UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

Viviane Schmitt Jahnke

Parâmetros de urinálise em pacientes graves com COVID-19 com e sem lesão renal aguda: um estudo transversal retrospectivo

Porto Alegre
2024

Viviane Schmitt Jahnke

Parâmetros de urinálise em pacientes graves com COVID-19 com e sem lesão renal aguda: um estudo transversal retrospectivo

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profª Drª Liane Nanci Rotta

Coorientadores: Dr. José Antônio Tesser Poloni

Prof Dr. Pedro R. Torres Romão

Porto Alegre

2024

Catalogação na Publicação

Schmitt Jahnke, Viviane
Parâmetros de urinálise em pacientes graves com COVID-19 com e sem lesão renal aguda: um estudo transversal retrospectivo / Viviane Schmitt Jahnke. -- 2024.
67 p. : graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, 2024.

Orientador(a): Profa. Dra. Liane Nanci Rotta ; coorientador(a): Dr. José Antônio Tesser Poloni, Prof. Dr. Pedro Torres Romão.

1. Lesão renal aguda. 2. sedimento urinário. 3. medicina laboratorial. 4. mortalidade. 5. monitoramento clínico. I. Título.

Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da UFCSPA com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

RESUMO

Introdução: A pandemia de COVID-19 trouxe impactos severos à saúde pública, especialmente em indivíduos com comorbidades, como hipertensão e diabetes. A lesão renal aguda (LRA) é uma complicação comum em casos graves, associada a altas taxas de mortalidade. Urinalises e biomarcadores urinários surgem como ferramentas promissoras para detecção precoce e prognóstico da LRA em pacientes infectados. Este estudo teve como objetivo identificar potenciais biomarcadores urinários preditivos de LRA e desfecho fatal em pacientes com COVID-19. **Método:** Trata-se de um estudo transversal realizado com 60 pacientes positivos para SARS-CoV-2, dos quais 39 foram hospitalizados com COVID-19 grave (19 com LRA e 20 sem LRA) e 21 apresentaram quadro leve (grupo controle). As coletas incluíram urina espontânea ou por sonda, processadas em até 2 horas. Foram analisadas variáveis clínicas, urinalises (por fita reagente e microscopia), citocinas inflamatórias, marcadores de estresse oxidativo (EO) e biomarcadores renais. A classificação de LRA foi feita conforme os critérios KDIGO 2012. Os dados foram analisados com testes estatísticos apropriados e curvas ROC para avaliação preditiva. **Resultados:** Pacientes com COVID-19 grave apresentaram maior idade, índice de massa corporal, presença de comorbidades e mortalidade. Hematuria e proteinúria foram achados frequentes na urina de hospitalizados. Níveis reduzidos de TFF-3 e aumentados de CXCL10 e KIM-1 foram observados em pacientes com LRA. O biomarcador TFF-3 apresentou o melhor desempenho preditivo para LRA e óbito (AUC 0,899), com valor de corte ≤0,306 ng/mL. Proteinúria também se associou ao desfecho negativo. **Discussão:** A presença de proteinúria, hematuria e alterações no sedimento urinário refletem lesões renais associadas à COVID-19. O TFF-3, envolvido na proteção epitelial, apresentou queda significativa nos pacientes com LRA, sugerindo perda da integridade tubular renal. Outros marcadores como CXCL10 e KIM-1 reforçam a participação da inflamação e do dano tubular no agravamento da função renal. O uso da urina como matriz de avaliação oferece vantagens pela fácil coleta e pela capacidade de refletir alterações precoces no rim. **Conclusão:** A avaliação de TFF-3 e proteinúria em amostras urinárias de pacientes com COVID-19 grave pode contribuir para a identificação precoce de LRA e risco de morte. A integração desses biomarcadores com urinalises convencionais amplia o potencial diagnóstico e prognóstico no contexto hospitalar, favorecendo a tomada de decisão clínica e a melhor alocação de recursos terapêuticos.

Palavras chaves: Lesão renal aguda, sedimento urinário, patologia renal, medicina laboratorial, monitoramento clínico, mortalidade.

ABSTRACT

Introduction: The COVID-19 pandemic has had severe impacts on public health, especially among individuals with comorbidities such as hypertension and diabetes. Acute kidney injury (AKI) is a common complication in severe cases and is associated with high mortality rates. Urinalysis and urinary biomarkers have emerged as promising tools for early detection and prognosis of AKI in infected patients. This study aimed to identify potential urinary biomarkers predictive of AKI and fatal outcomes in patients with COVID-19. **Method:** This is a cross-sectional study conducted with 60 patients who tested positive for SARS-CoV-2, of which 39 were hospitalized with severe COVID-19 (19 with AKI and 20 without AKI) and 21 had a mild condition (control group). Urine samples were collected either spontaneously or via catheter and processed within 2 hours. Clinical variables, urinalysis (dipstick and microscopy), inflammatory cytokines, oxidative stress (OS) markers, and renal biomarkers were analyzed. AKI classification followed the 2012 KDIGO criteria. Data were analyzed using appropriate statistical tests and ROC curves for predictive evaluation. **Results:** Patients with severe COVID-19 were older, had higher body mass index, more comorbidities, and higher mortality. Hematuria and proteinuria were frequent findings in hospitalized patients. Decreased levels of TFF-3 and increased levels of CXCL10 and KIM-1 were observed in AKI patients. The biomarker TFF-3 showed the best predictive performance for AKI and death (AUC 0.899), with a cutoff value of ≤0.306 ng/mL. Proteinuria was also associated with negative outcomes. **Discussion:** The presence of proteinuria, hematuria, and changes in urinary sediment reflect kidney injury associated with COVID-19. TFF-3, involved in epithelial protection, was significantly reduced in AKI patients, suggesting loss of tubular integrity. Other markers, such as CXCL10 and KIM-1, reinforce the role of inflammation and tubular damage in the worsening of renal function. The use of urine as an evaluation matrix offers advantages due to its easy collection and its ability to reflect early changes in the kidney. **Conclusion:** The evaluation of TFF-3 and proteinuria in urine samples from patients with severe COVID-19 may contribute to the early identification of AKI and risk of death. The integration of these biomarkers with conventional urinalysis enhances diagnostic and prognostic potential in hospital settings, supporting clinical decision-making and better allocation of therapeutic resources.

Keywords: Acute kidney injury, urine sediment, renal pathology, laboratory medicine, clinical monitoring, mortality.

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO CIENTÍFICO

LISTA DE TABELAS

ARTIGO CIENTÍFICO

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS

ACE2	Enzima conversora de angiotensina tipo 2
AOPP	Produtos da oxidação avançada de proteínas (do inglês *Advanced Oxidation Protein Products*)
CCL2/ MCP-1	Ligante 2 de quimiocina/ Proteína quimioatraente de monócitos-1 (do inglês *Monocyte chemoattractant protein-1*)
CCL4/ MIP-1ß	Ligante 4 de quimiocina / Proteína inflamatória de macrófagos-1beta (do inglês *Monocyte inflammatory protein-1β*)
CCL5/ RANTES	Ligante 5 de quimiocina/ regulado na ativação, células T normais expressas e secretadas (do inglês *regulated on activation, normal T-cell expressed and secreted*)
FABP-1	Proteína ligadora de ácidos graxos (do inglês *Fatty acid binding protein*)
GST	Glutationa-S-transferase
IFN-γ	Interferon gama
IL-17	Interleucina 17
IL-1ß	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IP-10	Proteína Induzida por Interferon Gama 10kDa (do inglês *Interferon Gamma Induced Protein 10kDa*)
KDIGO	Doenças Renais: Melhorando os Resultados Globais (do inglês *Kidney Diseases: Improving Global Outcomes*)
KIM-1	Molécula de injúria renal (do inglês *Kidney injury molecule*)
LRA	Lesão renal aguda
ROS	Espécies reativas de oxigênio (do inglês *Reactive oxygen species*)
RT-qPCR	Reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa em tempo real
SDRA	Síndrome do desconforto respiratório agudo
SLC	Síndrome de liberação de citocinas
TBARS	Espécies reativas ao ácido tiobarbitúrico (do inglês *Thiobarbituric acid reactive substances)*
TFF-3	Fator trefoil-3 (do inglês *Trefoil factor*)
TIM-1	Inibidor tecidual da metalloproteinase 1 (do ingles *Tissue inhibitor of metalloproteinase 1)*
TNF-α	Fator de necrose tumoral alfa (do inglês *Tumoral necrosis factor-α*)
UTI	Unidade de terapia intensiva

1 INTRODUÇÃO

A pandemia de COVID-19, causada pelo vírus SARS-CoV-2, emergiu como um desafio global sem precedentes, afetando significativamente a saúde pública, as economias e os sistemas de saúde em todo o mundo. Desde o seu surgimento, milhões de casos foram registrados, destacando a rápida disseminação do vírus e sua capacidade de impactar comunidades inteiras. A complexidade da resposta à pandemia revelou a interconexão entre as dimensões biológicas, sociais e políticas da saúde global. As medidas de controle da pandemia (distanciamento social, uso de máscaras e campanhas de vacinação em massa) tornaram-se imperativas para mitigar a propagação do vírus e proteger a população. Além dos desafios imediatos de contenção da doença, a pandemia também trouxe à tona questões críticas relacionadas à equidade no acesso a recursos de saúde, à resiliência dos sistemas de saúde e a necessidade de colaboração internacional para enfrentar ameaças à saúde pública em escala global (AQUINO et al., 2020).

A gravidade da COVID-19 está relacionada aos danos causados pelo vírus às células hospedeiras, devido uma imunodesregulação a resposta imunológica do organismo (PROMPETCHARA; KETLOY; PALAGA, 2020). Em pacientes com COVID-19, pode ocorrer uma condição inflamatória potencialmente mortal conhecida como Síndrome de Liberação de Citocinas (SLC) ou "tempestade de citocinas". Esta condição é caracterizada pela liberação excessiva de citocinas pro-inflamatórias, levando a uma resposta inflamatória descontrolada que pode resultar em dano tecidual significativo e falência de múltiplos órgãos (MOORE; JUNE, 2020).

A avaliação de citocinas, marcadores de estresse oxidativo e de dano renal em amostras de urina provenientes de pacientes com COVID-19 adquire significativa importância na diferenciação dos desfechos clínicos, isto é, a avaliação de citocinas e estresse oxidativo, oferecem uma perspectiva promissora na avaliação da LRA e mortalidade em COVID-19. A correlação desses dados com os parâmetros convencionais de urinálise não só fornece uma visão abrangente da resposta inflamatória e do estresse oxidativo associados à infecção, mas também se mostra essencial para guiar o monitoramento contínuo dos pacientes ao longo do curso da doença (CECCHINI; CECCHINI, 2020; DELGADO-ROCHE; MESTA, 2020; NTYONGA-PONO, 2020).

A Lesão Renal Aguda (LRA) na COVID-19 apresenta uma manifestação multifacetada de problemas renais, caracterizados pela presença de hematúria, proteinúria,

piúria e um agravamento da perda da função renal. Esses achados urinários, considerados marcadores sensíveis de disfunção renal, destacam-se como indicadores cruciais na avaliação da gravidade da doença (SU et al., 2020). A presença exacerbada de citocinas inflamatórias, desencadeadas pela resposta imunológica do hospedeiro ao vírus, contribui para o estresse oxidativo, intensificando assim os danos nos tecidos renais (ALMEIDA et al., 2020). Esta interconexão entre achados urinários, estresse oxidativo e citocinas inflamatórias destaca a complexidade da resposta do sistema renal à infecção pelo SARS-CoV-2.

Uma análise da literatura revela que citocinas proeminentes, como IL-6, IL-2, IL-7, IL-10, G-CSF, IFN-γ, CXCL10, TNF-α, MCP-1 (CCL2) e a Proteína Inflamatória de Macrófagos MIP-1α (CCL4) desempenham um papel crucial na patogênese da COVID-19. O aumento dessas citocinas inflamatórias, muitas das quais são associadas à resposta imunológica exacerbada, tem sido consistentemente observado em pacientes afetados pela doença. Essa elevação sustentada de citocinas pró-inflamatórias desencadeia uma cascata de eventos que contribuem para a gravidade da doença. Esses mediadores inflamatórios não apenas influenciam a resposta imunológica do hospedeiro ao vírus, mas também desempenham um papel significativo na interação complexa entre a inflamação e a função renal (HIRANO; MURAKAMI, 2020; LIU et al., 2020). A compreensão do aumento dessas citocinas fornece uma base sólida para a investigação de marcadores renais específicos, uma vez que a interconexão entre a resposta inflamatória sistêmica e a disfunção renal é intrinsecamente vinculada.

A busca por biomarcadores renais ideais na LRA associada à COVID-19 destaca a necessidade de parâmetros que atendam a critérios específicos, como alta sensibilidade e especificidade, valor prognóstico, resposta rápida ao tratamento e capacidade de diferenciar a causa da lesão renal. Entre os biomarcadores identificados, CXCL10 (ligante de quimiocina de motivo C-X-C 10), a FABP-1 (Fatty acid binding protein 1), a KIM- 1 (Kidney Injury Molecule 1), o TFF-3 (Trefoil Factor 3), o TIMP-1 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1) e a GST (Glutationa-S-Transferase) mostraram-se particularmente relevantes (BRUSA et al., 2022; GUEDJ et al., 2021; HUANG et al., 2019; LOGA et al., 2022; TANAKA et al., 2018; YASAR et al., 2022).

A avaliação desses biomarcadores, das citocinas e do estresse oxidativo oferecem uma perspectiva promissora na avaliação da LRA e na mortalidade na COVID-19, não apenas fornecendo dados valiosos sobre a extensão da lesão renal, mas também desempenhando um papel crucial como indicadores de desenvolvimento da LRA. Assim, este estudo tem como

objetivo principal investigar de forma abrangente a interação entre a COVID-19 e a LRA e a mortalidade, utilizando a análise integrada da urinálise, biomarcadores urinários, citocinas inflamatórias e estresse oxidativo, de forma a fornecer dados prognósticos que possam orientar estratégias de diagnóstico e tratamento personalizadas para pacientes afetados pela complexa interação entre a COVID-19 e a função renal.

1.1 COVID-19

A Coronavírus Disease 19 (COVID-19) é uma infecção respiratória aguda causada pelo coronavírus da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), de elevada transmissibilidade e de distribuição global (OMS, 2019; CHEN et al., 2020; ZHU et al., 2020). A pandemia da COVID-19 teve implicações profundas em nível mundial, levando a medidas como restrições de viagem, confinamentos, distanciamento social e esforços intensivos para desenvolvimento de vacinas e tratamentos (AQUINO et al., 2020b).

Em dezembro de 2019, um número considerável de pacientes com pneumonia de causa desconhecida foi admitido em hospitais na cidade de Wuhan, na China (BOGOCH et al., 2020; ROTHAN, BYRAREDDY, 2020). Relatórios da Organização Mundial da Saúde (OMS) indicaram que até 3 de janeiro de 2020, havia 44 pacientes identificados com essa forma de pneumonia misteriosa, sendo que 11 deles estavam em estado grave. Em 8 de janeiro de 2020, análises do material genético do agente causador revelaram a presença de um novo tipo de coronavírus (inicialmente chamado de "2019-nCoV"), apontado como possível responsável pela condição. Esse coronavírus foi posteriormente denominado oficialmente como SARS-CoV-2 (BOGOCH et al., 2020; OMS 2019).

Consequentemente, o surto dessa nova doença respiratória se propagou: inicialmente em Wuhan, depois para outras áreas da China e para diferentes partes do mundo. A Organização Mundial da Saúde declarou a situação como uma pandemia em março de 2020, dada a rápida disseminação global do vírus (LANA et al., 2020).

De acordo com o Painel de Controle do Coronavírus da OMS, que reuniu as principais estatísticas desde o início da pandemia, os casos acumulados em todo o mundo agora de janeiro de 2020 a maio de 2024 são de 773.543.864, com mais sete milhões de mortes, o número exato atualmente é de 7.013.252. Conforme dados panorâmicos do informativo de coronavírus do Ministério da Saúde, no início da pandemia no Brasil o número de novos casos aumentou gradualmente, sendo que em junho de 2020 ultrapassou 200 mil casos

notificados por semana, com um pico maior ainda em julho do mesmo ano com 319 mil e em dezembro com 330 mil, já acumulando mais de 7 milhões de infectados, com uma taxa de mortalidade de 50,85 a cada 100 mil habitantes. Em 2021 os maiores picos de contaminação foram em março com 539 mil novos casos por semana e em julho com 508 mil, quando a taxa de mortalidade subiu para 98,39 a cada 100 mil habitantes. Posteriormente, as taxas apresentaram um declínio até dezembro de 2021 chegando a 52 mil infectados por semana.

No ano de 2022, da metade do mês de janeiro foi registrada uma onda da doença com 1.305.447 novos casos notificações por semana; mesmo já tendo o desenvolvimento das vacinas a taxa de mortalidade era de 1,63 a 100 mil habitantes. No ano de 2023 foram registrados no mesmo período de janeiro 157 mil novos casos por semana, já somando 36.488.386 casos acumulados, tendo somente baixas nos números de infectados.

Em 5 de maio de 2023 a OMS declara o fim da Emergência de Saúde Pública de Importância Internacional, referente à COVID-19. Porém, a pandemia, no Brasil, apresentou um rápido crescimento absoluto a partir do primeiro caso relatado em 25 de fevereiro de 2020. Hoje no Brasil até final do mês de maio de 2024 se somam 38.806.622 de casos confirmados e 712.205 óbitos decorrentes da pandemia de COVID-19 (DATASUS 2024; OMS 2024).

Como resultado do isolamento social e do fechamento de fronteiras, se observou, em escala global, uma significativa paralisação nas atividades comerciais, de serviços e de indústrias. A economia mundial foi fortemente impactada, sendo que os países mais dependentes do turismo enfrentaram consequências ainda mais severas. A capacidade de um país enfrentar a crise está diretamente relacionada a três fatores principais: o tamanho de seu Produto Interno Bruto (PIB), a estabilidade de sua situação fiscal e a estrutura de sua economia. Países com PIB mais robusto, situação fiscal equilibrada e uma menor dependência do comércio internacional e do turismo têm uma maior resiliência para superar a crise (SENHORAS, 2020).

No Brasil enfrentou-se uma recessão econômica devido às medidas de isolamento social e restrições implementadas para conter a propagação do vírus. A paralisação de diversas atividades econômicas impactou negativamente a produção e o consumo de bens e serviços, e a crise econômica resultou em um aumento significativo no desemprego. Setores como o comércio, os serviços e o turismo foram particularmente afetados, levando a demissões em larga escala (MINISTÉRIO DA ECONOMIA 2020; IBGE 2022).

A volatilidade nos mercados financeiros internacionais, combinada com preocupações sobre a situação econômica do Brasil, contribuiu para a desvalorização da moeda brasileira, o real. O governo brasileiro implementou uma série de medidas para tentar mitigar os impactos econômicos da pandemia. Isso incluiu programas de auxílio emergencial para a população vulnerável e medidas para apoiar empresas e manter empregos. Embora o Brasil tenha experimentado uma retomada gradual, a recuperação econômica tem sido desigual entre os setores. A velocidade da recuperação também foi influenciada pela evolução da pandemia e pela eficácia das políticas adotadas (MINISTÉRIO DA ECONOMIA, 2020).

A pandemia impactou no sistema de saúde em algumas regiões, especialmente durante os picos da pandemia, quando houve uma sobrecarga intensa nos sistemas de saúde, levando à ocupação elevada de leitos hospitalares, escassez de insumos médicos e desafios na gestão de recursos humanos (TEIXEIRA et al., 2020).

Além disso, ressalta-se o impacto na saúde mental da população brasileira. O isolamento social, o medo da doença, as perdas de entes queridos e as consequências econômicas contribuíram para o aumento de casos de ansiedade, de depressão e de estresse, impactando no aumento das desigualdades sociais e de saúde no Brasil. Assim, houve uma contribuição para o estabelecimento ou aumento de populações vulneráveis, incluindo aquelas em situação de baixa renda e em áreas periféricas, que enfrentaram maiores dificuldades de acesso a serviços de saúde e foram mais impactadas pela pandemia (FARO et al., 2020; BÓGUS, MAGALHÃES, 2022).

