



HAL
open science

La calprotectine sérique est corrélée avec l'activité de la maladie dans les spondyloarthrites axiales débutantes mais ne prédit pas la progression radiographique à 2 ans : résultats de la cohorte DESIR

Xavier Romand

► To cite this version:

Xavier Romand. La calprotectine sérique est corrélée avec l'activité de la maladie dans les spondyloarthrites axiales débutantes mais ne prédit pas la progression radiographique à 2 ans : résultats de la cohorte DESIR. Médecine humaine et pathologie. 2018. dumas-01889107

HAL Id: dumas-01889107

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01889107>

Submitted on 13 Nov 2018

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il n'a pas été réévalué depuis la date de soutenance.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact au SID de Grenoble :
bump-theses@univ-grenoble-alpes.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

<http://www.cfcopies.com/juridique/droit-auteur>

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>



UNIVERSITÉ GRENOBLE ALPES

UFR DE MÉDECINE DE GRENOBLE

Année : 2018

LA CALPROTECTINE SÉRIQUE EST CORRÉLÉE AVEC L'ACTIVITÉ DE LA MALADIE DANS LES SPONDYLOARTHRISES AXIALES DÉBUTANTES MAIS NE PRÉDIT PAS LA PROGRESSION RADIOGRAPHIQUE À 2 ANS : RESULTATS DE LA COHORTE DESIR

THÈSE
PRÉSENTÉE POUR L'OBTENTION DU TITRE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

DIPLÔME D'ÉTAT

Xavier Romand

[Données à caractère personnel]

THÈSE SOUTENUE PUBLIQUEMENT À LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE GRENOBLE

Le : 27/09/2018

DEVANT LE JURY COMPOSÉ DE

Président du jury :

M. le Professeur GAUDIN Philippe

Membres :

M. le Professeur BAILLET Athan (directeur de thèse)

Mme le Docteur PACLET Marie Hélène

M. le Docteur CHEVREAU Maxime

M. le Docteur NGUYEN Minh Vu Chuong

L'UFR de Médecine de Grenoble n'entend donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans les thèses ; ces opinions sont considérées comme propres à leurs auteurs.

Doyen de la Faculté : Pr. Patrice MORAND

Année 2017-2018

ENSEIGNANTS A L'UFR DE MEDECINE

CORPS	NOM-PRENUM	Discipline universitaire
PU-PH	ALBALADEJO Pierre	Anesthésiologie réanimation
PU-PH	APTEL Florent	Ophthalmologie
PU-PH	ARVIEUX-BARTHELEMY Catherine	Chirurgie générale
PU-PH	BAILLET Athan	Rhumatologie
PU-PH	BARONE-ROCHETTE Gilles	Cardiologie
PU-PH	BAYAT Sam	Physiologie
PU-PH	BENHAMOU Pierre Yves	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BERGER François	Biologie cellulaire
MCU-PH	BIDART-COUTTON Marie	Biologie cellulaire
MCU-PH	BOISSET Sandrine	Agents infectieux
PU-PH	BONAZ Bruno	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	BONNETERRE Vincent	Médecine et santé au travail
PU-PH	BOREL Anne-Laure	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	BOSSON Jean-Luc	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	BOTTARI Serge	Biologie cellulaire
PU-PH	BOUGEROL Thierry	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	BOUILLET Laurence	Médecine interne
PU-PH	BOUZAT Pierre	Réanimation
MCU-PH	BRENIER-PINCHART Marie Pierre	Parasitologie et mycologie
PU-PH	BRICAULT Ivan	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	BRICHON Pierre-Yves	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
MCU-PH	BRIOT Raphaël	Thérapeutique, médecine d'urgence
MCU-PH	BROUILLET Sophie	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
PU-PH	CAHN Jean-Yves	Hématologie
PU-PH	CARPENTIER Françoise	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	CARPENTIER Patrick	Chirurgie vasculaire, médecine vasculaire
PU-PH	CESBRON Jean-Yves	Immunologie
PU-PH	CHABARDES Stephan	Neurochirurgie
PU-PH	CHABRE Olivier	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
PU-PH	CHAFFANJON Philippe	Anatomie
PU-PH	CHARLES Julie	Dermatologie
PU-PH	CHAVANON Olivier	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
PU-PH	CHIQUET Christophe	Ophthalmologie

PU-PH	CHIRICA Mircea	Chirurgie générale
PU-PH	CINQUIN Philippe	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	CLAVARINO Giovanna	Immunologie
PU-PH	COHEN Olivier	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	COURVOISIER Aurélien	Chirurgie infantile
PU-PH	COUTURIER Pascal	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	CRACOWSKI Jean-Luc	Pharmacologie fondamentale, pharmacologie clinique
PU-PH	CURE Hervé	Oncologie
PU-PH	DEBILLON Thierry	Pédiatrie
PU-PH	DECAENS Thomas	Gastro-entérologie, Hépatologie
PU-PH	DEMATTEIS Maurice	Addictologie
MCU-PH	DERANSART Colin	Physiologie
PU-PH	DESCOTES Jean-Luc	Urologie
MCU-PH	DETANTE Olivier	Neurologie
MCU-PH	DIETERICH Klaus	Génétique et procréation
MCU-PH	DOUTRELEAU Stéphane	Physiologie
MCU-PH	DUMESTRE-PERARD Chantal	Immunologie
PU-PH	EPAULARD Olivier	Maladies Infectieuses et Tropicales
PU-PH	ESTEVE François	Biophysique et médecine nucléaire
MCU-PH	EYSSERIC Hélène	Médecine légale et droit de la santé
PU-PH	FAGRET Daniel	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	FAUCHERON Jean-Luc	Chirurgie générale
MCU-PH	FAURE Julien	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	FERRETTI Gilbert	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	FEUERSTEIN Claude	Physiologie
PU-PH	FONTAINE Éric	Nutrition
PU-PH	FRANCOIS Patrice	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-MG	GABOREAU Yoann	Médecine Générale
PU-PH	GARBAN Frédéric	Hématologie, transfusion
PU-PH	GAUDIN Philippe	Rhumatologie
PU-PH	GAVAZZI Gaétan	Gériatrie et biologie du vieillissement
PU-PH	GAY Emmanuel	Neurochirurgie
MCU-PH	GILLOIS Pierre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
MCU-PH	GRAND Sylvie	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	GRIFFET Jacques	Chirurgie infantile
PU-PH	GUEBRE-EGZIABHER Fitsum	Néphrologie
MCU-PH	GUZUN Rita	Endocrinologie, diabétologie, nutrition, éducation thérapeutique
PU-PH	HAINAUT Pierre	Biochimie, biologie moléculaire
PU-PH	HENNEBICQ Sylviane	Génétique et procréation
PU-PH	HOFFMANN Pascale	Gynécologie obstétrique
PU-PH	HOMMEL Marc	Neurologie
PU-MG	IMBERT Patrick	Médecine Générale
PU-PH	JOUK Pierre-Simon	Génétique
PU-PH	JUVIN Robert	Rhumatologie

PU-PH	KAHANE Philippe	Physiologie
MCU-PH	KASTLER Adrian	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	KRACK Paul	Neurologie
PU-PH	KRAINIK Alexandre	Radiologie et imagerie médicale
PU-PH	LABARERE José	Epidémiologie ; Eco. de la Santé
MCU-PH	LABLANCHE Sandrine	Endocrinologie, diabète et maladies métaboliques
MCU-PH	LANDELLE Caroline	Bactériologie - virologie
MCU-PH	LAPORTE François	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH	LARDY Bernard	Biochimie et biologie moléculaire
MCU-PH	LARRAT Sylvie	Bactériologie, virologie
MCU - PH	LE PISSART Audrey	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	LECCIA Marie-Thérèse	Dermato-vénérologie
PU-PH	LEROUX Dominique	Génétique
PU-PH	LEROY Vincent	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie
PU-PH	LEVY Patrick	Physiologie
PU-PH	LONG Jean-Alexandre	Urologie
PU-PH	MAGNE Jean-Luc	Chirurgie vasculaire
MCU-PH	MAIGNAN Maxime	Thérapeutique, médecine d'urgence
PU-PH	MAITRE Anne	Médecine et santé au travail
MCU-PH	MALLARET Marie-Reine	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
MCU-PH	MARLU Raphaël	Hématologie, transfusion
MCU-PH	MAUBON Danièle	Parasitologie et mycologie
PU-PH	MAURIN Max	Bactériologie - virologie
MCU-PH	MC LEER Anne	Cytologie et histologie
PU-PH	MERLOZ Philippe	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	MORAND Patrice	Bactériologie - virologie
PU-PH	MOREAU-GAUDRY Alexandre	Biostatistiques, informatique médicale et technologies de communication
PU-PH	MORO Elena	Neurologie
PU-PH	MORO-SIBILOT Denis	Pneumologie
PU-PH	MOUSSEAU Mireille	Cancérologie
PU-PH	MOUTET François	Chirurgie plastique, reconstructrice et esthétique ; brûlologie
MCU-PH	PACLET Marie-Hélène	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	PALOMBI Olivier	Anatomie
PU-PH	PARK Sophie	Hémato - transfusion
PU-PH	PASSAGGIA Jean-Guy	Anatomie
PU-PH	PAYEN DE LA GARANDERIE Jean-François	Anesthésiologie réanimation
MCU-PH	PAYSANT François	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	PELLETIER Laurent	Biologie cellulaire
PU-PH	PELLOUX Hervé	Parasitologie et mycologie
PU-PH	PEPIN Jean-Louis	Physiologie
PU-PH	PERENNOU Dominique	Médecine physique et de réadaptation
PU-PH	PERNOD Gilles	Médecine vasculaire
PU-PH	PIOLAT Christian	Chirurgie infantile
PU-PH	PISON Christophe	Pneumologie

PU-PH	PLANTAZ Dominique	Pédiatrie
PU-PH	POIGNARD Pascal	Virologie
PU-PH	POLACK Benoît	Hématologie
PU-PH	POLOSAN Mircea	Psychiatrie d'adultes
PU-PH	PONS Jean-Claude	Gynécologie obstétrique
PU-PH	RAMBEAUD Jacques	Urologie
PU-PH	RAY Pierre	Biologie et médecine du développement et de la reproduction
PU-PH	REYT Émile	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	RIGHINI Christian	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	ROMANET Jean Paul	Ophthalmologie
PU-PH	ROSTAING Lionel	Néphrologie
MCU-PH	ROUSTIT Matthieu	Pharmacologie fondamentale, pharmaco clinique, addictologie
MCU-PH	ROUX-BUISSON Nathalie	Biochimie, toxicologie et pharmacologie
MCU-PH	RUBIO Amandine	Pédiatrie
PU-PH	SARAGAGLIA Dominique	Chirurgie orthopédique et traumatologie
MCU-PH	SATRE Véronique	Génétique
PU-PH	SAUDOU Frédéric	Biologie Cellulaire
PU-PH	SCHMERBER Sébastien	Oto-rhino-laryngologie
PU-PH	SCHWEBEL-CANALI Carole	Réanimation médicale
PU-PH	SCOLAN Virginie	Médecine légale et droit de la santé
MCU-PH	SEIGNEURIN Arnaud	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	STAHL Jean-Paul	Maladies infectieuses, maladies tropicales
PU-PH	STANKE Françoise	Pharmacologie fondamentale
MCU-PH	STASIA Marie-José	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	STURM Nathalie	Anatomie et cytologie pathologiques
PU-PH	TAMISIER Renaud	Physiologie
PU-PH	TERZI Nicolas	Réanimation
MCU-PH	TOFFART Anne-Claire	Pneumologie
PU-PH	TONETTI Jérôme	Chirurgie orthopédique et traumatologie
PU-PH	TOUSSAINT Bertrand	Biochimie et biologie moléculaire
PU-PH	VANZETTO Gérald	Cardiologie
PU-PH	VUILLEZ Jean-Philippe	Biophysique et médecine nucléaire
PU-PH	WEIL Georges	Epidémiologie, économie de la santé et prévention
PU-PH	ZAOUTI Philippe	Néphrologie
PU-PH	ZARSKI Jean-Pierre	Gastro-entérologie, hépatologie, addictologie

PU-PH : Professeur des Universités et Praticiens Hospitaliers
MCU-PH : Maître de Conférences des Universités et Praticiens Hospitaliers
PU-MG : Professeur des Universités de Médecine Générale
MCU-MG : Maître de Conférences des Universités de Médecine Générale

REMERCIEMENTS

Dans un premier temps, je tiens à remercier chaleureusement :

- le président du jury, le **Professeur Philippe Gaudin** : « *Merci d'avoir accepté d'être le président de ce jury, d'avoir participé à mon enseignement avec cette gentillesse et bienveillance qui vous caractérise, de me faire confiance et me permettre de m'épanouir dans mon parcours professionnel.* »
- mon directeur de thèse, le **Professeur Athan Baillet** : « *Merci de l'énergie que tu as mis pour m'impliquer dans les différents projets et formations que j'ai pu rejoindre grâce à toi, de m'avoir fait découvrir la recherche fondamentale, de ton implication dans la formation des internes et de tous nous "diriger" dans nos thèses : quel boulot ! Merci également de tout le temps que tu m'as consacré, de tous les conseils que tu m'as dispensé au long de cet internat, me permettant de boucler certains travaux. Je me fais une joie de continuer à travailler à tes côtés dans les années à venir.* »
- le **Docteur Marie-Hélène Paclet** : « *Merci de ta gentillesse, de ton sourire permanent, de ton aide lors de mon Master 2 et d'avoir participé à ce travail de thèse, ainsi que des discussions scientifiques que nous avons pu avoir ensemble. Merci d'avoir accepté d'être de la partie dans ce jury !* »
- le **Docteur Maxime Chevreau** , ou devrais-je dire Monsieur Adipokine : « *Merci d'avoir accepté de faire partie de ce jury. Tu as été mon premier co-interne de rhumatologie, je te remercie de tes conseils et de ton aide lors de mes premiers pas hésitants dans cette spécialité. Tes discussions passionnées sur les adipokines ont assurément permis d'aiguiser ma curiosité sur la recherche. J'ai été content de participer à plusieurs travaux à tes côtés, et j'espère qu'il y en aura d'autres !* »
- le **Docteur Chuong Nguyen** : « *Encore merci d'avoir accepté de quitter ta paillasse et ton ordinateur pour faire partie de mon jury de thèse. Merci de m'avoir appris plein de techniques lors de mon Master 2 mais surtout des grands moments de rigolade qu'on a pu partager. J'espère pouvoir être digne de changer de surnom lors de ma thèse de sciences qui arrive !* »

Dans un second temps, je remercie **l'ensemble des équipes médicales et paramédicales** (infirmières, aide-soignantes, ASH, kinésithérapeutes, secrétaires, diététiciennes, ...) qui ont accompagné mon parcours et facilité mon internat.

Je remercie tout particulièrement :

- le **Professeur Juvin** : « *Votre sagesse et votre goût pour l'éthique m'ont amené à me poser de nombreuses questions. Merci de m'avoir donné une autre vision de la médecine, j'admire votre sens clinique et j'espère un jour me rapprocher de votre niveau.* »
- le **Docteur Mélanie Gilson** : « *Nous n'avons que peu travaillé ensemble de manière rapprochée mais merci d'avoir participé à ma formation ; l'exhaustivité de tes prises en charge, ta gentillesse et ta compréhension envers les patients m'ont servi d'exemple. Merci d'avoir été disponible pour la gestion de cas me semblant difficiles.* »

- le **Docteur Laurent Grange** : *« Merci de m'avoir sensibilisé à l'éducation thérapeutique, à l'humour... Quoique ! Merci de ta bonne humeur au quotidien. »*
- les anciens internes devenus chefs : **Marine, Claire, Romain, Franck et Antoine** : *« Merci d'avoir été à mes côtés durant mon parcours et merci d'être vous, tout simplement. »*
- le service de **médecine interne du 3^{ème} A**, et notamment **Fatma**, première assistante dans mon internat, de son soutien, de m'avoir rassuré et d'avoir été aussi bienveillante dans les débuts difficiles de mon internat ; **Mathilde et Aldrick**, mes premiers co-internes, d'avoir été là, de m'avoir épaulé et soutenu pour que je tiens le coup.
- le service de **Neurologie de Chambéry**, dans lequel j'ai passé un stage formateur dans une bonne ambiance.
- le service d'**Infectiologie du CHU**, je ne cite personne car je risque d'oublier du monde, mais merci à vous tous. Malgré la difficulté de mon stage, j'y ai acquis de nombreuses connaissances qui m'ont servi et continueront de me servir dans ma pratique de la médecine.
- le **Centre Hospitalier d'Uriage**, et plus particulièrement les **Docteur Myriam Zulian, Docteur Delphine Frappat, Docteur Bruno Troussier, Docteur Ouafa Boulares et Docteur Maïté De La Forest**, pour ce stage formateur, la bonne ambiance et les courses à pieds !
- le dernier mais non le moindre, le **service de Rhumatologie du CHU**, et toutes ses équipes qui m'ont appris l'importance du travail en équipe, et m'ont permis de devenir le médecin que je suis aujourd'hui. *« Je suis fier d'avoir travaillé et appris à vos côtés. »*
- les membres du **laboratoire GREPI, Bertrand, Bernard et Sabine** pour leurs conseils et leur soutien lors de mon Master 2.
Petit clin d'oeil particulier à **Habib** qui sera mon co-encadrant de thèse de science *« Je me fais un plaisir de retravailler avec toi, je suis assuré que tes connaissances et ta bonne humeur nous feront faire des découvertes épatantes ! »* et à **Aurélie** *« Merci de m'avoir encadré pendant ce Master 2 et surtout pour tous les bons moments que j'ai passé à tes côtés sur cette période. »*
- mes co-internes et amis, **Céline** *« Merci de m'avoir soutenu, et m'avoir rendu accro au café ! C'est toujours un plaisir de te revoir et passer du temps avec toi. »* ; aux membres de la Golden Cost (**Olivier et Bastien**) *« Que de fous rires et de bons moments passés lors de ce stage qui restera gravé dans ma mémoire ! »* ; **Margo** *« J'ai aimé travailler avec toi, malgré le contexte difficile de l'époque. »* ; **Jean Bertand** (ou Bertand Jean je ne me souviens plus) *« Nos discussions scientifiques révolutionneront le monde un jour... ou pas ! »* ; le "**professeur**" **Folmer** et sa fameuse méthode pour gagner en productivité.
- tous les **internes de rhumatologie** pour tous ces bons moments passés en stage ou lors des cours et congrès.
- **Alex, Amine et John**, mes potes des bancs de la fac *« Merci pour ces moments de folie partagés ensemble. J'ai beaucoup de bons souvenirs en tête en attendant de pouvoir en créer de nouveaux à vos côtés. »*

- **Joris et Théotime**, « *Mes études médicales ont failli s'arrêter entre la première et la deuxième année suite à une sortie de vélo mémorable où j'ai tenté de vous suivre... Merci de m'avoir gardé en vie quand même !* »
- Et tous les autres avec qui j'ai partagé de bons moments au cours de ce long parcours que sont les études de médecine !

Dans un dernier temps, je tiens à remercier ceux qui ne font pas partie du milieu... Quoique !

- **Yann, Guillaume et Mélanie**, des amis de longue date qui ont été compréhensifs sur mon peu de disponibilités et avec qui il est toujours plaisant de passer du temps.
- Aux membres de **Kinic** qui ont compris et excusé mes absences physiques ou psychiques, ont soutenu Camille quand je ne le pouvais pas et qui ont transformé de nombreux moments en Paradis.
Clin d'oeil particulier à **Eline**, qui bien que je la charrie souvent (trop peut-être?) a toujours été là pour nous.
- Aux derniers arrivés, **le gang de l'Ovalie** « *Le prochain apéro est pour quand ?* »
- **Mes parents** qui ont su m'accompagner tout au long de ce parcours, sachant me soutenir et me rassurer quand il le fallait, se réjouissant pour moi de toutes les bonnes choses qui ont jalonné mon parcours. « *Je vous aime !* »
Max, « *Je suis fier de tout ce que tu es devenu, que tu aies trouvé ta voie dans l'enseignement et que tu t'y épanouisses, et fier d'être ton frère tout simplement.* »
- Le reste de **ma famille et belle-famille** « *Merci d'être là et de me soutenir.* »
- A mes deux femmes,
Ma puce, sans qui rien de tout cela n'aurait été possible. « *Tu as su me soutenir dans les moments difficiles. Merci d'être à mes côtés et de nous faire grandir et évoluer ensemble. Je me rends compte de la chance que j'ai d'être à tes côtés. Merci de m'avoir permis de devenir père.* »
Aélys, ma fille, mon petit chat « *Ton sourire et ton rire si communicatif me remplissent de joie. Je suis émerveillée des progrès que tu fais chaque jour. J'espère que tu ressentiras la même fierté que j'ai eu d'avoir été présent à la thèse de mon père (enfin, je ne m'en souviens pas, c'est ce qu'on m'a raconté !). Prends le temps de bien grandir, ton papa sera toujours là pour toi !* »

Xavier

TABLES DES MATIERES

ABREVIATIONS	10
PARTIE 1 : INTRODUCTION	12
I. Les spondyloarthrites	12
a) Généralités	12
b) Épidémiologie	12
c) Pathogénèse	13
d) Diagnostic et classification	15
e) Prise en charge thérapeutique	17
II. Imagerie dans les spondyloarthrites	17
a) Définition de la sacro-iliite « magnétique » et limites	18
b) Scores d'imagerie dans les spondyloarthrites	20
c) Évolution radiographique des spondyloarthrites	25
d) Traitements et progression radiologique	26
e) Facteurs prédictifs de progression radiologique	28
III. Biomarqueurs et spondyloarthrites	30
a) Biomarqueurs : définition	30
b) Biomarqueurs dans les spondyloarthrites (article annexe 1)	30
IV. La calprotectine	33
a) Généralités	33
b) Nomenclature et conformation	34
c) Fonctions de la calprotectine	34
d) La calprotectine trait d'union entre le système immunitaire inné et adaptatif	36
e) Calprotectine et rhumatisme inflammatoire chronique (article annexe 2)	37
V. Spondyloarthrite et calprotectine	39
a) La calprotectine joue un rôle dans l'inflammation locale des spondyloarthrites	39
b) Calprotectine et intérêt dans l'aide au diagnostic des spondyloarthrites	40
c) Calprotectine et intérêt pour évaluer l'activité des spondyloarthrites	42
d) Calprotectine et prédiction de l'évolution structurale des spondyloarthrites	44
VI. Cohorte DESIR	44
PARTIE 2 : ARTICLE ORIGINAL	46
PARTIE 3 : DISCUSSION	61
CONCLUSION	66
PERSPECTIVES	67
REFERENCES	69
ANNEXES	77

ABREVIATIONS

AINS : Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien

ANCA : Anticorps Anti Cytoplasme des Neutrophiles

ASAS : Assessment of Spondyloarthritis international Society

ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score

ASspiMRIa : Ankylosing Spondylitis spine MRI activity

BASDAI : Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index

BASFI : Bath Ankylosing Spondylitis Fonctional Index

CD : Cluster de Différenciation

CMH I : Complexe Majeur d'Histocompatibilité de classe I

CRP : C-Reactive Protein

CXCL10 : C-X-C motif chemokine 10 ligand

DESIR : DEvenir des Spondyloarthrites Indifférenciées Récentes

EDTA : EthylèneDiamineTétraAcétique

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay

ERAP : Endoplasmic Reticulum Amino Peptidase

ET : Ecart Type

GESPIC : German Spondyloarthritis Inception Cohort

HLA-B27 : Human Leucocyte Antigen B27

IC95% : Intervalle de Confiance à 95%

IL : InterLeukine

IRM : Imagerie par Résonance Magnétique

IVD : In Vitro Diagnostic

LPS : LipoPolySaccharides

LR : Likelihood Ratio

MICI : Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin

MMP : MétalloProtéinases Matricielles

mNY : critères de New York modifiés

MRP : Myeloid Related Protein

mSASSS : modified Stokes Ankylosing Spondylitis Spine Score

OASIS : Outcome in Ankylosing Spondylitis International Study

OMERACT : Outcome Measures in Rheumatology

OR : Odds Ratio

PNN : PolyNucléaire Neutrophile

PR : Polyarthrite Rhumatoïde

RAGE : Récepteurs pour les produits finaux avancés de glycosylation

RASSS : Radiographic Ankylosing Spondylitis Spinal Score

RUO: Research Use Only

SA : Spondylarthrite Ankylosante

SAPHO : Synovite Acnée Pustulose Hyperostose Ostéite

SpA : Spondyloarthrite

SPARCC: SPondyloArthritis Research Consortium of Canada

STIR : Short Tau Inversion Recovery

TGF β : Transforming Growth Factor Beta

TLR : Toll Like Receptor

TNF: Tumor Necrosis Factor

UDV: Unité Disco Vertébrale

VPP : Valeur Prédicative Positive

VS : Vitesse de Sédimentation

PARTIE 1 : INTRODUCTION

I. Les spondyloarthrites

a) Généralités

Le terme spondyloarthrite (SpA) regroupe plusieurs rhumatismes inflammatoires chroniques (rhumatisme psoriasique, spondylarthrite ankylosante (SA), arthrites associées aux maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), arthrite réactionnelle, Synovite Acnée Pustulose Hyperostose Ostéite (SAPHO), spondyloarthrite indifférenciée et un sous-groupe d'arthrite juvénile) qui partagent certaines de leurs manifestations cliniques et un terrain génétique commun notamment le HLA-B27 (1). La présentation clinique des SpA combine de façon variable des atteintes rachidiennes (spondylite...), des sacroiliaques (sacroiliites), des arthrites et enthésites périphériques et des manifestations extra-articulaires comme l'uvéite, le psoriasis et les MICI.

