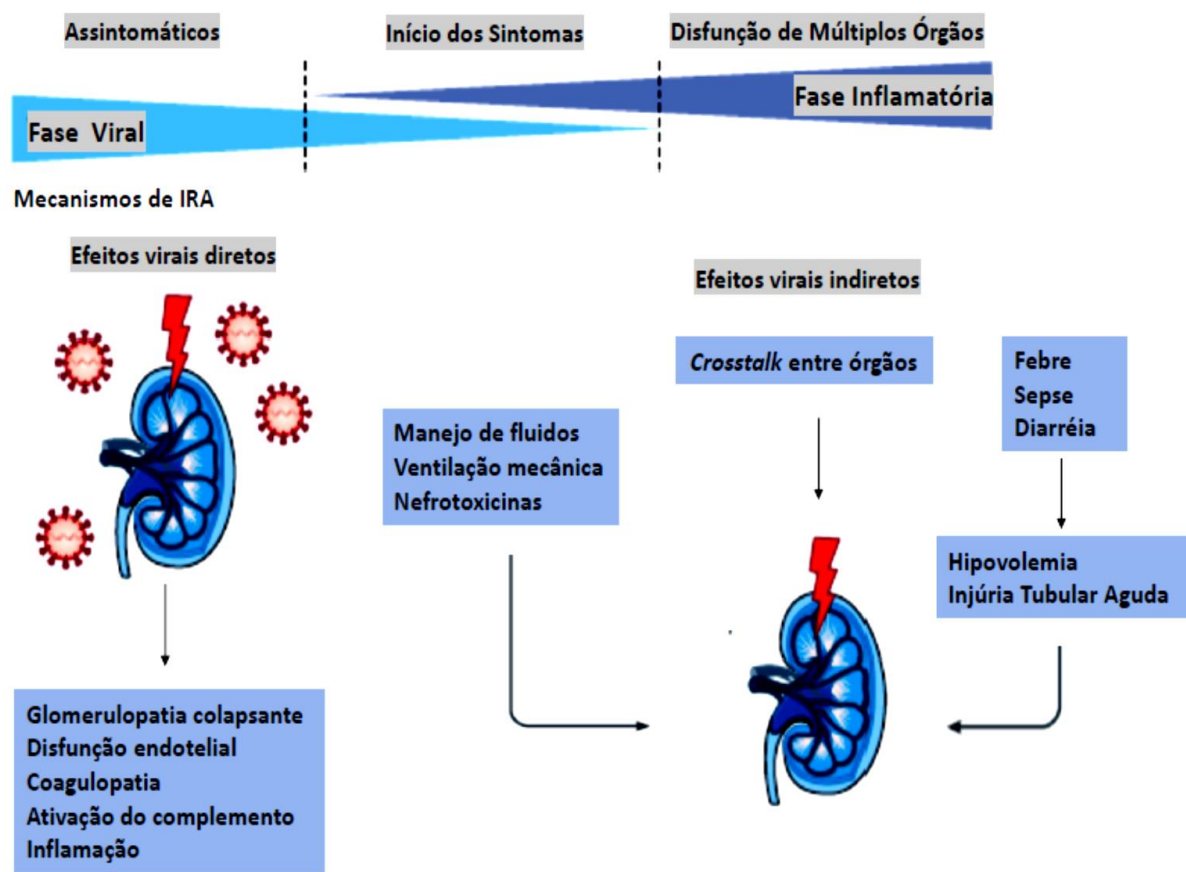
O mecanismo de injúria renal associado a infecção pelo SARS-CoV-2 é complexo e multifatorial.

Mecanismos não específicos envolvem: características da própria população (idosos, portadores de comorbidades), hipovolemia (secundária aos sintomas apresentados, tais como vômitos, febre, diarréia), uso altas pressões durante a ventilação mecânica gerando aumento da pressão intratorácica e conseqüente redução da pré-carga e do débito cardíaco, disfunção cardíaca, sepse, hipoxemia e uso de drogas nefrotóxicas.

Postula-se que a resposta imune e inflamatória, lesão endotelial, ativação das vias de coagulação e do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) são os protagonistas da IRA associada à COVID-19 (SHARMA *et al.*, 2020).

Citocinas são liberadas no pulmão em resposta à formação de *damage-associated molecular patterns* (DAMPs) e *pathogen-associated molecular patterns* (PAMPs) e contribuem para o recrutamento de células inflamatórias e dano tecidual levando à Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA). A liberação de DAMPs e PAMPs na circulação ativa o processo inflamatório regional no rim, a resposta imune e a trombose imuno-mediada (LEGRAND *et al.*, 2021).

Figura - 1 - Fisiopatologia da IRA associada à COVID-19.



Fonte: Adaptado de NADIM *et al.*, 2020.

1.7. Biomarcadores endoteliais e Injúria Renal Aguda

O nível sérico de creatinina (Cr) ainda é o biomarcador mais amplamente utilizado para o diagnóstico de injúria renal aguda. Contudo, ele somente apresentará aumento quando já tiver instalado um dano renal grave que leve à um comprometimento avançado da taxa de filtração glomerular (TFG) e sua consequente redução (URBSCHAT *et al.*, 2011). Dessa forma, novos biomarcadores têm sido objeto de estudo com o intuito de detectar a IRA de forma mais precoce.

Foi demonstrado em estudos anteriores que a disfunção endotelial tem um papel na fisiopatologia da disfunção orgânica em alguns cenários, inclusive no comprometimento da função renal (CLARK *et al.*, 2014).

O endotélio é uma camada de diferentes células com diferentes funções que reveste os vasos sanguíneos e linfáticos e é responsável pela manutenção da perfusão tecidual e do tônus vascular. Essa camada também cria, na interface com o sangue e seus componentes, um microambiente antitrombótico e anti-inflamatório.

Dentre os processos regulados pelo endotélio, podemos destacar: angiogênese (através da ação da angiopoietina 2, por exemplo), homeostase e coagulação (através do efeito protetor do glicocálice e da síntese de fatores pró-coagulantes e anticoagulantes), regulação do tônus vascular (pela produção de substâncias vasodilatadoras, tal como o óxido nítrico), inflamação (pela produção de fatores tais como *vascular cell adhesion protein 1* - VCAM-1) e regulação da ativação do complemento e do estresse oxidativo (JOURDE-CHICE *et al.*, 2019).

O rim é um órgão extremamente vascularizado e possui uma ampla variedade de células endoteliais (CE), tais como: CE glomerulares, CE dos capilares peritubulares e CE das grandes veias e artérias renais. Cada uma dessas populações de células exerce diferentes funções e é exposta à fatores estressantes distintos, tais como diferentes forças de cisalhamento do fluxo sanguíneo, diferentes pressões de oxigênio e osmolalidades. As CE glomerulares atuam na filtração glomerular, enquanto as CE dos capilares peritubulares atuam na secreção e reabsorção tubular (SATCHELL *et al.*, 2009).

As células endoteliais glomerulares fazem parte de uma espessa camada rica em proteoglicanas e glicosaminoglicanas denominada glicocálice, que fica ancorada na membrana basal glomerular e cujo papel está na regulação da permeabilidade

vascular e no balanço de fluidos. A espessura do glicocálice é maior que a das moléculas de adesão celulares, tais como *vascular cell adhesion protein 1* (VCAM-1) e *intercell adhesion molecula 1* (ICAM-1), expressas pelas CE, dificultando a adesão celular ao endotélio.

Sob condições de geram sua ativação, tais como inflamação (produção de TNF, IFN, IL-1), lesão, estresse oxidativo e infecção, ocorrem alterações que geram *downregulation* de fatores protetores e a *upregulation* de moléculas de adesão e de receptores inflamatórios, bem como alterações que levam à degradação do glicocálice e aumento da exposição de moléculas de adesão e consequente recrutamento de leucócitos e perpetuação da cascata de inflamação. CE disfuncionais e apoptóticas levam à exposição da matriz extra-celular com seu componente pró-coagulante fator tecidual aos componentes da cascata de coagulação, levando à sua ativação.

É importante ressaltar que os biomarcadores disponíveis utilizados para avaliar a função endotelial em humanos refletem disfunção endotelial sistêmica em vez de disfunção órgão-específica e o exame histológico renal seria necessário para análise especificamente da injúria endotelial renal (RABELINK *et al.*, 2010).

Há algum tempo os biomarcadores vasculares também se revelaram objeto de interesse para a predição da necessidade de hemodiálise em diversos cenários. Níveis de marcadores de dano ao glicocálice e às células endoteliais se mostraram mais altos em pacientes em diálise (LIEW *et al.*, 2021). Em um estudo com pacientes internados por leptospirose grave, níveis elevados de syndecan-1 e angiopoietina-2 no momento da admissão no hospital estiveram associados com a necessidade de suporte substitutivo renal (MENESES *et al.*, 2022).

1.7.1. VCAM-1

A molécula *vascular cell adhesion protein 1* (VCAM-1) é expressa na membrana de células endoteliais ativadas e promove a adesão de leucócitos. Estudos anteriores demonstraram que os níveis circulantes de VCAM-1 refletem a ativação e o dano endotelial (LIBBY *et al.*, 2020), bem como nível elevados associam-se ao desenvolvimento de injúria renal aguda (MEERSCH *et al.*, 2019). Em pacientes com insuficiência respiratória grave secundária à COVID-19, os níveis de VCAM-1 mostraram-se mais altos em não sobreviventes (LAMPASAS *et al.*, 2021), apoiando a

hipótese de que a COVID-19 afetaria especificamente o endotélio (VIECELI *et al.*, 2021).

1.7.2. Syndecan-1

A inflamação pode induzir a degradação do glicocálice endotelial e a liberação de seus componentes, como o syndecan-1, que pode ser usado como biomarcador de lesão (UCHIMIDO *et al.*, 2019). Esse processo leva ao aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação desregulada e trombose de microvasos, que culminam em perpetuação do dano endotelial, inflamação e coagulopatia (JOHANSSON *et al.*, 2011). Os níveis de syndecan-1 aumentam gradualmente ao passo em ocorre progressão da disfunção renal (QIN *et al.*, 2020). Pacientes com COVID-19 e altos níveis de Syndecan-1 desenvolvem danos endoteliais e reações inflamatórias mais exacerbados e têm maior mortalidade (ZHANG *et al.*, 2021).

1.7.3. Angiopoeitinas 1 e 2

O sistema angiopoietina está envolvido na geração, desenvolvimento e maturação vascular e o adequado funcionamento do endotélio depende do equilíbrio desse sistema (MORISADA *et al.*, 2006). A angiopoietina-1 (Ang-1) contribui para a diferenciação vascular durante a angiogênese, bem como para a manutenção e renovação dos vasos sanguíneos e estudos já demonstraram que esses efeitos desempenham um papel protetor na injúria renal aguda (CHIANG *et al.*, 2019). Condições clínicas que levam à supressão da expressão de Ang-1, como sepse e SARS, e podem influenciar no desenvolvimento e recuperação de lesões renais (RICCIUTO *et al.*, 2011).

Por sua vez, a angiopoietina-2 (Ang-2) é rapidamente liberada após ativação endotelial por citocinas inflamatórias ou trombina e participa da resposta endotelial, induzindo inflamação, hiperpermeabilidade vascular e apoptose (LI, YIN, GUO, 2020). Altos níveis séricos de Ang-2 foram encontrados em pacientes com sepse ou SARS e foram relacionados ao aumento da mortalidade, bem como em pacientes com casos graves de COVID-19 e necessidade de internação em UTI (SMADJA *et al.*, 2021).

1.8. Justificativa do Estudo

O presente trabalho é um dos primeiros estudos brasileiros a analisar a correlação entre biomarcadores de lesão endotelial e o desenvolvimento de injúria renal grave, de forma a predizer a necessidade de suporte dialítico, bem como o prognóstico dessa população durante o internamento na UTI.

A relevância dos achados que aqui serão descritos reside na possibilidade de auxiliar os profissionais de saúde a identificarem de forma precoce a população com maior risco de desenvolvimento de dano renal grave, de forma a traçar estratégias que previnam o agravamento de tal injúria, na tentativa de diminuir a necessidade de diálise e complicações, bem como ter impacto na redução de custos relacionados à saúde e mortalidade.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar o papel dos biomarcadores vasculares como preditor da necessidade de hemodiálise e do prognóstico em pacientes críticos com COVID-19.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever as características clínicas e laboratoriais admissionais dos pacientes críticos com COVID-19 que necessitaram de diálise durante internamento na UTI;
- Determinar os níveis séricos de biomarcadores endoteliais dos pacientes no momento da admissão na UTI, de acordo com a necessidade ou não de diálise;
- Analisar a mortalidade da população estudada de acordo com os níveis de biomarcadores endoteliais;
- Determinar a performance dos biomarcadores endoteliais na predição da necessidade de diálise, bem como velocidade de evolução da injúria renal até a necessidade suporte dialítico, durante internamento na UTI;

3. METODOLOGIA

3.1. Desenho do Estudo

Trata-se de um estudo prospectivo, realizado com pacientes graves internados na Unidade de Terapia Intensiva (UTI) por COVID-19.

3.2. Caracterização do Local do Estudo

Foram estudados pacientes com diagnóstico clínico e laboratorial internados na UTI do Hospital Instituto Doutor José Frota (IJF), localizado no município de Fortaleza, estado do Ceará, Nordeste do Brasil, durante o período de junho de 2020 a abril de 2021.

O IJF é reconhecido pela sociedade como um complexo hospitalar terciário de excelência com foco no atendimento de urgência e emergência a pacientes vítimas de trauma, bem como foco no desenvolvimento do ensino e pesquisa. O hospital tem mais de 600 leitos de internação e, durante a pandemia, foi adaptado para também dar suporte a pacientes com COVID-19 que necessitavam de hospitalização, sobretudo em leitos de terapia intensiva, sendo a principal referência municipal para o tratamento de pacientes com formas graves da doença. Durante o período do estudo, o hospital contou com até 100 leitos de UTI e mais de 50 leitos de enfermaria voltados para indivíduos infectados pelo SARS-CoV-2.

Todos os pacientes internados com COVID-19 do estudo eram selecionados através da Central de Regulação do Município, provenientes de outras unidades hospitalares, tais como Unidades de Pronto Atendimento (UPA) ou outros hospitais secundários. Tais pacientes eram admitidos diretamente na UTI ou enfermaria do IJF. Pacientes admitidos na enfermaria, caso evoluíssem de forma desfavorável, eram encaminhados para UTI.

3.3. População do Estudo

O estudo incluiu pacientes de ambos os sexos, com 18 anos ou mais, que tiveram diagnóstico confirmado de COVID-19 por RT-PCR e que concordaram em participar na pesquisa e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido.

Foram excluídos pacientes com doença renal prévia registrada em prontuário e internados por outras causas principais que não a COVID-19 ou que adquiriram a COVID-19 durante a internação hospitalar.

Também foram excluídos pacientes que faleceram nas primeiras horas de internação na UTI e pacientes sem informação sobre o horário exato de início da diálise.

Foram admitidos na UTI do IJF 368 pacientes, sendo coletadas amostras sanguíneas para análise de 116 desses pacientes. Foram excluídos 23 pacientes que apresentaram RT-PCR negativo para COVID-19. Dentre os 93 pacientes restantes, 15 foram excluídos devido a causa principal do internamento da UTI não ser COVID-19 (2 pacientes internados por epilepsia e convulsão, 7 internados por politrauma, 2 internados por pneumonia e 4 internados por outras causas não especificadas).

Também foram excluídos 4 pacientes portadores de doença renal crônica (DRC) prévia e 16 pacientes que foram à óbito ainda dentro das primeiras 24 horas após admissão na UTI.

Dessa forma, nosso estudo incluiu 58 pacientes graves portadores de COVID-19 internados na UTI, sendo que desses, 21 pacientes necessitaram de diálise (Fig. 2 Pacientes críticos COVID-19 incluídos no estudo). Todos os pacientes eram não vacinados, uma vez que não havia, naquele momento, disponibilidade de uma vacina comprovadamente eficaz.

3.4. Coleta de Dados Clínicos

Todos os pacientes recrutados tiveram dados clínicos analisados a partir dos prontuários médicos por membro treinado da equipe de pesquisa.

3.5. Parâmetros estudados

3.5.1 Parâmetros clínicos

Os pacientes foram acompanhados durante toda a internação na UTI. Os prontuários médicos foram avaliados quanto às características dos pacientes, como parâmetros sociodemográficos, sintomas e comorbidades, tempo de internação na UTI, tempo desde a admissão na UTI até a primeira diálise, número de sessões de diálise, tempo entre o início dos sintomas e a admissão na UTI, cuidados de suporte (uso de vasopressores, necessidade de ventilação mecânica e diálise) e sobrevida. A gravidade dos pacientes internados na UTI foi estimada por meio do Simplified Acute Physiology Score 3 (SAPS3). Trata-se de uma ferramenta internacional que utiliza dados da admissão do paciente na UTI para avaliar a probabilidade de óbito no desfecho hospitalar (MORENO *et al.*, 2005). SAPS 3, índice de oxigenação (calculado usando a relação entre pressão parcial de oxigênio arterial (PaO₂ em mmHg) e oxigênio fracionado inspirado (FiO₂), mortalidade, tempo de internação na UTI e todos os dados da UTI foram calculados a partir de um programa de banco de dados em nuvem (Sistema Epimed™ ®). <https://www.epimed-solutions.com/sistema-epimed-monitor-uti/>.

3.5.2. Parâmetros laboratoriais

Para verificar se os pacientes apresentavam IRA ou não, foi utilizado o critério baseado no nível de creatinina sérica do Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO) (KELLUM *et al.*, 2013). O estágio 1 da IRA foi considerado para pacientes que tiveram aumentos de creatinina sérica (Cr) $\geq 0,3$ mg/dL e até 2 vezes acima do Cr basal. Aumentos na faixa de 2 a 3 vezes maiores que o nível basal de Cr foram classificados como IRA estágio 2 e aumentos no nível de Cr mais de 3 vezes do nível basal, assim como valores de Cr ≥ 4 mg/dL foram considerada como estágio 3 da IRA.

3.6. Métodos analíticos

Todos os exames bioquímicos foram analisados pelo laboratório do próprio hospital através do analisador bioquímico Modelo CMD 800i (Wiener®). O método de análise de cada um foi:

- Creatinina: Determinada pela reação de Jaffé. Os resultados foram expressos em mg/dL.
- Uréia: Determinada pela reação de urease.
- Proteína-C reativa (PCR): Determinada pelo método de imunoturbidimetria automatizado.
- Hemoglobina: Determinada pelo método de absorção espectrofotométrica.
- Leucócitos: Determinado pelo método de citometria de fluxo utilizando o semicondutor laser.
- Plaquetas: Determinada pelo método de impedância elétrica.
- Potássio: Determinado pelo método íon-seletivo.
- AST e ALT: Determinados pelo método de reação ultravioleta.
- LDH: Determinada pelo método de reação ultravioleta.
- Bilirrubinas: Determinada pelo método de reação de Diclorofenildiazônio.
- D-dímero: Determinada pelo método de imunoturbidimetria automatizado.
- Hemoglobina, leucócitos e plaquetas foram realizados no analisador hematológico Modelo Advia 212 (Siemens®).
- D-dímero realizado no aparelho CS-2500 (Sysmex®).

3.7. Coleta de material biológico e de biomarcadores endoteliais

Todos os pacientes recrutados tiveram amostras de sangue coletadas na admissão hospitalar através de punção venosa por profissional da equipe de enfermagem devidamente treinado para esse procedimento. Essas amostras foram centrifugadas, aliquotadas e congelados a -80 °C até a análise dos biomarcadores.

Os biomarcadores endoteliais foram quantificados por ensaios de ELISA, usando amostras isoladas de soro dos pacientes incluídos. Kits específicos foram adquiridos da R&D Systems[®] para Angiopoietina-1 (cat# DY623) e Angiopoietina-2 (cat# DY623). No caso do VCAM-1 e do Syndecan-1, foram utilizados os kits da Abcam[®] (ab47355 e ab47352), respectivamente. Os procedimentos foram seguidos de acordo com as recomendações do fabricante. As análises foram realizadas no Laboratório da Biologia da Cicatrização, Ontogenia e Cicatrização de Tecidos (LABICONTE) e no Laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica (LBFBC) da Universidade Federal do Ceará.

3.8. Análise estatística

Dados categóricos foram expressos como contagens absolutas e porcentagens. O teste qui-quadrado ou teste exato de Fisher foi utilizado para avaliar a associação entre dados categóricos e necessidade de diálise durante a internação na UTI. Os dados quantitativos foram explorados e a normalidade foi determinada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov. Dados normais foram expressos como média \pm desvio padrão e dados não normais como mediana e intervalo interquartil. Os dados quantitativos foram comparados segundo a necessidade de diálise durante a internação na UTI por meio do teste *t de Student* ou teste de Mann-Whitney, segundo a normalidade dos dados.