O SARS-CoV-2 afeta principalmente o trato respiratório, onde infecta penumócitos, macrófagos e outras células, resultando no recrutamento de grande número de células inflamatórias como neutrófilos, monócitos e linfócitos T. Os principais sintomas incluem febre, tosse e dificuldade respiratória. Em alguns indivíduos, a resposta imune é inadequada, permitindo intensa replicação viral e desenvolvimento de pneumonia. Em estágios avançados da doença, a hiperativação do sistema imunológico contribui para uma inflamação excessiva, levando ao desenvolvimento de condições graves, incluindo a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) (SANTOS, 2020). Frequentemente também se observa lesão miocárdica na COVID-19, evidenciada pelo aumento da concentração sérica de troponina e a presença de doença cardiovascular pré-existente está correlacionada a um prognóstico desfavorável. Além disso, a própria COVID-19 pode desencadear complicações cardiovasculares, incluindo insuficiência cardíaca aguda, arritmias, síndrome coronariana aguda e miocardite(SHI et al., 2020).

Pacientes com COVID-19 frequentemente apresentam manifestações neurológicas, que abrangem desde sintomas leves, como anosmia, disgeusia, dor de cabeça e "névoa cerebral", até condições mais graves, incluindo acidente vascular cerebral isquêmico, encefalopatia e encefalite (PATERSON et al., 2020).

Os sintomas gastrointestinais provenientes da COVID-19, como anorexia, diarreia e dor abdominal, são frequentes e mostram associação com formas mais graves da doença. Diversas evidências indicam que o trato gastrointestinal pode servir como um local potencial para a infecção e replicação ativa do SARS-CoV-2, por ser abundante em enzima conversora de angiotensina 2 (ACE2) (HAMMING et al., 2004). Indivíduos com COVID-19 tem o risco de desenvolver lesão hepática, evidenciada pelo aumento das transaminases hepáticas acompanhado por uma sutil elevação da bilirrubina. De fato, descobertas patológicas relacionadas à lesão hepática são mais frequentemente observadas em pacientes com formas moderadas a graves da COVID-19 (LI, XIAO, 2020).

A ocorrência frequente de lesão renal aguda (LRA) em pacientes com COVID-19 está correlacionada a desfechos clínicos adversos, o vírus pode impactar os tecidos tubulares renais, glomerulares e vasculares, resultando em condições como lesão tubular aguda, glomerulopatia colapsante e microangiopatia trombótica (CHENG et al., 2020b). Entre 8 e 15% (dependendo da configuração geográfica e das características individuais) de todos os casos positivos para SARS-CoV-2 podem ser classificados como graves ou que necessitam de internação em unidade de terapia intensiva (UTI). Em pacientes com COVID-19, 7,58% (95% IC 3.30–13.54%) desenvolveram LRA, com um índice de mortalidade de 93,27% (95% IC 81.46–100%). Em 5,74% (95% ICI 2.88–9.44%) de pacientes com COVID-19 foi detectado o RNA viral na amostra de urina (CHAN et al. 2020).

Dentre as características estruturais do vírus, destacam-se as proteínas estruturais fundamentais do SARS-CoV-2, que compreendem a proteína de envelope (E), a proteína de membrana (M), a proteína de nucleocapsídeo (N) e a glicoproteína spike (S). A proteína S, em particular, desempenha um papel crucial, pois faz parte da camada envoltória do vírus e é responsável pela ligação ao receptor da ACE2 encontrado nas células humanas. Ela também é a principal fonte de epítopos que podem ser neutralizados pelo sistema imunológico, tornando-se um alvo prioritário para a resposta imunológica. Como resultado, a proteína S está sujeita a pressões seletivas ao longo da evolução do coronavírus, incluindo o SARS-CoV-2(PRINCE et al., 2022).

O SARS-CoV-2 possui um genoma de RNA de sentido positivo com fita simples, com cerca de 30 kb de extensão (V'KOVSKI et al., 2021). Os coronavírus exibem altos níveis de recombinação genética. Devido à considerável diversidade genética e à grande quantidade de pessoas infectadas, diversas linhagens e variantes do SARS-CoV-2 foram identificadas globalmente em diferentes momentos da pandemia (LI et al., 2020; V'KOVSKI et al., 2021). Assim, em ordem cronológica a primeira variante do vírus foi a Beta em agosto 2020, Alpha em setembro 2020, Gama também conhecida como P.1 em dezembro de 2020 (tendo sua primeira detecção no Brasil), Delta em julho 2021 foi a variante que mais teve número de infectados e Ômicron em maio de 2022 (MICHELON, 2021; PRINCE et al., 2022).

1.2 DIAGNÓSTICO

Os testes para o diagnóstico da COVID-19 se dividem em três categorias principais: testes moleculares, testes de antígeno e testes sorológicos. Cada tipo de teste utiliza diferentes materiais biológicos para detecção do vírus. O RT-qPCR (Reação em cadeia da polimerase da transcrição reversa em tempo real) e o teste de antígeno predominantemente utilizam o swab de nasofaringe ou orofaringe, e o teste sorológico utiliza o sangue geralmente coletado por punção venosa.

O RT-qPCR é considerado o método de referência para a detecção do SARS-CoV-2, pois permite a análise direta das partes genômicas do vírus, em contraste com biomarcadores secundários, como antígenos ou anticorpos (MARTY, CHEN, VERRILL, 2020; YÜCE, FILIZTEKIN, ÖZKAYA, 2021). O RT-qPCR é uma técnica de detecção de RNA genômico que converte o RNA em DNA complementar (cDNA) usando uma enzima de transcrição reversa e, em seguida, amplifica o cDNA por meio de ciclos térmicos com a ajuda de primers específicos do gene e sondas de hidrólise fluorescentes. Essa técnica permite a amplificação seletiva de regiões genéticas específicas e a quantificação dos resultados através de sinais fluorescentes (NOLAN; HANDS; BUSTIN, 2006), com rapidez e confiabilidade metodológica. (TOMBULOGLU et al., 2021).

Os testes de detecção de antígeno são projetados para detectar proteínas virais específicas (antígenos) do SARS-CoV-2 e são usados principalmente para identificar infecções ativas. Os resultados geralmente estão disponíveis em cerca de 15 a 30 minutos e são especialmente úteis para triagem em ambientes de alto risco, como locais de trabalho,

escolas e instalações de cuidados de saúde (DE OLIVEIRA et al., 2022; PEELING et al., 2022).

Os testes de detecção de anticorpos são baseados na detecção de proteínas virais específicas (antígenos) do SARS-CoV-2 e são usados principalmente para identificar infecções ativas. Os resultados geralmente estão disponíveis em cerca de 15 a 30 minutos e são especialmente úteis para triagem em ambientes de alto risco, como locais de trabalho, escolas e instalações de cuidados de saúde(DE OLIVEIRA et al., 2022; PEELING et al., 2022).

1.2.1 ALTERAÇÕES LABORATORIAIS

Pacientes diagnosticados com COVID-19 geralmente mantêm uma contagem normal de glóbulos brancos (leucócitos), mas é comum observar uma redução no número de linfócitos, uma vez que essas células expressam receptores ACE2, e essa diminuição ocorre em cerca de 80% dos casos (GUAN et al., 2020; YANG et al., 2020). Além disso, uma diminuição leve nas plaquetas (trombocitopenia) é comumente identificada e está relacionada a um prognóstico ruim (RUAN et al., 2020). Elevações nos níveis séricos de troponina I são fortes indicadores mortalidade, e os níveis elevados de proteína C reativa (PCR) e D-dímeros estão correlacionados com a gravidade da doença e seu prognóstico (RUAN et al., 2020; YOUNG et al., 2020). A procalcitonina, se elevada, pode indicar uma possível infecção bacteriana adicional (GUAN et al., 2020). Em pacientes hospitalizados, aproximadamente 40% deles apresentam proteinúria e hematúria (INAH t al., 2021).

1.3 EXAME QUALITATIVO DE URINA E LESÃO RENAL AGUDA

A definição de Lesão Renal Aguda (LRA) segundo o KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) é baseada em critérios clínicos e laboratoriais que indicam uma diminuição na função renal. De acordo com o KDIGO, a LRA é definida com um aumento na concentração de creatinina sérica em relação ao valor basal para o diagnóstico de LRA. O KDIGO estabelece um aumento na creatinina sérica de pelo menos 0,3 mg/dL (26,5 μmol/L) em até 48 horas ou um aumento de pelo menos 1,5 vezes em relação ao valor basal conhecido ou estimado, que ocorreu nos últimos sete dias. Outro critério importante é a diminuição na produção de urina; KDIGO define uma produção de urina menor que 0,5 mL/kg/hora durante um período de seis horas (KDIGO, 2012).

A LRA na COVID-19 pode manifestar uma variedade de problemas renais em pacientes, como presença de sangue na urina (hematúria), presença de proteínas na urina (proteinúria), presença de leucócitos na urina (piúria) e um agravamento na função renal (CHAUDHRI et al., 2020; FUJIMARU et al., 2020). A LRA tornou-se um indicativo preocupante e um importante fator de risco para a mortalidade em pacientes hospitalizados com COVID-19 (HIRSCH et al., 2020).

A presença desse vírus no tecido renal tem sido sugerida como a causa de danos estruturais significativos dos túbulos proximais ao infectar diretamente as células epiteliais tubulares e os podócitos (BRUCHFELD, 2021; FRITHIOF et al., 2020; WERION et al., 2020) provavelmente pela ligação do vírus ao receptor da ACE2, que é expressa nos rins, especialmente na superfície das células tubulares renais (FARKASH, WILSON, JENTZEN, 2020; MAKSIMOWSKI, WILLIAMS, SCHOLEY, 2020; MOHANTY et al., 2020; PUELLES et al., 2020). PAN et al. (2020) identificaram os podócitos e as células do túbulo proximal renal (que desempenham um papel crítico na filtração, reabsorção e excreção da urina) como células hospedeiras do vírus nos rins. Os podócitos são particularmente vulneráveis a ataques bacterianos e virais, e os danos aos podócitos induzem facilmente uma proteinúria intensa (PAN et al., 2020).

Há recomendações de um exame de urina na admissão hospitalar em pacientes com COVID-19, pois o comprometimento renal causado pelo SARS-CoV-2 foi associado à gravidade e mortalidade pela doença. A justificativa para o emprego da urinálise é apoiada por estudo de autópsia que demonstra o tropismo renal do SARS-CoV-2, associado à gravidade da doença, o que inclui o desenvolvimento de LRA e eventual morte. Como o vírus pode ser detectado nos rins, levantou-se a preocupação de que a infecção direta pelo SARS-CoV-2 possa contribuir para a lesão renal (WU et al., 2020).

Vários estudos examinaram os exames de urina em pacientes afetados pela COVID-19, incluindo aqueles conduzidos por LIU et al., 2020; ERDOGAN et al., 2021; MURGOD, DOSHI, NIMBARGI, 2021. Esses estudos envolveram pacientes com COVID-19 categorizadosde acordo com a gravidade da doença: "casos moderados", "graves" e "críticos", comparados a indivíduos saudáveis (controles). Os pacientes com COVID-19 apresentaram níveis elevados de sangue e proteína na urina em comparação com os controles. Além disso, os pacientes com COVID-19 mostraram diferenças nos valores de gravidade específica (densidade) e no pH da urina, com densidade sendo mais baixa e pH mais alto em pacientes com COVID-19 (Figura 1). Essas alterações urinárias parecem estar relacionadas

especificamente à infecção pelo SARS-CoV-2, não a infecções bacterianas. Além disso, pacientes nos grupos "grave" e "crítico" apresentaram glicosúria e proteinúria mais elevadas quando comparadas com o grupo "moderado", sugerindo que os parâmetros bioquímicos da urina podem ser indicativos de insuficiência renal aguda em estágios avançados da doença e podem prever a gravidade da COVID-19 (LIU et al., 2020; ERDOGAN et al., 2021).

Estudos de BAULOS e TOM (2022) e de SHARMA et al. (2022) confirmaram que resultados anormais na urinálise, como proteinúria, hematúria e leucócitúria estavam mais elevados em casos graves de COVID-19 e em pacientes que faleceram devido à doença. Essas descobertas sugerem a utilidade dos exames de urina na avaliação da gravidade e no prognóstico de pacientes com COVID-19, especialmente em relação a complicações renais.

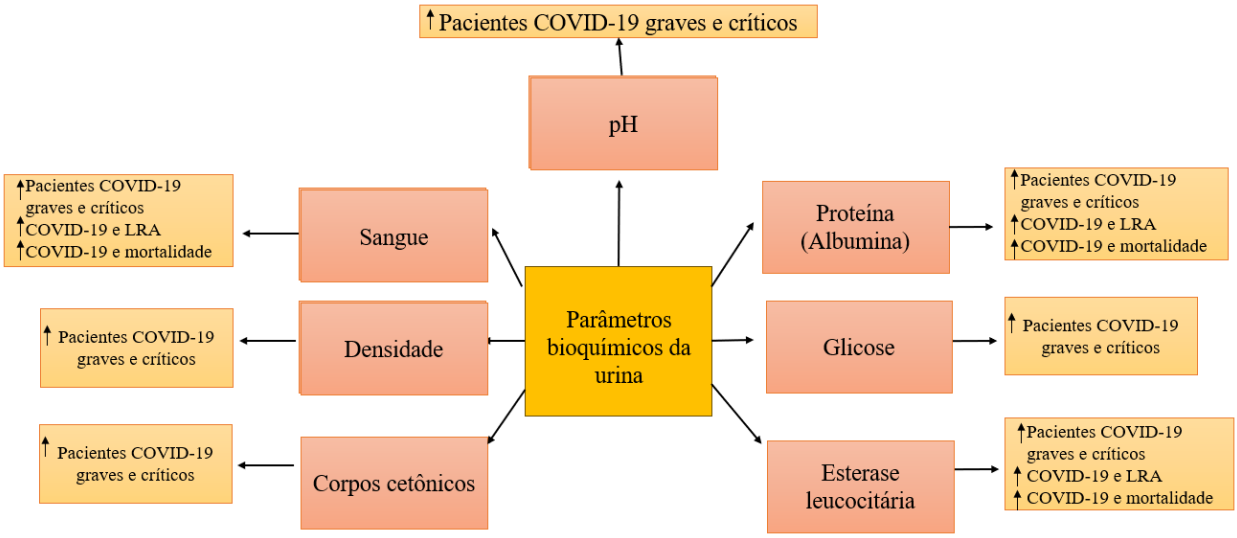


Figura 1: Parâmetros bioquímicos da urina em pacientes com COVID-19. Adaptado de MORELLO et al., 2023.

Um estudo realizado com 226 pacientes com COVID-19 revelou anormalidades nos resultados da urinálise, mostrando que os pacientes que não sobreviveram apresentaram presença de hematúria (163 pacientes - 72,1%) e proteinúria (203 pacientes - 89,9%). Além disso, os exames de sedimento urinário desses pacientes mostraram uma maior frequência de cilindros granulares e células tubulares renais sugerindo que a presença de insuficiência renal pode ser um indicador útil na previsão de mortalidade em pacientes com COVID-19. Adicionalmente, o estudo destacou a utilidade do exame microscópico do sedimento urinário na detecção e prevenção da LRA associada à COVID-19 (BONETTI et al., 2020). Em outro estudo em que foram analisados 161 pacientes com LRA e COVID-19, 20 (12%) foram

submetidos à análise microscópica, e 85% destes (17/20) apresentou a presença de hemácias, leucócitos ou cilindros no sedimento urinário, além de níveis significativos de esterase leucocitária e hematúria. Isso sugere que a análise do sedimento urinário pode ser valiosa no diagnóstico e prevenção da lesão renal aguda em pacientes com COVID-19 (MORITA et al., 2022; VIGARA et al., 2022).

1.4 ALTERAÇÕES INFLAMATÓRIAS ASSOCIADAS A COVID-19

Em pacientes com COVID-19, pode ocorrer uma condição inflamatória potencialmente mortal conhecida como SLC (Síndrome de liberação de citocinas) ou "tempestade de citocinas" (CHANNAPPANAVAR, PERLMAN, 2017). Como o nome sugere, a SLC é uma resposta inflamatória extrema, em que as citocinas inflamatórias são rapidamente liberadas no organismo em grande quantidade, como resposta a agentes infecciosos. Essa tempestade de citocinas é uma situação grave que é observada em pacientes que requerem tratamento em UTI (Unidade de terapia intensiva)(MONTAZERSAHEB et al., 2022).

Após a infecção por COVID-19 os pacientes experimentam uma ativação intensa das células T, um componente crucial do sistema imunológico adaptativo em infecções virais. De fato, as células T auxiliares (Th1) desempenham um papel principal na regulação do sistema imunológico adaptativo por meio da liberação de citocinas, enquanto os linfócitos T citotóxicos, também conhecidos como células T CD8+, atuam como mediadores específicos para eliminar as células infectadas pelo vírus. Múltiplas evidências indicam que a infecção por COVID-19 afeta as células T, reduzindo tanto o número de células T CD4+ quanto T CD8+, além dos níveis de interferon-gama (IFN-γ). É importante ressaltar que a diminuição das células T está correlacionada com a gravidade da COVID-19 (MEHTA et al., 2020).

Estudo de HIRANO e MURAKAMI (2020) tem revelado um achado surpreendente: um aumento nos níveis de citocinas inflamatórias no contexto da COVID-19. Uma análise abrangente da literatura indica que citocinas como IL-6, IL-2, IL-7, IL-10, Fator Estimulador de Colônias de Granulócitos (G-CSF), IFN-γ, CXCL10, TNF-α, CCL2 e CCL4 desempenham um papel crucial na patogênese desta doença. Além disso, LIU et al. (2020) conduziram um estudo em que avaliaram 48 citocinas no plasma de pacientes com COVID-19 e em comparação com indivíduos saudáveis, foi observado um aumento significativo em 38 das 48 citocinas em pacientes com COVID-19. Além disso, identificaram uma forte relação linear entre a gravidade da lesão pulmonar e os níveis de 15 citocinas, incluindo IFN-γ, IFN-α2, IL-

1ra, IL-2, IL-4, IL-7, IL-10, IL-12 e IL-17, bem como quimiocinas como CXCL10, Fator Estimulador de Colônias de Macrófagos (M-CSF) e G-CSF. A frequência de células Th1, Th2 e Th17 também se mostraram aumentados (LIU et al., 2020).

A IL-6 é uma glicoproteína com a capacidade de funcionar como tanto uma citocina pró-inflamatória quanto anti-inflamatória. Sua produção ocorre em diversas fontes, incluindo o estroma e quase todas as células do sistema imunológico, além de outras células, como as endoteliais, fibroblastos, queratinócitos e células tumorais (JONES; MAERZ; BUCKNER, 2018). O estudo de Rostamian et al. (2020) destacou a associação entre níveis elevados de IL-6 e a Síndrome do Desconforto Respiratório Agudo (SDRA) na COVID-19 (ROSTAMIAN et al., 2020). Portanto, a fisiopatologia da COVID-19 está estreitamente relacionada a respostas inflamatórias graves, tornando a dosagem sérica de IL-6 uma ferramenta valiosa para prever a progressão da doença. Uma revisão sistemática e meta-análise que abrangeu 10 estudos de coorte com um total de 1.798 pacientes revelou que pacientes com COVID-19 apresentaram níveis elevados de IL-6 (COOMES; HAGHBAYAN, 2020). Um desses estudos indicou um aumento significativo nos níveis séricos de IL-6 em pacientes com SRAG, enquanto os pacientes recuperados mostraram uma gradual redução nos níveis dessa citocina (ZHANG et al., 2004). Outra pesquisa semelhante constatou que o nível de IL-6 estava consideravelmente mais elevado em 86,8% dos pacientes hospitalizados com COVID-19 que apresentavam complicações graves, e 22,9% deles experimentaram um aumento de mais de dez vezes nos níveis de IL-6 (ROSTAMIAN et al., 2020).

Há um acúmulo de evidências que apontam para a importância dos membros da família das citocinas IL-1 no desencadeamento da inflamação, sendo que IL-1α e IL-1β demonstram ter efeitos pró-inflamatórios (DINARELLO, 2018). Com base nas respostas inflamatórias mediadas pela IL-1, foi razoável presumir a influencia de IL-1α no desenvolvimento da patogênese da COVID-19 (CONTI; YOUNES, 2020). Quando a IL-1α é liberada a partir de células epiteliais danificadas, desencadeia várias alterações patológicas por meio da estimulação de múltiplas cascadas inflamatórias, indicam que a IL-1α estabelece uma conexão entre as respostas inflamatórias e as vias de coagulação. A expressão local de IL-1α pelas células endoteliais promove a formação de coágulos ao recrutar granulócitos (BESTER, MATSHAILWE, PRETORIUS, 2018).