Les patients présentant une SpA axiale rapportent des dorso-lombalgies débutant habituellement au niveau de la charnière thoraco-lombaire et des pygalgies d'horaire inflammatoire (présence de réveils nocturnes, raideur matinale >30min, douleurs s'améliorant avec l'activité et aggravées par le repos) entraînant une raideur rachidienne. L'inflammation rachidienne provoque la formation progressive de ponts osseux, appelés syndesmophytes, entraînant une ankylose progressive responsable d'une perte de mobilité.

b) Épidémiologie

L'âge moyen d'apparition des symptômes est de 26 ans et la SpA se déclare généralement entre la fin de l'adolescence et l'âge de 40 ans (1). La forme axiale

radiologique touche plus fréquemment les hommes (ratio 2-3 : 1) alors que la forme non radiologique se retrouve également représentée chez l'homme et la femme. Le gène de prédisposition, le HLA-B27, est présent chez 90% des patients présentant une SA mais aussi chez 8% de la population européenne. Le risque de développer une SA si on est HLA-B27 positif est de l'ordre de 1 à 5%, augmentant à 15-20% si un parent du premier degré est affecté.

c) Pathogénèse

Les études génétiques ont mis en évidence trois principaux gènes associés à cette maladie : l'antigène HLA-B27, le récepteur de l'IL-23 et l'Endoplasmic Reticulum Amino Peptidase (ERAP) qui code pour une aminopeptidase exprimée dans le réticulum endoplasmique impliqué dans la préparation de l'antigène pour sa présentation via le complexe majeur d'histocompatibilité de type I (CMH I) (2). Les facteurs génétiques expliquent 80 à 90% de la susceptibilité à développer une SA (3). Un modèle de rat transgénique sur-exprimant le HLA-B27 et la bêta-2 microglobuline humaine développe un phénotype de spondylarthrite (4) indiquant l'importance de cet antigène.

Il existe plusieurs hypothèses physiopathologiques pour expliquer la survenue des SpA (5).

La première est la théorie du peptide arthritogène selon laquelle il existerait des peptides dérivés de pathogènes (bactéries notamment) qui partageraient des séquences communes avec des peptides du soi. Ainsi, le peptide arthritogène serait présenté spécifiquement aux lymphocytes T CD8+ via le CMH I, ce qui induirait la sélection de lymphocytes auto-réactifs entraînant le développement de la SpA. Certaines infections digestives ou urinaires, à *Chlamydia trachomatis* ou à bactéries

gram négatif de type entérobactérie (*Salmonella*, *Yersinia*...), peuvent déclencher, sur un terrain génétique favorisant, une SpA de type arthrite réactionnelle (6). Ces observations laissent envisager un rôle des bactéries dans la pathogénèse de cette maladie qui pourrait impliquer le CMH I. Malheureusement, la mise en évidence des séquences de cet antigène arthritogène n'a pas été très convaincante, et la suppression des lymphocytes T CD8 dans les modèles de rats transgéniques surexprimant le HLA-B27 n'ont eu aucun impact sur la maladie (7).

La deuxième hypothèse est que le HLA-B27 jouerait un rôle auto-inflammatoire plutôt que de présentateur d'antigène. Les chaînes lourdes du HLA-B27 en l'absence de bêta-2 microglobuline peuvent former des homodimères qui sont surexprimés à la surface de la cellule. Ainsi ces homodimères permettent d'activer le récepteur KIR3DL2 des cellules natural killer et des lymphocytes T responsables d'une réponse pro-inflammatoire (8).

La troisième hypothèse est que le résidu cystéine 67 de la poche B du HLA-B27 est responsable d'un repliement incorrect de la protéine (9). Cette mauvaise conformation du HLA-B27 entraîne une accumulation de celui-ci dans le réticulum endoplasmique induisant un stress. Une réponse pro-inflammatoire, appelée réponse à la protéine mal repliée (« Unfolded protein response »), est donc débutée conduisant à une production cytokinique accrue dont l'IL-23 (10).

Un déséquilibre cytokinique est aussi impliqué dans la pathogénèse de cette maladie comme le prouvent les succès thérapeutiques des biothérapies ciblant le Tumor Necrosis Factor (TNF) alpha et l'IL-17A. L'IL-23 est principalement produite par les macrophages, notamment chez les patients atteints de SpA, après activation des Toll Like Receptor (TLR) par les Lipopolysaccharides (LPS) (11). L'IL-23 induit la polarisation (avec l'IL-6 et le Transforming Growth Factor β (TGF β)) des lymphocytes

T CD4 naïfs (Th0) en Th17 qui sécrètent en réponse des cytokines pro-inflammatoires, notamment de l'IL-17A. Dans un modèle de souris, une surexpression systémique seule d'IL-23 entraîne des manifestations de SpA avec notamment des enthésites. Sherlock *et al.* ont mis en évidence dans l'enthèse des lymphocytes résidents ROR γ t+CD3+CD4-CD8- qui expriment le récepteur de l'IL-23. Ces lymphocytes sécrètent, suite à la stimulation par l'IL-23, de l'IL-17A qui active en retour les ostéoclastes et le processus d'ossification de novo causant la production d'enthésophytes (12). L'IL-23 et l'IL-17A sont donc deux cytokines fortement liées dans la pathogénèse des SpA.

d) Diagnostic et classification

La présence d'une sacro-iliite radiologique était un critère indispensable pour retenir le diagnostic de SA selon les critères de New York modifiés (mNY) (13) (**Figure 1**). Il s'avère que ces critères de classification étaient inadaptés pour poser un diagnostic précoce de SpA axiales du fait d'une apparition tardive de ces lésions radiologiques de sacro-iliite.

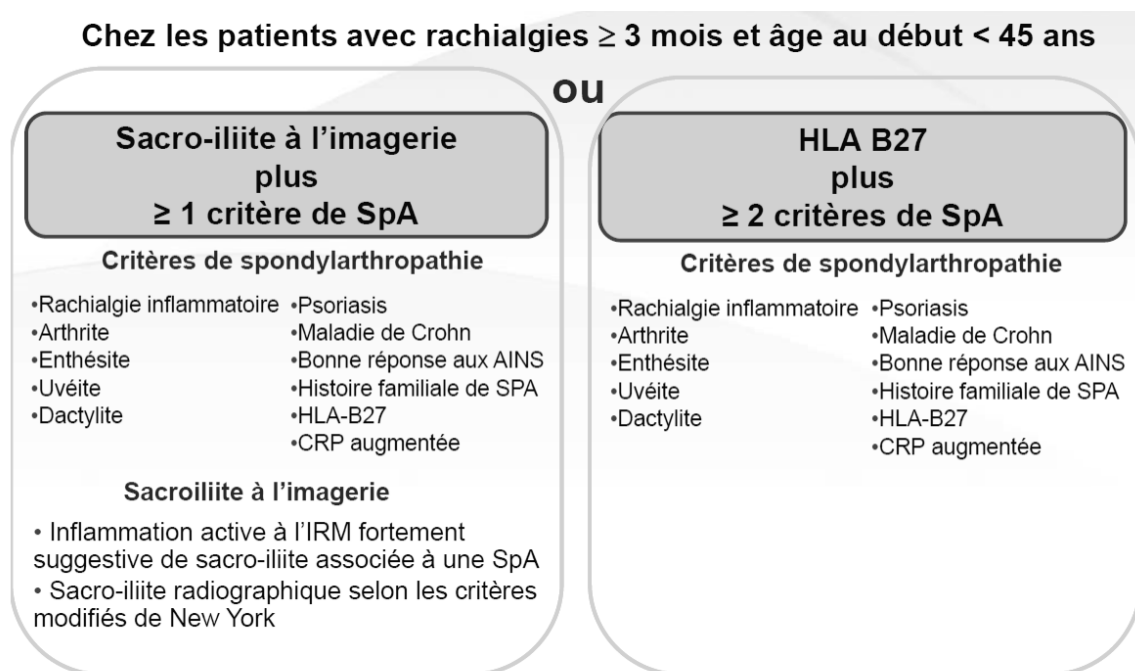
Figure 1. Critères de New York modifiés utilisés pour le diagnostic de spondylarthrite ankylosante.

Critères cliniques	Lombalgies avec raideur de plus de trois mois, améliorées à l'effort, mais ne cédant pas au repos Limitation des mouvements du rachis lombaire à la fois dans le plan frontal et sagittal Limitation de l'ampliation thoracique par rapport aux valeurs normales corrigées pour l'âge et le sexe
Critères radiologiques	Sacro-iliite bilatérale de grade ≥ 2 , ou sacro-iliite unilatérale de grade ≥ 3
Score	La spondylarthrite est définie si le critère radiologique est associé à au moins un des critères cliniques

De nouveaux critères de classification, les critères de l'Assessment of Spondyloarthritis international Society (ASAS) (14-15), ont émergé afin d'inclure la

notion d'œdème inflammatoire osseux visualisé en imagerie par résonance magnétique (IRM) au niveau des articulations des sacro-iliaques (sacroiliite magnétique) (**Figure 2**). Ces modifications permettent ainsi un diagnostic plus précoce avant l'apparition des lésions radiographiques.

Figure 2. Les critères ASAS de spondyloarthrite axiale.



Rudwaleit M et al. Ann Rheum Dis 2009;68:770-6; et 777-83.

Figure adaptée de l'article de Rudwaleit *et al.* ARD 2011 (15).

Afin de remplir les critères diagnostiques de SpA axiale, le patient doit avoir moins de 45 ans au début des symptômes, présenter des lombalgies chroniques (>3 mois) d'horaire inflammatoire avec soit une sacro-iliite radiologique ou magnétique associé à un autre critère clinico-biologique ou avoir l'antigène de prédisposition HLA-B27 associé à deux autres critères clinico-biologiques.

e) Prise en charge thérapeutique

Les recommandations récentes établies par la Société Française de Rhumatologie (16) admettent comme objectif thérapeutique « d'améliorer la qualité de vie, de contrôler les symptômes et l'inflammation, de prévenir les dommages structuraux, de préserver ou restaurer les capacités fonctionnelles, l'autonomie et la participation sociale des patients ». L'objectif thérapeutique principal étant d'obtenir la rémission clinique, ou à défaut une activité faible, de la maladie définie par un Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (ASDAS) inférieur à 1,3. Les anti-inflammatoires non stéroïdiens (AINS) sont indiqués en première ligne. En cas d'échec, des traitements conventionnels (sulfasalazine, méthotrexate, léflunomide) peuvent être indiqués dans les formes d'arthrites périphériques réfractaires, plus ou moins aidés par des infiltrations locales de corticoïdes. Un traitement par biothérapie (anti-TNF, anti-IL-17, anti-IL-23) adapté au type de présentation clinique est indiqué en cas d'échec des traitements précédemment cités à condition que le diagnostic de SpA soit certain et que la maladie reste active.

II. Imagerie dans les spondyloarthrites

L'imagerie, et notamment l'IRM, est indispensable pour poser le diagnostic de SpA. Le diagnostic repose sur l'existence d'un œdème de la moelle osseuse au niveau des articulations sacro-iliaques définissant la sacro-iliite. L'IRM met surtout en évidence trois types de lésions : l'œdème inflammatoire caractérisé par un hypersignal en séquence Short Tau Inversion Recovery (STIR), les plages de transformation graisseuses véritables séquelles des précédentes poussées inflammatoires, et la

sclérose osseuse. Cependant, l'IRM reste moins performante pour mettre en évidence les lésions structurales, comme les érosions, au niveau des sacro-iliaques. Les radiographies standards restent le gold standard pour l'évaluation des lésions structurales rachidiennes, le scanner pour les lésions structurales des sacro-iliaques et l'IRM pour la mise en évidence des poussées inflammatoires à ces deux sites (17).

a) Définition de la sacro-iliite « magnétique » et limites

Le groupe de travail ASAS a publié en 2016 les critères définissant une sacro-iliite active en IRM répondant aux critères de classification de la SpA axiale (18) :

- Présence d'un œdème de la moelle osseuse en séquence pondérée en T2 sensible pour détecter l'eau libre (STIR ou T2 Fat Sat) ou prise de contraste de la moelle osseuse en séquence T1 post gadolinium devant être visible sur au moins deux coupes consécutives.
- L'inflammation doit être clairement présente et localisée dans une zone anatomique typique (os sous chondral).
- La sémiologie IRM doit être évocatrice de SpA.

D'autres anomalies sans œdème de la moelle osseuse, telles que la synovite, enthésite ou arthrite, peuvent être observées en IRM mais ne sont pas suffisantes à elles seules pour répondre au critère d'imagerie de «sacro-iliite active en IRM».

En l'absence de signes IRM d'œdème de la moelle osseuse, la présence de lésions structurales telles que la métaplasie graisseuse, la sclérose, l'érosion ou l'ankylose à elles seules ne peuvent être définies comme une «sacro-iliite active en IRM».

Ce groupe de travail suggère une évaluation objective des données de l'IRM en s'aidant du contexte clinique comme les informations démographiques, cliniques et

biologiques. Cependant, il n'est pas évoqué l'intérêt de réaliser une imagerie du rachis thoraco-lombaire afin d'évaluer l'existence de trouble de la statique et de lésions dégénératives dites « mécaniques » (discopathie, arthrose articulaire postérieure...). En effet, les troubles de la statique rachidienne entraînent des modifications de la répartition des forces de pression sur le rachis ce qui a un impact direct sur les articulations sacro-iliaques qui ne sont qu'un continuum du rachis cervico-dorso-lombaire. Cela explique que l'œdème de la moelle osseuse en IRM au niveau de la sacro-iliaque n'est pas hautement spécifique des SpA et peut très bien être retrouvé dans les poussées inflammatoires de sacro-iliaques dégénératives. Une étude récente a retrouvé la présence d'une sacro-iliite active hautement suggestive de SpA selon les critères ASAS chez 23,4% des volontaires sains, 6,4% des patients lombalgiques chroniques, 12,5% des coureurs à pied et 57,1% des patientes présentant des lombalgies du post-partum, alors que les IRM ont été évalués par 3 experts ayant bénéficié d'un entraînement standardisé de lecture (19). Une observation intéressante était que la présence d'un œdème osseux profond ≥ 1 cm partant de la surface articulaire de la sacro-iliaque était hautement spécifique de SpA. La prévalence des maladies dégénératives des articulations sacro-iliaques est probablement sous-estimée. Le fait de négliger les étiologies dégénératives responsables de l'œdème de la moelle osseuse des sacro-iliaques pourrait entraîner une surestimation de la prévalence de SpA conduisant à des traitements longs, coûteux et inutiles, avec des effets secondaires potentiellement graves (20).

b) Scores d'imagerie dans les spondyloarthrites

a. modified Stokes Ankylosing Spondylitis Spine Score (mSASSS)

L'évolution des modifications structurales rachidiennes dans la SA s'évalue habituellement par le score mSASSS (21-22). Il s'agit d'un score radiologique, basé sur les radiographies standards du rachis cervical et lombaire de profil, qui étudie l'aspect des coins antérieurs des vertèbres cervicales (bord inférieur de C2 jusqu'au bord supérieur de T1) et des vertèbres lombaires (angle inférieur de T12 jusqu'à l'angle supérieur de S1), soit 24 coins vertébraux au total. Un score de 1 est donné s'il existe une érosion, une sclérose et/ou une mise au carré de la vertèbre, un score de 2 pour la présence d'un syndesmophyte et un score de 3 pour l'existence d'un pont osseux complet (**Figure 3**). Le score total varie de 0 à 72.

Le mSASSS a été choisi comme méthode privilégiée par l'ASAS et l'Outcome Measures in Rheumatology (OMERACT) pour évaluer les dommages structuraux au rachis du fait d'une bonne reproductibilité et sensibilité au changement (22). Les modifications du score mSASSS dans le temps sont principalement expliquées par l'apparition de nouveaux syndesmophytes ou l'aggravation vers l'ankylose. Pour avoir une sensibilité au changement acceptable, un minimum de suivi du mSASSS sur 2 ans a été montré comme nécessaire (23). Un des reproches fait à ce score est qu'il ne prend pas en compte le rachis thoracique alors que la moitié inférieure de ce dernier est souvent atteinte dans la SpA axiale. Le Radiographic Ankylosing Spondylitis Spinal Score (RASSS) a donc été proposée rajoutant, en plus du mSASSS, l'analyse du rachis thoraco-lombaire bas de T10 à T12. Seules les lésions ostéo-prolifératives sont prises en compte dans ce score. L'étude princeps retrouvait une meilleure sensibilité au changement du RASSS comparée au mSASSS (24). Néanmoins, des études

récentes ont mis en évidence que l'ajout de l'analyse du rachis thoracique n'apportait au final aucune plus-value (25-26).

Figure 3. Le système de cotation mSASSS est le plus utilisé pour évaluer le changement radiographique dans la spondylarthrite ankylosante.

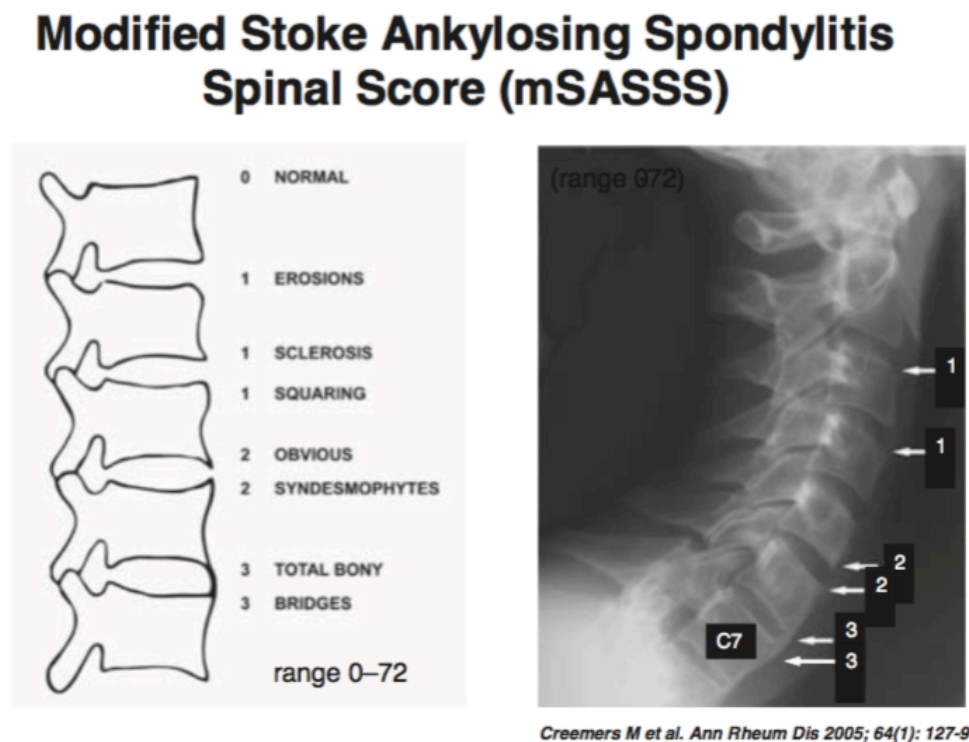
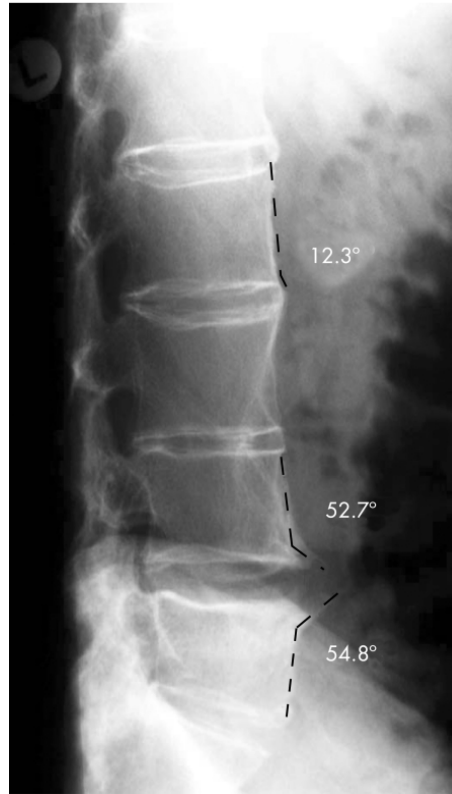


Image issue de l'article Braun *et al.* ARD 2011 (17).

Il n'existe pas de définition consensuelle pour différencier un syndesmophyte (lésion survenant dans les SpA) d'un ostéophyte (lésion d'arthrose survenant sur des rachis dégénératifs). Baraliakos *et al.* (27) avaient défini qu'un ostéophyte devait être retenu si l'angle entre la production osseuse et le bord antérieur de la vertèbre faisait plus de 45°. Des syndesmophytes ambigus (angle > 45°), au niveau de vertèbres cervicales ou lombaires ayant reçu la note de 2 points au score du mSASSS (syndesmophyte), ont été retrouvés chez 22,4% des SpA étudiées. Hors l'apparition d'ostéophytes

(Figure 4) n'est pas la conséquence des poussées inflammatoires de SpA, et donc, ne devraient pas être pris en compte dans le score mSASSS.

Figure 4. Sémiologie radiologique d'un syndesmophyte L2-L3 et d'un ostéophyte L4-L5.



Un angle de plus de 45° par rapport au bord antérieur de la vertèbre définit un ostéophyte selon Baraliakos *et al.* et ne devrait pas être pris en considération dans la cotation du mSASSS.

Image issue de l'article Baraliakos *et al.* ARD 2007 (27).

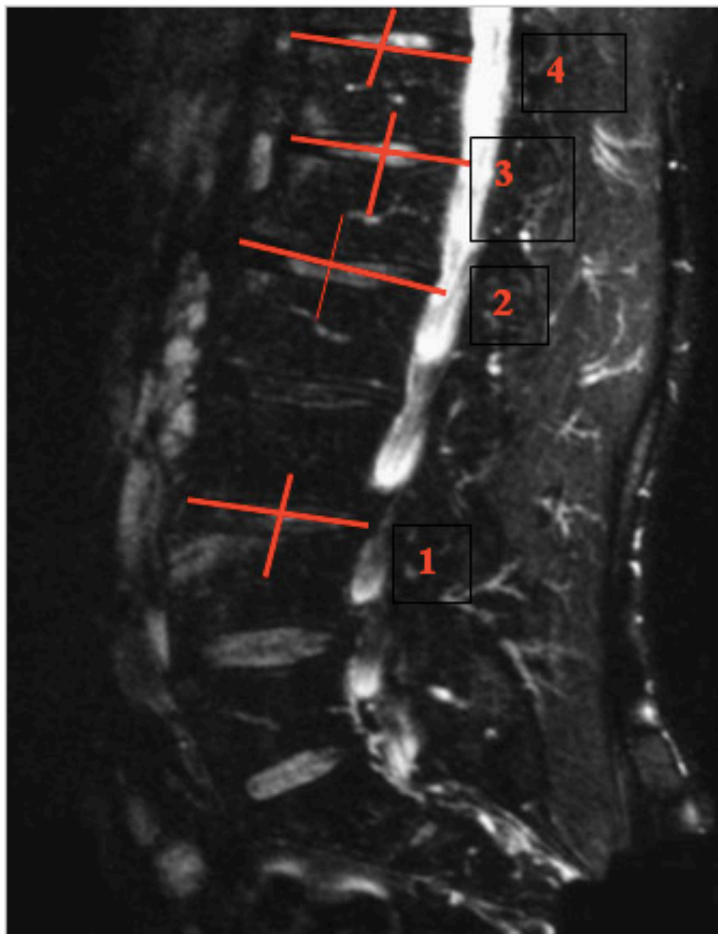
b. Score Spondyloarthritis Research Consortium of Canada (SPARCC)

Ce score consiste à évaluer uniquement les lésions inflammatoires (œdème osseux) en séquences STIR à travers la réalisation d'une IRM panrachidienne ou des articulations sacro-iliaques.

Le rachis est divisé en unité disco vertébrale (UDV) qui est une structure délimitée par une ligne passant par le milieu de deux corps vertébraux adjacents et qui comprend l'ensemble du disque vertébral. Les six UDV ayant le plus d'anomalies en séquence STIR sont retenues après analyse de l'ensemble du rachis. Chaque UDV est divisée

en quatre quadrants et une analyse est effectuée sur trois coupes sagittales consécutives. La cotation est binaire : 1 point s'il existe un œdème osseux (signal en séquence STIR > signal du centre de la vertèbre) et 0 point en l'absence d'œdème. Cette cotation est répétée sur les trois coupes sagittales consécutives (12 points au total par UDV). S'il existe une lésion dite profonde, soit de plus de 1 cm, sur au moins un quadrant d'une coupe un score additionnel de 1 point est ajouté (3 points au total par UDV) et de 1 point supplémentaire si le signal est intense (de niveau équivalent au signal du liquide céphalo-rachidien soit 3 points au total par UDV). Le score total est donc au maximum de 18 points par UDV soit un score total de 108 points (**Figure 5**). A noter que les modifications du signal discal ne sont pas prises en compte.

