



Universidade Federal do Ceará  
Faculdade de Medicina  
Departamento de Fisiologia e Farmacologia  
Programa de Pós-graduação em Farmacologia

Gabriela Freire Bezerra Moreira

**BIOMARCADORES DE INJÚRIA TUBULAR AGUDA COMO PREDITORES DA  
MORTALIDADE NA COVID – 19**

Fortaleza – CE

2023

# **BIOMARCADORES DE INJÚRIA TUBULAR AGUDA COMO PREDITORES DA MORTALIDADE NA COVID – 19**

Tese de doutorado apresentada a coordenação do programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, para a obtenção do título de doutora.

Orientador (a): Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins

Fortaleza – CE, 2023

# BIOMARCADORES DE INJÚRIA TUBULAR AGUDA COMO PREDITORES DA MORTALIDADE NA COVID – 19

Tese de doutorado apresentada a coordenação do programa de Pós-graduação em Farmacologia da Universidade Federal do Ceará, para a obtenção do título de doutora.

Orientador (a): Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins

Aprovada em \_\_/\_\_/\_\_

Banca examinadora

---

Geraldo Bezerra da Silva Junior  
UNIFOR

---

Polianna Lemos Moura Moreira Albuquerque  
UNIFOR

---

Michelle Jacintha Cavalcante Oliveira  
UFAL

---

Gdayllon Cavalcante Meneses  
UFC

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)

---

M837b Moreira, Gabriela Freire Bezerra.

Biomarcadores de injúria tubular aguda como preditores da mortalidade na covid-19 /  
Gabriela Freire Bezerra Moreira. – 2023.  
89 f. : il. color.

Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Faculdade de Medicina, Programa  
de Pós-Graduação em Farmacologia, Fortaleza, 2023.

Orientação: Profa. Dra. Alice Maria Costa Martins.

1. Covid-19. 2. injúria renal aguda. 3. biomarcadores. 4. lipocalina-2. I. Título.

CDD 615.1

---

“Educação não transforma o mundo. Educação muda as pessoas. Pessoas transformam o mundo”.

Paulo Freire

A minha filha, Giovanna.

## **AGRADECIMENTOS**

A Deus, pelo dom da vida, pela oportunidade que me foi confiada e por se fazer presente em meu coração me encorajando a nunca desistir dos meus sonhos.

A minha filha, Giovanna, que me transformou como pessoa e deu um sentido diferente a minha vida, se tornando um verdadeiro propósito pelo qual devo lutar constantemente e por quem eu busco sempre melhorar.

A meu esposo, João Marcos, que segurou a minha mão, me ajudou, me incentivou e me inspira todos os dias como profissional, sem ele certamente eu não estaria onde estou hoje.

A meus pais, que sempre estiveram a meu lado, fizeram tudo o que foi possível para que eu me formasse e sonharam junto comigo desde minha infância até a minha aprovação no doutorado sendo os maiores incentivadores.

A minha irmã, uma verdadeira parceira de vida com quem sempre pude contar e poderei.

A minha querida orientadora, professora Alice Martins, uma pessoa sensacional, humana, verdadeira, que sempre confiou em meu trabalho e me deu a oportunidade de trabalhar com ela, a quem sempre serei grata.

A Gdayllon Cavalcante, grande amigo e parceiro de trabalho que fiz no laboratório, que me ajudou demais nessa pesquisa de doutorado e durante todo meu percurso na pós-graduação.

A todos os alunos que fazem parte do laboratório de Bioprospecção Farmacêutica e Bioquímica Clínica, pois neste lugar sempre encontrei acolhimento, ajuda em experimentos, palavras, incentivo e ainda fiz muitas amizades que tornaram a caminhada mais leve durante todo esse período.

A todos os professores das disciplinas ofertadas que contribuíram para a minha formação profissional.

A Dra. Polianna Albuquerque e todos os funcionários do IJF, que se dispuseram a ajudar neste trabalho coletando amostras e estiveram na linha de frente da COVID-19.

A todos os pacientes que participaram da pesquisa.

Ao programa de Pós-graduação em Farmacologia da UFC por fornecer a todos os alunos boa estrutura e boas oportunidades.

As agências de fomento CAPES e CNPq, especialmente o CNPq, agência pela qual fui bolsista durante o doutorado. Essas bolsas custeiam sonhos. Além disso, a bolsa de estudos foi de extrema importância para que eu pudesse concluir o doutorado.

## RESUMO

### BIOMARCADORES DE INJÚRIA TUBULAR AGUDA COMO PREDITORES DA MORTALIDADE NA COVID – 19

A COVID – 19 é uma doença infecciosa causada por um novo tipo de coronavírus denominado SARS-CoV-2, que possui alta capacidade de infectar seres humanos e alta transmissibilidade. A injúria renal aguda (IRA) é uma complicação comum em pacientes graves com COVID-19, acometendo cerca de 50% dos pacientes nas unidades de terapia intensiva (UTI), além disso, a injúria renal é um fator de risco para a mortalidade. O uso de biomarcadores urinários mais sensíveis e específicos pode ser útil na detecção precoce da injúria renal, e podem ser utilizados como preditores para diferentes eventos. Esse trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar o papel dos biomarcadores urinários na predição da mortalidade em pacientes graves com COVID-19. Foi realizado um estudo prospectivo com participantes acometidos pela COVID-19, internados na UTI do Instituto Doutor José Frota (IJF) em Fortaleza, de junho de 2020 a abril de 2021 (1ª e 2ª onda da COVID-19). Amostras de sangue e urina foram coletadas em até 24 horas da admissão na UTI e os prontuários dos participantes foram acompanhados a fim de verificar alterações de parâmetros laboratoriais. A definição de IRA foi realizada de acordo com o critério KDIGO. Os biomarcadores urinários MCP-1, Nefrina, NGAL e KIM-1 foram quantificados por ELISA e através de curvas ROC foram analisados os valores preditivos para a mortalidade de cada biomarcador. Além disso, foram feitas análises para estimar a chance de sobrevivência em 2 meses por meio de modelos de regressão. A idade média dos participantes foi de  $57 \pm 16$  anos. Cerca de 69% dos participantes desenvolveram IRA durante a internação hospitalar e 38% foi a óbito. Os biomarcadores urinários nefrina e MCP-1 não apresentaram diferenças significativas entre os grupos sobreviventes e óbito. Já os biomarcadores proteinúria (0,728;  $p = 0,004$ ), NGAL (0,750;  $p = 0,002$ ) e KIM-1 (0,749;  $p = 0,002$ ) apresentaram bons valores de curvas ROC para prever o óbito. Na análise combinada proteinúria\*KIM-1\*NGAL foi encontrado o melhor resultado (0,810;  $p < 0,001$ ). Nos modelos de regressão de cox, na análise univariada, a razão proteinúria/creatinina ( $>0,90$ ), KIM-1 urinário ( $>1,8$  ng/mg-Cr) e NGAL urinária ( $>118,8$  ng/mg-Cr) se associaram a uma menor chance de sobreviver em 2 meses; porém no modelo multivariado, após os ajustes apenas a NGAL urinária se manteve associada, apresentando hazard ratio = 5,666 (IC 95%: 1,761–18,227). Foi observado um dano renal tubular de acordo com as alterações nos níveis dos biomarcadores de injúria tubular aguda. KIM-1, NGAL e proteinúria se correlacionaram com o óbito, e a NGAL foi preditora independente para este desfecho.

Palavras-chave: COVID-19, Injúria Renal Aguda, biomarcadores, Lipocalina-2.

## ABSTRACT

### BIOMARKERS OF ACUTE TUBULAR INJURY AS PREDICTORS OF MORTALITY IN COVID-19

COVID-19 is an infectious disease caused by a new type of coronavirus called SARS-CoV-2, which has a high capacity to infect humans and high transmissibility. Acute kidney injury (AKI) is a common complication in severe patients with COVID-19, affecting about 50% of patients in intensive care units (ICU), in addition, kidney injury is a risk factor for mortality. The use of more sensitive and specific urinary biomarkers can be useful in the early detection of kidney injury and can be used as predictors for different events. This work was carried out with the objective of evaluating the role of urinary biomarkers in predicting the mortality of critically ill patients with COVID-19 in the ICU. A prospective study was carried out with participants affected by COVID-19, admitted to the ICU of the Instituto Doutor José Frota (IJF) in Fortaleza, from June 2020 to April 2021 (1st and 2nd wave of COVID-19). Blood and urine samples were collected within 24 hours of admission to the ICU and the participants' medical records were monitored to verify changes in laboratory parameters. AKI was defined according to the KDIGO criteria. The urinary biomarkers MCP-1, Nephritin, NGAL and KIM-1 were quantified by ELISA and the predictive values for mortality of each biomarker were analyzed using ROC curves. Additionally, analyses were performed to estimate the chance of survival at 2 months using regression models. The average age of participants was  $57 \pm 16$  years. Around 69% of participants developed AKI during their hospital stay and 38% died. Nephritin and MCP-1 biomarkers did not show significant differences between survivors and death groups. The biomarkers proteinuria (0.728;  $p = 0.004$ ), NGAL (0.750;  $p = 0.002$ ) and KIM-1 (0.749;  $p = 0.002$ ) showed good values of ROC curves to predict death and in the combined analysis proteinuria\*KIM-1\*NGAL was found to provide the best result (0.810;  $p < 0.001$ ). In Cox regression models, proteinuria/creatinine ratio ( $>0.90$ ), urinary KIM-1 ( $>1.8$  ng/mg-Cr) and urinary NGAL ( $>118.8$  ng/mg-Cr) were associated with a lower chance of survival at 2 months in the univariate analysis; however, in the multivariate model, after adjustments, only urinary NGAL remained associated, presenting a hazard ratio = 5.666 (95% CI: 1.761–18.227). Tubular renal damage was observed according to changes in the levels of biomarkers of acute tubular injury. KIM-1, NGAL and proteinuria correlated with death, and NGAL was an independent predictor for this outcome.

Keywords: COVID-19, Acute Kidney Injury, Biomarkers, Lipocalin-2.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estrutura do coronavírus.....	15
<b>Figura 2.</b> Mecanismo de lesão endotelial indireta causada pela COVID-19 .....	18
<b>Figura 3.</b> Desregulação mediada por ACE-2 induzida pelo SARS-CoV-2.....	19
<b>Figura 4.</b> Fluxograma dos participantes incluídos na pesquisa admitidos na unidade de terapia intensiva.....	32
<b>Figura 5.</b> Blox-pot dos níveis urinários de cada biomarcador de acordo com o desfecho.....	36
<b>Figura 6.</b> Análise da curva ROC para o óbito dos biomarcadores urinários nos participantes com COVID-19 admitidos na UTI.....	38
<b>Figura 7.</b> Análise da sobrevivência em 2 meses usando valores de corte previamente determinados dos biomarcadores urinários.....	39

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Características epidemiológicas dos participantes internados com COVID-19 em unidade de terapia intensiva.....	33
<b>Tabela 2.</b> Comparação dos parâmetros clínicos dos participantes com COVID-19 na admissão e durante a internação na UTI.....	34
<b>Tabela 3.</b> Comparação entre exames laboratoriais e biomarcadores renais nos participantes com COVID-19 na admissão e durante a internação na UTI.....	35
<b>Tabela 4.</b> Valores preditivos para o óbito de biomarcadores séricos e urinários selecionados dos participantes com COVID-19 quantificados na admissão na UTI.....	37
<b>Tabela 5.</b> Modelos de regressão de riscos proporcionais de Cox usando biomarcadores urinários para chance de sobrevivência em 2 meses.....	40

## ABREVIATURAS

<b>ACE</b>	Enzima conversora de angiotensina
<b>ACE-2</b>	Enzima conversora de angiotensina 2
<b>ALT</b>	Alanina aminotransferase
<b>AST</b>	Aspartato aminotransferase
<b><math>\beta</math>-CoV</b>	<i>Betacoronavírus</i>
<b>COVID-19</b>	Coronavírus disease
<b>CTS-B</b>	Catepsina B
<b>CTS-L</b>	Catepsina L
<b>DRC</b>	Doença renal crônica
<b>ELISA</b>	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
<b>kDa</b>	Quilodalton
<b>KIM-1</b>	Molécula 1 da lesão renal
<b>KDIGO</b>	Kidney Disease Improving Global Outcomes
<b>HAT</b>	Protease semelhante à tripsina das vias aéreas humanas
<b>IL-6</b>	Interleucina 6
<b>IRA</b>	Injúria renal aguda
<b>IRA-CoV</b>	Injúria renal aguda associada à COVID-19
<b>LDH</b>	Lactato desidrogenase
<b>MCP-1</b>	Proteína quimioatrativa de monócitos 1
<b>NAG</b>	N-acetil-beta-glucosaminidase
<b>NGAL</b>	Lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos
<b>NTA</b>	Necrose tubular aguda
<b>OMS</b>	Organização mundial de saúde
<b>PCR</b>	Proteína C Reativa
<b>RNA</b>	Ácido ribonucleico
<b>RT-PCR</b>	Transcrição reversa seguida de reação em cadeia da polimerase
<b>SARS-CoV-2</b>	Síndrome respiratória aguda grave 2
<b>SAPS3</b>	Pontuação de fisiologia aguda simplificada 3
<b>sCr</b>	Creatinina sérica
<b>SDRA</b>	Síndrome do desconforto respiratório agudo
<b>SRAA</b>	Sistema renina angiotensina aldosterona
<b>STC</b>	Síndrome de liberação de citocinas
<b>TC</b>	Tomografia computadorizada
<b>TFGe</b>	Taxa de filtração glomerular estimada
<b>TNEs</b>	Armadilhas extracelulares de neutrófilos
<b>TNF<math>\alpha</math></b>	Fator de necrose tumoral alfa
<b>TMPRSS-2</b>	Protease transmembrana serina 2
<b>TMPRSS-4</b>	Protease transmembrana serina 4
<b>TRS</b>	Terapia renal substitutiva
<b>TTPa</b>	Tempo de tromboplastina parcial ativada
<b>VMI</b>	Ventilação mecânica invasiva

## SUMÁRIO

<b>1. Introdução.....</b>	<b>13</b>
1.1 Estrutura e mecanismos de ação do coronavírus.....	14
1.2 Fisiopatologia da COVID-19.....	16
1.3 Envolvimento renal na COVID-19.....	19
1.4 Biomarcadores urinários.....	21
1.5 Justificativa.....	24
<b>2. Objetivos.....</b>	<b>26</b>
2.1 Objetivo Geral.....	26
2.2 Objetivos específicos.....	26
<b>3. Metodologia.....</b>	<b>28</b>
3.1 Desenho do estudo.....	28
3.2 Critérios de inclusão e exclusão.....	28
3.3 Coleta e processamento de material biológico.....	28
3.4 Análise de parâmetros laboratoriais e clínicos.....	29
3.5 Dosagem dos biomarcadores urinários.....	29
3.6 Análise estatística.....	30
3.7 Comitê de ética.....	30
<b>4. Resultados.....</b>	<b>32</b>
4.1 Características dos participantes com COVID-19 admitidos na UTI.....	32
4.2 Comparação dos parâmetros clínicos, laboratoriais e biomarcadores urinários.....	33
4.3 Valores preditivos dos biomarcadores para o óbito.....	36
4.4 O uso de biomarcadores urinários para a chance de sobrevivência de 2 meses.....	38
<b>5. Discussão.....</b>	<b>42</b>
<b>6. Conclusão.....</b>	<b>49</b>
<b>7. Referências.....</b>	<b>50</b>
<b>8. ANEXOS</b>	
Parecer Comitê de ética .....	<b>66</b>
Artigo.....	<b>77</b>

# INTRODUÇÃO

## 1. INTRODUÇÃO

A COVID – 19 (Coronavírus disease) é uma doença infecciosa causada por um novo tipo de coronavírus denominado SARS-CoV-2 cuja sigla quer dizer coronavírus da síndrome respiratória aguda grave 2 (YANG, P.; WANG, 2020). Este é um vírus de RNA fita simples positiva que possui de 26 a 32 quilobases e pertence à família *Coronaviridae* e ao gênero *Betacoronavirus* (LI, G. et al., 2020). Além disso, o SARS-CoV-2 apresenta uma alta capacidade de infectar seres humanos e uma grande transmissibilidade (KHAN et al., 2021).

Originada em Wuhan na China em novembro de 2019, a covid-19 rapidamente se disseminou de seu epicentro, para mais de 200 países em todo o mundo, sendo considerada uma pandemia pela Organização Mundial de Saúde no dia 11 de Março de 2020 (CUCINOTTA; VANELLI, 2020). Atualmente, cerca de 771 milhões de casos foram confirmados no mundo e 6,97 milhões de pessoas vieram a óbito pela doença (WHO, 2023).

O coronavírus é conhecido por causar infecções humanas desde a década de 1960 e nesses últimos 20 anos foi percebido o potencial deste vírus para causar epidemias mortais. A COVID-19 é o terceiro surto de doença respiratória nessas últimas duas décadas causada por um tipo de coronavírus, que tem perturbado significativamente o equilíbrio socioeconômico de todo o mundo (DOCEA et al., 2020).

São vírus zoonóticos, portanto são capazes de evoluírem e se adaptarem para infectar seres humanos (DOREMALEN, VAN et al., 2020;GRALINSKI; MENACHERY, 2020). O principal reservatório animal para o coronavírus são os morcegos, mas já foram relatadas infecções em camundongos, ratos, galinhas, cachorros, gatos, cavalos e até camelos (HOEK, VAN DER et al., 2004;SHARMA, A.; AHMAD FAROUK; LAL, 2021;WIT, DE et al., 2016).

Um estudo filogenético mostra que o SARS-CoV-2 surgiu a partir de espécies de morcegos vendidas Mercado de Frutos do Mar do Sul da China em Wuhan, pois este apresenta uma maior semelhança genômica com os tipos de coronavírus de morcego (LU et al., 2020; ZHOU et al., 2020).

Diferentes formas de transmissão já foram descritas e estudadas. Como o SARS-CoV-2 é um vírus presente em secreções nasofaríngeas e salivares, o principal modo de transmissão se dá através de gotículas respiratórias expelidas por um indivíduo infectado (partículas aerossóis), desse modo, essas partículas provenientes de tosse e espirros espalham o vírus no ar transmitindo para pessoas não infectadas (ATHER et al., 2020;GRAHAM CARLOS et al., 2020). Além disso, a transmissão também pode ocorrer como resultado do contato com objetos contaminados, também conhecida como transmissão fômite, pois em lugares contaminados, como hospitais, as instalações comuns (quartos e enfermarias) onde pacientes infectados estavam sendo atendidos e internados foram identificadas como forma de transmissão para pessoas não doentes, visto que estudos anteriores

mostraram que o ar desses ambientes estaria contaminado com o SARS-CoV-2 (CAI et al., 2020;SANTARPIA et al., 2020).

Outros estudos mostraram ainda a possibilidade de transmissão fecal-oral, já que o SARS-CoV-2 foi detectado em amostras fecais de pacientes infectados, indicando a capacidade de proliferação do SARS-CoV-2 no trato digestivo e a possível transmissão por essa via (CHEN, L. et al., 2020;SOETIKNO et al., 2020;ZHANG, J. C.; WANG; XUE, 2020).

Os sintomas iniciais da COVID-19 incluem febre, tosse, dispneia, dor de garganta, cefaleia, mialgia, fadiga, congestão nasal, diarreia, vômitos e alguns casos evoluem com sintomas mais graves, como a síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA) levando os pacientes a necessitarem de internação em unidades de terapia intensiva (UTI)(HU; HUANG; YIN, 2021;ISER et al., 2020). A forma grave da doença pode resultar em morte por insuficiência respiratória progressiva. A idade avançada e a existência de doenças subjacentes, como diabetes, hipertensão, obesidade ou imunossupressão, assim como a necessidade de ventilação mecânica invasiva (VMI) estão correlacionadas com os piores desfechos e evolução para o óbito, sendo considerados fatores de risco para a gravidade (ALBITAR et al., 2020;GRASSELLI; GRECO et al., 2020;SUN et al., 2020;ZHOU, F. et al., 2020).

### 1.1 ESTRUTURA E MECANISMOS DE AÇÃO DO CORONAVÍRUS

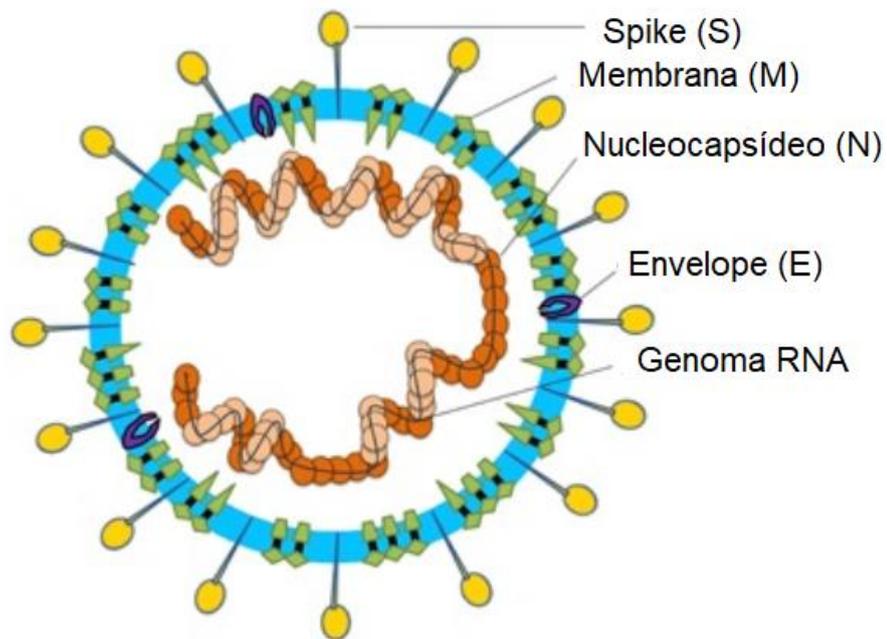
De um modo geral, os vírus de RNA, como o coronavírus, são conhecidos por possuírem uma capacidade de mutação muito alta devido aos seus mecanismos de replicação e à falta da atividade de revisão da RNA polimerase viral (ELENA; SANJUÁN, 2005). Essas mutações são imprescindíveis para a evolução dos vírus, permitindo assim a seleção natural, resultando em uma maior virulência e adaptabilidade (DUFFY, 2018).

Os genomas dos betacoronavírus ( $\beta$ -CoVs) já foram elucidados há muitos anos e o genoma do SARS-CoV-2 foi elucidado no início da Pandemia (MOUSAVIZADEH; GHASEMI, 2021). Estes, por sua vez, podem ser clivados proteoliticamente em pequenas proteínas e peptídeos importantes para a infecção viral (PRAJAPAT et al., 2020). A proteína Spike (S), encontrada como proeminências na superfície viral inclui o peptídeo de fusão, enquanto a proteína envelope (E) possui atividade de viroporina importante para a conclusão do ciclo de infecção viral. A proteína nucleocapsídeo (N) forma uma nucleoproteína com o genoma de RNA fita simples (+) e este complexo nucleoproteico é mantido dentro do capsídeo incluso na proteína matriz (Figura 1) (PRAJAPAT et al., 2020). Essas glicoproteínas medeiam a entrada nas células hospedeiras(HOFMANN; PÖHLMANN, 2004). Além disso, elas tem sido objeto de estudos para possíveis alvos terapêuticos e vacinas (LI, S. et al., 2019;TANG et al., 2020).

O vírus é de RNA fita simples positiva envelopado, então a expressão da maioria dos genes, exceto genes estruturais tardios, é transcrita diretamente do genoma. O primeiro obstáculo encontrado para entrada nas células hospedeiras se

dá através dos receptores virais expressos presentes nas membranas do hospedeiro. Esses receptores não apenas influenciam a aderência na superfície do hospedeiro, mas também facilitam a fusão da membrana (HOFMANN; PÖHLMANN, 2004). A ligação às proteínas da superfície do hospedeiro acarreta numa reação em cadeia que ativa os mecanismos de entrada no hospedeiro, e após a entrada viral, o vírus libera seu genoma e usa estrutura celular do hospedeiro para a replicação de seu genoma e a produção de novos produtos virais (PERROTTA et al., 2020; WONG; SAIER, 2021).

**Figura 1.** Estrutura do Coronavírus



**Fonte:** Adaptado de (LI, G. et al., 2020)

A proteína de superfície Spike é responsável pela ligação viral e pela entrada na célula hospedeira. Esta, por sua vez, possui domínios N-terminal e C-terminal, e duas subunidades principais S1 e S2. Uma dessas subunidades se liga aos receptores do hospedeiro e atua como um domínio de ligação ao receptor (LI, F., 2016). Essa proteína é o principal alvo do sistema imunológico do hospedeiro, desse modo a mesma sofre constantemente uma rápida evolução molecular e pressão seletiva (LI, F., 2016; SAPUTRI et al., 2020).

O processo de entrada do vírus nas células hospedeiras ocorre por meio de uma endocitose mediada por receptor, que no caso é a enzima conversora de angiotensina 2 (ACE-2), um receptor de superfície celular presente em vários tecidos epiteliais humanos, incluindo a mucosa oral e nasal, nasofaringe, vasos sanguíneos,

pulmões, coração, estômago, intestino delgado, cólon, linfonodos, timo, medula óssea, baço, fígado, rins e até mesmo no cérebro (HAMMING et al., 2004).

Após a ligação da subunidade S da proteína Spike (S) com a ACE-2 o complexo central de fusão S é ativado por meio de proteases hospedeiras. Esse complexo de fusão da proteína S é clivado por diferentes proteases, como furina, tripsinas, proteases semelhantes a tripsina, catepsina B (CTS-B), catepsina L (CTS-L), protease transmembrana serina 2 (TMPRSS-2), protease transmembrana serina 4 (TMPRSS-4) e protease semelhante à tripsina das vias aéreas humanas (HAT) (JAIMES; MILLET; WHITTAKER, 2020; OU et al., 2020). A co-expressão da ACE-2 e TMPRSS-2 normalmente em jangadas lipídicas de superfícies celulares, otimizam a entrada do coronavírus e a formação de sincícios em células epiteliais respiratórias (SHULLA et al., 2011).

Além disso, a eficiência da ligação à ACE-2 é um determinante fundamental para a transmissibilidade. Diferentes estudos demonstram uma maior afinidade de ligação do SARS-CoV-2 à ACE-2 do que do SARS-CoV à ACE-2, o que pode explicar o aumento da transmissibilidade do SARS-CoV-2 (HWANG et al., 2020; LEI et al., 2020; WANG, Q. et al., 2020).

A fusão da membrana e a liberação do genoma viral na célula hospedeira pode ocorrer por meio de uma via não endocítica na superfície da membrana da célula, ou por via endocítica, ativando o complexo de fusão e liberando seu genoma após a maturação do endossomo (LAKADAMYALI; RUST; ZHUANG, 2004). A disponibilidade das proteases do hospedeiro que se encontram nos sítios de ligação extracelulares influenciam no modo como o coronavírus irá adentrar no hospedeiro e isto é determinante para explicar a variação da dinâmica da infecção entre os diferentes tipos de células (OU et al., 2020).