A IL-17 é uma citocina pró-inflamatória produzida pelas células Th17 e desempenha um papel fundamental no recrutamento de monócitos e neutrófilos para o local da infecção. A IL-17 pode intensificar as respostas inflamatórias ativando citocinas adicionais, como IL-1,

IL-6, IL-8, TNF-α e CCL2 (ROKNI, HAMBLIN, REZAEI, 2020). Além disso, a IL-17 pode induzir a secreção de quimiocinas, como CXCL1, CXCL2 e CXCL8, bem como CXCL10 e CCL3 e CCL4 (VELDHOEN, 2017). Também é importante notar uma interligação entre a atividade mediada pela IL-17 e a IL-6 em infecções virais. HOU et al. (2014) relataram que a superprodução de IL-6 pode aumentar a população de células Th17 produtoras de IL-17, o que, por sua vez, promove sinergicamente a persistência viral e dificulta a resposta do hospedeiro (HOU et al., 2014). A regulação positiva desta citocina está frequentemente associada a danos pulmonares e pode afetar outros órgãos, como o coração, fígado e rim (SHIBABAW, 2020). Evidências têm relatado uma forte correlação entre a gravidade da COVID-19 e a inflamação induzida pela IL-17, juntamente com outras citocinas pró-inflamatórias. Pacientes com COVID-19 que necessitam de internação na UTI apresentam níveis elevados de células Th17 e manifestações clínicas mais graves em comparação com pacientes que não requerem internação na UTI. Isso pode ser atribuído à produção excessiva de IL-17a e outras citocinas pró-inflamatórias (MEGNA, NAPOLITANO, FABBRROCINI, 2020; XU et al., 2020).

Assim como outras infecções virais respiratórias, a COVID-19 causa morte das células infectadas, com estado hiper inflamatório, ativação da resposta imune inata, ativação de linfócitos além da secreção de citocinas inflamatórias (VABRET et al., 2020). Além disso, há associação entre a gravidade da doença com altos níveis de citocinas sistêmicas em decorrência do estado inflamatório, o que provavelmente seja o principal fator contribuinte para o desenvolvimento de dano renal (WRAPP et al., 2019; MEHTA et al., 2020; HAN, YE, 2021). Esses processos inflamatórios estão associados à geração de estresse oxidativo, o que catalisa a patogênese de infecções virais, como a causada pelo SARS-CoV-2 (DELGADO-ROCHE; MESTA, 2020; NTYONGA-PONO, 2020).

Na COVID-19 a LRA pode surgir de uma resposta imune sistêmica, alterações hemodinâmicas, hipercoagulabilidade e tropismo renal viral (CHAN et al., 2021) e é uma importante complicação da COVID-19 ocorrendo em 0,5-7% dos casos e em 2,9-28,2% dos pacientes em UTI (PAN et al., 2020). Citocinas inflamatórias estão elevadas na urina em condições como incontinência urinária e cistite intersticial/síndrome da dor na bexiga, em comparação com controles normais. GRADIN *et al*. (2020) descreveram que além das citocinas estarem elevadas na LRA identificada com base na creatinina sérica, há uma correlação entre a concentração de citocinas urinárias (NT3, ST1A1, IL-5, GDNF, ASA, TNF-Beta, IL-20RA, IL-2RB, IL-1alfa, IL-2, TSLP, TNFSF14, FGF23, IL-10RA, IL-22RA1,

beta-NGF, TRANCE, IL-24, IL-13, IL-10, IL-20, IL-33, IFN-gama, IL-4) e marcadores teciduais de lesão renal (NGAL, KIM1 e ACR) em pacientes criticamente doentes com COVID-19, onde de 29 pacientes do estudo 19 desenvolveram LRA e, destes, nove morreram sendo três deles no estágio 3 da doença renal (transplante renal) (GRADIN et al., 2021). No estudo de HUANG *et al.* (2020) foram avaliados 41 pacientes, 13 dos quais foram internados em UTI, apresentando níveis plasmáticos elevados de citocinas e quimiocinas de fase aguda (IL-2, IL-6, CCL-2, CCl-5). Aproximadamente 23% dos pacientes internados desenvolveram LRA (HUANG et al., 2020).

A COVID-19 grave está associada a altos níveis de citocinas inflamatórias, incluindo IL-1β, IL-6, TNF-α, CXCL10/IP10, MIP-1α e CCL2, juntamente com baixos níveis de interferon tipo I (IFN-I) no início e altos níveis de IFN-I em estágios avançados da doença. Pacientes graves frequentemente têm comorbidades, como hipertensão, diabetes e doenças cardiovasculares, que afetam os níveis de citocinas e a ACE2, um receptor usado pelo vírus. A regulação negativa da ACE2 durante a infecção pelo SARS-CoV-2 ativa uma resposta inflamatória hiperativa. Além disso, certas proteínas do SARS-CoV-2 inibem a produção de IFN tipo I e II, tornando os pacientes vulneráveis (RAMASAMY, SUBBIAN, 2021). Portanto, abordagens terapêuticas que visem a regulação de citocinas e o uso de IFN podem melhorar o prognóstico da COVID-19.

1.5 O PAPEL DO ESTRESSE OXIDATIVO NA COVID-19

A manutenção do equilíbrio entre dissulfeto e tiol é um aspecto crítico na entrada viral, na reatividade viral e na fusão viral, podendo ser influenciado pelo estresse oxidativo (LAVILLETTE et al., 2006). O estresse oxidativo é apontado como um fator relevante em infecções virais, incluindo aquelas causadas pelo SARS-CoV-2 (CECCHINI, CECCHINI, 2020).

Espécies reativas de oxigênio (ROS) e espécies reativas de nitrogênio (RNS) surgem como subprodutos de diversos processos celulares, inclusive o metabolismo aeróbico. Essas espécies reativas, como hidroxila, ânion superóxido, óxido nítrico (NO) e ânion nitrosila, são moléculas altamente reativas devido à presença de elétrons desemparelhados (NTYONGA-PONO, 2020). Normalmente, os ROS desempenham funções biológicas importantes em vias de sinalização celular (sinalização redox), na modulação de tióis, na regulação de citocinas inflamatórias, fatores de crescimento, entre outros. Em condições normais, o equilíbrio entre

os níveis celulares de ROS e antioxidantes é mantido. No entanto, quando esse equilíbrio é perturbado, esses oxidantes poderosos (radicais livres) podem causar danos prejudiciais (DELGADO-ROCHE; MESTA, 2020). Esses efeitos prejudiciais são principalmente causados por radicais livres descontrolados que contêm oxigênio e nitrogênio, os quais podem afetar várias células e danificar o DNA, proteínas e lipídios. Vários estudos sugerem que a produção excessiva de RONS e um desequilíbrio entre antioxidantes e oxidantes nas células desempenham um papel fundamental na patogênese de infecções virais, como as causadas pelo SARS-CoV-2 (CAMINI et al., 2017; DELGADO-ROCHE, MESTA, 2020; NTYONGA-PONO, 2020).

No início da pandemia de COVID-19, pesquisadores sugeriram que a albumina oxidada poderia ter potencial para o diagnóstico e tratamento da COVID-19, além de ser um indicador positivo de mortalidade (TABATA et al., 2021). Até o momento, houve poucos relatos sobre a oxidação da albumina na infecção por COVID-19(BADAWY et al., 2021; RAHMANI-KUKIA et al., 2020). No entanto, foi identificada uma forte associação entre a redução das concentrações de tiol e o aumento de produtos proteicos de oxidação avançada (AOPPs) com a gravidade da COVID-19, critérios de internação na unidade de terapia intensiva e mortalidade (DUCASTEL et al., 2021).

O estudo de PIKO *et al*. (2023) mostra um espectro da lesão renal no contexto do estresse oxidativo com presença deste em lesão renal aguda com histologia normal, com envolvimento túbulointersticial ou glomerular, com alterações histológicas graves, por exemplo, necrose tubular aguda e/ou envolvimento dos podócitos e doença renal crônica com esclerose glomerular, fibrose tubulointersticial e/ou atrofia tubular (PIKO et al., 2023).

Em POSTIGA *et al.* (2022), pacientes em UTI apresentaram maiores níveis de proteína C-reativa, produção de ROS e oxidação de proteínas durante o período de hospitalização em comparação com pacientes não UTI, apesar do aumento do status antioxidante, foi também observado que a incubação de monócitos da linhagem THP-1 com plasma de pacientes com COVID-19 em UTI resultou em menor viabilidade celular e maior taxa de apoptose, indicando que a perturbação no estado redox está associada a danos celulares e morte. O estudo destaca a importância do desequilíbrio redox no contexto da COVID-19 grave e sugere que a monitorização dos marcadores de estresse oxidativo e inflamatório pode ser útil na gestão clínica dos pacientes (POSTIGA et al. 2022).

1.6 BIOMARCADORES URINÁRIOS

Um biomarcador ideal para lesão renal deve ser facilmente obtido a partir de sangue ou urina, ser pouco invasivo, ter um método de detecção padronizado e ser estável em diferentes condições de temperatura. Deve ser altamente sensível e específico, oferecer valor prognóstico, responder rapidamente ao tratamento e auxiliar na diferenciação da causa da lesão renal (VAN DONGE et al., 2019). A seguir são apresentados biomarcadores urinários que têm sido propostos e que podem mostrar alteração em seus níveis, em diversas condições clínicas, incluindo a COVID-19.

A proteína KIM-1, tem se estabelecido como um biomarcador para a detecção precoce de danos renais e tem sido amplamente utilizada em diversos cenários clínicos (WALLBACH et al., 2019). A expressão da KIM-1 é positivamente regulada no túbulo proximal do rim em resposta a uma ampla gama de influências prejudiciais, incluindo isquemia, substâncias nefrotóxicas, sepse e lesões associadas ao sistema imunológico (YASAR et al., 2022).

Em pacientes com COVID-19 e sepse bacteriana, observou-se um aumento expressivo, cerca de 24 vezes, nos níveis de KIM-1 nos rins (VOLBEDA et al., 2021). Estudo de ICHIMURA et al. (2020) identificou a KIM-1 como um possível receptor do SARS-CoV-2, tanto no tecido pulmonar quanto no renal, sugerindo seu potencial como alvo terapêutico no tratamento da COVID-19. Apesar disso, a pesquisa sobre o papel da KIM-1 em pacientes com COVID-19 ainda é limitada. De acordo com VOGEL et al. (2021), a KIM-1 pode desempenhar um papel na detecção precoce da lesão renal aguda e na previsão de um risco elevado de deterioração clínica, evidenciado pela necessidade de internação na UTI entre os pacientes com COVID-19. Mais recentemente foi reportado a relação KIM-1/creatinina na urina está associada à mortalidade específica relacionada à COVID-19 (TEMIZ et al., 2022).

A FABP-1 (Proteína de ligação a ácidos graxos do tipo 1), presente tanto no rim humano saudável quanto no comprometido, foi identificada na porção contorcida e reta dos túbulos proximais em seres humanos. A FABP-1 tem sido destacada como um promissor biomarcador em diversos distúrbios renais e, ao mesmo tempo, demonstrou o papel crucial no processo de lesão e reparo renal (XU et al., 2015). Em pacientes com COVID-19, os níveis de FABP-1 foram substancialmente mais baixos em comparação com aqueles com doenças pulmonares não relacionadas à COVID-19, e observou-se que níveis crescentes de FABP-1 estavam associados a desfechos clínicos desfavoráveis (GUEDJ et al., 2021). Descobertas semelhantes apontaram que os níveis de L-FABP tendiam a permanecer persistentemente

elevados em pacientes com casos graves de COVID-19, sugerindo uma associação entre níveis elevados de FABP-1 e a gravidade da doença (KATAGIRI et al., 2020). Além disso, essas pesquisas indicam que a detecção de níveis mensuráveis de FABP-1 pode antecipar o surgimento e a gravidade de várias doenças renais, consolidando assim a perspectiva de que essa proteína possa ser um promissor biomarcador para condições renais.

Pacientes com COVID-19 mostraram uma associação entre a presença de TIMP-1 (*tissue inhibitor of metalloproteinase* 1) circulante e a gravidade da doença. Isso sugeriu que o TIMP-1 poderia ser considerado como um promissor biomarcador prognóstico não invasivo em pacientes com COVID-19. Curiosamente, o estudo mostrou resultados que indicam que o nível sérico de TIMP-1 tem o potencial de ser utilizado na seleção de pacientes para abordagens terapêuticas voltadas para a via das metaloproteases de matriz extracelular (BRUSA et al., 2022a).

O CXCL10 também conhecida com IP-10 é uma quimiocina liberada por vários tipos de células, incluindo leucócitos, neutrófilos, células endoteliais e epiteliais (RAZA et al., 2017). Como marcador urinário, a CXCL10 já foi associada à rejeição de enxertos renais em adultos (LOGA et al., 2022).

Por outro lado, a calbindina é uma proteína encontrada no túbulo distal, cérebro e pâncreas, e desempenha um papel importante no transporte transcelular de cálcio e na regulação da reabsorção renal de cátions. Esta proteína demonstrou ter um efeito protetor contra a nefrotoxicidade causada pela ciclosporina em adultos, mas também foi relacionada a processos de injúria e fibrose tubular (LIBÓRIO; BRANCO; TORRES, 2014; HUANG et al., 2019).

Outro biomarcador urinário é o colágeno tipo IV, que desempenha um papel fundamental como o principal componente da matriz extracelular, especialmente na membrana basal glomerular. É amplamente aceito que o acúmulo de colágeno tipo IV está associado ao desenvolvimento de esclerose glomerular em várias doenças renais (TOMINO, 2001). A síndrome de Alport, uma condição de nefrite hereditária, é causada por mutações nos genes que controlam a síntese dessa proteína. A detecção de colágeno tipo IV na urina tem sido pouco explorada como um possível marcador de doenças renais (GOMES et al., 2022; IMAFUKU et al., 2018).

O fator trefoil 3 (TFF3) é um pequeno peptídeo com um papel crucial na preservação da mucosa, sendo expresso em diversos tecidos, inclusive no tecido renal. Estudos anteriores

indicaram um notável aumento nos níveis de TFF3 na urina de pacientes adultos que sofrem de doença renal crônica e fibrose tubulointersticial, onde o TFF3 desempenha um papel no reparo do dano epitelial tubular, com níveis urinários mais elevados indicativos de lesão prévia ou persistente (O'SEAGHDHA et al., 2013; TANAKA et al., 2018a).

A Glutationa S-Transferase (GST) é uma enzima encontrada no citoplasma das células, e possui duas formas, alfa e pi, presentes nos rins humanos. A forma alfa da GST é expressa no epitélio do túbulo proximal renal e é liberada em quantidades significativas na urina quando ocorre lesão nos túbulos renais. Além disso, estudos recentes a relacionaram à fibrose no espaço entre os túbulos renais, conhecida como fibrose túbulo-intersticial (BIENIAŚ; SIKORA, 2018; HUANG et al., 2019a).

O sistema renina-angiotensina-aldosterona desempenha um papel fundamental na regulação da pressão arterial, na filtração glomerular e na manutenção do equilíbrio de fluidos no corpo. Em condições inflamatórias, a produção de angiotensina II pode ser desregulada, resultando em aumento da produção de renina. Níveis elevados de renina podem ser usados como indicador para pacientes em alto risco de LRA e que poderiam se beneficiar de intervenções oportunas para melhorar seus desfechos clínicos (KÜLLMAR et al., 2021).

2 JUSTIFICATIVA

Pesquisas anteriores relataram a utilidade dos resultados fisicoquímicos da tira reativa, utilizada na análise da urina, na previsão da gravidade de pacientes com COVID-19 (LIU et al. 2019, MORELL et al. 2021), mas contribuições exatas de efeitos indiretos ou diretos nos rins de pacientes com COVID-19 ainda são desconhecidos e atualmente são foco de pesquisas. Portanto, investigar os níveis de citocinas e de marcadores de estresse oxidativo e biomarcadores renais em amostra de urina de pacientes com COVID-19 e relacionar esses dados aos parâmetros observados na urinálise tem relevância para predizer risco de óbito e desenvolvimento de LRA, dessa forma auxiliando a orientar o manejo e o monitoramento de pacientes com COVID-19.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar a expressão de marcadores fisicoquímicos e sedimentoscópicos mensurados no Exame Qualitativo de Urina (E.Q.U), as citocinas inflamatórias, marcadores de estresse oxidativo e biomarcadores na urina de pacientes com COVID-19 e relacionar com o desenvolvimento de lesão renal aguda (LRA) e mortalidade.

3.2 Objetivos específicos

- Avaliar o impacto da COVID-19 no desenvolvimento de LRA e mortalidade em pacientes graves;
- Avaliar a incidência de anormalidades no E.Q.U. de com COVID-19 e que desenvolveram LRA, bem como de pacientes sobreviventes e que foram à óbito;
- Avaliar e comparar os níveis de citocinas urinárias, de marcadores de estresse oxidativo e biomarcadores urinários de pacientes com COVID-19 e que desenvolveram LRA, bem como de pacientes sobreviventes e que foram à óbito;
- Avaliar a associação entre alterações urinárias, níveis de citocinas, marcadores de estresse oxidativo e biomarcadores urinários na predição de LRA e mortalidade por COVID-19.

4 REFERÊNCIAS

ABOU HASSAN, F. F.; BOU HAMDAN, M.; MELHEM, N. M. **Clinical Characteristics and Serum Cytokines Profiling in Hospitalized COVID-19 Patients in Lebanon**. Journal of Immunology Research, v. 2023, p. 1–11, 16 maio 2023.

AQUINO, E. M. L. et al**. Social distancing measures to control the COVID-19 pandemic: Potential impacts and challenges in Brazil.** Ciencia e Saude Coletiva, v. 25, p. 2423–2446, 1 jun. 2020.

ARENAS, C. L. et al. Fatores de risco para lesão renal aguda em pacientes hospitalizados com COVID-19. **Brazilian Journal of Nephrology**, 8 dez. 2023.

ASTOR, B. C. et al. **Trefoil Factor 3 Predicts Incident Chronic Kidney Disease:** A Case-Control Study Nested within the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. American Journal of Nephrology, v. 34, n. 4, p. 291–297, 2011.

BADAWY, M. A. et al. **Neutrophil-mediated oxidative stress and albumin structural damage predict COVID-19-associated mortality**. eLife |Structural Biology and Molecular Biophysicse, v. 10, p. 1–22, 25 nov. 2021.

BAULOS, P. D.; TOM, M. A. **Pos-845 urinalysis profile and outcomes of patients with covid-19 admitted at southern philippines medical center**. Kidney International Reports, v. 7, n. 2, p. S364–S365, fev. 2022.

BESTER, J.; MATSHAILWE, C.; PRETORIUS, E**. Simultaneous presence of hypercoagulation and increased clot lysis time due to IL-1β IL-6 and IL-8.** Cytokine, v. 110, p. 237–242, 1 out. 2018.

BIENIAŚ, B.; SIKORA, P. **Potential novel biomarkers of obstructive nephropathy in children with hydronephrosis.** Disease Markers, v. 2018, 2018.

BOGOCH, I. I. et al. Pneumonia of unknown aetiology in Wuhan, China: Potential for international spread via commercial air travel. **Journal of Travel Medicine**, v. 27, n. 2, 1 mar. 2020.

BÓGUS, L. M. M.; MAGALHÃES, L. F. A**. Social and spatial inequalities of covid-19 in metropolitan regions**. Caderno CRH, v. 35, p. 1–16, 2022.

BRUSA, S. et al. **Circulating tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1) at COVID-19 onset predicts severity status**. Frontiers in Medicine, v. 9, 29 nov. 2022.

CAMINI, F. C. et al. **Implications of oxidative stress on viral pathogenesis**. Archives of Virology Springer-Verlag Wien, 1 abr. 2017.

CAVALLI, G.; DINARELLO, C. A. **Anakinra Therapy for Non-cancer Inflammatory Diseases.** Frontiers in Pharmacology, v. 9, 6 nov. 2018.

CECCHINI, R.; CECCHINI, A. L. **SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative stress as a response to aggression.** Medical Hypotheses, v. 143, 1 out. 2020.

CHAN, V. W. S. et al. **A systematic review on COVID-19: urological manifestations, viral RNA detection and special considerations in urological conditions**. World Journal of Urology Springer Science and Business Media Deutschland GmbH, 1 set. 2021.

CHANNAPPANAVAR, R.; PERLMAN, S. **Pathogenic human coronavirus infections: causes and consequences of cytokine storm and immunopathology**. Seminars in Immunopathology Springer Verlag, 1 jul. 2017.

CHEN, N. et al. **Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China:** a descriptive study. The Lancet, v. 395, n. 10223, p. 507–513, 15 fev. 2020.

CHENG, Y. et al. **Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with COVID-19.** Kidney International, Elsevier B.V, v. 97, n. 5, p. 829–838, maio 2020.

