

Calprotectina (S100A8/A9) como un indicador de la severidad de la COVID-19 en pacientes hospitalizados

Ceja-Gálvez Hazael Ramiro¹, Hernández-Ramírez Cristian Osvaldo¹, Vega-Magaña Alejandra Natali¹, Arellano-Arteaga Kevin Javier², Turrubiates-Hernández Francisco Javier¹ y Muñoz-Valle José Francisco ^{1,*}

1. Instituto de Investigación en Ciencias Biomédicas, Centro Universitario de Ciencias de la Salud (CUCS), Universidad de Guadalajara, Jalisco, México.
2. Departamento de Medicina Interna, Hospital Civil de Guadalajara Dr. Juan I. Menchaca, Guadalajara, Jalisco, México.

* Correspondencia: biologiamolecular@hotmail.com

Resumen- Abstract.

La enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19) es una enfermedad infecciosa respiratoria que en casos graves provoca dificultad respiratoria aguda y estado inflamatorio exacerbado al inducir la activación de neutrófilos y macrófagos. Los neutrófilos expresan la calprotectina, la cual magnifica el estado inflamatorio al liberar citocinas proinflamatorias. Por lo tanto, el objetivo de este estudio es asociar los niveles de la calprotectina con la severidad de la COVID-19 en pacientes hospitalizados. Material y métodos: se evaluaron los niveles de calprotectina en 66 pacientes hospitalizados por COVID-19 en el Hospital Civil de Guadalajara Dr. Juan I. Menchaca utilizando el Human Calprotectin ELISA KIT ab267628 (Abcam, England). Además, se calculó el puntaje de COVID-GRAM y se determinaron los niveles de biometría hemática, LDH (kit de lactato deshidrogenasa; ByoSystems) e IL-6 (kit ELISA de alta sensibilidad para IL-6 humana; Invitrogen). Y se realizó un seguimiento de los pacientes para observar su progresión a ventilación mecánica invasiva (VMI) y su desenlace. Resultados: se encontraron diferencias significativas en los niveles de la calprotectina en pacientes con VMI (2655 ng/mL) con respecto a los que no requirieron (1807 ng/mL) y un aumento en los niveles para un riesgo alto por COVID-GRAM, tipos de suplementación respiratoria y la mortalidad. Los niveles de la calprotectina se correlacionaron negativamente con el porcentaje de linfocitos (-0.27; $p < 0.05$) y positivamente con la DHL (0.44; $p < 0.05$), IL-6 (0.32; $p < 0.05$), el conteo de linfocitos (0.301; $p < 0.05$) y neutrófilos (-0.317; $p < 0.05$). Conclusiones: Los niveles de calprotectina podrían ser un indicador de la severidad de la COVID-19, ya que se encontraron niveles elevados en pacientes con necesidad de VMI, alto riesgo en la escala COVID-GRAM y mayor mortalidad, lo que apoya su utilidad en manejo de pacientes hospitalizados por COVID-19.

Palabras clave: SARS-CoV-2, COVID-19, Calprotectina, S100A8/9, severidad

1. Introducción.

La enfermedad COVID-19 es causada por el agente etiológico SARS-CoV-2, un virus con forma de peplómeros de RNA monocatenario de cadena positiva y pleomórfico que presenta un tamaño de 60 a 140 nm y un peso 8.4 hasta 12 kDa (1–5). La COVID-19 presenta síntomas similares a la gripe con dificultad respiratoria aguda y estado inflamatorio agudo, el 80% de los pacientes presenta síntomas leves y moderados; sin embargo, entre 5 al 10% presenta estados severos que incluso pueden conducir a la muerte (6–8).