Figure 5. Méthode de cotation pour le score de SPARCC au Rachis



IRM en séquence T2 STIR

1 : Segment L3-L4, score = 1
(antéro-inférieur) + 1 (profondeur)

2 : Segment L1-L2, score = 2
(antéro-supérieur et antéro-inférieur)

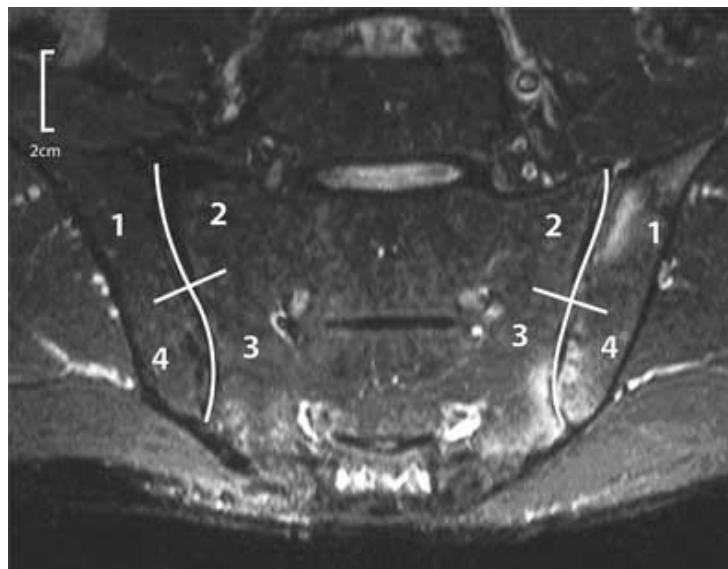
3 : Segment T12-L1, score = 2
(antéro-supérieur et antéro-inférieur)

4 : Segment T11-T12, score = 1
(antéro-inférieur)

SCORE = 7 points

Le principe est le même pour les articulations sacro-iliaques et consiste, après standardisation de l'analyse, à évaluer six coupes constitutives (coupes 4-9), qui correspond à la partie de la sacro-iliaque avec la plus grande portion de synoviale, en coronal et en séquence STIR. Chaque sacro-iliaque est divisée en quatre zones et le score total maximal est de 72 points avec le même principe de cotation que pour le rachis (**Figure 6**).

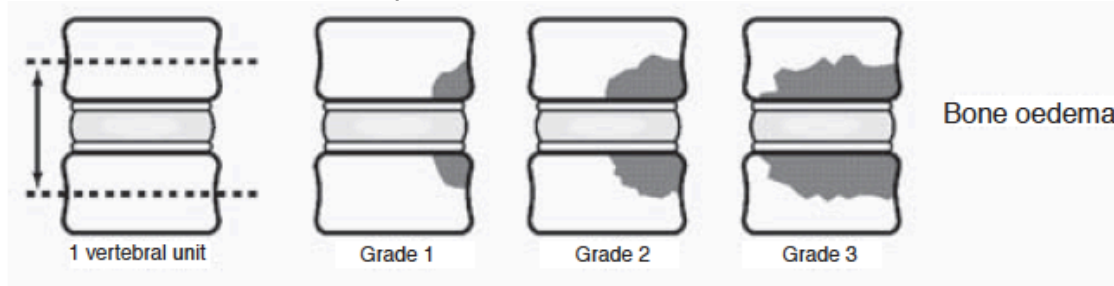
Figure 6. Méthode de cotation pour le score de SPARCC aux sacro-iliaques



c. Score de Berlin

Le score de Berlin est une modification du score Ankylosing Spondylitis Spine MRI Activity Score (ASspiMRIa) et prend en compte uniquement l'œdème osseux. Il évalue l'ensemble du rachis de C2 à S1 soit 23 UDV en cotant la profondeur de l'œdème inflammatoire de 0 à 3 soit un score total maximal de 69 points (**Figure 7**).

Figure 7. Méthode de cotation pour le score de Berlin



c) Évolution radiographique des spondyloarthrites

L'évolution radiographique dans la SpA axiale radiologique suit une progression linéaire relativement stable de l'ordre de la prise de 1 point de mSASSS en moyenne par an à l'échelle d'un groupe (17). Cependant, à l'échelle individuelle, la progression n'est pas linéaire avec l'alternance de périodes de progression puis de relative quiescence, et ce, de façon complètement imprédictible (**Figure 8**). Il peut être mis en évidence schématiquement 3 groupes de patients : les progresseurs rapides (≥ 5 points mSASSS en 2 ans) (25%), les non-progresseurs (25%) et les progresseurs à la vitesse moyenne de 2 points de mSASSS tous les 2 ans (50%) (28). Dans les SpA, la perte de fonction est la conséquence, à la fois de l'activité de la maladie, surtout au début de celle-ci, et de l'apparition de lésions radiologiques (syndesmophyte, ankylose) (29-30).

Figure 8. Progression radiologique, selon le mSASSS, à l'échelle individuelle, de patients présentant une SA dans la cohorte OASIS sur 12 ans de suivi en fonction de la durée par rapport au début de leur maladie.

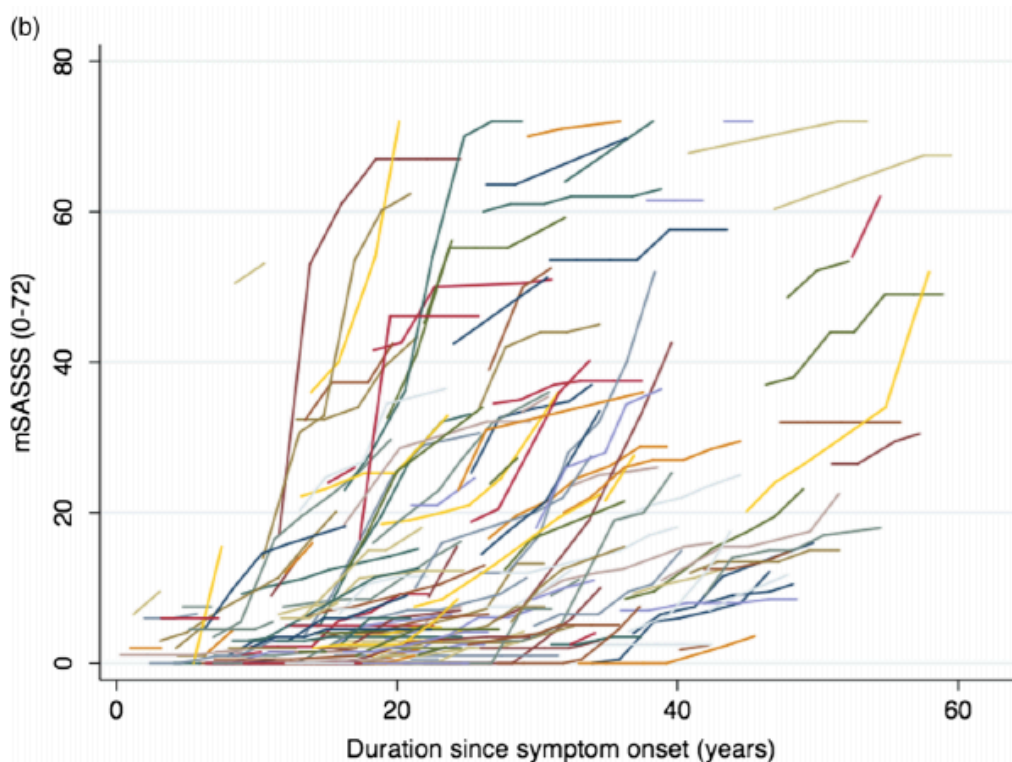


Figure issue de l'article de Ramiro *et al.* ARD 2013 (28).

d) Traitements et progression radiologique

Plusieurs études retrouvent que la prise d'AINS en continue par rapport à la demande retarde la progression radiologique dans la SA d'autant plus que le patient présente un syndrome inflammatoire important à l'initiation de ce traitement (31-33).

Aucun essai de longue durée contrôlé n'a été réalisé pour comparer un anti-TNF à un placebo afin d'évaluer leur capacité à ralentir la progression radiologique dans la SA (34). Les essais contre placebo ont duré au maximum 24 semaines ce qui est trop court pour détecter un changement radiologique. Il est à ce jour inconcevable, car non

éthique, de donner un placebo chez des patients présentant une SA symptomatique alors que des traitements efficaces existent. Pour répondre à cette question, les résultats de l'extension des études en ouvert évaluant les anti-TNF dans la SA ont été comparés à des cohortes historiques comme celle de l'Outcome in Ankylosing Spondylitis International Study (OASIS). L'etanercept (35), l'infliximab (36), l'adalimumab (37) évalués dans la SA sur 2 ans et le golimumab (38) sur 4 ans, comparés aux patients de cohortes historiques pris en charge sans anti-TNF (AINS, antalgiques et rééducation) n'ont pas montré d'effet sur la progression radiologique selon le score mSASSS. L'absence d'association trouvée peut aussi être expliquée par la durée du suivi et du traitement considéré comme trop court (2-4 ans) dans une maladie qui progresse lentement sur le plan radiologique.

Pour mieux répondre à cette question, des études observationnelles ont été réalisées. Une étude (39) ayant porté sur 22 patients présentant une SA traitée par infliximab et 34 patients d'une cohorte historique (cohorte Herne) jamais traités par anti-TNF pendant 8 ans a été analysée. Le mSASSS à l'inclusion était comparable dans les deux groupes, avec une aggravation similaire sur les quatre premières années. Puis, survenait une accélération de la progression radiologique pour le groupe non traité par anti-TNF. La différence de mSASSS à 8 ans entre les deux groupes étaient de 4,5 points ($p=0,047$). L'effet visible des anti-TNF sur la progression structurale est donc retardé ce qui peut expliquer la négativité des précédentes études faite sur 2 à 4 ans. Une autre étude (40) met en évidence dans la SA, après ajustement sur le mSASSS à l'inclusion, que les sujets ayant reçu un anti-TNF avaient une réduction de l'ordre de 50% du risque de progression radiologique (OR=0,52 IC95% (0,30-0,88); $p=0,02$). Dans cette étude, plus la durée du traitement par anti-TNF était longue plus la progression radiologique était ralentie (OR=0,90 IC95% (0,82-0,99); $p=0,04$). Enfin, si

l'anti-TNF était débuté tardivement (>10 ans par rapport au début des symptômes) alors la progression radiologique était plus importante (OR=2,4 IC95% (1,09-5,3); p=0,03).

Les données récentes semblent donc indiquer que les anti-TNF préviennent la survenue de lésions radiologiques comme les syndesmophytes dans la SA, surtout si ce traitement est débuté tôt et est poursuivi sur plusieurs années. Ceci est concordant avec le fait qu'une SpA avec une activité élevée progresse plus sur le plan radiologique (41).

Un traitement précoce et potentiellement ciblant les patients les plus à risque de progression pourrait donc être intéressant afin de prévenir l'apparition de lésions radiologiques et ainsi la perte de fonction (29,42).

e) Facteurs prédictifs de progression radiologique

De nombreuses études ont évalué les facteurs de risque de progression structurale dans la SA. Van Tubergen *et al.* retrouvaient que seule la présence de syndesmophytes préexistant était associée au risque de développer un nouveau syndesmophyte dans les 4 ans (OR=18,72, IC95% (6,44-54,42)). Quand était exclus du modèle la préexistence de syndesmophytes, l'âge (OR=1,07, IC95% (1,03-1,11)), le sexe masculin (OR=3,98, IC95% (1,47-10,77)) étaient des contributeurs statistiquement significatifs (43). Une étude plus récente a mis en évidence qu'un patient avec une SA, de sexe masculin, HLA-B27 positif et avec un mSASSS \geq 10 à l'inclusion progressait plus vite sur le plan radiologique (28).

Dans les SpA axiales récentes de la German Spondyloarthritis Inception Cohort (GESPIC), la présence de syndesmophytes à l'inclusion (OR=6,29; p<0,001), un niveau d'inflammation systémique élevé (VS : OR=4,04; p \leq 0.001 ; CRP : OR=3,81; p=0,001) et le tabagisme (OR=2,75 ; p=0,012) étaient associés avec le risque de

progression structural à 2 ans (44). Dans cette étude aucune association n'était retrouvée pour le HLA-B27, le sexe, l'âge et la durée de la maladie notamment.

Enfin, une forte activité de la maladie, évaluée par l'ASDAS, est associée avec la progression radiologique dans les SA avec une progression attendue à 2 ans de 0,7 points de mSASSS pour chaque point d'ASDAS (**Figure 9**). Cet effet est surtout observé chez les hommes dans les phases précoces de la maladie (41).

Figure 9. Relation entre le score d'activité ASDAS et la survenue dans le temps de lésions radiologiques selon le score mSASSS dans la spondylarthrite ankylosante (cohorte OASIS) sur 12 ans de suivi

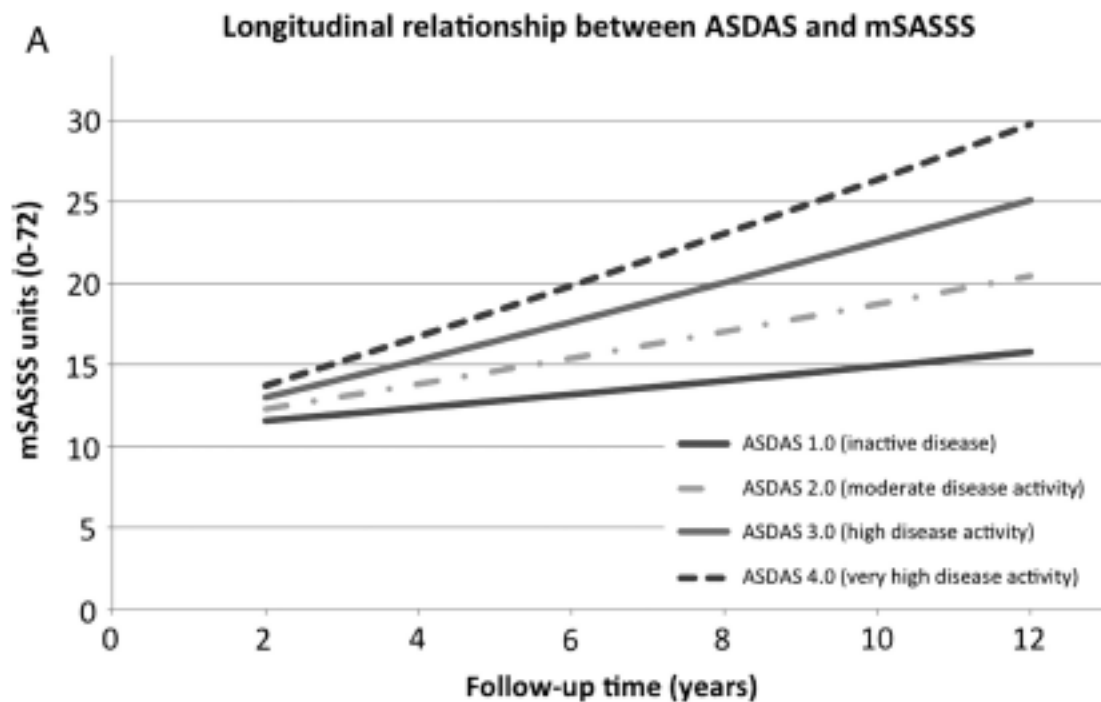


Figure issue de l'article Ramiro *et al.* 2014 ARD (41).

Comme dans la polyarthrite rhumatoïde (PR) la présence de lésion structurale semble donc être le facteur de risque prépondérant prédictif du risque de progression ultérieure.

III. Biomarqueurs et spondyloarthrites

a) Biomarqueurs : définition

Un biomarqueur est un paramètre mesuré qui sert à évaluer un processus physiologique ou pathologique, une maladie ou la réponse de l'organisme à une intervention pharmacologique (45). Si le paramètre utilisé est le résultat d'un dosage ou d'une mesure à partir d'un échantillon biologique, le terme de biomarqueur est utilisé. Les biomarqueurs peuvent servir au diagnostic, évaluer la sévérité d'une pathologie ou prédire et suivre la réponse thérapeutique (45). Les recherches dans ce domaine laissent espérer la confection de nouveaux outils pour le clinicien afin de l'aider dans la prise de décisions diagnostiques et thérapeutiques pour son patient.

b) Biomarqueurs dans les spondyloarthrites (article annexe 1)

Depuis l'avènement des critères ASAS pour le diagnostic plus précoce des SpA, de nombreuses études ont caractérisé de nouveaux biomarqueurs. L'essor des thérapeutiques ciblées, qui ont complètement bouleversé le traitement des patients souffrant de SpA, a engendré un coût important pour le système de soins de santé ainsi que des effets indésirables potentiellement graves. Ce constat rend particulièrement pertinent le développement d'une médecine personnalisée. Cette approche consiste à adapter les traitements en fonction des caractéristiques des patients et de leurs maladies. Au regard du spectre large de sévérité des SpA, de la difficulté de discriminer les patients pour lesquels la maladie sera rapidement évolutive, la caractérisation de biomarqueurs d'évolutivité est un enjeu important pour la prise en charge.

Plusieurs approches sont possibles pour identifier ces biomarqueurs. La plupart des études se sont focalisées sur les protéines impliquées dans les mécanismes de la

maladie. Notre connaissance de la génétique des SpA, de l'implication des facteurs environnementaux, notamment bactériens, et des mécanismes cellulaires et moléculaires de la maladie, a permis la caractérisation de certains biomarqueurs. D'autres études ont adopté une analyse plus systématique, sans à priori sur la pertinence éventuelle de tel ou tel biomarqueur, par une approche systématique génomique, transcriptomique ou protéomique. Ces études ont fait émerger de nouveaux biomarqueurs dont le lien avec la physiopathologie des SpA n'est pas toujours évident. La littérature (46) suggère que certains biomarqueurs (**Tableau 1**) permettraient de préciser l'évolutivité des SpA, c'est-à-dire, la progression radiologique et la réponse au traitement.

Biomarqueurs	Activité de la maladie	Évolution radiologique	Réponse thérapeutique
HLA-B27	Pas de corrélation	Pas de corrélation*	Meilleure réponse aux anti-TNF chez SpA HLA B27 positif
CRP	CRP augmentée associée à une spondyloarthrite active.	CRP augmentée prédictive d'une évolution radiographique péjorative du rachis et des sacro-iliaques et de l'inflammation des sacro-iliaques en IRM.	CRP élevée prédictive d'une bonne réponse au traitement par anti-TNF dans la SA
ASCA	Pas de corrélation	Présence d'ASCA associé à une SpA radiologique plus sévère selon le BASRI	
Cytokines			
IL-6	Taux augmenté d'IL-6 sérique associé à l'activité de la maladie *		Taux augmenté d'IL-6 sérique associé à la réponse aux anti-TNF
IL-23	Taux augmenté d'IL-23 sérique associés à l'activité de la maladie *		
IL-17	Taux augmenté d'IL-17 sérique associés à l'activité de la maladie *		
IL-33	Taux augmenté d'IL-33 sérique associé à l'activité de la maladie*		
Marqueurs du remodelage osseux et cartilagineux			
Peptides du collagène de type II		Taux augmenté associé à la progression radiologique	
Métalloprotéases	MMP3-8-9 sériques augmentées associées à l'activité de la maladie	MMP3 prédictive d'une évolution structurale défavorable	MMP3 associée à une meilleure réponse à l'etanercept
Fragments dégradés de vimentine citrullinés C2M et C3M		Taux élevé associé à la progression radiologique	
Sclérostine	Taux bas de sclérostine sous traitement est associé à une inflammation persistante	Concentration sérique élevée associée à la progression radiologique	Taux de sclérostine prédictif de la réponse aux anti-TNF
DKK1		Taux bas associé à la production de syndesmophytes*	
Adipokines			
Leptine		Niveau fonctionnel élevé de DKK1 corrélé à l'absence de syndesmophytes*	
Visfatine		Taux élevé de leptine associé à la formation de syndesmophytes dans la SA masculine	
		Taux de Visfatine élevé est associé à la progression structurale	

Tableau 1. Résumé de l'intérêt des différents biomarqueurs étudiés dans les spondyloarthrites. TNF : Tumor Necrosis Factor, SpA : Spondyloarthrite, SA : Spondylarthritis Ankylosante, mSASSS : modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score, ASCA : anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, BASRI : Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index, MMP : Matrix Metallo Proteinases, DKK1 : Dickkopf 1. *Certaines études sont discordantes sur le sujet. Tableau issu de l'article Romand *et al.* JBS 2017 (46).

Cependant certaines réserves doivent être émises devant le nombre croissant de biomarqueurs d'évolution des SpA. Tout d'abord, de nombreux résultats prometteurs n'ont pas été confirmés dans des cohortes indépendantes. D'autre part, de nombreuses études portent sur la corrélation entre l'expression d'un biomarqueur et les critères d'évaluation de la maladie dans une analyse univariée et sans ajustement sur les facteurs potentiels de confusion. Enfin, les coefficients de corrélation constatés suggèrent un lien statistiquement significatif, mais dont la pertinence clinique ne sera établie que grâce à de futures études.

IV. La calprotectine

a) Généralités

Le polynucléaire neutrophile (PNN) et le monocyte/macrophage sont les premières cellules à être recrutées sur le site de l'inflammation. Leur recrutement est actif, et est régulé par de nombreux facteurs tels que des molécules d'adhésions (sélectine, intégrine et leurs ligands) et des facteurs d'activation cellulaire (chémokines, cytokines, alarmines et leurs récepteurs). La protéine hétérodimérique S100A8/A9 aussi appelée calprotectine joue un rôle important pendant la réponse inflammatoire. La calprotectine est principalement exprimée dans les cellules d'origine myéloïde, à savoir les neutrophiles et les monocytes (respectivement, 40% et 5% du contenu cytosolique protéique), ainsi que dans les stades précoces de différenciation des macrophages (47). Les kératinocytes (48) et les cellules épithéliales (49) peuvent aussi l'exprimer dans un environnement inflammatoire.

b) Nomenclature et conformation

Les protéines S100 ont été identifiées dans les années soixante dans le cerveau bovin comme des protéines partiellement solubles dans du sulfate d'ammonium 100% saturé d'où leur nom : protéine S100 (50). Il existe à ce jour près d'une vingtaine de protéines S100 différentes (51).

Les protéines S100 A8 et A9 (également nommées dans la littérature : Myeloid Related Protein (MRP) 8 et 14, Calgranuline A et B) sont des protéines composées d'une main-EF qui présente une haute affinité pour le calcium (Ca^{2+}). La liaison de cations divalents entraîne un changement de conformation de la protéine responsable d'une modification de sa fonction. Les protéines S100 A8 et A9 forment ensemble un hétérodimère appelé calprotectine. Des formations de tétramères sont aussi décrites $(\text{S100 A8/A9})_2$ mais qui ne seraient pas biologiquement actives.

c) Fonctions de la calprotectine

La sécrétion extracellulaire de calprotectine par les cellules myéloïdes se fait par deux mécanismes :

- Une libération passive conséquence d'une mort cellulaire par nécrose ou par le phénomène de NETose.
- Une libération active dépendante du calcium.

La sécrétion active de calprotectine survient principalement lors du processus inflammatoire. Par conséquent, cette protéine joue le rôle de signal d'alerte (alarmine) pour l'hôte. Le TNF-alpha ou l'IL-1beta, cytokines pro-inflammatoires, sont connues pour induire la transcription de S100A8 et/ou S100A9 (52).

La calprotectine extracellulaire permet d'induire le recrutement rapide de neutrophiles à partir de la moelle osseuse (53). Cette protéine active aussi le TLR-4 du PNN provoquant une synthèse accrue de cytokines pro-inflammatoires ainsi que

l'expression de l'alpha 2 intégrine conduisant au ralentissement du roulement (« rolling ») des PNN le long des cellules endothéliales (54). Ainsi, le PNN peut adhérer à la cellule endothéliale ce qui lui permet son extravasation vers le site inflammatoire. Il a été montré que la calprotectine augmentait positivement l'expression en surface du CD11b sur les monocytes, favorisant ainsi une adhérence accrue au fibrinogène contribuant à l'accumulation de monocytes sur le site de l'inflammation (55). Les macrophages stimulés par la calprotectine entraîne une production accrue de métalloprotéinases matricielles (MMP) 3, 9 et 13 responsables de la destruction osseuse et cartilagineuse (56). La calprotectine extracellulaire présente aussi des effets pro-inflammatoires sur d'autres cellules, telle que les lymphocytes et les cellules endothéliales, en se liant aux récepteurs pour les produits finaux avancés de glycosylation (RAGE) et aux récepteurs TLR-4 (51). L'effet de la calprotectine sur les cellules endothéliales conduit à une réponse inflammatoire pro-thrombogène, une mort cellulaire endothéliale induite par l'activation des caspases et une augmentation de la perméabilité vasculaire permettant l'extravasation des cellules immunitaires (51). La calprotectine en fixant des ions métalliques divalents de Ca^{2+} , Zn^{2+} , Mn^{2+} et Cu^{2+} peut modifier les concentrations intracellulaires et extracellulaires de ces ions. Ces changements de concentration ionique influencent l'activité d'autres protéines. Une partie des propriétés antimicrobiennes proviendrait de sa capacité à chélater les ions Zn^{2+} et Mn^{2+} du milieu extracellulaire, entraînant une carence, en ces nutriments chez les bactéries, responsable de leur mort.