CONTI, P.; YOUNES, A. **Coronavirus COV-19/SARS-CoV-2 affects women less than men:** clinical response to viral infection. Journal of biological regulators and homeostatic **agents**, v. 34, n. 2, p. 339–343, 2020.

COOMES, E. A.; HAGHBAYAN, H. **Interleukin-6 in Covid-19:** A systematic review and meta-analysis. Reviews in Medical Virology John Wiley and Sons Ltd, 1 nov. 2020.

DE ALMEIDA, J. O. et al. COVID-19: **Physiopathology and Targets for Therapeutic Intervention.** Revista Virtual de Quimica, v. 12, n. 6, p. 1464–1497, 1 nov. 2020.

DE OLIVEIRA, M. A. L. et al. **Diagnostic tests for sars-cov-2: a critical reflection**. Quimica Nova, v. 45, n. 6, p. 760–766, 2022.

DELGADO-ROCHE, L.; MESTA, F. **Oxidative Stress as Key Player in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus (SARS-CoV) Infection.** Archives of Medical Research, v. 51, n. 5, p. 384–387, jul. 2020.

DINARELLO, C. A. **Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity**. Immunological Reviews Blackwell Publishing Ltd, 1 jan. 2018.

DINARELLO, C. A. **The IL-1 family of cytokines and receptors in rheumatic diseases.** Nature Reviews Rheumatology, v. 15, n. 10, p. 612–632, 12 out. 2019.

DORNELES, G. P. et al. **Endotoxin tolerance and low activation of TLR-4/NF-κB axis in monocytes of COVID-19 patients.** Journal of Molecular Medicine, v. 101, n. 1–2, p. 183–195, 15 fev. 2023.

DUCASTEL, M. et al. **Oxidative stress and inflammatory biomarkers for the prediction of severity and icu admission in unselected patients hospitalized with covid-19.** International Journal of Molecular Sciences, v. 22, n. 14, 2 jul. 2021.

ELLMAN, G. L. **Tissue sulfhydryl groups.** Archives of Biochemistry and Biophysics, v. 82, n. 1, p. 70–77, maio 1959.

ERDOGAN, O. et al. **Is there an association between urine biochemical parameters on admission and the severity OF COVID-19?** International Journal of Clinical Practice, v. 75, n. 11, 1 nov. 2021.

EREL, Ö. et al. **A sensitive indicator for the severity of COVID-19:** thiol. TURKISH JOURNAL OF MEDICAL SCIENCES, v. 51, n. 3, p. 921–928, 28 jun. 2021.

FALAVIGNA, M. et al. **The II Brazilian Guidelines for the pharmacological treatment of patients hospitalized with COVID-19 Joint Guidelines of the Associação Brasileira de Medicina de Emergência, Associação de Medicina Intensiva Brasileira, Associação Médica Brasileira, Sociedade Brasileira de Angiologia e Cirurgia Vascular, Sociedade Brasileira de Infectologia, Sociedade Brasileira de Pneumologia e Tisiologia and Sociedade Brasileira de Reumatologia**. Critical Care Science, v. 35, n. 3, 2023.

GOMES, A. M. et al. **Potential Renal Damage Biomarkers in Alport Syndrome—**A Review of the Literature. International Journal of Molecular Sciences MDPI, 1 jul. 2022.

GRADIN, A. et al. **Urinary cytokines correlate with acute kidney injury in critically ill COVID-19 patients.** Cytokine, v. 146, 1 out. 2021.

GUAN, W. et al. **Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China**. New England Journal of Medicine, v. 382, n. 18, p. 1708–1720, 30 abr. 2020.

GUEDJ, K. et al. **I-Fabp is decreased in covid-19 patients, independently of the prognosis.** PLoS ONE, v. 16, n. 4 April, 1 abr. 2021.

GUEVARA, I. et al. **Determination of nitrite/nitrate in human biological material by the simple Griess reaction.** Clinica Chimica Acta, v. 274, n. 2, p. 177–188, jun. 1998.

HAMMING, I. et al. **Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus.** A first step in understanding SARS pathogenesis. Journal of Pathology, v. 203, n. 2, p. 631–637, jun. 2004.

HAN, X.; YE, Q. **Kidney involvement in COVID-19 and its treatments**. Journal of Medical Virology John Wiley and Sons Inc, 1 mar. 2021.

HIRANO, T.; MURAKAMI, M. **COVID-19:** A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. Immunity Cell Press, 19 maio 2020.

HIRSCH, J. S. et al. **Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19.** Kidney International, v. 98, n. 1, p. 209–218, jul. 2020.

HORBY P; LIM WS; EMBERSON JR. **Dexamethasone in Hospitalized Patients with Covid-19.** New England Journal of Medicine, v. 384, n. 8, p. 693–704, 25 fev. 2021.

HOU, W. et al. **Interleukin-6 (IL-6) and IL-17 Synergistically Promote Viral Persistence by Inhibiting Cellular Apoptosis and Cytotoxic T Cell Function.** Journal of Virology, v. 88, n. 15, p. 8479–8489, ago. 2014.

HUANG, C. et al. **Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China.** The Lancet, v. 395, n. 10223, p. 497–506, 15 fev. 2020.

HUANG, K. H. et al. **Role of calbindin-D28k in diabetes-associated advanced glycation end-products-induced renal proximal tubule cell injury**. Cells, v. 8, n. 7, 1 jul. 2019

IMAFUKU, A. et al. **Autosomal dominant form of type IV collagen nephropathy exists among patients with hereditary nephritis difficult to diagnose clinicopathologically**. Nephrology, v. 23, n. 10, p. 940–947, 1 out. 2018.

INAH MARIA PECLY, A. D. et al. **A review of Covid-19 and acute kidney injury: from patho-physiology to clinical results.** Braz. J. Nephrol., v. 43 (4), p. 551–571, 2021.

JANA, S.; MITRA, P.; ROY, S. **Proficient Novel Biomarkers Guide Early Detection of Acute Kidney Injury:** A Review. Diseases, v. 11, n. 1, p. 8, 30 dez. 2022.

JONES, B. E.; MAERZ, M. D.; BUCKNER, J. H. **IL-6:** a cytokine at the crossroads of autoimmunity. Current Opinion in Immunology, Elsevier Ltd, 1 dez. 2018.

KATAGIRI, D. et al. **Evaluation of Coronavirus Disease 2019 Severity Using Urine Biomarkers.** Critical Care Explorations, v. 2, n. 8, p. E0170, 31 ago. 2020.

KESMEZ CAN, F. et al. **Effect of IL-6, IL-8/CXCL8, IP-10/CXCL 10 levels on the severity in COVID 19 infection.** International Journal of Clinical Practice, v. 75, n. 12, 22 dez. 2021.

KIM, S. G. et al. **Trajectory of AKI and hospital mortality among patients with COVID-19.** Renal Failure, v. 45, n. 1, 31 dez. 2023.

KÜLLMAR, M. et al. **Kinetic changes of plasma renin concentrations predict acute kidney injury in cardiac surgery patients.** American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine, v. 203, n. 9, p. 1119–1126, 1 maio 2021.

LANA, R. M. et al. **The novel coronavirus (SARS-CoV-2) emergency and the role of timely and effective national health surveillance.** Reports in Public Health, v. 36, 2020.

LAVILLETTE, D. et al. **Significant redox insensitivity of the functions of the SARS-CoV spike glycoprotein:** Comparison with HIV envelope. Journal of Biological Chemistry, v. 281, n. 14, p. 9200–9204, 7 abr. 2006.

LI, Y. T. et al. **Emerging lethal infectious bronchitis coronavirus variants with multiorgan tropism.** Transboundary and Emerging Diseases, v. 67, n. 2, p. 884–893, 1 mar. 2020.

LI, Y.; XIAO, S. Y. **Hepatic involvement in COVID-19 patients: Pathology, pathogenesis, and clinical implications**. Journal of Medical Virology John Wiley and Sons Inc., 1 set. 2020.

LIBÓRIO, A. B.; BRANCO, K. M. P. C.; TORRES DE MELO BEZERRA, C. **Acute kidney injury in neonates: From urine output to new biomarkers.** BioMed Research International, v. 2014, 2014.

LIU, R. et al. **The value of urine biochemical parameters in the prediction of the severity of coronavirus disease 2019.** Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, v. 58, n. 7, p. 1121–1124, 1 jul. 2020.

LIU, Y. et al. **Elevated plasma levels of selective cytokines in COVID-19 patients reflect viral load and lung injury.** National Science Review, v. 7, n. 6, p. 1003–1011, 1 jun. 2020.

LOGA, L. et al. **Relevant biomarkers of kidney allograft rejection**. Journal of Medicine and Life, Carol Davila University Press, 2022.

MADRUGA, M. P. et al. **Excess of body weight is associated with accelerated T-cell senescence in hospitalized COVID-19 patients**. Immunity & Ageing, v. 21, n. 1, p. 17, 8 mar. 2024.

MARTY, F. M.; CHEN, K.; VERRILL, K. A. **How to Obtain a Nasopharyngeal Swab Specimen.** New England Journal of Medicine, v. 382, n. 22, p. e76, 28 maio 2020.

MEDIĆ, B. et al. **Kidney Injury Molecule-1 and Cardiovascular Diseases:** From Basic Science to Clinical Practice. BioMed Research International, v. 2015, p. 1–10, 2015.

MEGNA, M.; NAPOLITANO, M.; FABBRROCINI, G. **May IL-17 have a role in COVID-19 infection?** Medical Hypotheses, v. 140, 2020.

MEHTA, P. et al. **COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression**. The Lancet, Lancet Publishing Group, 28 mar. 2020MICHELON, C. M. Main SARS-CoV-2 variants notified in Brazil. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, v. 53, n. 2, 2021.

MONTAZERSAHEB, S. et al. **COVID-19 infection: an overview on cytokine storm and related interventions**. **Virology Journal**BioMed Central Ltd, , 1 dez. 2022.

MOORE, J. B.; JUNE, C. H. **Cytokine release syndrome in severe COVID-19**. Science, v. 368, n. 6490, p. 473–474, maio 2020.

MORELLO, M. et al. **Urine Parameters in Patients with COVID-19 Infection**. Life Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 1 ago. 2023.

MORITA, Y. et al. **Urine sediment findings were milder in patients with COVID-19-associated renal injuries than in those with non-COVID-19-associated renal injuries.** International Journal of Infectious Diseases, v. 117, p. 302–311, 1 abr. 2022.

MURGOD, P.; DOSHI, P.; NIMBARGI, R. **Urine biochemical parameters in predicting severity of sars-cov-2 infection:** An experience in tertiary care centre in western india. Iranian Journal of Pathology, v. 16, n. 3, p. 304–309, 1 jun. 2021.

NOLAN, T.; HANDS, R. E.; BUSTIN, S. A. **Quantification of mRNA using real-time RT-PCR.** Nature Protocols, v. 1, n. 3, p. 1559–1582, ago. 2006.

NTYONGA-PONO, M. P. **COVID-19 infection and oxidative stress: an under-explored approach for prevention and treatment?** The Pan African medical journal, v. 35, p. 12, 2020.

OHKAWA, H.; OHISHI, N.; YAGI, K. **Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction.** Analytical Biochemistry, v. 95, n. 2, p. 351–358, jun. 1979.

O'SEAGHDHA, C. M. et al. **Analysis of a Urinary Biomarker Panel for Incident Kidney Disease and Clinical Outcomes.** Journal of the American Society of Nephrology, v. 24, n. 11, p. 1880–1888, 1 nov. 2013.

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 Springer, 1 jun. 2020.

PATERSON, R. W. et al. **The emerging spectrum of COVID-19 neurology: Clinical, radiological and laboratory findings.** Brain, v. 143, n. 10, p. 3104–3120, 1 out. 2020.

PEELING, R. W. et al. **Diagnostics for COVID-19:** moving from pandemic response to control. The Lancet Elsevier B.V., 19 fev. 2022.

PEI, G. et al. **Renal Involvement and Early Prognosis in Patients with COVID-19 Pneumonia.** Journal of the American Society of Nephrology, v. 31, n. 6, p. 1157–1165, jun. 2020.

PIKO, N. et al. **The Role of Oxidative Stress in Kidney Injury.** Antioxidants, v. 12, n. 9, p. 1772, 16 set. 2023.

PIWOWAR, A. **Advanced oxidation protein products. Part I. Mechanism of the formation, characteristics and property.** Polski merkuriusz lekarski: organ Polskiego Towarzystwa Lekarskiego, v. 28, n. 164, p. 166–9, fev. 2010.

POSTIGA, I. A. L. et al. **Systemic redox imbalance in severe COVID-19 patients.** Cell Biochemistry and Function, v. 40, n. 7, p. 694–705, 18 out. 2022.

PRINCE, T. et al. **Analysis of SARS-CoV-2 in Nasopharyngeal Samples from Patients with COVID-19 Illustrates Population Variation and Diverse Phenotypes, Placing the Growth Properties of Variants of Concern in Context with Other Lineages**. mSphere, v. 7, n. 3, 29 jun. 2022.

PROMPETCHARA, E.; KETLOY, C.; PALAGA, T. **Immune responses in COVID-19 and potential vaccines: Lessons learned from SARS and MERS epidemic**. **Asian Pacific** Journal of Allergy and Immunology Allergy and Immunology Society of Thailand, 1 mar. 2020.

QIN, R. et al. **Identification of Parameters Representative of Immune Dysfunction in Patients with Severe and Fatal COVID-19 Infection:** a Systematic Review and Meta-analysis. Clinical Reviews in Allergy & Immunology, v. 64, n. 1, p. 33–65, 18 jan. 2022.

RAHMANI-KUKIA, N. et al. **Measurement of oxidized albumin: An opportunity for diagnoses or treatment of COVID-19**. Bioorganic Chemistry Academic Press Inc., 1 dez. 2020.

RAMASAMY, S.; SUBBIAN, S. **Critical determinants of cytokine storm and type i interferon response in COVID-19 pathogenesis.** Clinical Microbiology Reviews, v. 34, n. 3, 1 jul. 2021.

RAZA, A. et al. **The association of urinary interferon-gamma inducible protein-10 (IP10/CXCL10) levels with kidney allograft rejection**. Inflammation Research, v. 66, n. 5, p. 425–432, 1 maio 2017.

ROKNI, M.; HAMBLIN, M. R.; REZAEI, N. **Cytokines and COVID-19: friends or foes?** Human Vaccines and Immunotherapeutics, v. 16, n. 10, p. 2363–2365, 2 out. 2020.

ROMÃO, P. R. et al. **Viral load is associated with mitochondrial dysfunction and altered monocyte phenotype in acute severe SARS-CoV-2 infection.** International Immunopharmacology, v. 108, p. 108697, jul. 2022.

ROSTAMIAN, A. et al. **Interleukin-6 as a Potential Predictor of COVID-19 Disease Severity in Hospitalized Patients and its Association with Clinical Laboratory Routine Tests**. Immunoregulation, p. 29–36, 30 jul. 2020.

ROTHAN, H. A.; BYRAREDDY, S. N. **The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak**. Journal of Autoimmunity, Academic Press, 1 maio 2020.

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 Springer, 1 maio 2020.

SANTOS, W. G. **Natural history of COVID-19 and current knowledge on treatment therapeutic options**. Biomedicine and Pharmacotherapy Elsevier Masson SAS, 1 set. 2020.

SHAO, X. et al. **Diagnostic Value of Urinary Kidney Injury Molecule 1 for Acute Kidney Injury:** A Meta-Analysis. PLoS ONE, v. 9, n. 1, p. e84131, 3 jan. 2014.

SHARMA, H. et al. **High mortality and residual kidney damage with Coronavirus disease-19-associated acute kidney injury in northern India.** Clinical and Experimental Nephrology, v. 26, n. 11, p. 1067–1077, 1 nov. 2022.

SHI, S. et al. **Association of Cardiac Injury with Mortality in Hospitalized Patients with COVID-19 in Wuhan, China**. JAMA Cardiology, v. 5, n. 7, p. 802–810, 1 jul. 2020.

SHIBABAW, T. **Inflammatory cytokine:** Il-17a signaling pathway in patients present with covid-19 and current treatment strategy. Journal of Inflammation Research Dove Medical Press Ltd, Oct 6;13:673-680, 2020.

SILVA, B. M. et al. **Acute kidney injury outcomes in covid-19 patients: systematic review and meta-analysis.** Brazilian Journal of Nephrology, v. 44, n. 4, p. 543–556, dez. 2022.

SU, H. et al**. Renal histopathological analysis of 26 postmortem findings of patients with COVID-19 in China**. Kidney International, v. 98, n. 1, p. 219–227, jul. 2020.

TABATA, F. et al. **Serum albumin redox states: More than oxidative stress biomarker**. Antioxidants MDPI, Mar 24;10(4):503, 2021.

TANAKA, K. et al. **Renal expression of trefoil factor 3 mRNA in association with tubulointerstitial fibrosis in IgA nephropathy.** Nephrology, v. 23, n. 9, p. 855–862, 1 set. 2018.

TEIXEIRA, C. F. DE S. et al. **The health of healthcare professionals coping with the covid-19 pandemic**. Ciencia e Saude Coletiva, v. 25, n. 9, p. 3465–3474, 2020.

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, v. 44, n. 1, p. 233–240, 2022.

TOMINO, Y. **Urinary Type-IV Collagen**. Contrib Nephrol; (134):85-7 2001.

VABRET, N. et al. **Immunology of COVID-19:** Current State of the Science. Immunity Cell Press, Jun 16;52(6):910-941. 2020.

VAN DONGE, T. et al. **Age-Dependent Changes of Kidney Injury Biomarkers in Pediatrics**. Journal of Clinical Pharmacology, v. 59, n. S1, p. S21–S32, 1 set. 2019.

VAN NYNATTEN, L. R. et al**. A novel multiplex biomarker panel for profiling human acute and chronic kidney disease.** Scientific Reports, v. 13, n. 1, p. 21210, 1 dez. 2023.

VAZQUEZ-AGRA, N. et al. **Assessment of oxidative stress markers in elderly patients with SARS-CoV-2 infection and potential prognostic implications in the medium and long term**. PLOS ONE, v. 17, n. 10, p. e0268871, 6 out. 2022.

VELDHOEN, M. **Interleukin 17 is a chief orchestrator of immunity**. Nature Immunology Nature Publishing Group, May 18;18(6):612-621, 2017.

VIGARA, L. A. et al**. Acute Kidney Injury and Urinary and Histopathological Disorders in Kidney Transplant Patients with SARS-CoV-2 Infection.** Transplantation Proceedings, v. 54, n. 6, p. 1471–1475, 1 jul. 2022.

V'KOVSKI, P. et al. **Coronavirus biology and replication: implications for SARS-CoV-2**. Nature Reviews Microbiology Nature Research, Mar;19(3):155-170, 2021.

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, v. 34, n. 4, p. 1007–1018, 1 ago. 2021.

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, v. 25, n. 1, 1 dez. 2021.

WALLBACH, M. et al. **Acute kidney injury: from creatinine to KIM-1?** Internist Springer Verlag, Jun;60(6):578-586, 2019.

WRAPP D, WANG N, CORBETT KS, et al. **Cryo-EM structure of the 2019-nCoV spike in the prefusion conformation**. Science. Mar 13;367(6483):1260-1263, 2020.

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, v. 180, n. 7, p. 934–943, 1 jul. 2020.

XU, Y. et al. **L-FABP: A novel biomarker of kidney disease**. Clinica Chimica Acta Elsevier B.V., May 20;445:85-90, 2015.

XU, Z. et al. **Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome.** The Lancet Respiratory Medicine, v. 8, n. 4, p. 420–422, 1 abr. 2020.

YANG, X. et al. **Clinical course and outcomes of critically ill patients with SARS-CoV-2 pneumonia in Wuhan, China:** a single-centered, retrospective, observational study. The Lancet Respiratory Medicine, v. 8, n. 5, p. 475–481, 1 maio 2020.

YASAR, E. et al. **Could urinary kidney injury molecule-1 be a good marker in subclinical acute kidney injury in mild to moderate COVID-19 infection?** International Urology and Nephrology, v. 54, n. 3, p. 627–636, 1 mar. 2022.

YILDIZ, H. et al. **Analysis of endogenous oxidative damage markers and association with pulmonary involvement severity in patients with SARS-CoV-2 pneumonia**. Infectious Diseases Now, v. 51, n. 5, p. 429–434, ago. 2021.

YOUNG, B. E. et al. **Epidemiologic Features and Clinical Course of Patients Infected with SARS-CoV-2 in Singapore.** JAMA - Journal of the American Medical Association, v. 323, n. 15, p. 1488–1494, 21 abr. 2020.