La principal afección provocada por el SARS-CoV-2 es el SDRA (del inglés acute respiratory distress syndrome) que se caracteriza por insuficiencia de oxígeno a los pulmones y baja concentración de oxígeno en sangre, lo cual induce la insuficiencia respiratoria y es la causa del 70 % de las muertes por la COVID-19 (9–12). El SDRA se presenta debido a que el SARS-CoV-2 induce una respuesta inflamatoria sistemática desregulada con un aumento significativo de citocinas proinflamatorias y quimiocinas de células efectoras inmunológicas, a la cual se le denominó como “tormenta de citocinas”, esta característica clínica se asocia con 28 % de casos letales por la COVID-19 (13–15). La tormenta de citocinas es causada principalmente por la activación exacerbada de la respuesta inmunitaria innata al inducir la activación de neutrófilos y macrófagos (16,17).

Los genes S100A8 y S100A9, codifican dos polipéptidos que forman un dímero para dar una proteína funcional llamada calprotectina, la cual se presenta hasta en un 45 % del citoplasma de los neutrófilos y en monocitos normalmente la concentración es de 1 % de las proteínas citosólicas, esto debido a que solamente se expresan en fases tempranas de diferenciación y estas disminuyen durante la maduración (13,13,18,19). La calprotectina magnifica el estado inflamatorio liberando citoquinas proinflamatorias a través de la vía de señalización de NF- κ B, ya que la calprotectina participa de forma autocrina o paracrina en el proceso inflamatorio mediante las vías de TLR4 o del receptor de compuestos de glicosilación avanzada (RAGE, del inglés receptor for advanced glycation end products), que magnifican la liberación de citocinas proinflamatorias como TNF- α , IL-1 β e IL-6 (20–22).

2. Justificación

La COVID-19 es una enfermedad que se ha propagado a nivel mundial, que se declaró pandemia del 11 de marzo del 2020 al 5 de mayo del 2023 por la organización mundial de la salud (OMS), presenta síntomas similares a gripe severa como fiebre, dolor de garganta, fatiga, tos y disnea, y en casos severos dificultad respiratoria aguda y estado inflamatorio agudo, la mayoría de los pacientes presenta síntomas leves y moderados. Sin embargo, entre 5 al 10 % presenta estados severos que incluso pueden conllevar a la muerte. La principal respuesta generada en la COVID-19 es la inmunidad innata en la que los neutrófilos participan en la retroalimentación positiva de citocinas proinflamatorias por medio del ligando de TLR4 “la calprotectina” (S100A8/S100A9). Por lo anterior, resulta relevante identificar moléculas como indicadores de severidad y la relación que guardan con la fisiopatología de la COVID-19.

3. Objetivo general

Asociar los niveles de la calprotectina con la severidad de la COVID-19 en pacientes hospitalizados

Objetivos específicos:

1. Determinar las características sociodemográficas de los pacientes hospitalizados por COVID-19
2. Cuantificar los niveles de calprotectina (S100A8/A9) en suero de pacientes hospitalizados con COVID-19
3. Evaluar los niveles de marcadores de severidad "IL-6, DHL, PCR, dímero D, y TNF α " en pacientes hospitalizados por la COVID-19.
4. Determinar la escala de riesgo COVID-GRAM en los pacientes hospitalizados por COVID-19.
5. Realizar el seguimiento clínico de los pacientes con COVID-19: estancia hospitalaria, tipo de suplementación respiratoria, requerimiento de VMI, estancia hospitalaria en VMI y desenlace.

4. Materiales y Métodos.

4.1 Diseño del estudio y participantes

Se realizó un estudio transversal donde se incluyeron 66 pacientes del occidente de México del Hospital Civil de Guadalajara "Dr. Juan I. Menchaca". Los criterios de inclusión fueron: > 18 años, ambos sexos, q-PCR positiva para SARS-CoV-2 y pacientes hospitalizados ingresados en el Departamento de Medicina Interna entre octubre de 2021 y febrero de 2022; se tomó una única muestra de sangre y nasofaríngea de cada paciente durante el ingreso hospitalario. En todos ellos se confirmó la presencia de COVID-19 mediante la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (RT-PCR) utilizando el kit multiplex COVIFLU (GENES2LIFE, México). Se excluyeron los pacientes con alguna enfermedad autoinmune y neurodegenerativa. Las características sociodemográficas como edad, sexo, días hasta el primer síntoma, comorbilidades, tipo de comorbilidades, estado de vacunación, dosis y enfermedad previa por COVID-19 se recuperaron de la historia clínica del paciente. Además, se utilizó la escala COVID-GRAM para determinar el riesgo crítico, el tipo de suplementación respiratoria y el desenlace.