## 1.2 FISIOPATOLOGIA DA COVID-19

A ampla distribuição dos receptores de entrada do coronavírus nas células hospedeiras mostra que este pode infectar diferentes tecidos e órgãos. Inicialmente, foi visto que o principal órgão afetado era o pulmão; porém, as evidências mais recentes mostraram que a COVID-19 é uma doença multissistêmica com diferentes manifestações (KUMAR et al., 2021). Na maioria dos doentes, muitos não apresentaram sintomas respiratórios, mas sim, diversos outros sintomas envolvendo um ou vários outros órgãos, até mesmo o cérebro (GUPTA et al., 2020).

O envolvimento multissistêmico na COVID-19 pode ocorrer devido vários fatores, dentre eles podemos citar como principais, a toxicidade viral direta, a desregulação da resposta imune do hospedeiro, a hiper inflamação causada pela inibição da sinalização de interferon, a linfodepleção de células T com produção de citocinas pró-inflamatórias como interleucina 6 (IL-6) e fator de necrose tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), o envolvimento do sistema renina-angiotensina-aldosterona (SRAA), danos às células endoteliais e tromboinflamação (GUPTA et al., 2020; KUMAR et al., 2021).

O coronavírus possui afinidade pelo trato respiratório devido a uma grande expressão de ACE-2 em diversos tipos de células epiteliais da via aérea como as células epiteliais alveolares tipo II (CAO; LI, 2020;SUNGNACK et al., 2020). Através de RT-PCR, o vírus e seu RNAm podem ser encontrados nas vias aéreas superiores, e com o passar dos dias da doença, em casos graves, este passa a se replicar no trato respiratório inferior causando pneumonia e SDRA (WÖLFEL et al., 2020). Além disso, foi sugerido por estudos histopatológicos que o SARS-CoV-2 apresenta também tropismo para tecidos miocárdicos, renais, neurológicos, faríngeos e gastrointestinais (PUELLES et al., 2020;SU et al., 2020;TAVAZZI et al., 2020;XIAO et al., 2020). Outros estudos de sequenciamento de RNA explicam que a lesão de múltiplos órgãos pode ocorrer devido ao dano viral direto, visto que existe a expressão de ACE-2 e TMPRSS-2 também em células secretoras de cálice nasal, colangiócitos, colonócitos, queratinócitos esofágicos, células epiteliais gastrointestinais, células  $\beta$  pancreáticas, túbulos proximais renais e podócitos(PAN et al., 2020;PUELLES et al., 2020;QI et al., 2020;ZIEGLER et al., 2020).

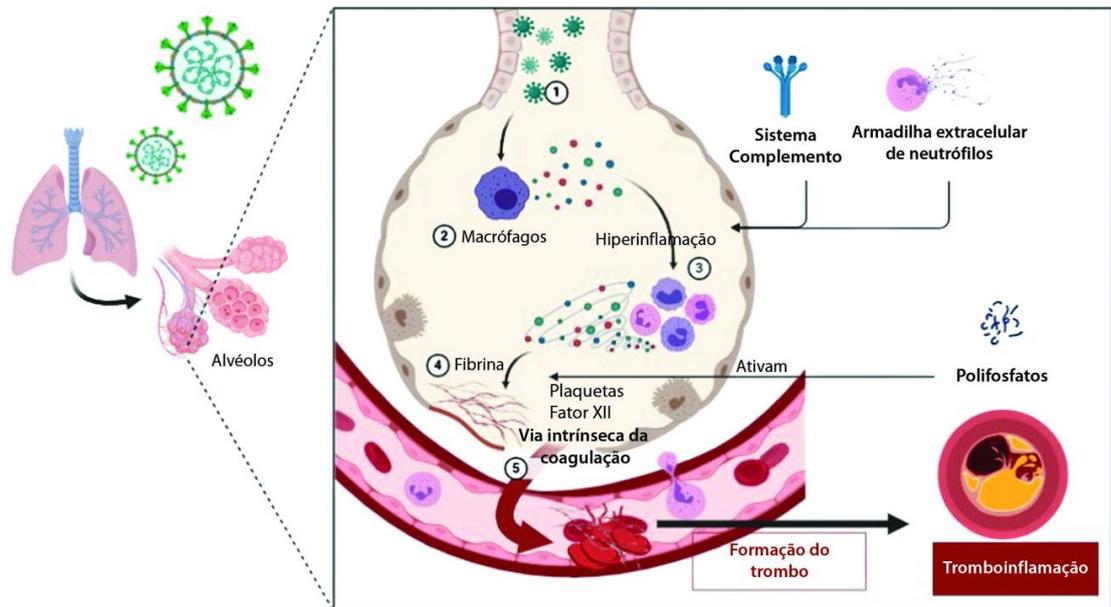
O dano às células endoteliais devido à entrada do coronavírus ser mediada pela ACE-2 com subsequente inflamação e a geração de um meio pró-trombótico são outros possíveis mecanismos fisiopatológicos da COVID-19 (ACKERMANN et al., 2020;TEUWEN et al., 2020;VARGA et al., 2020). Essa expressão de ACE-2 foi demonstrada no endotélio arterial e venoso de vários órgãos. Além disso, estudos histopatológicos mostraram evidências microscópicas nas células endoteliais dos rins e pulmões de partículas virais(ACKERMANN et al., 2020;HAMMING et al., 2004;VARGA et al., 2020).

A lesão endotelial causada pela COVID-19 é marcada pela presença de neutrófilos e macrófagos ativados nos vasos sanguíneos que levam a uma produção excessiva de trombina, inibindo assim a fibrinólise e ativando as vias do complemento, que dão início a tromboinflamação, acarretando na deposição de microtrombos com consequentemente disfunção microvascular(BIKDELI et al., 2020;ENGELMANN; MASSBERG, 2013;VARGA et al., 2020). Além disso, a comunicação cruzada de plaqueta-neutrófilo e a ativação macrofágica levam a liberação de citocinas pró-inflamatórias, formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos (TNEs), que ativam as vias de coagulação intrínseca e extrínseca, e a formação de fibrina e/ou microtrombo (Figura 2) (CONNORS; LEVY, 2020;KOUPENOVA et al., 2019;MERAD; MARTIN, 2020;YEAMAN, 2010;ZUO et al., 2020).

A desregulação do sistema imunológico e a síndrome de liberação de citocinas, causada por uma grande ativação da imunidade inata e linfo-depleção de células T é encontrada em casos graves de COVID-19 (DONG KIM et al., 2007). A elevação de marcadores inflamatórios séricos, como proteína C-reativa (PCR), ferritina, velocidade de sedimentação de eritrócitos, dímero D, fibrinogênio e lactato desidrogenase são preditivos da forma grave e se correlacionam com uma maior mortalidade em pacientes com SARS-CoV-2. Além disso, o aumento nos níveis da IL-6 no soro também foram correlacionados a um pior prognóstico, além de se

correlacionarem com o aumento nos níveis de fibrinogênio (CUMMINGS et al., 2020;PETRILLI et al., 2020;RANUCCI et al., 2020;RUAN et al., 2020;WU, C. et al., 2020;ZHOU, F. et al., 2020).

**Figura 2.** Mecanismo de lesão endotelial indireta causado pela COVID-19

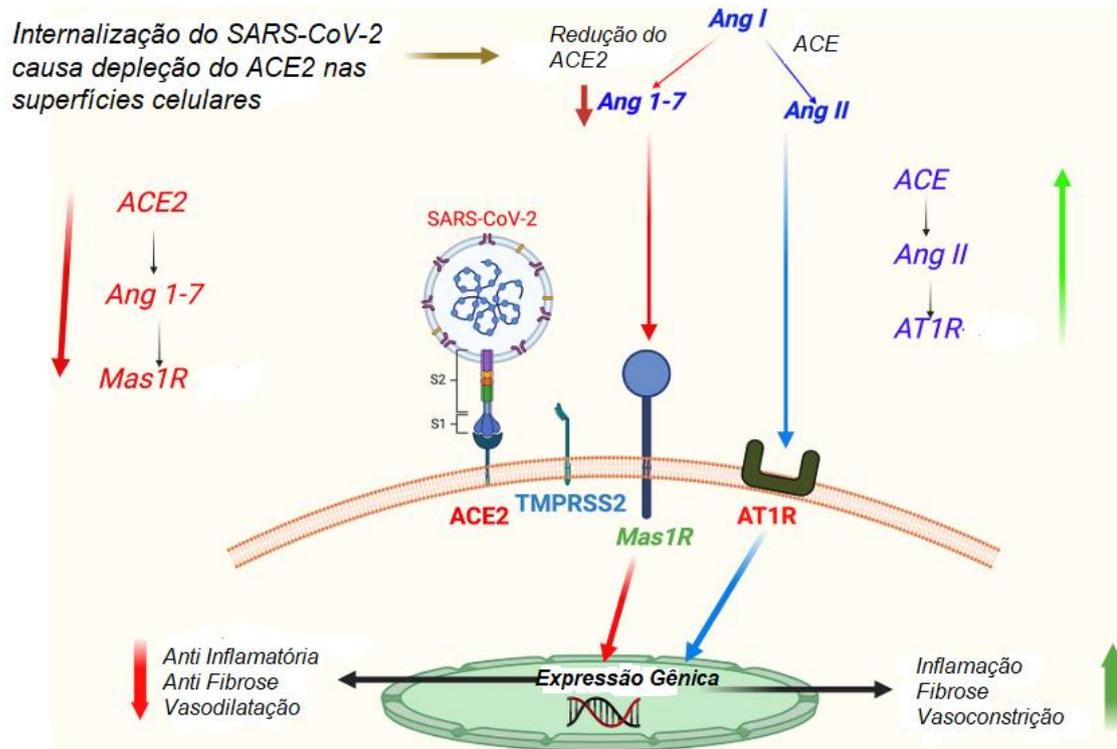


**Fonte:** (NASCIMENTO, DO et al., 2021)

O SRAA é um sistema hormonal formado por vários peptídeos reguladores que fazem parte de processos fisiológicos importantes, como o equilíbrio hemodinâmico fisiológico, que envolve os órgãos, fígado, pulmão, coração e rim, o equilíbrio de fluidos e eletrólitos, a regulação da pressão arterial, a permeabilidade vascular e crescimento tecidual(VADUGANATHAN et al., 2020). A enzima conversora de angiotensina 2 participa dessa via clivando a angiotensina I na angiotensina inativa 1-9 e clivando a angiotensina II na angiotensina 1-7, que possui propriedades vasodilatadoras, antiproliferativas e antifibróticas(SANTOS; FERREIRA; SIMÕES E SILVA, 2008;YE et al., 2006).

Essa desregulação causada pela COVID-19, constitui outro possível mecanismo fisiopatológico de dano tecidual relacionado a doença, visto que o vírus regula negativamente a ACE-2, mas não a enzima conversora de angiotensina (ACE), que é responsável pela conversão da angiotensina I em angiotensina II, por este motivo, ocorre um desequilíbrio da relação fisiológica ACE/ACE-2 (Figura 3) (GUPTA et al., 2020;KUMAR et al., 2020).

**Figura 3.** Desregulação mediada por ACE-2 induzida pelo SARS-CoV-2



**Legenda:** ACE, enzima conversora da angiotensina; Ang I, angiotensina-1; Ang II, angiotensina-2; AT1R, receptor de angiotensina 1; Mas 1R, Mas 1 receptor; SRAA, sistema renina-angiotensina-aldosterona.

**Fonte:** Adaptado de (KUMAR et al., 2021).

### 1.3 ENVOLVIMENTO RENAL NA COVID-19

A injúria renal aguda (IRA) é uma complicação comum descrita, de etiologia multifatorial, que acomete de 20-40% dos admitidos na UTI com COVID-19 além de ser considerada um marcador de gravidade da doença e um fator de prognóstico negativo para a sobrevivência (RONCO; REIS; HUSAIN-SYED, 2020; ZHOU, F. et al., 2020). A infecção pelo SARS-CoV-2 pode não só causar novos danos renais, mas também aumentar a dificuldade no tratamento e cuidados, bem como a mortalidade em pessoas com doenças renais subjacentes (HAN; YE, 2021).

Dentre as possíveis causas da IRA, tem-se a presença da expressão da ACE-2 descrita em vários órgãos, incluindo o rim, nos podócitos e em células tubulares renais proximais; e assim, alguns estudos sugerem que o vírus poderia infectar diretamente o rim causando um dano direto (DIAO et al., 2021; GŁOWACKA et al., 2021; STASI et al., 2020). A entrada do SARS-CoV-2 leva conseqüentemente a uma diminuição da expressão da ACE-2, diminuindo seu efeito protetor e acarretando na injúria renal (MALHA et al., 2020).

Além disso, os pacientes com COVID-19 grave apresentam elevados níveis séricos de mediadores pró-inflamatórios e disfunção das células imunes, culminando na tempestade de citocinas que é uma síndrome de liberação de citocinas (STC), acarretando em disfunção renal da mesma forma que ocorre na sepse(FANI et al., 2018;FIORENTINO et al., 2018;RAFI AHMED et al., [s.d.]). Desse modo, a IRA pode ter uma etiologia inflamatória mediada por uma exacerbação da resposta imune(STASI et al., 2020).

Na STC ocorre uma inflamação intrarrenal, com o aumento da permeabilidade vascular, depleção de volume e cardiomiopatia. Essa cardiomiopatia pode causar estase nas veias renais, ocasionando uma hipotensão renal e hipoperfusão com consequentemente redução na taxa de filtração glomerular (TFG) (RONCO; REIS, 2020).

Outro fator que também favorece a injúria renal é a síndrome cardiorenal, como a insuficiência ventricular direita secundária à pneumonia por COVID-19, que acarreta congestão renal com subsequente IRA, e a disfunção ventricular esquerda que pode ocasionar baixo débito cardíaco, subenchimento arterial e hipoperfusão renal(RONCO; REIS; HUSAIN-SYED, 2020).

As disfunções renais em pacientes com SARS-CoV-2 também podem ser explicadas através do crosstalk rim-pulmão. O aumento dessas citocinas inflamatórias no sangue causado pela lesão pulmonar da COVID-19, especialmente a IL-6, levam a um aumento na permeabilidade capilar alveolar com hemorragia pulmonar, e podem causar disfunção em órgãos distantes como dano endotelial vascular nos rins(RONCO; REIS, 2020).

Outros fatores que também podem contribuir para IRA na COVID-19 são rabiólise, síndrome de ativação de macrófagos e o desenvolvimento de micro êmbolos e micro trombos devido a hipercoagulabilidade (VARGA et al., 2020;ZHANG, Y. et al., 2020).

Estudos mostram que esses diagnósticos de IRA na COVID-19 podem estar sendo subestimados, uma vez que os níveis de creatinina sérica, marcador utilizado para determinação da função renal, podem não prever precocemente alterações nos rins, sendo assim considerado um marcador tardio. Estudos prévios mostram que aproximadamente 20% dos pacientes admitidos em unidades de terapia intensiva (UTI) com COVID-19 precisam de terapia renal substitutiva (TRS) a uma mediana de 15 dias do início da doença(PEI et al., 2020;ZHOU, F. et al., 2020).

As doenças renais são complexas e a avaliação clínica é muito focada no glomérulo(UCHINO et al., 2005). A dosagem da creatinina sérica (sCr) é o marcador mais utilizado para o diagnóstico e acompanhamento da função renal juntamente com a taxa de filtração glomerular estimada(TFG<sub>e</sub>); entretanto, a baixa sensibilidade e especificidade da creatinina não fornecem informações sobre a etiologia da IRA, o prognóstico, vias moleculares e respostas ao tratamento(MOLEDINA; PARIKH, 2018). Além disso, seus níveis são influenciados por outros fatores não relacionados

à TFG, como idade, sexo, massa muscular, metabolismo muscular, uso de alguns fármacos e estado de hidratação(LIMA; MACEDO, 2018).

A identificação precoce do envolvimento renal na COVID-19 é fundamental, uma vez que medidas preventivas e terapêuticas podem ser adotadas a fim de limitar a IRA ou a sua progressão para estágios mais avançados, contribuindo assim, para uma redução das complicações e das taxas de mortalidade(ROSCO; REIS; HUSAIN-SYED, 2020;ZHANG, W. R.; PARIKH, 2019).

#### 1.4 BIOMARCADORES URINÁRIOS

Estudos de análise molecular e proteômica permitiram a identificação e quantificação de proteínas na urina e na circulação sanguínea que são produzidas pelos rins ou se acumulam no organismo e que podem ser promissoras para avaliação e caracterização das doenças renais, além disso, eles são capazes de detectar precocemente, identificar o local da lesão, e prever o prognóstico das doenças renais (ZHANG, W. R.; PARIKH, 2019).

A lipocalina associada à gelatinase de neutrófilos (NGAL), é um dos biomarcadores renais mais estudados(SHANG; WANG, 2016). Pertencente a superfamília da lipocalinas, é uma glicoproteína ligada à metaloproteinase-9 da matriz de neutrófilos que possui 25 kDa. Esta, é uma proteína circulatória que participa do transporte de moléculas pequenas e hidrofóbicas (esteroides, ácidos graxos livres, prostaglandinas e hormônios) para órgãos-alvo e é expressa em vários tecidos do corpo, como o pulmão, trato gastrointestinal, fígado e rim (FLOWER, 1996;JABERI et al., 2021;SONI et al., 2010). No rim, a NGAL é expressa nas células epiteliais tubulares(MARAKALA, 2022). Diferentes funções têm sido associadas a NGAL, como funções antibacterianas, anti-inflamatórias e proteção contra o estresse celular e tecidual(JABERI et al., 2021). Além disso, estudos experimentais e clínicos revelaram que os níveis de NGAL na urina estão correlacionados com a gravidade da lesão renal principalmente lesão tubular e podem ser detectados precocemente quando comparados com marcadores clássicos(SHANG; WANG, 2016). A exemplo disso, um estudo experimental com camundongos mostrou níveis urinários de NGAL significativamente elevados dentro de 2 horas após lesão de isquemia-reperfusão renal(MISHRA et al., 2003).

Os altos níveis de NGAL geralmente ocorrem antes do aparecimento de outros marcadores renais envolvidos na determinação da função renal. Além disso, a NGAL é conhecida por prever a mortalidade em doenças renais(JUSHINSKIS et al., 2011) A NGAL é filtrada pelo glomérulo e reabsorvida pelo túbulo proximal de forma dependente de megalina, logo a diminuição dessa reabsorção tubular após IRA pode levar a um aumento da concentração urinária de NGAL(HVIDBERG et al., 2005).

A NGAL já foi estudada na COVID-19 juntamente com outros biomarcadores correlacionados a ativação de neutrófilos, e seus níveis aumentados foram independentemente associados a mortalidade; além disso, a ativação de neutrofílica juntamente com a formação de armadilhas extracelulares de neutrófilos foram implicadas na imunopatogenia da COVID-19 grave (ABERS et al., 2021).

Outro marcador amplamente estudado, a molécula-1 da injúria renal (KIM-1), é uma glicoproteína transmembrana tipo 1 que possui cerca de 90 kDa após clivagem proteolítica e pode ser encontrada tanto no plasma como na urina. Esta, pertence à família de proteínas de imunoglobulina e domínio de mucina de células T e é expressa nos rins após lesão tóxica ou isquêmica, mais especificamente pelas células tubulares proximais (BAILLY et al., 2002; KARMAKOVA et al., 2021). Nos rins saudáveis está praticamente ausente (HUBANK; SCHATZ, 1994; ICHIMURA et al., 1998).

KIM-1 possui um receptor de fosfatidilserina que aumenta os corpos apoptóticos e fagocitose de detritos necróticos. Esta molécula tem a capacidade de dar às células epiteliais uma função característica dos fagócitos (BONVENTRE; YANG, 2010; VISNAGRI; KANDHARE; BODHANKAR, 2015). A expressão dos genes de KIM-1 reflete danos contínuos em vários segmentos tubulointersticiais e no córtex renal, devido a isso, o KIM-1 começou a ser considerado um biomarcador capaz de identificar precocemente a IRA além de apresentar possível papel preditivo (CHIUSOLO et al., 2010; TSIGOU et al., 2013).

A IRA é um distúrbio potencialmente reversível, uma vez que o epitélio tubular possui capacidade regenerativa e assim, células com viabilidade preservada passam por transição epitelial-mesenquimal, proliferam e migram para as áreas afetadas (ANDRIANOVA et al., 2019). Dessa forma, o aumento nos níveis de KIM-1 nas células tubulares proximais na IRA são o reflexo da atividade de reparação, uma resposta adaptativa, e não apenas marcador de lesão (ZHANG, P. L. et al., 2008).

Estudos mostraram que após a lesão renal (isquêmica ou tóxica) os níveis aumentados de KIM-1 ajudam a diferenciar a necrose tubular aguda (NTA), da azotemia pré-renal e da doença renal crônica (DRC) (TANASE et al., 2019). O aumento dos níveis de KIM-1 podem ser também usados para identificar pacientes com risco de progressão da IRA para a DRC, levando em consideração que os níveis estão sempre muito elevados na DRC (GOBE et al., 2015; LIM et al., 2013; SABBISSETTI et al., 2014).

As quimiocinas são pequenas proteínas (5-20 kDa) sinalizadoras secretadas pelas células do sistema imunológico. A proteína quimioatrativa de monócitos 1 (MCP-1) foi a primeira quimiocina purificada e caracterizada devido a sua propriedade quimiotática de monócitos *in vitro* em linhagens celulares humanas (DESHMANE et al., 2009; ZLOTNIK; YOSHIE, 2000).

As principais fontes de MCP-1 são células epiteliais, células endoteliais, células musculares lisas, monócitos/macrófagos, fibroblastos, astrócitos e células

microgliais. No rim ela é produzida por células tubulares, células musculares lisas, células mesangiais, podócitos e células infiltrantes, como eosinófilos e mastócitos(HALLER et al., 2016). A MCP-1 é secretada em resposta a citocinas pró-inflamatórias e desempenha um importante papel no recrutamento seletivo de monócitos, neutrófilos e linfócitos para as lesões e as infecções(MOSER; LOETSCHER, 2001). Desse modo, a MCP-1 tem sido estudada na patogênese de várias doenças, inclusive na COVID-19(DESHMANE et al., 2009;SINGH; ANSHITA; RAVICHANDIRAN, 2021).

A MCP-1 já foi estudada na COVID-19 e seus níveis séricos aumentaram juntamente com outros mediadores inflamatórios durante a "tempestade de citocinas", levando a complicações e morte(BÜLOW ANDERBERG et al., 2021). Além disso, foi associado o aumento dos níveis de MCP-1 nos infectados com o novo coronavírus ao desenvolvimento de IRA em pacientes críticos e a insuficiência respiratória (BÜLOW ANDERBERG et al., 2021;HUANG et al., 2020;JØNTVEDT JØRGENSEN et al., 2020). Assim, casos de COVID-19 com evolução desfavorável apresentam expressão de MCP-1 significativamente maior mostrando seu valor preditivo, sendo um biomarcador associado à extremidade da doença e ao risco de morte(CHEN, Y. et al., 2020;SIERRA et al., 2020).

Além disso, como a MCP-1 é uma quimiocina também produzida por células renais, ela participa como mediadora nas lesões renais isquêmicas agudas e tóxicas, e a sua utilidade como biomarcador foi demonstrada por diferentes avaliações clínicas onde foram observados altos níveis urinários nos pacientes com IRA, pacientes com nefropatia diabética, nefrite lúpica e doença renal policística autossômica dominante (CHOW et al., 2006;KIM; TAM, 2011;KULKARNI; ANDERS, 2008;OBERMÜLLER et al., 2014;SATIRAPOJ, 2018).

No néfron, onde ocorre a filtração glomerular, tem-se a barreira de filtração que é formada por 3 camadas: epitélio glomerular, a membrana basal e os diafragmas de fenda, formados pelos processos dos pés dos podócitos, que são responsáveis por impedir a passagem de proteínas para o filtrado urinário(GARG, 2018). Assim, os podócitos apresentam papel fundamental para a manutenção da função renal, sendo eles, normalmente, o principal foco para várias doenças renais. Desse modo, quando a lesão acomete os podócitos, ocorre um derramamento de fragmentos celulares derivados destes e de seus alvos moleculares específicos na urina. Esses componentes proteicos do diafragma de fenda de podócitos têm sido cada vez mais estudados como possíveis biomarcadores para doenças renais e seu monitoramento (ZENG; SZETO, 2021).

Dentre as principais proteínas da fenda se encontra a nefrina, que possui 180 kDa e pertence a superfamília das imunoglobulinas. Esta é uma proteína de adesão glomerular especializada, expressa à medida que o podócito vai amadurecendo e se diferenciando (GARG, 2018;VOGTLÄNDER et al., 2005;ZENG; SZETO, 2021). Ela é um componente central do ultrafiltro glomerular, com funções estruturais e funções de sinalização. Possui um domínio extracelular que junto com outros componentes

parece formar uma peneira molecular porosa, enquanto o seu domínio intracelular está associado com proteínas ligadoras que a conectam com o citoesqueleto de actina (PATRAKKA; TRYGGVASON, 2007). Além disso, o aumento das concentrações urinárias de nefrina podem estar relacionadas com uma lesão glomerular precoce (CHEN, J. et al., 2019;KANDASAMY et al., 2014).

A nefrina já foi estudada em diferentes condições, se mostrando eficiente na precisão diagnóstica da nefropatia diabética sendo mais precoce que a albuminúria; além disso, também mostrou ser um bom marcador para doenças glomerulares em crianças, e em outro estudo, apresentou um padrão de distribuição alterado em crianças com síndrome nefrótica (GUAN, N. et al., 2003;KOSTOVSKA et al., 2020;WANG, P. et al., 2015). Sendo assim, a dosagem urinária de nefrina vem se tornando importante para a detecção precoce de podocitopatias(KOSTOVSKA et al., 2022).

## 1.5 JUSTIFICATIVA

Apesar dos avanços terapêuticos na área médica, a IRA ainda é um grande problema, sendo frequente nos pacientes com COVID-19 internados na UTI, apresentando alta taxa de mortalidade (ABDALLAH et al., 2021;BENTO et al., 2023). Ademais, os altos custos associados ao desenvolvimento da IRA nessas configurações são difíceis de ignorar(JANA; MITRA; ROY, 2023). Estudos observacionais e metanálises mostram uma incidência de IRA de 28-34% em todo os pacientes hospitalizados e 46-77% nas unidade de terapia intensiva (UTI). Além disso, os pacientes sobreviventes ficam com risco aumentado para injúria renal futura, diminuição da TFGe e desenvolvimento de DRC(MATSUMOTO; PROWLE, 2022).

Estudos mostram que a IRA é um fator de risco independente para mortalidade e que esse risco de morte aumenta de acordo com a gravidade da IRA (PRASAD; AGRAWAL, 2020). As altas taxas de mortalidade podem ser atribuídas ao diagnóstico tardio da IRA, visto que o diagnóstico é feito apenas quando a lesão já se encontra estabelecida, devido à baixa sensibilidade e especificidade da creatinina sérica (PARIKH et al., 2013).

Novos estudos mostram que existem biomarcadores mais sensíveis e específicos que a creatinina sérica sendo capazes de detectar precocemente a IRA e que o uso desses biomarcadores, em pacientes com alto risco de desenvolver IRA, pode ser capaz de melhorar o prognóstico dos mesmos(ZHANG, W. R.; PARIKH, 2019).

Desse modo, é necessário identificar precocemente os pacientes com IRA usando biomarcadores urinários facilmente quantificáveis na urina, a fim de melhorar o manejo com esses pacientes, fornecendo tratamento oportuno e diminuindo a mortalidade, sobretudo em pacientes graves com COVID-19 nas unidades de tratamento intensivo.