La calprotectine joue aussi un rôle en intracellulaire. Elle est impliquée dans le processus de phagocytose en entraînant des modifications de conformation de la tubuline du cytosquelette (57). Les protéines S100A8 et S100A9 intracellulaires sont également impliquées dans la défense contre les infections par des pathogènes

intracellulaires mais aussi en confèrent une résistance cellulaire accrue aux infections bactériennes telle qu'à *Porphyromonas gingivalis* (58). Enfin, la calprotectine potentialise l'activité de la NADPH oxydase entraînant la libération par cette voie des radicaux libres oxygénés participant à la défense anti-bactérienne mais aussi pouvant être responsable de la dégradation de la matrice extracellulaire (59).

d) La calprotectine trait d'union entre le système immunitaire inné et adaptatif

La calprotectine directement, par son rôle chimiotactique, ou via l'activation d'autres cellules, participe grandement au recrutement et à l'activation des cellules immunitaires innées et adaptatives sur le lieu de l'inflammation.

Wang *et al.* ont rapporté que la lignée de cellules monocytaires humaines THP-1 stimulée par la calprotectine, produit du C-X-C motif chemokine 10 ligand (CXCL10), qui est responsable du chimiotactisme des lymphocytes positifs CXCR3 sur le site de l'inflammation (60). Il a été mis en évidence dans un modèle de souris auto-immune (souris transgéniques Cd40lg) que les protéines S100 A8 et A9 sont essentielles pour l'induction de lymphocytes T CD8+ autoréactifs et le développement d'une auto-immunité systémique (61). Cet effet est médié par le TLR-4 qui induit la production d'IL-17 par ces lymphocytes, une des cytokines clef dans la pathogénèse des SpA. Cette étude montre le lien entre l'expression locale par le système immunitaire inné de molécules de danger et le développement d'un processus d'auto-immunité systémique.

e) Calprotectine et rhumatisme inflammatoire chronique (article annexe 2)

Dans la PR, la calprotectine a été identifiée comme un biomarqueur intéressant. Le niveau de concentration de cette protéine dans le liquide synovial permet de différencier la PR d'autres maladies rhumatologiques (62). Il y a de plus en plus d'évidence que la calprotectine joue un rôle dans plusieurs rhumatisme inflammatoires chroniques comme l'arthrite juvénile (63), la PR (64), la maladie de Behcet (65) et les vascularites à ANCA (66). Dans la PR, il existe, par exemple, une corrélation significative entre les marqueurs de l'inflammation et l'activité de la maladie (**Tableau 2**).

Certains auteurs rapportent même que la calprotectine sérique permettrait d'estimer l'inflammation infra-clinique articulaire comme le montrent les corrélations retrouvées entre calprotectine et la présence de synovite en mode B ou doppler puissance en échographie (67). Enfin, dans cette maladie la calprotectine permet de prédire la progression radiologique à 3 ans (68).

Devant ces constatations nous nous sommes donc intéressés à l'intérêt de la calprotectine dans les SpA.

Tableau 2. La calprotectine sérique est corrélée avec les scores d'activités dans la polyarthrite rhumatoïde.

Etudes	CRP	VS	DAS 28	NAG	Milieu d'analyse	Test ; Niveau de calprotectine moyen
Hammer HB <i>et al.</i> 2010 (69)	0,59	0,67	N/E	N/E	EDTA plasma	ELISA personnel [61] ; Médiane 2,2, EI (1,1–4,2) mg/l
Hammer HB <i>et al.</i> 2007 (64)	0,57	0,50	0,55	0,49	EDTA plasma	ELISA personnel [61]; Médiane 1,8 (0.3–8.7) mg/l
Andrés Cerezo L <i>et al.</i> 2011 (70)	0,44	N/E	0,50	0,44	Sérum	BÜHLMANN LABORATORIES AG, Suisse; Moyenne±ET 5.99±0,88 mg/L et 1,92± 1,16 mg/L respectivement avant et après le traitement.
Jonsson MK <i>et al.</i> 2017 (71)	0,66	0,50	N/E	N/E	EDTA plasma	CALPROLAB, Norvège; Médiane 1.05 EI (0,57-2,24) mg/L
Hurnakova J <i>et al.</i> 2017 (72)	0,56	0,380	0,35	N/E	Serum	BÜHLMANN LABORATORIES AG, Suisse; Médiane 2,9 (0,8-3,4) et 1,7 (0,4-3,4) µg/mL
Nordal H <i>et al.</i> 2017 (73)	N/E	N/E	0,49	0,47	EDTA plasma	CALPRO AS, Norvège Médiane 1.15 EI (0,70–1,945) mg/L

CRP : C-reactive protein, VS : Vitesse de Sédimentation, DAS 28 : Disease Activity Score de 28 articulations, NAG : Nombre d'Articulations Gonflées, ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, EDTA : ÉthylèneDiamineTétraAcétique, EI : Écart Interquartile = 25^{ème} et 75^{ème} percentile, ET : Ecart Type, N/E : non évalué.

V. Spondyloarthrite et calprotectine

a) La calprotectine joue un rôle dans l'inflammation locale des spondyloarthrites

De Rycke *et al.* (74) ont mis en évidence qu'il existait, dans le tissu synovial de patients présentant une SpA, des macrophages résidents CD-164, ainsi que des macrophages infiltrant, exprimant la calprotectine. Les concentrations de calprotectine dans le liquide synovial étaient chez ces patients environ dix fois plus élevées que dans le sérum, et aucune corrélation n'a été retrouvée avec le nombre de cellules exprimant la calprotectine au niveau de la membrane synoviale, contrairement à ce qui est observé dans la PR. Ces données indiquent que la calprotectine est sécrétée localement dans l'articulation à la suite du recrutement et à la migration des monocytes du sang périphérique vers la cavité articulaire. L'accumulation de calprotectine dans la synoviale des patients atteint de SpA se fait de façon prépondérante autour des vaisseaux, indiquant un rôle important de celle-ci dans la migration transendothéliale des leucocytes dans la synoviale (75). Cette expression de calprotectine était significativement diminuée après la réalisation d'un traitement par méthotrexate ou infliximab. D'autres études indiquent qu'il existe une surexpression cellulaire de TLR-4 (76), dont la calprotectine est l'un des ligands, mais aussi de TLR-2 dans le tissu synoviale dans la SpA comparativement à des sujets arthrosiques ou avec une PR (77).

L'analyse histologique d'articulations zygapophysaires de patients présentant une SA rapportait une bonne corrélation entre l'œdème visualisé en IRM et en histologie (78). Néanmoins, l'IRM était moins sensible pour détecter l'œdème osseux que l'analyse histologique avec environ 30% de la surface de l'œdème interstitiel non détecté par l'IRM. Il existait aussi une mauvaise corrélation entre le degré d'œdème interstitiel

visualisé en histologie ou en IRM et l'infiltrat cellulaire de cellules monocytaires, pouvant expliquer que des patients présentant une maladie active ont une IRM normale sans œdème osseux.

La sacro-iliite dans les SpA est caractérisée histologiquement par une infiltration prédominant de lymphocytes T et de macrophages (79). Gong *et al.* ont réalisé des biopsies des articulations sacro-iliaques de patients présentant une SpA afin d'évaluer l'utilité des biopsies pour le diagnostic des sacro-iliites débutantes. Les principales caractéristiques histologiques étaient la présence d'un infiltrat cellulaire comportant des cellules mononucléaires (histiocytes/macrophages, lymphocytes et plasmocytes) associé à un œdème sous chondral. Dans cette étude, la spécificité de l'IRM pour détecter une sacro-iliite histologique était très élevée (100%) avec une sensibilité très faible (seulement 37,7%). 70,4% des patients présentaient une sacro-iliite histologique avec une IRM négative indiquant qu'il peut exister de véritables lésions de sacro-iliites précoces avant même que l'IRM puisse les détecter (80).

L'IRM semble ne pas pouvoir détecter certaines lésions si la sévérité de l'activité de la maladie n'est pas assez prononcée. La calprotectine pourrait être un reflet de l'infiltration cellulaire local « infra-magnétique » apportant une aide au diagnostic et au suivi dans les SpA.

b) Calprotectine et intérêt dans l'aide au diagnostic des spondyloarthrites

L'inflammation systémique, évaluée par le niveau de CRP, fait partie des critères de classification ASAS pour les SpA axiale. Plus de 40% des SpA ont une CRP normale indiquant un niveau d'inflammation systémique bas par rapport à d'autres rhumatismes inflammatoires (81). La calprotectine sérique pourrait avoir un intérêt de reflet de l'inflammation locale et de l'activation du système immunitaire inné au niveau des

enthèses et des articulations touchées dans les SpA. Il y a plus de 20 ans, Hammer *et al.* avaient décrit que la calprotectine était un biomarqueur reflétant l'inflammation et la réponse au traitement dans l'arthrite réactionnelle (82). La calprotectine sérique est significativement augmentée dans les SpA axiales répondant aux critères ASAS ou de mNY par rapport à des sujets sains ou présentant des lombalgies chroniques inflammatoires aspécifiques (**Tableau 3**). Néanmoins, la calprotectine sérique ne semble pas être utile pour discriminer des SpA axiales de patients présentant des lombalgies chroniques inflammatoires ne répondant pas aux critères ASAS (sensibilité 10,0%, spécificité 90%, valeur prédictive positive (VPP) 38,7% pour un seuil défini à 412,40ng/mL) (83). Une autre étude transversale, définissait un seuil de calprotectine supérieur à 0,9 mg/L pour le diagnostic de rhumatisme inflammatoire chronique avec une sensibilité de 95,3%, spécificité de 82,2%, VPP de 5,35 et un likelihood ratio (LR) positif de 5,35 et négatif de 0,057 avec des patients inclus présentant un rhumatisme psoriasique, SpA et PR (84).

La calprotectine est aussi retrouvée à des niveaux élevés dans les fèces de 68% des patients avec une SpA (85). Dans une étude de 602 patients inclus consécutivement et ayant bénéficié d'un dosage de la calprotectine fécale avec une évaluation de l'existence d'un syndrome de l'intestin irritable par le questionnaire de ROME ; la calprotectine fécale avait une sensibilité de 89% et une spécificité de 79% pour la détection d'une maladie intestinale organique (86). Une étude transversale de 64 patients avec une SpA établie avait une calprotectine fécale augmentée (>100µg/g), ce qui était associé avec l'existence d'une maladie de Crohn (OR=4,5, IC95% (1,01-19,9); p = 0,042) (87).

Tableau 3. Comparaison du taux de calprotectine sérique dans la SpA par rapport à des sujets sains ou lombalgiques chroniques.

Études	Type de SpA	Calprotectine sérique SpA (ng/mL)	Calprotectine sérique sujet sain (ng/mL)	Calprotectine sérique lombalgie chronique (ng/mL)	p-value
Huang <i>et al.</i> Disease Markers 2017 (88)	SA mNY+ Nr-SpA ax ASAS+	SA mNY+ 15,30 ± 6,49 Nr-SpA ax ASAS+ 17,76 ± 8,59	7,40 ± 2,67		SA/nr-SpA ax vs sains : p<0,05 SA vs nr-SpA ax : p=0,093
Gupta <i>et al.</i> Clin Rheumatol 2016 (89)	SpA ax ASAS +	3410 (1794–26458)	494 (301-832)		P<0,001
Oktayoglu <i>et al.</i> J Investig Med 2014 (90)	SA mNY +	818,58±553,13	501,43± 354,12		P=0,003
Turina <i>et al.</i> Arthritis Research & Therapy 2014 (91)	SpA ESSG +	1760±130,0	650±100,0		P<0,001
Turina <i>et al.</i> RMD open 2017 (83)	SpA ax ASAS+ débutante	294 (214-367)		Lombalgies inflammatoires chroniques ASAS- : 251 (196-339)	P=0,01
Cypers <i>et al.</i> ARD 2016 (92)	SpA ax ASAS+ SpA périphérique ASAS +	3022 (741–10 106)	Non disponible		P<0,01
Klingberg <i>et al.</i> Scandinavian Journal of Gastroenterology 2012 (85)	SA mNY +	660±860	491±435		NS

SpA : spondyloarthrite, SA : spondylarthrite ankylosante, Nr-SpA ax : spondyloarthrite axiale non radiologique, SpA ax : spondyloarthrite axiale, mNY+ : critères de New York modifiés, ASAS : critères Assessment of Spondyloarthritis international Society, ESSG : European Spondylarthropathy Study Group, Les données continues sont présentées comme la moyenne ± l'écart type ou la médiane (gamme de valeurs)

c) Calprotectine et intérêt pour évaluer l'activité des spondyloarthrites

Le niveau de corrélation trouvé dans la littérature entre la calprotectine sérique et les scores d'activité dans la SpA est plus faible que dans la PR (**Tableau 4**). Les

traitements, comme les anti-TNF et les anti-IL17A qui ont fait leur preuve dans la gestion des SpA, induisent une diminution de la calprotectine sérique (91,93).

Tableau 4. La calprotectine sérique est corrélée faiblement avec les scores d'activités dans la spondyloarthrite axiale.

Études	Type de SpA	CRP	BASDAI	ASDAS-CRP	Imagerie
Huang <i>et al.</i> Disease Markers 2017 (88)	SA mNY+ Nr-SpAax ASAS +	0,431 ^{***}	0,481 ^{***}	0,378 ^{***}	SPARCC-SI 0,405 ^{***} mSASSS -0,033
Turina <i>et al.</i> ARD 2014 (94)	SA mNY + ou SpAax avec un syndesmophyte	0,382 ^{***}			
Cypers <i>et al.</i> ARD 2016 (92)	SpAax ASAS + ou SpA périphérique ASAS +	0,386 ^{***}	NS		
Gupta <i>et al.</i> Clin Rheumatol 2016 (89)	SpAax ASAS +	0,279 ^{**}	0,15 ^{NS}	0,23 ^{**}	
Oktayoglu <i>et al.</i> J Investig Med 2014 (90)	SA mNY +	-0,234 ^{NS}	-0,278 ^{NS}	0,243 ^{NS}	
Klingberg <i>et al.</i> Scandinavian Journal of Gastroenterology 2012 (85)	SA mNY +	0,337 ^{***}	NS	0,162 ^{NS}	
Turina <i>et al.</i> Arthritis Research & Therapy 2014 (91)	SpA ESSG +	0,646 [*]	0,325 [*]		

SpA : spondyloarthrite, SA : spondylarthrite ankylosante, Nr-SpAax : spondyloarthrite axiale non radiologique, SpAax: spondyloarthrite axiale, mNY+ : critères de New York modifiés, ASAS : Critères de l'Assessment of Spondyloarthritis international Society, ESSG : European Spondylarthropathy Study Group, SPARCC : SPondyloArthritis Research Consortium of Canada, mSASSS : modified Stokes Ankylosing Spondylitis Spine Score

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, NS : Non significatif

d) Calprotectine et prédiction de l'évolution structurale des spondyloarthrites

Une étude a mis en évidence que le niveau de calprotectine sérique à l'inclusion était significativement plus important chez les patients présentant une SA qui progressait radiologiquement à 2 ans (définie par une aggravation du score mSASSS de plus de 2 points). Le niveau de calprotectine sérique permettait de prédire la progression radiologique à 2 ans avec un seuil défini $> 0,5 \mu\text{g/mL}$ avec une sensibilité de 80%, une spécificité de 62%, un OR de 6.2 (IC95% (1,6-24,2)) (94).

La calprotectine dans le rhumatisme psoriasique était associée avec la présence de lésions radiographiques périphériques mais ne procurait aucune information supplémentaire par rapport aux marqueurs traditionnels de l'inflammation pour évaluer l'activité de la maladie (95).

VI. Cohorte DESIR

Il s'agit d'une cohorte prospective longitudinale française d'adultes provenant de 25 centres régionaux français se présentant pour des lombalgies inflammatoires chroniques récentes hautement suggestives de SpA (96).

Les critères d'inclusion étaient les suivants :

- Patients de plus de 18 ans et moins de 50 ans
- Présentant des rachialgies inflammatoires de niveau sacrée, lombaire ou thoracique
- Durée des symptômes de plus de 3 mois et moins de 3 ans

- Symptômes très suggestifs de SpA selon l'évaluation de l'enquêteur local (score ≥ 5 sur une échelle de notation numérique de 0 à 10 dans laquelle 0 = non suggestif et 10 = très suggestif de SpA).

Les critères d'exclusion étaient les suivants :

- Autres pathologies du rachis clairement définies (discarthrose...)
- Antécédent d'utilisation de biothérapie
- La prise de corticostéroïdes supérieure à 10 mg d'équivalent prednisone par jour ou une dose non-stable depuis moins de 4 semaines précédant l'inclusion
- Antécédents ou maladies actuelles qui pourraient interférer avec la validité du consentement éclairé et/ou empêcher un suivi optimal du patient dans la cohorte.

Un suivi régulier planifié clinique, biologique et radiologique (radiographie, IRM, échographie) a été réalisé. Les radiographies et IRM étaient cotées, en aveugle des autres données, par deux lecteurs entraînés. Le sérum était prélevé le jour de l'inclusion de 2009 à 2010 puis était immédiatement congelé et stocké à -80°C dans le centre de ressource biologique de l'Hôpital Bichat à Paris.

PARTIE 2 : ARTICLE ORIGINAL

Serum calprotectin level is correlated with disease activity in early axial spondyloarthritis but does not predict radiographic progression at 2 years: results from the DESIR cohort.

Authors: X. Romand^{1,2}, MH. Paclet^{2,3}, A. Courtier⁴, MVC. Nguyen^{2,4}, D. Wendling⁵, F. Berenbaum, P⁶. Gaudin^{1,2}, A. Baillet^{1,2}

Affiliate:

1. Department of Rheumatology, Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes Hôpital Sud, Echirolles, France
2. Grenoble Alpes University, Research and study Group of inflammatory Process (GREPI), EA 7408, Saint-Martin-d'Hères, France
3. University Hospital Grenoble Alpes, Michalon Hospital, Division of Biology, La Tronche, France
4. Sinnovial, Grenoble, France
5. Department of Rheumatology, University Teaching Hospital, CHRU, Besançon, France
6. Department of Rheumatology, Sorbonne University, INSERM, DHU i2B, AP-HP Saint-Antoine Hospital, Paris, France

Conflicts of interest: none

Abstract

Objectives: To determine whether serum calprotectin levels at baseline can predict the radiographic progression in spine after 2 years in the early axial spondyloarthritis (axSpA) cohort DEvenir des Spondyloarthrites Indifférenciées Récentes (DESIR).

Methods: Patients presenting with early inflammatory back pain from DESIR cohort were analyzed. axSpA patients were defined as patients who fulfilled the axial Assessment in SpondyloArthritis Society (ASAS) criteria at baseline. Calprotectin was assessed in the serum at the inclusion by enzyme-linked immunosorbent assay. Radiographic spinal progression was defined as worsening by ≥ 2 units of the modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score (mSASSS) 2 years after the inclusion. Magnetic resonance imaging (MRI) spine and sacroiliac joint (SIJ) inflammation was graded using BERLIN and Spondyloarthritis Research Consortium of Canada (SPARCC) score.

Results: Overall, 426 had an early axSpA with a calprotectin level assessment. 211 patients had mSASSS scoring at baseline and M24 and 399 an MRI scoring at baseline. Calprotectin level was significantly higher in patients who fulfilled axSpA ASAS sacroiliitis arm than those who did not fulfill or who fulfilled ASAS HLA B27 arm without signs of sacroiliitis. Calprotectin at baseline did not predict radiographic progression at M24 ($p=0.81$). Calprotectin correlated at baseline with SIJ, spine MRI inflammation (Berlin score ($r=0.15$, $p=0.003$), sacroiliac ($r=0.12$, $p=0.012$) and spine ($r=0.16$, $p=0.002$) SPARCC score) and disease activity index (BASDAI ($r=0.16$, $p=0.001$), ASDAS-CRP ($r=0.26$, $p<0.001$)).

Conclusions: Calprotectin is weakly correlated with disease activity but does not seem to be a helpful biomarker for predicting clinically relevant radiographic progression at 2 years follow-up in early axSpA.

Introduction

Axial Spondyloarthritis (axSpA) is a chronic inflammatory disease characterized by inflammatory lesions affecting the spine and sacroiliac joints, which can lead to new bone formation, ankylosis and erosions defining radiographic axSpA. The course of progression of radiographic damage in individual patients with ankylosing spondylitis (AS) is highly variable and unpredictable (1). The radiological damage and inflammation of the spine can lead to spinal mobility impairment and disability (2). TNF inhibitors improve functional status of patients with axSpA and some studies begin to show a radiological effect in the long-term (3).

Calprotectin, also named S100A8/A9 protein, is an inflammatory protein predominantly expressed by myelomonocytic cells, namely monocytes and neutrophils but also in early differentiation stages of macrophage. Calprotectin skews T cell polarization towards a Th17 polarization which is noteworthy involved in the pathogenesis of SpA (4). In SpA arthritis, calprotectin is locally secreted in the joints following recruitment and migration of monocytes from the peripheral blood to the joint cavity (5). Calprotectin is produced by innate immune cells locally at the site of inflammation in order to trigger the innate immunity receptors. This unique characteristic makes it a good proxy for the evaluation of local inflammation. Serum calprotectin is increased in SpA patients and is downregulated upon TNF- α inhibitors treatment (6). Serum calprotectin biomarker could be interesting to assess the local mononuclear infiltration in sacroiliac joints and spine in SpA which could lead to radiographic damage. A previous study described that serum calprotectin could predict the radiographic spinal progression in radiographic axSpA fulfilling modified New York criteria (mNY) at 2 years of follow-up (7).

In our study we aimed at assessing the predictive value of serum calprotectin in spinal radiographic progression at 2 years of follow up, in early axSpA patients fulfilling the Assessment in SpondyloArthritis Society (ASAS) criteria in the cohort DEvenir des Spondyloarthrites Indifférenciées Récentes (DESIR) and to evaluate the association with disease activity.

Patients and Methods:

Patients and study parameters

426 patients, with serum calprotectin determination, and an early axSpA according to the ASAS criteria from the DESIR cohort were included in this analysis. The DESIR cohort is a multicenter longitudinal prospective cohort study including adults aged over 18 and less than 50 years with early inflammatory back pain suggestive of axial SpA with symptoms duration more than 3 months and less than 3 years. Patients were not included if they had history of any biotherapy or corticosteroids intake upper than 10 mg prednisone per day and/or instable for at least 4 weeks. axSpA patients were defined as patients who fulfilled the Assessment in SpondyloArthritis Society (ASAS) criteria for axSpA at baseline. AS patient were defined as patients who fulfilled modified New York (mNY) criteria.

As previously described, activity of the disease was assessed with Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index (BASDAI) and Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score with CRP (ASDAS-CRP), disease disability with Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI) and Ankylosing Spondylitis Quality of Life questionnaire (ASQoL).

Serum calprotectin assessment

In the DESIR cohort, serum was prospectively collected from 2009 to 2010 at inclusion and stored in aliquots at -80°C in the Biological Resources Center at Bichat Hospital. Calprotectin serum concentrations were assessed according to the manufacturer method (Hycult, Frontstraat, Netherlands, standard range from 1.6 to 25 ng/ml).

Imaging

Radiographs and MRI were evaluated by 2 trained central readers blinded to any other data. A radiographic spinal progression was defined as worsening by ≥ 2 units of the mSASSS 2 years after the inclusion (8). MRI spine and sacroiliac joint (SIJ) inflammation at baseline and at 2 years were evaluated with Berlin and SPARCC score (9-10)

Statistical analysis

Data were analysed using R software version 3.5.1. Data between groups were compared using Wilcoxon test. A potential relationship between calprotectin level and Berlin or SPARCC score was tested by Spearman's correlation tests. A p-value < 0.05 was considered statistically significant.

Results

Baseline characteristics

426 patients had a serum calprotectin determination and an early axSpA according to the ASAS criteria: 241 patients fulfilling the imaging arm, 185 patients fulfilling only HLA B27 arm of ASAS criteria and 126 axSpA ASAS patients fulfilling mNY criteria. Among them, 211 patients had an mSASSS scoring at baseline and 24 months (M24).

15 patients had an mSASSS worsening with a variation of $mSASSS \geq 2$ points between baseline and M24. A total of 406 patients had SPARCC SIJ scoring and 399 patients had BERLIN and SPARCC spine scoring at baseline. The baseline characteristics of axSpA and AS are described in **table 1**.

Serum calprotectin in early axSpA and AS patients

Serum calprotectin level was not significantly different between patients with early inflammatory back pain fulfilling versus those not fulfilling the ASAS axSpA criteria (mean \pm SD, 277.6 \pm 175.6 vs. 255.5 \pm 155.1 ng/mL, $p=0.16$). Baseline serum calprotectin level was significantly higher in early axSpA fulfilling imaging arm than those fulfilling only HLA B27 arm (mean \pm SD, 300.1 \pm 177.7 vs 248.5 \pm 169.0 ng/mL, $p<0.001$) (**Figure 1A**). No difference was observed between AS mNY+ patients compared to early axSpA ASAS+ which did not fulfill mNY criteria (respectively, 295.8 \pm 173.0 vs 272.1 \pm 182.7 ng/mL, $p=0.16$) (**Figure 1B**).