4.2 Determinación de calprotectina

La concentración de la calprotectina, se realizó en suero mediante Human Calprotectin ELISA KIT ab267628 (Abcam, England), siguiendo las instrucciones del fabricante. Se utilizó un lector de ELISA (Multiskan GO, Thermo Scientific™) a una longitud de onda de 450 nm.

4.3 Marcadores de severidad

A todos los pacientes del estudio se les realizó una biometría hemática utilizando el equipo BC-5150 (Mindray, China). Los marcadores asociados a la gravedad, como la PCR, el dímero D y la DHL, se midieron utilizando el analizador de química clínica

AU5800 Serie (Beckman Coulter, EE. UU). Además, las citocinas TNF- α e IL-6 se analizaron mediante Bio-Plex Pro Human Cytokine 17-plex Assay (BIORAD, EE. UU.) y Human IL-6 High Sensitivity ELISA kit (Thermo ScientificTM, EE. UU.), respectivamente.

4.4 Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando GraphPad Prism v5.0 y el software R. El análisis descriptivo incluyó la expresión de variables nominales discontinuas como frecuencias, variables continuas con distribución paramétrica como medias \pm DE, y variables no paramétricas como medianas (mínimo y máximo). Para las determinaciones cuantitativas no paramétricas se empleó la prueba U de Mann-Whitney. Para la matriz de correlaciones se utilizó la prueba de Spearman y para las pruebas significativas se realizó la regresión lineal simple. Un valor $p < 0,05$ se consideró estadísticamente significativo.

4.5 Ética

Este estudio fue aprobado por el comité de ética, bioseguridad e investigación del Centro Universitario de Ciencias de la Salud de la UDG (CI-03721) y por el comité de ética en investigación del Hospital Civil de Guadalajara “Dr. Juan I. Menchaca” (00095). De acuerdo con las normas éticas descritas en la Declaración de Helsinki (1983).

5. Resultados.

La media de edad de los pacientes fue de 58.38 años, pero con un mayor ingreso de pacientes mayores en los grupos de 40-60 años (42.4 %) y > 60 años (42.4 %), de los cuales el 62.1 % fueron hombres. La media al ingreso al hospitalario después del primer síntoma fue de 9 días, el 65.2 % presentaba alguna comorbilidad (hipertensión arterial sistémica, diabetes, enfermedad renal crónica, insuficiencia cardíaca crónica, enfermedad vascular cerebral, EPOC, ASMA y exfumadores). Al 51.51 % de los pacientes se les administro corticoesteroide previamente a ser hospitalizados. Por otra parte, el 66.7 % de pacientes no se encontraban vacunados contra el SARS-CoV-2 (véase Cuadro 1). De acuerdo con la calculadora COVID-GRAM el 37 % de los pacientes presenta puntajes que indican un riesgo crítico medio o moderado y el 63 % con un riesgo crítico alto. Además, se realizó un seguimiento a los pacientes observando que 33.3 % requirió la suplementación de VMI y el 38 % de los pacientes tuvo un desenlace fatal.

Cuadro 1. Características descriptivas sociodemográficas de los pacientes hospitalizados por COVID-19.