YÜCE, M.; FILIZTEKIN, E.; ÖZKAYA, K. G. **COVID-19 diagnosis** —A review of current methods. Biosensors and Bioelectronics, v. 172, 15 jan. 2021.

ZHANG, J. et al. **Risk factors for acute kidney injury in COVID-19 patients: an updated systematic review and meta-analysis**. Renal Failure, v. 45, n. 1, 31 dez. 2023.

ZHANG, Y. et al. **Analysis of serum cytokines in patients with severe acute respiratory syndrome.** Infection and Immunity, v. 72, n. 8, p. 4410–4415, ago. 2004.

ZHONG, Z.-M.; BAI, L.; CHEN, J.-T. **Advanced oxidation protein products inhibit proliferation and differentiation of rat osteoblast-like cells via NF-kappaB pathway**. Cellular Physiology and Biochemistry, v. 24, n. 1–2, p. 105–114, 2009.

ZHU, N. et al. **A Novel Coronavirus from Patients with Pneumonia in China, 2019**. New England Journal of Medicine, v. 382, n. 8, p. 727–733, 20 fev. 2020.

5 ARTIGO CIENTÍFICO – *a ser submetido ao periódico Springer Nature SNAPP*

New approach of urinary biomarkers in severe COVID-19 in patients with and without acute kidney injury: a cross-sectional study

Short title: Urinary biomarkers in COVID-19 patients

Viviane Jahnke[a], Lisiane Mezzomo[b], Charles Ferreira[c], Eliane Dallegrave[a], Carla Neves[a], Gilson Dorneles[d], Paula Teixeira[a], Claudia Thompson[a], José Poloni[e], Pedro Romão[a*], Liane Rotta[a*]

[a] Graduation Program in Health Sciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, RS 90050-170, Brazil

[b] Luterana University of Brazil, Canoas, RS 92425-020, Brazil

[c] Department of Physiology, Graduate Program in Pharmacology and Therapeutics, Graduate Program in Neurosciences, Laboratory of Translational Research in Climacteric and Menopause (CliMT), Institute of Basic Health Sciences (ICBS), Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Brazil.

[d] Escritório de Projetos, Hospital Moinhos de Vento Hospital, Porto Alegre, RS 90035-001, Brazil

[e] Educational Management Controllab, Rio de Janeiro, RJ 20911-442, Brazil.

Corresponding authors

Liane Rotta - lnrotta@ufcspa.edu.br, Graduation Program in Health Sciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, RS 90050-170, Brazil

ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1043-5203

Pedro Romão - pedror@ufcpa.edu.br, Graduation Program in Health Sciences, Federal University of Health Sciences of Porto Alegre, Porto Alegre, RS 90050-170, Brazil

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1039-2509

Abstract

The COVID-19 has impacted the healthcare systems, with cases complicated by acute kidney injury (AKI) that are frequently associated to death outcome. We integrate urinalysis, inflammatory and oxidative stress variables to search for early AKI bioindicators in patients with severe COVID-19. This is a cross-sectional study involving 39 hospitalized COVID-19 (AKI: 19 and non-AKI: 20) patients and 21 with mild COVID-19 (control). Hospitalized patients showed higher hematuria and proteinuria, reduced pro-inflammatory cytokine (IL-1β, IL-6), elevation in oxidative stress markers (TBARS, thiol) and in renin, KIM-1, and CXCL10 biomarkers, while TFF-3, calbindin and collagen IV were lower (compared to control). Collagen IV, KIM-1 and TFF-3 differed between AKI and non-AKI. Hospitalized patients presented reduced TFF-3, with the lowest concentration in AKI. A cut-off value of ≤0.306 ng/mL (AUC: 0.899, 95%CI 0.818-0.980) is associated to AKI and death (72.2% sensitivity, 83.8% specificity, 68.4% PPV, 86.1% NPV, 80% accuracy). Univariate analysis showed that protein ($p<0.001$) and TFF3 ($p<0.001$) were related to AKI and death (RR: 0.156 and 0.225, respectively) and TFF3 had a RR of 0.276 ($p=0.05$) when associated to protein (multivariate analysis). Our findings point to TFF-3 (≤0.306 ng/mL) and protein as urinary biomarkers for AKI and death in severe COVID-19 patients.

Keywords: acute kidney injury; COVID-19; urinalysis; laboratory medicine; mortality; renal pathology.

1. Introduction

The COVID-19 pandemia emerged as an unprecedented global challenge, significantly impacting public health, economies, and healthcare systems worldwide. Despite the success of vaccination in reducing the severity and mortality of SARS-CoV-2 infection, COVID-19 presented high morbimortality rates, especially in subjects with chronic diseases and older adults [1].

Acute Kidney Injury (AKI) in COVID-19 presents a multifaceted manifestation of renal problems, characterized by the presence of hematuria, proteinuria, pyuria, and worsening renal function. These urinary findings are considered sensitive renal dysfunction markers, and stand out as crucial indicators in assessing the disease severity [2]. Furthermore, uncontrolled inflammatory response and oxidative stress (OS) emerge as key components in this context, playing a significant role in the pathogenesis of COVID-19-associated renal injury. Disturbance in the redox state is a hallmark of severe COVID-19 and is associated with SARS-CoV-2 viral load, cell damage, and patient death [3,4]. The exacerbated presence of inflammatory cytokines triggered by the host's immune response to the virus contributes to oxidative stress, thereby intensifying damage to the kidneys [5].

Prominent cytokines such as IL-1β, IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, IL-18, TNF-α, IFN-γ, CXCL10 (IP-10) and CCL2 (MCP-1) play a crucial role in the pathogenesis of COVID-19 [6]. An elevation in inflammatory cytokines, many of which are associated with a dysregulated immune response, has been consistently observed in patients affected by the disease [7]. This sustained increase in pro-inflammatory cytokines triggers a cascade of events contributing to the severity of the systemic inflammatory response [3,7,8]. Understanding the elevation of these cytokines provides a basis for investigating specific renal markers, since the systemic inflammatory response and renal dysfunction are associated.

The search for renal biomarkers in COVID-19-associated AKI emphasizes the need for parameters which meet specific criteria, such as high sensitivity and specificity, prognostic value, rapid response to treatment. Among the identified biomarkers, CXCL10, FABP1 (Fatty acid binding protein 1), KIM-1 (Kidney Injury Molecule 1), TFF3 (Trefoil Factor 3), TIMP-1 (Tissue Inhibitor of Metalloproteinase 1), Calbindin and GST (Glutathione-S-Transferase) have proven to be particularly relevant [9-11].

These biomarkers, along with the assessment of cytokines and OS, offer a promising perspective in evaluating AKI and mortality in COVID-19. The correlation of this data with conventional urinalysis parameters not only provides a comprehensive view of the inflammatory response and OS associated with the infection, but also proves essential for guiding continuous monitoring of patients throughout the disease [4,12]. We investigate the

interaction between severe COVID-19 and AKI or mortality using an integrated analysis of urinalysis, urinary biomarkers, inflammatory cytokines, and oxidative stress.

2. Methods

2.1 Study patients and ethics

COVID-19 patients with positive SARS-CoV-2 (n=60) by real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction (qRT-PCR) test using nasopharyngeal samples were consecutively recruited after admission to the São Camilo Hospital (Esteio/RS, Brazil) between June/2020 and December/2020. A total of 39 patients with severe COVID-19 were admitted to the COVID-19 semi-intensive care unit and 21 patients with mild COVID-19 who did not require hospitalization (emergency room) were included in the control group. Hospitalized patients were defined by clinical prognosis at the end of hospitalization, and the patients were classified as having (or not) AKI based on creatinine measurements according to 2012 KDIGO criteria. For this purpose, baseline and maximum serum creatinine were recorded, as well as the final diagnosis of AKI in the medical record. All patients recovered from acute COVID-19 showed no signs or symptoms, had significant improvement in pulmonary and extrapulmonary organ dysfunction and no longer required supportive care, with viral clearance confirmed by molecular test (qRT-PCR) before hospital discharge.

An electronic medical record review was performed to collect information on demographic characteristics such as age, sex, body mass index (BMI), pre-existing comorbidities (diabetes, hypertension and others), clinical symptoms, pharmacological treatment and signs upon admission, results of laboratory parameters and ventilation strategies. Comorbidities were noted if they were present in the hospital admission note.

2.2 Urinalysis

Urine samples were obtained as spontaneously excreted samples or by bladder catheterization within 48h of hospital admission and only included in the study if urine samples could be obtained and processed immediately (2h after) by study staff. Urinalysis (hemoglobin, proteinuria, bilirubin, urobilinogen, pH, specific gravity, ketone, glucose, nitrite, and leukocyte esterase) was evaluated by dipstick at Urisys 2400 automated system (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) and the urine sediment was analyzed on a bright-field microscope under a high-power field (HPF, 400x) for red blood cells (RBCs), white blood cells (WBCs), and epithelial cells (ECs), and under a low-power field (LPF, 100x) for urinary casts. Urine particles were reported in the patient's data sheet as the mean number of

elements for 10 HPFs (RBCs, WBCs, and ECs) and 10 LPFs for urinary casts. The presence of 0-3 RBCs/HPF and 0-8 WBCs cells/HPF were considered normal and counts above these levels were reported as positive for hematuria and pyuria, respectively. Trace proteinuria was considered negative.

2.3 Urinary cytokine quantification

The urine concentrations of interleukin IL-1β, IL-6, IL-17, CC-Chemokine ligand (CCL)2, CCL4, CCL5, interferon-gamma (IFN-γ) and tumor necrosis factor (TNF)-α (from PeproTech, Waltham, USA) were quantified by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in a microplate reader (EzReader, Washington, USA). The intra-assay coefficient of variability was <7.5%.

2.4 Oxidative stress (OS) analysis

2.4.1 Reactive oxygen species (ROS)

The ROS content was evaluated in the urine through the fluorescence intensity of the redox-sensitive dye 2′,7′-dichlorodihydrofluorescein diacetate (DCFH-DA, 100μM) (Sigma-Aldrich, Saint Louis, MO, USA). DCFH-DA undergoes the deacetylation process by cellular esterase enzymes, forming the intermediate compound 2′,7′-dichlorodihydrofluorescein, which reacts with ROS forming oxidized 2′,7′ dichlorofluorescein (DCF), a fluorescent molecule. The analysis was performed with excitation and emission wavelengths of 480 and 535nm, respectively, using a SpectraMax M2e device (Molecular Devices, San José, CA, USA) [4].

2.4.2 Lipid peroxidation

Lipid peroxidation was evaluated by the thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) method [15]. This test measures the malondialdehyde (MDA) concentrations in products formed from the oxidation of lipids. For this assay, 0.2mL of urine reacted with 0.25mL of acetic acid (2.5M, pH 3.4), 50μL of sodium dodecyl sulfate (SDS, 8%), and 0.25mL of thiobarbituric acid (0.8%). This mixture was vortexed and then incubated in a water bath for 1h/100°C. Afterward, the samples were centrifuged at 3500rpm/10min at 4°C. The supernatant was transferred to a 96-well microplate and analyzed in the microplate reader (Spectra Max 250; Molecular Devices) at 532nm. The result was expressed in nmol/mL [4].

2.4.3 AOPP (Advanced oxidation protein products)

Advanced oxidation protein products arise from the altered oxidation of albumin, fibrinogen, and lipoproteins as a consequence of OS. They serve as protein damage markers due to oxidation, reflecting both the intensity of OS and inflammation [14]. They were determined spectrophotometrically according to the method previously described [15]. The results were calculated by the standard curve as the equivalent of chloramine and are expressed as µmol/L.

2.4.4 Thiol concentration

The thiol concentration present in urine was measured based on the interaction between the thiol group of proteins and 5-5′-dithiobis 2-nitrobenzoic acid (DTNB) using Ellman's reagent [16]. First, 50µL of urine, 25µL of phosphate-buffered saline (10mmol/L, pH 7.4), and 25µL of DTNB were mixed in 96-well microplates, incubated for 30min, protected from light, and then read on a microplate reader (Spectra Max 250; Molecular Devices) at 412nm. The results were expressed in µmol/mL [4].

2.4.5 Renal injury biomarkers

The Calbindin, Collagen IV, FABP1, α-GST, **C-X-C motif chemokine ligand 10 (**CXCL10), KIM-1, Renin, TFF-3, and *TIMP-1* renal injury biomarker concentrations were analyzed in urine by bead-based multiplex assays using Luminex Technology following the manufacturer's recommendations (MILLIPLEX MAP Human Kidney Injury Magnetic Bead, Millipore, USA). Urinary biomarker levels were assessed with the following numbers of patients for the control group, non-AKI and AKI groups, respectively: calbindin and collagen IV (17, 16 and 11), TFF3 (15, 17 and 12), TIMP-1 (15, 17 and 10), FABP-1 (12, 15 and 11), renin (18, 17 and 12), KIM-1 (18, 16 and 13) and CXCL10 (18, 17 and 13).

2.5 Statistical analysis

The SPSS 18.0 software ([SPSS Inc. Released 2009. PASW Statistics for Windows, Version 18.0. Chicago: SPSS Inc.) was used for statistical analysis. The Shapiro-Wilk test was performed to assess the normality of data distribution. The results for normally distributed data were presented as mean±standard deviation, while the results for non-normally distributed data were expressed as median and interquartile range (IQR: p25–p75). Descriptive statistics for categorical variables included frequency analysis (percentages), whereas medians and interquartile ranges were used for continuous variables.

Comparisons among groups of categorical variables were conducted using Pearson's chi-squared test, while one-way analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post hoc

test or the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's test were used for multiple comparisons of continuous variables. The ability of the variables of interest to predict AKI was assessed using ROC curve analysis, and cut-off points were selected according to the Youden index. Next, relative risk (RR) estimates with 95% confidence intervals (95%CI) were calculated for the two outcomes using Poisson regression analysis with robust variance. Variables with $p<0.20$ in the univariate stage were forwarded for multivariate analysis, in which a stepwise backward elimination approach was applied to retain only the most significant or impactful variables in the final model. A $p\leq0.05$ was adopted for all tests to indicate statistical significance.

3. Results

3.1 Clinical characteristics of COVID-19 patients

A total of 39 patients with confirmatory qRT-PCR tests for SARS-CoV-2 who required hospitalization due to COVID-19 were enrolled. Indeed, 21 non-hospitalized SARS-CoV-2 RT-PCR-positive patients were recruited as a control group. From the total of 39 hospitalized patients, 19 (48.7%) were classified as having AKI and 20 (51.3%) as not having AKI (Table 1).

Hospitalized patients were in their sixth and seventh decade of life, while control subjects were younger than hospitalized patients ($p<0.001$). Most COVID-19 patients without AKI were classified as lean (60.0%), while 78.94% of those with AKI were overweight or obese. Control patients had a lower body mass index.

The mean length of hospital stay was 15.2 days, with the AKI and non-AKI groups lasting 18 and 12.5 days, respectively. Furthermore, 100% of patients with AKI required oxygen therapy during hospitalization compared with 70.0% of non-AKI ($p<0.001$). Hospitalized patients (AKI, non-AKI) had underlying comorbidities at admission, including hypertension ($p<0.001$) or diabetes mellitus ($p<0.05$), and presented symptoms such as dyspnoea ($p<0.001$), coughing ($p<0.05$), body aches ($p<0.05$), and headache ($p<0.05$) when compared with the control group. Pulmonary sepsis presented a higher prevalence in AKI patients (compared to non-AKI and to control, $p<0.001$). 26.3%, 36.8% and 36.8% of AKI patients were in stages 1, 2 and 3, respectively, according to the KDIGO 2012 classification. Importantly, most of the patients who died from COVID-19 developed AKI (89.5%), while only 10% died in non-AKI group.

Table 1. Clinical and demographic characteristics from COVID-19 patients, according to AKI development.

Variables	All patients N=60	Control N=21	Non-AKI N=20	AKI N=19	P-value*
Clinical characteristics					
Age (years, mean (±SD))	57.08 (±19.21)	38.67 (±14.02)	63.05 (±15.21)	71.16 (±10.14)[a]	**<0.001***
Gender (female) (n. %)	24 (40)	8 (38.1)	7 (35)	9 (47.4)	0.715
Nutritional status (n. %)					**0.001***
Lean	33 (55.0)	17 (80.9)	12 (60.0)[a, b]	4 (21.1)[a]	
Overweigh	13 (21.7)	4 (19.0)	2 (10.0)[a]	7 (36.8)[a]	
Obesity	14 (23.3)	0 (0.0)	6 (30.0)[a]	8 (42.1)[a]	
Length of in-hospital stay (days). Median (IQR))	8 (0-18.5)	0 (0.0)	12.5 (6-22)[a]	18 (13.5-30.5)[a]	**<0.001***
Oxygen use during hospitalization (n. %)	33 (55.0)	0 (0.0)	14 (70.0)[a, b]	19 (100)[a]	**<0.001***
Death outcome (n. %)	19 (31.7)	0 (0.0)	2 (10.0)[a, b]	17 (89.5)[a]	**<0.001***
Stage KDIGO 2012 (n. %)					
Stage 1	5 (8.3)	-	-	5 (26.3)	
Stage 2	7 (11.7)			7 (36.8)	
Stage 3	7 (11.7)			7 (36.8)	
Clinical symptoms at hospitalization (n. %)					
Fever	32 (53.3)	7 (33.3)	12 (60.0)	13 (68.4)	0.065
Dyspnea	34 (56.7)	2 (9.5)	17 (85.0)[a]	15 (78.9)[a]	**<0.001***
Cough	28 (46.7)	4 (19.0)	14 (70.0)[a]	10 (52.6)[a]	**0.004***
Body aches	22 (36.7)	3 (14.3)	10 (50.0)[a]	9 (47.4)[a]	**0.030***
Sore throat	19 (31.7)	4 (19.0)	9 (45.0)	6 (31.6)	0.203
Fatigue	12 (20.0)	3 (14.3)	5 (25.0)	4 (21.0)	0.686
Myalgia	14 (23.3)	2 (9.5)	6 (30.0)	6 (31.6)	0.177
Nausea and vomiting	3 (5.0)	1 (4.8)	1 (5.0)	1 (5.3)	0.997
Pulmonary sepsis	11 (18.3)	0 (0.0)	2 (10.0)[a, b]	9 (47.4)[a]	**<0.001***
Headache	16 (26.7)	10 (47.6)	5 (25.0)[a]	1 (5.3)[a]	**0.010***
Coryza	7 (11.7)	2 (9.5)	4 (20.0)	1 (5.3)	0.333
Diarrhea	2 (3.3)	0 (0.0)	0 (0.0)	2 (10.5)	0.107
Underlying medical condition (n. %)					
Hypertension	28 (46.7)	3 (14.3)	12 (60.0)[a]	13 (68.4)[a]	**<0.001***
Diabetes	18 (30.0)	2 (9.5)	7 (35.0)[a]	9 (47.4)[a]	**0.028***
Neurological	7 (11.7)	0 (0.0)	3 (15.0)	4 (21.0)	0.100
Cardiovascular	15 (25.0)	3 (14.3)	5 (25.0)	7 (36.8)	0.258
Asthma	3 (5.0)	2 (9.5)	1 (5.0)	0 (0.0)	0.386
Pharmacological treatment (n. %)					
Azithromycin	27 (45.0)	2 (9.5)	11 (55.0)[a]	14 (73.7)[a]	**<0.001***
Corticosteroids	21 (35.0)	0 (0.0)	7 (35.0)[a, b]	14 (73.7)[a]	**<0.001***
Ceftriaxone	13 (21.7)	0 (0.0)	5 (25.0)	8 (42.1)[a]	**0.005***
Levofloxacin	7 (11.7)	0 (0.0)	1 (5.0)[b]	6 (31.6)[a]	**0.004***
Cefepime	3 (5.0)	0 (0.0)	1 (5.0)	2 (10.5)	0.312
Vancomycin	10 (16.7)	0 (0.0)	0 (0.0)	10 (52.6)	**<0.001***

Results are reported as frequency and %. Abbreviation: IQR. interquartile range, SD. standard deviation. [a]Denotes statistical difference compared to the Controls group; [b]Denotes statistical difference compared to AKI group. Comparisons between groups were performed using Pearson's Chi-square test, comparing 3 groups (control group with AKI and non-AKI). For age, the one-way analysis of variance (ANOVA) test was used followed by Tukey post

hoc and for Length of in-hospital stay the Kruskal-Wallis test followed by Dunn's. Significance set at 5% for all analysis.