Para avaliar o desempenho preditivo dos biomarcadores endoteliais para necessidade de diálise durante a permanência na UTI, curvas ROC foram construídas e a área sob a curva ROC (AUC-ROC) juntamente com os intervalos de confiança de 95% foram estimados. O melhor corte para cada biomarcador foi determinado usando o índice de Youden mais alto (Índice de Youden = sensibilidade + especificidade - 1). Além disso, os pacientes foram estratificados de acordo com pontos de corte selecionados (menor vs maior que ponto de corte), com o objetivo de avaliar o valor prognóstico durante os primeiros 30 dias de internação na UTI por meio da análise de Kaplan-Meier usando a “primeira diálise” como evento dependente. O teste de log-rank foi usado para avaliar a diferença estatística entre os dois grupos com base no ponto de corte grupos. Além disso, análises de regressão de riscos proporcionais de Cox não ajustadas e ajustadas foram realizadas usando níveis quantitativos de biomarcadores endoteliais e parâmetros previamente associados à necessidade de

diálise (usando como condição $p < 0,05$). Níveis de plaquetas, idade, sexo e colinearidade das variáveis foram avaliados. Para o modelo multivariado, foi utilizado o método *stepwise* do tipo *backward* com razão de verossimilhança, com os modelos iniciais incluindo todas as variáveis. Os níveis de plaquetas foram removidos manualmente de modelos específicos com o objetivo de investigar os modelos explicativos para a necessidade de diálise sem influência das plaquetas. Os dados foram analisados usando o software SPSS para Macintosh, versão 23 (Armonk, NY: IBM Corp.). Um valor de $p < 0,05$ foi considerado estatisticamente significativo para todos os testes analíticos.

3.9. Ética

Este estudo foi aprovado em 16 de maio de 2020 pelo Comitê de Ética em Pesquisa Nacional - CONEP, sob o título de **"MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS, COMPLICAÇÕES, FATORES PROGNÓSTICOS E TRATAMENTO DE PACIENTES INTERNADOS DEVIDO À INFECÇÃO POR CORONAVÍRUS EM SALVADOR E FORTALEZA"** (CAAE: 30579020.4.1001.0008), e todos os procedimentos estão de acordo com a resolução 466/2012, que regularmenta a pesquisa envolvendo seres humanos no Brasil.

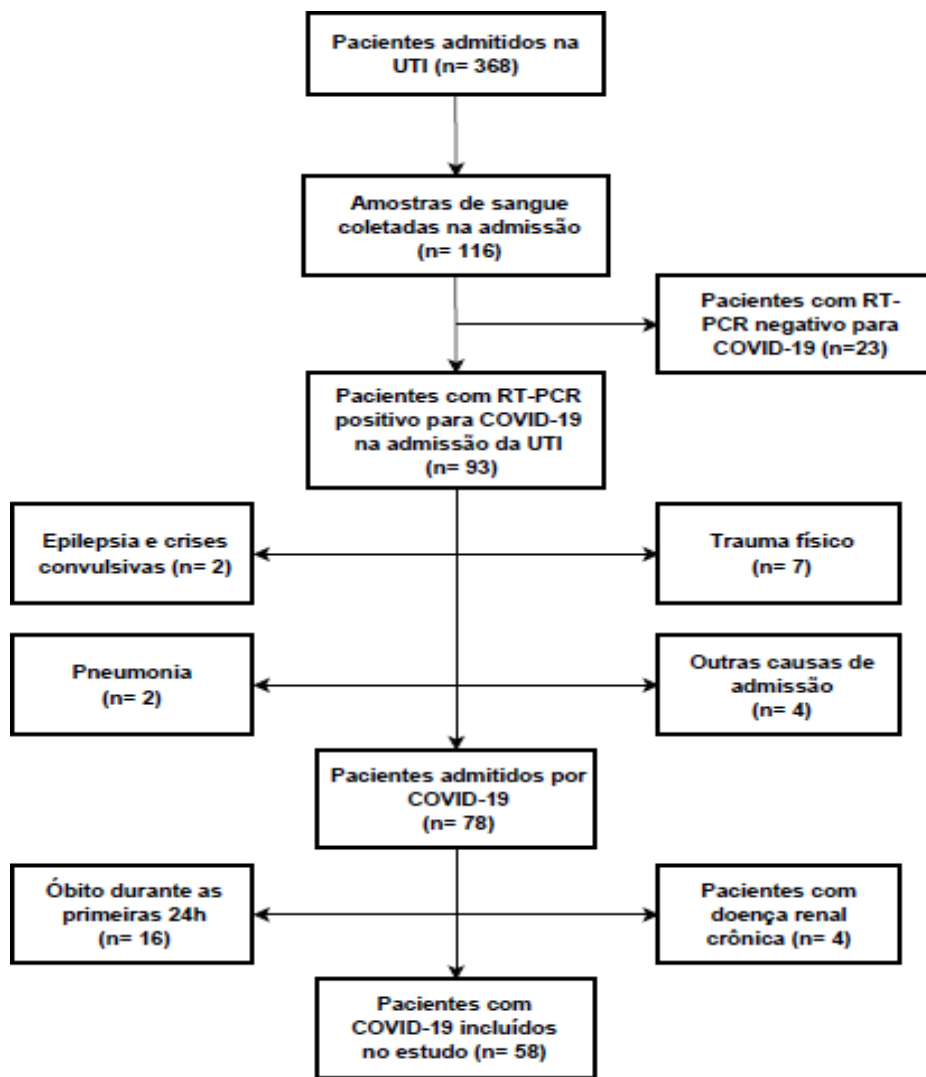
Os pacientes foram informados sobre o objetivo do estudo e, ao aceitarem participar, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes do início da avaliação. Como alguns pacientes internados necessitaram de atendimento imediato na UTI e não puderam assinar o termo, este foi assinado por um familiar.

4. RESULTADOS

4.1. Características de pacientes com COVID-19 internados em UTI e necessidade de diálise

Foram incluídos no estudo um total de 58 pacientes com diagnóstico confirmado de COVID-19 como principal causa de internação (Fig. 2 Fluxograma dos pacientes críticos COVID-19 incluídos), dos quais, 37 pacientes (63,79%) evoluíram com necessidade de diálise durante o internamento na UTI. Os pacientes que necessitaram de diálise eram mais velhos ($62,4 \pm 12,5$ vs. $53,5 \pm 16,5$ anos, $p=0,037$) e tinham maior prevalência de IRA (95% vs 39%, $p<0,001$).

Figura. 2 - Pacientes críticos COVID-19 incluídos no estudo.



Em ambos os grupos houve maior predomínio de pacientes do sexo masculino (58,5% vs. 52,4%). Não houve diferença significativa em relação a sexo, tempo entre o início dos sintomas e a admissão na UTI, bem como com relação aos sintomas e comorbidades.

Além disso, o grupo de diálise necessitou de mais uso de vasopressor (70% vs. 26%, $p=0,001$) e ventilação mecânica (95% vs. 69%, $p=0,022$) na admissão na UTI e apresentou maior taxa de mortalidade em comparação com o grupo que não necessitou de diálise durante a internação na UTI (76,2% vs. 23,8%, $p<0,001$). Não houve diferença significativa com relação ao tempo de permanência na UTI (Tabela 1).

Tabela 1 - Características, SAPS3 e parâmetros laboratoriais dos pacientes críticos com COVID-19 no momento da admissão na UTI de acordo com a necessidade de diálise durante o internamento na UTI.

| | Diálise na UTI | | |
|--|-----------------------|--------------------|------------------|
| | Não (n=37) | Sim (n=21) | p* |
| Idade (anos) | 53.5 ± 16.5 | 62.4 ± 12.5 | 0.037 |
| Gênero (masculino) | 22 (59.5) | 11 (52.4) | 0.601 |
| Tempo entre a admissão na UTI até a primeira diálise (dias) | - | 6 (2 - 7) | - |
| Número de sessões de diálise | - | 5.5 (2 - 10) | - |
| Tempo entre o início dos sintomas e a admissão na UTI (dias) | 10 (8 - 15) | 10 (6 - 13) | 0.684 |
| Sintomas e comorbidades | | | |
| Comorbidades | 23 (63.9) | 16 (76.2) | 0.335 |
| Febre na admissão | 20 (62.5) | 15 (78.9) | 0.221 |
| Dispnéia | 34 (91.9) | 19 (90.5) | 1.000 |
| Saturação | 23 (63.9) | 14 (66.7) | 0.832 |
| Doença cardíaca | 7 (20) | 6 (31.6) | 0.506 |
| Doença hepática | 0 (0) | 1 (5.3) | 0.358 |
| Asma | 2 (5.9) | 1 (5.3) | 1.000 |
| Diabetes | 9 (24.3) | 8 (40) | 0.217 |
| Doença neurológica | 2 (5.9) | 1 (5) | 1.000 |
| Doença pulmonar | 1 (2.9) | 0 (0) | 1.000 |
| Obesidade | 13 (36.1) | 6 (31,6) | 0.737 |
| Hipertensão arterial | 14 (37.8) | 11 (52.4) | 0.282 |
| Injúria renal aguda | 14 (38.9) | 19 (95) | <0.001 |
| Uso de vasopressores | 9 (25.7) | 14 (70) | 0.001 |
| Uso de ventilação mecânica | 24 (68.6) | 19 (95) | 0.022 |
| Desfecho | | | <0.001 |
| Sobreviventes | 37 (100) | 5 (23.8) | |
| Não-sobreviventes | 0 (0) | 16 (76.2) | |

CONTINUAÇÃO

| | | | |
|---|-------------------------|---------------------------|------------------|
| Tempo permanência na UTI (dias) | 12 (6 - 17) | 10,5 (6 - 19) | 0.944 |
| SAPS 3 e Dados laboratoriais | | | |
| Escore SAPS3 | 49.5 ± 14.2 | 63 ± 13.8 | <0.001 |
| Hemoglobina (g/L) | 121 ± 21 | 115 ± 22 | 0.348 |
| Contagem de leucócitos (x 10 ⁹ /L) | 12 ± 4.5 | 13.5 ± 4.3 | 0.226 |
| Contagem de linfócitos (x 10 ⁹ /L) | 0.8 (0.6 – 1.2) | 0.7 (0.6 – 1.15) | 0.468 |
| Contagem de plaquetas (x 10⁹/L) | 291 ± 95 | 193 ± 102 | 0.001 |
| Uréia (mg/dL) | 39 (28 - 55) | 100 (40 - 170) | <0.001 |
| Creatinina (mg/dL) | 0.7 (0.6 – 0.95) | 1.6 (1 – 2.6) | <0.001 |
| Potássio (mEq/L) | 4.26 ± 0.67 | 4.2 ± 0.77 | 0.756 |
| AST (U/L) | 48 (30 - 63) | 55 (32 - 83) | 0.337 |
| ALT (U/L) | 48 (29 - 68) | 50 (28 - 71) | 0.912 |
| LDH (U/L) | 707 (556 - 892) | 888 (743.5 - 1355) | 0.014 |
| Bilirrubina total (mg/dL) | 0.52 (0.31 – 0.76) | 0.52 (0.34 – 0.91) | 0.677 |
| PCR (pg/mL) | 145.5 (36.8 – 208.3) | 161.1 (72.5 – 210.1) | 0.525 |
| D-Dímero (ng/mL) | 1.81 (0.78 – 2.46) | 2.26 (0.58 – 6.09) | 0.646 |

Dados contínuos expressos como mediana e intervalo interquartil entre parênteses para dados não normais, ou como média ± desvio padrão para dados normais. *O teste Qui-quadrado ou exato de Fisher foi usado para dados categóricos. *Aplicou-se o teste t de Mann-Whitney ou Student de acordo com a normalidade dos dados. AST: Aspartato transaminase; ALT: Alanina transaminase; LDH: Lactato desidrogenase; PCR: proteína C reativa.

A pontuação SAPS3 na admissão na UTI foi marcadamente maior em pacientes com COVID-19 que necessitaram de diálise durante a internação na UTI (63 ± 13,8 vs. 49,5 ± 14,2, p<0,001).

Ao analisarmos os parâmetros laboratoriais no momento da admissão na UTI, os pacientes com COVID-19 que precisaram de diálise durante a internação na UTI apresentaram menor nível de plaquetas e maiores níveis de LDH, uréia e creatinina. Nenhuma significância estatística foi observada para os níveis de D-dímero e PCR, bem como para a hemoglobina, quaisquer parâmetros do leucograma e quaisquer marcadores hepáticos (bilirrubina total, AST, ALT). (Tabela 1).

4.2. Níveis precoces de biomarcadores endoteliais e necessidade de diálise em pacientes críticos com COVID-19

Foram analisados os níveis de biomarcadores vasculares na admissão de acordo com a necessidade ou não de diálise durante o internamento na UTI. A mediana dos níveis de VCAM-1 foi de 1346 ng/mL (AIQ: 1026-3569ng/mL; p=0,031) e a da razão Ang-2/Ang-1 foi de 0,11 (AIQ: 0,05-0,45; p=0,022), mostrando melhor associação com hemodiálise.

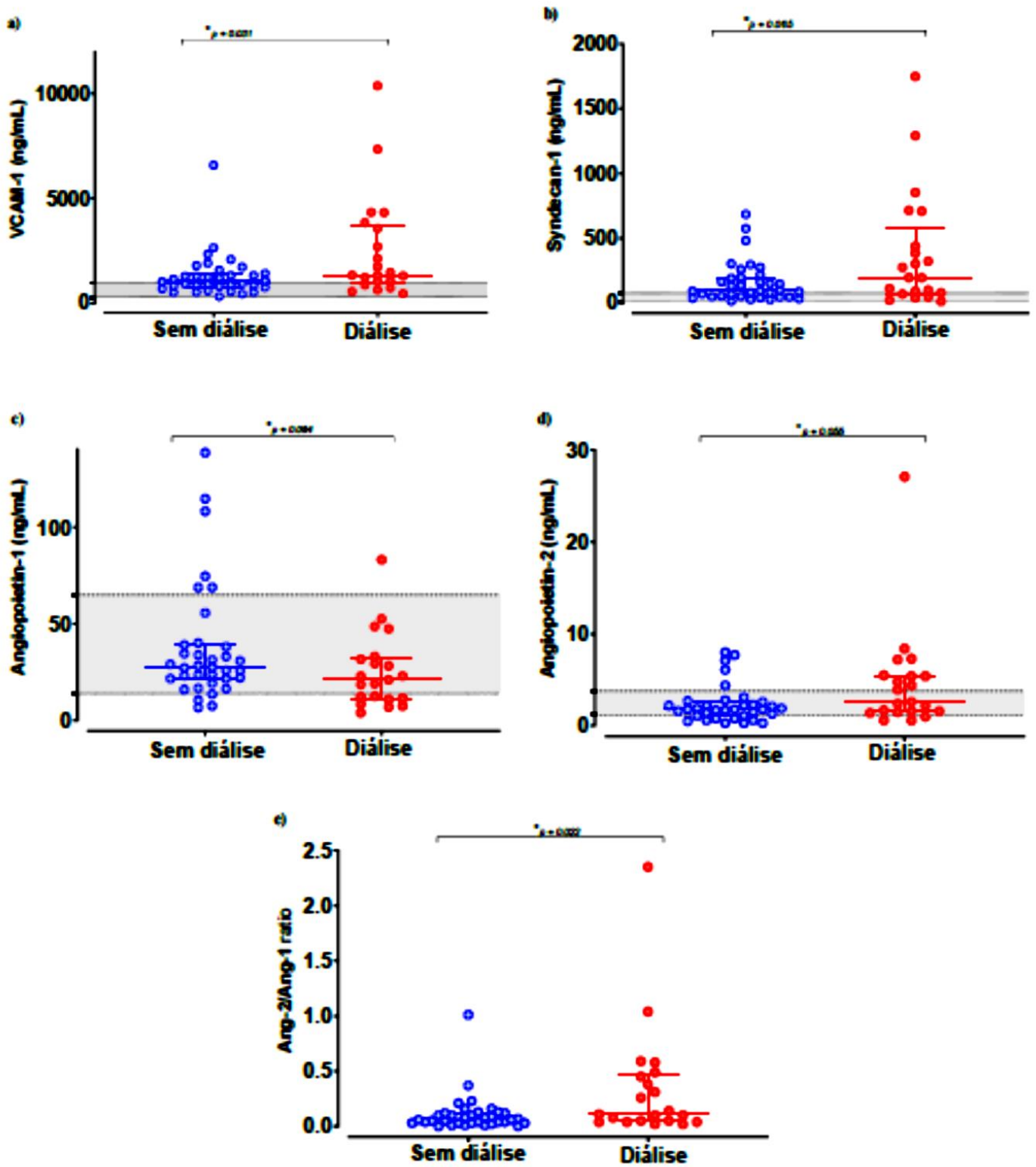
Tabela 2 - Níveis dos biomarcadores endoteliais na admissão da UTI e sua associação com a necessidade de diálise em pacientes graves com COVID-19.

| | Diálise na UTI | | p* |
|--------------------------|---------------------------|---------------------------|--------------|
| | Não (n=37) | Sim (n=21) | |
| VCAM-1 (ng/mL) | 1025 (760 - 1421) | 1346 (1026 - 3569) | 0.031 |
| Syndecan-1 (ng/mL) | 96 (50.8 – 198.6) | 198 (81 – 439.6) | 0.065 |
| Angiopietina-1 (ng/mL) | 27.5 (21.7 – 39.1) | 21.1 (11.5 – 31.7) | 0.064 |
| Angiopietina-2 (ng/mL) | 1.8 (1.1 – 2.6) | 2.6 (1.6 – 5.4) | 0.055 |
| Razão Ang-2/Ang-1 | 0.06 (0.03 – 0.12) | 0.11 (0.05 – 0.45) | 0.022 |

Dados contínuos expressos como mediana e intervalo interquartil entre parênteses. *Foi aplicado o teste de Mann-Whitney.

Os níveis dos biomarcadores endoteliais na admissão foram comparados entre os grupos de acordo com a necessidade de diálise na UTI (Tabela 2). O VCAM-1 e a relação Ang-2/Ang-1 estavam aumentados no grupo que necessitou de diálise. Syndecan-1 apresentou tendência à significância ($p=0,065$) e seu nível foi maior no grupo de diálise. (Figura 3).

Figura 3 - Níveis de biomarcadores endoteliais sistêmicos de pacientes críticos com COVID-19 de acordo com a necessidade de diálise.



Todos os biomarcadores endoteliais foram avaliados usando a análise da curva ROC para prever a necessidade de diálise durante a internação na UTI. A relação Ang-2/Ang-1 teve melhor AUC-ROC (0,684 –95%CI: 0,536 a 0,833; p=0,022), seguida por VCAM-1 (0,673 –95%CI: 0,521 a 0,826; p=0,031). Em uma abordagem combinada usando níveis de VCAM-1 e Syndecan-1 e relação Ang-2/Ang-1, a AUC-ROC melhorou (0,713 –95%CI: 0,568 a 0,858; p=0,008). O melhor valor de corte para VCAM-1, relação Ang-2/Ang-1, syndecan-1 e abordagem combinada foi de 1329, 0,245, 300 e 5490 ng/mL, respectivamente (Tabela 3).

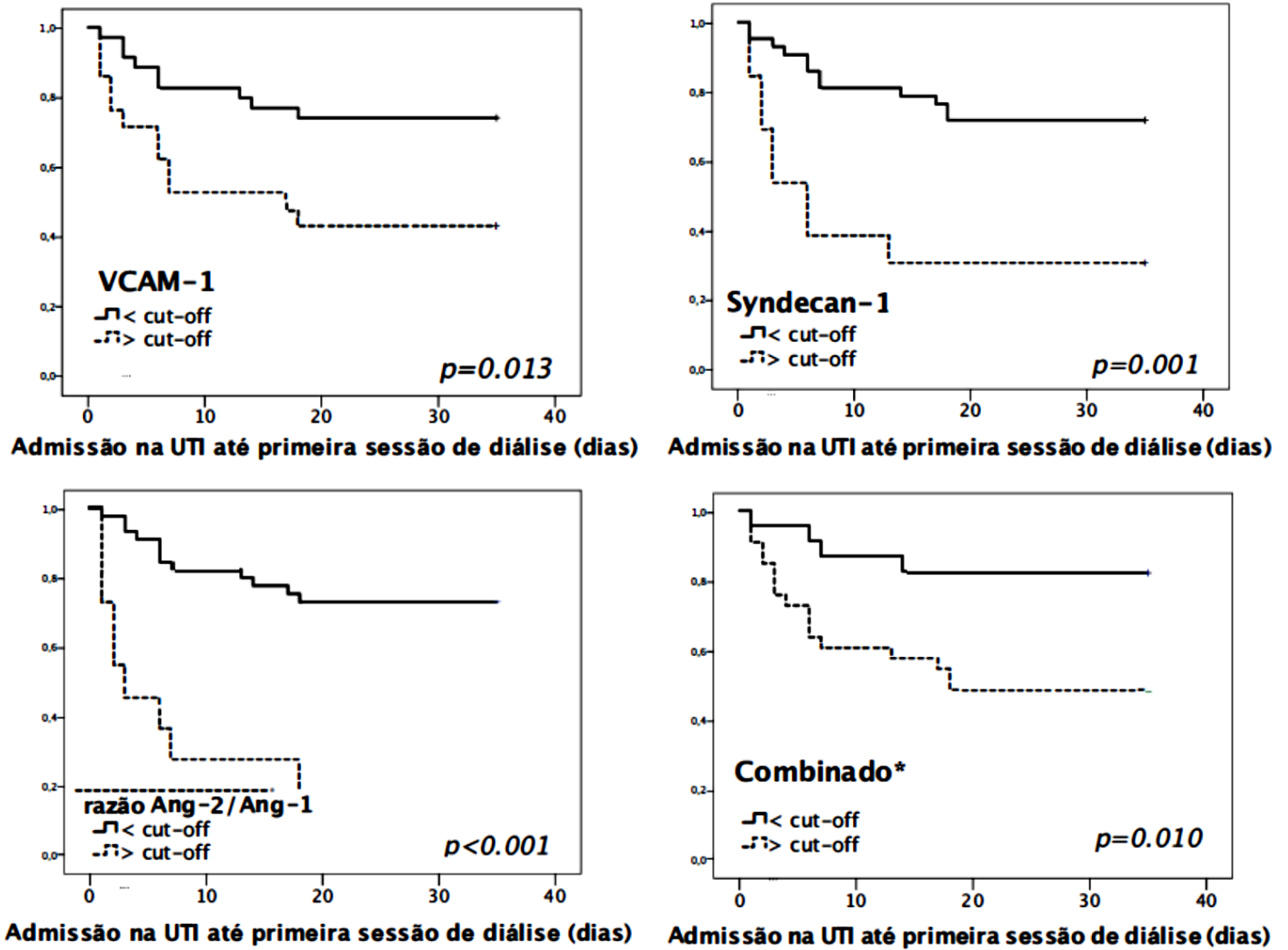
Tabela 3 - Predição da performance dos biomarcadores endoteliais para a necessidade de diálise em pacientes graves com COVID-19.

| | <i>cut-off</i> | AUC-ROC (CI 95%) | Sensibilidade (%) | Especificidade (%) | |
|---------------------------|----------------|------------------------------|-------------------|--------------------|-------------|
| VCAM-1 (ng/mL) | 1329 | 0.673 (0.521 - 0.826) | 57 | 74 | .031 |
| Syndecan-1 (ng/mL) | 300 | 0.648 (0.487 - 0.809) | 43 | 89 | .065 |
| Angiopietina-1 (ng/mL) | 23 | 0.649 (0.495 - 0.803) | 62 | 69 | .064 |
| Angiopietina-2 (ng/mL) | 3.5 | 0.654 (0.502 - 0.807) | 48 | 86 | .055 |
| Razão Ang-2/Ang-1 | 0.245 | 0.684 (0.536 - 0.833) | 43 | 94 | .022 |
| Combinado* (ng/mL) | 5490 | 0.713 (0.568 - 0.858) | 81 | 54 | .008 |

Os pontos de corte foram determinados usando o índice de Youden. *VCAM-1 e syndecan-1 e razão Ang-2/Ang-1.