Variable	Pacientes hospitalizados (n = 66)
Edad (años), X \pm DE	58.38 \pm 15.46
Edad agrupada (años), n (%)	
<40	10 (15.2 %)
40-60	28 (42.4 %)

	>60	28 (42.4 %)
Sexo, n (%)	Mujer	25 (37.9 %)
	Hombre	41 (62.1 %)
IMC (kg/ m2), Med (Min-Max)		31 (23-57)
	Normal	2/26 (7.7 %)
	Sobrepeso	9/26 (34.6 %)
	Obesidad	15/26 (57.7 %)
Días al primer síntoma (días), X ± DE		9 ± 3.28
Comorbilidades n (%)		43 (65.2 %)
Corticoesteroide previo a la hospitalización, n (%)		34 (51.51 %)
Vacunado n (%)		22 (33.3 %)
	Dos dosis	19 (86.4 %)
GRAM, n (%)		
	Riesgo alto	42 (63 %)
	Riesgo moderado	24 (37%)
VMI, n (%)		
	No	46 (69.7%)
	Si	20 (30.3%)
Desenlace, n (%)		
	Alta	41 (62 %)
	Muerte	25 (38 %)

Med: Mediana; X: Media; DE: Desviación estándar; Max: Máximo; Min: Mínimo

Para la calprotectina solo solo existe diferencias significativas en la VMI, en donde los pacientes que requirieron VMI presentan una mediana mayor (2655 ng/mL) con respecto a los que no requirieron (1807 ng/mL) con una p=0.04 (Figura 1 C), para un riesgo alto por COVID-GRAM, los tipos de oxigenación y la mortalidad, se observó un aumento en la concentración de la calprotectina (Figura 1 A, B y D). Para la IL-6 hubo un aumento en la concentración de las personas que requirieron VMI (8.816 pg/mL) con las que no lo requirieron (3.62 pg/mL) (Figura 1 G), y con los que requirieron el uso de mascarilla (0.1 pg/mL) (Figura 1 F), también hubo aumento en los pacientes que fallecieron (9.25 pg/mL) con respecto a los que sobrevivieron (3.56 pg/mL) (Figura 1 H).