# OBJETIVOS

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o uso dos biomarcadores urinários NGAL, KIM-1, MCP-1 e Nefrina na predição de óbito nos participantes com COVID-19 grave.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Caracterizar o perfil clínico e epidemiológico dos participantes admitidos na UTI com COVID-19 grave.

- Investigar os níveis dos biomarcadores urinários nos participantes com COVID-19 grave no momento da admissão na UTI.

- Comparar os parâmetros clínicos, exames laboratoriais e os biomarcadores urinários nos grupos (sobreviventes/óbito) e correlacionar os valores desses biomarcadores com o desfecho clínico.

- Comparar os valores preditivos para o óbito dos biomarcadores urinários.

- Avaliar o uso de biomarcadores urinários para a chance de sobrevivência de 2 meses.

# **METODOLOGIA**

### 3. METODOLOGIA

#### 3.1 DESENHO DO ESTUDO

Trata-se de um estudo prospectivo realizado com pacientes acometidos pela forma grave da COVID-19, internados no Instituto Doutor José Frota (IJF) em Fortaleza, Ceará, no período de junho de 2020 a abril de 2021 (1ª e 2ª ondas da pandemia). O IJF é um hospital terciário, sendo atualmente a maior emergência do estado do Ceará para atendimentos a traumas, lesões vasculares, intoxicações e queimaduras (Canal saúde, 2023). Durante a pandemia o IJF se tornou um hospital de referência para os casos graves de COVID-19 fazendo várias adaptações, como a transformação de salas de centro cirúrgico em UTI para COVID-19, uma vez que o elevado número de casos sobrecarregou todas as emergências do estado.

#### 3.2 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO E EXCLUSÃO

##### CRITÉRIOS DE INCLUSÃO

- Pacientes internados na UTI
- Pacientes de ambos os sexos
- Pacientes com mais de 18 anos
- Pacientes com diagnóstico confirmado por RT-PCR
- Pacientes que aceitaram participar da pesquisa e que assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) - Na impossibilidade de o paciente não conseguir assinar, algum familiar ou responsável assinou o TCLE por ele.

##### CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

- Pacientes com doença renal prévia
- Pacientes que adquiriram COVID-19 no hospital após a hospitalização por outra patologia

#### 3.3 COLETA E PROCESSAMENTO DE MATERIAL BIOLÓGICO

As amostras de sangue e urina dos participantes foram coletadas em até 24 horas após a admissão na UTI pelos funcionários do setor. A coleta de amostras de sangue faz parte da rotina de pacientes internados em UTI. Após a coleta, as amostras séricas foram centrifugadas para a obtenção do soro e analisadas no laboratório do IJF. Para a coleta de urina, foram feitos kits contendo coletor urinário e fitas para identificação do material e deixados na UTI do hospital, a fim de que os funcionários do setor conseguissem fazer a coleta de urina dos participantes dentro

do prazo de até 24 horas da admissão. Essas amostras de urina foram posteriormente aliquotadas em microtubos do tipo eppendorf e foram armazenadas em freezer a  $-80^{\circ}\text{C}$  até a análise dos biomarcadores urinários no laboratório de bioprospecção farmacêutica e bioquímica clínica.

### 3.4 ANÁLISE DE PARÂMETROS LABORATORIAIS E CLÍNICOS

Foi realizado um acompanhamento durante a internação dos participantes por meio de prontuários, a fim de monitorar a função renal e outros parâmetros clínicos. A gravidade dos participantes foi estimada usando o formulário SAPS 3 (do inglês *Simplified Acute Physiology Score 3* – Pontuação de Fisiologia Aguda Simplificada), este é um índice desenvolvido para prever a mortalidade hospitalar na admissão da UTI. Todas as dosagens bioquímicas e hematológicas laboratoriais, como hemograma, creatinina sérica (mg/dL), uréia sérica (mg/dL), tempo de tromboplastina parcial ativada, sódio (mg/dL), potássio (mEq/l), aspartato aminotransferase (AST) (U/l), alanina aminotransferase (ALT) (U/l), lactato desidrogenase (LDH) (U/l), bilirrubinas (mg/dL), proteína C reativa (PCR) (pg/mL), D-dímero (ng/ml) foram feitas no laboratório do IJF, visto que são exames solicitados rotineiramente a pacientes internados, e os resultados foram analisados posteriormente por meio dos prontuários.

A creatinina urinária (mg/dL) foi quantificada utilizando um analisador bioquímico automático (COBAS C111, Roche ®). A proteinúria foi realizada através do método colorimétrico (Labtest ®). A presença ou ausência de IRA foi feita utilizando o critério KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) que classifica a lesão renal em 3 estágios, o estágio 1 ocorre quando o aumento da creatinina sérica é maior ou igual 0,3 mg/dL e até duas vezes o valor da creatinina basal, já o estágio 2 ocorre quando há um aumento entre duas a três vezes maior que a creatinina basal e o estágio 3 ocorre quando o aumento é maior que 3 vezes o valor da creatinina basal, assim como um valor maior que 4mg/dL (KELLUM et al., 2013).

### 3.5 DOSAGEM DOS BIOMARCADORES URINÁRIOS

A determinação de NGAL, KIM-1, MCP-1 e Nefrina foi realizada através de ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay; R&D Systems®) que é um ensaio imunoenzimático do tipo sanduíche, que se baseia em reações antígeno-anticorpo detectáveis através de reações enzimáticas.

Após as análises dos biomarcadores urinários, estes tiveram os seus valores corrigidos pela creatinina urinária, para que fosse retirado o viés da diferença de concentração urinária, sendo expressos como mg/g-Creatinina (WAIKAR; SABBISSETTI; BONVENTRE, 2010).

### 3.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A apresentação dos dados categóricos foram feitas como contagens absolutas e porcentagens. Para a avaliação das associações entre os dados categóricos foram utilizados os testes qui-quadrado ou teste exato de Fisher conforme apropriado. Para a avaliação da normalidade dos dados quantitativos foi usado o teste de Kolmogorov-Smirnov. Os dados normais foram apresentados como média  $\pm$  desvio padrão e os dados não normais foram apresentados como mediana e intervalo interquartil. A comparação dos dados quantitativos entre dois grupos (participantes de alta versus óbito) foi realizada através do teste T de Student ou teste de Mann-Whitney, conforme apropriado.

A capacidade preditiva de morte utilizando os biomarcadores renais foi avaliada através de curvas ROC onde foram calculadas as áreas sob a curva ROC (AUC-ROC) com intervalos de confiança de 95%. Os pontos de corte da curva ROC para cada biomarcador foram examinados e determinados através do maior índice de Youden e os pontos de corte selecionados capazes de prever a morte nos participantes com COVID-19 foram usados para fazer novos grupos com base em "menor que o ponto de corte" vs "maior que o ponto de corte". Esses novos grupos foram utilizados a fim de avaliar a chance de sobrevivência por 2 meses através da análise de Kaplan-Meier. O teste de log-rank foi usado para avaliar a diferença estatística entre os dois grupos baseado nos pontos de corte.

Foram avaliados os modelos de regressão de riscos proporcionais de cox utilizando os pontos de corte dos biomarcadores urinários, além dos parâmetros previamente associados ao óbito (utilizando-se como condição  $p < 0,10$ ) e outros possíveis fatores confundidores, como comorbidades.

A colinearidade das variáveis foi avaliada e no modelo multivariado todas as variáveis selecionadas foram incluídas manualmente, sendo utilizado o teste backward with likelihood ratio como método stepwise.

Os dados foram analisados através do software SPSS para Macintosh, versão 23 (NY, EUA; IBM Corp.). Para todos os testes analíticos, o valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo.

### 3.7 COMITÊ DE ÉTICA

Este estudo foi aprovado pelo comitê de ética nacional de pesquisa com seres humanos no IJF sob o número CAAE: 30579020.4.1001.0008. Todos os participantes foram informados sobre o propósito do estudo e, ao concordarem em participar da pesquisa, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido antes do início da avaliação. Os participantes que não conseguiam assinar algum familiar ou responsável assinou o TCLE.

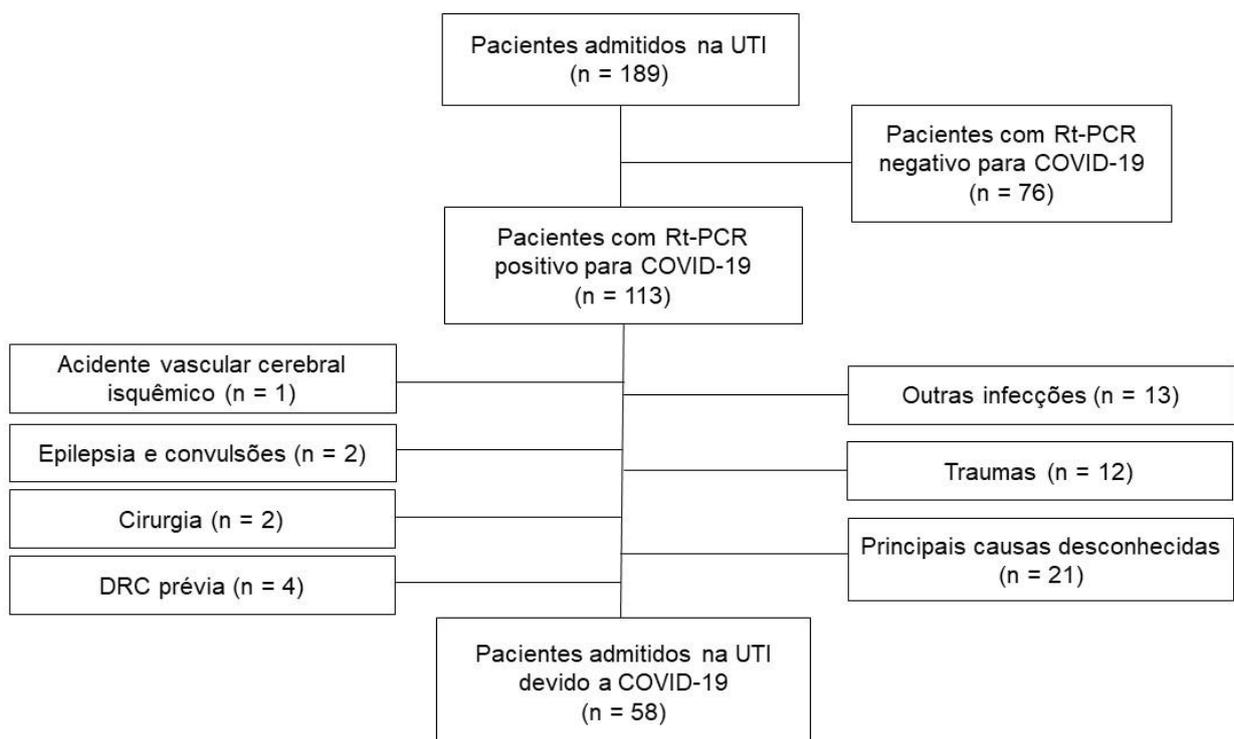
# RESULTADOS

## 4. RESULTADOS

### 4.1 CARACTERÍSTICAS DOS PARTICIPANTES COM COVID-19 ADMITIDOS NA UTI

Foram coletadas amostras de urina de 189 casos suspeitos de COVID-19, no entanto 76 destes tiveram RT-PCR negativo e foram automaticamente excluídos da pesquisa. Dentre os 113 participantes restantes, 51 foram admitidos na UTI por outras causas que não a COVID-19, tais como acidente vascular cerebral, epilepsia, cirurgia, traumas, outras infecções, causas desconhecidas, além de 4 participantes com histórico de DRC prévia e assim foram excluídos. Desse modo, 58 participantes com infecção por COVID-19 como a principal causa para a internação na UTI foram selecionados para serem acompanhados (figura 4).

**Figura 4.** Fluxograma dos participantes incluídos na pesquisa admitidos na Unidade de Terapia intensiva.



**Fonte:** Figura do autor.

A maior parte dos participantes 34 (59%) era do sexo masculino e a idade média dos participantes foi de  $57 \pm 16$  anos. Além disso, 39 participantes (67%) possuíam alguma comorbidade dentre hipertensão arterial (43%), obesidade (38%), cardiopatia (32%), diabetes (29%) e asma (6%). 22 participantes (38%) evoluíram

para o óbito, no entanto não foi encontrada uma correlação do óbito com a presença de comorbidades, mas foi observado uma idade média maior neste grupo ( $63 \pm 13$  versus  $53 \pm 16$  anos,  $p=0.009^*$ ) (Tabela 1).

Dentre os participantes incluídos no estudo 40 (69%) desenvolveram IRA na primeira semana de internação, e de acordo com a classificação do KDIGO 11 participantes (19%) foram classificados como estágio 1, 12 participantes (21%) estágio 2 e 17 participantes (29%) estágio 3.

**Tabela 1.** Características epidemiológicas dos participantes internados com COVID-19 em unidade de terapia intensiva.

Parâmetros	Grupo total n=58	Sobreviventes n=36	Óbito n=22	p
Idade (anos)	56,6 ± 15,8	52,6 ± 16,3	63 ± 12,8	0,009*
Gênero				0,544
- Masculino	34 (58,6)	20 (55,6)	14 (63,6)	
- Feminino	24 (41,4)	16 (44,4)	8 (36,4)	
Tempo entre os sintomas e admissão	10 (6–14)	10 (8–17)	8 (5–13)	0,079
Febre	38 (73,1)	23 (69,7)	15 (78,9)	0,469
Dispneia	53 (91,4)	34 (94,4)	19 (86,4)	0,357
Oximetria	34 (59,6)	20 (57,1)	14 (63,6)	0,627
Comorbidades	39 (67,2)	22 (61,1)	17 (77,3)	0,203
- Cardiopatia	17 (32,1)	9 (26,5)	8 (42,1)	0,242
- Asma	3 (5,7)	3 (8,8)	0 (0)	0,545
- Diabetes	16 (28,6)	9 (25)	7 (35)	0,427
- Neurológica	3 (5,7)	2 (5,9)	1 (5,3)	1,000
- Pneumopatia	2 (3,8)	1 (2,9)	1 (5,3)	1,000
- Obesidade	21 (38,2)	12 (34,3)	9 (45)	0,431
- Hipertensão	25 (43,1)	14 (38,9)	11 (50)	0,407

**Legenda:** Os dados quantitativos expressos em média ± desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil entre parênteses de acordo com as distribuições dos dados. Dados qualitativos expressos em contagem absoluta e percentuais entre parênteses. O teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher foram aplicados para os dados qualitativos e para os dados quantitativos foram utilizados o teste t de Student ou o teste de Mann-Whitney de acordo com a normalidade.

**Fonte:** Dados da pesquisa.

#### 4.2 COMPARAÇÃO DE PARÂMETROS CLÍNICOS, LABORATORIAIS E BIOMARCADORES URINÁRIOS

Foi observado que na admissão na UTI o escore SAPS 3 estava maior no grupo de participantes que evoluiu para o óbito ( $p=0,001$ ). Porém não foram observadas diferenças significativas entre os grupos para frequência cardíaca, pressão arterial média, frequência respiratória, lactato arterial e índice de oxigenação (Tabela 2).

Além disso, foi observada uma maior necessidade do uso de VMI durante o período de internação na UTI no grupo de participantes que evoluiu para o óbito quando comparado ao grupo de sobreviventes (86% versus 56%,  $p = 0,019$ ), assim como uma necessidade maior do uso de drogas vasoativas (77% versus 42%,  $p=0,008$ ) e diálise (59% versus 22%,  $p = 0,005$ ) quando comparados ao grupo de sobreviventes (Tabela 2).

**Tabela 2.** Comparação de parâmetros clínicos dos participantes com COVID-19 na admissão e durante a internação na UTI

Parâmetros	Sobreviventes (n=36)	Óbito (n=22)	p
<b>Parâmetros na admissão na UTI</b>			
Menor pressão arterial média	82 ± 14,5	73,6 ± 21	0,111
Maior frequência cardíaca	105,4 ± 19,9	110,5 ± 24,8	0,414
Maior frequência respiratória	27,4 ± 7,2	29,6 ± 6,3	0,308
Maior lactato arterial	1,72 ± 0,79	1,6 ± 0,69	0,768
Menor índice de oxigenação	142 (109–204)	135 (85–163)	0,499
Escore SAPS3	51,4 ± 14,1	65,6 ± 14,6	0,001*
<b>Parâmetros durante a internação na UTI</b>			
Duração internamento (dias)	13 (7,5–18,5)	8,5 (6–17)	0,118
Suporte ventilatório			0,019*
- Invasivo	18 (56,3)	19 (86,4)	
- Não Invasivo	14 (43,8)	3 (13,6)	
Diálise	8 (22,2)	13 (59,1)	0,005*
Uso de vasopressores	15 (41,7)	17 (77,3)	0,008*

**Legenda:** Dados quantitativos expressos em média ± desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil entre parênteses de acordo com as distribuições dos dados. Dados qualitativos expressa em contagem absoluta e percentagens entre parênteses. O teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher foram aplicados para os dados qualitativos e para os dados quantitativos foram utilizados o teste t de Student ou o teste de Mann-Whitney de acordo com a normalidade.

**Fonte:** Dados da pesquisa

Com relação aos exames laboratoriais realizados durante a admissão na UTI, não houve diferenças significativas entre os grupos de sobreviventes e os que evoluíram para óbito para alguns parâmetros como, hemoglobina, leucócitos, linfócitos, potássio, sódio, AST, ALT, PCR, bilirrubina total e D-dímero. Porém, foi observado um maior comprometimento dos fatores de coagulação, como maior tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa) ( $1,35 \pm 0,49$  versus  $1,1 \pm 0,25$ ,  $p=0,026$ ), além de maiores valores de LDH (1027 [747–1299] versus 664 [547–881],  $p = 0,008$ ) no grupo que evoluiu para óbito (Tabela 3).

Avaliando os marcadores renais tradicionais, foi observado um aumento significativo nos níveis da creatinina sérica ( $1,15 [0,9–1,5]$  versus  $0,7 [0,6–1,05]$ ,  $p = 0,038$ ) e da ureia sérica ( $57 [36–117]$  versus  $39 [27–66]$ ,  $p = 0,049$ ) no grupo dos participantes que evoluiu para óbito em relação ao grupo de sobreviventes. Na análise dos biomarcadores urinários foi observado que tanto a nefrina como MCP-1,

relacionados com alterações glomerulares e inflamação, não apresentaram diferenças significativas entre os grupos dos sobreviventes e os que evoluíram para óbito. No entanto, os níveis de biomarcadores tubulares renais, como a NGAL urinária (148,3 [118,9–229,8] versus 91,9 [70,2–132,6] ng/mg-Cr,  $p = 0,002$ ) e KIM-1 urinário (3278 [1861–5238] versus 1440 [826–2362] pg/mg-Cr,  $p = 0,006$ ) apresentaram diferença significativa entre os grupos, juntamente com a razão proteinúria/creatinina (1,5 [1–2,2] versus 0,6 [0,4–1,2],  $p = 0,004$ ) (Tabela 3 e Figura 5).

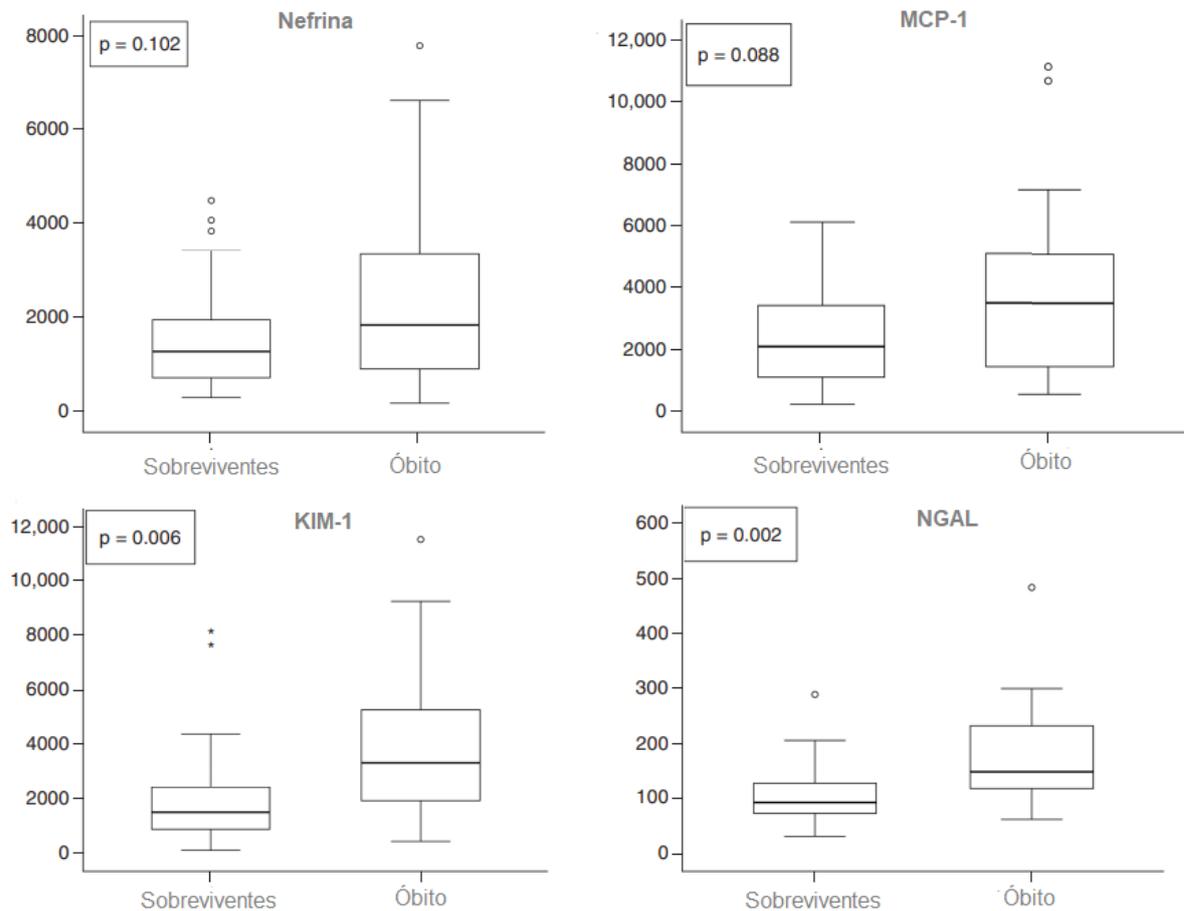
**Tabela 3.** Comparação entre exames laboratoriais e biomarcadores renais nos participantes com COVID-19 na admissão e durante a internação na UTI

Parâmetros	Sobreviventes (n=36)	Óbito (n=22)	p
<b>Exames laboratoriais na admissão da UTI</b>			
Hemoglobina (g/dl)	11.8 ± 2.2	11.7 ± 2.2	0,981
Leucócitos (mm <sup>3</sup> )	12162 ± 4546	14478 ± 6479	0,130
Linfócitos (mm <sup>3</sup> )	806 (559–1087)	920 (602–1246)	0,824
Plaquetas (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	265 (208–313)	199 (150–302)	0,109
INR	1,08 ± 0,09	1,25 ± 0,47	0,052
TTPa	1,1 ± 0,25	1,35 ± 0,49	0,026*
Ureia sérica (mg/dl)	39 (27–66)	57 (36–117)	0,049*
Creatinina sérica (mg/dl)	0,7 (0,6–1,05)	1,15 (0,9–1,5)	0,038*
Potássio sérico (mEq/l)	4 ± 1	4 ± 1	0,637
Sódio sérico (mg/dl)	144 ± 6	145 ± 8	0,812
AST (U/l)	40 (27–67)	54 (34–72)	0,424
ALT (U/l)	49 (29–74)	39 (28–64)	0,35
LDH (U/l)	664 (547–881)	1027 (747–1299)	0,008*
Bilirrubina total (mg/dl)	0,54 (0,31–0,82)	0,58 (0,44–0,9)	0,917
PCR (pg/ml)	145,5 (35–194,4)	165,15 (127,1–248,2)	0,15
D-dimero (ng/ml)	2,27 (0,89–2,5)	2,1 (0,6–3,88)	0,813
<b>Biomarcadores urinários na admissão da UTI</b>			
Proteinúria/creatinina	0,6 (0,4–1,2)	1,5 (1–2,2)	0,004*
NGAL (ng/mg-Cr)	91,9 (70,2–132,6)	148,3 (118,9–229,8)	0,002*
MCP-1 (pg/mg-Cr)	2100,3 (1120,7–3436,5)	3284,9 (1315,7–5072,2)	0,088
Nefrina (pg/mg-Cr)	1227 (679,7–1910,3)	1802,9 (862,8–3294,4)	0,102
KIM-1 (pg/mg-Cr)	1440,5 (826,4–2362,9)	3278,8 (1861,9–5238,6)	0,006*

**Legenda:** Dados quantitativos expressos em média ± desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil entre parênteses de acordo com as distribuições dos dados. Dados qualitativos expressa em contagem absoluta e percentagens entre parênteses. O teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher foram aplicados para os dados qualitativos e para os dados quantitativos foram utilizados o teste t de Student ou o teste de Mann-Whitney de acordo com a normalidade.

**Fonte:** Dados da Pesquisa.

**Figura 5.** Blox-pot dos níveis urinários de cada biomarcador de acordo com desfecho.



**Legenda:** blox-pot comparativo dos biomarcadores urinários quantificados na admissão da UTI dos participantes com COVID-19 nos grupos sobreviventes e óbito.

**Fonte:** Figura do autor.

#### 4.3 VALORES PREDITIVOS DOS BIOMARCADORES PARA O ÓBITO

Para encontrar valores preditivos para o óbito foram feitas as análises de curva ROC com os biomarcadores renais que apresentaram diferenças significativas entre os grupos de sobreviventes e o grupo que evoluiu para o óbito, tais como creatinina sérica, ureia sérica, proteinúria, NGAL e KIM-1 urinários. Os marcadores que apresentaram os melhores resultados na curva ROC foram KIM-1 (0,749;  $p = 0,002$ ), NGAL (0,750;  $p = 0,002$ ) e proteinúria (0,728;  $p = 0,004$ ). Além disso, fazendo uma análise combinada usando proteinúria\*KIM-1\*NGAL foi obtido um resultado melhor ainda para a curva ROC (0,810;  $p < 0,001$ ).

Os pontos de corte encontrados através das áreas sob a curva ROC para os biomarcadores foram 118 ng/mg-Cr para NGAL, apresentando uma sensibilidade de 76% e especificidade de 71%; 1,81 ng/mg-Cr para KIM-1 apresentando sensibilidade de 77% e especificidade de 70%; 0,90 para a razão de proteinúria/creatinina apresentando sensibilidade de 77% e especificidade de 67%; 379 ng/mg-Cr para a

análise combinada de proteinúria\*KIM-1\*NGAL apresentando sensibilidade de 71% e especificidade de 86% (Tabela 4 e Figura 6).