Serum calprotectin and spinal radiographic progression

Baseline serum calprotectin level was not significantly different between early axSpA ASAS+ with mSASSS worsening or without mSASSS worsening (respectively 265.1 \pm 138.3 vs 291.7 \pm 188.6 ng/mL, $p=0.81$) in axSpA patients fulfilling axASAS criteria (**Figure 1C**) or in AS mNY+ patient (mean \pm SD, 215.1 \pm 108.9 vs 315.2 \pm 180.9 ng/mL, $p=0.16$) (**Figure 1D**). Serum calprotectin level was not correlated in early axSpA ASAS with mSASSS score (mSASSS baseline $r=0.05$, $p=0.34$; mSASSS M24 $r=0.02$, $p=0.80$) or number of syndesmophytes (syndesmophytes baseline, $r=0.05$, $p=0.38$; syndesmophytes M24 $r=-0.01$, $p=0.92$). Serum calprotectin level was not correlated in early axSpA patients fulfilling imaging arm with mSASSS score (mSASSS

baseline $r=0.06$, $p=0.41$; mSASSS M24 $r=0.05$, $p=0.55$) or number of syndesmophytes (syndesmophytes baseline, $r=0.05$, $p=0.39$; syndesmophytes M24, $r=0.05$, $p=0.58$).

MRI inflammation, activity score, disability score and serum calprotectin in axSpA ASAS+ patients

Serum calprotectin level at baseline was weakly correlated with spine and SIJ MRI inflammation assessed with BERLIN score ($r=0.15$, $p=0.003$), SIJ SPARCC ($r=0.12$, $p=0.01$) and Spine SPARCC ($r=0.16$, $p=0.002$) at baseline but not with MRI score at M12 or M24 (**Table 2**). Serum calprotectin level at baseline was weakly but significantly correlated with baseline disease activity score (ASDAS-CRP ($r=0.26$, $p<0.001$), ASDAS ESR ($r=0.23$, $p<0.001$), BASDAI ($r=0.16$, $p<0.001$)), CRP ($r=0.32$, $p<0.001$) and baseline disease disability score (BASFI ($r=0.14$, $p=0.03$), ASQoL ($r=0.14$, $p=0.003$)) (**Table 2**).

Discussion

The present study shows that serum calprotectin at baseline was not associated with spinal radiographic progression at 2 years in early axSpA DESIR cohort. Calprotectin level at baseline failed to identify inflammatory back pain patient fulfilling axSpA ASAS criteria. A weak correlation between serum calprotectin and disease activity score or spine and SIJ MRI inflammation was observed.

The radiographic progression is remarkably stable for the AS patients group with a 1 mSASSS point per year. Nevertheless, the individual course of damage is highly variable for individual patients with a non-linear progression and 3 different courses of evolution: approximately 25% of patients with no progression, 25% with high levels of progression (≥ 5 mSASSS units/2years) and 50% with a progression rate of 2mSASSS

units/2years (11). It is commonly established that a variation of mSASSS ≥ 2 point in 2 years has an acceptable sensibility to change but a mean change of one syndesmophyte or less is probably not clinically relevant. According to a recent study the radiographic spinal progression of one mSASSS point is associated with a worsening of the BASFI score by 0.09 points, which is not clinically relevant, and an increase of 20 or 12 mSASSS points would be responsible for an increase of one BASFI or one BASMI point, respectively (12). Only 7.4% of early non radiographic spondyloarthritis had a radiologic progression based on a mSASSS variation of 2 units in 2 years (13). A follow-up of 2 years is probably not enough to identify a radiographic progressor and notably in nonradiographic early axial spondyloarthritis. Turina *et al.* (7) found that calprotectin was a predictive biomarker for radiographic spinal progression defined by mSASSS worsening ≥ 2 units at 2 years even after adjustment with CRP and other risk factors (syndesmophytes at baseline and smoking). Baseline characteristics of the population included in this study differs from our study with inclusion of only radiographic axSpA (AS) patients fulfilling mNY criteria with higher symptoms duration, therefore with higher risk of radiological progression. However, in this study, calprotectin serum did not predict, in early AS patient fulfilling mNY criteria, the radiological spinal progression.

Serum calprotectin could not differentiate patient with early inflammatory back pain fulfilling axSpA ASAS criteria from those who did not in early axSpA DESIR cohort. These results are consistent with another cohort study with early axSpA patients (SpondyloArthritis Caught Early). In this study, even if the authors observed a serum calprotectin level significantly higher in patient fulfilling axSpA ASAS criteria, they did not show that calprotectin was an interesting diagnosis biomarker (14).

Serum calprotectin weakly correlated with activity parameters in axSpA and notably with inflammatory MRI bone edema in SIJ and spine in our study. MRI detects only a substantial amount of bone edema and does not reflect precisely the mononuclear cells infiltration on the inflammatory site in SpA (15-16) which may explain the limited correlation with serum calprotectin. *Huang et al.* found a moderate correlation between serum calprotectin level and MRI sacroiliac inflammation assessed with SPARCC SIJ score (17). The correlation between disease activity score and calprotectin in spondyloarthritis is nevertheless discordant in the literature (article annex 2) contrary to rheumatoid arthritis. A possible explanation of the weak correlation with disease activity in SpA is that calprotectin is secreted by other organs than inflammatory sites affected by spondyloarthritis, and in particular the gut. The gut produces calprotectin, which depends on subclinical gut inflammation presents in 60% of SpA patients (18) and inflammatory bowel disease comorbidity. Disease activity score with ASDAS-CRP and BASDAI, included subjective parameters, which do not correlate with inflammatory process assessed by MRI (19) explaining probably the weak correlation between calprotectin and disease activity score. Finally, in axSpA, the inflammatory process involving the innate immune cell activation leading to local calprotectin secretion is probably restricted to limited sites (entheses, SIJ), compared to other pathologies like rheumatoid arthritis or ANCA associated vasculitis, explaining that at least 40% of active spondyloarthritis have non-systemic inflammation assessed with the CRP level (20).

One of the main strengths of our study was the use of a large cohort of early axSpA, In our study, the radiological evolution and MRI inflammation scoring were evaluated prospectively by two reviewers which were double blinded and blinded with respect to clinical information.

Some limits of our study should be emphasized. Our study has, possibly, a lack of power to identify the interest of calprotectin to predict the radiological progression on the fact that we did not have many radiological progressors at 2 years in this cohort because included patients had an early spondyloarthritis which is consistent with clinical practice. We did not have the sub clinical inflammatory gut or the IBD activity statute of patients to know if the calprotectin serum is the reflect of gut inflammation rather than enthesitic or arthritic inflammation.

In conclusion, serum calprotectin in early axSpA does not seem to be a helpful biomarker predicting spinal radiographic progression at 2 years but correlates weakly with MRI inflammatory parameters. This data suggest that calprotectin reflects a part of local inflammatory process in SpA.

REFERENCES

1. Ramiro S, Stolwijk C, van Tubergen A, *et al.* Evolution of radiographic damage in ankylosing spondylitis: a 12 year prospective follow-up of the OASIS study. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2015;74:52–9.
2. Machado P, Landewé R, Braun J, *et al.* Both structural damage and inflammation of the spine contribute to impairment of spinal mobility in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis* 2010;69:1465–70.
3. Baraliakos X, Haibel H, Listing J, *et al.* Continuous long-term anti-TNF therapy does not lead to an increase in the rate of new bone formation over 8 years in patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2014;73:710–5.
4. Loser K, Vogl T, Voskort M, *et al.* The Toll-like receptor 4 ligands Mrp8 and Mrp14 are crucial in the development of autoreactive CD8+ T cells. *Nature Medicine* 2010;16:713–7.
5. De Rycke L, Baeten D, Foell D, *et al.* Differential expression and response to anti-TNF α treatment of infiltrating versus resident tissue macrophage subsets in autoimmune arthritis. *The Journal of Pathology* 2005;206:17–27.
6. Turina MC, Yeremenko N, Paramarta JE, *et al.* Calprotectin (S100A8/9) as serum biomarker for clinical response in proof-of-concept trials in axial and peripheral spondyloarthritis. *Arthritis research & therapy* 2014;16:413.
7. Turina MC, Sieper J, Yeremenko N, *et al.* Calprotectin serum level is an independent marker for radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2014;73:1746–8.
8. van der Heijde D, Landewé R. Selection of a method for scoring radiographs for ankylosing spondylitis clinical trials, by the Assessment in Ankylosing Spondylitis Working Group and OMERACT. *J Rheumatol* 2005;32:2048–9.
9. Braun J, Baraliakos X, Golder W, *et al.* Magnetic resonance imaging examinations of the spine in patients with ankylosing spondylitis, before and after successful therapy with infliximab: Evaluation of a new scoring system. *Arthritis & Rheumatism* 2003;48:1126–36.
10. Maksymowych WP, Inman RD, Salonen D, *et al.* Spondyloarthritis Research Consortium of Canada magnetic resonance imaging index for assessment of spinal inflammation in ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2005;53:502–9.
11. Ramiro S, Stolwijk C, van Tubergen A, *et al.* Evolution of radiographic damage in ankylosing spondylitis: a 12 year prospective follow-up of the OASIS study. *Annals of the Rheumatic Diseases* 2015;74:52–9.
12. Poddubnyy D, Listing J, Haibel H, *et al.* Functional relevance of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis: results from the GERman SPondyloarthritis Inception Cohort. *Rheumatology (Oxford)* 2018;57:703–11.
13. Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, *et al.* Baseline radiographic damage, elevated acute-phase reactant levels, and cigarette smoking status predict spinal radiographic progression in early axial spondylarthritis. *Arthritis & Rheumatism* 2012;64:1388–98.
14. Turina MC, Yeremenko N, van Gaalen F, *et al.* Serum inflammatory biomarkers fail to identify early axial spondyloarthritis: results from the SpondyloArthritis Caught Early (SPACE) cohort. *RMD open* 2017;3:e000319.
15. Appel H, Loddenkemper C, Grozdanovic Z, *et al.* Correlation of histopathological findings and magnetic resonance imaging in the spine of patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis research & therapy* 2006;8:R143.

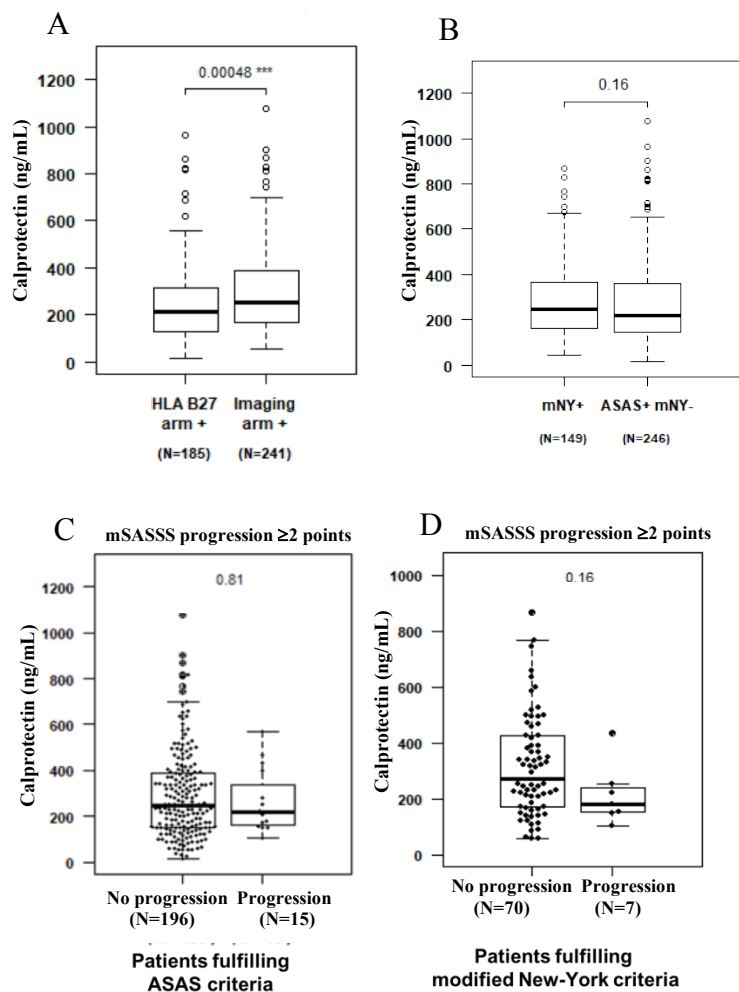
16. Bollow M, Fischer T, Reißhauer H, *et al.* Quantitative analyses of sacroiliac biopsies in spondyloarthropathies: T cells and macrophages predominate in early and active sacroiliitis—cellularity correlates with the degree of enhancement detected by magnetic resonance imaging. *Annals of the rheumatic diseases* 2000;59:135–140.
17. Huang J, Yin Z, Song G, *et al.* Discriminating Value of Calprotectin in Disease Activity and Progression of Nonradiographic Axial Spondyloarthritis and Ankylosing Spondylitis. *Disease Markers* 2017;2017:1–5.
18. Lee YH, Ji JD, Kim JS, *et al.* Ileocolonoscopy and histologic studies of Korean patients with ankylosing spondylitis. *Scand J Rheumatol* 1997;26:473–6.
19. MacKay JW, Aboelmagd S, Gaffney JK. Correlation between clinical and MRI disease activity scores in axial spondyloarthritis. *Clinical Rheumatology* 2015;34:1633–8. doi:10.1007/s10067-015-2936-8
20. Benhamou M, Gossec L, Dougados M. Clinical relevance of C-reactive protein in ankylosing spondylitis and evaluation of the NSAIDs/coxibs' treatment effect on C-reactive protein. *Rheumatology (Oxford)* 2010;49:536–41.

Table 1. Baseline demographics and disease characteristics of Assessment of Spondyloarthritis International Society (ASAS+) and modified New York criteria (mNY+) patients from the DESIR cohort.

	ASAS+ patients (n=434)	mNY+ patients (n=151)
Gender (male, %)	51.8	63.5
Age (year, mean±SD)	31.5±0.98	30.7±1.0
Disease duration (months, mean±SD)	10.4±22.9	13.3±24.4
HLA-B27 (%)	86.1	74.6
CRP level baseline (mg/dL, mean±SD)	9.4±15.4	16.7±20.5
BASDAI (mean±SD)	42.7±20.3	40.1±19.1
ASDAS-CRP (mean±SD)	2.6±0.98	2.7±1.03
BASFI (mean±SD)	28.9±22.2	29.9±23.1
mSASSS (mean±SD)	1.4±3.8	1.5±3.7
Serum calprotectin baseline level (mean±SD, ng/mL)	277.6±175.63	288.4±170.08

HLA B27: human leukocyte antigen B27, CRP: C-reactive protein, BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, BASFI: Bath Ankylosing Spondylitis Spine Score, mSASSS: modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score

Figure 1. Baseline calprotectin levels in axial spondyloarthritis, ankylosing spondylitis and radiographic progression



Serum calprotectin levels in axSpA ASAS + patients fulfilling imaging arm vs only HLAB27 arm (A); serum calprotectin levels in spondylitis ankylosing (SA) mNY+ patients and axSpA ASAS+ patients without fulfilling mNY criteria (B); baseline serum calprotectin levels in axSpA ASAS+ patient (C) or in AS mNY+ patient (D) with or without radiographic spinal progression defined by an mSASSS worsening ≥ 2 points over 2 years.

ASAS: Assessment of Spondyloarthritis international Society criteria, mNY: modified New York criteria, axSpA: axial spondyloarthritis, mSASSS: modified stoke ankylosing spondylitis spinal score ASAS, HLA B27: human leukocyte antigen B27.

Each box indicates the median value, the 1st and the 3rd quartiles, whiskers represent minimal and maximal values, circles represent outliers.

p values refer to Mann-Whitney U test result, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$.

Table 2. Correlation between serum calprotectin level at baseline and MRI inflammation, activity and disability score.

	Parameters	n	Spearman's rank correlation	p-value
MRI inflammation	Spine BERLIN M0	399	0.15	0.003
	Spine BERLIN M12	131	0.02	0.85
	Spine BERLIN M24	123	0.06	0.51
	Spine SPARCC M0	399	0.16	0.002
	Spine SPARCC M12	131	0.02	0.82
	Spine SPARCC M24	123	0.07	0.47
	SIJ SPARCC M0	406	0.12	0.012
	SIJ SPARCC M12	133	-0.03	0.73
	SIJ SPARCC M24	122	-0.10	0.27
Inflammatory serum parameters	CRP	412	0.32	<0.001
Activity score	BASDAI M0	425	0.16	0.001
	ASDAS-CRP M0	407	0.26	<0.001
	ASDAS-ESR M0	407	0.23	<0.001
Disability score	ASQoL M0	416	0.16	0.001
	ASQoL M24	331	-0.03	0.57
	BASFI M0	423	0.14	0.003
	BASFI M24	353	-0.01	0.88

MRI: Magnetic Resonance Imaging, SPARCC: Spondyloarthritis Research Consortium of Canada, SIJ: Sacroiliac joint, CRP: C-reactive protein, BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, ASDAS: Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score, ESR: erythrocyte sedimentation rate, ASQoL: Ankylosing Spondylitis Quality of Life, BASFI: Bath Ankylosing Spondylitis Spine Score.

p-value refer to Spearman's correlation tests, bold identify a correlation considered statistically significant ($p < 0.05$).

PARTIE 3 : DISCUSSION

Cette étude montre que le niveau de calprotectine sérique à l'inclusion n'est pas associé avec le risque de progression structural à 2 ans dans les SpA axiales débutantes de la cohorte DESIR. Ce biomarqueur ne permet pas non plus de différencier les patients présentant des dorso-lombalgies inflammatoires chroniques récentes répondant aux critères ASAS de ceux ne répondant pas à ces critères. Néanmoins, une faible corrélation existe avec les scores d'activité et, notamment, avec l'inflammation visualisée en IRM au niveau des articulations sacro-iliaques et du rachis.

Notre étude présente plusieurs points forts. Il s'agit à notre connaissance de la première étude d'évaluation de l'intérêt de la calprotectine dans la prédiction de la progression structurale dans les SpA axiales récentes répondant aux critères ASAS. Notre étude s'est basée sur une des plus grandes cohortes mondiales de rhumatismes axiaux récents avec suivi prospectif et recueil de nombreuses données cliniques, radiographiques et biologiques. Par conséquent, un nombre conséquent de patients a été inclus avec un diagnostic de SpA reposant sur les critères actuels de classification, confirmés par des rhumatologues experts. Les lésions radiologiques ont été évaluées de manière prospective par deux examinateurs et en aveugle par rapport à l'information clinique et biologique. Le dosage de la calprotectine sérique était centralisé, réalisé par le même technicien limitant ainsi les biais de mesures.

Néanmoins, il existait un nombre élevé de données manquantes concernant la progression structurale selon le mSASSS. Ce manque de données, combiné au fait que la survenue de la progression radiologique dans les SpA récentes à 2 ans est peu

fréquente, a pu entraîner un manque de puissance statistique pour détecter une différence significative.

Turina *et al.* ont rapporté que la calprotectine était un biomarqueur prédictif de la progression radiologique, définie par une variation du mSASSS ≥ 2 points sur 2 ans, même après ajustement sur la CRP et certains autres facteurs de risques (présence de syndesmophytes à l'inclusion et tabagisme) (94). Les caractéristiques des patients inclus dans cette étude différaient de notre population puisqu'il s'agissait uniquement de patients présentant une SpA axiale radiologique répondant aux critères de mNY. La durée de la maladie des patients inclus était aussi plus élevée. Toutefois, nous n'avons pas retrouvé, dans la cohorte DESIR, que la calprotectine sérique était plus élevée chez les progresseurs présentant une SA récente selon les critères de mNY. Les études s'accordent à dire qu'une variation du mSASSS de plus de 2 points en 2 ans marque une progression radiologique (21, 23). Il peut se poser la question de la pertinence clinique d'une progression de l'ordre de l'apparition d'un syndesmophyte en 2 ans. En effet, une étude récente rapporte qu'une progression d'un point de mSASSS correspondrait à une aggravation du Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI) de 0,09 points (97). Une augmentation, respectivement, de 20 et 12 points de mSASSS est responsable d'une augmentation de 1 point de BASFI ou du Bath Ankylosing Spondylitis Metrology Index. La variation de 2 points de mSASSS a été définie comme le plus petit changement détectable à 2 ans dans les SpA axiales radiologiques. Ce seuil a donc été déterminé uniquement de façon statistique pour détecter la survenue d'une différence de progression dans les essais thérapeutiques pour les SA. Seulement 7,4% des SpA non radiologiques récentes dans la cohorte GESPIC ont une progression radiologique de 2 points en 2 ans (44). Un suivi de 2 ans est donc probablement trop limité pour mettre en évidence une progression

radiologique chez des patients présentant une SpA débutante d'autant plus que la progression radiologique est hautement variable à l'échelle individuelle (28).

Une étude récente confirme que la calprotectine ne permet pas de différencier des patients présentant des lombalgies chroniques récentes inflammatoires répondant aux critères ASAS de celles ne répondant pas à ces critères (83). Cependant, dans cette étude, le niveau de calprotectine était significativement plus élevé chez les patients ASAS+ à l'inclusion, ce qui n'a pas été retrouvé dans notre étude.

Le niveau de calprotectine sérique, chez les patients présentant une SpA axiale répondant aux critères ASAS (moyenne±ET, 277,6±175,63 ng/mL) ou aux critères mNY de SA (moyenne±ET, 288,4±170,08 ng/mL) dans la cohorte DESIR, est différent des niveaux observés dans d'autres études utilisant des kits de dosage ELISA de fournisseurs différents (**annexe tableau 1**). Une des explications possibles est l'existence d'un niveau d'inflammation digestive qui différerait entre les études ce qui serait responsable des variations des taux de calprotectine observés. Néanmoins, le type de kit ELISA peut aussi expliquer ces résultats disparates laissant évoquer une précision incertaine du dosage du complexe S100 A8/A9. Le taux de calprotectine entre les études varie d'un facteur de 0,06 à 12,3 fois pour la SpA axiale ASAS+, et de 0,05 à 8,4 fois pour les SA (**annexe tableau 2**) par rapport aux résultats des dosages observés dans notre étude. Cependant, les valeurs du taux de calprotectine, dans des études différentes utilisant le même kit, retrouvent des niveaux mesurés assez semblables.

Nous avons fait le choix d'utiliser le kit Hycult pour notre étude avec une version de ce kit (HK 325) qui n'est plus commercialisé ce jour. Un nouveau kit est actuellement proposé par le même firme (HK 379). Nous avons regardé la concordance entre ces deux kits pour le dosage de la calprotectine sérique dans des échantillons de la cohorte

DESIR choisis aléatoirement. Il s'avère que le nouveau kit donne pour le même échantillon et avec le même opérateur un niveau de calprotectine mesuré environ 10 fois plus élevé avec un coefficient de corrélation entre les deux tests de seulement 0,78 (**annexe figure 1**).

Il n'existe pas à ce jour de standardisation du dosage de la calprotectine qui peut se faire aussi bien sur le sérum que le plasma avec des techniques de dosage par ELISA, immunochromatographie et immunoturbidimétrie (98).

Certains kits ELISA ont été validés uniquement pour la recherche clinique (RUO : Research Use Only) et d'autres pour le diagnostic in vitro (IVD : In Vitro Diagnostic). Pour un test ELISA RUO, la validation avec des échantillons contenant une protéine recombinante enrichie suffit généralement. Pour les tests ELISA IVD, la validation avec des échantillons cliniques réels est généralement obligatoire. Ces différences dans les critères qualité appliqués à la confection de ces tests pourraient expliquer les différences de précision des différents kits retrouvés dans la littérature. Doser la calprotectine par technique ELISA n'est pas facile car l'anticorps primaire doit reconnaître spécifiquement un hétérodimère composé d'une unité S100 A8 et une S100 A9 assemblées ensemble. Par contre, il ne doit pas reconnaître les protéines S100 A8 et A9 non combinées entre elles ou des tétramères (S100 A8A9)₂.

Les protéines S100 ont une conformation dépendante de la fixation et donc des concentrations d'ions divalent comme le calcium, zinc et magnésium. Des variations de concentrations, en utilisant de l'EDTA par exemple qui est un chélateur du calcium, pourrait entraîner des modifications de conformations pouvant perturber le dosage quantitatif par ELISA. Toutefois, une étude récente va contre cette idée, promouvant la réalisation du dosage de la calprotectine sur le plasma-EDTA plutôt que dans le sérum pour évaluer l'activité dans la PR. En effet, le dosage plasmatique donne des

concentrations plus faibles, statistiquement différent de celui réalisé dans le sérum. Le niveau de calprotectine plasmatique montrait par contre des corrélations plus intéressantes avec les scores d'activité clinico-biologique et échographique dans la PR (99).