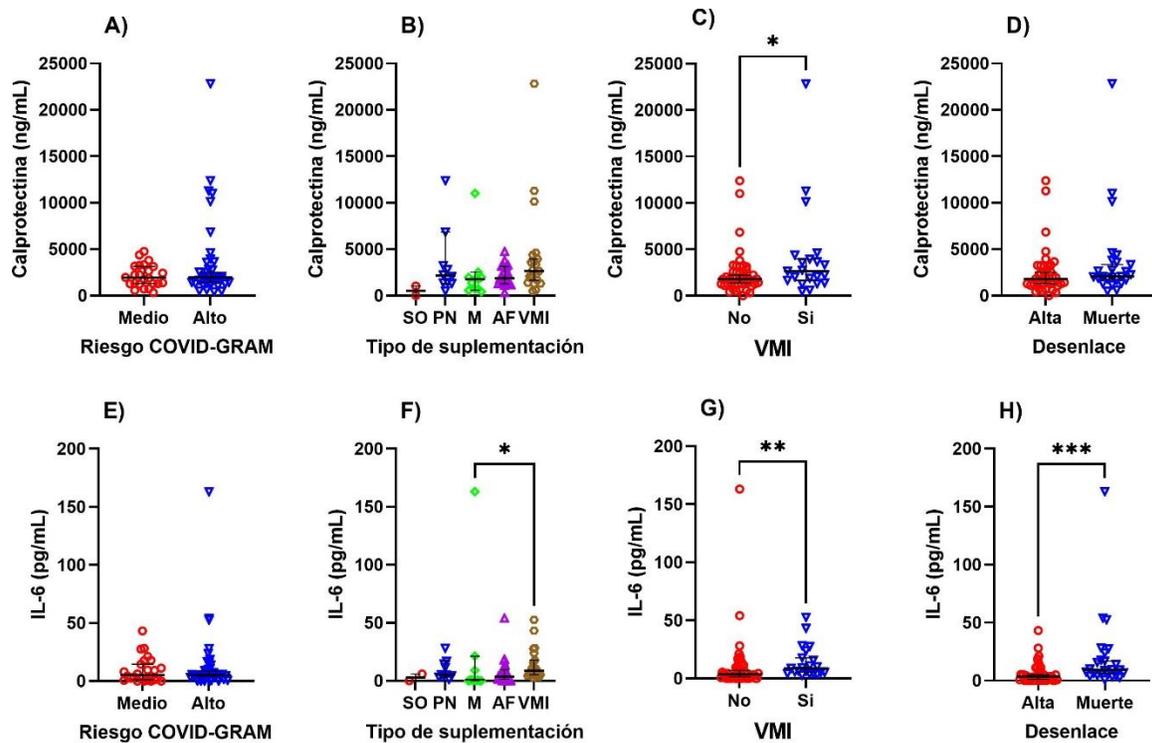
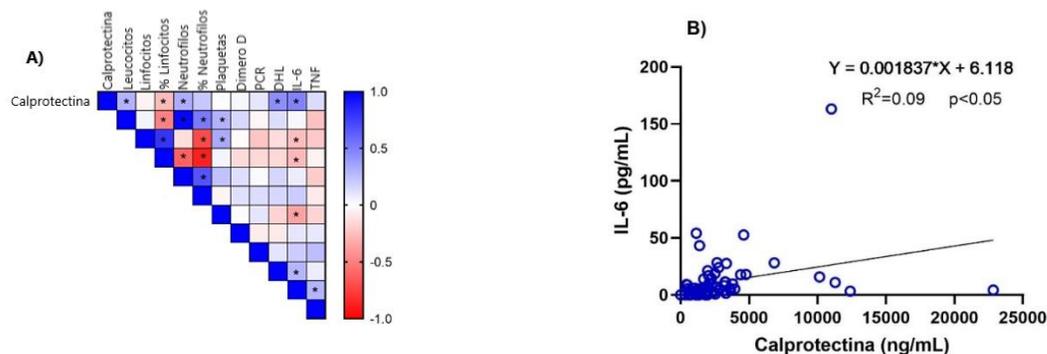


Figura 1. Calprotectina e IL-6 como indicador de severidad de la COVID-19. Calprotectina y COVID-GRAM (A), calprotectina y tipo de suplementación (B), calprotectina y VMI (C), calprotectina y desenlace (D), IL-6 y COVID-GRAM (E), IL-6 y tipo de suplementación (F), IL-6 y VMI (G), IL-6 y desenlace (H). Las comparaciones estadísticas entre grupos se determinaron mediante la prueba U de Mann-Whitney. * $p < 0,05$; **** $p < 0,0001$.

Por último, se analizaron las correlaciones los marcadores de severidad con la calprotectina (Figura 2 A). Los niveles de la calprotectina se correlacionaron negativamente con el porcentaje de linfocitos (-0.27 ; $p < 0.05$) y positivamente con la DHL (0.44 ; $p < 0.05$), IL-6 (0.32 ; $p < 0.05$), el conteo de linfocitos (0.301 ; $p < 0.05$) y neutrófilos (-0.317 ; $p < 0.05$) (Figura 3 A). Además, cada que aumentan los niveles de calprotectina hay un incremento de IL-6 ($R^2 = 0.09$, $p < 0.05$), el conteo de leucocitos ($R^2 = 0.17$, $p < 0.05$) y neutrófilos ($R^2 = 0.18$, $p < 0.05$) (Figura 2 B, C y D).