3.2 Urinalysis evaluation

Proteinuria was observed in 68.4% of AKI and 65.0% of non-AKI patients, differing from the control group ($p<0.001$), while blood/hemoglobin was detected in 79.49% of hospitalized patients compared to the control group ($p<0.001$) (Table 2). Glycosuria was more prevalent in patients with AKI (57.9%) when compared to non-AKI (20%) or control groups (9.5%) ($p=0.002$), and leukocyte esterase was more observed in hospitalized patients (51.3%), compared to the control (9.5%) ($p<0.05$) (Table 2).

The urinary sediment revealed hematuria (RBC) in 35 (58.3%) total of patients, of which 89.4% with AKI and in 65.0% of non-AKI. Tubular renal epithelial cells, urinary casts and macrophages were more prevalent in hospitalized patients (AKI and non-AKI) compared to the control group ($p<0.001$), highlighting the presence of granular casts in most AKI (60%) patients, compared to without AKI (26.3%) and to the control group (0%) ($p<0.001$) (Table 2).

278 **Table 2.**Urinalysis in COVID-19 patients

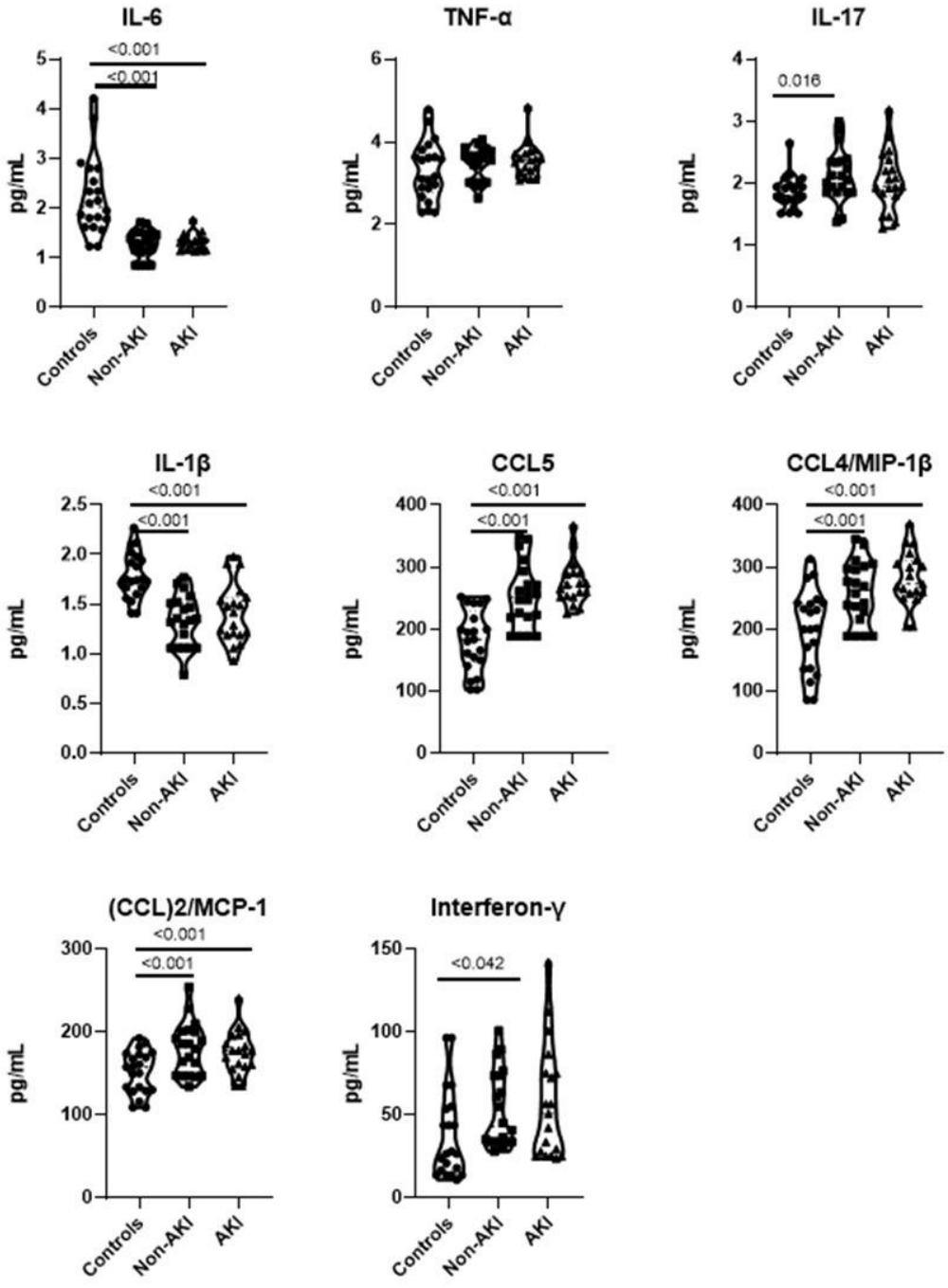
Variables	All patients N=60	Control N=21	Non-AKI N=20	AKI N=19	P-value*
Harvest method (n. %)					
Probe	31 (51.7)	0 (0.0)	14 (70.0)	17 (89.5)	**<0.001**
Spontaneous urination	29 (48.3)	21 (100)	6 (30.0)	2 (10.5)	
Dipstick urinalysis (n. %)					
Protein					
Negative	32 (53.4)	19 (90.5)	7 (35.0) [a]	6 (31.6) [a]	**<0.001***
Positive	28 (46.7)	2 (9.5)	13 (65.0) [a]	13 (68.4) [a]	
+	14 (50.0)	1 (50.0)	8 (61.5)	5 (38.5)	0.520
++	9 (32.1)	1 (50.0)	4 (30.8)	4 (30.8)	
+++	5 (17.9)	0 (0.0)	1 (7.7)	4 (30.8)	
Blood/hemoglobin					
Negative	27 (45.0)	19 (90.5)	5 (25.0) [a]	3 (15.8) [a]	**<0.001***
Positive	33 (55.0)	2 (9.5)	15 (75.0) [a]	16 (84.2) [a]	
Trace	6 (18.2)	1 (50.0)	3 (20.0)	2 (12.5)	0.476
+	6 (18.2)	1 (50.0)	1 (6.7)	4 (25.0)	
++	19 (57.6)	0 (0.0)	10 (66.7)	9 (47.4)	
+++	2 (6.1)	0 (0.0)	1 (6.7)	1 (6.3)	
Urobilinogen					
Negative	58 (96.7)	21 (100)	19 (95.0)	18 (94.7)	0.572
Positive	2 (3.3)	0 (0.0)	1 (5.0)	1 (5.3)	
Glucose					
Negative	43 (71.7)	19 (90.5)	16 (80.0) [b]	8 (42.1) [a]	**0.002***
Positive	17 (28.3)	2 (9.5)	4 (20.0) [b]	11 (57.9) [a]	
Trace	3 (17.6)	1 (50.0)	1 (25.0)	1 (9.1)	0.652
+	4 (23.5)	1 (50.0)	1 (25.0)	2 (18.2)	
++	4 (23.5)	0 (0.0)	1 (25.0)	3 (27.3)	
+++	6 (35.3)	0 (0.0)	1 (25.0)	5 (45.5)	
Leukocyte esterase					
Negative	38 (63.3)	19 (90.5)	10 (50.0) [a]	9 (47.4) [a]	**0.006***
Positive	22 (36.7)	2 (9.5)	10 (50.0) [a]	10 (52.6) [a]	
Trace	15 (68.2)	2 (100)	6 (60.0)	7 (70.0)	0.817
+	3 (13.6)	0 (0.0)	2 (20.0)	1 (10.0)	
++	3 (13.6)	0 (0.0)	2 (20.0)	1 (10.0)	
+++	1 (4.5)	0 (0.0)	0 (0.0)	1 (10.0)	
pH (median (IQR))	6 (5.5-6.5)	6 (5.5-6.5)	6 (6-6)	6 (5-7)	0.770
Specific gravity (median (IQR)	1015(1010-1020)	1015(1010-1020)	1017(1010-1020)	1015(1012-1020)	0.822
Urinary sediment (n. %)					
RBC (>3cells/optical field)	35 (58.3)	5 (23.8)	13 (65.0) [a]	17 (89.4) [a]	**<0.001***
WBC (>8cells/optical field)	2 (3.3)	2 (9.5)	7 (35.0)	4 (21.1)	0.141
RBC+Protein	27 (43.5)	2 (9.5)	12 (60.0) [a]	13 (68.4) [a]	**0.001***
Macrophage	24 (40.0)	0 (0.0)	16 (80.0) [a, b]	8 (42.1) [a]	**<0.001***
Epitelial cells	42 (70.0)	12 (57.1)	18 (90.0)	12 (63.2)	0.053
Squamous	36 (60.0)	13 (61.9)	15 (75.0)	8 (42.1)	0.109
Transitional	14 (23.3)	5 (23.8)	4 (20.0)	5 (26.3)	0.895
Tubular renal	24 (40.0)	0 (0.0)	12 (60.0) [a]	12 (63.2) [a]	**<0.001***
Casts	31 (51.7)	2 (9.5)	15 (75.0) [a]	14 (73.7) [a]	**<0.001***
Hyaline	19 (31.7)	1 (4.8)	10 (50.0) [a]	8 (42.1) [a]	**0.004***
Epithelial	17 (28.3)	0 (0.0)	9 (45.0) [a]	8 (42.1) [a]	**0.002***
Granular	17 (28.3)	0 (0.0)	5 (25.0) [a, b]	12 (63.2) [a]	**<0.001***
Hematic	1 (1.7)	0 (0.0)	1 (5.0)	0 (0.0)	0.362
Waxy	4 (6.7)	0 (0.0)	3 (15.0)	1 (5.3)	0.150

279

Results are reported as frequency and % and quantitative variables were described by median (IQR). [a] Denotes statistical difference compared to the Controls group; [b] Denotes statistical difference compared to AKI group. Comparisons between groups were performed using Pearson's Chi-square test, comparing three groups (control group with AKI and without AKI and control group with survivors and non-survivors). For pH and specific gravity was used Kruskal-Wallis test followed by Dunn's. Significance set at 5% for all analysis.

3.3 Urinary cytokine analysis

Urinary IL-6 (Kruskal-Wallis) levels and IL-1β (ANOVA) were lower in hospitalized COVID-19 patients with and without AKI compared to the mild COVID-19 group (control group) ($p<0.001$), while CCL2, CCL5 and CCL4 were higher in these groups compared to the control group ($p<0.001$). IFN-γ (Kruskal-Wallis) and IL-17 only demonstrated a difference in non-AKI compared to the control group ($p<0.05$). TNF-α level was not different among the groups (Fig. 1).



294

295 Figure 1**.** Urinary excretion of IL-6, TNF-α, IL-17, IL-1β, CCL5, CCL4, CCL2 and IFN-
296 γ in patients with mild COVID-19 (controls), patients hospitalized with COVID-19 who
297 did not develop AKI, patients hospitalized with COVID-19 who developed AKI. The
298 graphs represent all patients. The statistical analysis used was the Kruskal-Wallis
299 test followed by Dunn (IL-6 and IFN-γ) or one-way ANOVA followed by Tukey (other
300 cytokines) for multiple comparisons. Significance set at 5% for all analysis.

3.4 Urinary oxidative stress analysis

Urinary OS markers are shown in Figure 2. A significant increase in TBARS and thiols was found in both AKI ($p<0.001$) and non-AKI ($p<0.001$) compared with the control group, while AOPP concentration was only higher in non-AKI patients ($p=0.002$) (Fig. 3). ROS levels were not different among the groups.

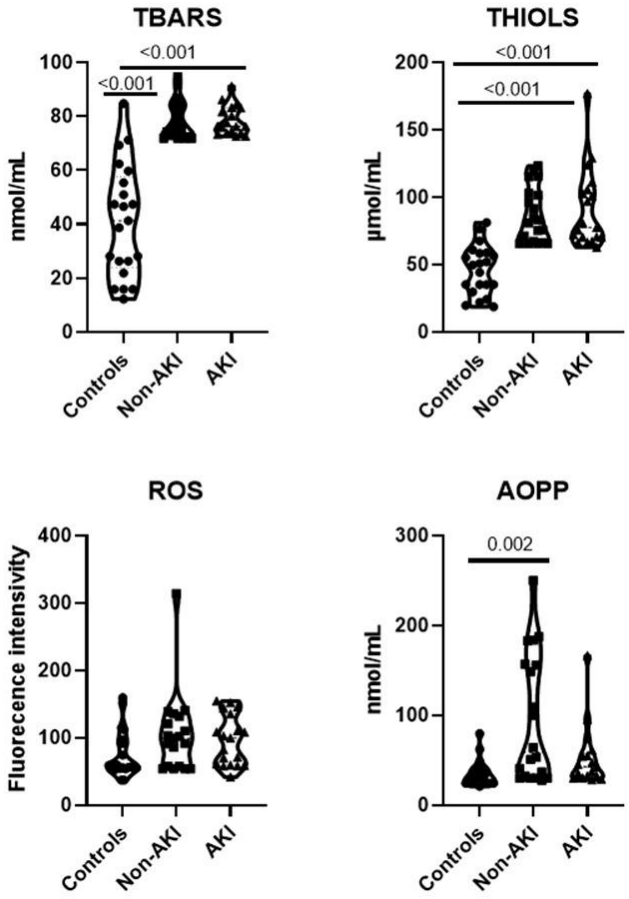


Figure 2. Urinary levels of TBARS, thiols, ROS and AOPP in patients with mild COVID-19 (controls), hospitalized patients with COVID-19 who did not develop AKI, hospitalized patients with COVID-19 who developed AKI. The graphs represent all patients. The statistical analysis used was the Kruskal-Wallis test followed by Dunn (TBARS, ROS and AOPP) or one-way ANOVA followed by Tukey (Thiols) for multiple comparisons. Significance set at 5% for all analysis.

3.5 Urinary biomarker analysis

The calbindin and collagen IV concentrations in hospitalized patients were lower than the control, highlighting collagen IV and KIM-1 (lower and higher concentration than the control, respectively) which showed a difference between AKI and non-AKI groups (p=0.036 and p=0.049) (Fig. 3). On the other hand, renin and CXCL10 presented higher values in the AKI (p=0.001 and p<0.001) and non-AKI (p<0.001) compared to the control group. FABP-1 presented a lower concentration than the control and non-AKI groups (p=0.002). TFF3 presented a lower concentration in hospitalized patients (compared to control) with the lowest values in the AKI group and different from the non-AKI group (p=0.006). TIMP-1 showed no difference between groups (Fig. 3).

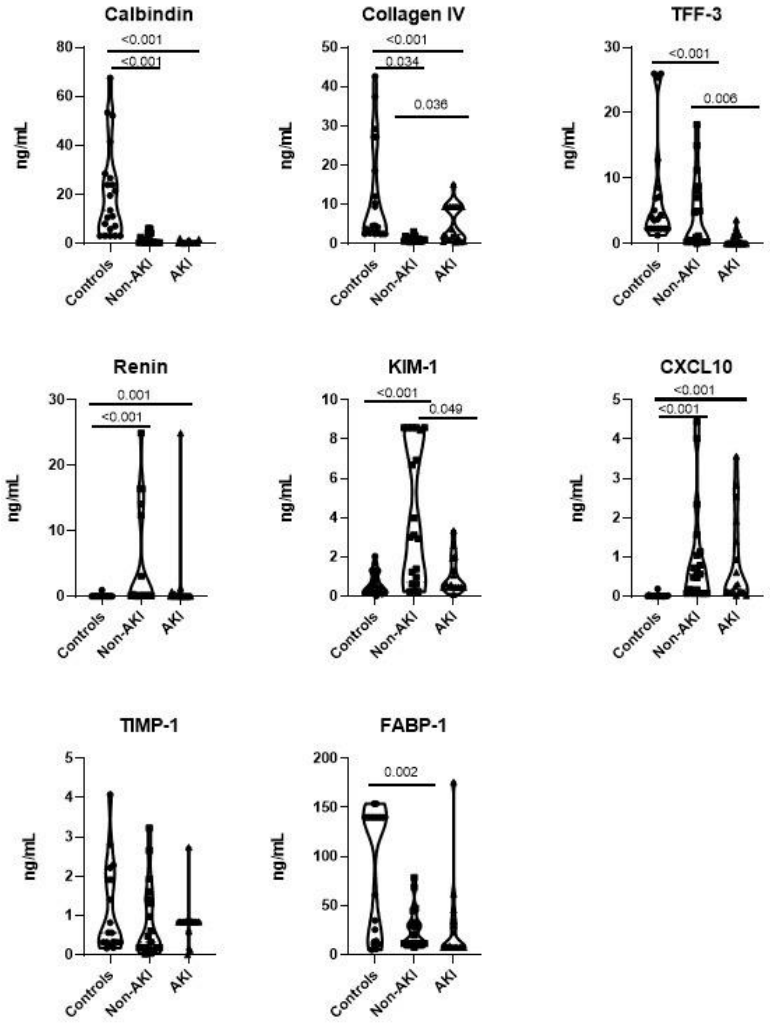
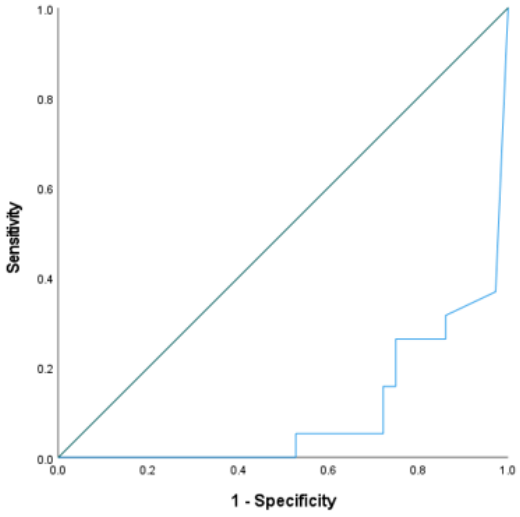


Figure 3. Urinary excretion of Calbindin, collagen IV, TFF3, renin, KIM-1, CXCL10, TIMP-1, and FABP-1 in patients with mild COVID-19 (controls), hospitalized patients with COVID-19 who did not develop AKI, patients hospitalized with COVID-19 who developed AKI. The graphs represent all patients. The statistical analysis used was the Kruskal-Wallis test

328 followed by Dunn (other biomarkers) or one-way ANOVA followed by Tukey (Collagen IV) for
329 multiple comparisons. Significance set at 5% for all analysis.
330
331 ***3.6 ROC curves (AUC) and Poisson regression***
332 Figure 4 shows the ROC curve and the cut-off point established for the diagnostic
333 measurement according to the AKI outcome. The AUC for TFF3 was 0.899 (CI95% 0.818-
334 0.980), with a cut-off value of ≤0.306, 72.2% sensitivity, 83.8% specificity, 68.4% PPV and
335 NPV of 86.1%, with 80% of accuracy.
336 TFF3 was the marker that showed the best AUC (0.899) to AKI outcome. Patients
337 with ≤0.306 are associated to AKI and death. The univariable analysis showed that TFF3 has
338 a RR of 0.276 (p=0.05) and protein RR of 0.156 (0.071-0.350) as independent biomarkers
339 associated to AKI and death, but only TFF3 showed significance in the multivariable analysis
340 and presenting a RR of 0.276 for AKI, pointing as a potential biomarker for AKI in COVID-19
341 patients.



	AKI							
Test Result Variable(s)	**AUC (CI 95%)**	**p**	**Cut-Off**	**SE**	**SP**	**PPV**	**NPV**	**Accuracy**
TFF3 (ng/mL)	0.899 (0.818-0.980)	**<0.001**	≤0.306	72.2	83.8	68.4	86.1	80.0

342

343 Figure 4. ROC curves according to AKI. The results are expressed as percentual (%).
344 Abbreviations: AUC. area under the curve; SE. sensibility; SP. specificity; CI. confiance
345 interval, PPV. positive predictive value, NPV. negative predictive value. Significance set at
346 5% for all analysis.
347

4. Discussion

Given the importance of inflammatory response and oxidative stress in the severity of COVID-19, as well as the impact of COVID-19 on renal dysfunction, we conducted a cross-sectional study to better evaluate urinalysis parameters, proinflammatory cytokines, OS markers, and kidney injury biomarkers in urine samples from COVID-19 patients, with or without AKI.

Risk factors such as male sex, older age, higher BMI, diabetes and obesity are associated with a worse prognosis, increased hospitalizations and higher mortality in COVID-19. In fact, the risk of developing AKI was also increased in patients with predefined comorbidities such as diabetes and hypertension [17]. In our study, overweight/obesity, hypertension and diabetes were observed in critically ill patients, especially in AKI patients, which is in line with a recent finding that indicated that excess body weight increases the severity of COVID-19 through dysregulated immune response [1].