A análise de Kaplan-Meier com os pontos de corte previamente determinados de biomarcadores endoteliais, mostraram que pacientes com COVID-19 internados na UTI com níveis acima dos pontos de corte de syndecan-1, VCAM-1 e relação Ang-2/Ang-1, representados pela linha pontilhada, precisaram de diálise de forma mais precoce, com significância estatística usando o log-rank (Figura 4). Em seguida, todos esses biomarcadores endoteliais selecionados e todos os parâmetros clínicos e laboratoriais da internação foram investigados por meio de regressão cox univariada (usando “primeira diálise” como evento dependente) nos modelos univariado e multivariado.

Figura 4 - Curvas de sobrevivência para a primeira diálise durante a internação na UTI de pacientes críticos com COVID-19 estratificados de acordo com o melhor ponto de corte dos níveis de biomarcadores endoteliais.



Na análise de regressão univariada de cox, idade avançada, uso de vasopressores, aumento do escore SAPS3, níveis de LDH, VCAM-1, sindecan-1, relação Ang-2/Ang-1 e diminuição dos níveis de plaquetas contribuíram para a necessidade de diálise (hazard ratio > 1,00). Nos modelos ajustados com inclusão de plaquetas, apenas idade, escore SAPS3, uso de ventilação mecânica, níveis de plaquetas e VCAM-1 permaneceram associados à necessidade de diálise. Em outro contexto sem a inclusão de plaquetas nos modelos multivariados, a relação Ang-2/Ang-1 surgiu como parâmetro explicativo para a necessidade de diálise, juntamente com o escore SAPS3 e o nível VCAM-1 no modelo final (Tabela 4).

Tabela 4. Regressão de Cox para necessidade de diálise com valores não ajustados e modelos de acordo com a presença ou ausência de plaquetas.

| | Não Ajustado | | Modelo 1* | | Modelo 2* | |
|---|-----------------------|--------|-----------------------|-------|------------------------|-------|
| | H.R (CI 95%) | p | H.R (CI 95%) | p | H.R (CI 95%) | p |
| Idade (anos) | 1.032 (1.001 - 1.064) | 0.042 | 1.066 (1.015 - 1.121) | 0.011 | 1.039 (0.993 - 1.087) | 0.095 |
| Gênero (Feminino) | 1.247 (0.53 - 2.939) | 0.613 | - | - | - | - |
| SAPS 3 (cada ponto) | 1.05 (1.018 - 1.083) | 0.002 | 1.084 (1.029 - 1.143) | 0.003 | 1.055 (1.009 - 1.103) | 0.018 |
| Uso vasopressores | 4.4 (1.684 - 11.49) | 0.002 | - | - | - | - |
| Uso ventilação mecânica | 6.63 (0.887 - 49.57) | 0.065 | 14.38 (1.39 - 148.42) | 0.025 | 5.182 (0.64 - 41.98) | 0.123 |
| LDH (para cada 500 U/L) | 2.325 (1.163 - 4.646) | 0.017 | - | - | - | - |
| Plaquetas (cada 50 (10³/mm³) decremento) | 1.803 (1.314 - 2.474) | <0.001 | 1.685 (1.239 - 2.292) | 0.001 | - | - |
| VCAM-1 (para cada 500 ng/mL) | 1.112 (1.028 - 1.203) | 0.008 | 1.134 (1.01 - 1.274) | 0.034 | 1.141 (1.021 - 1.275) | 0.020 |
| Syndecan-1 (para cada 50 ng/mL) | 1.102 (1.045 - 1.163) | <0.001 | - | - | - | - |
| Razão Ang-2/Ang-1 | 4.63 (2.001 - 10.72) | <0.001 | - | - | 4.874 (1.732 - 13.719) | 0.003 |

*Aplicou-se o método reverso: Modelo 1= as plaquetas foram incluídas desde a primeira etapa; Modelo 2 = as plaquetas foram retiradas manualmente e não participaram de nenhuma etapa. LDH: Lactato desidrogenase.

5. DISCUSSÃO

Este é um dos primeiros estudos brasileiros que evidencia a importância do uso dos biomarcadores endoteliais como ferramentas úteis para prever a necessidade de diálise durante a internação na UTI em pacientes com COVID-19 não vacinados.

Entre vários caminhos propostos para explicar a fisiopatologia da injúria renal aguda associada à COVID-19, as evidências apontam para um mecanismo complexo e multifatorial, no qual se destaca o papel da disfunção endotelial, coagulopatia e ativação do complemento (NADIM *et al.*, 2020).

No presente estudo, a maioria dos pacientes que necessitaram de diálise durante internação na UTI eram do idoso do sexo masculino. O envelhecimento causa uma disfunção no sistema imunológico que gera declínio na resposta imune chamada de imunossenescência (MUELLER *et al.*, 2020). Alterações da imunidade estão associadas ao envelhecimento e, frequentemente, associam-se a falha no controle da COVID-19 e evolução para formas graves (RYDYZNSKI-MODERBACHER *et al.*, 2020). Indivíduos idosos também apresentam um estado crônico de inflamação sistêmica de baixo grau, além do aumento da incidência de comorbidades e fragilidade moderada a grave (HEWITT *et al.*, 2020).

A variabilidade relacionada ao sexo nas respostas imunes contra o SARS-CoV-2 pode estar por trás do aumento da vulnerabilidade à doença dos homens. Em um estudo que analisou diferenças sexuais em fenótipos imunológicos, pacientes do sexo masculino mostraram uma resposta imune inata mais robusta com níveis mais altos de citocinas plasmáticas, enquanto pacientes do sexo feminino apresentaram ativação de células T mais robusta (TAKAHASHI *et al.*, 2020). Um estudo correlacionou uma resposta pobre de células T contra SARS-CoV-2 com pior evolução da doença em homens jovens (VAN DER MADE, *et al.*, 2020).

Nossos dados também revelaram que uma maior pontuação no escore SAPS 3, refletindo maior gravidade e maior chance de morte durante a internação hospitalar, maior uso de vasopressor e ventilação mecânica no momento da admissão na UTI, associaram-se à necessidade de diálise quando comparado com o grupo que não dialisou.

A IRA na COVID-19 surge no contexto de alterações sistêmicas induzidas pela infecção pelo SARS-CoV-2, bem como no cenário da doença crítica e necessidade de suportes intensivos.

Não é raro que os pacientes sejam admitidos na UTI após vários dias de sintomas, tais como febre, sudorese, diarreia e vômitos, e sinais de hipovolemia, ou que tenham sido expostos a nefrotoxinas, como antibióticos, que podem causar injúria tubular ou nefrite intersticial aguda. Ambas as entidades são importantes na contribuição para o dano renal (WELCH *et al.*, 2018)

Os pacientes com necessidade de internamento hospitalar por COVID-19 frequentemente desenvolvem infecções secundárias, sobretudo infecções bacterianas associadas ao cuidado em saúde, fato que se relaciona com o risco aumentado de IRA associada à sepse (CUADRADO-PAYAN *et al.*, 2020). Depleção de volume, vasodilatação, aumento da permeabilidade vascular e restrição ao uso de volume são alguns dos mecanismos propostos para explicar a hipotensão nos pacientes graves, justificando a maior necessidade do uso de drogas vasoativas para manter uma pressão de perfusão adequada para o funcionamento dos órgãos.

A ventilação mecânica invasiva (VMI) é um dos principais suportes utilizados no ambiente de terapia intensiva nos casos de pneumonia grave associada à COVID-19, em especial nos casos que evoluem com Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA). O uso de ventilação com pressão positiva pode ativar o tônus simpático e levar à ativação do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA) (DUDOIGNON *et al.*, 2020). As alterações da complacência pulmonar presentes nos casos graves de acometimento pelo SARS-CoV-2, em geral, demandam o uso de pressão expiratória final positiva (PEEP) elevadas, o que leva ao aumento da pressão intratorácica. Tal alteração tem efeito hemodinâmicos como: diminuição do retorno venoso para o coração, redução do débito cardíaco e aumento da pressão intra-abdominal e podem resultar em aumento da pressão venosa renal e queda na taxa de filtração glomerular (KOYNER *et al.*, 2008). Outros estudos também relataram a associação entre IRA e necessidade de ventilação mecânica, bem como maior tempo de internação (YANG *et al.*, 2020).

Estudos sugerem que existe uma comunicação complexa e mútua entre órgãos distantes por meio de citocinas, fatores de crescimento e *damage associated molecular patterns* (DAMPs) liberados pelos tecidos lesionados. O *crosstalk* pulmão-

rim foi sugerido como mecanismo envolvido na IRA associada à SDRA em pacientes críticos (JOANNIDIS *et al.*, 2020). A injúria pulmonar nos pacientes com COVID-19 também pode levar à liberação de tais substâncias que podem causar injúria renal.

Assim como demonstrou nosso estudo, a necessidade de diálise foi associada à mortalidade elevada, especialmente no cenário de terapia intensiva (SILVER *et al.*, 2021; KEMEC *et al.*, 2022). O escore SAPS 3 demonstra correlação com a disfunção pulmonar e renal na predição de mortalidade (LAZARO *et al.*, 2022).

Embora comumente conhecidas por seu papel na coagulação, sabe-se que as plaquetas possuem em sua superfície uma série de imunorreceptores capazes de reconhecer patógenos invasores e liberar moléculas de adesão e citocinas que atuam na resposta imune do hospedeiro por meio de sua ativação, contribuindo com seu papel fundamental na patogênese da resposta trombo inflamatória da COVID-19 (GUO *et al.*, 2019; ZHANG *et al.*, 2020). A presença de obstrução microvascular dos capilares no tecido renal por trombos de fibrina já foi demonstrada e está relacionada à isquemia e hipoxemia, desencadeando *feedback* positivo do estado de hipercoagulabilidade, o que pode explicar a relação entre trombocitopenia, IRA e hemodiálise como demonstrado em nosso estudo (KERLIN *et al.*, 2015).

Além dos níveis reduzidos de plaquetas, nosso estudo evidenciou níveis elevados da enzima *lactate dehydrogenase* (LDH) nos pacientes com COVID-19 e necessidade de diálise.

A LDH é uma enzima intracelular encontrada nas células de quase todos os órgãos (coração, pulmão, pâncreas, rins, fígado e músculo estriado), que catalisa a interconversão de piruvato e lactato (HSU *et al.*, 2008). Valores anormais resultam de lesão tecidual e da diminuição da oxigenação. Infecções graves podem causar dano tecidual mediado por citocinas e liberação de LDH (MARTINEZ-OUTSCHOORN *et al.*, 2011).

Formas graves de pneumonia por COVID-19 estão associadas maiores quantidades de LDH na circulação, uma vez que essa enzima se encontra presente no pulmão. Níveis de LDH também estão elevados na microangiopatia trombótica, que está associada à injúria renal (ZHANG *et al.*, 2014). Outros estudos também demonstraram níveis elevados de LDH em pacientes com COVID-19 e necessidade de diálise (KEMEC *et al.*, 2022).

As células endoteliais têm um papel importante na regulação da coagulação. Em condições normais, o endotélio regula coagulação do sangue, volemia e balanço de eletrólitos, bem como previne trombose, microangiopatias e coagulação intravascular difusa (RAJENDRAN *et al.*, 2013).

No presente estudo, observamos a associação entre os níveis séricos admissionais dos biomarcadores endoteliais e a necessidade de diálise, sugerindo correlação entre dano renal e coagulação, sobretudo alterações na microcirculação. A precisão desses biomarcadores combinados foi maior em prever a necessidade de TSR. Também evidenciamos que pacientes com níveis desses biomarcadores acima do ponto de corte estabelecido em nossas análises, evoluíram mais rapidamente com disfunção renal grave e necessitavam mais precocemente de diálise do que o grupo com níveis inferiores ao ponto de corte.

VCAM-1 é detectado apenas após a estimulação das células endoteliais por citocinas e tem sido estudado como um agente de diagnóstico e prognóstico para doenças (PAGE *et al.*, 2013). Em nosso estudo, níveis elevados de VCAM-1 estiveram associados com a necessidade de diálise, bem como com a rapidez da progressão para disfunção renal grave.

A angiopoietina-1 (Ang-1) tem efeitos protetores vasculares, estimula a remodelação dos vasos e a angiogênese. Assim, sua importância reside na possibilidade de minimizar efeitos deletérios, enquanto otimiza os efeitos protetores dos vasos (BRINDLE *et al.*, 2006). Por sua vez, a angiopoietina-2 (Ang-2) relaciona-se com ativação endotelial, inflamação, hiperpermeabilidade vascular e apoptose (LI *et al.*, 2020). Altos níveis séricos de Ang-2 foram evidenciados em pacientes graves de COVID-19 (SMADJA *et al.*, 2021). Estudos experimentais com ratos e lesão pulmonar induzida pela ventilação mecânica e também correlacionaram níveis mais altos desses biomarcadores com IRA (HEPOKOSKI *et al.*, 2017). O desbalanço entre os níveis de angiopoietina 1 e 2 com consequente aumento da relação Ang-2/Ang-1 e a quebra da homeostase devido seus efeitos antagônicos pode explicar a associação desses biomarcadores com a necessidade de diálise e a velocidade de progressão da injúria renal no grupo de pacientes estudados.

A inflamação pode induzir a degradação do glicocálice endotelial e a liberação de seus componentes, como o syndecan-1, que pode ser usado como biomarcador de lesão (UCHIMIDO *et al.*, 2019). Esse processo leva ao aumento da permeabilidade

vascular, vasodilatação desregulada e trombose de microvasos, que culminam em perpetuação do dano endotelial, inflamação e coagulopatia (JOHANSSON *et al.*, 2011). Os níveis de syndecan-1 aumentam gradualmente ao passo em ocorre progressão da disfunção renal (QIN *et al.*, 2020).

Pacientes com COVID-19 e altos níveis de Syndecan-1 desenvolvem danos endoteliais e resposta inflamatória mais graves e têm maior mortalidade (ZHANG *et al.*, 2021). Alguns estudos mostraram que esses biomarcadores foram independentemente associados à injúria renal aguda grave em outros cenários (CAVALCANTE *et al.*, 2016). Nossos resultados revelaram que Syndecan-1 tem potencial para ser usado como marcador de previsão da necessidade de hemodiálise em pacientes com COVID-19.

6. CONCLUSÃO

Os achados do presente estudo demonstraram que os pacientes não vacinados portadores de formas críticas de COVID-19 e que necessitaram de diálise durante internamento na UTI tinham idade mais avançada, maior necessidade do uso de vasopressores e ventilação mecânica invasiva no momento da admissão na UTI, bem como essa população possuía escore SAPS3 mais elevado e maior mortalidade.

Esse grupo também apresentou menor nível sérico de plaquetas e maiores níveis de LDH e VCAM-1, bem como uma maior razão Ang-2/Ang-1.

Níveis de biomarcadores endoteliais acima do ponto de corte determinado no estudo associaram-se com maior mortalidade e evolução mais rápida da injúria renal até o início da hemodiálise.

VCAM-1 e razão Ang-2/Ang-1 demonstraram uma boa performance na predição da necessidade de diálise durante internação na UTI e a análise combinada desses dois marcadores, juntamente com os níveis de Syndecan-1, apresentaram uma performance ainda melhor.

Os resultados do presente estudo reforçam o potencial da utilização dos níveis de biomarcadores de disfunção endotelial em pacientes críticos com COVID-19 internados na UTI na previsão da necessidade de diálise e no prognóstico, uma vez que distúrbios vasculares e de coagulação parecem ser elementos cruciais nesse cenário.

Perspectivas futuras incluem estudos adicionais na era pós vacina, em especial na população imunocomprometida, para uma melhor compreensão do papel dos biomarcadores endoteliais na IRA relacionada a COVID-19, no intuito de auxiliar na prevenção da progressão da doença e no desenvolvimento de terapias que tenham como alvo o endotélio.

REFERÊNCIAS

BRINDLE, N. P.; SAHARINEN, P., ALITALO, K. Signaling and functions of angiopoietin1 in vascular protection. **Circ. Res.**, v. 98, n. 8, p. 1014-23, 2006.

CAVALCANTE, C. T. M. B. *et al.* Syndecan-1 improves severe acute kidney injury prediction after pediatric cardiac surgery. **J Thorac Cardiovasc Surg.** v. 152, n. 1, p. 178-186-e2, 2016.

CHAN, J. F. W. *et al.* A familial cluster of pneumonia associated with the 2019 novel coronavirus indicating person-to-person transmission: a study of a family cluster. **Lancet.** v. 395, n. 10223, p. 514-523, 2020.

CARVALHO, T.; KRAMMER, F.; IWASAKI A. The first 12 months of COVID-19: a timeline of immunological insights. **Nat Rev Immunol.**, v. 21, n. 4, p. 245-256, 2021

CHENG, Y. *et al.* Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. **Kidney Int.**, v. 978, n. 5, p. 829-838, 2020.

CHIANG, W. C. *et al.* Angiotensin 1 influences ischemic reperfusion renal injury via modulating endothelium survival and regeneration. **Mol Med.**, v. 25, n. 1, p. 5, 2019.

CUADRADO-PAYAN, E. *et al.* SARS-CoV-2 and influenza virus co-infection. **Lancet.** v. 395, n. 10236, p. E84, 2020.

DUDOIGNON, E. *et al.* Activation of the renin-angiotensinaldosterone system is associated with acute kidney injury in COVID-19. **Anaesth. Crit. Care Pain Med.**, v. 39, n. 4, p. 543-55, 2020.

ENGELMANN, B.; MASSBERG S. Thrombosis as an intravascular effector of innate immunity. **Nat Rev Immunol.**, v. 13, n. 1, p. 34-45, 2013.

FARIA, N.; MELLAN T. A.; WHITTAKER, C. *et al.* Genomics and epidemiology of the P.1 SARS-CoV-2 lineage in Manaus, Brazil. **Science.** v. 372, n. 6544, p. 815-821, 2021.

GABARRE, P. *et al.* Acute kidney injury in critically ill patients with COVID-19. **Intensive Care Med.**, v. 46, n. 7, p. 1339-48, 2020.

GUAN, W. J. *et al.* Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. **N. Engl. J. Med.**, v. 382, p. 1708-20, 2020.

GUPTA, S. *et al.* AKI treated with renal replacement therapy in critically ill patients with COVID-19. **J. Am. Soc. Nephrol.**, n. 32, n. 1, p. 161-176, 2021.

GUO, L.; RONDINA, M. T. The Era of Thromboinflammation: Platelets Are Dynamic Sensors and Effector Cells During Infectious Diseases. **Front Immunol.**, v. 10, p. 2204, 2019.

HEPOKOSKI, M. *et al.* Ventilator-induced lung injury increases expression of endothelial inflammatory mediators in the kidney. **Am J Physiol Renal Physiol.**, v. 312, n. 4, p. F654-F60, 2017.

HEWITT, J. *et al.* The effect of frailty on survival in patients with COVID-19 (COPE): a multicentre, European, observational cohort study. **Lancet Public Health.**, v. 5, n. 8, p. e444-51, 2020.

HINDILERDEN, F. *et al.* Covid-19 associated autoimmune thrombotic thrombocytopenic purpura: report of a case. **Thromb Res.**, v. 195, p. 136-38, 2020.