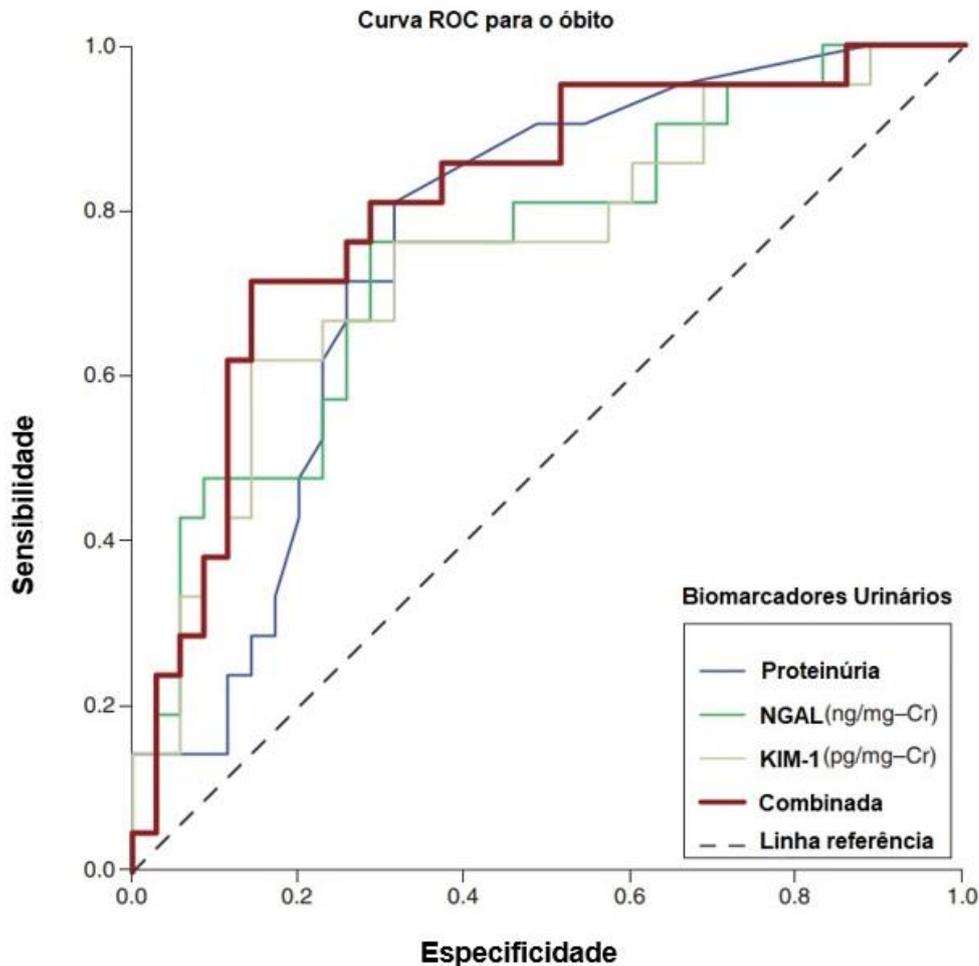
**Tabela 4.** Valores preditivos para o óbito de biomarcadores séricos e urinários selecionados dos participantes com COVID-19 quantificados na admissão na UTI

<b>Parâmetros</b>	<b>Corte</b>	<b>Sensibilidade (%)</b>	<b>Especificidade (%)</b>	<b>AUC-ROC (IC 95%)</b>	<b>p</b>
Ureia (mg/dl)	52	68	67	0,659 (0,512–0,807)	0,043*
Creatinina (mg/dl)	0,85	77	67	0,713 (0,570–0,856)	0,007*
Proteinúria/creatinina	0,90	77	67	0,728 (0,593–0,862)	0,004*
NGAL (ng/mg-Cr)	118	76	71	0,750 (0,616–0,883)	0,002*
KIM-1 (ng/mg-Cr)	1,81	77	70	0,749 (0,616–0,881)	0,002*
Combinada (ng/mg-Cr)	379	71	86	0,810 (0,691–0,928)	<0,001*

**Legenda:** AUC–ROC: Área sob a curva ROC. Análise combinada (NGAL\*KIM-1\*proteinúria)

**Fonte:** Dados da pesquisa

**Figura 6.** Análise da curva ROC para o óbito dos biomarcadores urinários nos participantes com COVID-19 admitidos na UTI



**Legenda:** Proteinúria: curva azul; NGAL: curva verde; KIM-1: curva cinza; Análise combinada: curva vermelha.

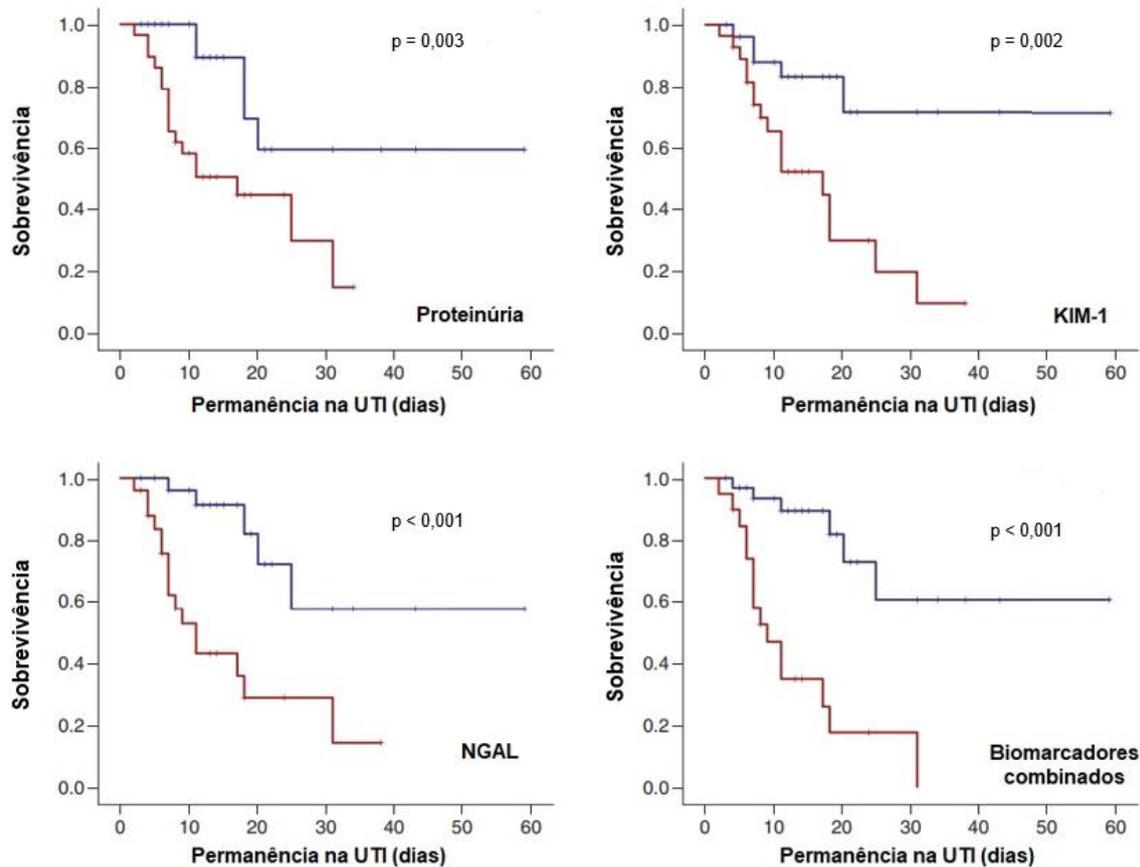
**Fonte:** Figura do autor.

#### 4.4 O USO DE BIOMARCADORES URINÁRIOS PARA A CHANCE DE SOBREVIVÊNCIA DE 2 MESES

Foram feitas análises de sobrevivência e modelos de regressão de riscos proporcionais de Cox com os biomarcadores urinários com o intuito de estimar a chance de sobrevivência em 2 meses nos participantes com COVID-19 internados na UTI, estes foram separados em dois grupos de acordo com os valores de corte encontrados para cada biomarcador. Os grupos foram chamados de “menor que” e “maior que” o valor de corte.

Usando o teste estatístico de log-rank foi observado que os participantes que possuíam valores acima dos pontos de corte para todos os biomarcadores urinários evoluíram para o óbito mais rápido (Figura 7).

**Figura 7.** Análise da sobrevivência em 2 meses usando valores de corte previamente determinados dos biomarcadores urinários



**Legenda:** Curva vermelha: participantes com COVID-19 com níveis urinários acima do ponto de corte. Curva azul: participantes com COVID-19 com níveis urinários inferiores aos pontos de corte.

**Fonte:** Figura do autor.

Por meio do modelo univariado da análise de regressão de cox, percebeu-se que o aumento da idade, escore SAPS3, a razão proteinúria/creatinina ( $>0,90$ ), KIM-1 urinário ( $>1,8$  ng/mg-Cr) e NGAL urinária ( $>118,8$  ng/mg-Cr) foram os parâmetros que se associaram a uma menor chance de sobrevivência em 2 meses; porém na análise multivariada, após os ajustes por idade, sexo, SAPS3, LDH (U/l), necessidade de diálise, comorbidades, uso de vasopressores, pontos de corte para proteinúria, KIM-1 e NGAL, apenas a NGAL urinária, apresentando hazard ratio = 5,666 (IC 95%: 1,761–18,227),  $p = 0,004$  e a diálise, apresentando hazard ratio = 3,380 (IC 95%: 1.156–9.885),  $p = 0,026$  mantiveram a significância (Tabela 5).

**Tabela 5.** Modelos de regressão de riscos proporcionais de Cox usando biomarcadores urinários para chance de sobrevivência em 2 meses

Parâmetros	Morte		p
	hazard ratio	IC 95%	
<b>Análise Univariada</b>			
Idade (a cada 10 anos)	1,521	1,076–2,150	0,018*
SAPS3 (a cada 30 pontos)	2,422	1,131–5,183	0,023*
Diálise	2,021	0,859–4,756	0,107
Uso de Vasopressores	2,033	0,743–5,563	0,167
Proteinúria/creatinina (>0.90)	3,962	1,441–10,698	0,007*
KIM-1 (>1,8 ng/mg-Cr)	4,252	1,563–11,565	0,005*
NGAL (>118,8 ng/mg-Cr)	5,363	1,954–14,718	0,001*
<b>Análise multivariada<sup>+</sup></b>			
Sexo (masculino)	3,341	0,887–12,579	0,075
Diálise	3,380	1,156–9,885	0,026*
NGAL (>118,8 ng/mg-Cr)	5,666	1,761–18,227	0,004*

**Legenda:** <sup>+</sup>Modelo ajustado por idade, sexo, SAPS3, LDH, diálise, comorbidades, uso de vasopressores, pontos de corte de proteinúria, KIM-1 urinário, e NGAL urinária.

**Fonte:** Dados da pesquisa.

# DISCUSSÃO

## 5. DISCUSSÃO

A injúria renal aguda é uma complicação comum em pacientes hospitalizados com COVID-19 e pode variar desde a presença de proteinúria isolada e/ou hematúria até insuficiência renal que requer terapia substitutiva (FAROUK et al., 2020). Diferentes são os mecanismos que podem levar ao dano renal após a infecção, como as respostas inflamatórias e do sistema imune exacerbadas, lesão endotelial, ativação da cascata de coagulação, interrupção do sistema renina-angiotensina e o crosstalk patológico entre pulmão e rim (LEGRAND et al., 2021). Além disso, de acordo com o banco de dados genéticos do Centro Nacional de informação biotecnológica (NCBI), a ACE-2 é expressa quase 100 vezes mais no rim do que em órgãos respiratórios, sendo a sua principal fonte de expressão a borda em escova das células tubulares proximais, seguida dos podócitos (TEMIZ et al., 2022). Essa maior expressão de ACE-2 no rim pode explicar o tropismo do vírus pelo rim levando a uma injúria renal direta.

Dessa forma, juntamente com o pulmão, o rim é um órgão muito vulnerável nos pacientes graves com COVID-19, e as disfunções renais contribuem fortemente para as altas taxas de óbito (YANG, C. et al., 2021). Por este motivo, neste trabalho foi quantificado e analisado biomarcadores urinários com o intuito de identificar precocemente as possíveis alterações glomerulares e tubulares nos participantes com COVID-19 internados na UTI, a fim de avaliar as capacidades preditoras dos mesmos e correlacioná-los ao óbito.

No presente estudo foi observado que o avanço da idade se correlacionou diretamente com o óbito, porém não foram encontradas correlações entre a diferença de gênero e a presença de comorbidades com a mortalidade, resultado semelhante foi encontrado em outro trabalho (ABERS et al., 2021). Além disso, no presente estudo, foi observado que os participantes com uma maior necessidade de oxigênio suplementar, principalmente através de ventilação mecânica, em uso de medicamentos vasoativos e que dialisavam possuíam maiores chances de ter uma falência sistêmica, como observado em outros trabalhos (ABERS et al., 2021; GRASSELLI; ZANGRILLO et al., 2020; RICHARDSON et al., 2020).

Devido ao complexo crosstalk patológico entre pulmão e rim, a necessidade de suporte ventilatório mecânico com alta pressão positiva expiratória final potencializa o risco de desenvolver IRA e aumenta consequentemente a chance do óbito nos pacientes graves com COVID-19 (OTTOLINA et al., 2022).

No presente estudo foi observada a presença de injúria tubular nos participantes com COVID-19, e uma forte correlação desta injúria com a mortalidade, visto que os valores de marcadores como proteinúria, NGAL e KIM-1 estavam elevados nos participantes com os piores prognósticos e que evoluíram para o desfecho óbito mais rapidamente.

Apesar da proteinúria ser mais utilizada como marcador de progressão da DRC, e também ser um fator de risco para problemas cardiovasculares e óbito na população geral (GORRIZ; MARTINEZ-CASTELAO, 2012); no presente estudo, a proteinúria se correlacionou com o óbito nos participantes sem DRC, principalmente quando analisada de forma combinada com os marcadores tubulares KIM-1 e NGAL.

Outro estudo de forma semelhante, também correlacionou a proteinúria com a mortalidade (HUART et al., 2021). A proteinúria tem sido encontrada na IRA associada à COVID-19 (IRA-CoV), apesar desta ser amplamente descrita como uma forma de lesão tubular aguda. Quando a proteinúria está presente, mesmo sem a IRA, ela pode denotar um insulto subclínico (MOHAMED; VELEZ, 2021).

A hipoxemia causada pela COVID-19 pode acarretar uma disfunção renal, aumentando a resistência vascular e contribuindo para a diminuição da perfusão renal com por conseguinte injúria tubular aguda (DARMON et al., 2011; FOGAGNOLO et al., 2022). Diversos estudos científicos apoiam a ideia de que a lesão nos tubular é a lesão primária que conduz a IRA-CoV (AKILESH et al., 2021; CHENG et al., 2020), da mesma forma como ocorre em outras doenças infecciosas, que também cursam com síndrome da resposta inflamatória sistêmica, disfunção endotelial e choque, sendo precedida por uma descompensação hemodinâmica que pode ser gradual ou súbita, ou com descompensação respiratória e síndrome do desconforto respiratório agudo, levando a um quadro clínico que sugere uma lesão isquêmica tubular aguda (GOYAL et al., 2020; GUAN, W. et al., 2020; HIRSCH et al., 2020; MOHAMED et al., 2020; SHARMA, P. et al., 2020; ZARBOCK; GOMEZ; KELLUM, 2014).

Além disso, nos pacientes com COVID-19 também tem sido identificado como fatores de risco para a IRA, além da ventilação mecânica com pressão positiva, a rabdomiólise e a exposição a antibióticos nefrotóxicos que são prescritos em casos mais graves. Assim, o insulto predominante na IRA-CoV pode ser a lesão tubular aguda tóxica ou coexistir com um insulto tubular agudo isquêmico (AKKER, VAN DEN; EGAL; GROENEVELD, 2013; MOHAMED et al., 2020; MOHAMED; VELEZ, 2021; SHARMA, P. et al., 2020).

As proteínas de baixo peso molecular e proteínas com peso molecular intermediário, como a albumina, atravessam a barreira no glomérulo e são reabsorvidas através das células epiteliais tubulares proximais em condições fisiológicas. Durante a infecção pela COVID-19, os dois possíveis mecanismos que explicam a proteinúria são uma ruptura da parede capilar glomerular, ocasionando uma nefropatia associada a COVID-19, ou um problema na reabsorção tubular durante a injúria tubular aguda (D'AMICO; BAZZI, 2003; MOHAMED; VELEZ, 2021; NGUYEN; MAYNARD; KIMMEL, 2009; RUSSO et al., 2007).

Em outro estudo, onde a proteinúria foi quantificada em pacientes hospitalizados com COVID-19, revelou que essa proteinúria era provavelmente de origem tubular, embora não fossem explicados os mecanismos exatos, devido às limitações do próprio estudo; mas acreditava-se que poderia ser pela necrose tubular aguda ou devido a uma baixa oferta de oxigênio aos tecidos por lesões

citopáticas causadas pelo SARS-CoV-2 (ALEEBRAHIM-DEHKORDI et al., 2020;HUART et al., 2021).

KIM-1 é um marcador urinário expresso primariamente no rim e tem sua concentração aumentada no túbulo proximal após a lesão(ICHIMURA et al., 1998). Possui papel crucial na inflamação e na resposta imune(RONG et al., 2011). Estudos prévios mostram seu benefício quando comparado com a creatinina sérica na detecção precoce da IRA(ANDREUCCI et al., 2017;MORESCO et al., 2018). Além disso, recentemente foi visto que o KIM-1 também é expresso em células epiteliais pulmonares, assim como em células epiteliais renais, sendo um potencial receptor para SARS-CoV-2(YANG, C. et al., 2021).

Nesse trabalho, os valores de KIM-1 estavam aumentados no grupo que evoluiu para óbito, além disso o KIM-1 apresentou uma boa capacidade preditora para esse desfecho de acordo com a curva ROC. Na análise de sobrevivência feita por modelo de regressão, o KIM-1 se associou a uma diminuição da chance de sobrevivência em 2 meses apenas no modelo univariado.

Em outro estudo semelhante feito com os marcadores KIM-1 e o NAG (N-acetil-beta-glucosaminidase), o KIM-1 também se mostrou significativamente elevado na admissão hospitalar nos pacientes com COVID-19, além disso ele também apresentou bons valores preditivos tanto para o surgimento da IRA durante a hospitalização, como para a admissão futura na UTI dos pacientes que agravaram. Por fim, ainda foram encontrados valores maiores de KIM-1 nos pacientes que atingiram o desfecho “composto” que era composto por presença de injúria renal aguda, admissão na UTI (gravidade) e óbito(VOGEL et al., 2021).

Em outro trabalho feito com biomarcadores de dano renal agudo na predição de morte por COVID-19, a razão de KIM-1/creatinina urinária elevada, a proteinúria e a idade superior a 65 anos foram associados a mortalidade no modelo univariado, e na análise multivariada após os ajustes pela idade, comorbidades e sexo, apenas o parâmetro KIM-1/creatinina urinária continuou associado a mortalidade, mostrando sua boa capacidade preditora(TEMIZ et al., 2022).

Em um estudo realizado com análise sérica do KIM-1, os seus níveis foram significativamente maiores nos pacientes com COVID-19 do que no grupo controle, além disso os níveis de KIM-1 aumentam com a gravidade da doença(KERGET et al., 2021). Esse resultado pode estar relacionado com um possível papel do KIM-1 na endocitose do SARS-CoV, visto que alguns estudos mostram que o KIM-1 pode estar mais relacionado ao dano renal que ocorre na COVID-19 do que os receptores ACE. Além disso, o domínio de IgV da molécula KIM-1 é um potencial receptor de ligação ao vírus. Essas descobertas com o KIM-1 podem contribuir para que futuramente ele se torne um alvo terapêutico(KERGET et al., 2021;LUTHER et al., 2021;RABAAN et al., 2020;YANG, C. et al., 2021).

A NGAL, marcador amplamente estudado em diferentes contextos, é expressa em baixos níveis em tecidos humanos normais, porém em resposta a injúria renal, rapidamente é liberada pelas células tubulares, sendo considerada um biomarcador sensível e específico para a detecção precoce da IRA (DEVARAJAN, 2008;HAASE

et al., 2009; KUWABARA et al., 2009; MISHRA et al., 2003). Além disso, a NGAL é uma proteína de fase aguda, dessa forma seus níveis aumentam em muitas situações como, infecção, inflamação e isquemia (MOSCHEN et al., 2017).

O presente estudo mostrou através da curva ROC que altos níveis da NGAL urinária são capazes de prever o óbito, mesmo após ajustes para parâmetros bem estabelecidos que se correlacionam com óbito, sendo o único biomarcador que se manteve significativo no modelo de regressão multivariado da análise da chance de sobrevivência em 2 meses.

Essa capacidade preditora da NGAL para vários desfechos vem sendo estudada em diferentes patologias, não só na COVID-19. Em um estudo pediátrico, a NGAL urinária se mostrou eficiente na predição de mortalidade em pacientes com IRA de etiologia heterogênea (WESTHOFF et al., 2017).

Em um trabalho prévio, realizado utilizando inteligência artificial, NGAL urinária e tomografia computadorizada (TC) de tórax, foi validado um método prognóstico para o desenvolvimento de IRA e óbito nos pacientes hospitalizados com COVID-19, sendo encontrado bons resultados preditores da NGAL urinária para ambos os desfechos (HE et al., 2021).

Outro estudo de forma semelhante, analisou o uso de diferentes biomarcadores urinários, dentre eles NGAL, MCP-1 e KIM-1 no prognóstico de pacientes internados com COVID-19; e estes permaneceram significativamente associados a um maior risco do desfecho primário, que era a chance de desenvolver IRA no estágio 3, início de uma nova diálise ou morte dentro de 60 dias da admissão hospitalar (MENEZ et al., 2022).

Um estudo transversal pediátrico usando NGAL e KIM-1 urinários, para a identificação de IRA e IRA subclínica precoce em crianças hospitalizadas com COVID-19, mostrou um aumento desses biomarcadores em relação a controles saudáveis. O mesmo estudo mostrou que um número significativo de crianças adquiriu IRA subclínica pela COVID-19, inferindo dessa forma, que o uso desses biomarcadores, juntamente com os marcadores tradicionais, ajudam na detecção precoce da IRA e contribuem para um prognóstico melhor em pacientes pediátricos com COVID-19 (SAYGILI et al., 2023).

Em outro estudo, onde foram analisados biomarcadores séricos nos pacientes com COVID-19, os níveis da NGAL estavam aumentados nos pacientes com IRA grave e que precisavam de TRS, apresentando um desempenho aceitável para prever esses desfechos, porém a dosagem sérica não apresentou bom desempenho para prever a necessidade de admissão na UTI (PODE SHAKKED et al., 2022).

Em outro trabalho, realizado com os níveis sanguíneos de várias proteínas relacionadas à função imune, dentre elas a NGAL, com o intuito de compreender a resposta inflamatória nos pacientes hospitalizados com COVID-19, foi observado que a NGAL mostrou correlação com o risco de morte, juntamente com outras moléculas derivadas de neutrófilos, além disso, os níveis de NGAL aumentaram à medida que a gravidade COVID-19 aumentou, mostrando assim a importância dos

neutrófilos tanto na fisiopatologia COVID-19 como na sua progressão(ABERS et al., 2021).

Já em um estudo realizado por meio de análise histopatológica renal em pacientes com COVID-19 que foram a óbito, a presença de trombos nos capilares peritubulares renais em quase todos os pacientes, foi uma dos achados mais marcantes; além disso, em todas as biópsias dos pacientes com COVID-19, foi encontrada necrose tubular aguda distribuída extensamente por todo o tecido. Porém, neste mesmo trabalho foram investigados os níveis de mRNA de genes envolvidos em vários processos celulares associados à insuficiência renal, e não foram encontradas alterações nos níveis renais de mRNA de NGAL e KIM-1; uma explicação para isso poderia ser o momento que foi realizada a biópsia, visto que os níveis de mRNA de IL-6, TNF $\alpha$  estavam semelhantes aos do controle também. Como a NGAL é estimulada pela inflamação, os baixos níveis poderiam ser explicados por uma falta de inflamação renal (VOLBEDA et al., 2021).

Diante dos resultados encontrados no presente estudo juntamente com os achados na literatura através de outros trabalhos, percebe-se uma boa capacidade preditora principalmente da NGAL para óbito, e bons resultados com o KIM-1, mostrando que são biomarcadores que podem ser úteis na prática clínica, auxiliando no manejo dos pacientes com COVID-19, separando os grupos de risco e prevenindo assim complicações. Por outro lado, os marcadores urinários Nefrina e MCP-1, relacionados a disfunção glomerular, não se associaram ao óbito no presente estudo.

A MCP-1 é essencial nos processos inflamatórios atraindo outras células e fatores inflamatórios. No rim, é produzida principalmente por células epiteliais tubulares e está envolvida no desenvolvimento de inflamação intersticial e fibrose(MORIL et al., 2009;NTRINIAS et al., 2019). A sua excreção urinária foi estudada como potencial preditora de grau de fibrose renal em pacientes com nefropatia por IgA(SEGARRA-MEDRANO et al., 2017). Além disso, também foi estudada em outras condições, como nas glomerulonefrites primárias, na nefropatia diabética, na síndrome nefrótica paraneoplásica causada por câncer de pulmão e na nefrite lúpica (DANTAS et al., 2007;GUIMARÃES et al., 2022;HUNG et al., 2020).

Em um estudo feito em pacientes com COVID-19, no intuito de analisar o perfil imunológico através de vários marcadores urinários, inclusive MCP-1, resultados semelhantes foram encontrados. Os níveis urinários de MCP-1 não foram preditores para o óbito, nem para o desenvolvimento de IRA, além disso, houve uma diminuição em seus níveis nos pacientes admitidos na UTI. Entretanto, nesse mesmo estudo, os pacientes que apresentaram IRA e se recuperaram tiveram maiores níveis MCP-1 urinário em relação aos que não se recuperaram e evoluíram para óbito (LAUDANSKI et al., 2021).

A MCP-1 apresenta um baixo peso molecular, sendo assim livremente filtrada pelo glomérulo, a elevação precoce de seus níveis na urina pode ser devido ao aumento da concentração sérica(MUSIAŁ; ZWOLIŃSKA, 2020). Na COVID-19 já foi descrito aumento nos níveis séricos de MCP-1 durante a tempestade de citocinas, juntamente com outros mediadores inflamatórios(SINGH; ANSHITA;

RAVICHANDIRAN, 2021). Em outros estudos, foi visto que os níveis de MCP-1 séricos aumentam de acordo com a gravidade da doença, estando relacionados inclusive com a mortalidade(CHEN, Y. et al., 2020), e que o desenvolvimento de IRA se correlaciona com o aumento dos níveis de MCP-1 e outras citocinas inflamatórias, como IL-1ra, IL-6, IL-8, IL-17a e IP-10(BÜLOW ANDERBERG et al., 2021). Além disso, em um estudo realizado com pacientes afro-americanos, os valores séricos de MCP-1 estavam elevados nos pacientes que precisaram de UTI e foram associados com risco de mortalidade hospitalar(FONSECA et al., 2021).

A nefrina, proteína de adesão presente na junção intercelular dos podócitos, está ligada a progressão da doença renal. Estudos mostram que a diminuição da expressão desta antecede a perda dos podócitos tornando-os mais suscetíveis e impossibilitados de se recuperar após a lesão no glomérulo(VERMA et al., 2018). O dano glomerular na COVID-19 é incomum, tendo sido descrito previamente em pacientes negros, mas associado a variantes APOL1 de alto risco, onde nesses pacientes não houve infecção viral direta nos rins, sendo a possível causa da nefropatia a predisposição genética e resposta do hospedeiro mediada por citocinas à infecção por SARS-CoV-2(WU, H. et al., 2020).