The presence of AKI in patients with COVID-19 is associated with worse disease severity and adverse outcomes, such as longer hospital stays, need for renal replacement therapy, and increased mortality [2]. A total of 7.58% (CI 3.30%-13.54%) of COVID-19 patients developed AKI, with 93.2% mortality (CI 81.46%-100%) [18]. There are several causes of AKI in the Intensive Care Unit (ICU), with acute tubular necrosis remaining the most common. The process is multifactorial, including sepsis, nephrotoxic drugs, contrast agents and post-surgical causes [19]. Approximately 5% to 20% of ICU patients will develop AKI, of which 6% will require some form of renal replacement therapy [20]. The presence of AKI in COVID-19 patients is associated with greater disease severity and adverse outcomes, such as longer hospital stays, need for renal replacement therapy, and increased mortality [21]. Has increased the incidence of AKI related to urinary tract infection and this is probably due to the higher incidence of sepsis related to hospital admissions [19]. Pulmonary sepsis stood out in this study in patients with AKI (47.4%). It is important to highlight that patients with AKI had an 85% mortality rate in our study.

COVID-19 patients in critical groups had higher glycosuria and proteinuria (compared to moderate group), suggesting that urinary biochemical parameters may be indicative of AKI in advanced stages of disease and may predict the severity of COVID-19 [22]. Regarding AKI in COVID-19 patients, proteinuria is a common marker of renal injury and may indicate tubular or glomerular dysfunction. The tubular proteinuria has been associated with mortality [23].

This study shows that hemoglobinuria and proteinuria (84.2% and 68.4%, respectively) were observed in most hospitalized COVID-19 patients, mainly with AKI. Cheng et al. [24] found a correlation between hematuria and mortality in COVID-19, suggesting that

hematuria may be an additional marker of renal failure and disease severity. Liu et al. [25] found differences in the proportion of blood and protein on urine dipstick between COVID-19 patients and healthy controls. In our study, the groups with the highest proportion of glycosuria and proteinuria were patients with the highest severity of AKI (57.9% and 68.4%, respectively). Indeed, Pei et al. [26] reported that 75.4% of COVID-19 patients had renal involvement upon admission, and the renal complication was associated with higher mortality in COVID-19 patients.

Cytokines and chemokines are released in large amounts during the acute phase of COVID-19. In our study, higher urinary levels of CCL4 and CCL5 were found in severe COVID-19 (AKI, non-AKI) compared to control (mild disease). It is possible that AKI may be an additional stimulus for producing chemokines (CCL4 and CCL5) and cytokine (IFN-γ) [27]. IL-1β is an inflammatory cytokine of relevance in COVID-19 pathogenesis, inducing IL-6 in inflammatory conditions; thus, it is plausible that rapid activation of IL-1β plays a crucial role in the early phase of COVID-19 [28]. Its low levels in hospitalized patients (AKI, non-AKI) may be associated to corticosteroids or immunomodulatory drugs [29].

Additionally, OS has an important role in the pathogenesis of COVID-19 [4], and the TBARS concentration was increased in all groups of hospitalized patients (AKI, non-AKI) in this study, while AOPP was only increased in non-AKI patients, evidencing an altered redox state in severe COVID-19. Furthermore, thiol content was also increased in the urine of severe COVID-19 patients, especially in patients with AKI, which is in line with our previous study showing an increase in antioxidant capacity, protein oxidation and TBARS levels in plasma of severe COVID-19 patients compared to healthy individuals [4]. The presence of abnormal thiol and TBARS levels has been correlated with more severe disease during admission [30]. Hospitalized COVID-19 patients showed higher TBARS and thiol levels in our study, which are only two of the multiple OS markers available to assess plasma oxidation and may therefore reflect a partial view of the true redox state.

We evaluated some urine biomarkers in the detection and prognosis of AKI in COVID-19. Van Nynatten et al. [31] observed no alterations in urinary calbindin, but this study shows a reduced concentration in hospitalized patients, suggesting that calbindin, expressed in distal nephron may be impacted by tubular lesions, contributing to AKI progression. Regarding KIM-1, while Vogel et al. [32] highlighted its role in early AKI detection and Temiz et al. [33] associated the KIM-1/creatinine ratio with COVID-19-related mortality, in this study KIM-1 did not perform for AKI detection but showed an increase in hospitalized patients, which may be related to its function in signaling tubular renal damage.

CXCL10, an inflammatory chemokine, in this study showed higher concentration in hospitalized patients, as observed by Van Nynatten et al. [31] and Kesmez Can et al. [34],

reinforcing its link to COVID-19 severity and systemic inflammation. Although Küllmar et al. [35] suggested that elevated renin levels indicate a high AKI risk, this study found that while renin was elevated in hospitalized patients, but it did not differentiate AKI and non-AKI, suggesting that its role may be more complex in COVID-19. Diverging from Guedj et al. [36] propose that FABP-1 as crucial in renal injury and repair, this study found no significant differences in its levels between AKI and control groups, suggesting that its role may vary depending on the clinical context.

Peptides play different roles in mucosal protection and defense, being part of the innate immune system. TFF peptides seem to modulate immune responses, and TFF3 is the most abundant in the human urinary tract, being found in proximal and single distal tubular cells, and in collecting duct cells [37,38]. It is suggested that the presence of urine TFF3 and TFF1 reflect their excretion from the urinary tract, not merely their leakage from serum [39]. In rodent, urine TFF3 markedly reduced after acute renal toxicity, and it has already been proposed as a urine biomarker for kidney toxicity in preclinical stages [40]. Urine TFF3 levels are increased in AKI patients with acute decompensation of liver cirrhosis, particularly in acute tubular necrosis, compared to patients without AKI [41]. Yanamari et al. [39] showed that TFF3 alone predicted CKD progression, and higher TFF1 and TFF3 alone, or in combination with macroalbuminuria, had a significantly worse renal prognosis, being a significant predictor of the renal outcome in CKD patients.

We observed that a TFF3 level ≤0.306 was associated to AKI in COVID-19 patients, which could result from a toxic process in COVID-19, secondary to a sepsis or cytokine storm. Patients with AKI showed lower urinary TFF-3 concentration, suggesting a possible role of TFF3 in the protection and integrity of the renal epithelium, also indicating that the epithelial dysfunction and imbalance in renal homeostasis is capable of differentiating AKI from non-AKI patients [31]. There are indications that TFF peptides can antagonize cytokine receptors (for IL-1, IL-6, and TNF), thereby acting as anti-inflammatory peptide), and probably activate a variety of receptors, such as CXCR4 [37]. We observed a down-expression of IL-6 and IL-1β (in hospitalized patients, without difference between AKI and non-AKI groups).

In summary, our study identified decreased calbindin and collagen IV levels, indicating possible structural kidney degradation associated with renal injury. Elevation in renin and CXCL10 highlights the inflammatory response and renal tubular injury as critical components in the AKI pathogenesis. A reduced TFF-3 suggests reduced renal epithelium protection in COVID-19 patients with AKI. Our findings support the fact that biochemical parameters (protein, hemoglobin, glucose, and leukocyte esterase) and RBC in urine sediment can be used to monitor AKI related to COVID-19.

As limitations of our study, we cite the analysis of a limited number of cytokines/chemokines and OS markers, as well as the absence of a kinetics assessment during the disease and follow-up after hospital discharge. However, even with these limitations, the study provides important data on biomarkers capable of predicting AKI development in COVID-19 patients.

5. Conclusion

This study reinforces the critical role of inflammation in determining COVID-19 progression and severity. It highlights the potential of urinalysis and urinary biomarkers, mainly protein and TFF-3 (individually) which presented a RR of 0.156 and 0.225, respectively, for AKI and death. These considerations must be considered in treating patients with severe COVID-19 in efforts to identify patients at the highest risk and to better allocate resources.

Statement of Ethics

The study was reviewed and approved by the UFCSPA Ethics Committee (4.838.254) and adhered to the principles outlined in the Helsinki Declaration. The **informed consent was obtained from all subjects and/or their legal guardian(s).**

Conflict of Interest Statement

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Funding sources

This work was supported by the *Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil* (*CAPES*) Finance Code 001, the *Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico* (*CNPq*) and the Federal University of Health Sciences of Porto Alegre. PRTR is a Research Career Awardee of the *CNPq*.

Author contributions

VJ: Conceptualization, Data curation, Methodology, Investigation, Writing – original draft, Writing – review & editing; LM: Investigation and Writing – original draft, CF: Investigation; Statistical analysis; ED: Investigation, Writing – review & editing; CN: Investigation; GD: Formal analysis and Writing – original draft, Writing – review & editing; PT: Methodology, Investigation and formal analysis; CT: Investigation; JP: Investigation and Writing – review &

editing; PR: Conceptualization, Supervision, Methodology, Writing – review & editing; LR: Conceptualization, Supervision, Methodology, Writing – original draft, Writing – review & editing.

Data Availability Statement

Data will be made available on request to the corresponding author (lnrotta@ufcspa.edu.br)

6. References

1. Falavigna, M et al. The II Brazilian Guidelines for the pharmacological treatment of patients hospitalized with COVID-19. *Crit. Care Sci.* **35,** 243-255 (2023).
2. Morita, Y et al. Urine sediment findings were milder in patients with COVID-19-associated renal injuries than in those with non-COVID-19-associated renal injuries. *Int. J. Infect. Dis.* **117,** 302–311 (2022).
3. Romão, PR et al. Viral load is associated with mitochondrial dysfunction and altered monocyte phenotype in acute severe SARS-CoV-2 infection. *Int. Immunopharmacol*. **108,** 108697; 10.1016/j.intimp.2022.108697 (2022).
4. Postiga, IAL et al. Systemic redox imbalance in severe COVID-19 patients. *Cell Biochem. Funct.* **40,** 694-705 (2022).
5. Zhang, J et al. Direct targeting of sEH with alisol B alleviated the apoptosis, inflammation, and OS in cisplatin-induced acute kidney injury. *Int. J. Biol. Sci.* **19,** 294-310 (2023).
6. Qin, R et al. Identification of Parameters Representative of Immune Dysfunction in Patients with Severe and Fatal COVID-19 Infection: a Systematic Review and Meta-analysis. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* **64,** 33-65 (2022).
7. Dorneles, GP et al. Endotoxin tolerance and low activation of TLR-4/NF-κB axis in monocytes of COVID-19 patients. *J. Mol. Med*. **101,** 183-195 (2023).
8. Hirano, T & Murakami, M. COVID-19: A New Virus, but a Familiar Receptor and Cytokine Release Syndrome. *Immunity* **52,** 731-733 (2020).
9. Guedj, K et al. I-Fabp is decreased in COVID-19 patients, independently of the prognosis. *PLoS One* **16,** e0249799; 10.1371/journal.pone.0249799 (2021).
10. Brusa, S et al. Circulating tissue inhibitor of metalloproteinases 1 (TIMP-1) at COVID-19 onset predicts severity status. *Front. Med. (Lausanne)* **9,** 1034288; 10.3389/fmed.2022.1034288 (2022).

524 11. Yasar, E et al. Could urinary kidney injury molecule-1 be a good marker in subclinical
525 acute kidney injury in mild to moderate COVID-19 infection? *Int. Urol. Nephrol*. **54,** 627-636
526 (2022).
527 12. Cecchini, R & Cecchini, AL. SARS-CoV-2 infection pathogenesis is related to oxidative
528 stress as a response to aggression. *Med. Hypotheses*. **143,** 110102;
529 10.1016/j.mehy.2020.110102 (2020).
530 13. Ohkawa, H, Ohishi, N & Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by
531 thiobarbituric acid reaction. *Anal. Biochem.* **95,** 351-358 (1979).
532 14. Piwowar, A. Advanced oxidation protein products. Part I. Mechanism of the formation,
533 characteristics and property. *Pol. Merkur. Lekarski*. **28,** 166-169 (2010).
534 15. Zhong, ZM, Bai, L & Chen, JT. Advanced oxidation protein products inhibit proliferation
535 and differentiation of rat osteoblast-like cells via NF-κB pathway. *Cell Physiol. Biochem*. **24,**
536 105-114 (2009).
537 16. Ellman, GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys.* **82,** 70-77 (1959).
538 17. Zhang, J et al. Risk factors for acute kidney injury in COVID-19 patients: an updated
539 systematic review and meta-analysis. *Ren. Fail.* **45,** 2170809;
540 10.1080/0886022X.2023.2170809 (2023).
541 18. Poloni, JAT, Jahnke, VS & Rotta, LN. Acute kidney injury in patients with COVID-19.
542 *Rev. Bras. Anal. Clin.* **52,** 160-167 (2020).
543 19. Pakula, AM & Skinner, AS. Acute kidney injury in the critically ill patient: A current review
544 of the literature. *J. Intensive Care Med.* **31,** 319-324 (2016).
545 20. Henry, BM & Lippi, G. Chronic kidney disease is associated with severe coronavirus
546 disease 2019 (COVID-19) infection. *Int. Urol. Nephrol.* **52,** 1193-4; 10.1007/s11255-020-
547 02451-9 (2020).
548 21. Ratnayake, A et al. The dynamics and outcomes of AKI progression during the COVID-
549 19 pandemic. *Nephrology (Carlton)* **29,** 325-337 (2024).
550 22. Erdogan, O, Ok, F, Carkci, S & Durmus, E. Is there an association between urine
551 biochemical parameters on admission and the severity of COVID-19? *Int. J. Clin. Pract.* **75,**
552 e14809; 10.1111/ijcp.14809 (2021).
553 23. Hirsch, JS et al. Acute kidney injury in patients hospitalized with COVID-19. *Kidney Int.*
554 **98,** 209-218 (2020).
555 24. Cheng, Y et al. Kidney disease is associated with in-hospital death of patients with
556 COVID-19. *Kidney Int.* **97,** 829-838 (2020).
557 25. Liu, R et al. The value of urine biochemical parameters in the prediction of the severity of
558 coronavirus disease 2019. *Clin. Chem. Lab. Med.* **58,** 1121-1124 (2020).

559 26. Pei, G et al. Renal involvement and early prognosis in patients with COVID-19
560 pneumonia. *J. Am. Soc. Nephrol.* **31,** 1157-1165 (2020).
561 27. Abou Hassan, FF, Bou Hamdan, M & Melhem, NM. Clinical characteristics and serum
562 cytokines profiling in hospitalized COVID-19 patients in Lebanon. *J. Immunol. Res.* **2023,**
563 7258585; 10.1155/2023/7258585 (2023).
564 28. Dinarello, CA. The IL-1 family of cytokines and receptors in rheumatic diseases. *Nat.*
565 *Rev. Rheumatol.* **15,** 612-632 (2019).
566 29. Horby, P, Lim, WS & Emberson, JR. Dexamethasone in hospitalized patients with Covid-
567 19. *N. Engl. J. Med.* **384,** 693–704 (2021).
568 30. Yildiz, H et al. Analysis of endogenous oxidative damage markers and association with
569 pulmonary involvement severity in patients with SARS-CoV-2 pneumonia. *Infect. Dis. Now*
570 **51,** 429-434 (2021).
571 31. Van Nynatten, LR et al. A novel multiplex biomarker panel for profiling human acute and
572 chronic kidney disease. *Sci. Rep.* **13,** 21210 (2023).
573 32. Vogel, MJ et al. Kidney injury molecule-1: potential biomarker of acute kidney injury and
574 disease severity in patients with COVID-19. *J. Nephrol.* **34,** 1007–1018 (2021).
575 33. Temiz, MZ et al. Altered kidney function induced by SARS-CoV-2 infection and acute
576 kidney damage markers predict survival outcomes of COVID-19 patients: a prospective pilot
577 study. *Ren. Fail.* **44,** 233-240 (2022).
578 34. Kesmez Can, F, Özkurt, Z, Öztürk, N & Sezen, S. Effect of IL-6, IL-8/CXCL8,
579 IP-10/CXCL 10 levels on the severity in COVID-19 infection. *Int. J. Clin. Pract.* **75,** e14970;
580 10.1111/ijcp.14970 (2021).
581 35. Küllmar, M et al. Kinetic changes of plasma renin concentrations predict acute kidney
582 injury in cardiac surgery patients. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. **203,** 1119-1126 (2021).
583 36. Guedj, K et al. I-Fabp is decreased in COVID-19 patients, independently of the
584 prognosis, *PLoS One* **16,** e0249799; 10.1371/journal.pone.0249799 (2021).
585 37. Hoffmann, W. Trefoil factor family (TFF) peptides. *Encyclopedia* **1,** 974-987 (2021).
586 38. Rinnert, M et al. Synthesis and localization of trefoil factor family (TFF) peptides in the
587 human urinary tract and TFF2 excretion into the urine. *Cell Tissue Res.* **339,** 639–647
588 (2010).
589 39. Yamanari, T et al. Urine trefoil factors as prognostic biomarkers in chronic kidney
590 disease. *Biomed. Res. Int.* **2018,** 3024698; 10.1155/2018/3024698 (2018).
591 40. Yu, Y et al. Urinary biomarkers trefoil factor 3 and albumin enable early detection of
592 kidney tubular injury. *Nat. Biotechnol.* **28,** 470-477 (2010).
593 41. Ariza, X et al. Analysis of a urinary biomarker panel for clinical outcomes assessment in
594 cirrhosis. *PLoS One* **10,** e0128145; 10.1371/journal.pone.0128145 (2015).

595 **6. APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA**

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO DE PARÂMETROS LABORATORIAIS EM PACIENTES COM COVID-19
Pesquisador: Liane Nanci Rotta
Área Temática:
Versão: 3
CAAE: 35083220.2.0000.5345
Instituição Proponente: Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre
Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.838.254

Apresentação do Projeto:
Trata-se de emenda a projeto anteriormente aprovado por este CEP em que o pesquisador principal solicita: 1) Análise de um número definido de amostras oriundas de outro laboratório; 2) Acréscimo de pesquisadores colaboradores à equipe do projeto; e 3) Prorrogação do cronograma do projeto.

Objetivo da Pesquisa:
Solicitar : 1) Análise de um número definido de amostras oriundas de outro laboratório; 2) Acréscimo de pesquisadores colaboradores à equipe do projeto; e 3) Prorrogação do cronograma do projeto.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:
NSA

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
O pesquisador justifica sua solicitação de análise de um número definido de amostras (276) oriundas do do Laboratório Hermes Pardini, para fins de comparação dos dados laboratoriais obtidos de pacientes com Covid-19 atendidos pelo laboratório Exame, todas da mesma forma desprovidas de identificação. As amostras a serem cedidas seriam descartadas pelo laboratório. Apresenta, em anexo, uma Declaração de Cessão de Amostras Biológicas pelo referido laboratório. Não há alteração de objetivos ou metodologias. Solicita a inclusão de dois médicos a equipe de pesquisa que colaborarão em suas especialidades

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: Sarmento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

596

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

(infectologia e endocrinologia).
Justifica também a prorrogação do cronograma do projeto até dezembro de 2022, considerando que a pandemia causada pelo SARS-CoV2 ainda em desenvolvimento permite o aumento do numero amostral , enriquecendo os dados coletados em pacientes acometidos pela doença em diferentes ondas da pandemia, quando circulam virus com caracteristicas genotipicamente distintas.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Todos adequadamente apresentados.

Recomendações:

Não há

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Considerando a justificativa apresentada para as solicitação, a emenda pode ser aprovada.

Considerações Finais a critério do CEP:

De acordo com o parecer do Relator.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1788684_E1.pdf	06/07/2021 01:18:58		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	ProjetoEMENDA.pdf	06/07/2021 01:17:28	Liane Nanci Rotta	Aceito
Outros	Cedencia_amostras.pdf	06/07/2021 01:04:52	Liane Nanci Rotta	Aceito
Outros	Emenda_CEP_final.pdf	06/07/2021 01:03:55	Liane Nanci Rotta	Aceito
Outros	Termo_compromisso_entrega_relatorio_semestral_final.pdf	06/07/2021 01:00:03	Liane Nanci Rotta	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_dos_pesquisadoresEMENDA.pdf	06/07/2021 00:57:57	Liane Nanci Rotta	Aceito
Declaração de Pesquisadores	TCUD.pdf	06/07/2021 00:55:40	Liane Nanci Rotta	Aceito
Cronograma	CronogramaNOVO.pdf	06/07/2021 00:55:05	Liane Nanci Rotta	Aceito
Outros	RetornoCEP_UFCSPA.pdf	24/07/2020 08:10:11	Liane Nanci Rotta	Aceito
TCLE / Termos de	TermodispensaTCLE.pdf	03/07/2020	Liane Nanci Rotta	Aceito

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: Sarmento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

597
598

UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE PORTO ALEGRE

Assentimento / Justificativa de Ausência	TermodispensaTCLE.pdf	19:51:00	Liane Nanci Rotta	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	AnuenciaLabExame.pdf	03/07/2020 19:47:13	Liane Nanci Rotta	Aceito
Folha de Rosto	LianeRottaPB.pdf	03/07/2020 19:39:26	Liane Nanci Rotta	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

PORTO ALEGRE, 09 de Julho de 2021

Assinado por:
Fernanda Bordignon Nunes
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Sarmento Leite ,245
Bairro: Sarmento **CEP:** 90.050-170
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: (51)3303-8804 **E-mail:** cep@ufcspa.edu.br

599
600

6.1 NORMAS DA REVISTA

Prepare your manuscript for double-anonymous peer review

In journals with a double-anonymous peer review model, the reviewers and authors don't know each other's identities during the review process. To ensure this, authors must avoid accidentally revealing who they are to the reviewers.