HIRSCH, J. S. *et al.* Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. **Kidney Int.**, v. 98, n. 1, p. 209-18, 2020
HIRSCH, J. S. *et al.* Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. **Kidney Int.**, v. 98, n. 1, p. 209-18, 2020.

HSU, P. P.; SABATINI, D. M. Cancer cell metabolism: Warburg and beyond. **Cell.**, v. 134, n. 5, p. 703-7, 2008.

JOANNIDIS, M. *et al.* Lung-kidney interactions in critically ill patients: consensus report of the acute disease quality initiative (ADQI) 21 workgroup. **Intensive Care Med.**, v. 46, n. 4, p. 654-72, 2020.

JOSE, R. J.; MANUEL A. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation. **Lancet Respir Med.**, v. 8, n. 6, p. e46-47, 2020.

JOHANSSON PI. *et al.* A High Admission Syndecan-1 Level, A Marker of Endothelial Glycocalyx Degradation, Is Associated With Inflammation, Protein C Depletion, Fibrinolysis, and Increased Mortality in Trauma Patients. **Ann Surg.**, v. 254, n. 2, p. 194-200, 2011.

JOURDE-CHICHE N. *et al.* Endothelium structure and function in kidney health and disease. **Nat Rev Nephrol.**, v. 15, n. 2, p. 87-108, 2019.

LAMPSAS S. *et al.* The Role of Endothelial Related Circulating Biomarkers in COVID-19. A Systematic Review and Meta-analysis. **Curr Med Chem.**, v. 29, n. 21, p. 3790-3805, 2022.

LÁZARO, A. P. P. *et al.* Critically ill COVID-19 patients in northeast Brazil: mortality predictors during the first and second waves including SAPS 3. **Trans R Soc Trop Med Hyg.**, v. 116, n. 11, p. 1054-62, 2022.

LIBBY, P.; LÜSCHER, T. COVID-19 is, in the end, an endothelial disease. **Eur Heart J.**, v. 41, n. 32, 3038-44, 2020.

LI, F.; YIN, R.; GUO, Q. Circulating angiopoietin-2 and the risk of mortality in patients with acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis of 10 prospective cohort studies. **Ther Adv Respir Dis.**, v. 14, p. 175346662090527, 2020.

KELLUM, J. A *et al.* Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). **Crit Care.**, v. 17, n. 1, p. 204, 2013.

KEMEC, Z.; AKGUL, F. Relationship between acute kidney injury requiring renal replacement treatment and mortality in patients with COVID-19. **Niger J Clin Pract.**, v. 25, n. 8, p. 1348-56, 2022.

KERLIN, B. A. *et al.* Disease Severity Correlates with Thrombotic Capacity in Experimental Nephrotic Syndrome. **J Am Soc Nephrol.**, v. 26, n. 12, p. 3009-19, 2015.

KOYNER, J. L.; MURRAY, P. T. Mechanical ventilation and lung-kidney interactions. **Clin. J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 3, n. 2, p. 562-70, 2008.

LIEW, H.; ROBERTS, M. A.; POPE A. *et al.* Endothelial glycocalyx damage in kidney disease correlates with uraemic toxins and endothelial dysfunction. **BMC Nephrol.**, v. 22, n. 1, p. 21, 2021.

MARTINEZ-OUTSCHOORN, U. E. *et al.* Ketones and lactate increase cancer cell "stemness," driving recurrence, metastasis and poor clinical outcome in breast cancer: achieving personalized medicine via metabolo-genomics. **Cell Cycle.**, v. 10, n. 8, p. 1271-86, 2011.

MEERSCH, M. *et al.* Vascular Adhesion Protein-1 Is Associated With Acute Kidney Injury in High-Risk Patients After Cardiac Surgery. **Anesth Analg.**, v. 129, n. 6, p. 1474-81, 2019.

MENESES, G. C.; GOMES, P. E. A. C.; GALDINO, G. S. *et al.* Endothelial biomarkers as predictors for haemodialysis need in severe leptospirosis patients (Weil's disease).

Trop Med Int Health. v. 27, n. 8, p. 727-734, 2022.

MOHAMED, K. *et al.* COVID-19 vaccinations: The unknowns, challenges, and hopes.

J Med Virol., v. 94, n. 4, p. 1336-1349, 2022.

MORENO, R. P. *et al.* SAPS 3-From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 2: Development of a prognostic model for hospital mortality at ICU admission. **Intensive Care Med.**, v. 31, n. 10, p. 1345-55, 2005.

MORISADA, T. *et al.* Angiopoietins and Angiopoietin-Like Proteins in Angiogenesis.

Endothelium., v. 13, n. 2, p. 71-9, 2006.

MOTA, S. M. B.; ALBUQUERQUE, P. L. M. M.; MENESES, G. C. *et al.* Role of endothelial biomarkers in predicting acute kidney injury in Bothrops envenoming.

Toxicol Lett., v. 1, n. 345, p. 61-66, 2021.

MUELLER, A. L.; MCNAMARA, M. S.; SINCLAIR, D. A. Why does COVID-19 disproportionately affect older people? **Aging (Albany NY)**, v. 12, n. 10, 9959-81, 2020.

NADIM, M. K. *et al.* COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Workgroup. **Nat Rev Nephrol.**, v. 16, n. 12, p. 747-764, 2020.

NORIS, M.; BENIGNI, A.; REMUZZI G. The case of complement activation in COVID-19 multiorgan impact. **Kidney Int.**, v. 98, n. 2, p. 314-322, 2020.

NG, J. H. *et al.* Northwell Nephrology COVID-19 Research Consortium. Outcomes Among Patients Hospitalized With COVID-19 and Acute Kidney Injury. **Am J Kidney Dis.**, v. 77, n. 2, p. 204-15, 2021.

OTTO, S.; DAY, T.; ARINO, J. *et al.* The origins and potential future of SARS-CoV-2 variants of concern in the evolving COVID-19 pandemic. *Curr Biol.*, v. 31, n. 14, p. R918-929, 2021.

PAGE, A. V.; LILES, W.C., 2013. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases. **Virulence**, v. 4, n. 6, p. 507-16, 2013.

PETRILLI, C. M. *et al.* Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: prospective cohort study. **BMJ.**, v. 22, n. 369m, p. 1996, 2020.

PETTILÄ V. *et al.* Acute kidney injury in patients with influenza A (H1N1) 2009. **Intensive Care Med.**, v. 11, n. 5, p. 763-7, 2011.

POWELL, T. C. *et al.* Association of inflammatory and endothelial cell activation biomarkers with acute kidney injury after sepsis. **Springerplus.**, v. 3, p. 207, 2014.

QIN, L. L. *et al.* Expression of syndecan-1, PKC and VEGF in rats with acute kidney injury and correlation between syndecan-1 and renal function. **Eur Rev Med Pharmacol Sci.**, v. 24, n. 24, p. 12794-801, 2020.

RABELINK, T. J.; DE BOER, H. C.; VAN ZONNEVELD, A. J. Endothelial activation and circulating markers of endothelial activation in kidney disease. **Nat. Rev. Nephrol.**, v. 6, n. 7, p. 404-14, 2010.

RAJENDRAN, P. *et al.* The vascular endothelium and human diseases. **Int. J. Biol. Sci.**, v. 9, n. 10, p. 1057-69, 2013.

RICCIUTO, D. R, *et al.* Angiotensin-1 and angiotensin-2 as clinically informative prognostic biomarkers of morbidity and mortality in severe sepsis. **Crit Care Med.**, v. 39, n. 4, p. 702-10, 2011.

RICHARDSON, S. *et al.* Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. **JAMA.** v. 323, n. 20, p. 2052-59, 2020.

ROTHER, C. *et al.* Transmission of 2019-nCoV infection from an asymptomatic contact in Germany. **N. Engl. J. Med.**, v. 382, n. 10, p. 970-1, 2020.

RYDZINSKI-MODERBACHER C. *et al.* Antigen-specific adaptive immunity to SARS-CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity. **Cell.**, v. 183, n. 4, p. 996-1012.e19, 2020.

SATCHELL, S. C.; BRAET, F. Glomerular endothelial cell fenestrations: an integral component of the glomerular filtration barrier. **Am. J. Physiol. Renal Physiol.**, v. 296, n. 5, p. F947-F956, 2009.

SHARMA, P. *et al.* COVID-19-associated kidney injury: a case series of kidney biopsy findings. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 31, n. 9, p. 1948-58, 2020.

SILVER, S. A. *et al.* The Prevalence of Acute Kidney Injury in Patients Hospitalized With COVID-19 Infection: A Systematic Review and Meta-analysis. **Kidney Med.**, v. 3, n. 1, p. 83-97.e1, 2021.

SMADJA, D. M. *et al.* Angiotensin-2 as a marker of endothelial activation is a good predictor factor for intensive care unit admission of COVID-19 patients. **Angiogenesis.** v. 23, n. 4, p. 611-20, 2020.

SMS. Secretaria Municipal de Saúde. **Boletins Epidemiológicos.** 2023. Disponível em: <https://coronavirus.fortaleza.ce.gov.br/boletim-epidemiologico.html>. Acessa do em 15 abr 2023.

TAKAHASHI T. *et al.* Sex differences in immune responses that underlie COVID-19 disease outcomes. **Nature.** v. 588, n. 7837, p. 315-20, 2020.

TIAN, W. *et al.* Immune suppression in the early stage of COVID-19 disease. **Nat Commun.**, v. 11, n. 1, p. 5859, 2020.

UCHIMIDO, R.; SCHMIDT, E. P.; SHAPIRO, N. I. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. **Crit Care.**, v. 23, n. 1, p. 16, 2019.

VAN DER MADE, C. I.; SIMONS A.; SCHUURS-HOEIJMAKERS, J. *et al.* Presence of Genetic Variants Among Young Men With Severe COVID-19. **JAMA**, v. 324, n. 7, p. 663-673, 2020.

VAN EIJK, L. E. *et al.* COVID-19: immunopathology, pathophysiological mechanisms, and treatment options. **J Pathol.**, v. 254, n. 4, p. 307-31, 2021.

VASILAROU, M.; ALACHIOTIS, N.; GAREFALARI, J. *et al.* Population Genomics Insights into the First Wave of COVID-19. **Life (Basel).** v. 11, n. 2, p. 129, 2021.

VIECELI, F. V. D. *et al.* Time course of endothelial dysfunction markers and mortality in COVID-19 patients: A pilot study. **Clin Transl Med.**, v. 11, n. 3, p. e283, 2021.

VOLZ, E.; MISHRA, S.; CHAND, M. *et al.* Assessing transmissibility of SARS-CoV-2 lineage B.1.1.7 in England. **Nature.** v. 593, n. 7858, p. 266-269, 2021.

WANG, L. *et al.* Coronavirus Disease 19 Infection Does Not Result in Acute Kidney Injury: An Analysis of 116 Hospitalized Patients from Wuhan, China. **Am J Nephrol.**,

v. 51, n. 5, p. 343-48.

WELCH, H. K.; KELLUM, J. A.; KANE-GILL, S. L. Drug-associated acute kidney injury identified in the United States food and drug administration adverse event reporting system database. **Pharmacotherapy**. v. 38, n. 8, p. 785-93, 2018.

WHO. World Health Organization. Coronavirus (COVID-19). Disponível em: <https://covid19.who.int/>. acessado em 15 abr 2023.

WHO. World Health Organization. Excesso de mortalidade associado à pandemia de COVID-19 foi de 14,9 milhões em 2020 e 2021. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/noticias/5-5-2022-excesso-mortalidade-associado-pandemia-covid-19-foi-149-milhoes-em-2020-e-2021>

WU, Z.; MCGOOGAN, J. M. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in china: summary of a report of 72314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. **JAMA**. v. 323, n. 13, p. 1239-42, 2020.

YANG, X. *et al.* Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. **Lancet Respir Med.**, v. 8, n. 5, p. 475-81, 2020.

YE, Q.; WANG, B.; MAO, J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. **J Infect.**, v. 8, n. 6, p. 607-13, 2020.

ZHENG, C.; SHAO, W.; CHEN, X. *et al.* Real-world effectiveness of COVID-19 vaccines: a literature review and meta-analysis. **Int J Infect Dis.**, v. 114, p. 252-260, 2022.

BROSH-NISSIMOV, T.; ORENBUCH-HARROCH, E.; CHOWERS, M. *et al.* BNT162b2 vaccine breakthrough: clinical characteristics of 152 fully vaccinated hospitalized COVID-19 patients in Israel. **Clin Microbiol Infect.**, v. 27, n.11, p. 1652-57, 2021.

ZHANG, Y. *et al.* Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with Covid-19. **N Engl J Med.**, v. 382, n. 17, p. e38, 2020.

ZHANG, D. *et al.* Syndecan-1, an indicator of endothelial glycocalyx degradation, predicts outcome of patients admitted to an ICU with COVID-19. **Mol Med.**, v. 27, n. 1, p. 151, 2021.

ZHANG, L. *et al.* Deep Vein Thrombosis in Hospitalized 455 Patients With COVID-19 in Wuhan, China. **Circulation.**, v. 142, n. 2, p. 114-28.

ZHANG, T.; CHEN, H.; LIANG, S. A non-invasive laboratory panel as a diagnostic and prognostic biomarker for thrombotic microangiopathy: development and application in a Chinese cohort study. **PLoS One.** v. 9, n. 11, p. e111992, 2014.

ZHU, N. *et al.* A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019. **N Engl J Med.**, v. 382, n. 8, p. 727-33, 2020.

APÊNDICE A - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRO E ESCLARECIDO

Termo de Consentimento Livro e Esclarecido

TÍTULO DA PESQUISA: “**MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS, COMPLICAÇÕES, FATORES PROGNÓSTICOS E TRATAMENTO DE PACIENTES INTERNADOS DEVIDO À INFECÇÃO POR CORONAVÍRUS EM SALVADOR E FORTALEZA**”

Pesquisador Responsável: Dr. Geraldo Bezerra da Silva Jr

Prezado (a) Participante da Pesquisa,

Você está convidado (a) a participar desta pesquisa que avaliará as manifestações clínicas, complicações e o tratamento das pessoas internadas devido à infecção por COVID-19 em Salvador e Fortaleza.

1.PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA: Ao participar desta pesquisa você realizará exames laboratoriais que fazem parte do tratamento da doença e será disponibilizado parte do material coletado para a pesquisa de novos exames que poderão identificar marcadores de gravidade (novos biomarcadores). Os exames a serem realizados são: hemograma completo, velocidade de hemossedimentação, proteína C-reativa, glicemia de jejum, ureia, creatinina, sódio, potássio, cloro, cálcio e magnésio plasmáticos, gasometria venosa, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, creatinoquinase, bilirrubinas totais e frações, ácido úrico, proteínas totais, albumina, globulinas, fosfatase alcalina, tempo de ativação da protrombina, tempo de ativação parcial da tromboplastina e exame de urina tipo 1. Os novos biomarcadores serão: co-transportador sódio-potássio- 2-Cloro (NKCC2), Aquaporina-2 (AQP2), co-transportador sódio-hidrogênio proximal (NHE3), Canal Epitelial de Sódio (ENAC), interferon (IFN), interleucinas e malonaldeído. Todos estes novos exames servem para avaliar problemas nos rins e inflamação.

Sua participação é voluntária e você tem a liberdade de não querer participar, e pode desistir, mesmo após ter iniciado as avaliações, sem nenhum prejuízo.

2. RISCOS E DESCONFORTOS: Os procedimentos de coleta de sangue e urina para exame trarão um mínimo de desconforto, como num exame de sangue qualquer.

3. BENEFÍCIOS: Os benefícios esperados com o estudo são: detectar precocemente complicações que podem ocorrer e proporcionar tratamento mais eficaz contra a COVID-19. Se você tiver alguma complicação clínica, mesmo após a alta hospitalar, será acompanhado nos ambulatórios especializados conveniados e de responsabilidade dos pesquisadores.

4. FORMAS DE ASSISTÊNCIA: Se você precisar de algum tratamento ou orientação por se sentir prejudicado por causa da pesquisa, você será encaminhado (a) pelo Dr. Geraldo Bezerra da Silva Jr. para o ambulatório de Nefrologia da UFC, UNIFOR ou Hospital Português da Bahia.

5. CONFIDENCIALIDADE: Todas as informações fornecidas serão utilizadas somente para esta pesquisa. Seus dados ficarão em segredo e o seu nome não aparecerá nas fichas de avaliação.

6. FORMAS DE ASSISTÊNCIA E RESSARCIMENTO DAS DESPESAS: Se você necessitar de orientação ou tratamento, como resultado desta pesquisa, você será encaminhado (a) para consulta no Núcleo de Atenção Médica Integrada (NAMI). Caso o (a) Sr. (a) aceite participar da pesquisa, não receberá nenhuma compensação financeira. Fica, entretanto, garantida a indenização diante de eventuais danos decorrentes desta pesquisa.

7. ESCLARECIMENTOS: Se tiver dúvidas, poderá procurar o pesquisador responsável Dr. Geraldo Bezerra da Silva Jr - Av. Washington Soares, 1321, bloco E, sala E-01, UNIFOR. Fortaleza, Ceará. Telefone: (85) 99982-2218, (85) 3477-3280. Horário de atendimento: horário comercial. Se desejar informações sobre direitos e aspectos éticos da pesquisa poderá consultar o Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos – COÉTICA, das 8 às 18h, de segunda a sábado. Instituto Dr. José Frota. Rua Barão do Rio Branco, 1816. Centro, CEP 60025-061. Telefone (85) 3255-5000, Fortaleza, Ceará. E-mail: polianna.moreira@ijf.fortaleza.ce.gov.br.

8. CONCORDÂNCIA NA PARTICIPAÇÃO: Se o (a) Sr. (a) aceitar participar da pesquisa, deverá preencher e assinar o Termo de Consentimento Pós-esclarecido (TCLE) que se segue, e receberá uma cópia do mesmo. O **participante de pesquisa** ou seu representante legal deverá rubricar todas as páginas do TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo. O **pesquisador responsável** deverá

rubricar todas as folhas do TCLE – apondo sua assinatura na última página do referido Termo.

CONSENTIMENTO PÓS INFORMADO

Pelo presente instrumento que atende às exigências legais, o Sr. (a) _____, portador(a) da cédula de identidade _____, declara que, após leitura minuciosa do TCLE, teve oportunidade de fazer perguntas e esclarecer dúvidas. Ciente dos serviços e procedimentos aos quais será submetido e, não restando quaisquer dúvidas a respeito, firma seu CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO em participar voluntariamente desta pesquisa. E, por estar de acordo, assina o presente termo.

Fortaleza, _____ de _____ de _____.