Como no presente estudo não houve diferenças significativas nos níveis urinários de nefrina e MCP-1 entre os participantes que evoluíram para óbito, e os que sobreviveram, acredita-se que a função glomerular destes não foi prejudicada pelo SARS-CoV-2. Assim, este estudo apoia a hipótese de que o dano tubular renal é evidente e apenas ele está associado a morte, em vez de lesão glomerular.

A limitação desse trabalho é o pequeno número de participantes em um estudo unicêntrico, além do fato de ser apenas uma coleta de urina no momento da admissão hospitalar não permitindo assim analisar as mudanças nos níveis dos biomarcadores. O tamanho amostral foi comprometido com a exclusão de pacientes graves que internaram na UTI por outras causas além da COVID-19, visto que essas outras causas poderiam influenciar no desfecho contribuindo para o óbito. Além disso, nos prontuários faltavam alguns dados clínicos importantes, como comorbidades prévias e uso de medicamentos nefrotóxicos, informações valiosas que poderiam contribuir para melhorar o trabalho. Essas limitações não invalidam os resultados encontrados, porém reforça a importância de mais estudos nessa linha de pesquisa.

Assim, outras pesquisas nesse contexto com biomarcadores urinários e um maior número de participantes são importantes para avaliar a capacidade preditora destes, a fim de se obter um melhor manejo clínico e diminuir as taxas de óbito.

# CONCLUSÃO

## 6. CONCLUSÃO

- Nos participantes graves com COVID-19, os níveis de biomarcadores tubulares, KIM-1 e NGAL urinários, estavam mais elevados nos pacientes que tiveram o desfecho óbito, além disso, a NGAL foi preditora independente para este desfecho.
- Na infecção pelo SARS-CoV-2 o rim é acometido, principalmente as células tubulares renais.
- De acordo com os biomarcadores Nefrina e MCP-1, não houve um dano expressivo à estrutura glomerular em pacientes graves com COVID-19.

## 7. REFERENCIAS:

- ABDALLAH, E. et al. **Incidence and Outcomes of Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients with Coronavirus Disease 2019.** *Saudi journal of kidney diseases and transplantation : an official publication of the Saudi Center for Organ Transplantation, Saudi Arabia*, [s.l.], v. 32, n° 1, p. 84–91, 2021. ISSN: 1319-2442, DOI: 10.4103/1319-2442.318551.
- ABERS, M. S. et al. **An immune-based biomarker signature is associated with mortality in COVID-19 patients.** *JCI Insight*, [s.l.], v. 6, n° 1, 2021. ISSN: 23793708, DOI: 10.1172/JCI.INSIGHT.144455.
- ACKERMANN, M. et al. **Pulmonary Vascular Endothelialitis, Thrombosis, and Angiogenesis in Covid-19.** *The New England journal of medicine*, [s.l.], v. 383, n° 2, p. 120–128, 2020. ISSN: 1533-4406, DOI: 10.1056/NEJMOA2015432.
- AKILESH, S. et al. **Multicenter Clinicopathologic Correlation of Kidney Biopsies Performed in COVID-19 Patients Presenting With Acute Kidney Injury or Proteinuria.** *American Journal of Kidney Diseases*, [s.l.], v. 77, n° 1, p. 82, 2021. ISSN: 15236838, DOI: 10.1053/J.AJKD.2020.10.001.
- AKKER, J. P. C. VAN DEN; EGAL, M.; GROENEVELD, J. A. B. **Invasive mechanical ventilation as a risk factor for acute kidney injury in the critically ill: a systematic review and meta-analysis.** *Critical Care*, [s.l.], v. 17, n° 3, p. R98, 2013. ISSN: 13648535, DOI: 10.1186/CC12743.
- ALBITAR, O. et al. **Risk factors for mortality among COVID-19 patients.** *Diabetes Research and Clinical Practice*, [s.l.], v. 166, 2020. ISSN: 18728227, DOI: 10.1016/j.diabres.2020.108293.
- ALEEBRAHIM-DEHKORDI, E. et al. **Acute kidney injury in COVID-19; A review on current knowledge.** *Journal of Nephropathology*, [s.l.], v. 9, n° 4, 2020. ISSN: 22518819, DOI: 10.34172/JNP.2020.31.
- ANDREUCCI, M. et al. **The ischemic/nephrotoxic acute kidney injury and the use of renal biomarkers in clinical practice.** *European journal of internal medicine*, [s.l.], v. 39, p. 1–8, 2017. ISSN: 1879-0828, DOI: 10.1016/J.EJIM.2016.12.001.
- ANDRIANOVA, N. V. et al. **Kidney Cells Regeneration: Dedifferentiation of Tubular Epithelium, Resident Stem Cells and Possible Niches for Renal Progenitors.** *International journal of molecular sciences*, [s.l.], v. 20, n° 24, 2019. ISSN: 1422-0067, DOI: 10.3390/IJMS20246326.
- ATHER, A. et al. **Coronavirus Disease 19 (COVID-19): Implications for Clinical Dental Care.** *Journal of endodontics*, [s.l.], v. 46, n° 5, p. 584–595, 2020. ISSN: 1878-3554, DOI: 10.1016/J.JOEN.2020.03.008.
- BAILLY, V. et al. **Shedding of Kidney Injury Molecule-1, a Putative Adhesion Protein Involved in Renal Regeneration.** *Journal of Biological Chemistry*, [s.l.], v. 277, n° 42, p. 39739–39748, 2002. ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.M200562200.
- BENTO, G. A. O. et al. **Reduction of estimated glomerular filtration rate after COVID-19-associated acute kidney injury.** *Jornal brasileiro de nefrologia*, [s.l.], 2023. ISSN: 2175-8239, DOI: 10.1590/2175-8239-JBN-2022-0179EN.

- BIKDELI, B. et al. **Pharmacological Agents Targeting Thromboinflammation in COVID-19: Review and Implications for Future Research.** *Thrombosis and haemostasis*, [s.l.], v. 120, n° 7, p. 1004–1024, 2020. ISSN: 2567-689X, DOI: 10.1055/S-0040-1713152.
- BONVENTRE, J. V.; YANG, L. **Kidney injury molecule-1.** *Current opinion in critical care*, [s.l.], v. 16, n° 6, p. 556–561, 2010. ISSN: 1531-7072, DOI: 10.1097/MCC.0B013E32834008D3.
- BÜLOW ANDERBERG, S. et al. **Increased levels of plasma cytokines and correlations to organ failure and 30-day mortality in critically ill Covid-19 patients.** *Cytokine*, [s.l.], v. 138, 2021. ISSN: 1096-0023, DOI: 10.1016/J.CYTO.2020.155389.
- CAI, J. et al. **Indirect Virus Transmission in Cluster of COVID-19 Cases, Wenzhou, China, 2020.** *Emerging infectious diseases*, [s.l.], v. 26, n° 6, p. 1343–1345, 2020. ISSN: 1080-6059, DOI: 10.3201/EID2606.200412.
- CAO, W.; LI, T. **COVID-19: towards understanding of pathogenesis.** *Cell research*, [s.l.], v. 30, n° 5, p. 367–369, 2020. ISSN: 1748-7838, DOI: 10.1038/S41422-020-0327-4.
- CHEN, J. et al. **Urinary Nephrin as a Biomarker of Glomerular Maturation and Injury Is Associated with Acute Kidney Injury and Mortality in Critically Ill Neonates.** *Neonatology*, [s.l.], v. 116, n° 1, p. 58–66, 2019. ISSN: 1661-7819, DOI: 10.1159/000499083.
- CHEN, L. et al. **COVID-19 Disease With Positive Fecal and Negative Pharyngeal and Sputum Viral Tests.** *The American Journal of Gastroenterology*, [s.l.], v. 115, n° 5, p. 790–790, 2020. ISSN: 0002-9270, DOI: 10.14309/AJG.0000000000000610.
- CHEN, Y. et al. **IP-10 and MCP-1 as biomarkers associated with disease severity of COVID-19.** *Molecular medicine (Cambridge, Mass.)*, [s.l.], v. 26, n° 1, 2020. ISSN: 1528-3658, DOI: 10.1186/S10020-020-00230-X.
- CHENG, Y. et al. **Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19.** *Kidney International*, [s.l.], v. 97, n° 5, p. 829, 2020. ISSN: 15231755, DOI: 10.1016/J.KINT.2020.03.005.
- CHIUSOLO, A. et al. **Kidney injury molecule-1 expression in rat proximal tubule after treatment with segment-specific nephrotoxics: a tool for early screening of potential kidney toxicity.** *Toxicologic pathology*, [s.l.], v. 38, n° 3, p. 338–345, 2010. ISSN: 1533-1601, DOI: 10.1177/0192623310362244.
- CHOW, F. Y. et al. **Monocyte chemoattractant protein-1 promotes the development of diabetic renal injury in streptozotocin-treated mice.** *Kidney International*, [s.l.], v. 69, n° 1, p. 73–80, 2006. ISSN: 0085-2538, DOI: 10.1038/SJ.KI.5000014.
- CONNORS, J. M.; LEVY, J. H. **COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation.** *Blood*, [s.l.], v. 135, n° 23, p. 2033–2040, 2020. ISSN: 0006-4971, DOI: 10.1182/BLOOD.2020006000.
- CUCINOTTA, D.; VANELLI, M. **WHO Declares COVID-19 a Pandemic.** *Acta Bio Medica : Atenei Parmensis*, [s.l.], v. 91, n° 1, p. 157, 2020. ISSN: 25316745, DOI:

10.23750/ABM.V9111.9397.

CUMMINGS, M. J. et al. **Epidemiology, clinical course, and outcomes of critically ill adults with COVID-19 in New York City: a prospective cohort study.** *Lancet (London, England)*, [s.l.], v. 395, n° 10239, p. 1763–1770, 2020. ISSN: 1474-547X, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)31189-2.

D'AMICO, G.; BAZZI, C. **Pathophysiology of proteinuria.** *Kidney international*, [s.l.], v. 63, n° 3, p. 809–825, 2003. ISSN: 0085-2538, DOI: 10.1046/J.1523-1755.2003.00840.X.

DANTAS, M. et al. **Urinary excretion of monocyte chemoattractant protein-1: a biomarker of active tubulointerstitial damage in patients with glomerulopathies.** *Kidney & blood pressure research*, [s.l.], v. 30, n° 5, p. 306–313, 2007. ISSN: 1423-0143, DOI: 10.1159/000107806.

DARMON, M. et al. **Diagnostic accuracy of Doppler renal resistive index for reversibility of acute kidney injury in critically ill patients.** *Intensive care medicine*, [s.l.], v. 37, n° 1, p. 68–76, 2011. ISSN: 1432-1238, DOI: 10.1007/S00134-010-2050-Y.

DESHMANE, S. L. et al. **Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1): an overview.** *Journal of interferon & cytokine research : the official journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research*, [s.l.], v. 29, n° 6, p. 313–325, 2009. ISSN: 1557-7465, DOI: 10.1089/JIR.2008.0027.

DEVARAJAN, P. **Neutrophil gelatinase-associated lipocalin—an emerging troponin for kidney injury.** *Nephrology Dialysis Transplantation*, [s.l.], v. 23, n° 12, p. 3737, 2008. ISSN: 09310509, DOI: 10.1093/NDT/GFN531.

DIAO, B. et al. **Human kidney is a target for novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 infection.** *Nature communications*, [s.l.], v. 12, n° 1, 2021. ISSN: 2041-1723, DOI: 10.1038/S41467-021-22781-1.

DOCEA, A. O. et al. **A new threat from an old enemy: Re-emergence of coronavirus (Review).** *International journal of molecular medicine*, [s.l.], v. 45, n° 6, p. 1631–1643, 2020. ISSN: 1791-244X, DOI: 10.3892/IJMM.2020.4555.

DONG KIM, K. et al. **Adaptive immune cells temper initial innate responses.** *Nature medicine*, [s.l.], v. 13, n° 10, p. 1248–1252, 2007. ISSN: 1078-8956, DOI: 10.1038/NM1633.

DOREMALEN, N. VAN et al. **Aerosol and Surface Stability of SARS-CoV-2 as Compared with SARS-CoV-1.** *The New England journal of medicine*, [s.l.], v. 382, n° 16, p. 1564–1567, 2020. ISSN: 1533-4406, DOI: 10.1056/NEJMC2004973.

DUFFY, S. **Why are RNA virus mutation rates so damn high?** *PLOS Biology*, [s.l.], v. 16, n° 8, p. e3000003, 2018. ISBN: 1111111111, ISSN: 1545-7885, DOI: 10.1371/JOURNAL.PBIO.3000003.

ELENA, S. F.; SANJUÁN, R. **Adaptive value of high mutation rates of RNA viruses: separating causes from consequences.** *Journal of virology*, [s.l.], v. 79, n° 18, p. 11555–11558, 2005. ISSN: 0022-538X, DOI: 10.1128/JVI.79.18.11555-11558.2005.

ENGELMANN, B.; MASSBERG, S. **Thrombosis as an intravascular effector of**

**innate immunity.** *Nature reviews. Immunology*, [s.l.], v. 13, n° 1, p. 34–45, 2013. ISSN: 1474-1741, DOI: 10.1038/NRI3345.

FANI, F. et al. **Recent advances in the pathogenetic mechanisms of sepsis-associated acute kidney injury.** *Journal of nephrology*, [s.l.], v. 31, n° 3, p. 351–359, 2018. ISSN: 1724-6059, DOI: 10.1007/S40620-017-0452-4.

FAROUK, S. S. et al. **COVID-19 and the kidney: what we think we know so far and what we don't.** *Journal of Nephrology*, [s.l.], v. 33, n° 6, p. 1213, 2020. ISSN: 17246059, DOI: 10.1007/S40620-020-00789-Y.

FIORENTINO, M. et al. **Acute Kidney Injury to Chronic Kidney Disease Transition.** *Contributions to nephrology*, [s.l.], v. 193, p. 45–54, 2018. ISSN: 1662-2782, DOI: 10.1159/000484962.

FLOWER, D. R. **The lipocalin protein family: structure and function.** *The Biochemical journal*, [s.l.], v. 318 ( Pt 1), n° Pt 1, p. 1–14, 1996. ISSN: 0264-6021, DOI: 10.1042/BJ3180001.

FOGAGNOLO, A. et al. **Focus on renal blood flow in mechanically ventilated patients with SARS-CoV-2: a prospective pilot study.** *Journal of clinical monitoring and computing*, [s.l.], v. 36, n° 1, p. 161–167, 2022. ISSN: 1573-2614, DOI: 10.1007/S10877-020-00633-5.

FONSECA, W. et al. **COVID-19 Modulates Inflammatory and Renal Markers That May Predict Hospital Outcomes among African American Males.** *Viruses*, [s.l.], v. 13, n° 12, 2021. ISSN: 1999-4915, DOI: 10.3390/V13122415.

GARG, P. **A Review of Podocyte Biology.** *American journal of nephrology*, [s.l.], v. 47 Suppl 1, p. 3–13, 2018. ISSN: 1421-9670, DOI: 10.1159/000481633.

GŁOWACKA, M. et al. **Acute Kidney Injury in COVID-19.** *International Journal of Molecular Sciences*, [s.l.], v. 22, n° 15, p. 8081, 2021. ISSN: 14220067, DOI: 10.3390/IJMS22158081.

GOBE, G. C. et al. **Biomarkers of drug-induced acute kidney injury in the adult.** *Expert opinion on drug metabolism & toxicology*, [s.l.], v. 11, n° 11, p. 1683–1694, 2015. ISSN: 1744-7607, DOI: 10.1517/17425255.2015.1083011.

GOYAL, P. et al. **Clinical Characteristics of Covid-19 in New York City.** *The New England Journal of Medicine*, [s.l.], v. 382, n° 24, p. 2372–2374, 2020. ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMC2010419.

GRAHAM CARLOS, W. et al. **Novel Wuhan (2019-nCoV) Coronavirus.** *American journal of respiratory and critical care medicine*, [s.l.], v. 201, n° 4, p. P7–P8, 2020. ISSN: 1535-4970, DOI: 10.1164/RCCM.2014P7.

GRALINSKI, L. E.; MENACHERY, V. D. **Return of the Coronavirus: 2019-nCoV.** *Viruses*, [s.l.], v. 12, n° 2, 2020. ISSN: 1999-4915, DOI: 10.3390/V12020135.

GRASSELLI, G.; ZANGRILLO, A. et al. **Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy.** *JAMA*, [s.l.], v. 323, n° 16, p. 1574–1581, 2020. ISSN: 1538-3598, DOI: 10.1001/JAMA.2020.5394.

GRASSELLI, G.; GRECO, M. et al. **Risk Factors Associated With Mortality**

**Among Patients With COVID-19 in Intensive Care Units in Lombardy, Italy Supplemental content.** *JAMA Intern Med*, [s.l.], v. 180, n° 10, p. 1345–1355, 2020. DOI: 10.1001/jamainternmed.2020.3539.

GUAN, N. et al. **Expression of nephrin, podocin, alpha-actinin, and WT1 in children with nephrotic syndrome.** *Pediatric nephrology (Berlin, Germany)*, [s.l.], v. 18, n° 11, p. 1122–1127, 2003. ISSN: 0931-041X, DOI: 10.1007/S00467-003-1240-Z.

GUAN, W. et al. **Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China.** *The New England Journal of Medicine*, [s.l.], v. 382, n° 18, p. 1708–1720, 2020. ISSN: 0028-4793, DOI: 10.1056/NEJMOA2002032.

GUIMARÃES, J. de A. R. et al. **Diagnostic test accuracy of novel biomarkers for lupus nephritis-An overview of systematic reviews.** *PloS one*, [s.l.], v. 17, n° 10, p. e0275016, 2022. ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0275016.

GUPTA, A. et al. **Extrapulmonary manifestations of COVID-19.** *Nature Medicine* 2020 26:7, [s.l.], v. 26, n° 7, p. 1017–1032, 2020. ISSN: 1546-170X, DOI: 10.1038/s41591-020-0968-3.

HAASE, M. et al. **Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis.** *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, [s.l.], v. 54, n° 6, p. 1012–1024, 2009. ISSN: 1523-6838, DOI: 10.1053/J.AJKD.2009.07.020.

HALLER, H. et al. **Monocyte chemoattractant protein-1 and the kidney.** *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*, [s.l.], v. 25, n° 1, p. 42–49, 2016. ISSN: 14736543, DOI: 10.1097/MNH.0000000000000186.

HAMMING, I. et al. **Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis.** *The Journal of pathology*, [s.l.], v. 203, n° 2, p. 631–637, 2004. ISSN: 0022-3417, DOI: 10.1002/PATH.1570.

HAN, X.; YE, Q. **Kidney involvement in COVID-19 and its treatments.** *Journal of Medical Virology*, [s.l.], v. 93, n° 3, p. 1387–1395, 2021. ISSN: 1096-9071, DOI: 10.1002/JMV.26653.

HE, L. et al. **Incorporation of Urinary Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin and Computed Tomography Quantification to Predict Acute Kidney Injury and In-Hospital Death in COVID-19 Patients.** *Kidney diseases (Basel, Switzerland)*, [s.l.], v. 7, n° 2, p. 120–130, 2021. ISSN: 2296-9381, DOI: 10.1159/000511403.

HIRSCH, J. S. et al. **Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19.** *Kidney International*, [s.l.], v. 98, n° 1, p. 209, 2020. ISSN: 15231755, DOI: 10.1016/J.KINT.2020.05.006.

HOEK, L. VAN DER et al. **Identification of a new human coronavirus.** *Nature medicine*, [s.l.], v. 10, n° 4, p. 368–373, 2004. ISSN: 1078-8956, DOI: 10.1038/NM1024.

HOFMANN, H.; PÖHLMANN, S. **Cellular entry of the SARS coronavirus.** *Trends in microbiology*, [s.l.], v. 12, n° 10, p. 466–472, 2004. ISSN: 0966-842X, DOI:

10.1016/J.TIM.2004.08.008.

HU, B.; HUANG, S.; YIN, L. **The cytokine storm and COVID-19.** *Journal of Medical Virology*, [s.l.], v. 93, n° 1, p. 250, 2021. ISSN: 10969071, DOI: 10.1002/JMV.26232.

HUANG, C. et al. **Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China.** *Lancet (London, England)*, [s.l.], v. 395, n° 10223, p. 497–506, 2020. ISSN: 1474-547X, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.

HUART, J. et al. **Proteinuria in COVID-19: prevalence, characterization and prognostic role.** *Journal of nephrology*, [s.l.], v. 34, n° 2, p. 355–364, 2021. ISSN: 1724-6059, DOI: 10.1007/S40620-020-00931-W.

HUBANK, M.; SCHATZ, D. G. **Identifying differences in mRNA expression by representational difference analysis of cDNA.** *Nucleic acids research*, [s.l.], v. 22, n° 25, p. 5640–5648, 1994. ISSN: 0305-1048, DOI: 10.1093/NAR/22.25.5640.

HUNG, C. C. et al. **Lung Cancer Cell-Derived Secretome Mediates Paraneoplastic Inflammation and Fibrosis in Kidney in Mice.** *Cancers*, [s.l.], v. 12, n° 12, p. E3561–E3561, 2020. ISSN: 2072-6694, DOI: 10.3390/CANCERS12123561.

HVIDBERG, V. et al. **The endocytic receptor megalin binds the iron transporting neutrophil-gelatinase-associated lipocalin with high affinity and mediates its cellular uptake.** *FEBS letters*, [s.l.], v. 579, n° 3, p. 773–777, 2005. ISSN: 0014-5793, DOI: 10.1016/J.FEBSLET.2004.12.031.

HWANG, S. S. et al. **Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation.** *Science (New York, N.Y.)*, [s.l.], v. 367, n° 6483, p. 1255–1260, 2020. ISSN: 1095-9203, DOI: 10.1126/SCIENCE.ABB2507.

ICHIMURA, T. et al. **Kidney injury molecule-1 (KIM-1), a putative epithelial cell adhesion molecule containing a novel immunoglobulin domain, is up-regulated in renal cells after injury.** *The Journal of biological chemistry*, [s.l.], v. 273, n° 7, p. 4135–4142, 1998. ISSN: 0021-9258, DOI: 10.1074/JBC.273.7.4135.

ISER, B. P. M. et al. **Suspected COVID-19 case definition: a narrative review of the most frequent signs and symptoms among confirmed cases.** *Epidemiologia e servicios de saude : revista do Sistema Unico de Saude do Brasil*, [s.l.], v. 29, n° 3, p. e2020233, 2020. ISSN: 2237-9622, DOI: 10.5123/S1679-49742020000300018.

JABERI, S. Al et al. **Lipocalin-2: Structure, function, distribution and role in metabolic disorders.** *Biomedicine & pharmacotherapy = Biomedecine & pharmacotherapie*, [s.l.], v. 142, 2021. ISSN: 1950-6007, DOI: 10.1016/J.BIOPHA.2021.112002.

JAIMES, J. A.; MILLET, J. K.; WHITTAKER, G. R. **Proteolytic Cleavage of the SARS-CoV-2 Spike Protein and the Role of the Novel S1/S2 Site.** *iScience*, [s.l.], v. 23, n° 6, 2020. ISSN: 2589-0042, DOI: 10.1016/J.ISCI.2020.101212.

JANA, S.; MITRA, P.; ROY, S. **Proficient Novel Biomarkers Guide Early Detection of Acute Kidney Injury: A Review.** *Diseases*, [s.l.], v. 11, n° 1, p. 8, 2023. DOI: 10.3390/DISEASES11010008.

JØNTVEDT JØRGENSEN, M. et al. **Increased interleukin-6 and macrophage chemoattractant protein-1 are associated with respiratory failure in COVID-19.**

*Scientific reports*, [s.l.], v. 10, n° 1, 2020. ISSN: 2045-2322, DOI: 10.1038/S41598-020-78710-7.

JUSHINSKIS, J. et al. **URINE NGAL AS A BIOMARKER FOR EVALUATION OF DECEASED KIDNEY DONORS**. *Transplant International*, [s.l.], v. 24, n° Supplement 2, p. 273–273, 2011. ISSN: 0934-0874, DOI: 10.1111/J.1432-2277.2011.01351.X.

KANDASAMY, Y. et al. **Nephrin - a biomarker of early glomerular injury**. *Biomarker research*, [s.l.], v. 2, n° 1, 2014. ISSN: 2050-7771, DOI: 10.1186/2050-7771-2-21.

KARMAKOVA, T. A. et al. **Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1): a Multifunctional Glycoprotein and Biological Marker (Review)**. *Sovremennye tekhnologii v meditsine*, [s.l.], v. 13, n° 3, p. 64–80, 2021. ISSN: 2309-995X, DOI: 10.17691/STM2021.13.3.08.

KELLUM, J. A. et al. **Art:10.1186/Cc11454**. [s.l.], n° Part 1, p. 1–15, 2013. ISSN: 1364-8535, DOI: 10.1186/cc11454.

KERGET, B. et al. **Evaluation of the relationship between KIM-1 and suPAR levels and clinical severity in COVID-19 patients: A different perspective on suPAR**. *J Med Virol*, [s.l.], 2021. DOI: 10.1002/jmv.27099.

KHAN, W. H. et al. **COVID-19 Pandemic and Vaccines Update on Challenges and Resolutions**. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, [s.l.], v. 11, p. 690621, 2021. ISSN: 22352988, DOI: 10.3389/FCIMB.2021.690621.

KIM, M. J.; TAM, F. W. K. **Urinary monocyte chemoattractant protein-1 in renal disease**. *Clinica Chimica Acta*, [s.l.], v. 412, n° 23–24, p. 2022–2030, 2011. ISSN: 0009-8981, DOI: 10.1016/J.CCA.2011.07.023.

KOSTOVSKA, I. et al. **Urinary nephrin is earlier, more sensitive and specific marker of diabetic nephropathy than microalbuminuria**. *Journal of Medical Biochemistry*, [s.l.], v. 39, n° 1, p. 83, 2020. ISSN: 14528266, DOI: 10.2478/JOMB-2019-0026.

\_\_\_\_\_. **Nephrinuria and podocytopathies**. *Advances in Clinical Chemistry*, [s.l.], v. 108, p. 1–36, 2022. ISBN: 9780323988490, ISSN: 0065-2423, DOI: 10.1016/BS.ACC.2021.08.001.

KOUPENOVA, M. et al. **The role of platelets in mediating a response to human influenza infection**. *Nature Communications*, [s.l.], v. 10, n° 1, 2019. ISSN: 20411723, DOI: 10.1038/S41467-019-09607-X.

KULKARNI, O.; ANDERS, H. J. **[CCL2/MCP1: a novel target in systemic lupus erythematosus and lupus nephritis]**. *Zeitschrift fur Rheumatologie*, [s.l.], v. 67, n° 3, p. 220–224, 2008. ISSN: 0340-1855, DOI: 10.1007/S00393-008-0283-8.

KUMAR, A. et al. **SARS-CoV-2 cell entry receptor ACE2 mediated endothelial dysfunction leads to vascular thrombosis in COVID-19 patients**. *Medical Hypotheses*, [s.l.], v. 145, p. 110320, 2020. ISSN: 0306-9877, DOI: 10.1016/J.MEHY.2020.110320.

\_\_\_\_\_. **COVID-19 Mechanisms in the Human Body-What We Know So Far**. *Frontiers in immunology*, [s.l.], v. 12, 2021. ISSN: 1664-3224, DOI: 10.3389/FIMMU.2021.693938.