Huang *et al.* avaient, aussi, mis en évidence une corrélation modérée positive ($r=0,45$, $p<0,001$) entre la calprotectine sérique et le niveau d'inflammation IRM au niveau des sacro-iliaques (88). L'IRM détecte uniquement un niveau d'œdème intra-osseux important comparativement aux données de biopsie osseuse et ne reflète pas précisément le niveau d'infiltration par des cellules mononucléaires au niveau des sites atteint par le processus inflammatoire dans la SpA (78-79). Cette observation peut donc expliquer le niveau de corrélation faible entre la calprotectine sérique, qui devrait être un reflet de l'infiltrat monocyttaire local, et l'inflammation visualisée en IRM. Les corrélations avec les scores d'activités dans la SpA sont discordantes dans la littérature (**annexe article 2**) contrairement à dans la PR. Une explication possible est que l'évaluation de l'activité, comparativement à la PR, est plus subjective dans les SpA. Les scores d'activité, comme le ASDAS CRP et le BASDAI, incluent de nombreux éléments subjectifs ne dépendant pas uniquement de la SpA. De plus, ces scores ne corrélaient pas fortement avec le processus inflammatoire visualisé en IRM (100), pouvant expliquer que le niveau de corrélation avec la calprotectine sérique soit faible. Enfin, dans la SpA axiale, le processus inflammatoire impliquant l'activation des cellules immunitaires innées conduisant à la sécrétion locale de calprotectine, est probablement limité aux seuls sites sièges de l'inflammation de la SpA (enthèses, articulation sacroiliaque). D'ailleurs, les patients présentant une SpA ont un niveau d'inflammation systémique plus faible comparé à d'autres pathologies, telles que la PR ou la vascularite associée aux ANCA ; ce qui explique qu'au moins 40% des SpA ont

une CRP normale (81). La diffusion systémique de la calprotectine du site de l'inflammation à la circulation sanguine est peut-être trop restreinte pour entraîner des variations détectables dans le sérum, ce qui limiterait l'intérêt de ce biomarqueur dans les SpA.

CONCLUSION

La calprotectine sérique dans les spondyloarthrites axiales récentes ne semble pas être un biomarqueur utile pour prédire la progression radiologique au rachis à 2 ans. Il existe par contre une corrélation faible avec l'intensité des lésions inflammatoires retrouvées en imagerie par résonance magnétique. Ces données laissent suggérer que la calprotectine sérique reflète une part du processus inflammatoire local survenant dans la spondyloarthrite axiale débutante. La calprotectine pourrait être une cible thérapeutique ou d'imagerie fonctionnelle d'avenir dans les spondyloarthrites comme dans d'autres rhumatismes inflammatoires chroniques.

PERSPECTIVES

Les protéines S100 pourraient être une cible thérapeutique intéressante afin d'avoir un impact sur la cascade inflammatoire très en amont, en agissant sur l'activation de l'immunité innée notamment. Il a été montré récemment que la Quinoline-3-carboxamide (composés Q), groupe de médicaments anti-inflammatoires, a des capacités à bloquer spécifiquement l'interaction de S100 A9 avec le TLR-4 et RAGE (101). Ce traitement permet de diminuer la production de TNF alpha après une stimulation par LPS chez les souris C57BL/6. La Quinoline-3-carboxamide a montré son efficacité dans plusieurs pathologies inflammatoires via des essais cliniques dans la sclérose en plaque (102), la maladie de crohn (103) et le lupus érythémateux systémique (104). Le linomide utilisé dans le modèle murin d'arthrite induite au collagène (105) empêche la survenue de l'arthrite si ce traitement est débuté le jour de l'immunisation; par contre, il n'a aucun effet s'il est débuté le jour de l'apparition de l'arthrite dans ce modèle. De façon assez surprenante nous avons trouvé des résultats similaires en bloquant l'IL-23p19 par un anticorps monoclonal dans un modèle de souris développant un phénotype d'arthrite réactionnelle à *C.muridarum*, le modèle SKG (**annexe figure 2**). L'IL-23 étant sécrétée principalement par les cellules myéloïdes du système immunitaire innées, ces observations laisseraient penser que ces cellules jouent un rôle prépondérant dans le déclenchement de la maladie, plus que dans son entretien. Il pourrait être intéressant d'évaluer l'effet de l'inhibition de l'interaction entre la protéine S100 A9 et le TLR-4 par la Quinoline-3-carboxamide dans le modèle murin de spondyloarthrite SKG afin d'évaluer si cette cible thérapeutique pourrait avoir un intérêt dans la SpA.

Faust *et al.* (106) en 2015 a mis au point un nouveau radiotracer non peptidique basé sur la conformation de la Quinoline-3-carboxamide, le Cy5.5-CES27 (**annexe figure 3**). Ce radiotracer présentait une haute affinité pour la protéine S100 A9 humaine et donc reflèterait l'activité phagocytaire locale. Récemment le Cy5.5-CES271 a été testé dans un modèle de souris de dermatite de contact via la technique d'imagerie de fluorescence par réflexion. Il s'avère que ce radiotracer s'accumule de façon significative avec une fixation spécifique à la protéine S100 A9 *in vivo* (107). Ces nouvelles techniques d'imagerie pourraient avoir un intérêt pour mettre en évidence l'inflammation locale provoquée par le système immunitaire innée dans les spondyloarthrites non détectées par l'IRM, ce qui pourrait apporter une aide au diagnostic au clinicien.

Enfin, il semble nécessaire de mieux définir le milieu (sérum ou plasma) et les techniques de dosage de calprotectine à privilégier pour les futures études sur cette thématique afin d'avoir une standardisation qui permettrait la comparaison des résultats.

REFERENCES

1. Sieper J, Poddubnyy D. Axial spondyloarthritis. *The Lancet*. 2017;390(10089):73–84.
2. International Genetics of Ankylosing Spondylitis Consortium (IGAS), Cortes A, Hadler J, Pointon JP, Robinson PC, Karaderi T, et al. Identification of multiple risk variants for ankylosing spondylitis through high-density genotyping of immune-related loci. *Nat Genet*. 2013 Jul;45(7):730–8.
3. Brown MA, Kennedy LG, MacGregor AJ, Darke C, Duncan E, Shatford JL, et al. Susceptibility to ankylosing spondylitis in twins: the role of genes, HLA, and the environment. *Arthritis Rheum*. 1997 Oct;40(10):1823–8.
4. Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, Tang JP, Taurog JD. Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders. *Cell*. 1990 Nov 30;63(5):1099–112.
5. Taurog JD, Chhabra A, Colbert RA. Ankylosing Spondylitis and Axial Spondyloarthritis. Longo DL, editor. *New England Journal of Medicine*. 2016 Jun 30;374(26):2563–74.
6. Douillard C, Romand X, Gaudin P, A Baillet. Manifestations ostéoarticulaires associées aux infections digestives. *Revue du Rhumatisme Monographies*. 2016 Sep.
7. Taurog JD, Dorris ML, Satumtira N, Tran TM, Sharma R, Dressel R, et al. Spondylarthritis in HLA-B27/human beta2-microglobulin-transgenic rats is not prevented by lack of CD8. *Arthritis Rheum*. 2009 Jul;60(7):1977–84.
8. Chan AT, Kollnberger SD, Wedderburn LR, Bowness P. Expansion and enhanced survival of natural killer cells expressing the killer immunoglobulin-like receptor KIR3DL2 in spondylarthritis. *Arthritis Rheum*. 2005 Nov;52(11):3586–95.
9. Mear JP, Schreiber KL, Münz C, Zhu X, Stevanović S, Rammensee HG, et al. Misfolding of HLA-B27 as a result of its B pocket suggests a novel mechanism for its role in susceptibility to spondyloarthropathies. *J Immunol*. 1999 Dec 15;163(12):6665–70.
10. DeLay ML, Turner MJ, Klenk EI, Smith JA, Sowders DP, Colbert RA. HLA-B27 misfolding and the unfolded protein response augment interleukin-23 production and are associated with Th17 activation in transgenic rats. *Arthritis Rheum*. 2009 Sep;60(9):2633–43.
11. Zeng L, Lindstrom MJ, Smith JA. Ankylosing spondylitis macrophage production of higher levels of interleukin-23 in response to lipopolysaccharide without induction of a significant unfolded protein response. *Arthritis Rheum*. 2011 Dec;63(12):3807–17.
12. Sherlock JP, Joyce-Shaikh B, Turner SP, Chao C-C, Sathe M, Grein J, et al. IL-23 induces spondyloarthropathy by acting on ROR- γ t⁺ CD3⁺CD4⁺CD8[−] enthesal resident T cells. *Nat Med*. 2012 Jul;18(7):1069–76.
13. Van Der Linden S, Valkenburg HA, Cats A. Evaluation of diagnostic criteria for ankylosing spondylitis. *Arthritis & Rheumatism*. 1984;27(4):361–368.
14. Rudwaleit M, Heijde D van der, Landewé R, Listing J, Akkoc N, Brandt J, et al. The development of Assessment of SpondyloArthritis international Society classification criteria for axial spondyloarthritis (part II): validation and final selection. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2009 Jun 1;68(6):777–83.
15. Zeidler H, Amor B. The Assessment in Spondyloarthritis International Society

- (ASAS) classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general: the spondyloarthritis concept in progress. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2011 Jan 1;70(1):1–3.
16. Wendling D, Lukas C, Prati C, Claudepierre P, Gossec L, Goupille P, et al. Actualisation 2018 des recommandations de la Société française de rhumatologie (SFR) pour la prise en charge en pratique courante des malades atteints de spondyloarthrite. *Revue du Rhumatisme*. 2018 May;85(3):222–30.
 17. Braun J, Baraliakos X. Imaging of axial spondyloarthritis including ankylosing spondylitis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2011 Mar 1;70(Suppl 1):i97–103.
 18. Lambert RGW, Bakker PAC, van der Heijde D, Weber U, Rudwaleit M, Hermann K-GA, et al. Defining active sacroiliitis on MRI for classification of axial spondyloarthritis: update by the ASAS MRI working group. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2016 Nov;75(11):1958–63.
 19. de Winter J, de Hooge M, van de Sande M, de Jong H, van Hooft L, de Koning A, et al. Magnetic Resonance Imaging of the Sacroiliac Joints Indicating Sacroiliitis According to the Assessment of SpondyloArthritis international Society Definition in Healthy Individuals, Runners, and Women With Postpartum Back Pain. *Arthritis & Rheumatology (Hoboken, NJ)*. 2018 Jul;70(7):1042–8.
 20. Baillet A, Gastaldi R, Ravey JN, Gaudin P. Bone Marrow Edema in the Sacroiliac Joint-Degenerative Sacroiliac Joint Disease Might Be More Likely Than Spondyloarthritis: Comment on the Article by Turina et al: LETTERS. *Arthritis & Rheumatology*. 2017 May;69(5):1123–4.
 21. Creemers MCW. Assessment of outcome in ankylosing spondylitis: an extended radiographic scoring system. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2005 Jan 1;64(1):127–9.
 22. van der Heijde D, Landewé R. Selection of a method for scoring radiographs for ankylosing spondylitis clinical trials, by the Assessment in Ankylosing Spondylitis Working Group and OMERACT. *J Rheumatol*. 2005 Oct;32(10):2048–9.
 23. Spoorenberg A, de Vlam K, van der Linden S, Dougados M, Mielants H, van de Tempel H, et al. Radiological scoring methods in ankylosing spondylitis. Reliability and change over 1 and 2 years. *J Rheumatol*. 2004 Jan;31(1):125–32.
 24. Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Sieper J, Braun J. Development of a radiographic scoring tool for ankylosing spondylitis only based on bone formation: Addition of the thoracic spine improves sensitivity to change. *Arthritis & Rheumatism*. 2009 Jun 15;61(6):764–71.
 25. Ramiro S, van Tubergen A, Stolwijk C, Landewé R, van de Bosch F, Dougados M, et al. Scoring radiographic progression in ankylosing spondylitis: should we use the modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score (mSASSS) or the Radiographic Ankylosing Spondylitis Spinal Score (RASSS)? *Arthritis research & therapy*. 2013;15(1):R14.
 26. Ramiro S, Claudepierre P, Sepriano A, van Lunteren M, Molto A, Feydy A, et al. Which scoring method depicts spinal radiographic damage in early axial spondyloarthritis best? Five-year results from the DESIR cohort. *Rheumatology (Oxford)*. 2018 Jul 23;
 27. Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Haibel H, Brandt J, Sieper J, et al. Progression of radiographic damage in patients with ankylosing spondylitis: defining the central role of syndesmophytes. *Ann Rheum Dis*. 2007

- Jul;66(7):910–5.
28. Ramiro S, Stolwijk C, van Tubergen A, van der Heijde D, Dougados M, van den Bosch F, et al. Evolution of radiographic damage in ankylosing spondylitis: a 12 year prospective follow-up of the OASIS study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2015 Jan;74(1):52–9.
 29. Machado P, Landewé R, Braun J, Hermann K-GA, Baker D, van der Heijde D. Both structural damage and inflammation of the spine contribute to impairment of spinal mobility in patients with ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2010 Aug;69(8):1465–70.
 30. Landewé R, Dougados M, Mielants H, van der Tempel H, van der Heijde D. Physical function in ankylosing spondylitis is independently determined by both disease activity and radiographic damage of the spine. *Ann Rheum Dis*. 2009 Jun;68(6):863–7.
 31. Kroon F, Landewé R, Dougados M, van der Heijde D. Continuous NSAID use reverts the effects of inflammation on radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2012 Oct;71(10):1623–9.
 32. Poddubnyy D, Rudwaleit M, Haibel H, Listing J, Märker-Hermann E, Zeidler H, et al. Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on radiographic spinal progression in patients with axial spondyloarthritis: results from the German Spondyloarthritis Inception Cohort. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2012 Oct;71(10):1616–22.
 33. Wanders A, Heijde D van der, Landewé R, Béhier J-M, Calin A, Olivieri I, et al. Nonsteroidal antiinflammatory drugs reduce radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis: A randomized clinical trial. *Arthritis & Rheumatism*. 2005 Jun;52(6):1756–65.
 34. Louie GH, Ward MM. Measurement and treatment of radiographic progression in ankylosing spondylitis: lessons learned from observational studies and clinical trials. *Current Opinion in Rheumatology*. 2014 Mar;26(2):145–50.
 35. van der Heijde D, Landewé R, Einstein S, Ory P, Vosse D, Ni L, et al. Radiographic progression of ankylosing spondylitis after up to two years of treatment with etanercept. *Arthritis & Rheumatism*. 2008 May;58(5):1324–31.
 36. Heijde D van der, Landewé R, Baraliakos X, Houben H, Tubergen A van, Williamson P, et al. Radiographic findings following two years of infliximab therapy in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis & Rheumatism*. 2008 Oct;58(10):3063–70.
 37. van der Heijde D, Salonen D, Weissman BN, Landewé R, Maksymowych WP, Kupper H, et al. Assessment of radiographic progression in the spines of patients with ankylosing spondylitis treated with adalimumab for up to 2 years. *Arthritis research & therapy*. 2009;11(4):R127.
 38. Braun J, Baraliakos X, Hermann K-GA, Deodhar A, van der Heijde D, Inman R, et al. The effect of two golimumab doses on radiographic progression in ankylosing spondylitis: results through 4 years of the GO-RAISE trial. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2014 Jun;73(6):1107–13.
 39. Baraliakos X, Haibel H, Listing J, Sieper J, Braun J. Continuous long-term anti-TNF therapy does not lead to an increase in the rate of new bone formation over 8 years in patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2014 Apr;73(4):710–5.
 40. Haroon N, Inman RD, Leach TJ, Weisman MH, Lee M, Rahbar MH, et al. The Impact of TNF-inhibitors on radiographic progression in Ankylosing Spondylitis.

- Arthritis & Rheumatism. 2013 Jun;n/a-n/a.
41. Ramiro S, van der Heijde D, van Tubergen A, Stolwijk C, Dougados M, van den Bosch F, et al. Higher disease activity leads to more structural damage in the spine in ankylosing spondylitis: 12-year longitudinal data from the OASIS cohort. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2014 Aug;73(8):1455–61.
 42. Machado P, Landewé R, Braun J, Hermann K-GA, Baraliakos X, Baker D, et al. A stratified model for health outcomes in ankylosing spondylitis. *Ann Rheum Dis*. 2011 Oct;70(10):1758–64.
 43. van Tubergen A, Ramiro S, van der Heijde D, Dougados M, Mielants H, Landewé R. Development of new syndesmophytes and bridges in ankylosing spondylitis and their predictors: a longitudinal study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2012 Apr;71(4):518–23.
 44. Poddubnyy D, Haibel H, Listing J, Mørker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, et al. Baseline radiographic damage, elevated acute-phase reactant levels, and cigarette smoking status predict spinal radiographic progression in early axial spondylarthritis. *Arthritis & Rheumatism*. 2012 May;64(5):1388–98.
 45. Biomarkers Definitions Working Group. Biomarkers and surrogate endpoints: preferred definitions and conceptual framework. *Clin Pharmacol Ther*. 2001 Mar;69(3):89–95.
 46. Romand X, Douillard C, Baillet A. Biomarkers for outcomes of spondyloarthritis. *Joint Bone Spine*. 2017 Jul;84(4):385–7.
 47. Edgeworth J, Gorman M, Bennett R, Freemont P, Hogg N. Identification of p8,14 as a highly abundant heterodimeric calcium binding protein complex of myeloid cells. *J Biol Chem*. 1991 Apr 25;266(12):7706–13.
 48. Mørk G, Schjerven H, Mangschau L, Søyland E, Brandtzaeg P. Proinflammatory cytokines upregulate expression of calprotectin (L1 protein, MRP-8/MRP-14) in cultured human keratinocytes. *Br J Dermatol*. 2003 Sep;149(3):484–91.
 49. Henke MO, Renner A, Rubin BK, Gyves JI, Lorenz E, Koo JS. Up-regulation of S100A8 and S100A9 protein in bronchial epithelial cells by lipopolysaccharide. *Exp Lung Res*. 2006 Sep;32(8):331–47.
 50. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochem Biophys Res Commun*. 1965 Jun 9;19(6):739–44.
 51. Pruenster M, Vogl T, Roth J, Sperandio M. S100A8/A9: From basic science to clinical application. *Pharmacology & Therapeutics*. 2016 Nov;167:120–31.
 52. Suryono null, Kido J-I, Hayashi N, Kataoka M, Nagata T. Calprotectin Expression in Human Monocytes: Induction by *Porphyromonas gingivalis* Lipopolysaccharide, Tumor Necrosis Factor- α , and Interleukin-1 β . *J Periodontol*. 2005 Mar;76(3):437–42.
 53. Vandal K, Rouleau P, Boivin A, Ryckman C, Talbot M, Tessier PA. Blockade of S100A8 and S100A9 suppresses neutrophil migration in response to lipopolysaccharide. *J Immunol*. 2003 Sep 1;171(5):2602–9.
 54. Pruenster M, Kurz ARM, Chung K-J, Cao-Ehlker X, Bieber S, Nussbaum CF, et al. Extracellular MRP8/14 is a regulator of β 2 integrin-dependent neutrophil slow rolling and adhesion. *Nature Communications*. 2015 Apr 20;6:6915.
 55. Bouma G, Lam-Tse WK, Wierenga-Wolf AF, Drexhage HA, Versnel MA. Increased serum levels of MRP-8/14 in type 1 diabetes induce an increased expression of CD11b and an enhanced adhesion of circulating monocytes to fibronectin. *Diabetes*. 2004 Aug;53(8):1979–86.
 56. van Lent PLEM, Grevers L, Blom AB, Sloetjes A, Mort JS, Vogl T, et al. Myeloid-related proteins S100A8/S100A9 regulate joint inflammation and cartilage

- destruction during antigen-induced arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2008 Dec;67(12):1750–8.
57. Vogl T, Ludwig S, Goebeler M, Strey A, Thorey IS, Reichelt R, et al. MRP8 and MRP14 control microtubule reorganization during transendothelial migration of phagocytes. *Blood.* 2004 Dec 15;104(13):4260–8.
 58. Nisapakulorn K, Ross KF, Herzberg MC. Calprotectin expression in vitro by oral epithelial cells confers resistance to infection by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2001 Jul;69(7):4242–7.
 59. Doussi re J, Bouzidi F, Vignais PV. A phenylarsine oxide-binding protein of neutrophil cytosol, which belongs to the S100 family, potentiates NADPH oxidase activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2001 Aug 3;285(5):1317–20.
 60. Wang J, Vodovotz Y, Fan L, Li Y, Liu Z, Namas R, et al. Injury-induced MRP8/MRP14 stimulates IP-10/CXCL10 in monocytes/macrophages. *FASEB J.* 2015 Jan;29(1):250–62.
 61. Loser K, Vogl T, Voskort M, Lueken A, Kupas V, Nacken W, et al. The Toll-like receptor 4 ligands Mrp8 and Mrp14 are crucial in the development of autoreactive CD8+ T cells. *Nature Medicine.* 2010 Jun;16(6):713–7.
 62. Baillet A, Trocm  C, Berthier S, Arlotto M, Grange L, Chenau J, et al. Synovial fluid proteomic fingerprint: S100A8, S100A9 and S100A12 proteins discriminate rheumatoid arthritis from other inflammatory joint diseases. *Rheumatology (Oxford).* 2010 Apr;49(4):671–82.
 63. Frosch M, Strey A, Vogl T, Wulffraat NM, Kuis W, Sunderk tter C, et al. Myeloid-related proteins 8 and 14 are specifically secreted during interaction of phagocytes and activated endothelium and are useful markers for monitoring disease activity in pauciarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum.* 2000 Mar;43(3):628–37.
 64. Hammer HB, Odegard S, Fagerhol MK, Landew  R, van der Heijde D, Uhlig T, et al. Calprotectin (a major leucocyte protein) is strongly and independently correlated with joint inflammation and damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis.* 2007 Aug;66(8):1093–7.
 65. Oktayoglu P, Mete N, Caglayan M, Bozkurt M, Bozan T, Em S, et al. Elevated serum levels of calprotectin (MRP8/MRP14) in patients with Beh et’s disease and its association with disease activity and quality of life. *Scand J Clin Lab Invest.* 2015 Apr;75(2):106–12.
 66. Pepper RJ, Hamour S, Chavele K-M, Todd SK, Rasmussen N, Flint S, et al. Leukocyte and serum S100A8/S100A9 expression reflects disease activity in ANCA-associated vasculitis and glomerulonephritis. *Kidney international.* 2013;83(6):1150–1158.
 67. Hammer HB, Fagerhol MK, Wien TN, Kvien TK. The soluble biomarker calprotectin (an S100 protein) is associated to ultrasonographic synovitis scores and is sensitive to change in patients with rheumatoid arthritis treated with adalimumab. *Arthritis Res Ther.* 2011;13(5):R178.
 68. Chevreau M, Paquet M-H, Romand X, Quesada J-L, Vittecoq O, Dieud  P, et al. Calprotectin is not independent from baseline erosion in predicting radiological progression in early rheumatoid arthritis. Comment on “Calprotectin as a marker of inflammation in patients with early rheumatoid arthritis” by Jonsson et al. *Ann Rheum Dis.* 2018 Jan 10;
 69. Hammer HB, Odeg rd S, Syversen SW, Landew  R, van der Heijde D, Uhlig T, et al. Calprotectin (a major S100 leucocyte protein) predicts 10-year

- radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2010 Jan;69(1):150–4.
70. Andrés Cerezo L, Mann H, Pecha O, Pleštilová L, Pavelka K, Vencovský J, et al. Decreases in serum levels of S100A8/9 (calprotectin) correlate with improvements in total swollen joint count in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther*. 2011 Jul 26;13(4):R122.
 71. Jonsson MK, Sundlisæter NP, Nordal HH, Hammer HB, Aga A-B, Olsen IC, et al. Calprotectin as a marker of inflammation in patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2017 Dec;76(12):2031–7.
 72. Hurnakova J, Hulejova H, Zavada J, Hanova P, Komarc M, Mann H, et al. Relationship between serum calprotectin (S100A8/9) and clinical, laboratory and ultrasound parameters of disease activity in rheumatoid arthritis: A large cohort study. *PLoS ONE*. 2017;12(8):e0183420.
 73. Nordal HH, Brokstad KA, Solheim M, Halse A-K, Kvien TK, Hammer HB. Calprotectin (S100A8/A9) has the strongest association with ultrasound-detected synovitis and predicts response to biologic treatment: results from a longitudinal study of patients with established rheumatoid arthritis. *Arthritis Research & Therapy*. 2017 Dec
 74. De Rycke L, Baeten D, Foell D, Kruithof E, Veys EM, Roth J, et al. Differential expression and response to anti-TNF α treatment of infiltrating versus resident tissue macrophage subsets in autoimmune arthritis. *The Journal of Pathology*. 2005 May;206(1):17–27.
 75. Kane D, Roth J, Frosch M, Vogl T, Bresnihan B, FitzGerald O. Increased perivascular synovial membrane expression of myeloid-related proteins in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum*. 2003 Jun;48(6):1676–85.
 76. Vogl T, Tenbrock K, Ludwig S, Leukert N, Ehrhardt C, van Zoelen MAD, et al. Mrp8 and Mrp14 are endogenous activators of Toll-like receptor 4, promoting lethal, endotoxin-induced shock. *Nat Med*. 2007 Sep;13(9):1042–9.
 77. De Rycke L, Vandooren B, Kruithof E, De Keyser F, Veys EM, Baeten D. Tumor necrosis factor α blockade treatment down-modulates the increased systemic and local expression of toll-like receptor 2 and toll-like receptor 4 in spondylarthropathy. *Arthritis & Rheumatism*. 2005 Jul;52(7):2146–58.
 78. Appel H, Loddenkemper C, Grozdanovic Z, Ehardt H, Dreimann M, Hempfing A, et al. Correlation of histopathological findings and magnetic resonance imaging in the spine of patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis research & therapy*. 2006;8(5):R143.
 79. Bollow M, Fischer T, Reißhauer H, Backhaus M, Sieper J, Hamm B, et al. Quantitative analyses of sacroiliac biopsies in spondyloarthropathies: T cells and macrophages predominate in early and active sacroiliitis—cellularity correlates with the degree of enhancement detected by magnetic resonance imaging. *Annals of the rheumatic diseases*. 2000;59(2):135–140.
 80. Gong Y, Zheng N, Chen S-B, Xiao Z-Y, Wu M-Y, Liu Y, et al. Ten years' experience with needle biopsy in the early diagnosis of sacroiliitis. *Arthritis & Rheumatism*. 2012 May;64(5):1399–406.
 81. Benhamou M, Gossec L, Dougados M. Clinical relevance of C-reactive protein in ankylosing spondylitis and evaluation of the NSAIDs/coxibs' treatment effect on C-reactive protein. *Rheumatology (Oxford)*. 2010 Mar;49(3):536–41.
 82. Hammer HB, Kvien TK, Glennås A, Melby K. A longitudinal study of calprotectin as an inflammatory marker in patients with reactive arthritis. *Clin Exp Rheumatol*. 1995 Feb;13(1):59–64.