Instructions for anonymising your submission

Before submitting, remove any identifying information from the manuscript, figures, tables, and related and complementary files. Identifying information includes:

- Authors' names
- Affiliations
- Email addresses

Additionally, ensure that you prepare your manuscript correctly for double anonymous peer review by considering the following:

- Use the third person when referring to your previously published work. For example, write "Brown and Smith (2015) have demonstrated" instead of "we/the authors have previously demonstrated (Brown & Smith, 2015)."
- Exclude acknowledgements within the manuscript.
- Make sure you remove any identifiable information from the body of your work as well as the file metadata (personal information from the document properties) to ensure that part of your files is anonymised.
- Double-check that you have not accidentally included identifying information in any files that will be shared with reviewers.

Ensure that figures and tables do not reference author affiliations.

If you are using a preprint service, be aware that it will be easier to find out who the authors are online during a double-anonymous peer review. We ask our reviewers to review articles objectively and trust them not to investigate the authors' identities, but we cannot guarantee this.

2. Write a cover letter

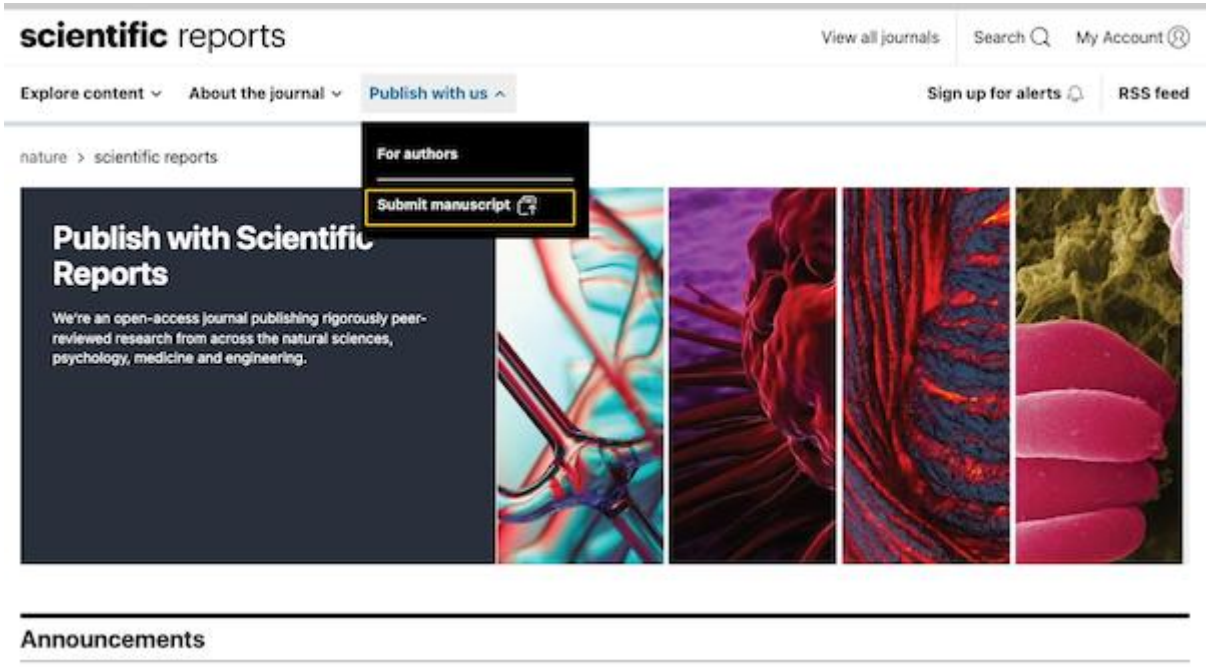
Your cover letter gives you the chance to sell your manuscript to the journal editor. It introduces your work and explains why it would be of interest to readers. Keep it focused and to a single page.

- State the title of your manuscript and what prompted you to write it.
- Explain briefly what research was undertaken and what the results show.

- Describe why you think your work will be of interest to the journal's readers.

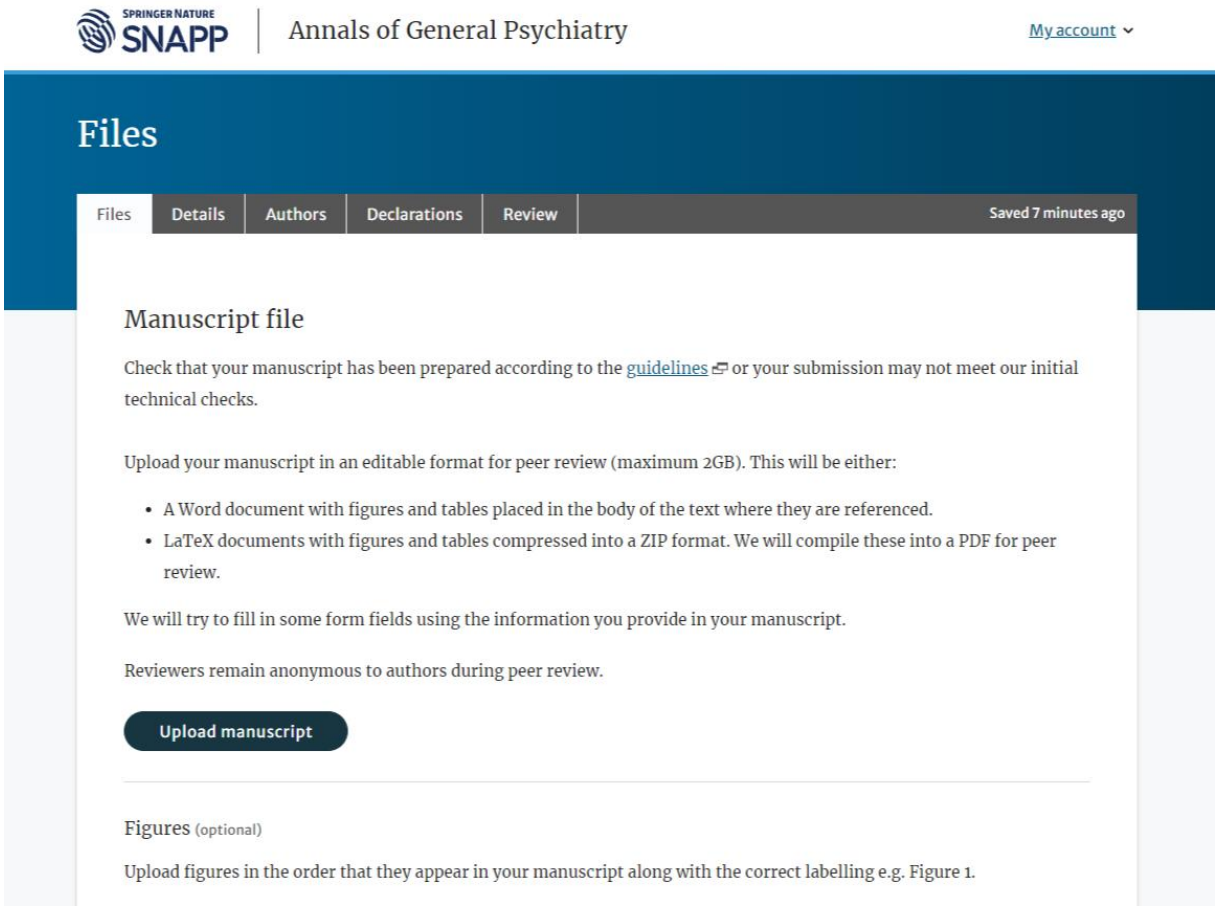
3. Go to the journal homepage

Select 'Submit manuscript'. From there you'll be directed to Snapp if your journal is using it. You will be asked to log in or register with your email if you don't already have an account.



4. Upload your manuscript and cover letter

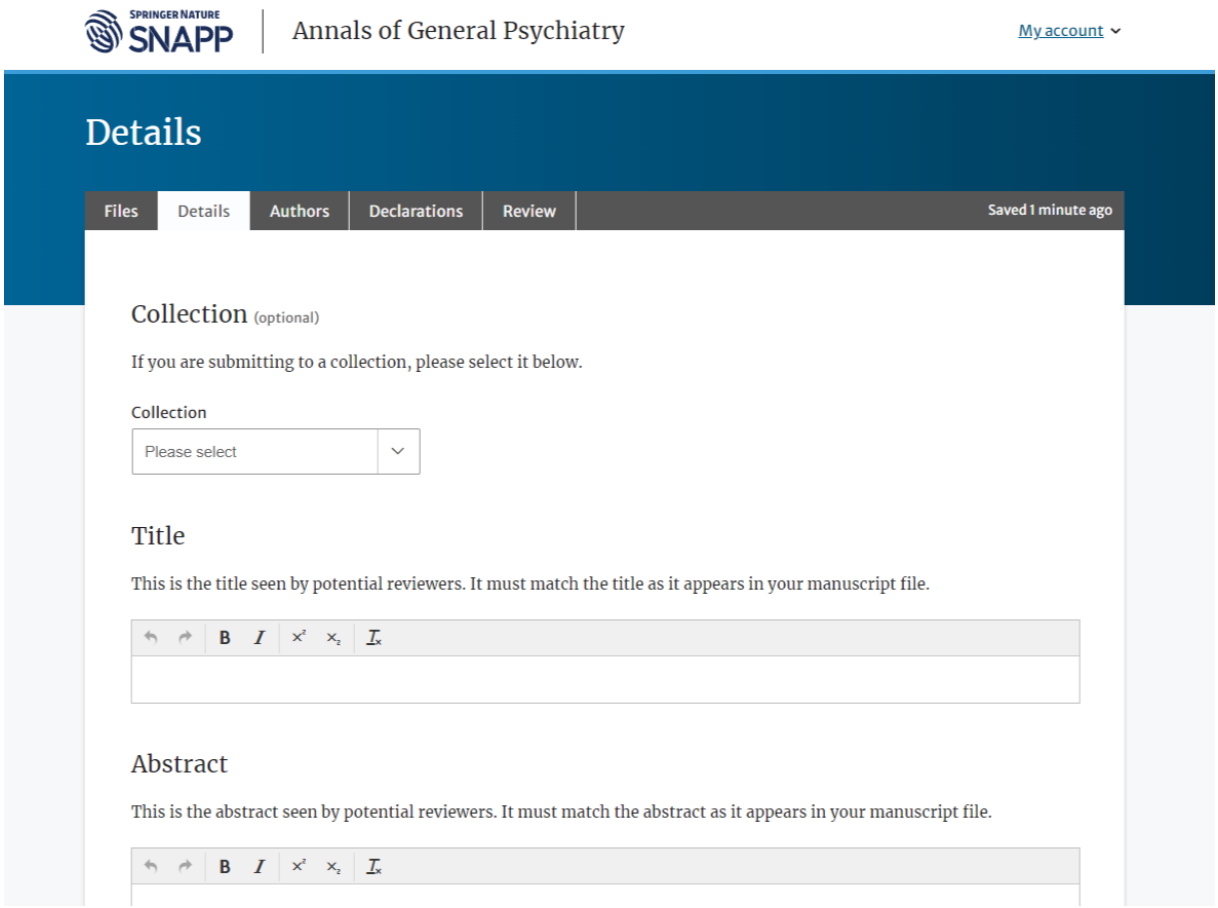
Depending on your area of research, your submission will either be a Word document with embedded image files, or a .zip file containing LaTeX files. If a .zip containing LaTeX files is submitted, our system automatically compiles them into a PDF for peer review. You will also be asked to upload your cover letter.



5. Complete the form

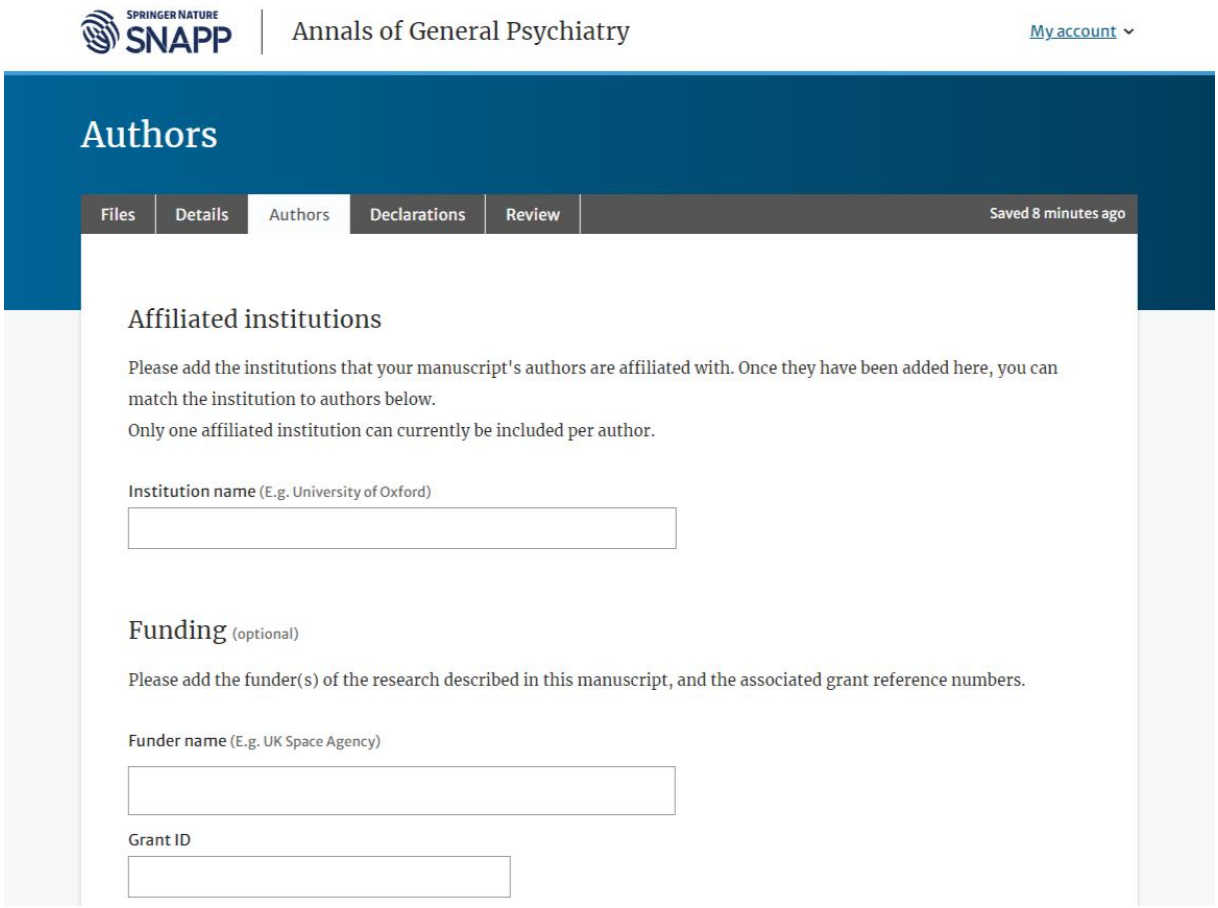
Key data, such as the title, abstract, and author details, are automatically extracted by the system. These details are used throughout the peer review and publication process. You'll be asked to confirm these details and provide extra information including:

- author details and affiliations
- details of the corresponding author
- funding details
- authorship statement

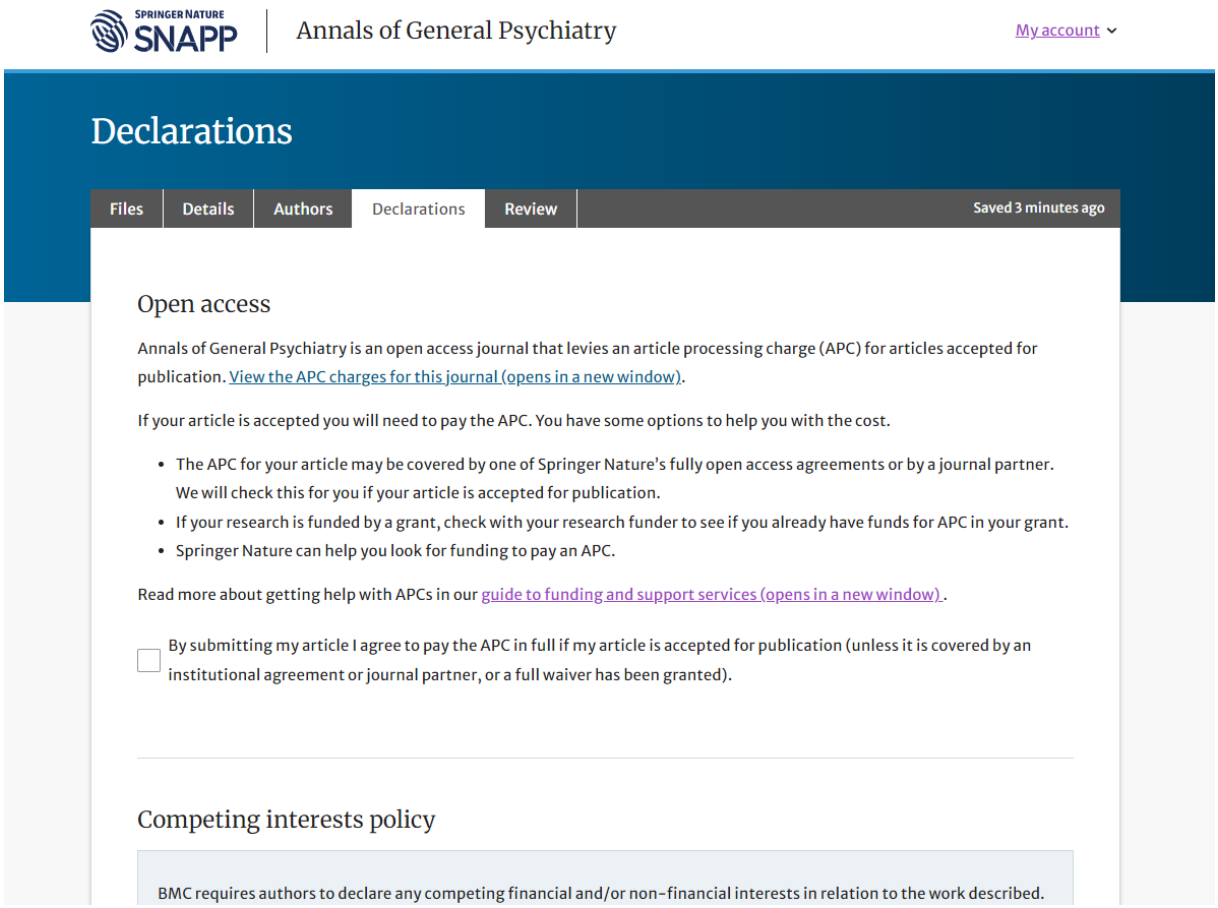

SPRINGER NATURE
SNAPP
Annals of General Psychiatry
My account
Details
Files
Details
Authors
Declarations
Review
Saved 1 minute ago
Collection (optional)
If you are submitting to a collection, please select it below.
Collection
Please select
Title
This is the title seen by potential reviewers. It must match the title as it appears in your manuscript file.
Abstract
This is the abstract seen by potential reviewers. It must match the abstract as it appears in your manuscript file.

658
659

660



You will also be asked to agree to our policies and open access requirements, and disclose any competing interests, dual publication, or use of third-party material.



Finally, you can review the submission and revisit any previous stages to make changes. There is also the option to share your work as a preprint on Research Square.

Once you are ready to submit, select 'Submit Manuscript'.

6. Track your submission

On successful submission you will have access to a tracking tool where you can monitor the progress of the submission, perform additional actions, and get help if needed. This tool will also help you track all your submissions to journals on Snapp.