- KUWABARA, T. et al. **Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons.** *Kidney international*, [s.l.], v. 75, n° 3, p. 285–294, 2009. ISSN: 1523-1755, DOI: 10.1038/KI.2008.499.
- LAKADAMYALI, M.; RUST, M. J.; ZHUANG, X. **Endocytosis of influenza viruses.** *Microbes and infection*, [s.l.], v. 6, n° 10, p. 929–936, 2004. ISSN: 1286-4579, DOI: 10.1016/J.MICINF.2004.05.002.
- LAUDANSKI, K. et al. **Longitudinal urinary biomarkers of immunological activation in covid-19 patients without clinically apparent kidney disease versus acute and chronic failure.** *Scientific Reports 2021 11:1*, [s.l.], v. 11, n° 1, p. 1–14, 2021. ISBN: 0123456789, ISSN: 2045-2322, DOI: 10.1038/s41598-021-99102-5.
- LEGRAND, M. et al. **Pathophysiology of COVID-19-associated acute kidney injury.** *Nature reviews. Nephrology*, [s.l.], v. 17, n° 11, p. 751–764, 2021. ISSN: 1759-507X, DOI: 10.1038/S41581-021-00452-0.
- LEI, C. et al. **Neutralization of SARS-CoV-2 spike pseudotyped virus by recombinant ACE2-Ig.** *Nature communications*, [s.l.], v. 11, n° 1, 2020. ISSN: 2041-1723, DOI: 10.1038/S41467-020-16048-4.
- LI, F. **Structure, Function, and Evolution of Coronavirus Spike Proteins.** *Annual review of virology*, [s.l.], v. 3, n° 1, p. 237–261, 2016. ISSN: 2327-0578, DOI: 10.1146/ANNUREV-VIROLOGY-110615-042301.
- LI, G. et al. **Coronavirus infections and immune responses.** *Journal of Medical Virology*, [s.l.], v. 92, n° 4, p. 424, 2020. ISSN: 10969071, DOI: 10.1002/JMV.25685.
- LI, S. et al. **Regulation of the ER Stress Response by the Ion Channel Activity of the Infectious Bronchitis Coronavirus Envelope Protein Modulates Virion Release, Apoptosis, Viral Fitness, and Pathogenesis.** *Frontiers in Microbiology*, [s.l.], v. 10, 2019. ISSN: 1664302X, DOI: 10.3389/FMICB.2019.03022.
- LIM, A. I. et al. **Kidney injury molecule-1: more than just an injury marker of tubular epithelial cells?** *Journal of cellular physiology*, [s.l.], v. 228, n° 5, p. 917–924, 2013. ISSN: 1097-4652, DOI: 10.1002/JCP.24267.
- LIMA, C.; MACEDO, E. **Urinary Biochemistry in the Diagnosis of Acute Kidney Injury.** *Disease Markers*, [s.l.], v. 2018, 2018. ISSN: 18758630, DOI: 10.1155/2018/4907024.
- LU, R. et al. **Genomic characterisation and epidemiology of 2019 novel coronavirus: implications for virus origins and receptor binding.** *Lancet (London, England)*, [s.l.], v. 395, n° 10224, p. 565, 2020. ISSN: 1474547X, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30251-8.
- LUTHER, T. et al. **COVID-19 patients in intensive care develop predominantly oliguric acute kidney injury.** *Acta Anaesthesiologica Scandinavica*, [s.l.], v. 65, n° 3, p. 364, 2021. ISSN: 13996576, DOI: 10.1111/AAS.13746.
- MALHA, L. et al. **COVID-19 and the Renin-Angiotensin System.** *Kidney International Reports*, [s.l.], v. 5, n° 5, p. 563, 2020. ISSN: 24680249, DOI: 10.1016/J.EKIR.2020.03.024.

- MARAKALA, V. **Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in kidney injury – A systematic review.** *Clinica Chimica Acta*, [s.l.], v. 536, p. 135–141, 2022. ISSN: 0009-8981, DOI: 10.1016/J.CCA.2022.08.029.
- MATSUMOTO, K.; PROWLE, J. R. **COVID-19-associated AKI.** *Current opinion in critical care*, [s.l.], v. 28, n° 6, p. 630–637, 2022. ISSN: 1531-7072, DOI: 10.1097/MCC.0000000000000988.
- MENEZ, S. et al. **Prognostic Significance of Urinary Biomarkers in Patients Hospitalized With COVID-19.** *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*, [s.l.], v. 79, n° 2, p. 257-267.e1, 2022. ISSN: 1523-6838, DOI: 10.1053/J.AJKD.2021.09.008.
- MERAD, M.; MARTIN, J. C. **Author Correction: Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages.** *Nature reviews. Immunology*, [s.l.], v. 20, n° 7, p. 448, 2020. ISSN: 1474-1741, DOI: 10.1038/s41577-020-0353-y.
- MISHRA, J. et al. **Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury.** *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, [s.l.], v. 14, n° 10, p. 2534–2543, 2003. ISSN: 1046-6673, DOI: 10.1097/01.ASN.0000088027.54400.C6.
- MOHAMED, M. M. B. et al. **Acute Kidney Injury Associated with Coronavirus Disease 2019 in Urban New Orleans.** *Kidney360*, [s.l.], v. 1, n° 7, p. 614, 2020. DOI: 10.34067/KID.0002652020.
- MOHAMED, M. M. B.; VELEZ, J. C. Q. **Proteinuria in COVID-19.** *Clinical kidney journal*, [s.l.], v. 14, n° Suppl 1, p. I40–I47, 2021. ISSN: 2048-8505, DOI: 10.1093/CKJ/SFAB036.
- MOLEDINA, D. G.; PARIKH, C. R. **Phenotyping of Acute Kidney Injury: Beyond Serum Creatinine.** *Seminars in nephrology*, [s.l.], v. 38, n° 1, p. 3–11, 2018. ISSN: 1558-4488, DOI: 10.1016/J.SEMNEPHROL.2017.09.002.
- MORESCO, R. N. et al. **Urinary kidney injury molecule-1 in renal disease.** *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, [s.l.], v. 487, p. 15–21, 2018. ISSN: 1873-3492, DOI: 10.1016/J.CCA.2018.09.011.
- MORII, T. et al. **Increased Urinary Excretion of Monocyte Chemoattractant Protein-1 in Proteinuric Renal Diseases.** <http://dx.doi.org/10.1081/JDI-120021156>, [s.l.], v. 25, n° 3, p. 439–444, 2009. ISSN: 0886022X, DOI: 10.1081/JDI-120021156.
- MOSCHEN, A. R. et al. **Lipocalin-2: A Master Mediator of Intestinal and Metabolic Inflammation.** *Trends in endocrinology and metabolism: TEM*, [s.l.], v. 28, n° 5, p. 388–397, 2017. ISSN: 1879-3061, DOI: 10.1016/J.TEM.2017.01.003.
- MOSER, B.; LOETSCHER, P. **Lymphocyte traffic control by chemokines.** *Nature immunology*, [s.l.], v. 2, n° 2, p. 123–128, 2001. ISSN: 1529-2908, DOI: 10.1038/84219.
- MOUSAVIZADEH, L.; GHASEMI, S. **Genotype and phenotype of COVID-19: Their roles in pathogenesis.** *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*, [s.l.], v. 54, n° 2, p. 159, 2021. ISSN: 19959133, DOI: 10.1016/J.JMII.2020.03.022.
- MUSIAŁ, K.; ZWOLIŃSKA, D. **Monocyte chemoattractant protein-1, macrophage**

**colony stimulating factor, survivin, and tissue inhibitor of matrix metalloproteinases-2 in analysis of damage and repair related to pediatric chronic kidney injury.** *Advances in clinical and experimental medicine : official organ Wroclaw Medical University*, [s.l.], v. 29, n° 9, p. 1083–1090, 2020. ISSN: 1899-5276, DOI: 10.17219/ACEM/123350.

NASCIMENTO, C. R. DO et al. **Quais são os mecanismos celulares relacionados aos eventos tromboembólicos em pacientes com COVID-19?** *Jornal Vascular Brasileiro*, [s.l.], v. 20, p. e20210020, 2021. ISSN: 1677-5449, DOI: 10.1590/1677-5449.210020.

NGUYEN, M. T.; MAYNARD, S. E.; KIMMEL, P. L. **Misapplications of Commonly Used Kidney Equations: Renal Physiology in Practice.** *Clinical Journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, [s.l.], v. 4, n° 3, p. 528, 2009. DOI: 10.2215/CJN.05731108.

NTRINIAS, T. et al. **Biomarkers in Progressive Chronic Kidney Disease. Still a Long Way to Go.** *Prilozi (Makedonska akademija na naukite i umetnostite. Oddelenie za medicinski nauki)*, [s.l.], v. 40, n° 3, p. 27–39, 2019. ISSN: 1857-8985, DOI: 10.2478/PRILOZI-2020-0002.

OBERMÜLLER, N. et al. **Current developments in early diagnosis of acute kidney injury.** *International urology and nephrology*, [s.l.], v. 46, n° 1, p. 1–7, 2014. ISSN: 1573-2584, DOI: 10.1007/S11255-013-0448-5.

OTTOLINA, D. et al. **Acute kidney injury (AKI) in patients with Covid-19 infection is associated with ventilatory management with elevated positive end-expiratory pressure (PEEP).** *Journal of nephrology*, [s.l.], v. 35, n° 1, p. 99–111, 2022. ISSN: 1724-6059, DOI: 10.1007/S40620-021-01100-3.

OU, X. et al. **Characterization of spike glycoprotein of SARS-CoV-2 on virus entry and its immune cross-reactivity with SARS-CoV.** *Nature communications*, [s.l.], v. 11, n° 1, 2020. ISSN: 2041-1723, DOI: 10.1038/S41467-020-15562-9.

PAN, X. wu et al. **Identification of a potential mechanism of acute kidney injury during the COVID-19 outbreak: a study based on single-cell transcriptome analysis.** *Intensive care medicine*, [s.l.], v. 46, n° 6, p. 1114–1116, 2020. ISSN: 1432-1238, DOI: 10.1007/S00134-020-06026-1.

PARIKH, C. R. et al. **Performance of kidney injury molecule-1 and liver fatty acid-binding protein and combined biomarkers of AKI after cardiac surgery.** *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*, [s.l.], v. 8, n° 7, p. 1079–1088, 2013. ISSN: 1555-905X, DOI: 10.2215/CJN.10971012.

PATRAKKA, J.; TRYGGVASON, K. **Nephrin--a unique structural and signaling protein of the kidney filter.** *Trends in molecular medicine*, [s.l.], v. 13, n° 9, p. 396–403, 2007. ISSN: 1471-4914, DOI: 10.1016/J.MOLMED.2007.06.006.

PEI, G. et al. **Renal Involvement and Early Prognosis in Patients with COVID-19 Pneumonia.** *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, [s.l.], v. 31, n° 6, p. 1157–1165, 2020. ISSN: 1533-3450, DOI: 10.1681/ASN.2020030276.

PERROTTA, F. et al. **Severe respiratory SARS-CoV2 infection: Does ACE2 receptor matter?** *Respiratory medicine*, [s.l.], v. 168, 2020. ISSN: 1532-3064, DOI: 10.1016/J.RMED.2020.105996.

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 (Clinical research ed.)*, [s.l.], v. 369, 2020. ISSN: 1756-1833, DOI: 10.1136/BMJ.M1966.

PODE SHAKKED, N. et al. **Early prediction of COVID-19-associated acute kidney injury: Are serum NGAL and serum Cystatin C levels better than serum creatinine?** *Clinical biochemistry*, [s.l.], v. 102, p. 1–8, 2022. ISSN: 1873-2933, DOI: 10.1016/J.CLINBIOCHEM.2022.01.006.

PRAJAPAT, M. et al. **Drug targets for corona virus: A systematic review.** *Indian journal of pharmacology*, [s.l.], v. 52, n° 1, p. 56–65, 2020. ISSN: 1998-3751, DOI: 10.4103/IJP.IJP\_115\_20.

PRASAD, N.; AGRAWAL, S. **COVID 19 and Acute Kidney Injury.** *Indian journal of nephrology*, [s.l.], v. 30, n° 3, p. 161–165, 2020. ISSN: 0971-4065, DOI: 10.4103/IJN.IJN\_120\_20.

PUELLES, V. G. et al. **Multiorgan and Renal Tropism of SARS-CoV-2.** *The New England journal of medicine*, [s.l.], v. 383, n° 6, p. 590–592, 2020. ISSN: 1533-4406, DOI: 10.1056/NEJMC2011400.

QI, F. et al. **Single cell RNA sequencing of 13 human tissues identify cell types and receptors of human coronaviruses.** *Biochemical and biophysical research communications*, [s.l.], v. 526, n° 1, p. 135–140, 2020. ISSN: 1090-2104, DOI: 10.1016/J.BBRC.2020.03.044.

RABAAN, A. A. et al. **SARS-CoV-2, SARS-CoV, and MERS-COV: A comparative overview.** *Le infezioni in medicina*, [s.l.], v. 28, n° 2, p. 174–184, 2020. ISSN: 2532-8689.

RAFI AHMED, A. et al. **Kidney injury in COVID-19 Open-Access.** [s.l.], [s.d.]. ISSN: 2220-6124, DOI: 10.5527/wjn.v9.i2.18.

RANUCCI, M. et al. **The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome.** *Journal of thrombosis and haemostasis : JTH*, [s.l.], v. 18, n° 7, p. 1747–1751, 2020. ISSN: 1538-7836, DOI: 10.1111/JTH.14854.

RICHARDSON, S. et al. **Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area.** *JAMA*, [s.l.], v. 323, n° 20, p. 2052–2059, 2020. ISSN: 1538-3598, DOI: 10.1001/JAMA.2020.6775.

RONCO, C.; REIS, T. **Kidney involvement in COVID-19 and rationale for extracorporeal therapies.** *Nature Reviews. Nephrology*, [s.l.], v. 16, n° 6, p. 308, 2020. ISSN: 1759507X, DOI: 10.1038/S41581-020-0284-7.

RONCO, C.; REIS, T.; HUSAIN-SYED, F. **Management of acute kidney injury in patients with COVID-19.** *The Lancet. Respiratory Medicine*, [s.l.], v. 8, n° 7, p. 738, 2020. ISSN: 22132619, DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30229-0.

RONG, S. et al. **The TIM-1:TIM-4 Pathway Enhances Renal Ischemia-Reperfusion Injury.** *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, [s.l.], v. 22, n° 3, p. 484, 2011. ISSN: 10466673, DOI: 10.1681/ASN.2010030321.

RUAN, Q. et al. **Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an**

**analysis of data of 150 patients from Wuhan, China.** *Intensive care medicine*, [s.l.], v. 46, n° 5, p. 846–848, 2020. ISSN: 1432-1238, DOI: 10.1007/S00134-020-05991-X.

**RUSSO, L. M. et al. The normal kidney filters nephrotic levels of albumin retrieved by proximal tubule cells: retrieval is disrupted in nephrotic states.** *Kidney international*, [s.l.], v. 71, n° 6, p. 504–513, 2007. ISSN: 0085-2538, DOI: 10.1038/SJ.KI.5002041.

**SABBISSETTI, V. S. et al. Blood kidney injury molecule-1 is a biomarker of acute and chronic kidney injury and predicts progression to ESRD in type I diabetes.** *Journal of the American Society of Nephrology*, [s.l.], v. 25, n° 10, p. 2177–2186, 2014. ISSN: 15333450, DOI: 10.1681/ASN.2013070758/-/DCSUPPLEMENTAL.

**SANTARPIA, J. L. et al. Transmission Potential of SARS-CoV-2 in Viral Shedding Observed at the University of Nebraska Medical Center.** *medRxiv*, [s.l.], p. 2020.03.23.20039446, 2020. DOI: 10.1101/2020.03.23.20039446.

**SANTOS, R. A. S.; FERREIRA, A. J.; SIMÕES E SILVA, A. C. Recent advances in the angiotensin-converting enzyme 2-angiotensin(1-7)-Mas axis.** *Experimental physiology*, [s.l.], v. 93, n° 5, p. 519–527, 2008. ISSN: 0958-0670, DOI: 10.1113/EXPPHYSIOL.2008.042002.

**SAPUTRI, D. S. et al. Flexible, Functional, and Familiar: Characteristics of SARS-CoV-2 Spike Protein Evolution.** *Frontiers in Microbiology*, [s.l.], v. 11, 2020. ISSN: 1664302X, DOI: 10.3389/FMICB.2020.02112/FULL.

**SATIRAPOJ, B. Tubulointerstitial Biomarkers for Diabetic Nephropathy.** *Journal of diabetes research*, [s.l.], v. 2018, 2018. ISSN: 2314-6753, DOI: 10.1155/2018/2852398.

**SAYGILI, S. et al. Clinical and subclinical acute kidney injury in children with mild-to-moderate COVID-19.** *Pediatric research*, [s.l.], v. 93, n° 3, p. 654–660, 2023. ISSN: 1530-0447, DOI: 10.1038/S41390-022-02124-6.

**SEGARRA-MEDRANO, A. et al. Value of urinary levels of interleukin-6, epidermal growth factor, monocyte chemoattractant protein type1 and transforming growth factor  $\beta$ 1 in predicting the extent of fibrosis lesions in kidney biopsies of patients with IgA nephropathy.** *Nefrología : publicación oficial de la Sociedad Espanola Nefrología*, [s.l.], v. 37, n° 5, p. 531–538, 2017. ISSN: 1989-2284, DOI: 10.1016/J.NEFRO.2016.11.017.

**SHANG, W.; WANG, Z. The Update of NGAL in Acute Kidney Injury.** *Current Protein & Peptide Science*, [s.l.], v. 18, n° 12, 2016. ISSN: 13892037, DOI: 10.2174/1389203717666160909125004.

**SHARMA, A.; AHMAD FAROUK, I.; LAL, S. K. COVID-19: A Review on the Novel Coronavirus Disease Evolution, Transmission, Detection, Control and Prevention.** *Viruses*, [s.l.], v. 13, n° 2, 2021. ISSN: 1999-4915, DOI: 10.3390/V13020202.

**SHARMA, P. et al. COVID-19–Associated Kidney Injury: A Case Series of Kidney Biopsy Findings.** *Journal of the American Society of Nephrology*, [s.l.], v. 31, n° 9, p. 1948–1958, 2020. ISSN: 15333450, DOI: 10.1681/ASN.2020050699/-/DCSUPPLEMENTAL.

SHULLA, A. et al. **A transmembrane serine protease is linked to the severe acute respiratory syndrome coronavirus receptor and activates virus entry.** *Journal of virology*, [s.l.], v. 85, n° 2, p. 873–882, 2011. ISSN: 1098-5514, DOI: 10.1128/JVI.02062-10.

SIERRA, B. et al. **Association of Early Nasopharyngeal Immune Markers With COVID-19 Clinical Outcome: Predictive Value of CCL2/MCP-1.** *Open forum infectious diseases*, [s.l.], v. 7, n° 10, p. 1–5, 2020. ISSN: 2328-8957, DOI: 10.1093/OFID/OFAA407.

SINGH, S.; ANSHITA, D.; RAVICHANDIRAN, V. **MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease.** *International immunopharmacology*, [s.l.], v. 101, n° Pt B, 2021. ISSN: 1878-1705, DOI: 10.1016/J.INTIMP.2021.107598.

SOETIKNO, R. et al. **Considerations in performing endoscopy during the COVID-19 pandemic.** *Gastrointestinal endoscopy*, [s.l.], v. 92, n° 1, p. 176–183, 2020. ISSN: 1097-6779, DOI: 10.1016/J.GIE.2020.03.3758.

SONI, S. S. et al. **NGAL: a biomarker of acute kidney injury and other systemic conditions.** *International urology and nephrology*, [s.l.], v. 42, n° 1, p. 141–150, 2010. ISSN: 1573-2584, DOI: 10.1007/S11255-009-9608-Z.

STASI, A. et al. **SARS-CoV-2 and Viral Sepsis: Immune Dysfunction and Implications in Kidney Failure.** *Journal of clinical medicine*, [s.l.], v. 9, n° 12, p. 1–24, 2020. ISSN: 2077-0383, DOI: 10.3390/JCM9124057.

SU, H. et al. **Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China.** *Kidney International*, [s.l.], v. 98, n° 1, p. 219–227, 2020. ISSN: 15231755, DOI: 10.1016/j.kint.2020.04.003.

SUN, K. et al. **Early epidemiological analysis of the coronavirus disease 2019 outbreak based on crowdsourced data: a population-level observational study.** *The Lancet Digital Health*, [s.l.], v. 2, p. e201–e208, 2020. DOI: 10.1016/S2589-7500(20)30026-1.

SUNGNAK, W. et al. **SARS-CoV-2 Entry Factors are Highly Expressed in Nasal Epithelial Cells Together with Innate Immune Genes.** *Nature medicine*, [s.l.], v. 26, n° 5, p. 681, 2020. ISSN: 1546170X, DOI: 10.1038/S41591-020-0868-6.

TANASE, D. M. et al. **The Predictive Role of the Biomarker Kidney Molecule-1 (KIM-1) in Acute Kidney Injury (AKI) Cisplatin-Induced Nephrotoxicity.** *International Journal of Molecular Sciences*, [s.l.], v. 20, n° 20, 2019. ISSN: 14220067, DOI: 10.3390/IJMS20205238.

TANG, T. et al. **Coronavirus membrane fusion mechanism offers a potential target for antiviral development.** *Antiviral Research*, [s.l.], v. 178, p. 104792, 2020. ISSN: 18729096, DOI: 10.1016/J.ANTIVIRAL.2020.104792.

TAVAZZI, G. et al. **Myocardial localization of coronavirus in COVID-19 cardiogenic shock.** *European journal of heart failure*, [s.l.], v. 22, n° 5, p. 911–915, 2020. ISSN: 1879-0844, DOI: 10.1002/EJHF.1828.

TEMIZ, M. Z. et al. **Altered kidney function induced by SARS-CoV-2 infection and acute kidney damage markers predict survival outcomes of COVID-19 patients: a prospective pilot study.** *Renal failure*, [s.l.], v. 44, n° 1, p. 233–240,

2022. ISSN: 1525-6049, DOI: 10.1080/0886022X.2022.2032743.

TEUWEN, L. A. et al. **COVID-19: the vasculature unleashed.** *Nature reviews. Immunology*, [s.l.], v. 20, n° 7, p. 389–391, 2020. ISSN: 1474-1741, DOI: 10.1038/S41577-020-0343-0.

TSIGOU, E. et al. **Role of new biomarkers: functional and structural damage.** *Critical care research and practice*, [s.l.], v. 2013, 2013. ISSN: 2090-1305, DOI: 10.1155/2013/361078.

UCHINO, S. et al. **Acute renal failure in critically ill patients: a multinational, multicenter study.** *JAMA*, [s.l.], v. 294, n° 7, p. 813–818, 2005. ISSN: 1538-3598, DOI: 10.1001/JAMA.294.7.813.

VADUGANATHAN, M. et al. **Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors in Patients with Covid-19.** *The New England journal of medicine*, [s.l.], v. 382, n° 17, p. 1653–1659, 2020. ISSN: 1533-4406, DOI: 10.1056/NEJMSR2005760.

VARGA, Z. et al. **Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19.** *Lancet (London, England)*, [s.l.], v. 395, n° 10234, p. 1417–1418, 2020. ISSN: 1474-547X, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30937-5.

VERMA, R. et al. **Nephrin is necessary for podocyte recovery following injury in an adult mature glomerulus.** *PLoS one*, [s.l.], v. 13, n° 6, 2018. ISSN: 1932-6203, DOI: 10.1371/JOURNAL.PONE.0198013.

VISNAGRI, A.; KANDHARE, A. D.; BODHANKAR, S. L. **Renoprotective effect of berberine via intonation on apoptosis and mitochondrial-dependent pathway in renal ischemia reperfusion-induced mutilation.** *Renal failure*, [s.l.], v. 37, n° 3, p. 482–493, 2015. ISSN: 1525-6049, DOI: 10.3109/0886022X.2014.996843.

VOGEL, M. J. et al. **Kidney injury molecule-1: potential biomarker of acute kidney injury and disease severity in patients with COVID-19.** *Journal of nephrology*, [s.l.], v. 34, n° 4, p. 1007–1018, 2021. ISSN: 1724-6059, DOI: 10.1007/S40620-021-01079-X.

VOGTLÄNDER, N. P. J. et al. **Localization of  $\alpha$ -dystroglycan on the podocyte: From top to toe.** *Journal of Histochemistry and Cytochemistry*, [s.l.], v. 53, n° 11, p. 1345–1353, 2005. ISSN: 00221554, DOI: 10.1369/JHC.4A6596.2005.

VOLBEDA, M. et al. **Comparison of renal histopathology and gene expression profiles between severe COVID-19 and bacterial sepsis in critically ill patients.** *Critical care (London, England)*, [s.l.], v. 25, n° 1, 2021. ISSN: 1466-609X, DOI: 10.1186/S13054-021-03631-4.

WAIKAR, S. S.; SABBISSETTI, V. S.; BONVENTRE, J. V. **Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate.** *Kidney International*, [s.l.], v. 78, n° 5, p. 486–494, 2010. ISSN: 15231755, DOI: 10.1038/ki.2010.165.

WANG, P. et al. **Detection of urinary podocytes and nephrin as markers for children with glomerular diseases.** *Experimental biology and medicine (Maywood, N.J.)*, [s.l.], v. 240, n° 2, p. 169–174, 2015. ISSN: 1535-3699, DOI: 10.1177/1535370214548995.

WANG, Q. et al. **Structural and Functional Basis of SARS-CoV-2 Entry by Using**

**Human ACE2.** *Cell*, [s.l.], v. 181, n° 4, p. 894-904.e9, 2020. ISSN: 1097-4172, DOI: 10.1016/J.CELL.2020.03.045.

WESTHOFF, J. H. et al. **Urinary calprotectin, kidney injury molecule-1, and neutrophil gelatinase-associated lipocalin for the prediction of adverse outcome in pediatric acute kidney injury.** *European journal of pediatrics*, [s.l.], v. 176, n° 6, p. 745–755, 2017. ISSN: 1432-1076, DOI: 10.1007/S00431-017-2907-Y.

WIT, E. DE et al. **SARS and MERS: recent insights into emerging coronaviruses.** *Nature reviews. Microbiology*, [s.l.], v. 14, n° 8, p. 523–534, 2016. ISSN: 1740-1534, DOI: 10.1038/NRMICRO.2016.81.

WÖLFEL, R. et al. **Virological assessment of hospitalized patients with COVID-2019.** *Nature*, [s.l.], v. 581, n° 7809, p. 465–469, 2020. ISSN: 1476-4687, DOI: 10.1038/S41586-020-2196-X.

WONG, N. A.; SAIER, M. H. **The SARS-Coronavirus Infection Cycle: A Survey of Viral Membrane Proteins, Their Functional Interactions and Pathogenesis.** *International Journal of Molecular Sciences 2021, Vol. 22, Page 1308*, [s.l.], v. 22, n° 3, p. 1308, 2021. ISSN: 1422-0067, DOI: 10.3390/IJMS22031308.