83. Turina MC, Yeremenko N, van Gaalen F, van Oosterhout M, Berg IJ, Ramonda R, et al. Serum inflammatory biomarkers fail to identify early axial spondyloarthritis: results from the SpondyloArthritis Caught Early (SPACE) cohort. *RMD open*. 2017;3(1):e000319.
84. Grossi V, Infantino M, Manfredi M, Meacci F, Bellio E, Bellio V, et al. A Proposed Serum Calprotectin IgG Cut-Off Level for Diagnosing Inflammatory Arthritis. *Curr Rheumatol Rev*. 2017;13(2):93–7.
85. Klingberg E, Carlsten H, Hilme E, Hedberg M, Forsblad-d’Elia H. Calprotectin in ankylosing spondylitis--frequently elevated in feces, but normal in serum. *Scand J Gastroenterol*. 2012 Apr;47(4):435–44.
86. Melchior C, Aziz M, Aubry T, Gourcerol G, Quillard M, Zalar A, et al. Does calprotectin level identify a subgroup among patients suffering from irritable bowel syndrome? Results of a prospective study. *United European Gastroenterol J*. 2017 Mar;5(2):261–9.
87. Kopylov U, Starr M, Watts C, Dionne S, Girardin M, Seidman EG. Detection of Crohn Disease in Patients with Spondyloarthropathy: The SpACE Capsule Study. *The Journal of Rheumatology*. 2018 Apr;45(4):498–505.
88. Huang J, Yin Z, Song G, Cui S, Jiang J, Zhang L. Discriminating Value of Calprotectin in Disease Activity and Progression of Nonradiographic Axial Spondyloarthritis and Ankylosing Spondylitis. *Disease Markers*. 2017;2017:1–5.
89. Gupta L, Bhattacharya S, Agarwal V, Aggarwal A. Elevated levels of serum MRP8/14 in ankylosing spondylitis: associated with peripheral arthritis and active disease. *Clinical Rheumatology*. 2016 Dec;35(12):3075–9.
90. Oktayoglu P, Bozkurt M, Mete N, Caglayan M, Em S, Nas K. Elevated serum levels of calprotectin (myeloid-related protein 8/14) in patients with ankylosing spondylitis and its association with disease activity and quality of life. *J Investig Med*. 2014 Aug;62(6):880–4.
91. Turina MC, Yeremenko N, Paramarta JE, De Rycke L, Baeten D. Calprotectin (S100A8/9) as serum biomarker for clinical response in proof-of-concept trials in axial and peripheral spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther*. 2014;16(4):413.
92. Cypers H, Varkas G, Beeckman S, Debusschere K, Vogl T, Roth J, et al. Elevated calprotectin levels reveal bowel inflammation in spondyloarthritis. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2016 Jul;75(7):1357–62.
93. Braun J, Baraliakos X, Deodhar A, Baeten D, Sieper J, Emery P, et al. Effect of secukinumab on clinical and radiographic outcomes in ankylosing spondylitis: 2-year results from the randomised phase III MEASURE 1 study. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 2017 Jun;76(6):1070–7.
94. Turina MC, Sieper J, Yeremenko N, Conrad K, Haibel H, Rudwaleit M, et al. Calprotectin serum level is an independent marker for radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis*. 2014 Sep;73(9):1746–8.
95. Madland TM, Larsen A, Brun JG. S100 proteins calprotectin and S100A12 are related to radiographic changes rather than disease activity in psoriatic arthritis with low disease activity. *J Rheumatol*. 2007 Oct;34(10):2089–92.
96. Dougados M, d’Agostino M-A, Benessiano J, Berenbaum F, Breban M, Claudepierre P, et al. The DESIR cohort: A 10-year follow-up of early inflammatory back pain in France: Study design and baseline characteristics of the 708 recruited patients. *Joint Bone Spine*. 2011 Dec;78(6):598–603.
97. Poddubnyy D, Listing J, Haibel H, Knüppel S, Rudwaleit M, Sieper J. Functional relevance of radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis: results

- from the GERman SPondyloarthritis Inception Cohort. *Rheumatology (Oxford)*. 2018 01;57(4):703–11.
98. Whitehead SJ, French J, Brookes MJ, Ford C, Gama R. Between-assay variability of faecal calprotectin enzyme-linked immunosorbent assay kits. *Ann Clin Biochem*. 2013 Jan;50(Pt 1):53–61.
 99. Nordal HH, Fagerhol MK, Halse A-K, Hammer HB. Calprotectin (S100A8/A9) should preferably be measured in EDTA-plasma; results from a longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis. *Scandinavian Journal of Clinical and Laboratory Investigation*. 2018 Feb 17;78(1–2):102–8.
 100. MacKay JW, Aboelmagd S, Gaffney JK. Correlation between clinical and MRI disease activity scores in axial spondyloarthritis. *Clinical Rheumatology*. 2015 Sep;34(9):1633–8.
 101. Björk P, Björk A, Vogl T, Stenström M, Liberg D, Olsson A, et al. Identification of Human S100A9 as a Novel Target for Treatment of Autoimmune Disease via Binding to Quinoline-3-Carboxamides. Akira S, editor. *PLoS Biology*. 2009 Apr 28;7(4):e1000097.
 102. Comi G, Jeffery D, Kappos L, Montalban X, Boyko A, Rocca MA, et al. Placebo-controlled trial of oral laquinimod for multiple sclerosis. *New England Journal of Medicine*. 2012;366(11):1000–1009.
 103. D’Haens G, Sandborn WJ, Colombel JF, Rutgeerts P, Brown K, Barkay H, et al. A phase II study of laquinimod in Crohn’s disease. *Gut*. 2015 Aug;64(8):1227–35.
 104. Bengtsson AA, Sturfelt G, Lood C, Rönnblom L, van Vollenhoven RF, Axelsson B, et al. Pharmacokinetics, tolerability, and preliminary efficacy of paquinimod (ABR-215757), a new quinoline-3-carboxamide derivative: Studies in lupus-prone mice and a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, repeat-dose, dose-ranging study in. *Arthritis & Rheumatism*. 2012 May;64(5):1579–88.
 105. Björk J, Kleinau S. Paradoxical effects of LS-2616 (Linomide) treatment in the type II collagen arthritis model in mice. *Agents Actions*. 1989 Jun;27(3–4):319–21.
 106. Faust A, Völler T, Busch F, Schäfers M, Roth J, Hermann S, et al. Development and evaluation of a non-peptidic ligand for the molecular imaging of inflammatory processes using S100A9 (MRP14) as a novel target. *Chemical Communications*. 2015;51(86):15637–40.
 107. Völler T, Faust A, Roth J, Schäfers M, Vogl T, Hermann S. A Non-Peptidic S100A9 Specific Ligand for Optical Imaging of Phagocyte Activity In Vivo. *Mol Imaging Biol*. 2018 Jun 1;20(3):407–16.
 108. Levitova A, Hulejova H, Spiritovic M, Pavelka K, Senolt L, Husakova M: Clinical improvement and reduction in serum calprotectin levels after an intensive exercise programme for patients with ankylosing spondylitis and non-radiographic axial spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther* 2016, 18:275.

ANNEXES

1. Revue de la littérature : biomarqueurs dans les spondyloarthrites, publiée dans Joint Bone Spine 2017.

Biomarqueurs d'évolutivité dans les spondyloarthrites.

Spondyloarthritis and biomarkers.

Xavier Romand^a, Claire Douillard^a, Athan Baillet^a

a.GREPI-UGA EA7408C, Clinique universitaire de Rhumatologie, CHUGA, hôpital Sud, avenue de Kimberley, 38130 Echirolles, France.

Auteur correspondant : Xavier Romand, xromand@chu-grenoble.fr, 0476765458, CHUGA, Clinique universitaire de Rhumatologie, hôpital Sud, avenue de Kimberley, 38130 Echirolles, France.

Mots clefs: spondyloarthrites; biomarqueurs; calprotectine; cytokines; adipokines; anticorps anti-Saccharomyces cerevisiae

Key words: spondyloarthritis; biomarkers; calprotectin; cytokines; adipokines, anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies

Remerciements: Direction de la recherche Clinique, CHU – Grenoble Alpes, Société Française de Rhumatologie.

Déclaration de liens d'intérêts: aucun

1. Introduction

Depuis l'avènement des critères ASAS (Assessment of SpondyloArthritis international Society) pour le diagnostic plus précoce des spondyloarthrites, de nombreuses études ont caractérisé de nouveaux biomarqueurs. Ceux-ci sont des indicateurs des processus biologiques normaux, pathologiques ou de réponse pharmacologique à une intervention thérapeutique. L'essor des thérapies ciblées, qui ont complètement bouleversé le traitement des patients souffrant de spondyloarthrite (SpA), a engendré un coût important pour le système de soins de santé ainsi que des effets indésirables potentiellement graves. Ce constat rend particulièrement pertinent le développement d'une médecine personnalisée. Cette approche consiste à adapter les traitements en fonction des caractéristiques des patients et de leurs maladies. Au regard du spectre large de sévérité des spondyloarthrites, de la difficulté de discriminer les patients pour lesquels la maladie sera rapidement évolutive, la caractérisation de biomarqueurs d'évolutivité est un enjeu important pour la prise en charge.

Plusieurs approches sont possibles pour identifier ces biomarqueurs. La plupart des études se sont focalisées sur les protéines impliquées dans les mécanismes de la maladie. Notre connaissance de la génétique des spondyloarthrites, de l'implication des facteurs environnementaux notamment bactériens et des mécanismes cellulaires et moléculaires de la maladie a permis la caractérisation de certains biomarqueurs. D'autres études ont adopté une analyse plus systématique, sans *a priori* sur la pertinence éventuelle de tel ou tel biomarqueur, par une approche systématique génomique, transcriptomique ou protéomique. Ces études ont fait émerger de nouveaux biomarqueurs dont le lien avec la physiopathologie des spondyloarthrites n'est pas toujours évident.

De nouvelles connaissances sur le rôle étiologique de bactéries pathogènes, telles que la Chlamydia et le microbiote intestinal, ont permis de caractériser des biomarqueurs diagnostiques des spondyloarthrites. Des anticorps anti-flagelline (anti-CBir1), protéine majoritaire structurale du filament flagellaire, sont retrouvés dans les stades très précoces des spondyloarthrites [1]. Cette observation suggère que la rupture de tolérance immunitaire au niveau digestif pourrait être détectée dès le début de la maladie, sans en attendre les signes inflammatoires et radiologiques. De même, la détection d'anticorps anti-CD74, chaîne γ du Complexe Majeur d'Histocompatibilité (CMH) de type II (permettant la formation, la maturation et le transport du CMH de type II durant sa formation chez les cellules présentatrice de l'antigène) semble pouvoir permettre un diagnostic précoce de la spondyloarthrite [2]. L'intérêt de ces biomarqueurs grandira si, comme dans la polyarthrite rhumatoïde, l'intérêt d'un traitement précoce ainsi que le « contrôle serré » de la maladie est démontré en termes d'évolution structurale et de handicap dans les spondyloarthrites récentes. En attendant ces études, la littérature suggère que certains biomarqueurs permettraient

de préciser l'évolutivité des spondyloarthrites [3], c'est-à-dire, la progression radiologique et la réponse au traitement (marqueurs thérapeutiques) [Tableau 1].

2. Marqueurs génétiques

Contrairement à la polyarthrite rhumatoïde qui semble apparaître à la fin du XVIII^e siècle, décrite pour la première fois par Augustin Landré-Beauvais sous le nom « goutte asthénique primitive », on retrouve des preuves de l'existence de la spondylarthrite ankylosante dans l'antiquité et même la préhistoire, suggérant un rôle prépondérant des facteurs génétiques dans la maladie. Nous ne connaissons actuellement qu'environ un quart des déterminants génétiques de la spondyloarthrite. L'haplotype HLA B27 est associé avec un sur-risque d'uvéite antérieure, sans affecter l'évolution structurale [3]. La réponse aux anti-TNF semble meilleure chez les patients HLA B27 positifs [4]. D'autres gènes impliqués dans la polarisation lymphocytaire vers la voie Th17 (IL23R, TYK2, IL6R, IL12B), l'apprêtement et la présentation du peptide (CMH de classe I et ERAP1) et la microbicidie (CARD9, NOS2) interviennent dans la physiopathologie des spondyloarthrites, mais ne semblent pas prédictif de l'évolution de la maladie [4].

3. Marqueurs de l'inflammation, cytokines et adipokines

L'élévation de la C Réactive Protéine (CRP), qui est un item des critères diagnostiques ASAS 2009, est prédictive d'une évolution structurale péjorative et d'une bonne réponse aux anti-TNF dans la spondylarthrite ankylosante [5]. La CRP et la vitesse de sédimentation sont augmentées chez moins d'un patient sur deux. La sensibilité de leurs apports pronostiques sera donc limitée en pratique courante.

De nombreuses cytokines ont été étudiées pour connaître leur apport comme biomarqueurs de la maladie. Parmi toutes, c'est l'interleukine (IL)-6 et le Tumor Necrosis Factor (TNF) qui ont été les plus étudiés avec des résultats discordant sur la prédiction de la réponse au traitement et de l'évolution structurale. Les cytokines de la voie Th17, l'IL-23 et l'IL-17, du fait de leur implication dans l'étiopathogénie de la maladie, ont également été étudiées, avec des résultats décevants. Il en va de même pour l'IL-33 [3]. Les concentrations systémiques des cytokines pro-inflammatoires produites dans l'enthèse sont d'un faible intérêt dans l'évaluation de la maladie.

Les adipokines, sécrétées notamment par le tissu adipeux, constituent un groupe de plus d'une centaine de cytokines, telles que l'adiponectine, la résistine, la leptine, visfatine et apeline. Elles interviennent dans l'homéostasie énergétique et la signalisation cellulaire. Les études sur l'association de la concentration d'adipokines avec l'activité de la maladie et la réponse au traitement ont été contradictoires [3], ce qui n'est guère étonnant du fait de la production adipocytaire et non

enthésitique de ces molécules. La leptine favorise l'ostéoforumation par inhibition des ostéoclastes et la stimulation des ostéoblastes. Les taux sériques élevés de leptine sont associés à la formation de syndesmophytes. De même, la visfatine est associée à la progression structurale dans la spondylarthrite ankylosante [6].

4. Calprotectine

Les protéines à calcium S100A8 et S100A9, qui représentent 40 % des protéines du cytosol du polynucléaire neutrophile et seulement 2 à 5% du monocyte, appartiennent de la famille des protéines S100. Ces protéines sont le plus fréquemment retrouvées sous la forme d'un hétérodimère S100A8/A9 aussi appelé calprotectine. Le concept de calprotectine en tant que biomarqueur de l'évolution des spondyloarthrites n'est pas une issue d'une simple extrapolation des travaux sur les Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin. La surexpression de ces marqueurs dans les spondyloarthrites a été décrite il y a plus de vingt ans chez des patients souffrant d'une arthrite réactionnelle et permettait de suivre la réponse au traitement. Les niveaux de calprotectine de sérum sont également très augmentés dans la spondyloarthrite axiale. La concentration de calprotectine sérique diminue significativement avec un agent anti-TNF [7] et prédit une évolution structurale péjorative selon le score mSASSS (modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score) [8]. Une étude a suggéré que la concentration de calprotectine sérique permettait de prédire les rechutes dans les arthrites chroniques juvéniles avec une atteinte systémique.

5. Anticorps anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA)

Les ASCA sont des anticorps dirigés contre le mannane de *Saccharomyces cerevisiae* qui est retrouvé principalement dans l'intestin grêle. La présence d'ASCA est le reflet d'une perméabilité accrue gastro-intestinale pouvant résulter d'une inflammation sub-clinique du tube digestif souvent retrouvée dans la spondyloarthrite. Les études sont discordantes concernant la présence d'ASCA chez les patients présentant une spondyloarthrite. Il n'existe pas de corrélation entre ce biomarqueur et l'activité de la maladie, l'impact fonctionnel de la maladie (Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index) [9]. Une étude retrouve que la présence d'ASCA est associée à une maladie radiologique plus sévère selon le Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index et non selon le mSASSS [10]. Enfin il a été démontré que la présence d'ASCA est associée à un phénotype particulier de spondyloarthrite associant l'absence d'atteinte axiale et la présence d'une maladie inflammatoire chronique de l'intestin, d'antécédent d'uvéite et d'arthrite [11].

6. Remodelage osseux et les métalloprotéases matricielles

Les MMPs (Matrix Metallo Proteinases) sont des protéases dépendantes du zinc jouant un rôle majeur dans l'homéostasie cellulaire. L'expression de MMP8 et MMP9 corrèle avec l'activité de la maladie. MMP3 semble être le biomarqueur intéressant car prédictif de l'évolution structurale [12] et de la réponse à l'étanercept [13] dans la spondylarthrite ankylosante, alors que la corrélation avec l'activité de la maladie est diversement retrouvée dans la littérature. La protéolyse de la vimentine citrullinée par les MMPs produit des peptides qui sont surexprimés chez les patients souffrant de spondylarthrite ankylosante. Leur expression est plus importante chez les patients avec un score mSASSS élevé qui vont avoir une évolution radiologique [14]. Les anticorps anti-vimentine citrullinée semblent moins prometteurs dans les spondyloarthrites que dans la polyarthrite rhumatoïde. Deux peptides du collagène de type II, générés par l'activité protéolytique des MMPs, C2M et C3M, sont exprimés dans la spondylarthrite ankylosante. Leur expression est prédictive de la progression radiologique mSASSS [15]. De même l'expression du télopeptide CTX-II est également prédictive de l'évolution radiologique [16]. Plusieurs marqueurs de la voie Wtn β caténine de la formation osseuse ont été étudiés comme potentiels biomarqueur des spondyloarthrites. Dickkopf 1 (DKK-1) et la sclérostine ne sont pas prédictifs de l'évolution structurale. Toutefois la concentration de sclérostine semble prédictive de la réponse aux anti-TNF [17].

7. Discussion

Certaines réserves doivent être émises devant le nombre croissant de biomarqueurs d'évolution des spondyloarthrites. Tout d'abord, de nombreux résultats prometteurs n'ont pas été confirmés dans des cohortes indépendantes. D'autre part de nombreuses études portent sur la corrélation entre l'expression d'un biomarqueur et les critères d'évaluation de la maladie dans une analyse univariée et sans ajustement sur les facteurs potentiels de confusion. Enfin les coefficients de corrélation constatés suggèrent un lien statistiquement significatif, mais dont la pertinence clinique ne sera établie que grâce à de futures études.

Références

- [1] Wallis D, Asaduzzaman A, Weisman M, et al. Elevated serum anti-flagellin antibodies implicate subclinical bowel inflammation in ankylosing spondylitis: an observational study. *Arthritis Res Ther* 2013;15:R166.
- [2] Baraliakos X, Baerlecken N, Witte T, Heldmann F, Braun J. High prevalence of anti-CD74 antibodies specific for the HLA class II-associated invariant chain peptide (CLIP) in patients with axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1079–82.
- [3] Reveille JD. Biomarkers for diagnosis, monitoring of progression, and treatment responses in ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis. *Clin Rheumatol* 2015;34:1009–18.
- [4] Brown MA, Kenna T, Wordsworth BP. Genetics of ankylosing spondylitis--insights into pathogenesis. *Nat Rev Rheumatol* 2016;12:81–91.
- [5] Maneiro JR, Souto A, Salgado E, Mera A, Gomez-Reino JJ. Predictors of response to TNF antagonists in patients with ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis: systematic review and meta-analysis. *RMD Open* 2015;1:e000017.
- [6] Syrbe U, Callhoff J, Conrad K, et al. Serum adipokine levels in patients with ankylosing spondylitis and their relationship to clinical parameters and radiographic spinal progression. *Arthritis Rheumatol Hoboken NJ* 2015;67:678–85.
- [7] Turina MC, Yeremenko N, Paramarta JE, De Rycke L, Baeten D. Calprotectin (S100A8/9) as serum biomarker for clinical response in proof-of-concept trials in axial and peripheral spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther* 2014;16:413.
- [8] Turina MC, Sieper J, Yeremenko N, et al. Calprotectin serum level is an independent marker for radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2014;73:1746–8.
- [9] Andretta MA, Vieira TD, Nishiara R, Skare TL. Anti-Saccharomyces cerevisiae (ASCA) and anti-endomysial antibodies in spondyloarthritis. *Rheumatol Int* 2012;32:551–4.
- [10] Aydin SZ, Atagunduz P, Temel M, Bicakcigil M, Tasan D, Direskeneli H. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) in spondyloarthropathies: a reassessment. *Rheumatology* 2007;47:142–4.
- [11] Maillet J, Ottaviani S, Tubach F, et al. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) in spondyloarthritis: Prevalence and associated phenotype. *Joint Bone Spine* 2016.
- [12] Maksymowych WP, Landewé R, Conner-Spady B, et al. Serum matrix metalloproteinase 3 is an independent predictor of structural damage progression in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum* 2007;56:1846–53.
- [13] Arends S, van der Veer E, Groen H, et al. Serum MMP-3 level as a biomarker for monitoring and predicting response to etanercept treatment in ankylosing spondylitis. *J Rheumatol* 2011;38:1644–50.
- [14] Bay-Jensen AC, Karsdal MA, Vassiliadis E, et al. Circulating citrullinated vimentin fragments reflect disease burden in ankylosing spondylitis and have prognostic capacity for radiographic progression. *Arthritis Rheum* 2013;65:972–80.
- [15] Bay-Jensen AC, Wichuk S, Byrjalsen I, et al. Circulating protein fragments of cartilage and connective tissue degradation are diagnostic and prognostic markers of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis. *PloS One* 2013;8:e54504.
- [16] Arends S, Spoorenberg A, Efte M, et al. Higher bone turnover is related to spinal radiographic damage and low bone mineral density in ankylosing spondylitis patients with active disease: a cross-sectional analysis. *PloS One* 2014;9:e99685.
- [17] Saad CGS, Ribeiro ACM, Moraes JCB, et al. Low sclerostin levels: a predictive marker of persistent inflammation in ankylosing spondylitis during anti-tumor necrosis factor therapy? *Arthritis Res Ther* 2012;14:R216.