Assinatura do participante

Ou Representante Legal
Pesquisador

Impressão dactiloscópica

Assinatura do

APÊNDICE B - QUESTIONÁRIO DE COLETA DE DADOS

“MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS, COMPLICAÇÕES, FATORES PROGNÓSTICOS E TRATAMENTO DE PACIENTES INTERNADOS DEVIDO À INFECÇÃO POR CORONAVÍRUS EM SALVADOR E FORTALEZA”

DATA: _____

1. DADOS SÓCIO-DEMOGRÁFICOS:

GÊNERO: ___ IDADE: ___ COR: ___ PROFISSÃO: _____

ESTADO CIVIL: _____

ESCOLARIDADE: _____

NATURALIDADE: _____

PROCEDÊNCIA: _____

ENDEREÇO: _____

2. HISTÓRIA CLÍNICA:

INÍCIO DOS SINTOMAS: _____

TEMPO ENTRE O INÍCIO DOS SINTOMAS E O ATENDIMENTO

MÉDICO: _____

MEDICAÇÕES EM USO:

COMORBIDADES:

SINAIS E SINTOMAS À ADMISSÃO:

HÁBITOS (TABAGISMO OU ETILISMO? USO DE DROGAS ILÍCITAS?):

COMPLICAÇÕES DURANTE A INTERNAÇÃO:

DATA DE ADMISSÃO NO HOSPITAL: ____/____/____

DATA DA ALTA HOSPITALAR: ____/____/____

TEMPO DE INTERNAÇÃO (em dias): _____

CONDIÇÕES DE ALTA: cura / deficit renal por ocasião da alta / óbito

CAUSA DO ÓBITO: _____

ANAMNESE

INTERROGATÓRIO POR APARELHOS E SISTEMAS:

| Sistema | Normal | Anormal | Detalhes |
|------------------|--------|---------|----------|
| Geral | | | |
| Cabeça/pescoço | | | |
| Respiratório | | | |
| Cardiovascular | | | |
| Gastrointestinal | | | |
| Genitourinário | | | |
| SNC | | | |

| | | | |
|------------------|--|--|--|
| Pele/fâneros | | | |
| Endócrino | | | |
| Hemato-linfático | | | |
| Ósteo-articular | | | |

3. PARÂMETROS NA ADMISSÃO HOSPITALAR:

PA _____ (mmHg) – deitado após 5 min

Frequência cardíaca _____ batimentos/min

Frequência respiratória _____ incursões/min

Temperatura axilar _____ °C

Altura _____ cm

Peso _____ Kg

IMC _____ Kg/m²

Exame físico por sistemas:

| Sistema | Normal | Anormal | Detalhes |
|--------------------------------------|--------|---------|----------|
| Geral | | | |
| Cabeça/pescoço (incluir tireóide) | | | |
| Respiratório | | | |
| Cardiovascular | | | |
| Abdome | | | |

| | | | |
|-----------------------------|--|--|--|
| Fígado | | | |
| Baço | | | |
| Genitourinário | | | |
| Condição neurológica | | | |
| Pele/fâneros | | | |
| Hemato-linfático (gânglios) | | | |
| Ósteo-articular | | | |

4. AVALIAÇÃO NA ALTA HOSPITALAR:

PA _____ (mmHg) – deitado após 5 min

Frequência cardíaca _____ batimentos/min

Frequência respiratória _____ incursões/min

Temperatura axilar _____ °C

Altura _____ cm

Peso _____ Kg

IMC _____ Kg/m²

Exame físico por sistemas:

| Sistema | Normal | Anormal | Detalhes |
|---------|--------|---------|----------|
| Geral | | | |

| | | | |
|--------------------------------------|--|--|--|
| Cabeça/pescoço (incluir tireóide) | | | |
| Respiratório | | | |
| Cardiovascular | | | |
| Abdome | | | |
| Fígado | | | |
| Baço | | | |
| Genitourinário | | | |
| Condição nerológica | | | |
| Pele/fâneros | | | |
| Hemato-linfático (gânglios) | | | |
| Ósteo-articular | | | |

Avaliação Laboratorial:

| Parâmetro | Admissã o | Após semana 1 | Alta hospitalar |
|--------------------|--------------|------------------|--------------------|
| Hemoglobina (g/dL) | | | |
| Hematócrito (%) | | | |

| | | | |
|------------------------------------|--|--|--|
| Leucócitos ($10^3/ \text{mm}^3$) | | | |
| Diferencial (%) | | | |
| Bastões | | | |
| Segmentados | | | |
| Linfócitos | | | |
| Monócitos | | | |
| Basófilos | | | |
| Eosinófilos | | | |
| Plaquetas ($10^3/ \text{mm}^3$) | | | |
| Creatinina (mg/dL) | | | |
| Uréia (mg/dL) | | | |
| Sódio (mEq/L) | | | |
| Potássio (mEq/L) | | | |
| Cálcio | | | |
| Fósforo | | | |
| Magnésio | | | |
| Cloro (mEq/L) | | | |
| Bicarbonato (mEq/L) | | | |

| | | | |
|-------------|--|--|--|
| FA/ G-GT | | | |
| AST /ALT | | | |
| BT/BD/BI | | | |
| PT/Alb/glob | | | |

| Sumário de urina | Admissã o | Após semana | 1 Alta hospitalar |
|------------------|--------------|----------------|----------------------|
| Densidade | | | |
| pH | | | |
| Proteína | | | |
| Glicose | | | |
| Corpos cetônicos | | | |
| Urobilinogênio | | | |
| Bilirrubina | | | |
| Nitrito | | | |
| Análise micro | | | |
| Leuco/piócitos | | | |
| Hemácias | | | |
| Cilindros | | | |
| Céls epiteliais | | | |

| | | | |
|-----------|--|--|--|
| Bactérias | | | |
| Outros | | | |

| Urina de 24h | Admissão | Após 1 semana | Alta |
|-------------------------|----------|---------------|------|
| Volume | | | |
| Proteinúria | | | |
| Clearance de creatinina | | | |
| Sódio | | | |
| Potássio | | | |
| Cloro | | | |
| Magnésio | | | |
| FENa ⁺ | | | |
| FEK ⁺ | | | |
| Microalbuminúria | | | |

Observações:

ANEXO A – PARECER DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: MANIFESTAÇÕES CLÍNICAS, COMPLICAÇÕES, FATORES PROGNÓSTICOS E TRATAMENTO DE PACIENTES INTERNADOS DEVIDO A INFECÇÃO POR CORONAVÍRUS EM SALVADOR E FORTALEZA

Pesquisador: Geraldo Bezerra da Silva Junior

Área Temática:

Versão: 2

CAAE: 30579020.4.1001.0006

Instituição Proponente: Instituto Dr. José Frota - IJF/ Prefeitura de Fortaleza

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.026.888

Apresentação do Projeto:

As informações elencadas nos campos "Apresentação do Projeto", "Objetivo da Pesquisa" e "Avaliação dos Riscos e Benefícios" foram retiradas do arquivo Informações Básicas da Pesquisa (PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_1536050.pdf de 07/05/2020).

INTRODUÇÃO

O coronavírus é responsável por infecções em humanos desde os anos 1960, tendo sido identificadas novas grupos de vírus responsáveis por epidemias na história recente da humanidade, como a que ocorreu no início do século XXI na China, causando a síndrome respiratória aguda (SARS), e no Oriente Médio, causando a síndrome respiratória do Oriente Médio (MERS), gerando grande preocupação desde então, devido o grande potencial de disseminação para outros países (KUSCHINAROFF et al., 2015;). A origem do coronavírus causador das epidemias em humanos de acordo com as evidências científicas é de reservatórios animais, havendo detecção de sua presença em morcegos e a possibilidade de sua reemergência causando grandes epidemias (MENACHERY et al., 2015; DE WIT et al., 2016). Mais recentemente, em dezembro de 2019, surgiu um novo grupo de coronavírus, na China, na província de Wuhan (ZHU et al., 2020), com uma

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

característica de maior infectividade, chamado de "novo coronavírus" (COVID-19) ocasionando uma grande epidemia neste país asiático, que logo se disseminou pela Europa e em seguida para as Américas, atingindo principalmente Estados Unidos, Canadá e Brasil até o início de abril de 2020, caracterizando uma pandemia de grande preocupação para a saúde pública mundial (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020). No início do mês de abril de 2020 havia no mundo mais de 800 mil casos confirmados de infecção por COVID-19 e mais de 42 mil óbitos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2020). No Brasil, mais de 6000 casos e 200 óbitos, sendo a região nordeste a segunda com o maior número de casos e o Estado do Ceará o terceiro com o maior número de casos do país (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). A via de transmissão principal é o contato com indivíduos infectados, através de gotículas respiratórias (KUSCHNAROFF et al., 2015), sendo a principal faixa etária acometida a de pessoas entre 30 e 65 anos, e a maioria dos casos graves ocorrendo em idosos ou pessoas com comorbidades (YI et al., 2020). As principais manifestações clínicas são febre alta (>38°C), tosse seca, dispnéia e mialgia (KUSCHNAROFF et al., 2015). Outros sintomas, menos frequentes, incluem dor de garganta, mal-estar, rinorreia, diarreia, náuseas e vômitos (YI et al., 2020). As formas graves evoluem com insuficiência respiratória, necessitando de terapia intensiva (KUSCHNAROFF et al., 2015). As alterações laboratoriais principais incluem leucopenia, linfopenia, plaquetopenia e elevação de enzimas hepáticas (KUSCHNAROFF et al., 2015). Outros marcadores estão elevados na infecção por COVID-19, como proteína C-reativa (PCR), VHS e d-dímero, mas o papel dos mesmos no diagnóstico e prognóstico ainda não está bem estabelecido (YI et al., 2020). A mortalidade do COVID-19, em torno de 2-3%, é menor que a observada nas outras epidemias causadas por este vírus, na China e no Oriente Médio, no início deste século, porém vem atingindo grandes proporções, possivelmente pela grande infectividade e pela grande mobilidade das pessoas no mundo todo. Medidas de isolamento vem sendo adotadas em vários países com o intuito de frear o crescimento exponencial da epidemia e, assim, reduzir o número de casos fatais, ao mesmo tempo em que se possibilita o desenvolvimento de terapia específica contra o vírus (até então inexistente) e de uma vacina, que também não existe. Desde a ocorrência das epidemias na China e no Oriente Médio (SARS/MERS), estudos vêm sendo realizados para o desenvolvimento de vacinas contra o coronavírus (LEE et al., 2016; EJUANES et al., 2016; NEMOTO et al., 2017; EYAL et al., 2020). O tratamento de suporte é a base principal da terapia desta infecção, apesar de uma variedade de medicamentos já ter sido testada para o COVID-19 (YI et al., 2020). Uma das medicações que parece ter o efeito mais benéfico é a cloroquina. Durante a pandemia do COVID-19 vários estudos vêm sendo realizado para testar a eficácia da cloroquina em pacientes internados por COVID-19, incluindo estudos multicêntricos e

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

ensaios clínicos (CORTEGIANI et al., 2020; COLSON et al., 2020), devido ao seu conhecido efeito anti-viral (COLSON et al., 2020), assim como testes com alguns anti-virais (WANG et al., 2020). A atual pandemia causada COVID-19 tem causado grande preocupação as autoridades no mundo todo, e várias complicações tem sido evidenciadas, incluindo lesão renal, que é frequente nas doenças tropicais (DAHER et al., 2019), o que está associado ao aumento da gravidade e da mortalidade. É necessário compreender melhor as manifestações clínicas e as complicações da Infecção pelo COVID-19, determinar os possíveis fatores associados à mortalidade e qual o tratamento mais adequado, incluindo a investigação de possíveis tratamentos específicos. O objetivo principal deste projeto é investigar a Infecção por COVID-19 em pacientes internados nas duas maiores áreas metropolitanas do nordeste do Brasil (Salvador e Fortaleza), em seus aspectos clínicos, laboratoriais, prognósticos e terapêuticos. Com isto espera-se contribuir para a elaboração e o aperfeiçoamento de protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas para a Infecção por COVID-19, bem como fornecer subsídios para o desenvolvimento de fármacos para o tratamento da Infecção por COVID-19, tendo por base a compreensão da fisiopatologia da doença.

HIPÓTESE

Há fatores associados ao prognóstico e é necessário compreender melhor as manifestações clínicas e o tratamento da Infecção pelo novo coronavírus (COVID-19).

METODOLOGIA

Desenho do estudo: Trata-se de um estudo de coorte, prospectivo. População do estudo: Pacientes Internados por coronavírus (COVID-19) no Hospital Instituto Dr. José Frota, em Fortaleza, Ceará, e no Hospital Português, em Salvador, Bahia, Brasil. Instrumento de pesquisa: Serão coletadas as informações necessárias para o preenchimento de um formulário de pesquisa semi-estruturado (anexo 1). Parâmetros Estudados: Características Clínicas: a) Dados sócio-demográficos: Idade, sexo, cor, profissão, escolaridade, naturalidade, procedência. b) História clínica – Tempo decorrido entre o primeiro sintoma e o diagnóstico (confirmação da Infecção por COVID-19); tempo entre o início dos sintomas e o atendimento médico; presença de comorbidades (hipertensão, diabetes, doença renal prévia, neoplasia, doença hepática, entre outras). c) Exame físico: Pressão arterial, frequência cardíaca, frequência respiratória, peso, estatura, Índice de massa corporal (IMC) e volume urinário de 24 horas. d) Manifestações clínicas: Sinais e sintomas (febre, tosse seca, dispnéia, dor de garganta, mialgia, fraqueza, mal-estar, entre outros). Avaliação laboratorial – Laboratório de Nefrologia e Doenças Tropicais da Universidade

Endereço: BRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

Federal do Ceará, Brasil: A avaliação laboratorial geral será feita de acordo com a rotina dos hospitais, não devendo onerar o sistema de saúde. Os exames de rotina, que serão avaliados são: hemograma completo, velocidade de hemossedimentação, proteína C-reativa (PCR), glicemia de jejum, ureia, creatinina (e taxa de filtração glomerular estimada), sódio, potássio, cloro, cálcio e magnésio plasmáticos, gasometria venosa, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), creatinoquinase (CK), bilirubinas totais e frações, ácido úrico, proteínas totais, albumina, globulinas, fosfatase alcalina, tempo de ativação da protrombina (TAP), tempo de ativação parcial da tromboplastina (TTPA) e exame de urina tipo 1. A função renal será avaliada pelo método tradicional, por meio da dosagem de creatinina plasmática, sendo estimada a taxa de filtração glomerular pela fórmula CKDEPI ("Chronic Kidney Disease - Epidemiology") (LEVEY, 2009). A avaliação laboratorial dos novos biomarcadores será feita no Laboratório de Nefrologia e Doenças Tropicais da Universidade Federal do Ceará. Serão colhidos na admissão hospitalar e durante a internação (após 7 dias da admissão e no dia da alta hospitalar). Serão avaliados ainda os exames que forem realizados durante a internação e no momento da alta, para observar a evolução dos pacientes e o desfecho (recuperação da função renal ou desenvolvimento de doença renal crônica). Os novos biomarcadores serão quantificados por meio da técnica do Imunoensayo ligado a enzima (ELISA) sanduíche, utilizando kit comercial fornecido pelos fabricantes. A técnica do ELISA sanduíche se baseia na quantificação do antígeno (o biomarcador) através de sua ligação com anticorpos específicos adsorvidos em placa de 96 poços (placa sensibilizada e fornecida no kit pelo fabricante). Serão seguidos os procedimentos de acordo com as normas do fabricante. Para a leitura colorimétrica será utilizado espectrofotômetro com comprimento de onda de 450 nm. Os resultados das concentrações dos biomarcadores urinários serão normalizados pela creatinina urinária da mesma amostra e expressos em "mg/g-Creatinina".

CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

Serão selecionados os pacientes que tiverem diagnóstico confirmado de COVID-19, por RT-PCR, de acordo com as normas vigentes preconizadas pelo Ministério da Saúde (2020), no período de maio de 2020 a dezembro de 2021, e que obedeçam os seguintes critérios:

- (1) Pacientes com idade acima de 18 anos de idade,
- (2) Ambos os sexos, e
- (3) Assinatura do termo de consentimento livre após esclarecimentos pertinentes aos testes que serão realizados (TCLE).

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (81)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Protocolo: 4.026.000

CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Serão excluídos os pacientes que tiverem os seguintes critérios:

- (1) Pacientes com sorologia inconclusiva para COVID-19,
- (2) Crianças,
- (3) Gestantes,
- (4) Portadores de Doença Renal Crônica em Diálise,
- (5) Transplantados renais ou pacientes transplantados de outros órgãos,
- (6) Pacientes em uso de imunossupressores,
- (7) Pacientes em uso de Quimioterápicos.

Objetivo da Pesquisa:

OBJETIVO PRIMÁRIO

Investigar manifestações clínicas, complicações, fatores prognósticos e tratamento de pacientes internados devido à Infecção por Coronavírus (COVID-19) em Salvador e Fortaleza.

OBJETIVOS SECUNDÁRIOS

- Traçar o perfil epidemiológico dos pacientes internados por COVID-19.
- Descrever as alterações laboratoriais encontradas nos pacientes internados por COVID-19.
- Investigar novos biomarcadores de lesão renal e inflamação nos pacientes internados por COVID-19 e avaliar se os mesmos têm relação com prognóstico.
- Determinar quais são os fatores de mau prognóstico na infecção por COVID-19. • Avaliar as possíveis complicações decorrentes da infecção por COVID-19 e quais os tratamentos mais adequados.
- Avaliar as medidas terapêuticas instituídas aos pacientes internados por COVID-19.
- Investigar a eficácia de tratamentos específicos direcionados à infecção por COVID-19, incluindo cloroquina e antivirais, prescritos de acordo com a indicação do médico assistente de cada paciente.
- Avaliar possíveis eventos adversos das medicações administradas no tratamento da infecção por COVID-19.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

RISCOS

Os riscos desta pesquisa serão mínimos. Os pacientes serão submetidos a coletas de amostras de sangue e urina para a realização de exames laboratoriais, sendo o risco relacionado ao

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

procedimento, com risco mínimo de contaminação e acidentes de punção, uma vez que a coleta será feita em laboratório com pessoal especializado. A minimização dos riscos será feita com a coleta de exames laboratoriais por profissional experiente e qualificado, utilizando material estéril e descartável. A área a ser punccionada será limpa com o uso de algodão e álcool e medidas de hemostase para conter o sangramento serão empregadas. Há também riscos devido à exposição de dados pessoais dos pacientes durante a coleta das informações nos prontuários, porém estes riscos serão minimizados uma vez que os dados pessoais não serão coletados nem armazenados nos bancos de dados da pesquisa, uma vez que o objetivo é o conhecimento clínico de forma geral.

BENEFÍCIOS

O conhecimento das manifestações clínicas, das complicações, dos fatores associados ao prognóstico e do tratamento da Infecção pelo novo coronavírus (COVID-19) é uma necessidade urgente do mundo contemporâneo, e este é um grande benefício do presente projeto de pesquisa. Este conhecimento propiciará um manejo mais adequado dos pacientes infectados pelo COVID-19, além de gerar um aprofundamento sobre esta doença. O diagnóstico precoce das complicações, incluindo lesão renal propiciará meios para a adoção de medidas de controle, prevenção e tratamento desta condição, evitando (ou pelo menos retardando) o desenvolvimento de insuficiência renal crônica. Os indivíduos que forem identificados como portadores de lesão renal serão encaminhados para acompanhamento com profissional especializado (Nefrologista) da Universidade de Fortaleza.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um estudo de coorte, prospectivo.

População do estudo: Pacientes internados por coronavírus (COVID-19) no

Hospital Instituto Dr. José Frota, em Fortaleza, Ceará, e no Hospital Português, em Salvador, Bahia, Brasil.

Instrumento de pesquisa: Serão coletadas as informações necessárias para o preenchimento de um formulário de pesquisa semi-estruturado (anexo

1). Parâmetros Estudados:

Características Clínicas:

a) Dados sócio-demográficos: Idade, sexo, cor, profissão, escolaridade, naturalidade, procedência.

b) História clínica – Tempo decorrido entre o primeiro sintoma e o diagnóstico (confirmação da infecção por COVID-19); tempo entre o início dos sintomas e o atendimento médico; presença de comorbidades (hipertensão, diabetes, doença renal prévia, neoplasia, doença hepática, entre

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Protocolo: 4.026.000

outras).

c) Exame físico: Pressão arterial, frequência cardíaca, frequência respiratória, peso, estatura, índice de massa corporal (IMC) e volume urinário de 24 horas.

d) Manifestações clínicas: Sinais e sintomas (febre, tosse seca, dispnéia, dor de garganta, mialgia, fraqueza, mal-estar, entre outros).

Avaliação laboratorial – Laboratório de Nefrologia e Doenças Tropicais da Universidade Federal do Ceará, Brasil:

A avaliação laboratorial geral será feita de acordo com a rotina dos hospitais, não devendo onerar o sistema de saúde. Os exames de rotina, que serão avaliados são: hemograma completo, velocidade de hemossedimentação, proteína C-reativa (PCR), glicemia de jejum, ureia, creatinina (e taxa de filtração glomerular estimada), sódio, potássio, cloro, cálcio e magnésio plasmáticos, gasometria venosa, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), creatinoquinase (CK), bilirubinas totais e frações, ácido úrico, proteínas totais, albumina, globulinas, fosfatase alcalina, tempo de ativação da protrombina (TAP), tempo de ativação parcial da tromboplastina (TTPA) e exame de urina tipo 1. A função renal será avaliada pelo método tradicional, por meio da dosagem de creatinina plasmática, sendo estimada a taxa de filtração glomerular pela fórmula CKDEPI ("Chronic Kidney Disease - Epidemiology") (LEVEY, 2009).

A avaliação laboratorial dos novos biomarcadores será feita no Laboratório de Nefrologia e Doenças Tropicais da Universidade Federal do Ceará.

Serão colhidos na admissão hospitalar e durante a internação (após 7 dias da admissão e no dia da alta hospitalar). Serão avaliados ainda os exames que forem realizados durante a internação e no momento da alta, para observar a evolução dos pacientes e o desfecho (recuperação da função renal ou desenvolvimento de doença renal crônica). Os novos biomarcadores serão quantificados por meio da técnica do Imunoensayo Ligado

a enzima (ELISA) sanduíche, utilizando kit comercial fornecido pelos fabricantes. A técnica do ELISA sanduíche se baseia na quantificação do antígeno (o biomarcador) através de sua ligação com anticorpos específicos adsorvidos em placa de 96 poços (placa sensibilizada e fornecida no kit pelo fabricante). Serão seguidos os procedimentos de acordo com as normas do fabricante. Para a leitura colorimétrica será utilizado espectrofotômetro com comprimento de onda de 450 nm. Os resultados das concentrações dos biomarcadores urinários serão normalizados pela creatinina urinária da mesma amostra e expressos em "mg/g-Creatinina".

Tamanho da Amostra no Brasil: 1.000

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

Demais Centros Participantes no Brasil:

REAL SOCIEDADE PORTUGUESA 16 DE SETEMBRO - VALNÉLIA FRAGA DA SILVA

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Vide Item "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações"

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Análise de respostas ao parecer pendente nº 3.983.441 emitido pela Conep em 22/04/2020:

1. Quanto ao Termo de Consentimento Livre e Esclarecido referente ao arquivo "TCLE.doc", postado na Plataforma Brasil em 06/04/2020:

1.1. Na página 1, lê-se: "(...) será disponibilizado parte do material coletado para a pesquisa de novos exames que poderão identificar marcadores de gravidade (novos biomarcadores), que podem ser utilizados no futuro como novos testes de laboratório (novos "exames")." As pesquisas, em qualquer área do conhecimento envolvendo seres humanos, deverão observar as seguintes exigências: utilizar o material biológico e os dados obtidos na pesquisa exclusivamente para a finalidade prevista no seu protocolo, ou conforme o consentimento do participante. Não é adequado realizar testes adicionais nas amostras biológicas sem que o participante da pesquisa tenha conhecimento e consentido com a sua realização. Sendo assim, solicita-se informar que somente os testes em amostras biológicas que estiverem descritos no TCLE serão realizados e quando autorizados pelo participante da pesquisa ao assiná-lo (Resolução CNS nº 466 de 2012, Item III.2).