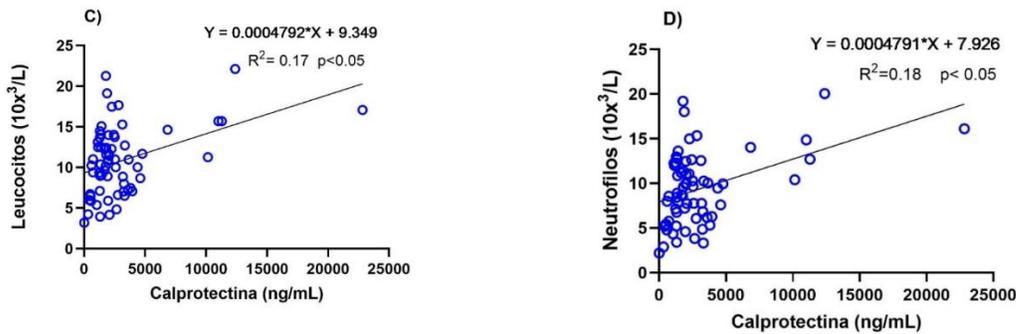


Figura 2. Matriz de correlación y correlaciones de la calprotectina. Matriz de correlación (A), regresión lineal IL-6 (B), regresión lineal leucocitos (C), y regresión lineal Neutrófilos (D). Los colores azul y rojo indican correlación positiva y negativa, respectivamente. Las comparaciones estadísticas entre grupos se determinaron mediante la prueba de Spearman. * $p < 0.05$. Abreviaturas: IL-6: Interleucina 6; LDH: deshidrogenasa láctica; PCR: proteína C reactiva; TNF: Factor de Necrosis Tumoral.

6. Discusión

Este estudio analizó los niveles de la calprotectina con la severidad de la COVID-19 en pacientes hospitalizados por COVID-19. Se encontró que la calprotectina se encuentra elevada en los pacientes que requirieron VMI y un ligero aumento en el alto riesgo de la escala COVID-GRAM, tipos de oxigenación y la mortalidad. Además, de que se observaron cambios en las concentraciones muy similares que la IL-6, un marcador en la severidad de la COVID-19 y se correlacionó con la DHL, IL-6, linfocitos y neutrófilos. La calprotectina estimula la respuesta inflamatoria mediante la liberación de citocinas y se ha encontrado en concentraciones elevadas en pacientes con COVID-19 severo (22–24). En un estudio realizado en Wuhan, China en pacientes con COVID 19 que se encontraban en la UCI (Unidad de Cuidados Intensivos) y que no requerían UCI, encontraron que la calprotectina aumenta de acuerdo con la severidad del paciente (25). Además, se ha reportado que los niveles de calprotectina se correlacionaron con los diferentes tipos de suplementación respiratoria de los pacientes y con la mejoría o el deterioro del paciente (26). En Iran, reportaron que las concentraciones de calprotectina aumentaron de los casos leves a severos de COVID-19, y se correlacionó con las concentraciones de IL-6, DHL, PCR y neutrófilos (27). Se reportó que la concentración de la calprotectina es más alta en en los pacientes que fallecieron e comparación a los sobrevivientes (28).

Las fortalezas del estudio fueron que los pacientes fueron estratificados en pacientes hospitalizados por COVID-19 y la determinación de marcadores clave de gravedad. Sin embargo, el estudio tiene algunas limitaciones: tratamiento con corticosteroides previo a la hospitalización en algunos pacientes, tiempo prolongado hasta la hospitalización tras el inicio de los síntomas, tamaño limitado de la muestra y ausencia de un grupo de control sano.

7. Conclusiones

Este estudio destaca la importancia de la calprotectina (S100A8/A9) como un indicador de severidad en pacientes hospitalizados por COVID-19, ya que se

observó que en pacientes que requirieron ventilación mecánica invasiva (VMI), alto riesgo en la escala COVID-GRAM, tipos de suplementación respiratoria y mortalidad, presentaban niveles elevados de calprotectina. Además, de una correlación con otros marcadores de severidad, como la IL-6, DHL, linfocitos y neutrófilos, lo que refuerza su papel como biomarcador en el manejo clínico de la enfermedad. Estos hallazgos sugieren que la calprotectina podría ser utilizada en conjunto con otros marcadores para evaluar el riesgo y la evolución de los pacientes hospitalizados por COVID-19, contribuyendo así a una atención personalizada.