WU, C. et al. **Risk Factors Associated With Acute Respiratory Distress Syndrome and Death in Patients With Coronavirus Disease 2019 Pneumonia in Wuhan, China.** *JAMA internal medicine*, [s.l.], v. 180, n° 7, p. 934–943, 2020. ISSN: 2168-6114, DOI: 10.1001/JAMAINTERNMED.2020.0994.

WU, H. et al. **AKI and Collapsing Glomerulopathy Associated with COVID-19 and APOL 1 High-Risk Genotype.** *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, [s.l.], v. 31, n° 8, p. 1688–1695, 2020. ISSN: 1533-3450, DOI: 10.1681/ASN.2020050558.

XIAO, F. et al. **Evidence for Gastrointestinal Infection of SARS-CoV-2.** *Gastroenterology*, [s.l.], v. 158, n° 6, p. 1831-1833.e3, 2020. ISSN: 1528-0012, DOI: 10.1053/J.GASTRO.2020.02.055.

YANG, C. et al. **Kidney injury molecule-1 is a potential receptor for SARS-CoV-2.** *Journal of Molecular Cell Biology*, [s.l.], v. 13, n° 3, p. 185, 2021. ISSN: 17594685, DOI: 10.1093/JMCB/MJAB003.

YANG, P.; WANG, X. **COVID-19: a new challenge for human beings.** *Cellular & Molecular Immunology 2020 17:5*, [s.l.], v. 17, n° 5, p. 555–557, 2020. ISSN: 2042-0226, DOI: 10.1038/s41423-020-0407-x.

YE, M. et al. **Glomerular localization and expression of Angiotensin-converting enzyme 2 and Angiotensin-converting enzyme: implications for albuminuria in diabetes.** *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*, [s.l.], v. 17, n° 11, p. 3067–3075, 2006. ISSN: 1046-6673, DOI: 10.1681/ASN.2006050423.

YEAMAN, M. R. **Platelets in defense against bacterial pathogens.** *Cellular and molecular life sciences : CMLS*, [s.l.], v. 67, n° 4, p. 525–544, 2010. ISSN: 1420-9071, DOI: 10.1007/S00018-009-0210-4.

ZARBOCK, A.; GOMEZ, H.; KELLUM, J. A. **Sepsis-induced AKI revisited: pathophysiology, prevention and future therapies.** *Current opinion in critical care*, [s.l.], v. 20, n° 6, p. 588, 2014. ISSN: 15317072, DOI:

10.1097/MCC.0000000000000153.

ZENG, L.; SZETO, C. C. **Urinary podocyte markers in kidney diseases.** *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, [s.l.], v. 523, p. 315–324, 2021. ISSN: 1873-3492, DOI: 10.1016/J.CCA.2021.10.017.

ZHANG, J. C.; WANG, S. Bin; XUE, Y. D. **Fecal specimen diagnosis 2019 novel coronavirus–infected pneumonia.** *Journal of Medical Virology*, [s.l.], v. 92, n° 6, p. 680–682, 2020. ISSN: 1096-9071, DOI: 10.1002/JMV.25742.

ZHANG, P. L. et al. **Kidney injury molecule-1 expression in transplant biopsies is a sensitive measure of cell injury.** *Kidney International*, [s.l.], v. 73, n° 5, p. 608–614, 2008. ISSN: 0085-2538, DOI: 10.1038/SJ.KI.5002697.

ZHANG, W. R.; PARIKH, C. R. **Biomarkers of Acute and Chronic Kidney Disease.** *Annual review of physiology*, [s.l.], v. 81, p. 309, 2019. ISSN: 15451585, DOI: 10.1146/ANNUREV-PHYSIOL-020518-114605.

ZHANG, Y. et al. **Coagulopathy and Antiphospholipid Antibodies in Patients with Covid-19.** *The New England journal of medicine*, [s.l.], v. 382, n° 17, p. e38, 2020. ISSN: 1533-4406, DOI: 10.1056/NEJMC2007575.

ZHOU, F. et al. **Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study.** *The Lancet*, [s.l.], v. 395, n° 10229, p. 1054–1062, 2020. ISSN: 1474547X, DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30566-3.

ZHOU, P. et al. **A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin.** *Nature*, [s.l.], v. 579, n° 7798, p. 270–273, 2020. ISSN: 1476-4687, DOI: 10.1038/S41586-020-2012-7.

ZIEGLER, C. G. K. et al. **SARS-CoV-2 Receptor ACE2 Is an Interferon-Stimulated Gene in Human Airway Epithelial Cells and Is Detected in Specific Cell Subsets across Tissues.** *Cell*, [s.l.], v. 181, n° 5, p. 1016-1035.e19, 2020. ISSN: 1097-4172, DOI: 10.1016/J.CELL.2020.04.035.

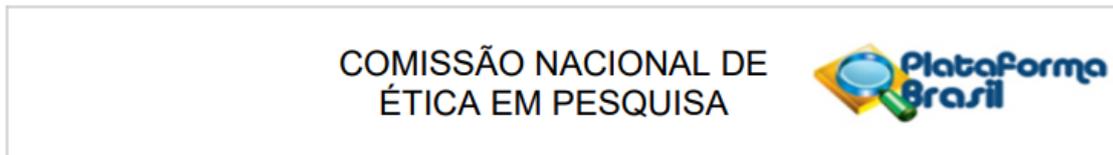
ZLOTNIK, A.; YOSHIE, O. **Chemokines: a new classification system and their role in immunity.** *Immunity*, [s.l.], v. 12, n° 2, p. 121–127, 2000. ISSN: 1074-7613, DOI: 10.1016/S1074-7613(00)80165-X.

ZUO, Y. et al. **Neutrophil extracellular traps in COVID-19.** *JCI insight*, [s.l.], v. 5, n° 11, 2020. ISSN: 2379-3708, DOI: 10.1172/JCI.INSIGHT.138999.

**Canal Saúde - Prefeitura Municipal de Fortaleza.** [s.d.]. Disponível em: <<https://saude.fortaleza.ce.gov.br/ijf>>. Acesso em: 21/nov./23a.

**WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard With Vaccination Data.** [s.d.]. Disponível em: <<https://covid19.who.int/>>. Acesso em: 21/out./22b.

## 8. Anexos:



### PARECER CONSUBSTANCIADO DA CONEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

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

**Pesquisador:** Geraldo Bezerra da Silva Junior

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 30579020.4.1001.0008

**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 novos 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 (KUSCHNAROFF 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:** BRASILIA

**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, dispneia 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 às 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, dispneia, dor de garganta, mialgia, fraqueza, mal-estar, entre outros). Avaliação laboratorial – Laboratório de Nefrologia e Doenças Tropicais da Universidade

**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

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), bilirrubinas 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 imunoenensaio 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:** BRASILIA  
**Telefone:** (61)3315-5877 **E-mail:** conep@saude.gov.br

## COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

### 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 puncionada 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:** BRASILIA

**Telefone:** (61)3315-5877

**E-mail:** conep@saude.gov.br

## COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

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, dispneia, 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), bilirrubinas 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 imunoenensaio 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:** BRASILIA

**Telefone:** (61)3315-5877

**E-mail:** conepe@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:** 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

## 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:** BRASILIA

**Telefone:** (61)3315-5877

**E-mail:** conep@saude.gov.br

## COMISSÃO NACIONAL DE ÉTICA EM PESQUISA



Continuação do Parecer: 4.026.888

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_BÁSICAS_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	FielDepositariolJF.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

## Research Article

For reprint orders, please contact: [reprints@futuremedicine.com](mailto:reprints@futuremedicine.com)

# Biomarkers in Medicine



## Urinary tubular biomarkers as predictors of death in critically ill patients with COVID-19

Gabriela F Bezerra\*<sup>1</sup>, Gdayllon C Meneses<sup>2</sup>, Polianna LMM Albuquerque<sup>3,4,5</sup>, Nicole C Lopes<sup>1</sup>, Ranieri SS Santos<sup>1</sup>, Juliana C da Silva<sup>5</sup>, Sandra MB Mota<sup>2,5</sup>, Rodrigo R Guimarães<sup>3</sup>, Fábio R Guimarães<sup>7</sup>, Álvaro R Guimarães<sup>8</sup>, Caio MC Adamian<sup>8</sup>, Paula R de Lima<sup>2</sup>, Izabel CJ Bandeira<sup>2</sup>, Márcia MP Dantas<sup>2,5</sup>, Geraldo BS Junior<sup>3,4</sup>, Reinaldo B Oriá<sup>2,6</sup>, Elizabeth F Daher<sup>2</sup> & Alice MC Martins<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Post-Graduate Program in Pharmacology, School of Medicine, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará, 60430-275, Brazil

<sup>2</sup>Medical Sciences Post-Graduate Program, Department of Internal Medicine, School of Medicine, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará, 60430-140, Brazil

<sup>3</sup>Public Health Post-Graduate Program, School of Medicine, Health Sciences Center, Universidade de Fortaleza. Fortaleza, Ceará, 60811-905, Brazil

<sup>4</sup>School of Medicine, Health Sciences Center, Universidade de Fortaleza. Fortaleza, Ceará, 60811-905, Brazil

<sup>5</sup>Instituto José Frota (IJF) Hospital, Fortaleza, Ceará, 60025-061, Brazil

<sup>6</sup>Laboratory of Tissue Healing, Ontogeny, & Nutrition, Department of Morphology, Institute of Biomedicine, Faculty of Medicine, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará, 60430-270, Brazil

<sup>7</sup>Universidade Estadual do Ceará, Fortaleza, Ceará, 60714-903, Brazil

<sup>8</sup>School of Medicine, Hospital Universitário Walter Cantídio, Universidade Federal do Ceará. Fortaleza, Ceará, 60430-372, Brazil

\*Author for correspondence: Tel.: +55 859 8865 1482; [gdayllon@yahoo.com.br](mailto:gdayllon@yahoo.com.br)

**Aim:** To evaluate the prediction capacity of urinary biomarkers for death in critically ill patients with COVID-19. **Methods:** This is a prospective study with critically ill patients due to COVID-19 infection. The urinary biomarkers NGAL, KIM-1, MCP-1 and nephrin were quantified on ICU admission. **Results:** There was 40% of death. Urinary nephrin and MCP-1 had no association with death. Tubular biomarkers (proteinuria, NGAL and KIM-1) were predictors of death and cutoff values of them for death were useful in stratify patients with worse prognosis. In a multivariate cox regression analysis, only NGAL remains associated with a two-mount survival chance. **Conclusion:** Kidney tubular biomarkers, mostly urinary NGAL, had useful capacity to predict death in critically ill COVID-19 patients.

First draft submitted: 10 August 2021; Accepted for publication: 20 April 2022; Published online: 9 May 2022

**Keywords:** COVID-19 • death • kidney biomarkers • NGAL

COVID-19 is an infectious disease caused by a novel coronavirus, which is named SARS-CoV-2 [1]. The initial symptoms include fever, cough, mild dyspnea, sore throat, headache, myalgia, blocked nose, diarrhea, vomiting and some cases evolved with severe complications, like an acute respiratory distress syndrome (ARDS), leading the patients to require placement in intensive care units (ICU) or even leading to death [2,3]. Among the risk factors associated with high mortality are advanced age, comorbidities such as diabetes, hypertension, obesity or immunosuppression and the need for invasive mechanical ventilation (IMV) [4–6]. More than 500 million cases of COVID-19 and 6 million deaths worldwide have been confirmed [7].

Kidney involvement in COVID-19 is common and has multifactorial causes, being associated with poor outcomes and death. Moreover, kidney disease is an independent risk factor for all-cause in-hospital death of COVID-19 patients [8]. Acute kidney injury (AKI) affects approximately 20–40% of patients with COVID-19 admitted to ICU, and it is a complication that has been linked to increased morbidity and mortality [9–11]. SARS-CoV-2 can invade and accumulate in the kidney causing directly endothelial damage. Moreover, the virus can infect the renal tubular epithelium and podocytes through an angiotensin converting enzyme 2 (ACE2)-dependent pathway [8,12–15]. Additionally, tubular damage may be associated to cytokine release syndrome (CRS), also known as ‘cytokine storm’ that occurs due to intrarenal inflammation, increased vascular permeability, volume depletion,

Future  
Medicine

and cardiomyopathy [16]. Other contributors to AKI include rhabdomyolysis, macrophage activation syndrome, and the development of microemboli and microthrombi in the context of hypercoagulability and endothelitis [13,17].

AKI complicates one in each five hospital admissions and was related with poor prognosis and increased health spending [18]. Currently, the gold standard in AKI diagnosis relies on increased serum creatinine and decreased urine production, which results in a rapid drop in the glomerular filtration rate. However, serum creatinine has low sensitivity and specificity and may not provide information of AKI etiology, prognosis, molecular pathways and treatment responses [18,19]. In addition, serum creatinine is a late marker of disease [20]. Indeed, more sensitive and specific biomarkers for AKI were warranted, because delays in detection and intervention have hindered clinical trials for COVID-19 treatment. Effective biomarkers could lead to early identification of AKI and predict progression for a higher disease severity.

Thus, assessing urinary biomarkers, which are easily quantifiable in urine, with better sensitivity and specificity, may be beneficial to the early detection of kidney-associated injury in COVID-19, and for preventive and therapeutic measures to halt AKI and ultimately death to patients. This study aims to evaluate the role of selected urinary biomarkers in predicting survival/death of patients with severe COVID-19.

## Methods

### Study design and selected patients

This is a prospective study of COVID-19 patients at the Instituto Doutor José Frota Hospital (IJF) in Fortaleza – Ceará, Brazil, from June 2020 to April 2021. The inclusion criteria were patients admitted to ICU of both genders, aged 18 years and older, who had a confirmed diagnosis by RT-PCR and who agreed to participate in the research and signed the free and informed consent form. Patients from medical wards and them who had ICU admission after wards were excluded. Patients with previous kidney disease and hospitalized admitted for reasons other than COVID-19, and the ones who acquired COVID during the hospital stay were also excluded.

After diagnosis, the blood and urine samples of the enrolled patients were collected on the time of hospital admission. These samples were centrifuged, aliquoted and frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until biomarkers analysis.

## Methods

### Study design and selected patients

This is a prospective study of COVID-19 patients at the Instituto Doutor José Frota Hospital (IJF) in Fortaleza – Ceará, Brazil, from June 2020 to April 2021. The inclusion criteria were patients admitted to ICU of both genders, aged 18 years and older, who had a confirmed diagnosis by RT-PCR and who agreed to participate in the research and signed the free and informed consent form. Patients from medical wards and them who had ICU admission after wards were excluded. Patients with previous kidney disease and hospitalized admitted for reasons other than COVID-19, and the ones who acquired COVID during the hospital stay were also excluded.

After diagnosis, the blood and urine samples of the enrolled patients were collected on the time of hospital admission. These samples were centrifuged, aliquoted and frozen at  $-80^{\circ}\text{C}$  until biomarkers analysis.

### Laboratory and clinical parameters of COVID-19 patients

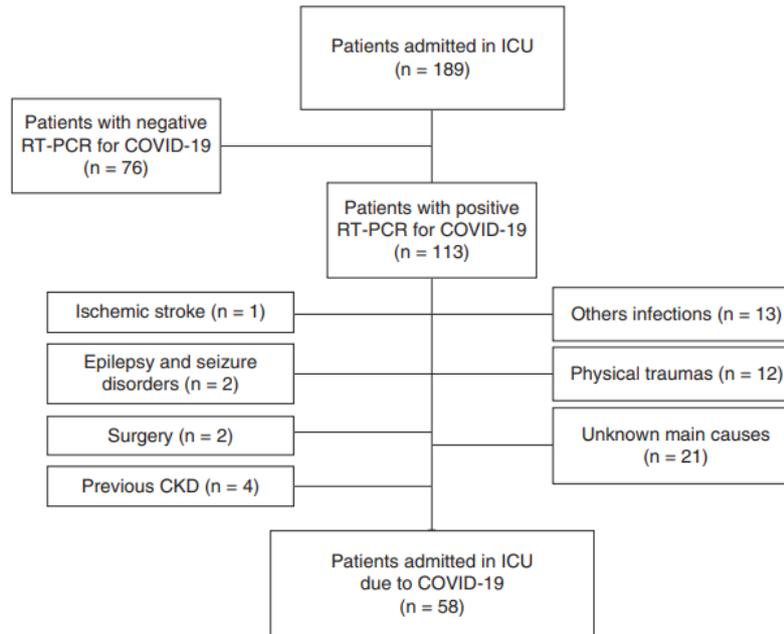
Patients were followed-up during hospitalization through medical records to evaluate their kidney function and other clinical parameters. The severity of patients admitted to the ICU was estimated using the Simplified Acute Physiology Score 3 (SAPS3). This is a tool that uses data from patient admission to the ICU to assess the likelihood of death in the hospital outcome. Biochemical measurements of urinary creatinine (mg/dl) was done using an automatic biochemistry analyzer (Cobas C111, Roche®). Proteinuria was determined using the colorimetric method by reaction with pyrogallol red (Labtest®). To identify the presence or not of AKI, was used Kidney Disease Improving Global Outcome (KDIGO) criteria [21]. Briefly, was AKI stage 1 for patients who had serum creatinine (sCr) increases  $\geq 0.3$  mg/dl and up to twofold above the basal sCr. Increase in the range of two until threefold greater than the basal sCr were classified as AKI stage 2, and for AKI stage 3 the increase of the sCr more than threefold, as well as sCr values  $\geq 4$  mg/dl were considered.

### Urinary biomarkers measurements

The novel urinary kidney biomarkers were quantified using the ELISA, an immunoenzymatic assay. Commercial ELISA kits were acquired from the R&D Systems® for NGAL (cat# DY1757), KIM-1 (cat# DY1750), MCP-1 (cat# DY279-05) and Nephlin (cat# DY4269). All urinary clinical markers and novel biomarkers evaluated were adjusted with urinary creatinine levels and expressed as a ratio of urinary creatinine to avoid bias of the urinary concentration [22].

### Statistical analysis

Categorical data were expressed as absolute counts and percentages. Chi-square test or Fisher exact test were used to evaluate the associations among categorical data, as appropriate according to expected frequencies values in  $2 \times 2$  crosstabs. Quantitative data were first evaluated for normal distribution using Kolmogorov–Smirnov test. Normal data were expressed as mean  $\pm$  standard deviation and non-normal data as median and interquartile range. Quantitative data were compared between two groups (discharge vs death patients) using Student's *t* test or a Mann–Whitney test as appropriate.



**Figure 1.** Flowchart of critically ill patients due to COVID-19 until final inclusion.

To evaluate predictive capacity for death of kidney biomarkers, ROC curves were constructed, and area under the ROC curve (AUC–ROC) with confidence intervals of 95% were calculated. The various cutoffs from ROC curve of each biomarker were investigated and determined using higher Youden index (Youden Index = sensitivity + specificity – 1). The selected cutoffs for predict death in COVID-19 patients were used to do new groups based on ‘lower than cutoff’ vs ‘higher than cutoff’.

These new groups were used to evaluate the survival behavior through Kaplan–Meier analysis for a 2-month survival chance. The log-rank test was used to evaluate the statistical difference between the two based on cutoff groups. Moreover, cox proportional hazards regression models were evaluated using urinary biomarkers cutoffs, previously associated parameters with death (using as condition  $p < 0.10$ ) and other possible cofounds factors, such as comorbidities, were evaluated. Collinearity of variables was assessed. For multivariate model all selected variables were included manually, and was used a backward with likelihood ratio test as a stepwise method. Data were analyzed using SPSS software for Macintosh, version 23 (NY, USA; IBM Corp.). For all analytical tests, a base value of  $p < 0.05$  was considered statistically significant.

### Ethics

This study was approved by the national committee on ethics in research, under CAEE number: 30579020.4.1001.0008. The patients were informed about the purpose of the study, and upon acceptance of participation, they signed the Free and Informed Consent form before the beginning of the evaluation.

## Results

### Characteristics of COVID-19 patients admitted in ICU

In total, 189 critically ill patients with COVID-19 had urinary samples collected. Among them, 76 patients had negative RT-PCR for COVID-19. Among 113 patients, 51 patients had other ICU admission main diagnosis rather than COVID-19 and were excluded. Moreover, four patients with previous CKD were excluded. Finally, 58 patients were selected with ICU admission due to COVID-19 infection as the leading cause (Figure 1).

In this group, 40 (69%) had AKI on the first week: 11 (19%) had KDIGO stage 1, 12 (21%) had stage 2 and 17 patients (29%) were stage 3. There was observed 38% of death. The male gender was predominant (59%), and the mean age was  $57 \pm 16$  years. The comorbidities were present in 39 (67%) patients, including arterial hypertension

**Table 1. Epidemiologic characteristics of COVID-19 patients admitted on intensive care unit.**

Parameter	Outcome			p-value <sup>†</sup>
	Total group (n = 58)	Survivors (n = 36)	Non-survivors (n = 22)	
Age (years)	56.6 ± 15.8	52.6 ± 16.3	63 ± 12.8	0.009
Gender				0.544
– Male	34 (58.6)	20 (55.6)	14 (63.6)	
– Female	24 (41.4)	16 (44.4)	8 (36.4)	
Time between symptoms until admission	10 (6–14)	10 (8–17)	8 (5–13)	0.079
Fever (adm)	38 (73.1)	23 (69.7)	15 (78.9)	0.469
Dyspnea	53 (91.4)	34 (94.4)	19 (86.4)	0.357
Oximetry	34 (59.6)	20 (57.1)	14 (63.6)	0.627
Comorbidity	39 (67.2)	22 (61.1)	17 (77.3)	0.203
– Cardiopathy	17 (32.1)	9 (26.5)	8 (42.1)	0.242
– Asthma	3 (5.7)	3 (8.8)	0 (0)	0.545
– Diabetes	16 (28.6)	9 (25)	7 (35)	0.427
– Neurologic	3 (5.7)	2 (5.9)	1 (5.3)	1.000
– Pneumopathy	2 (3.8)	1 (2.9)	1 (5.3)	1.000
– Obesity	21 (38.2)	12 (34.3)	9 (45)	0.431
– Hypertension	25 (43.1)	14 (38.9)	11 (50)	0.407

Quantitative data expressed as mean ± standard deviation or median and interquartile range between parenthesis according to distributions of the data. Qualitative data expressed as absolute count and percentages between parentheses.  
<sup>†</sup>The chi-square test or Fisher exact test were applied for qualitative data and for quantitative data there was used Student t test or Mann-Whitney test according to normality.

(43%), obesity (38%), cardiopathy (32%), diabetes (29%) and asthma (6%). However, there was no significant statistical association between all of them with death. In the non-survivors group, the mean age was elevated compared to survivors ( $63 \pm 13$  vs  $53 \pm 16$  years,  $p = 0.009$ ) (Table 1).

### Comparison of clinical, laboratory and biomarkers according to death

Invasive respiratory support needed during ICU stay was more frequent in non-survivors than survivors patients (86% vs 56%,  $p = 0.019$ ). Moreover, there was more frequency of vasopressors use (77% vs 42%,  $p = 0.008$ ) and dialysis (59% vs 22%,  $p = 0.005$ ) in non-survivors group. The SAPS3 score on ICU admission was elevated in the non-survivors patients ( $p = 0.001$ ; Table 2).

Regarding ICU admission laboratory parameters, there was no statistical difference between hemoglobin, leukocytes, lymphocytes, potassium, sodium, aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), c-reactive protein (CRP), total bilirubin and D-dimer according to death. However, the non-survivors group presented in ICU admission impairment of coagulation factors, such as higher activated partial thromboplastin time (aPTT) compared to survivors patients. Conventional kidney biomarkers were elevated in non-survivors group on ICU admission through serum creatinine (1.15 [0.9–1.5] vs 0.7 [0.6–1.05],  $p = 0.038$ ) and serum urea (57 [36–117] vs 39 [27–66],  $p = 0.049$ ). Also, lactic dehydrogenase (LDH) levels were higher in non-survivors group (1027 [747–1299] vs 664 [547–881],  $p = 0.008$ ) (Table 2).

All urinary biomarkers of the non-survivors group had high levels on ICU admission. However, biomarkers related to glomerular structural changes and inflammation, urinary nephrin and MCP-1, had no statistical significance with death. On the other hand, in non-survivors group, elevated levels on ICU admission of proteinuria/creatinine ratio (1.5 [1–2.2] vs 0.6 [0.4–1.2],  $p = 0.004$ ) and specific renal tubular biomarkers, such as urinary NGAL (148.3 [118.9–229.8] vs 91.9 [70.2–132.6] ng/mg-Cr,  $p = 0.002$ ) and urinary KIM-1 (3278 [1861–5238] vs 1440 [826–2362] pg/mg-Cr,  $p = 0.006$ ) had statistical significance (Figure 2).

### Predictive values of urinary biomarkers for death

The conventional (serum creatinine and urea) and urinary biomarkers with previous statistical significance ( $p < 0.05$ ) for death in comparisons (proteinuria, KIM-1 and NGAL) were selected for ROC curve analysis to predict death. There was observed that proteinuria, urinary KIM-1 and urinary NGAL had better AUC–ROC

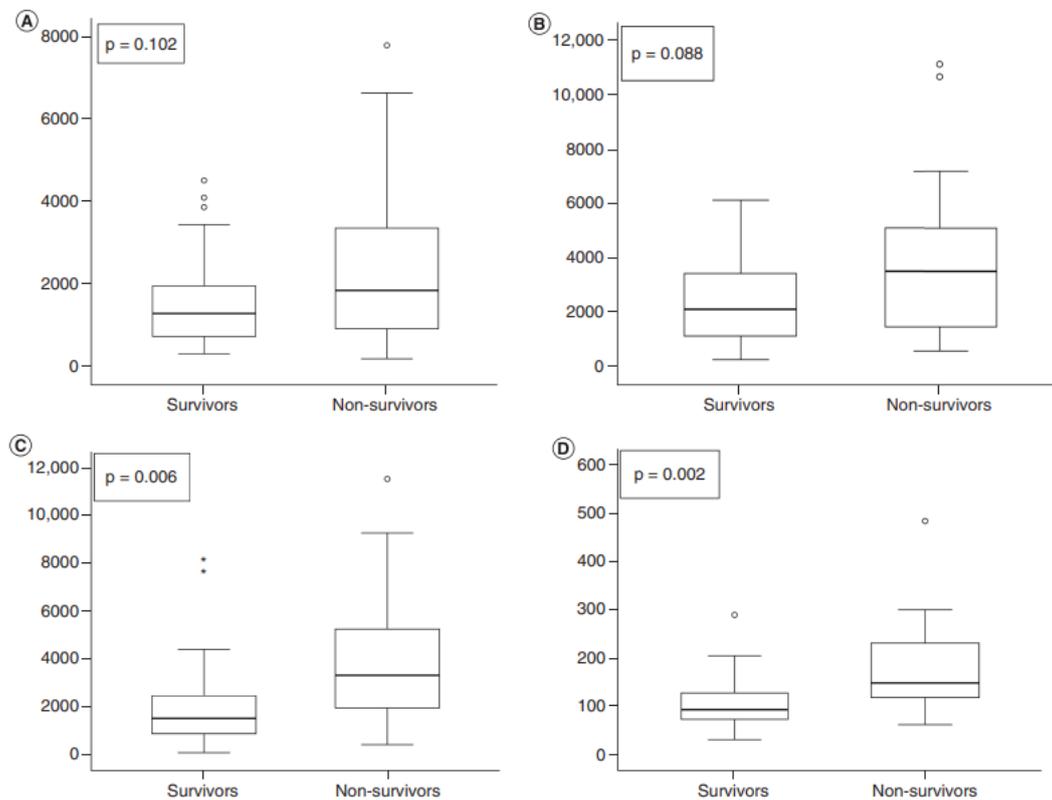
**Table 2.** Comparison between clinical features, laboratory and biomarker results according to death in COVID-19 patients on admission and during ICU stay.