RESPOSTA: Realizamos a adequação do TCLE, excluindo a sentença que deixava dúvida sobre a possível realização de exames no futuro com as amostras biológicas coletadas dos participantes da pesquisa e detalhamos quais exames serão realizados no âmbito desta pesquisa.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.2. Na página 1 lê-se: "1. PARTICIPAÇÃO NA PESQUISA: Ao participar desta pesquisa você irá realizar alguns exames laboratoriais[...]. O TCLE deve informar quais os exames que serão realizados no estudo. Solicitam-se adequações.

RESPOSTA: Detalhamos no TCLE quais exames serão realizados no âmbito desta pesquisa.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: BRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

1.3. No projeto, é informado que serão acessados dados demográficos, história clínica e manifestações clínicas dos participantes. Assim, se houver intenção de consultar o prontuário, essa informação deverá estar claramente expressa no TCLE. Isto visa garantir que o indivíduo receba as informações necessárias para a tomada de decisão autônoma acerca de sua participação ou não na pesquisa. Diante do exposto, solicita-se descrever no TCLE que é necessária a anuência do participante da pesquisa para o acesso e uso dos seus dados registrados no prontuário.

RESPOSTA: Providenciamos o termo de fiel depositário e incluímos a informação de que serão consultados dados dos prontuários.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.4. O TCLE não apresenta a numeração nas páginas. Com o objetivo de garantir a integridade do documento, solicita-se que sejam inseridos os números de cada página, bem com a quantidade total delas, como por exemplo: "1 de X" e assim sucessivamente até a página "X de X"

RESPOSTA: Incluímos no TCLE a numeração das páginas, bem como espaço para rubrica de todas as páginas.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.5. Solicita-se que conste no TCLE que todas as páginas deverão ser rubricadas pelo pesquisador responsável/pessoa por ele delegada e pelo participante/responsável legal (Resolução CNS nº 466 de 2012, Item IV.5.d).

RESPOSTA: Incluímos no TCLE a numeração das páginas, bem como espaço para rubrica de todas as páginas.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.6. O TCLE deve informar os meios de contato com o CEP (endereço, E-MAIL e TELEFONE nacional), assim como os horários de atendimento ao público. Também é necessário apresentar, em linguagem simples, uma breve explicação sobre o que é o CEP. Como o estudo envolve análise ética pela Conep, essas recomendações também devem ser estendidas a esta Comissão. Solicita-se adequação.

RESPOSTA: Incluímos os meios de contato, tanto do pesquisador principal quanto do comitê de ética local, horários de contato e endereço.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.068

1.7. O Termo de Consentimento Livre e Esclarecido não deve conter ressalva que negue a responsabilidade do pesquisador ou que implique ao participante da pesquisa abrir mão de seus direitos, incluindo o direito de buscar indenização por danos eventuais. Diante do exposto, solicita-se inserir no TCLE a explicitação acerca do direito de buscar indenização diante de eventuais danos decorrentes da pesquisa (Resolução CNS nº 466 de 2012, Item IV.3.h).

RESPOSTA: Incluímos no TCLE as formas de ressarcimento e indenização.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

1.8. Solicita-se que o termo "paciente/sujeito" seja substituído pelo termo "participante da pesquisa" ao longo do texto do TCLE, conforme definição disposta no Item II.10 da Resolução CNS nº 466 de 2012.

RESPOSTA: Adequamos o termo para "participante da pesquisa" em todo o TCLE.

ANÁLISE: PENDÊNCIA ATENDIDA.

Considerações Finais a critério da CONEP:

Diante do exposto, a Comissão Nacional de Ética em Pesquisa - Conep, de acordo com as atribuições definidas na Resolução CNS nº 466 de 2012 e na Norma Operacional nº 001 de 2013 do CNS, manifesta-se pela aprovação do projeto de pesquisa proposto.

Situação: Protocolo aprovado.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|---|------------------------|---------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1536050.pdf | 07/05/2020 08:43:56 | | Aceito |
| Outros | CartaResposta.pdf | 07/05/2020 08:43:25 | Geraldo Bezerra da Silva Junior | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investigador | Projeto.doc | 22/04/2020 16:15:50 | Geraldo Bezerra da Silva Junior | Aceito |
| Declaração de concordância | AnuencialJF2.pdf | 22/04/2020 16:12:09 | Geraldo Bezerra da Silva Junior | Aceito |
| Outros | FielDepositarioJF.pdf | 22/04/2020 16:11:56 | Geraldo Bezerra da Silva Junior | Aceito |
| TCLE / Termos de | TCLE_controle_alter.doc | 22/04/2020 | Geraldo Bezerra da | Aceito |

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar

Bairro: Asa Norte

CEP: 70.719-040

UF: DF

Município: BRASÍLIA

Telefone: (61)3315-5877

E-mail: conep@saude.gov.br

COMISSÃO NACIONAL DE
ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

| | | | | |
|--|----------------------------|------------------------|------------------------------------|--------|
| Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_controle_alter.doc | 16:10:51 | Silva Junior | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_sem_controle.doc | 22/04/2020 16:10:41 | Geraldo Bezerra da Silva Junior | Aceito |
| Folha de Rosto | FolhaRostoDigitalizada.pdf | 06/04/2020 13:41:53 | Geraldo Bezerra da Silva Junior | Aceito |
| Outros | Questionario.doc | 06/04/2020 11:37:03 | Geraldo Bezerra da Silva Junior | Aceito |

Situação do Parecer:
Aprovado

BRASILIA, 16 de Maio de 2020

Assinado por:
Jorge Alves de Almeida Venancio
(Coordenador(a))

Endereço: SRTVN 701, Via W 5 Norte, lote D - Edifício PO 700, 3º andar
Bairro: Asa Norte CEP: 70.719-040
UF: DF Município: BRASILIA
Telefone: (61)3315-5877 E-mail: conep@saude.gov.br

ANEXO - B – PUBLICAÇÃO

Os resultados desse estudo foram apresentados no *WORLD CONGRESS OF NEPHROLOGY (WCN)*, que aconteceu nos dias 30 de março a 02 de abril de 2023, em BANGKOK, Tailândia, sob o título "ENDOTHELIAL BIOMARKERS IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH COVID-19: POTENTIAL PREDICTORS OF THE NEED FOR DIALYSIS" e publicados no *KIReports.org*, conforme segue abaixo.



ACUTE KIDNEY INJURY CLINICAL DRUGS, AKI-CKD CONTINUUM

AKI, Electrolytes, Acid-base Disorders, Tropical Diseases, RPGN and Pregnancy

WCN23-0091

PRECLINICAL PHARMACOKINETICS OF A NOVEL NICORANDIL PRODRUG

Gupta, P¹, Khare, A², Reddy, G³, Gupta, S⁴

¹Unicyte Therapeutics Inc., Pharmaceutical and Business, Los Altos, United States; ²Unicyte Therapeutics Inc., Scientific Affairs, Los Altos, United States; ³Unicyte Therapeutics Inc., Preclinical Research and Development, Los Altos, United States; ⁴Unicyte Therapeutics Inc., Executive, Los Altos, United States

Introduction: Nicorandil, a potassium channel activator, is used to prevent or reduce angina.¹ Limitations of nicorandil include serious gastrointestinal side effects and rapid absorption and elimination.^{1,2} A nicorandil prodrug may increase the short half-life and improve the safety profile of nicorandil. We present pharmacokinetic data in dogs for a novel nicorandil prodrug, UNI-494.

Methods: Groups of 3 beagle dogs were administered a single oral dose of 3, 10, or 30 mg/kg UNI-494 at a volume of 5 mL/kg. Clinical observations were recorded at approximately 1, 1.5, 2, 3, and 24h post-dose. Whole blood samples were collected pre-dose and 0.083, 0.25, 0.50, 1, 1.5, 2, 4, 8, and 24h post-dose to analyze systemic exposure to UNI-494 and nicorandil. Dose and concentration parameters (C_{max} and AUC) were used to generate linearity plots and calculate the coefficients of determination (r^2) and slopes for UNI-494 and nicorandil.

Results: The mean T_{max} was 0.7 hr (3 mg/kg dose), 1.5 hr (10 mg/kg dose) and 1.3 hr (30 mg/kg dose), respectively (Table 1). The mean C_{max} and AUC of nicorandil increased linearly with UNI-494 dose amounts (Figures 2 and 3).

Table 1. C_{max} , T_{max} and AUC by Dose Group and Analysis

| | Dose Group (mg/kg) | | | | | |
|--------------------|--------------------|------------|---------|------------|---------|------------|
| | UNI-494 | Nicorandil | UNI-494 | Nicorandil | UNI-494 | Nicorandil |
| C_{max} (ng/mL) | 43 | 1,300 | 170 | 3,070 | 1,500 | 7,530 |
| T_{max} (Hours) | 0.3 | 0.7 | 0.3 | 1.5 | 0.3 | 1.3 |
| AUC (1hour)(ng/mL) | 34 | 3,430 | 182 | 11,400 | 1,510 | 38,080 |

Figure 2. Mean C_{max} of Nicorandil and UNI-494 by UNI-494 Dose After Single Dosing in Dogs

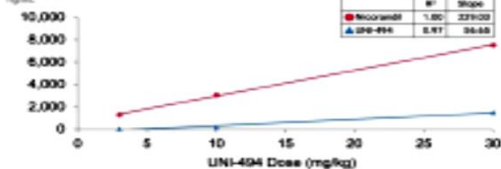
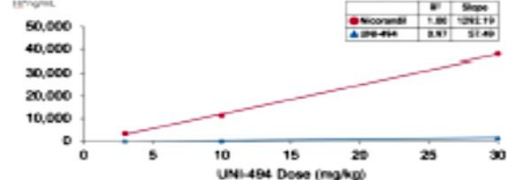


Figure 3. Mean AUC of Nicorandil and UNI-494 by UNI-494 Dose After Single Dosing in Dogs



Conclusion: Nicorandil was rapidly formed from the prodrug UNI-494. Mean C_{max} for nicorandil was >5-fold greater than that of UNI-494, demonstrating the efficient conversion of the prodrug to the active drug. The conversion was consistent across dose groups. These results indicate that UNI-494 is a rationally designed drug. Future studies should evaluate this promising treatment in the target population of patients with acute kidney injury.

Conflict of interest:

Potential conflict of interest:

Pramod Gupta, Atul Khare, Guru Reddy, and Shalabh Gupta are employees of Unicyte Therapeutics, Inc. The study was funded by Unicyte Therapeutics, Inc.

WCN23-0100

ENDOTHELIAL BIOMARKERS IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH COVID-19: POTENTIAL PREDICTORS OF THE NEED FOR DIALYSIS

Cavalcante Mendes, G¹, de Souza Zaranza, M¹, Costa Martins, AM², Linhares Ponte Aragão, N³, Linhares Aragão, N³, Rodim Guimarães, A¹, Feitosa, AR¹, Silva, MA³, Pires Lázaro, AP³, Lopes, NC³, Dantas, MMP³, Maza Beirão, A³, Lemos Moura Moraes Albuquerque, P³, De Francisco Daher, E³, Bezerra da Silva Jr, G⁴

¹Federal University of Ceará, School of Medicine-Medical Sciences Post-Graduate Program, Fortaleza, Brazil; ²Federal University of Ceará, Pharmacology Post-Graduation Program, Fortaleza, Brazil; ³Instituto Dr. José Prota, Division of Toxicology and Critical Care, Fortaleza, Brazil; ⁴University of Fortaleza, School of Medicine, Fortaleza, Brazil

Introduction: Endothelial dysfunction and coagulopathy have been reported as the basis of severe Acute Kidney Injury (AKI) associated with COVID-19. Endothelial biomarkers can detect kidney damage early and allow the adoption of efficient measures to prevent the progression of the disease and its complications. This finding could facilitate the follow-up of patients at higher risk, as well as provide early diagnosis strategies and promote the rational use of resources. The aim of this study is to assess the role of vascular biomarkers to predict the need for hemodialysis in critically ill patients with COVID-19.

Methods: This is a prospective study with 58 patients critically ill due to COVID-19 infection admitted to a tertiary hospital in Fortaleza, Northeast Brazil, from 2020 to 2021. General laboratory tests and vascular biomarkers such as VCAM-1, Syndecan-1, ACE-2, ICAM-1, Angiotensin-1 and Angiotensin-2 were quantified on admission to the intensive care unit (ICU).

Results: There was a 40% mortality rate. VCAM and the Ang-2/Ang-1 ratio at ICU admission were associated with the need for hemodialysis. Vascular biomarkers (VCAM-1, Syndecan-1, angiotensin-2/angiotensin-1 ratio) and thrombocytopenia were predictors of dialysis, and their cutoff values were useful to stratify patients with worse prognosis in the Kaplan-Meier analysis. In the Cox multivariate regression analysis with models adjusted according to the presence or absence of platelets, VCAM-1 [OR: 1.13 (95% CI: 1.01 - 1.27); p=0.034] was an independent predictor of dialysis in all models, and the Ang-2/Ang-1 ratio [OR: 4.87 (95% CI: 1.732 - 13.719); p=0.003] was associated with the need for dialysis in the model without platelet input.

Conclusion: Vascular biomarkers, mainly VCAM-1 and Ang-2/Ang-1 ratio, and coagulation disorders showed important predictive value for the need for hemodialysis in critically ill patients with COVID-19.

No conflict of interest

WON 23-0143

CHARACTERISTICS AND CLINICAL OUTCOME OF SEPTIC AKI COMPARED TO NON-SEPTIC AKI: A HOSPITAL BASED PROSPECTIVE COHORT STUDY



Dutta, PK¹, Saha, R²

¹Manna City medical College- Chattogram - Bangladesh, Department of Nephrology, Chattogram, Bangladesh, ²Manna City Medical College- Chattogram- Bangladesh, Department of Nephrology, Chattogram, Bangladesh

Introduction: AKI is a common clinical problem and is associated with increased mortality and morbidity and sepsis has consistently been the most common contributing factor to AKI. There is lack of study focused on characteristics differences between septic and non-septic AKI patients and clinical outcome in our setting. The aim of the study is to describe and compare the characteristics and clinical outcomes of patients with septic and non-septic AKI.

Methods: This was hospital based prospective cohort study carried out in the Department of Nephrology of CMCH, from March 2019 to February 2020. A total of 94 AKI patients diagnosed by The KDIGO AKI creatinine criteria, were enrolled in the study after following inclusion and exclusion criteria and divided into two groups- septic and non-septic AKI patients. Patients were followed till 90 days from admission. Demographics, clinical characteristics and outcome were analyzed.

Results: Septic AKI was associated with worse clinical (increased mean HR, RR, decreased MAP; $P < .0001$), haematological (lower mean Hb%, higher mean WBC count) and biochemical disturbance (lower mean P/H, HCO₃). Diabetes had significant association with Septic AKI and Hypertension had significant association with Non-Septic AKI patients. Septic AKI patients had longer mean duration of hospital stay and need more ICU admission. Septic AKI had more complete recovery of renal function than Non-septic AKI ($p = .010$). Septic AKI had higher 90 days' mortality rate compared with Non-Septic AKI ($p = .047$). Kaplan-Meier survival curves demonstrated reduced survival for patients with Septic AKI compared with Non-Septic AKI ($p = .044$).

Conclusion: Significant differences were found in the characteristics and clinical outcome of patients with Septic AKI compared to Non-Septic AKI. Septic AKI was associated with worse clinical, haematological and biochemical disturbance. Patients with Septic AKI had an increased risk of death and longer duration of hospitalization, and showed trends toward greater renal function complete recovery within 3 months of follow up.

No conflict of interest

WON 23-0207

AWARENESS, PERCEIVED, AND OBJECTIVE KNOWLEDGE OF ACUTE KIDNEY INJURY AMONG ACUTE KIDNEY INJURY SURVIVORS FOLLOWED IN A MULTIDISCIPLINARY POST-AKI CLINIC



THANAPONGSATORN, P¹, Kaswanan, K², Bunnungpat, T², Sriawwat, N³

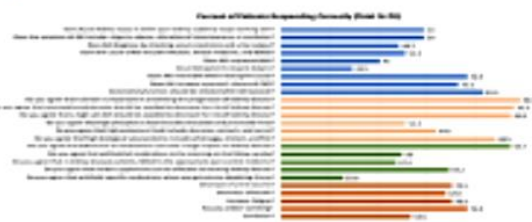
¹Central Chest Institute of Thailand, Medicine, Nonthaburi, Thailand, ²Central Chest Institute of Thailand, Nephrology Unit, Nonthaburi, Thailand, ³King Chulalongkorn Memorial Hospital, Medicine, Bangkok, Thailand

Introduction: Acute kidney injury (AKI) survivors have carried the risk of short- and long-term adverse outcomes. Recently, the application of a multidisciplinary team approach in AKI survivors has drawn increasing attention; however, the outcomes remain controversial. One of the key factors was the patient's unawareness of AKI significance and insufficient knowledge. The purpose of the study was to determine awareness, and knowledge of AKI among moderate to severe AKI survivors.

Methods: We conducted a cross-sectional survey between January to October 2022 among moderate to severe (stage II-III) AKI survivors on

the first visit to the multidisciplinary Post-AKI clinic at Central Chest Institute of Thailand, Thailand. Patients were evaluated using 3 component questionnaires included: (1) Did you aware of AKI during hospitalization? (Yes/No), (2) How do you rate your AKI knowledge? (Ranging from 1 or "I don't know" to 5 or "I know a lot", and (3) 25-item objective AKI knowledge adapted from the Validated Kidney Knowledge Survey that included general knowledge of AKI, nutrition, medication, and symptoms of renal failure.

Results: A total of 78 patients were included, 55% were male, and the mean (SD) age was 69.1 (14.2) years. The leading cause of AKI was cardiovascular syndrome (43.6%), of which 44.9%, 34.6%, and 20.5% were stage II AKI, stage III AKI, and stage III-dialysis AKI, respectively. Forty-eight percent of patients were unaware of their AKI during hospitalization. Multiple logistic regression showed a lower stage of AKI as a predictor of unawareness with ORs of 2.55 (95% CI 1.32-4.89). The mean (SD) perceived and objective knowledge scores were 1.5 (0.6) out of 5 and 16.4 (3.6) out of 25. Interestingly, only 25% of patients answered correctly about withholding specific medication such as metformin or SGLT2 inhibitors during sick day, and 30% of patients identified correctly that all patients with AKI do not require dialysis.



Conclusion: Despite surviving from moderate to severe AKI, most patients were unaware of their condition, and lack of perceived knowledge about AKI. Raising awareness of AKI and patient-center education care programs by a multidisciplinary team are needed to improve patient outcomes.

No conflict of interest

WON 23-0219

EVALUATION OF PREGNANCY INDUCED ACUTE KIDNEY INJURY AND ITS OUTCOME IN A TERTIARY CARE HOSPITAL IN EASTERN INDIA






Mukhopadhyay, P¹, Kataruka, M¹, KARGUPTA, A¹, Mukherji, A¹, Dasgupta, S², Rudra, A¹, Bhowmik, AK¹, Khan, M¹, NIRMOL, Nephrology, Kolkata, India, ²MOH- Kolkata, Nephrology, Kolkata, India

Introduction: Incidence of pregnancy related AKI though decreased in developed countries, remained to be a significant problem in developing nations. Predominant aetiologies in developing countries are sepsis & haemorrhage whereas hypertension related disorder is mainly responsible in developed countries. This study was conducted to determine the incidence, etiology, maternal outcome of pregnancy related AKI as well as risk of progression to CKD in a tertiary care hospital in eastern India.

Methods: This is a hospital based, prospective, observational study conducted from Oct 2019 to Jan 2021 at NRS Medical College & Hospital, Kolkata, India. All pregnant & postpartum patients presenting with pregnancy related AKI were included with exclusion criteria being pre-existing DM / HTN / CKD / post renal transplant. All patients followed up for 6 months. Complete renal recovery was defined as eGFR > 60ml/min/1.73m² (CKD-III).

Results: In that time period total 72 patients presented with PRAKI out of which 58 (80%) required HD. Total 476 patients with AKI received HD that time leading to incidence of dialysis requiring PRAKI to 12% - of which 90% patients presented in third trimester. Most common etiology was sepsis, present in 41.7% patients followed by obstetric haemorrhage in 34.7% patients and hypertensive disorder (16.67%). Renal biopsy was done in 18 (25%) patients with most common finding being ATN (19%). At the end of 6 months follow up 15 (20.8%) patients succumbed to illness, 39 (56%) had complete renal recovery. Most common etiology of mortality was sepsis - in 20% patients.

O artigo do referido estudo foi enviado para a revista *Kidney and Blood Pressure Research* em 19 de abril de 2023 e resubmetido em 15 de setembro de 2023, após correções solicitadas pelos revisores, e encontra-se em análise até o momento, conforme cópia do email de confirmação de submissão abaixo.

KBR-2023-4-13 Co-author manuscript submission confirmation  Caixa de entrada x  



Kidney and Blood Pressure Research <kbr@manuscriptmanager.net>
para mim ▾

qua., 19 de abr., 15:27 (há 12 dias) ☆ ↶ ⋮

Manuscript: KBR-2023-4-13 - Endothelial biomarkers in critically-ill COVID-19 patients: potential predictors of the need for dialysis

Authors: Marza de Sousa Zaranza (Co-author), Gdayllon Cavalcante Meneses (Co-author), Reinaldo Barreto Oriá (Co-author), Alice Maria Costa Martins (Co-author), Natalia Linhares Ponte Aragão (Co-author), Nilcyeli Linhares Aragão (Co-author), Saskya Roberta Rodrigues de Andrade (Co-author), Nicole Coelho Lopes (Co-author), Letícia Machado de Araújo (Co-author), Ranieri Sales de Souza Santos (Co-author), Álvaro Rolim Guimarães (Co-author), Ana Paula Lazaro (Corresponding author), Andrea Mazza Beliero (Co-author), Márcia Maria Pinheiro Dantas (Co-author), Geraldo Bezerra da Silva Júnior (Co-author), Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque (Co-author), Elizabeth De Francesco Daher (Co-author)

Date submitted: 2023-04-19

Dear Mrs Zaranza

The above manuscript has been submitted online by Dr. Lazaro and you have been listed as a co-author.