8. Referentes Bibliográficos

1. Berekaa MM. Insights into the COVID-19 pandemic: Origin, pathogenesis, diagnosis, and therapeutic interventions. *Front Biosci (Elite Ed)*. 1 de enero de 2021;13(1):117-39.
2. Grobbelaar LM, Venter C, Vlok M, Ngoepe M, Laubscher GJ, Lourens PJ, et al. SARS-CoV-2 spike protein S1 induces fibrin(ogen) resistant to fibrinolysis: Implications for microclot formation in COVID-19 [Internet]. *medRxiv*; 2021 [citado 31 de agosto de 2024]. p. 2021.03.05.21252960. Disponible en: <https://www.medrxiv.org/content/10.1101/2021.03.05.21252960v1>
3. Safiabadi Tali SH, LeBlanc JJ, Sadiq Z, Oyewunmi OD, Camargo C, Nikpour B, et al. Tools and Techniques for Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2 (SARS-CoV-2)/COVID-19 Detection. *Clinical Microbiology Reviews*. 12 de mayo de 2021;34(3):10.1128/cmr.00228-20.
4. Salian VS, Wright JA, Vedell PT, Nair S, Li C, Kandimalla M, et al. COVID-19 Transmission, Current Treatment, and Future Therapeutic Strategies. *Molecular Pharmaceutics*. 1 de marzo de 2021;18(3):754-71.
5. Umakanthan S, Sahu P, Ranade A V, Bukelo MM, Rao JS, Abrahao-Machado LF, et al. Origin, transmission, diagnosis and management of coronavirus disease 2019 (COVID-19). *Postgraduate Medical Journal*. 1 de diciembre de 2020;96(1142):753-8.
6. Ahn DG, Shin HJ, Kim MH, Lee S, Kim HS, Myoung J, et al. Current Status of Epidemiology, Diagnosis, Therapeutics, and Vaccines for Novel Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). *Journal of Microbiology and Biotechnology*. 28 de marzo de 2020;30(3):313-24.
7. Atzrodt CL, Maknojia I, McCarthy RDP, Oldfield TM, Po J, Ta KTL, et al. A Guide to COVID-19: a global pandemic caused by the novel coronavirus SARS-CoV-2. *The FEBS Journal*. 1 de septiembre de 2020;287(17):3633-50.