Parameter	Outcome		p-value <sup>†</sup>
	Survivors (n = 36)	Non-survivors (n = 22)	
<b>ICU admission parameters</b>			
Lowest mean arterial pressure	82 ± 14.5	73.6 ± 21	0.111
Highest heart rate	105.4 ± 19.9	110.5 ± 24.8	0.414
Highest respiratory rate	27.4 ± 7.2	29.6 ± 6.3	0.308
Highest arterial lactate	1.72 ± 0.79	1.6 ± 0.69	0.768
Lowest oxygenation index	142 (109–204)	135 (85–163)	0.499
SAPS3 score	51.4 ± 14.1	65.6 ± 14.6	0.001
<b>ICU stay parameters</b>			
Unit length stay (days)	13 (7.5–18.5)	8.5 (6–17)	0.118
Ventilatory support			0.019
– Invasive	18 (56.3)	19 (86.4)	
– Not invasive	14 (43.8)	3 (13.6)	
Dialysis	8 (22.2)	13 (59.1)	0.005
Vasopressors use	15 (41.7)	17 (77.3)	0.008
<b>Laboratory data on ICU admission</b>			
Hemoglobin (g/dl)	11.8 ± 2.2	11.7 ± 2.2	0.981
Leukocytes (per mm <sup>3</sup> )	12162 ± 4546	14478 ± 6479	0.130
Lymphocytes (per mm <sup>3</sup> )	806 (559–1087)	920 (602–1246)	0.824
Platelets (10 <sup>3</sup> /mm <sup>3</sup> )	265 (208–313)	199 (150–302)	0.109
INR	1.08 ± 0.09	1.25 ± 0.47	0.052
aPTT	1.1 ± 0.25	1.35 ± 0.49	0.026
Serum urea (mg/dl)	39 (27–66)	57 (36–117)	0.049
Serum creatinine (mg/dl)	0.7 (0.6–1.05)	1.15 (0.9–1.5)	0.038
Serum potassium (mEq/l)	4 ± 1	4 ± 1	0.637
Serum sodium (mg/dl)	144 ± 6	145 ± 8	0.812
AST (U/l)	40 (27–67)	54 (34–72)	0.424
ALT (U/l)	49 (29–74)	39 (28–64)	0.35
LDH (U/l)	664 (547–881)	1027 (747–1299)	0.008
Total bilirubin (mg/dl)	0.54 (0.31–0.82)	0.58 (0.44–0.9)	0.917

C-reactive protein (pg/ml)	145.5 (35–194.4)	165.15 (127.1–248.2)	0.15
D-dimer (ng/ml)	2.27 (0.89–2.5)	2.1 (0.6–3.88)	0.813
<b>Urinary biomarkers on ICU admission</b>			
Proteinuria/creatinine ratio	0.6 (0.4–1.2)	1.5 (1–2.2)	0.004
Urinary NGAL (ng/mg-Cr)	91.9 (70.2–132.6)	148.3 (118.9–229.8)	0.002
Urinary MCP-1 (pg/mg-Cr)	2100.3 (1120.7–3436.5)	3284.9 (1315.7–5072.2)	0.088
Urinary nephrin (pg/mg-Cr)	1227 (679.7–1910.3)	1802.9 (862.8–3294.4)	0.102
Urinary KIM-1 (pg/mg-Cr)	1440.5 (826.4–2362.9)	3278.8 (1861.9–5238.6)	0.006
Quantitative data expressed as mean $\pm$ standard deviation or median and interquartile range between parenthesis according to distributions of the data. Qualitative data expressed as absolute count and percentages between parentheses.			
†The chi-square test or Fisher's exact test were applied for qualitative data and for quantitative data there was used Student's <i>t</i> test or Mann-Whitney test according to normality.			

(0.728;  $p = 0.004$ , 0.749;  $p = 0.002$  and 0.750;  $p = 0.002$ , respectively) (Table 3). In a combined approach using proteinuria\*KIM-1\*NGAL, the AUC-ROC improves for 0.810;  $p < 0.001$  (Table 3 & Figure 3).

Urinary NGAL cutoff of the 118 ng/mg-Cr had 76% of sensitivity and 71% of specificity. Urinary KIM-1 cutoff of the 1.81 ng/mg-Cr had 77% of sensitivity and 70% of specificity. Proteinuria/creatinine ratio cutoff of 0.90 had 77% of sensitivity and 67% of specificity. In combined proteinuria\*KIM-1\*NGAL, the cutoff of the 379 (ng/mg-Cr) had 71% of sensitivity and 86% of specificity (Table 3).



**Figure 2.** Box-plot of each urinary biomarkers levels evaluated on ICU admission of COVID-19, according to death during hospital stay. (A) Urinary nephrin; (B) urinary MCP-1; (C) urinary KIM-1; (D) urinary NGAL.

Parameter	Cutoff	Sensitivity(%)	Specificity(%)	AUC-ROC (CI 95%)	p-value
Serum urea (mg/dl)	52	68	67	0.659 (0.512–0.807)	0.043
Serum creatinine (mg/dl)	0.85	77	67	0.713 (0.570–0.856)	0.007
Proteinuria/creatinine ratio	0.90	77	67	0.728 (0.593–0.862)	0.004
Urinary NGAL (ng/mg-Cr)	118	76	71	0.750 (0.616–0.883)	0.002
Urinary KIM-1 (ng/mg-Cr)	1.81	77	70	0.749 (0.616–0.881)	0.002
Combined (NGAL, KIM-1 and proteinuria) (ng/mg-Cr)	379	71	86	0.810 (0.691–0.928)	<0.001

AUC-ROC: Area under the ROC curve.

### Survival analysis and Cox proportional-hazards regression models using urinary biomarkers for 2-month survival chance

The COVID-19 patients were stratified according to 'lower than' vs 'higher than' previously selected cutoff of each urinary biomarker. Patients with values higher than cutoff in all urinary biomarkers died more quickly with statistical significance using log-rank test (Figure 4).

In Cox regression analysis, ICU admission parameters associated with two-month survival chance in the univariate analysis include age, SAPS3 score, proteinuria/creatinine ratio (>0.90), urinary KIM-1 (>1.8 ng/mg-Cr), and urinary NGAL (>118.8 ng/mg-Cr). In multivariate models adjusted for age, gender, SAPS3, LDH (U/l), dialysis, comorbidities, proteinuria's cutoff, urinary KIM-1's cutoff, urinary NGAL's cutoff and vasopressors use, among

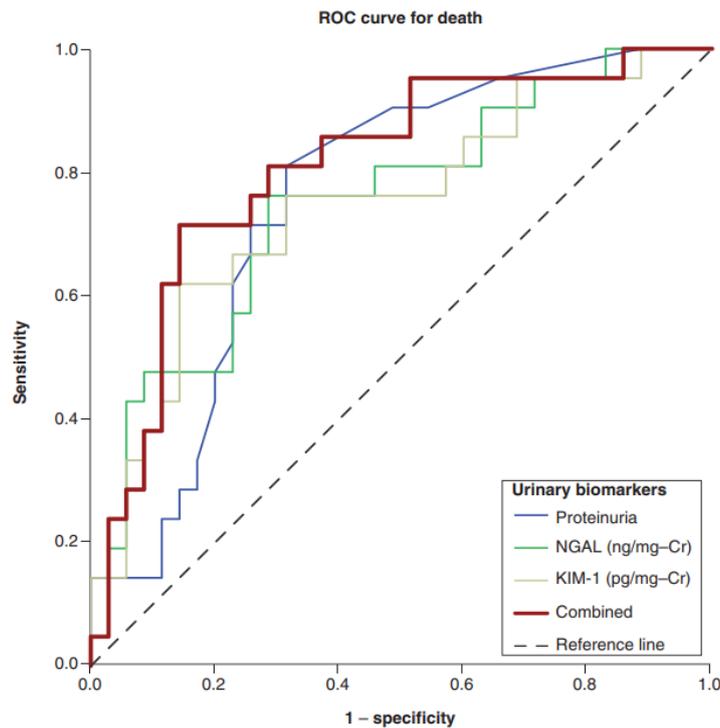


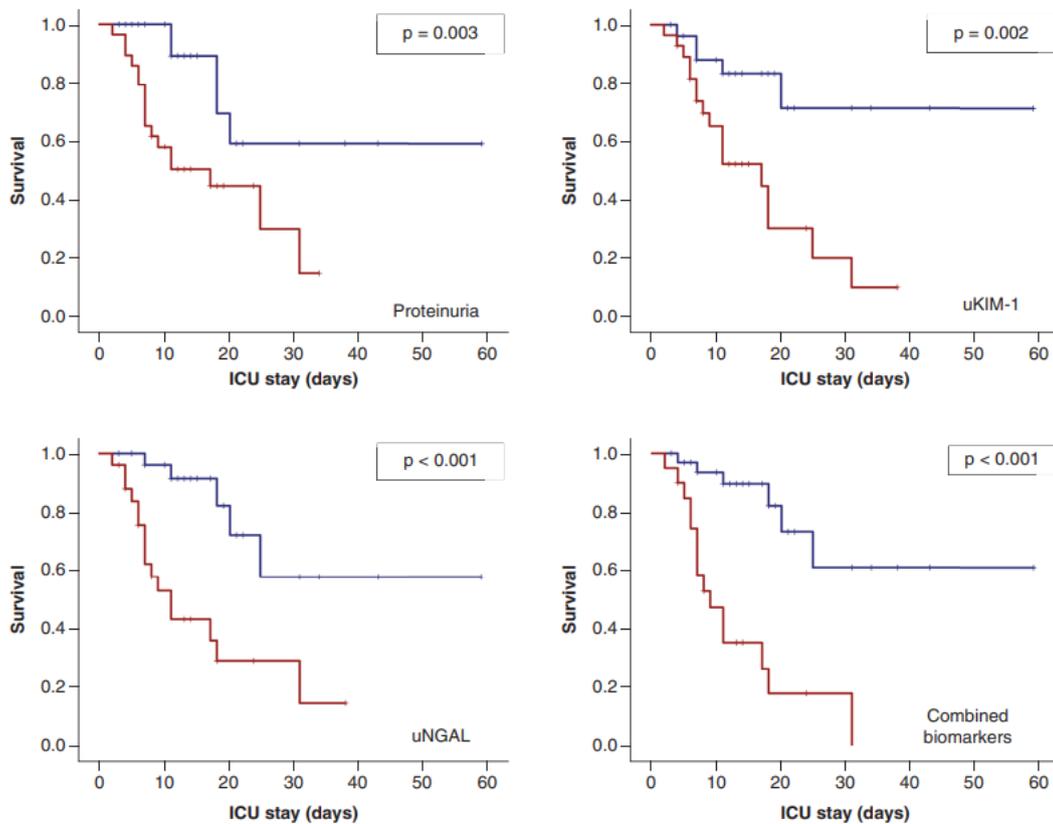
Figure 3. ROC curve analysis of urinary biomarkers for death of COVID-19 patients.

Table 4. Cox proportional-hazards regression models using urinary biomarkers for 2-month survival chance.

Parameter	Death		p-value
	Hazard ratio	CI 95%	
<b>Unadjusted</b>			
Age (per each 10 years)	1.521	1.076–2.150	0.018
SAPS3 (per each 30 points)	2.422	1.131–5.183	0.023
Dialysis	2.021	0.859–4.756	0.107
Vasopressors use	2.033	0.743–5.563	0.167
Proteinuria/creatinine ratio (>0.90)	3.962	1.441–10.698	0.007
Urinary KIM-1 (>1.8 ng/mg-Cr)	4.252	1.563–11.565	0.005
Urinary NGAL (>118.8 ng/mg-Cr)	5.363	1.954–14.718	0.001
<b>Multivariate model<sup>†</sup></b>			
Gender (male)	3.341	0.887–12.579	0.075
Dialysis	3.380	1.156–9.885	0.026
Urinary NGAL (>118.8 ng/mg-Cr)	5.666	1.761–18.227	0.004

<sup>†</sup>Adjusted for age, gender, SAPS3, LDH, Dialysis, comorbidities, proteinuria's cutoff, urinary KIM-1's cutoff, urinary NGAL's cutoff, and vasopressors use.  
AUC-ROC: Area under the ROC curve.

urinary biomarkers, only urinary NGAL remains statistically significant with two-month survival chance with hazard ratio = 5.666 (CI 95%: 1.761–18.227),  $p = 0.004$ , in the final model (Table 4).



**Figure 4.** Analysis for 2-month survival with comparisons using previous determined cutoff values of each urinary biomarker. Red curve: COVID-19 patients with urinary levels higher than cutoff. Blue curve: COVID-19 patients with urinary levels lower than cutoff.

### Discussion

This present study addressed the level of urinary biomarkers related to glomerular or tubular changes in severe COVID-19 patients and its early association with death. This cohort study documented a strong association between kidney tubular damage and mortality in COVID-19 in the intensive care setting. Assessing urinary biomarkers on hospital admission in these patients might provide additional value in predicting not just kidney impairment but the risk of death.

There are many pathways that could lead to kidney damage following SARS CoV-2 infection, such as inflammatory and immune systemic responses, endothelial injury, activation of the coagulation cascade, disrupted renin–angiotensin system and pathological crosstalk between lung and kidney [23]. In this present study, the greatest need for ventilatory support (mainly mechanical ventilation), dialysis and vasopressors were related with multiorgan failure in severe COVID-19, as have been reported in others studies [11,24]. Acute hypoxemia might interfere in kidney function and increase renal vascular resistance, which might contribute to renal hypoperfusion and acute tubular injury [25,26]. As with all instances of multiorgan failure, there is a high mortality rate and need for mechanical ventilatory support in severe patients with COVID-19 [23]. Complex crosstalk between lung and kidney has been reported in severe patients with COVID-19. Indeed, the mechanical ventilatory support with high positive end-expiratory pressure (PEEP) increases the risk of AKI in severe patients, leading to higher mortality, too [27]. Moreover, the renal blood flow may be more compromised in SARS-Cov-2 patients than in acute respiratory distress syndrome following other illnesses [25].

This present study observed kidney proximal and possible distal tubular damage due to elevated levels of proteinuria, urinary NGAL and KIM-1 in patients with COVID-19 who had worse prognosis and died more

quickly. Proteinuria also had important predictive values for death in COVID-19 patients, mainly when evaluated with kidney tubular damage biomarkers (NGAL and KIM-1) in the combined analysis.

The proteinuria is common in COVID-19 and has been reported even in the absence of AKI and may denote a subclinical insult [28,29]. Proteinuria results from glomerular membrane barrier permeability dysfunction or impaired reabsorption by epithelial cells of proximal tubuli [30]. Most reports strongly support the notion that acute tubular injury is the primary lesion driving the kidney injury following the COVID-19 [31]. According to autopsy studies, acute tubular injury is by far the most common finding in kidneys of patients with COVID-19 [23]. Some studies have reported mild proteinuria, which corroborates with tubular dysfunction. However, tubular proteinuria has been associated with mortality [28]. Unfortunately, proteinuria is well recognized as a marker of chronic kidney disease (CKD) and its progression, being a risk factor for cardiovascular events and death among both the general and CKD populations [30]. In fact, in this present study, isolated and combined proteinuria with tubular biomarkers were more reliable to predict the death of the patients with COVID-19 with no previous CKD.

The KIM-1, a molecule upregulated upon kidney injury, is a potential receptor for SARS-CoV-2 [32]. KIM-1 is expressed in lung and kidney epithelial cells in COVID-19 patients and is a receptor for SARS-CoV-2 [32]. Furthermore, higher urine concentrations of KIM-1 were independently associated with death and could be associated with proximal tubule injury and implicated in ischemia-reperfusion injury in kidney [33]. Among multiorgan manifestations in COVID-19 patients, apart from the lung, the kidney is highly vulnerable, and renal dysfunctions are strongly associated with mortality [32]. A previous study has related tubular markers, such as KIM-1 and N-acetyl-beta-glucosaminidase, with AKI and severe disease in COVID-19 patients. Moreover, the overexpression of the KIM-1 during SARS-CoV 2 invasion could provide insights into potential therapeutic targets. Assessing KIM-1 on the admission of patients with COVID-19 might provide additional value in predicting mortality and improve the early management of the clinical complications.

This current study confirmed that a high urinary NGAL level is a potential strong predictor of a high risk of in-hospital death, even after adjusting for parameters well recognized for death in COVID-19 and other possible cofounds factors. Urinary NGAL is a novel biomarker of renal tubular injury and has presented good sensibility and accuracy in detecting AKI in several settings, and elevated levels of urinary NGAL were more associated with proximal and distal tubular injury [34]. Studies with systemic and urinary NGAL as predictors of AKI evidenced the importance of avoiding mortality before surgery and other interventions [35]. A recent study validated a prognostic model of AKI and in-hospital death in the same setting using NGAL and artificial intelligence, and presented a similar conclusion [36]. Hence, this present study suggests important targets of kidney dysfunction along tubular tissue during COVID-19 infection and its impact on survival in the context of severe COVID-19 profile. This present discovery supports the use of NGAL as a valuable biomarker that may improve earlier diagnosis and better assess risk groups.

On the other hand, in this present study, biomarkers related to glomerular dysfunction such as urinary nephrin and MCP-1 had no association with mortality. Urinary MCP-1 and nephrin may be a proxy of glomerular impairment, which plays an important role in kidney diseases and has been studied in diverse scenarios [37,38]. The glomerular damage in COVID-19 is not common and has been described in patients with *APOL1* genotypes, related to collapsing glomerulopathy in black patients [39]. This present study corroborates with this hypothesis, being the evident kidney tubular damage detected and associated with death rather than glomerular injury.

### Limitations

This is a single-center study with small sample size, even though several effects could be detected. Some clinical data, such as the previous comorbidities and medications, such as nephrotoxic agents, were lacking. The sample size was compromised with almost half of critically ill patients excluded, because other concomitant causes could interfere with the death outcome rather than only COVID-19 infection complications. The 24-h collection that would help to correct factors such as hypovolemia was not performed. The changes in biomarkers after admission was not evaluated, and as the indication for hospitalization of patients with COVID-19 depends on the facilities, data at the time of admission alone may not be sufficient.

### Conclusion

Kidney tubular biomarkers were markedly higher in the non-survival patients, being the urinary NGAL an independent predictor of the death in COVID-19. Also, severe COVID-19 infection affects mostly kidney tubular cells rather than glomerular structure.

### Summary points

#### Background

- Kidney involvement in COVID-19 is common and is an independent risk factor for all-cause in-hospital death of COVID-19 patients.
- Assessment of novel urinary biomarkers may be promising way for the early detection of COVID-19 complications, improving patients care and ultimately decreasing mortality.

#### Methods

- A prospective study with critically ill COVID-19 patients, and their urine was collected in the first hours of ICU admission for kidney biomarkers quantification.
- The prediction performance of urinary biomarkers for death during ICU stay was evaluated using ROC curve and Kaplan–Meier analysis with Cox regression.

#### Results

- Elevated levels of kidney tubular biomarkers, such as proteinuria, urinary NGAL and urinary KIM-1, were associated with poor prognosis and mortality of COVID-19 patients in the intensive care setting.
- Urinary NGAL was an independent predictor for the death of COVID-19 in multivariate Cox regression.

#### Conclusions

- Severe COVID-19 infection may primarily affect kidney tubular cells rather than glomerular structure.
- Assessing urinary biomarkers, mostly urinary NGAL, on hospital admission might provide additional value in predicting kidney impairment as well as the risk of death.

#### Author contributions

Silva JC; Guimarães RR; Guimarães FR; Guimarães AR: collected data from the patients' medical records. Mota SMB; Adamian CMC; Dantas MMP; Bandeira ICJ: collected biological material from the patients. Meneses GC; Albuquerque PLMM: Performed data analysis and assisted in the manuscript review. Lopes NC; Santos RSS; Lima PR: carried out the experiments of quantification of biomarkers. Meneses GC; Bezerra GF; Oria RB; Daher EF; Junior GBS; Martins AMC: reviewed the literature, planned the study design, writing and reviewing the article.

#### Acknowledgments

The authors are very grateful to the entire team of professionals at Instituto Dr José Frota Hospital who joined forces to care critical patients with COVID-19 and contribute to the collection of them samples for this study.

#### Financial & competing interests disclosure

Brazilian Coordination of Post-Graduation-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 Post-Graduation-Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) supported materials used: number of the process support 1: 88881.505364/2020-01; number of the process support 2: 88881.507066/2020-01. The authors have no other relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript apart from those disclosed.

No writing assistance was utilized in the production of this manuscript.

#### Ethical conduct of research

This study was approved by the national committee on ethics in research, under CAAE number: 30579020.4.1001.0008.

#### References

1. Yang P, Wang X. *COVID-19: a new challenge for human beings*. Springer Nature 17, 555–557 (2020).
2. Pinto B, Pinto Moehlecke Iser-Av José Acácio Moreira B. Suspected COVID-19 case definition: a narrative review of the most frequent signs and symptoms among confirmed cases. *Epidemiol. Serv. Saude, Brasília* 29(3), 2020 (2020).
3. Hu B, Huang S, Yin L. *The cytokine storm and COVID-19*. John Wiley and Sons Inc. 93, 250–256 (2021).
4. Grasselli G, Greco M, Zanella A *et al*. Risk factors associated with mortality among patients with COVID-19 in intensive care units in Lombardy, Italy Supplemental content. *JAMA Intern. Med.* 180(10), 1345–1355 (2020).
5. Albitar O, Ballouze R, Ooi JP, Maisharah S, Ghadzi S. Risk factors for mortality among COVID-19 patients. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 166, 108293 (2020).
6. Zhou F, Yu T, Du R *et al*. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet* 395(10229), 1054–1062 (2020).

7. WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard | WHO Coronavirus Disease (COVID-19) Dashboard. CEST, 29 April 2022. <https://covid19.who.int>.
8. 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).
9. SARS-CoV-2 renal tropism associates with acute kidney injury. *Lancet* 396(10251), 597–598 (2020).
10. Acute kidney injury in COVID-19 patients | LIVES 2020.
11. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M *et al.* Presenting characteristics, comorbidities, and outcomes among 5700 patients hospitalized with COVID-19 in the New York City Area. *J. Am. Med. Assoc.* 323(20), 2052–2059 (2020).
12. 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).
13. Varga Z, Flammer AJ, Steiger P *et al.* Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet Publishing Group* 395, 1417–1418 (2020).
14. Diao B, Wang C, Wang R *et al.* Human kidney is a target for novel severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) infection. *medRxiv* 12(1), 2506 (2020).
15. 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).
16. Ronco C, Reis T. Kidney involvement in COVID-19 and rationale for extracorporeal therapies. *Nat. Rev. Nephrol.* 16(6), 308–310 (2020).
17. Zhang Y, Xiao M, Zhang S *et al.* Coagulopathy and antiphospholipid antibodies in patients with Covid-19. *N. Engl. J. Med.* 382(17), e38 (2020).
18. Moledina DG, Parikh CR. Phenotyping of acute kidney injury: beyond serum creatinine. *Semin Nephrol.* 38(1), 3–11 (2018).
19. Waikar SS, Betensky RA, Emerson SC, Bonventre JV. Imperfect gold standards for kidney injury biomarker evaluation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 23(1), 13–21 (2012).
20. Lima C, Macedo E. Urinary biochemistry in the diagnosis of acute kidney injury. *Dis. Markers* 2018, 4907024 (2018).
21. Kellum JA, Lameire N, Aki K, Work G. Art: 10.1186/Cc11454. (Part 1), 17, 1–15 (2013).
22. Waikar SS, Sabbiseti VS, Bonventre JV. Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. *Kidney Int.* 78(5), 486–494 (2010).
23. Legrand M, Bell S, Forni L *et al.* Pathophysiology of COVID-19-associated acute kidney injury. *Nat. Rev. Nephrol.* 17(11), 751–764 (2021).
24. Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A *et al.* Baseline characteristics and outcomes of 1591 patients infected with SARS-CoV-2 admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA* 323(16), 1574 (2020).
25. Fogagnolo A, Grasso S, Dres M *et al.* Focus on renal blood flow in mechanically ventilated patients with SARS-CoV-2: a prospective pilot study. *J. Clin. Monit. Comput.* 36(1), 161–167 (2021).
26. Darmon M, Schortgen F, Vargas F *et al.* Diagnostic accuracy of Doppler renal resistive index for reversibility of acute kidney injury in critically ill patients. *Intensive Care Med.* 37(1), 68–76 (2011).
27. Ottolina D, Zazzeron L, Trevisi L *et al.* Acute kidney injury (AKI) in patients with Covid-19 infection is associated with ventilatory management with elevated positive end-expiratory pressure (PEEP). *J. Nephrol.* 35(1), 99–111 (2021).
28. Huart J, Bouqueneau A, Lutteri L *et al.* Proteinuria in COVID-19: prevalence, characterization and prognostic role. *J. Nephrol.* 34(2), 355–364 (2021).
29. Mohamed MMB, Velez JCQ. Proteinuria in COVID-19. *Clin. Kidney J.* 14(Suppl. 1), i40–i47 (2021).
30. Luis J, Martinez-castelao A. Proteinuria: detection and role in native renal disease progression. *Transplant. Rev.* 26(1), 3–13 (2012).
31. Mohamed MMB, Lukitsch I, Torres-Ortiz AE *et al.* Acute kidney injury associated with coronavirus disease 2019 in Urban New Orleans. *Kidney 360* 1(7), 614–622 (2020).
32. Yang C, Zhang Y, Zeng X *et al.* Kidney injury molecule-1 is a potential receptor for SARS-CoV-2. *J. Mol. Cell Biol.* 13(3), 185–196 (2021).
33. Vanmassenhove J, Vanholder R, Nagler E, Van Biesen W. Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature. *Nephrol. Dial. Transplant.* 28(2), 254–273 (2013).
34. Kuwabara T, Mori K, Mukoyama M *et al.* Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin levels reflect damage to glomeruli, proximal tubules, and distal nephrons. *Kidney Int.* 75(3), 285–294 (2009).
35. de Geus HRH, Ronco C, Haase M, Jacob L, Lewington A, Vincent J-L. The cardiac surgery-associated neutrophil gelatinase-associated lipocalin (CSA-NGAL) score: a potential tool to monitor acute tubular damage. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg.* 151(6), 1476–1481 (2016).
36. He L, Zhang Q, Li Z *et al.* Incorporation of urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and computed tomography quantification to predict acute kidney injury and in-hospital death in COVID-19 patients. *Kidney Dis.* 7(2), 120–130 (2020).

37. Munshi R, Johnson A, Siew ED *et al.* MCP-1 gene activation marks acute kidney injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 22(1), 165–75 (2011).
38. Kostovska I, Trajkovska T, Topuzovska S *et al.* Urinary nephrin is earlier, more sensitive and specific marker of diabetic nephropathy than microalbuminuria. *J. Med. Biochem.* 39(1), 83–90 (2019).
39. Wu H, Larsen CP, Hernandez-Arroyo CF *et al.* AKI and Collapsing glomerulopathy associated with COVID-19 and APOL 1 high-risk genotype. *J. Am. Soc. Nephrol.* 31(8), 1688–1695 (2020).