Please use the link below to:

1. Confirm you are a co-author
2. Confirm that you have given Dr. Lazaro permission to act on your behalf concerning this manuscript submission.
3. Check your profile information. (If the spelling of your official publication name and affiliation details are incorrect report this to the editorial office and submitting author.)
4. Agree to the conditions stipulated in the Submission Declaration. The Submission Declaration can be viewed [HERE](#)

- **Article title:** Endothelial biomarkers in critically-ill COVID-19 patients: potential predictors of the need for dialysis
- **Author names:**
 - Marza de Sousa Zaranza <https://orcid.org/0000-0002-0564-0475>^{1,4}
 - Gdayllon Cavalcante Meneses <https://orcid.org/0000-0002-0160-5728>^{1*}
 - Reinaldo Barreto Oriá <https://orcid.org/0000-0002-6914-5481>¹
 - Alice Maria Costa Martins <https://orcid.org/0000-0001-8160-2027>⁵
 - Natalia Linhares Ponte Aragão <https://orcid.org/0000-0002-2650-6144>⁴
 - Nilcyeli Linhares Aragão <https://orcid.org/0000-0003-0479-9369>^{1,4}
 - Saskya Roberta Rodrigues de Andrade <https://orcid.org/0000-0002-9786-5419>¹
 - Nicole Coelho Lopes <https://orcid.org/0000-0001-9227-7418>⁵
 - Letícia Machado de Araújo <https://orcid.org/0000-0002-1776-5523>⁵
 - Ranieri Sales de Souza Santos <https://orcid.org/0000-0002-1032-7950>⁵
 - Álvaro Rolim Guimarães <https://orcid.org/0000-0002-2743-5130>⁶
 - Ana Paula Pires Lázaro <https://orcid.org/0000-0001-9737-4030>^{2,3}
 - Andrea Mazza Beliero <https://orcid.org/0000-0001-8471-864X>⁴
 - Márcia Maria Pinheiro Dantas <https://orcid.org/0000-0003-4534-4934>^{1,4}
 - Geraldo Bezerra da Silva Júnior <https://orcid.org/0000-0002-8971-0994>^{2,3}
 - Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque <https://orcid.org/0000-0002-8969-1711>^{3,4}
 - Elizabeth De Francesco Daher <https://orcid.org/0000-0003-4189-1738>¹
- **Author affiliations:**
 1. Medical Sciences Postgraduate Program, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará, Brazil.
 2. Public Health Postgraduate Program, School of Medicine, Health Sciences Center, Universidade de Fortaleza. Fortaleza, Ceará, Brazil.
 3. School of Medicine, Health Sciences Center, Universidade de Fortaleza. Fortaleza, Ceará, Brazil.
 4. Instituto José Frota (IJF) Hospital, Fortaleza, Ceará, Brazil.
 5. Clinical and Toxicological Analysis Department, School of Pharmacy, Federal University of Ceará, Fortaleza, Brazil
 6. Federal University of Ceará. Fortaleza, Ceara, Brazil.

***Author for correspondence:** Gdayllon Cavalcante Meneses. Rua Professor Costa Mendes, 1608 - CEP 60430-140, Fortaleza - CE, Brazil. Phone: (+55 85) 988651482. E-mail: gdayllon@yahoo.com.br.

▪ **Author Contributions:**

MSZ, PLMMA, GCM conceived the study and conducted the selection, interpretation of the data and project administration. NLPA, NLA, ARG, APPL, AMB and MMPD contributed with the study design and selection of the studies. SRRA, NCL, LMA, and RSSS contributed with the management and storage of biological samples and ELISA assays for biomarkers measurements. RBO, AMCM, GBSJ and EFD revised this manuscript. GCM performed the design and interpretation of the data and formal analysis. EFD and PLMMA were responsible for the funding acquisitions. All authors read and approved the final version of the manuscript.

▪ **Acknowledgements:**

We are very grateful to the entire team of professionals at Instituto Dr. José Frota Hospital who joined forces to care for the critically-ill patients with COVID-19 and contributed to the collection of their samples used in this study.

- **Financial disclosure:**

Brazilian Coordination of Postgraduation— Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) supported this study through grants given to the co-authors (PLMMA): Number of the process: 88882.306447/2018-01.

Brazilian Coordination of Postgraduation— Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) supported the materials used:

Number of the process support 1: 88881.505364/2020-01.

Number of the process support 2: 88881.507066/2020-01.

- **Ethical disclosure:**

This research is part of the protocol approved on May 16, 2020 by the National Research Ethics Commission - CONEP under the title of "CLINICAL MANIFESTATIONS, COMPLICATIONS, PROGNOSTIC FACTORS AND TREATMENT OF HOSPITALIZED PATIENTS DUE TO CORONAVIRUS INFECTION IN SALVADOR AND FORTALEZA" (CAAE: 30579020.4.1001.0008), and all procedures are in accordance with resolution 466/2012, which regulates research involving human participants in Brazil.

- **Abstract :**

Aim: To evaluate the function of vascular biomarkers to predict need for hemodialysis in critically-ill patients with COVID-19. **Methods:** This is a prospective study with 58 critically-ill patients due to COVID-19 infection. Laboratory tests in general and vascular biomarkers, such as VCAM-1, Syndecan-1, Angiopoietin-1 and Angiopoietin-2 were quantified on intensive care unit (ICU) admission. **Results:** There was a 40% death rate. VCAM and Ang-2/Ang-1 ratio on ICU admission were associated with need for hemodialysis. Vascular biomarkers (VCAM-1, Syndecan-1, angiopoietin-2/ angiopoietin-1 ratio) were predictors of death and their cut-off values were useful to stratify patients with a worse prognosis. In the multivariate cox regression analysis with adjusted models, VCAM-1 [O.R. 1.13 (C.I. 95%: 1.01 - 1.27); p= 0.034] and Ang-2/Ang-1 ratio [O.R. 4.87 (C.I.95%: 1.732 - 13.719); p= 0.003] were associated with need for dialysis. **Conclusion:** Vascular biomarkers, mostly VCAM-1 and Ang-2/Ang-1 ratio, showed better efficiency to predict need for hemodialysis in critically-ill COVID-19 patients.

- **Plain language summary (PLS; within article):**

This study reports the use of endothelial biomarkers as useful tools to predict the first dialysis requirement during the ICU stay in patients with severe COVID-19. Endothelial dysfunction is an important mechanism to explain the pathophysiology of acute kidney injury caused by SARS-CoV-2 infection.

- **Keywords:** COVID-19, Dialysis, Endothelium, Biomarkers, ICU, prognosis.

Introduction

The infection caused by the novel SARS-CoV-2 virus, named COVID-19, has shown a broad clinical spectrum. The most complicated cases have been characterized by the development of severe acute respiratory syndrome (SARS), as well as other organ dysfunctions [1-2]. Even with the advent of vaccines, there is concern

about the emergence of new virus variants, an increase in the number of cases and the collapse of the health system. In this context, Acute Kidney Injury (AKI) has also gained notoriety, generating great worldwide concern due to the high demand for high-cost therapies, such as hemodialysis [3-4].

The SARS-CoV-2 virus can induce immune dysregulation and the consequent inflammatory hyperactivity result in systemic endothelial dysfunction and a hypercoagulable state. These mechanisms can result in AKI due to intravascular volume depletion, hypotension and consequent renal hypoperfusion, leading to prerenal AKI, or even acute tubular necrosis. The “cytokine storm” may be closely related to alveolar and tubular damage in SARS patients, characterizing a lung-kidney crosstalk [5-6].

Acute kidney injury in COVID-19 patients is multifactorial and includes worsening of previous risk factors, acute inflammatory response, cardiorenal syndrome, hemodynamic instability, and hypovolemia. The incidence is similar to that reported in other pandemics, notably in the H1N1 flu, suggesting the systemic inflammatory response may be the major contributor to severe AKI in the setting of virus-related critical disease [7]. There are yet no effective therapies or strategies to reduce the incidence of AKI in this patient population [8-9] and hemodialysis remains the main supportive therapy in patients who develop severe kidney injury, showing a strong association with high mortality rates [4].

Endothelial dysfunction and coagulopathy have been reported as the basis of severe AKI associated with COVID-19. The endothelial biomarkers can detect early kidney injury and allow the adoption of efficient measures to prevent disease progression and its complications. This finding could facilitate the monitoring of patients at higher risk [10].

Accordingly, this study aimed to analyze the prediction performance of biomarkers of endothelial damage in relation to the need of hemodialysis in severe COVID-19 patients. These insights can provide early diagnosis strategies, rational use of resources and encourage the development of new studies about better therapeutic approaches.

Methods

Study design and selected COVID-19 patients

This is a prospective, cross-sectional study, conducted with 58 critically-ill patients admitted in the Intensive Care Unit (ICU) due to COVID-19 at Instituto Doutor José Frota Hospital (IJF), a large tertiary hospital in the city of Fortaleza, state of Ceará, Northeastern Brazil, during the period between June 2020 to April 2021. The study included patients of both genders, aged 18 years and older, who had a confirmed diagnosis of COVID-19 by RT-PCR and who agreed to participate in the research and signed the free and informed consent form. Patients from medical wards and those who were admitted in the ICU after the wards were excluded. Moreover, patients with previous kidney disease registered in medical records and hospitalized for other causes than COVID-19 or who acquired COVID-19 during hospital stay were excluded. Also, patients who died during the first hours of ICU stay, and patients without information on the precise time dialysis was initiated were also excluded.

Laboratory and Clinical parameters of COVID-19 patients

The patients were followed throughout the ICU stay. Medical records were assessed for patient characteristics, such as sociodemographic parameters, symptoms and comorbidities, ICU length of stay, time from ICU admission until the first dialysis, number of dialysis sessions, time between symptom onset and ICU admission, supportive care (vasopressor use, need for mechanical ventilation and dialysis) and survival. The severity of the patients admitted to the ICU was estimated using the Simplified Acute Physiology Score 3 (SAPS3). This is an international tool that uses data from patient admission to the ICU to assess the likelihood of death in the hospital outcome [11]. [SAPS 3, oxygenation index](#) (calculated using the ratio of arterial oxygen partial pressure (PaO₂ in mmHg) to fractional inspired oxygen (FiO₂), [mortality, ICU length of stay and all the ICU data were calculated](#) from a cloud database program (Epimed™ System®). <https://www.epimedolutions.com/sistema-epimed-monitor-uti/>.

All recruited patients had blood samples collected on hospital admission. These samples were centrifuged, aliquoted, and frozen at -80 °C until the biomarkers were analyzed. To verify whether the patients had AKI or not, the Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO) criteria was used [12]. Briefly, AKI stage 1 was considered for patients who had serum creatinine (sCr) increases ≥ 0.3 mg/dL and up to 2-fold above the basal sCr. Increases within the range of 2 up to 3-fold greater than the basal sCr level were classified as AKI stage 2 and

increases in the sCr level more than 3-fold of the basal level, as well as sCr values ≥ 4 mg/dL were considered as AKI stage 3.

Endothelial biomarker measurements

Endothelial biomarkers were quantified by ELISA assays, using isolated serum samples of the enrolled patients. Specific kits were acquired from R&D Systems[®] for Angiotensin-1 (cat# DY623) and Angiotensin-2 (cat# DY623). In the case of VCAM-1 and Syndecan-1, the kits from Abcam[®] (ab47355 and ab47352) were used, respectively. The procedures were followed according to the manufacturer's recommendations.

Statistical analysis

Categorical data were expressed as absolute counts and percentages. The chi-square test or Fisher's exact test was used to evaluate the association between categorical data and dialysis requirement during the ICU stay. The quantitative data were explored, and normality was determined using the Kolmogorov-Smirnov test. Normal data were expressed as mean \pm standard deviation and non-normal data as median and interquartile range. The quantitative data were compared according to dialysis requirement during ICU stay using Student's *t* test or Mann-Whitney test, according to data normality.

To evaluate the predictive performance of endothelial biomarkers for dialysis requirement during ICU stay, ROC curves were constructed, and the area under the ROC curve (AUC-ROC) together with the 95% confidence intervals were estimated. The better cutoff for each biomarker was determined using the highest Youden index (Youden Index = sensitivity + specificity - 1). Moreover, the patients were stratified according to selected cutoffs (lower vs higher than cutoff), aiming to assess the prognostic value during the first 30 days of ICU stay through the Kaplan-Meier analysis using the "first dialysis" as the dependent event. The log-rank test was used to evaluate the statistical difference between the two groups based on the cutoff groups. Moreover, unadjusted and adjusted Cox proportional-hazards regression analyses were performed using quantitative levels of endothelial biomarkers and previously associated parameters with dialysis requirement (using as condition $p < 0.05$). Platelet levels, age, gender, and the collinearity of variables were assessed. For the multivariate model, the backward elimination test with likelihood ratio was used as a stepwise method, with the final models including all variables. The platelet levels were manually removed from specific models aiming to investigate the explanatory models for dialysis requirement without platelet influence. The data were analyzed using SPSS software for Macintosh, version 23 (Armonk, NY: IBM Corp.) A value of $p < 0.05$ was considered statistically significant for all analytical tests.

Ethics

This study was approved by the national Research Ethics Committee in, under CAAE number:30579020.4.1001.0008 The patients were informed about the study purpose, and upon acceptance to participate, they signed the Free and Informed Consent form before the beginning of the evaluation. As some admitted patients required immediate ICU care and were unable to sign the term, it was signed by a family member.

Results

Characteristics of COVID-19 patients admitted to ICU and dialysis requirement.

A total of 368 patients were admitted to the ICU during the period between June 2020 to April 2021, and blood samples were collected for biomarker analysis from 116 patients. Twenty-three patients had a negative RT-PCR result for COVID-19 and 15 patients had another main diagnosis rather than COVID-19 upon ICU admission and were excluded; thus, 78 patients remained in the sample. Moreover, four patients with previous CKD and 16 patients who died during the first 24 hours were also excluded. Hence, a total of 58 patients with ICU admission due to COVID-19 infection as the leading cause of hospitalization were assessed (**Fig. 1** Flowchart of the included critically-ill COVID-19 patients).

The patients who required dialysis were older, (62.4 ± 12.5 vs 53.5 ± 16.5 years, $p = 0.037$) and had a higher prevalence of AKI (95% vs 39%, $p < 0.001$). Moreover, the dialysis group required more vasopressor use (70% vs 26%, $p = 0.001$) and mechanical ventilation (95% vs 69%, $p = 0.022$) on ICU admission, and had a higher mortality rate in comparison with the group that did not require dialysis during the ICU stay. There was no difference regarding the frequencies of comorbidities, including diabetes, hypertension, obesity and evaluated symptoms, such as dyspnea, hypoxemia, and fever on admission between the groups. (Table 1 – Characteristics,

SAPS3 and laboratory parameters on admission of ICU according to the need for dialysis during ICU stay of the critical ill COVID-19 patients).

Regarding laboratory parameters evaluated on ICU admission, COVID-19 patients who needed dialysis during the ICU stay had decreased platelets, and increased LDH, urea and creatinine levels. No statistical significance was observed for D-dimer and CRP levels, as well as for hemoglobin, any leucogram parameters, and for any liver markers (bilirubin, AST, ALT). The SAPS3 score on ICU admission was markedly higher in COVID-19 patients who required dialysis during the ICU stay (63 ± 13.8 vs 49.5 ± 14.2 , $p < 0.001$) (**Table 1** Characteristics, SAPS3 and laboratory parameters on admission of ICU according to the need for dialysis during ICU stay of the critically-ill COVID-19 patients).

Early endothelial biomarker levels and dialysis requirement in critically-ill COVID-19 patients

The levels of the endothelial biomarkers on admission were compared between the groups according to the need for dialysis in the ICU. VCAM-1 and Ang-2/Ang-1 ratio were increased in the dialysis group. Syndecan-1 showed a tendency towards significance ($p = 0.065$) and its level was higher in the dialysis group. (**Fig. 2** Levels of systemic endothelial biomarkers of critical ill COVID-19 patients according to the need for dialysis).

All endothelial biomarkers were evaluated using the ROC curve analysis to predict dialysis requirement during the ICU stay. The Ang-2/Ang-1 ratio had a better AUC-ROC (0.684 –95%CI: 0.536 to 0.833; $p = 0.022$), followed by VCAM-1 (0.673 –95%CI: 0.521 to 0.826; $p = 0.031$). In a combined approach using VCAM-1 and syndecan-1 levels and Ang-2/Ang-1 ratio, the AUC-ROC improved to 0.713 –95%CI: 0.568 to 0.858; $p = 0.008$. The better cutoff value for VCAM-1, Ang-2/Ang-1 ratio, syndecan-1 and combined approach was 1329, 0.245, 300 and 5490 ng/mL, respectively (**Table 2** Prediction performance of endothelial biomarkers to the need for dialysis in severe COVID-19 patients).

The Kaplan-Meier analysis with the previously determined cutoffs of endothelial biomarkers, showed that COVID-19 patients admitted to the ICU with levels above the cutoff levels of syndecan-1, VCAM-1, and Ang-2/Ang-1 ratio needed dialysis sooner, with statistical significance using the log-rank test (**Fig. 3** Survival curves for first dialysis during ICU stay of critical-ill COVID-19 patients stratified according to the better cut-off of endothelial biomarkers levels). Then, all these selected endothelial biomarkers and all hospital admission clinical and laboratory parameters were investigated using univariate cox regression (using “first dialysis” as the dependent event) in the univariate and multivariate models.

In the univariate cox regression analysis, older age, vasopressor use, increased SAPS3 score, LDH, VCAM-1, syndecan-1 levels, Ang-2/Ang-1 ratio and decreased platelet levels contributed for dialysis requirement (hazard ratio > 1.00). In the adjusted models with platelet inclusion, only age, SAPS3 score, mechanical ventilation use, platelet and VCAM-1 levels remained associated with dialysis requirement. In another context without the inclusion of platelets in the multivariate models, the Ang-2/Ang-1 ratio emerged as an explanatory parameter for dialysis requirement, together with SAPS3 score and VCAM-1 level in the final model (**Table 3** Cox regression to the need for dialysis with unadjusted values and models according presence or absence of platelets).

Discussion

Among the proposed pathways to explain the pathophysiology of COVID-19-associated AKI, evidence points to a complex and multifactorial mechanism, in which the role of endothelial dysfunction and coagulopathy stands out [13]. This study reports the use of endothelial biomarkers as useful tools to predict the first dialysis requirement during the ICU stay in patients with COVID-19 and prognosis.

In the present study, most of the patients were elderly males. Aging causes a dysfunction in the immune system that generates a decline in immune response [14]. These alterations associate with failure to control COVID-19 infection and predispose to evolution to severe forms [15]. In addition, senescence exhibits a chronic state of low-grade systemic inflammation, increased incidence of comorbidities, and moderate to severe frailty [16].

Our data revealed that higher SAPS 3, vasopressor use, and mechanical ventilation on ICU admission were associated with the need for dialysis. Some studies support the association between dialysis and elevated mortality [17-18]. In addition, the correlation between elevated SAPS 3 and pulmonary and renal dysfunction in predicting mortality has been reported [19].

Hospitalized patients often develop secondary infections and have an increased risk of sepsis-associated AKI [20]. Hypovolemia, vasodilation, increased vascular permeability, and restricted volume use are some

mechanisms proposed to explain hypotension in critically ill patients, which justifies the greater need for vasoactive drugs in this clinical scenario.

Invasive mechanical ventilation is an essential supportive therapy in the ICU. The use of positive pressure ventilation can activate the sympathetic tone and lead to the activation of the renin-angiotensin-aldosterone system (RAAS) [21]. Modifications in lung compliance usually require a high positive end-expiratory pressure (PEEP), which leads to increased intrathoracic pressure. This alteration has multiple hemodynamic effects. For example, a decrease in the venous return to the heart, a reduction of the cardiac output, and an increase in the intra-abdominal pressure are potential complications in these patients. This may result in a higher renal venous pressure, then, a lower glomerular filtration rate [22]. Other studies have also reported the association between AKI with the need for mechanical ventilation and prolonged hospital stays [23].

Activation of platelets in COVID-19 is a key mechanism in the characteristic inflammatory thrombotic response involved in the pathogenesis of the disease [24-25]. Microvascular obstruction of renal capillaries by fibrin thrombi relates to ischemia, hypoxemia, and hypercoagulability, which may explain the relationship between thrombocytopenia, AKI, and hemodialysis as demonstrated in the present study [26].

The present findings evidenced the association between elevated lactate dehydrogenase (LDH) enzyme levels in COVID-19 patients and the need for dialysis. LDH is an enzyme found in the cells of almost all organs [27]. Thus, abnormal values result from tissue damage and decreased oxygenation. For instance, severe infections can cause cytokine-mediated tissue damage and LDH release [28]. Moreover, elevated LDH levels have been associated with severe COVID-19 pneumonia and thrombotic microangiopathy, which can lead to renal injury [29]. Other studies have also demonstrated elevated LDH levels in patients with COVID-19 and the need for dialysis [18].