8. Gao Z, Xu Y, Sun C, Wang X, Guo Y, Qiu S, et al. A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. *Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*. 1 de febrero de 2021;54(1):12.
9. Bugert CL, Kwiat V, Valera IC, Bugert JJ, Parvatiyar MS. Cardiovascular Injury Due to SARS-CoV-2. *Curr Clin Micro Rpt*. 1 de septiembre de 2021;8(3):167-77.
10. Melenotte C, Silvin A, Goubet AG, Lahmar I, Dubuisson A, Zumla A, et al. Immune responses during COVID-19 infection. *Oncolmmunology*. 1 de enero de 2020;9(1):1807836.
11. Mortaz E, Tabarsi P, Varahram M, Folkerts G, Adcock IM. The Immune Response and Immunopathology of COVID-19. *Frontiers in Immunology* [Internet]. agosto de 2020;11. Disponible en: [/pmc/articles/PMC7479965/](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7479965/)
[/pmc/articles/PMC7479965/?report=abstract](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7479965/?report=abstract)
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7479965/>
12. Nile SH, Nile A, Qiu J, Li L, Jia X, Kai G. COVID-19: Pathogenesis, cytokine storm and therapeutic potential of interferons. *Cytokine & Growth Factor Reviews*. 1 de junio de 2020;53:66.
13. Jin Y, Yang H, Ji W, Wu W, Chen S, Zhang W, et al. Virology, Epidemiology, Pathogenesis, and Control of COVID-19. *Viruses*. 2020;12(4).
14. Parasher A. COVID-19: Current understanding of its Pathophysiology, Clinical presentation and Treatment. *Postgraduate Medical Journal*. 1 de mayo de 2021;97(1147):312-20.
15. Tay MZ, Poh CM, Rénia L, MacAry PA, Ng LFP. The trinity of COVID-19: immunity, inflammation and intervention. *Nature Reviews Immunology* 2020 20:6. 28 de abril de 2020;20(6):363-74.
16. Gupta A, Madhavan MV, Sehgal K, Nair N, Mahajan S, Sehrawat TS, et al. Extrapulmonary manifestations of COVID-19. *Nature Medicine* 2020 26:7. julio de 2020;26(7):1017-32.
17. Gustine JN, Jones D. Immunopathology of Hyperinflammation in COVID-19. *The American Journal of Pathology*. enero de 2021;191(1):4.
18. Kang KY, Woo JW, Park SH. S100A8/A9 as a biomarker for synovial inflammation and joint damage in patients with rheumatoid arthritis. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 2014;29(1):12.
19. Schultze JL, Aschenbrenner AC. COVID-19 and the human innate immune system. *Cell*. 1 de abril de 2021;184(7):1671-92.

20. Cai Z, Xie Q, Hu T, Yao Q, Zhao J, Wu Q, et al. S100A8/A9 in Myocardial Infarction: A Promising Biomarker and Therapeutic Target. *Frontiers in Cell and Developmental Biology*. 12 de noviembre de 2020;8:603902.
21. Sreejit G, Abdel Latif A, Murphy AJ, Nagareddy PR. Emerging roles of neutrophil-borne S100A8/A9 in cardiovascular inflammation. *Pharmacological Research*. 1 de noviembre de 2020;161:105212.
22. Wang S, Song R, Wang Z, Jing Z, Wang S, Ma J. S100A8/A9 in Inflammation. *Frontiers in Immunology*. 11 de junio de 2018;9(JUN):1298.
23. Silvin A, Chapuis N, Dunsmore G, Goubet AG, Dubuisson A, Derosa L, et al. Elevated Calprotectin and Abnormal Myeloid Cell Subsets Discriminate Severe from Mild COVID-19. *Cell*. 17 de septiembre de 2020;182(6):1401.
24. Mahler M, Meroni PL, Infantino M, Buhler KA, Fritzler MJ. Circulating Calprotectin as a Biomarker of COVID-19 Severity. *Expert Review of Clinical Immunology*. 2021;17(5):1.
25. Chen L, Long X, Xu Q, Tan J, Wang G, Cao Y, et al. Elevated serum levels of S100A8/A9 and HMGB1 at hospital admission are correlated with inferior clinical outcomes in COVID-19 patients. *Cell Mol Immunol*. septiembre de 2020;17(9):992-4.
26. Norman GL, Navaz SA, Kanthi Y, Albesa R, Mahler M, Knight JS, et al. Circulating Calprotectin as a Predictive and Severity Biomarker in Patients with COVID-19. *Diagnostics (Basel)*. 27 de mayo de 2022;12(6):1324.
27. Shokri-Afra H, Moradi M, Musavi H, Moradi-Sardareh H, Moradi poodeh B, Kazemi Veisari A, et al. Serum calprotectin can indicate current and future severity of COVID-19. *J Clin Lab Anal*. 16 de diciembre de 2022;37(1):e24809.
28. Cardiero G, Palma D, Vano M, Anastasio C, Pinchera B, Ferrandino M, et al. Calprotectin Levels and Neutrophil Count Are Prognostic Markers of Mortality in COVID-19 Patients. *Diagnostics (Basel)*. 20 de octubre de 2022;12(10):2554.