The present study demonstrates the association between admitting serum levels of endothelial biomarkers and the need for dialysis. Under normal conditions, the endothelium regulates blood coagulation, volume, and electrolyte balance, then can prevent thrombosis, microangiopathies, and diffuse intravascular coagulation [30]. The results confirm a major role of microcirculatory dysfunction in the pathophysiology of severe COVID-19 infection, which could explain multiple clinical complications of the disease. Patients whom presented these biomarkers levels above the cutoff established in our analyses progressed more rapidly with severe renal dysfunction and required dialysis earlier.

VCAM-1 is a biomarker detected only after endothelial cell stimulation by cytokines and has been studied as a diagnostic and prognostic agent for various diseases [31]. In this study, higher levels of VCAM-1 were associated with the need for dialysis and rapid progression to severe renal dysfunction.

Angiopietin-1 (Ang-1) has vascular protective effects and stimulates vessel remodeling and angiogenesis [32]. In contrast, angiopietin-2 (Ang-2) plays a role in endothelial activation, inflammation, vascular hyperpermeability, and apoptosis [33]. High serum Ang-2 levels have been evidenced in severe COVID-19 patients [34]. Experimental studies with rats and ventilator-induced lung injury have also correlated higher levels of these biomarkers with AKI [35]. The imbalance between angiopietin 1 and 2 levels with a consequent increase in the Ang-2/Ang-1 ratio and the breakdown of homeostasis due to their antagonistic effects may explain the association of these biomarkers with the need for dialysis and the speed of progression of renal injury in the group of patients studied.

Inflammatory reactions can induce endothelial glycocalyx degradation and the release of its components, such as syndecan-1 [36]. This process allows increased vascular permeability, dysregulated vasodilation, and microvessel thrombosis, which leads to the maintenance of endothelial damage, inflammation, and coagulopathy [37]. Syndecan-1 levels gradually increase while renal dysfunction progresses [38]. Patients with COVID-19 and high syndecan-1 levels develop more exacerbated endothelial damage and inflammatory reactions and have higher mortality [39]. Some studies showed that these biomarkers were independently associated with severe acute kidney injury in other settings [40]. The results of the present study revealed that Syndecan-1 is a potential marker for prediction of hemodialysis requirement in patients with COVID-19.

In conclusion, our data support the importance of levels of endothelial dysfunction biomarkers in COVID-19 patients admitted to the ICU in predicting their need for hemodialysis and prognosis, since vascular and coagulation disorders seem to be crucial elements in this scenario. Further prospective studies with larger number of patients should evaluate the role of endothelial dysfunction biomarkers not only to predict the need for renal replacement therapy in the ICU, but also to evaluate its prognostic value during the hospital stay.

Summary Points:

- Evidence points to the role of endothelial dysfunction and coagulopathy in the pathophysiology of COVID-19-associated AKI,
- Endothelial biomarkers can predict the first dialysis requirement during the ICU stay in patients with COVID-19 and prognosis.
- Older patients, higher SAPS 3, vasopressor use, and mechanical ventilation on ICU admission were associated with the need for dialysis.
- Microvascular obstruction of renal capillaries may explain the relationship between thrombocytopenia, AKI, and hemodialysis.
- Higher LDH enzyme levels in COVID-19 patients were associated with the need for dialysis.
- Higher levels of VCAM-1 were associated with the need for dialysis and rapid progression to severe renal dysfunction.
- The increase in the Ang-2/Ang-1 ratio may explain the association of these biomarkers with the need for dialysis and the speed of progression of renal injury.
- Syndecan-1 is a potential marker for prediction of hemodialysis requirement in patients with COVID-19

• Figure legends

Figure 1. Flowchart of the included critically-ill COVID-19 patients.

Figure 2. Levels of systemic endothelial biomarkers of critically-ill COVID-19 patients according to the need for dialysis.

Figure 3. Survival curves for first dialysis during ICU stay of critically-ill COVID-19 patients stratified according to the better cut-off of endothelial biomarkers levels. Cut-off were determined using Youden index. *VCAM-1 and syndecan-1 and Ang-2/Ang-1 ratio.

Table 1. Characteristics, SAPS3 and laboratory parameters on admission of ICU according to the need for dialysis during ICU stay of the critically-ill COVID-19 patients.

| | Dialysis in the ICU | | p* |
|---|---------------------|-------------|--------------|
| | No (n=37) | Yes (n=21) | |
| Age (years) | 53.5 ± 16.5 | 62.4 ± 12.5 | 0.037 |
| Gender (male) | 22 (59.5) | 11 (52.4) | 0.601 |
| Time from ICU admission until first dialysis (days) | - | 6 (2 - 7) | - |

| | | | |
|--|----------------------|----------------------|------------------|
| Number of Dialysis sessions | - | 5.5 (2 - 10) | - |
| Time between onset of symptoms and ICU admission (Days) | 10 (8 - 15) | 10 (6 - 13) | 0.684 |
| Symptoms and Comorbidities | | | |
| Comorbidities | 23 (63.9) | 16 (76.2) | 0.335 |
| Fever on admission | 20 (62.5) | 15 (78.9) | 0.221 |
| Dyspnea | 34 (91.9) | 19 (90.5) | 1.000 |
| Saturation | 23 (63.9) | 14 (66.7) | 0.832 |
| Heart disease | 7 (20) | 6 (31.6) | 0.506 |
| Liver disease | 0 (0) | 1 (5.3) | 0.358 |
| Asthma | 2 (5.9) | 1 (5.3) | 1.000 |
| Diabetes | 9 (24.3) | 8 (40) | 0.217 |
| Neurological disease | 2 (5.9) | 1 (5) | 1.000 |
| Lung diseases | 1 (2.9) | 0 (0) | 1.000 |
| Obesity | 13 (36.1) | 6 (31,6) | 0.737 |
| Arterial hypertension | 14 (37.8) | 11 (52.4) | 0.282 |
| Acute kidney injury | 14 (38.9) | 19 (95) | <0.001 |
| Vasopressors use | 9 (25.7) | 14 (70) | 0.001 |
| Mechanical Ventilation use | 24 (68.6) | 19 (95) | 0.022 |
| Outcome | | | <0.001 |
| Survivors | 37 (100) | 5 (23.8) | |
| Non-survivors | 0 (0) | 16 (76.2) | |
| Unit length stay (days) | 12 (6 - 17) | 10,5 (6 - 19) | 0.944 |
| SAPS 3 and Laboratory data | | | |
| SAPS3 Score | 49.5 ± 14.2 | 63 ± 13.8 | <0.001 |
| Hemoglobin (g/L) | 121 ± 21 | 115 ± 22 | 0.348 |
| Leukocyte count (x 10 ⁹ /L) | 12 ± 4.5 | 13.5 ± 4.3 | 0.226 |
| Lymphocyte count (x 10 ⁹ /L) | 0.8 (0.6 – 1.2) | 0.7 (0.6 – 1.15) | 0.468 |
| Platelet count (x 10 ⁹ /L) | 291 ± 95 | 193 ± 102 | 0.001 |
| Urea (mg/dL) | 39 (28 - 55) | 100 (40 - 170) | <0.001 |
| Creatinine (mg/dL) | 0.7 (0.6 – 0.95) | 1.6 (1 – 2.6) | <0.001 |
| Potassium (mEq/L) | 4.26 ± 0.67 | 4.2 ± 0.77 | 0.756 |
| AST (U/L) | 48 (30 - 63) | 55 (32 - 83) | 0.337 |
| ALT (U/L) | 48 (29 - 68) | 50 (28 - 71) | 0.912 |
| LDH (U/L) | 707 (556 - 892) | 888 (743.5 - 1355) | 0.014 |
| Total bilirubin (mg/dL) | 0.52 (0.31 – 0.76) | 0.52 (0.34 – 0.91) | 0.677 |
| CRP (pg/mL) | 145.5 (36.8 – 208.3) | 161.1 (72.5 – 210.1) | 0.525 |
| D-Dimer (ng/mL) | 1.81 (0.78 – 2.46) | 2.26 (0.58 – 6.09) | 0.646 |

Continuous data expressed as median and interquartile range between parenthesis for non-normal data, or as mean ± standard deviation for normal data. *The Chi-square or exact Fisher test were used for categorical data.

*The Mann-Whitney or Student t test was applied according normality of the data.

AST: Aspartate transaminase; ALT: Alanine transaminase; LDH: Lactate dehydrogenase; CRP: C-reactive protein

Table 2. Prediction performance of endothelial biomarkers to the need for dialysis in severe COVID-19 patients.

| | <i>cut-off</i> | AUC-ROC (CI 95%) | Sensitivity (%) | Specificity (%) | P |
|---------------------------|----------------|-------------------------|------------------------|------------------------|----------|
| VCAM-1 (ng/mL) | 1329 | 0.673 (0.521 - 0.826) | 57 | 74 | 0.031 |
| Syndecan-1 (ng/mL) | 300 | 0.648 (0.487 - 0.809) | 43 | 89 | 0.065 |

| | | | | | |
|-------------------------------|-------|-----------------------|----|----|-------|
| Angiopoietin-1 (ng/mL) | 23 | 0.649 (0.495 - 0.803) | 62 | 69 | 0.064 |
| Angiopoietin-2 (ng/mL) | 3.5 | 0.654 (0.502 - 0.807) | 48 | 86 | 0.055 |
| Ang-2/Ang-1 ratio | 0.245 | 0.684 (0.536 - 0.833) | 43 | 94 | 0.022 |
| Combined* (ng/mL) | 5490 | 0.713 (0.568 - 0.858) | 81 | 54 | 0.008 |

Cut-off were determined using Youden index.

*VCAM-1 and syndecan-1 and Ang-2/Ang-1 ratio.

Table 3. Cox regression to the need for dialysis with unadjusted values and models according presence or absence of platelets.

| | Unadjusted | | Model 1* | | Model 2* | |
|--|-----------------------|--------|-----------------------|-------|------------------------|-------|
| | H.R (CI 95%) | p | H.R (CI 95%) | p | H.R (CI 95%) | p |
| Age (years) | 1.032 (1.001 - 1.064) | 0.042 | 1.066 (1.015 - 1.121) | 0.011 | 1.039 (0.993 - 1.087) | 0.095 |
| Gender (Female) | 1.247 (0.53 - 2.939) | 0.613 | - | - | - | - |
| SAPS 3 (each point) | 1.05 (1.018 - 1.083) | 0.002 | 1.084 (1.029 - 1.143) | 0.003 | 1.055 (1.009 - 1.103) | 0.018 |
| Vasopressors use | 4.4 (1.684 - 11.49) | 0.002 | - | - | - | - |
| Mechanical Ventilation use | 6.63 (0.887 - 49.57) | 0.065 | 14.38 (1.39 - 148.42) | 0.025 | 5.182 (0.64 - 41.98) | 0.123 |
| LDH (for each 500 U/L) | 2.325 (1.163 - 4.646) | 0.017 | - | - | - | - |
| Platelets (each 50 (10³/mm³) decrement) | 1.803 (1.314 - 2.474) | <0.001 | 1.685 (1.239 - 2.292) | 0.001 | - | - |
| VCAM-1 (for each 500 ng/mL) | 1.112 (1.028 - 1.203) | 0.008 | 1.134 (1.01 - 1.274) | 0.034 | 1.141 (1.021 - 1.275) | 0.020 |
| Syndecan-1 (for each 50 ng/mL) | 1.102 (1.045 - 1.163) | <0.001 | - | - | - | - |
| Ang-2/Ang-1 ratio | 4.63 (2.001 - 10.72) | <0.001 | - | - | 4.874 (1.732 - 13.719) | 0.003 |

*The backward method was applied: Model 1= platelets were included from the first step; Model 2 = platelets were manually removed and did not participate in any step. LDH: Lactate dehydrogenase.

References

1. Wang L, Li X, Chen H et al. Coronavirus disease 19 infection does not result in acute kidney injury: an analysis of 116 hospitalized patients from Wuhan, China. *Am J Nephrol.* 51, 343-348 (2020). Available at: <https://www.karger.com/Article/FullText/507471>
2. Zhu N, Zhang D, Wang W et al. A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019. *N Engl J Med.* 383(8), 727-733 (2020). Available at: <http://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJMoa2001017>
3. Cheng Y, Luo R, Wang K et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19. *Kidney Int.* 97(5), 829-838 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.03.005>
4. Hirsch JS, Ng JH, Ross DW et al. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. *Kidney Int.* 98(1), 209-218 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.05.006>
5. Jose RJ, Manuel A. COVID-19 cytokine storm: the interplay between inflammation and coagulation. *Lancet Respir Med.* 8(6), e46-e47 (2020). Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2213260020302162>
6. Ye Q, Wang B, Mao J. The pathogenesis and treatment of the 'Cytokine Storm' in COVID-19. *J Infect.* 80(6), 607-613 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.03.037>

7. Pettilä V, Webb SA, Bailey M, Howe B, Seppelt IM, Bellomo R. Acute kidney injury in patients with influenza A (H1N1) 2009. *Intensive Care Med.* 37(5), 763-767 (2011). Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s00134-011-2166-8>
8. Su H, Yang M, Wan C et al. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China. *Kidney Int.* 98(1), 219-227 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.04.003>
9. Ronco C, Reis T, Husain-Syed F. Management of acute kidney injury in patients with COVID-19. *Lancet Respir Med.* 8(7), 738-742 (2020). Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30229-0](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30229-0)
10. Coca SG, Yalavarthy R, Concato J, Parikh CR. Biomarkers for the diagnosis and risk stratification of acute kidney injury: a systematic review. *Kidney Int.* 73(9), 1008-1016 (2008). Available at: <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002729>
11. Moreno RP, Metnitz PGH, Almeida E et al. SAPS 3- - From evaluation of the patient to evaluation of the intensive care unit. Part 2: Development of a prognostic model for hospital mortality at ICU admission. *Intensive Care Med.* 31(10), 1345-1355. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00134-005-2763-5>
12. Kellum JA, Lameire N, KDIGO AKI Guideline Work Group. Diagnosis, evaluation, and management of acute kidney injury: a KDIGO summary (Part 1). *Crit Care.* 17(1), 204 (2013). Available at: <https://doi.org/10.1186/cc11454>
13. Nadim MK, Forni LG, Mehta RL et al. COVID-19-associated acute kidney injury: consensus report of the 25th Acute Disease Quality Initiative (ADQI) Workgroup. *Nat Rev Nephrol.* 16, 747-764 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1038/s41581-020-00356-5>
14. Mueller AL, McNamara MS, Sinclair DA. Why does COVID-19 disproportionately affect older people? *Aging (Albany NY).* 12(10), 9959-9981 (2020). Available at: <https://doi.org/10.18632/aging.103344>
15. Rydzynski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM et al. Antigen specific adaptive immunity to SARS-CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity. *Cell.* 183(4), 996-1012.e19 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.09.038>
16. Hewitt J, Carter B, Vilches-Moraga A, et al. The effect of frailty on survival in patients with COVID-19 (COPE): a multicentre, European, observational cohort study. *Lancet Public Health.* 5(8), e444–e451 (2020). Available at: [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(20\)30146-8](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(20)30146-8)
17. Silver SA, Beaubien-Souligny W, Shah PS et al. The prevalence of acute kidney injury in patients hospitalized with covid-19 infection: a systematic review and meta-analysis. *Kidney Med.* 3(1), 83-98.e1 (2021). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.xkme.2020.11.008>
18. Kemec Z, Akgul F. Relationship between acute kidney injury requiring renal replacement treatment and mortality in patients with COVID-19. *Niger J Clin Pract.* 25(8), 1348-1356 (2022). Available at: https://doi.org/10.4103/njcp.njcp_290_22
19. Lázaro APP, Albuquerque PLMM, Meneses GC et al. Critically ill COVID-19 patients in northeast Brazil: mortality predictors during the first and second waves including SAPS 3. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 116(11), 1054-1062 (2022). Available at: <https://doi.org/10.1093/trstmh/trac046>
20. Cuadrado-Payán E, Montagud-Marrahi E, Torres-Elorza M et al. SARS-CoV-2 and influenza virus co-infection. *Lancet.* 395(10236), e84 (2020). Available at: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)31052-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)31052-7)
21. Dudoignon, E. et al. Activation of the renin-angiotensinaldosterone system is associated with acute kidney injury in COVID-19. *Anaesth Crit Care Pain Med.* 39(4), 453-455 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.accpm.2020.06.006>
22. Koyner JL, Murray PT. Mechanical ventilation and lung-kidney interactions. *Clin J Am Soc Nephrol.* 3(2), 562-570 (2008). Available at: <https://doi.org/10.2215/CJN.03090707>
23. Yang X, Yu Y, Xu J et al. Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China: a single-centered, retrospective, observational study. *Lancet Respir Med.* 8(5), 475-481 (2020). Available at: [https://doi.org/10.1016/S2213-2600\(20\)30079-5](https://doi.org/10.1016/S2213-2600(20)30079-5)
24. Guo L, Rondina MT. The Era of Thromboinflammation: Platelets Are Dynamic Sensors and Effector Cells During Infectious Diseases. *Front Immunol.* 10 (2019). Available at: <https://doi.org/10.3389/fimmu.2019.02204>
25. Zhang L, Feng X, Zhang D et al. Deep vein thrombosis in hospitalized 455 patients with COVID-19 in Wuhan, China. *Circulation.* 142(2), 114-128 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.046702>

26. Kerlin BA, Waller AP, Sharma R, Chanley MA, Nieman MT, Smoyer WE. Disease Severity Correlates with Thrombotic Capacity in Experimental Nephrotic Syndrome. *J Am Soc Nephrol.* 26(12), 3009-3019 (2015). Available at: <https://doi.org/10.1681/ASN.2014111097>
27. Hsu PP, Sabatini DM. Cancer cell metabolism: warburg and beyond. *Cell.* 134(5), 703-707 (2008). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2008.08.021>
28. Martinez-Outschoorn UE, Prisco M, Ertel A et al. Ketones and lactate increase cancer cell “stemness,” driving recurrence, metastasis and poor clinical outcome in breast cancer: achieving personalized medicine via metabologenomics. *Cell Cycle.* 10(8), 1271-1286 (2011). Available at: <https://doi.org/10.4161/cc.10.8.15330>
29. Zhang T, Chen H, Liang S et al. A non-invasive laboratory panel as a diagnostic and prognostic biomarker for thrombotic microangiopathy: development and application in a Chinese cohort study. *PLoS One.* 9(11), e111992 (2014). Available at: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0111992>
30. Rajendran P, Rengarajan T, Thangavel J et al. The vascular endothelium and human diseases. *Int J Biol Sci.* 9(10), 1057-1069 (2013). Available at: <https://doi.org/10.7150/ijbs.7502>
31. Page AV, Liles WC. Biomarkers of endothelial activation/dysfunction in infectious diseases. *Virulence.* 4(6), 507-516 (2013). Available at: <https://doi.org/10.4161/viru.24530>
32. Brindle NP, Saharinen P, Alitalo K. Signaling and functions of angiopoietin 1 in vascular protection. *Circ Res.* 98(8), 1014-1023 (2006). Available at: <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000218275.54089.12>
33. Li F, Yin R, Guo Q. Circulating angiopoietin-2 and the risk of mortality in patients with acute respiratory distress syndrome: a systematic review and meta-analysis of 10 prospective cohort studies. *Ther Adv Respir Dis.* 14:175346662090527 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1177/175346662090527>
34. Smadja DM, Guerin CL, Chocron R et al. Angiopoietin-2 as a marker of endothelial activation is a good predictor factor for intensive care unit admission of COVID-19 patients. *Angiogenesis.* 23, 611-620 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1007/s10456-020-09730-0>
35. Hepokoski M, Englert JA, Baron RM et al. Ventilator-induced lung injury increases expression of endothelial inflammatory mediators in the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 312(4), F654-F660 (2017). Available at: <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00523.2016>
36. Uchimido R, Schmidt EP, Shapiro NI. The glycocalyx: a novel diagnostic and therapeutic target in sepsis. *Crit Care.* 23 (2019). Available at: <https://doi.org/10.1186/s13054-018-2292-6>
37. Johansson PI, Stensballe J, Rasmussen LS, Ostrowski SR. A high admission syndecan-1 level, a marker of endothelial glycocalyx degradation, is associated with inflammation, protein c depletion, fibrinolysis, and increased mortality in trauma patients. *Ann Surg.* 254(2), 194-200 (2011). Available at: <https://doi.org/10.1097/SLA.0b013e318226113d>
38. Qin C, Zhou L, Hu Z, Zhang S, Yang S, Tao Y, Xie C, Ma K, Shang K, Wang W, Tian DS. Dysregulation of Immune Response in Patients With Coronavirus 2019 (COVID-19) in Wuhan, China. *Clin Infect Dis.* 71(15), 762-768 (2020). Available at: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa248>
39. Zhang D, Li L, Chen Y et al. Syndecan-1, an indicator of endothelial glycocalyx degradation, predicts outcome of patients admitted to an ICU with COVID-19. *Mol Med.* 27 (2021). Available at: <https://doi.org/10.1186/s10020-021-00412-1>
40. Cavalcante CT, Castelo Branco KM, Pinto Júnior VC et al. Syndecan-1 improves severe acute kidney injury prediction after pediatric cardiac surgery. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 152(1), 178-186 (2016). Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jtcvs.2016.03.079>