Tableau 1. Biomarqueurs et intérêts dans les spondyloarthrites. TNF : Tumor Necrosis Factor, SpA : Spondyloarthrite, SA : Spondylarthrite Ankylosante, mSASSS : modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score, ASCA : anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies, BASRI : Bath Ankylosing Spondylitis Radiology Index, MMP : Matrix Metallo Proteinases, DKK1 : Dickkopf 1. * Certaines études sont discordantes sur le suj

Biomarqueurs	Activité de la maladie	Evolution radiologique	Réponse thérapeutique
HLA-B27	Pas de corrélation	Pas de corrélation	Meilleure réponse aux anti-TNF chez SpA HLA B27 positif
CRP	CRP augmentée associée à une spondyloarthrite active.	CRP augmentée prédictive d'une évolution radiographique péjorative du rachis et des sacroiliaques et de l'inflammation des sacroiliaques en IRM.	CRP élevée prédictive d'une bonne réponse au traitement par anti-TNF dans la SA
Calprotectine	Calprotectine sérique augmentée associée à l'activité de la maladie	Calprotectine sérique augmentée associée à la progression structurale selon l'évolution du score mSASSS	
ASCA	Pas de corrélation	Présence d'ASCA associé à une SpA radiologique plus sévère selon le BASRI	
Cytokines			
IL-6	Taux augmenté d'IL-6 sérique associé à l'activité de la maladie *		Taux augmenté d'IL-6 sérique associé à la réponse aux anti-TNF
IL-23	Taux augmenté d'IL-23 sérique associés à l'activité de la maladie *		
IL-17	Taux augmenté d'IL-17 sérique associés à l'activité de la maladie *		
IL-33	Taux augmenté d'IL-33 sérique associé à l'activité de la maladie*		
Marqueurs du remodelage osseux et cartilagineux			
Peptides du collagène de type II		Taux augmenté associé à la progression radiologique	
Métalloprotéases	MMP3-8-9 sériques augmentées associées à l'activité de la maladie	MMP3 prédictive d'une évolution structurale défavorable	MMP3 associée à une meilleure réponse à l'etanercept
Fragments dégradés de vimentine citrullinés		Taux élevé associé à la progression radiologique	
C2M et C3M		Concentration sérique élevée associée à la progression radiologique	
Sclérostine	Taux bas de sclérostine sous traitement est associé à une inflammation persistante	Taux bas associé à la production de syndesmophytes*	Taux de sclérostine prédictif de la réponse aux anti-TNF
DKK1		Niveau fonctionnel élevé de DKK1 corrélé à l'absence de syndesmophytes*	
Adipokines			
Leptine		Taux élevé de leptine associé à la formation de syndesmophytes dans la SA masculine	
Visfatine		Taux de Visfatine élevé est associé à la progression structurale	

2. Revue de la littérature : calprotectine dans les rhumatismes inflammatoires chroniques, soumis à Joint Bone Spine

NEUTROPHIL-RELATED CALPROTECTIN AND CHRONIC INFLAMMATORY RHEUMATIC DISEASES

Xavier ROMAND ^{1*}, Chloé BERNARDY ^{1*}, Minh Vu Chuong NGUYEN ^{1,2}, Anais COURTIER ², Candice TROCME ^{4,5}, Margot CLAPASSON ¹, Bertrand TOUSSAINT ^{4,5}, Philippe GAUDIN ^{1,2}, Athan BAILLET ^{1,2}

Acknowledgement: The authors thank Sylvie Papacatzis for her help in the study.

Affiliations

1. Univ. Grenoble Alpes, GREPI, EA 7408, 38400, Saint-Martin-d'Hères, France
2. Sinnovial SAS
3. Univ. Grenoble Alpes, F-38000 Grenoble, France; CEA, BIG, Biologie à Grande Echelle, F-38054 Grenoble, France; Inserm, U1038, F-38054 Grenoble, France.
4. TIMC-IMAG Laboratory UMR 5525, CNRS, Université Grenoble Alpes, Grenoble F-38041, France.
5. Centre Hospitalier Universitaire Grenoble Alpes, Hôpital Michallon Pôle Biologie, Laboratoire de Biochimie des Enzymes et des Protéines, La Tronche, France

* both authors equally contributed to this work

The author thank Ms. Papacatzis for calprotectin levels assessments

Funding: None

ABSTRACT

Calprotectin is a calcium binding protein produced by neutrophils and monocytes locally at the site of inflammation in order to trigger the innate immunity receptors. This unique characteristic makes it a good proxy for evaluation of local inflammation in chronic inflammatory rheumatic diseases.

In rheumatoid arthritis (RA), calprotectin correlated significantly with disease activity score, ultrasound synovitis and structural progression. Many studies have investigated the predictive value of calprotectin for clinical response to Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs with conflicting results.

In spondyloarthritis (SpA), serum level of calprotectin was not helpful to discriminate early axial SpA from non-specific inflammatory back pain. Serum calprotectin level correlated weakly with activity score compared to RA but could predict the spinal radiographic progression in ankylosing spondylitis at 2 years.

In juvenile idiopathic arthritis calprotectin was found in higher concentration in synovial fluid than in serum and displayed a strong correlation with disease activity. Nevertheless, calprotectin levels could not predict macrophage activation syndrome.

In ANCA associated vasculitis, serum calprotectin correlated weakly with CRP but seems to be useful to predict futures relapses.

In septic arthritis, calprotectin synovial fluid level could be used in order to discriminate septic arthritis from other inflammatory arthritis.

Complete data suggest, in rheumatic inflammatory diseases, a relevant role of calprotectin despite the lack of the assay standardization between studies.

INTRODUCTION

Calprotectin (S100A8/A9 or Myeloid Related Protein 8/14) is predominantly expressed by myelomonocytic cells [1], namely monocytes and neutrophils but also in early differentiation stages of macrophage [2]. This protein constitutes, respectively, 40% and 5% of the polymorphonuclear neutrophil and monocytes cytosolic protein content. Calprotectin is an heterodimeric complex of S100A8 and S100A9 proteins, which are calcium-binding protein with EF hand calcium domains [3], constituting the physiologically active conformation of this protein. Beside calcium concentration and post-translational modifications such as phosphorylation or nitrosylation influences calprotectin quaternary structure, and therefore its physiological functions [4]. Calprotectin is an alarmin with important pro-inflammatory properties mainly secreted by activated neutrophils in a calcium-dependant manner. Extracellular calprotectin induces, in particular via binding to Toll like receptor 4 (TLR-4) and Receptor of Advanced Glycation Endproducts (RAGE), a pro-inflammatory response in monocytes/macrophages, neutrophils, lymphocytes and endothelial cells [5]. The C-terminal tail of S100A9 represents the region to which carboxyl groups of fatty acid bind. Hence, calprotectin is a unique arachidonic acid reservoir with a potential impact on cyclooxygenases activity.

Calprotectin plays an important role in inflammation as it triggers the innate immunity receptors [5]. Hence, calprotectin was identified as a marker of Rheumatoid Arthritis (RA) in the synovial fluid, with synovial concentration differentiating RA from other rheumatic diseases [6]. Growing body of evidence suggests a role for calprotectin in several Chronic Inflammatory Rheumatic Disorders such as juvenile chronic arthritis [7], RA [8], Behcet disease [9] and ANCA-associated vasculitis (AAV) [10]. Several assays are available to measure calprotectin levels such as Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay (ELISA), immunochromatography and immunoturbidimetry [11].

CALPROTECTIN (S100 A8/A9 PROTEIN) AND INFLAMMATORY CONDITIONS

A. Calprotectin is increased upon neutrophil activation

Calprotectin has a critical role in inflammation as it can activate the innate immunity pathway sensed by RAGE or TLR. Calprotectin is released when phagocytes are

activated in a calcium-dependant manner. Neutrophils release calprotectin when interaction between monocyte and activated endothelium under inflammatory conditions [3] which leads to calprotectin deposit onto the endothelium cells. S100A9 subunit interacts with endothelial cell through heparan sulfate proteoglycans. Calprotectin also recognizes carboxylated N-glycans expressed on inflammatory activated endothelial cells and favors leucocyte extravasation [5].

B. Calprotectin enhances neutrophil oxidative burst

S100A8 and S100A9 were recently introduced as partners for phagocyte NADPH oxidase regulation. They potentiate NADPH oxidase activation as positive allosteric effectors; but they also induce the change of cytochrome *b₅₅₈* conformation that initiates its activation [12].

In vitro studies suggested that S100A8 and S100A9 combine into various dimers; either homodimers or tetramers, depending of calcium concentrations. Stimulation of neutrophils by calprotectin activates NAPDH oxidase activity and increases reactive oxygen species (**Figure 1**).

C. Calprotectin is a danger signal depending on its oxidative status and post-translational modifications

Calprotectin exerts paracrine and autocrine effects [12]. Calprotectin activates TLR-4 in myeloid cells. Ligation of TLR4 by calprotectin induces wide-ranging effects on neutrophils including cytokines, matrix metalloproteinases and chemokines production and generation of reactive oxygen species.

A cross-talk between neutrophils and T cells has been identified. Neutrophils – T cells co-culture showed that, in non-inflammatory conditions, neutrophils modulate T-Cell activity through direct contact. A soluble factor was suspected to be involved in this neutrophil-T cell cross-talk. Calprotectin was the soluble factor involved in inhibition of T cell proliferation by neutrophils [13].

Furthermore, calprotectin skew T cell polarization towards a Th17 polarization. An in vitro study showed that S100A8 has a crucial role in stimulating IL-6 expression by RA synoviocytes, and subsequently promotes Th17 differentiation [14], suggesting that neutralizing calprotectin level in RA synovium may be an effective therapeutic strategy.

D. Ectopic calprotectin production upon inflammatory condition trigger endothelial dysfunction

Calprotectin is also expressed by other cell types upon inflammatory conditions such as keratinocytes in psoriasis [15] and synovial fibroblast in RA [16], suggesting a central role of calprotectin in transendothelial migration of leukocytes in psoriatic arthritis (PsA) and RA.

Calprotectin directly induces a distinct inflammatory, thrombogenic response in microvascular endothelial cells. The inflammatory response is characterized by the secretion of inflammatory cytokines, chemokines, and adhesion molecules and by increased vascular permeability [6]. Calprotectin exerts potent cytotoxic activities by inducing apoptotic and necrotic alterations in endothelial cells [7].

Calprotectin is likely secreted in vessels calcification as neutrophils colonize atheroma plaque. Calprotectin level raised locally in acute myocardial infarction, with an optimal cut off value of 8 mg/ml to identify acute myocardial infarction within 3h [9].

RHEUMATOID ARTHRITIS

A. Disease activity

In most of the trials in early and established RA, calprotectin correlates significantly with inflammatory markers and disease activity score (**Table 1**). This correlation is often statistically significant and clinically relevant. In a systematic literature review of 17 studies including a total of 1065 patients enrolled, calprotectin levels were high in active disease and were particularly high in rheumatoid factor-positive patients [17] with a significant drop upon treatment. Surrogate markers of infraclinical inflammation are currently sought to improve tight control of the disease. Some authors suggested that calprotectin could represent a proxy for local or subclinical inflammation as a correlation between baseline calprotectin levels and Ultrasonography (US) Power Doppler (PD) was found [18].

B. Structural progression and ultrasonography activity

Baseline calprotectin levels correlated with Van der Heijde modified Sharp score (SHS) progression independently from age, gender, Clinical Disease Activity Index (CDAI),

Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR), C-reactive protein (CRP) levels and Rheumatoid Factor positivity [8, 19].

Jonsson et al. showed that calprotectin is a better predictor of structural progression than ESR or CRP [20]. However, in most of trials evaluating calprotectin as a biomarker for structural damages in RA, some of the independent major predictors of structural evolution, such as anti-citrullinated protein antibodies (ACPA) and baseline erosion, was overlooked. In our assay of calprotectin blood levels in the ESPOIR cohort [21] of early RA, suggested CRP, ACPA, Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs (DMARD) treatment and calprotectin were significantly associated with structural evolution in the univariate analysis. When baseline erosion was removed from the multivariate analysis, calprotectin was the only predictor of the structural evolution over 3 years. When the presence of baseline typical erosion was combined in the multivariate Cox Model, calprotectin was not an independent predictor of structural evolution anymore. In a large scandinavian RA cohort, calprotectin was significantly correlated with B-mode synovitis ($r = 0.379$, $p < 0.001$) and PD synovitis scores ($r = 0.419$, $p < 0.001$). The multivariate regression analysis showed that calprotectin is a better predictor of the CDAI and synovitis than CRP [22]. Similarly, calprotectin had the strongest and most consistent associations with clinical variables and US sum scores in correlation analyses at baseline, among IL-6, S100A12, CRP and ESR [23]. Calprotectin positively correlated with PDUS synovitis in RA and PsA patients in clinical remission or with low disease activity in a cross-sectional study of 92 patients treated with adalimumab and etanercept [24].

C. Prediction of clinical response

In a study published in 2016 based on 87 patients, baseline blood level of calprotectin was significantly different between responders and non-responders to methotrexate ($23.99\mu\text{g/ml}$ 95% CI [15.39-42.75] versus $9.58\mu\text{g/ml}$ 95% CI [6.11-24.93], $p = 0.0025$) with an AUC = 0.705 (95% CI [0.549-0.862]), a sensitivity of 79% and a specificity of 69% at a threshold of $13.70\mu\text{g/ml}$ [25]. In another prospective cohort of patient with RA there was no significant difference between calprotectin baseline level in responders and non-responders to methotrexate [23] (**Table 2**).

Many studies have investigated the predictive value of calprotectin for clinical response to bDMARD (biologic Disease Modifying Anti-Rheumatic Drugs) with conflicting

results. Several studies showed calprotectin as an independent predictive marker of good response to anti-TNF alpha [26, 27]. Choi et al. showed a predictive value of calprotectin at baseline with adalimumab (OR 3.30 (95% CI [1.14 to 9.60], p=0.028), infliximab (OR 9.75, 95% CI [1.93 to 49.33], p=0.006) and rituximab (OR 55, 95% CI [4.30 to 703.43], p=0.002) [27]. However in a large caucasian cohort of RA patients there was no evidence that calprotectin is predictive of EULAR response to etanercept [28]. Oby et al. showed that S100A9 subunit predicts response to etanercept, with a 83% sensitivity and 70% specificity at the threshold of 2.59 ng/ml whereas calprotectin did not [26]. Another prospective study showed some predictive value of calprotectin for clinical response of adalimumab or etanercept treatment although the multivariate analysis did not include DAS28-CRP [29]. A decrease of calprotectin within the first month of treatment with bDMARD was predictive of both EULAR response and decreased sum PD scores [23].

SPONDYLOARTHRITIS

A. Diagnosis

The diagnosis of spondyloarthritis (SpA) in a young patient (<45 years) suffering from chronic low back pain with normal sacroiliac joints X-Rays suffers from a consequent diagnosis delay. Currently, magnetic resonance imaging (MRI) is the most sensitive imaging test to detect early SpA and thus helps to limit diagnostic wandering [30]. Moreover, Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS) classification criteria include, in addition to radiographic sacroiliac joints, active sacroiliitis on MRI as a diagnostic criterion for axial SpA. However, sacroiliac joint bone marrow edema is not only specific of SpA but can be found in other disorders responsible for chronic low back pain such as sacroiliac joints degenerative diseases, as well as in healthy subjects [31]. The prevalence of sacroiliac joint degenerative diseases is probably underestimated [32]. Overlooking degenerative etiologies of sacroiliac joint bone marrow edema could lead to overestimation of the SpA prevalence leading to long, expensive and unnecessary treatments, with potentially serious side effects [32]. Systemic inflammation, assessed with the CRP level, is a criterion included in the ASAS criteria, but about half of SpA patients have normal CRP levels [33]. Serum

calprotectin could reflect the local activation of inflammatory innate immune cells in enthesitis and arthritis in this pathology. Over 20 years ago, Hammer *et al.* described calprotectin as a marker of inflammation and treatment response in reactive arthritis [34]. Huang *et al.* found a moderate correlation between serum calprotectin level and MRI sacroiliac inflammation assessed with SPARCC (Spondyloarthritis Research Consortium of Canada) sacro-iliac joint (SIJ) score ($r=0.405$, $p<0.001$). Calprotectin serum levels are significantly increased in axSpA (axial Spondyloarthritis) fulfilling ASAS criteria or AS (Ankylosing Spondylitis) [9, 35-39] versus healthy control or with early inflammatory back pain [40] not fulfilling axSpA ASAS criteria whereas CRP levels could be normal. Calprotectin is not helpful to discriminate early axSpA from nonspecific inflammatory back pain with a sensitivity of 10.0%, a specificity of 90% and a positive predictive value (PPV) of 38.7% for a threshold of 412.40ng/mL [40]. In another cross sectional study, a serum calprotectin level over 0.9 mg/L display a sensitivity of 95.3%, a specificity of 82.2%, a positive likelihood ratio (LR) of 5.35 and a negative LR of 0.057 for the diagnosis of chronic inflammatory rheumatic diseases including patients with RA, SpA, Psoriatic Arthritis (PsA) and healthy controls [41]. Subsequently, calprotectin was found to be elevated in the feces of 41 % of patients with SpA [51]. In a study of 602 consecutive patients, assessed for irritable bowel syndrome using the ROME questionnaire, fecal calprotectin had a 89% sensitivity and a 79% specificity for the detection of organic bowel disease [42]. The overall accuracy of fecal calprotectin at a cut-off of 50 $\mu\text{g/g}$ for the prediction of inflammatory bowel diseases was a sensitivity of 89%, a specificity of 55%, with a negative predictive value of 92%. In a cross-sectional study of 64 patients with established SpA, elevated fecal calprotectin was associated with small bowel Crohn's Disease (OR 4.5, 95% CI [1.01-19.9]; $p = 0.042$) [43]. Although calprotectin is implemented in daily practice, one should emphasize that fecal calprotectin is not reimbursed by Healthcare resources in the context of diagnosis of inflammatory bowel diseases in France.

B. Disease activity

Serum levels of calprotectin are also highly significantly increased in Axial SpA and AS. Treatment with anti-TNF agent and anti-IL-17A agents significantly decrease calprotectin levels [44, 45]. The correlation between serum calprotectin and disease activity seems to be weaker than in RA (**Table 3**). However, one might emphasize the

wide broad of median levels of serum calprotectin in studies evaluating calprotectin as a proxy for Disease activity with discordant results (**Table 4**). A possible explanation for such heterogeneity in calprotectin levels in SpA cohorts, besides concerns raised on internal reproducibility of calprotectin assays, is a variable gut production of calprotectin which depends on subclinical gut inflammation and inflammatory bowel disease associated with SpA.

C. Structural progression

In another study, baseline calprotectin serum levels were significantly higher in patients with modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score (mSASSS) worsening versus those without [55]. Serum calprotectin in this study could predict the mSASSS worsening by ≥ 2 units at 2 years for a threshold $> 0.5 \mu\text{g/mL}$ with a sensitivity of 80%, a specificity of 62% and an Odds ratio (OR) of 6.2 (95% CI 1.6-24.2). Calprotectin in PsA was associated with presence of peripheral radiographic damage [46] but did not perform better than traditional biomarkers to assess the disease activity.

JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

In patients with polyarticular juvenile arthritis, calprotectin was much higher in synovial fluid than in serum (42 800 mg/L versus 2 060 mg/L) and significantly decreased after intraarticular triamcinolone therapy, suggesting that serum levels of this biomarkers is determined by joint production of calprotectin by myeloid cells [7]. Concentrations of calprotectin in serum displayed a strong correlation with disease activity. The exceptionally high serum levels of calprotectin in active systemic-onset juvenile arthritis suggests that calprotectin may be a marker for monitoring disease activity and response to treatment [47].

Despite correlation between calprotectin levels and disease activity in juvenile idiopathic arthritis [7, 47], calprotectin could not predict macrophage activation syndrome, which is a life-threatening complication the systemic form of the disease. A higher rate of calprotectin has been found in patient with juvenile arthritis in terms of response to methotrexate [48]. Remarkably serum levels of calprotectin were significantly higher in patients who subsequently developed flares than in patients with stable remission [17].

ANCA ASSOCIATED VASCULITIS (AAV)

A. AAV disease mechanisms and calprotectin

Granulomatosis with polyangiitis (GPA) and microscopic polyangiitis (MPA) are severe conditions that share the features of necrotizing vasculitis of small vessels in multiple organ systems and characteristic autoantibodies anti-neutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) and thus can be described together as AAV [10].

ANCA activate neutrophils and monocyte in vivo [49] inducing a calprotectin release. In inflammatory tissue, calprotectin is deposited onto the endothelium cells. Besides apoptosis, neutrophil may display another cell death program leads to the production of extracellular traps (NETs) which display microbicidal properties [50], but are highly immunogenic and may trigger adaptive immune response relevant for autoimmunity leading to ANCA formation [51]. Previous investigations showed the presence of calprotectin in NET and the antimicrobial activity of calprotectin [52]. In vivo, calprotectin is partly bound to NETs [53]. Although no ANCA were detected against calprotectin [54]. In renal biopsy of patient with AAV, calprotectin was found in glomerular lesions with endocapillary proliferation. Sclerotic lesions are generally negative for calprotectin expression [55]. The expression of calprotectin by infiltrating macrophages in the glomeruli was correlated with the severity of the inflammatory process [11]. Calprotectin plays a crucial role in the development of glomerulonephritis by exerting a proinflammatory effect on macrophages, and intrinsic renal endothelial and mesangial cells [56]. Patient with AAV have elevated levels of cell surface calprotectin on neutrophils and monocytes and the level of expression increase with the activity of the vasculitis [55]. This biomarker may help to manage the treatment in AAV because the course of disease after initial treatment is highly variable with frequently relapse. The monitoring of the disease by a biomarker could avoid an overtreatment with its risk of side effects.

B. Disease activity, relapse and response to treatment

Serum calprotectin correlate weakly with CRP ($r=0.22$, $p=0.016$), total white cell count ($r=0.23$, $p=0.01$) and Birmingham Vasculitis Activity Score for Wegener's Granulomatosis (BVAS/WG) score ($r=0.27$, $p=0.02$) [57]. Pepper *et al.* [55] have shown

that calprotectin levels at 1 or 6 months could predict future relapses, with a sensitivity of 78.6%, specificity of 92.3% and a likelihood ratio of 10.3 at a threshold of >626 ng/ml at 1 month and a sensitivity of 78.6% and specificity of 92.3% at a threshold of >454 ng/ml at 6 months, suggesting a relationship both statistically significant and clinically relevant. Calprotectin seems significantly better in the prediction of relapses than ANCA titer rising [55]. In the PR3-ANCA patient of RAVE (Rituximab versus Cyclophosphamide for ANCA-associated Vasculitis) trial, the increase in ANCA at month 2 of the induction treatment compared to baseline was not associated with the risk of a future relapse (hazard ratio (HR)=0.85 (95% CI [0.55-1.13]) whereas the increase in serum calprotectin was significantly associated (HR=2.2, 95% CI [1.17-4.26]) [57]. Hence, calprotectin could be a help to identify patients requiring more intensive or prolonged induction treatment [57].

SEPTIC ARTHRITIS

Acute bacterial septic arthritis is a severe disease. The lethality rate is 15% [58], and the risk of persistent functional impairment is high. It often presents as a monoarticular arthritis, particularly of large joints (predominantly the knee), and is more common in males. The causative organisms are diverse, with *Staphylococcus aureus* infection being the most common [59]. Diagnosis relies on clinical sign and laboratory analysis of joint aspirate. Although bacteria identification remains the cornerstone of septic arthritis management [60]. Comorbidities increase the risk of septic arthritis. Hence the major risk factor of septic arthritis is history of joint disease [60]. Main differential diagnosis of septic arthritis are microcrystal-related arthritis and chronic inflammatory rheumatic diseases, which may both present with a predominance of polymorphonuclear leukocytes in the joint fluid. Discriminating crystal induced- and septic arthritis is one of the main challenge of arthritis management in elderly [61]. Early diagnosis is crucial, as early antibiotic therapy and debridement surgery are associated with better prognosis [62].

Clinical features and serum biomarkers such as CRP and procalcitonin level display a limited diagnosis value [63]. Upon bacteria-induced activation, neutrophils release huge amount of bactericidal proteins which enhance neutrophil killing of bacteria [64]. Among these neutrophil-related bactericidal proteins, calprotectin and α -defensins could be used to discriminate infections from other joint disorders [6]. While details of

α -defensins bactericidal actions are still unclear, calprotectin chelates zinc and manganese [64] and therefore potentiate the bactericidal activity of reactive oxygen species by inhibiting the manganese-dependent superoxide dismutase activity [65]. Among parameters included in the multivariate analysis, synovial fluid calprotectin was the only independent biomarker discriminating septic arthritis from other inflammatory arthritides, with a sensitivity of 76%, a specificity of 94%, a PPV of 86% and a negative predictive value (NPV) of 88%, positive LR of 12.2 and a negative LR of 0.26 at the calprotectin thresholds of 150 mg/l (**Figure 2**). By favoring a high sensitivity, a threshold for calprotectin of 52mg/l allowed to discriminate septic arthritis from other inflammatory arthritis, with a sensitivity of 96%, a specificity of 44%, a PPV of 47% , a NPV of 95%, a positive LR of 1.71 and a negative LR of 0.09.

AREA OF UNCERTAINTY

These data support a relevant role of calprotectin as a key molecule of inflammation, which could play a role in structural immunological disorders and tissue damage in chronic inflammatory rheumatic diseases. This protein is released locally in inflammatory joints in contrast with CRP, which is produced by hepatocyte. Contrary to CRP which reflects systemic inflammation in response to local production of IL-6 [66], calprotectin is a good proxy for neutrophil activation in a biological fluid. Therefore its measurement is of particular interest within a biological fluid “closed to” the inflammation site such as synovial fluid in RA [6] and serum in AAV [57]. Nethertheless, calprotectin showed its ability to predict radiological progression in RA and relapse in AAV. However, researchers should be aware of the lack of the assay standardization, especially in the context of SpA studies, as shown in **Table 2**. Some ELISA kits are design for research use only whereas some are approved for in vitro diagnosis. Although calprotectin is a good proxy of neutrophil activation and might be of valuable interest to diagnose and monitor chronic inflammatory rheumatic diseases, previous studies suggested that comparison between assays and clinical markers of disease severity are required in order to determine their diagnostic accuracy [11].

REFERENCES

1. Edgeworth J, Gorman M, Bennett R, Freemont P, Hogg N: Identification of p8,14 as a highly abundant heterodimeric calcium binding protein complex of myeloid cells. *J Biol Chem* 1991, 266:7706-7713.
2. Odink K, Cerletti N, Bruggen J, Clerc RG, Tarcsay L, Zwadlo G, Gerhards G, Schlegel R, Sorg C: Two calcium-binding proteins in infiltrate macrophages of rheumatoid arthritis. *Nature* 1987, 330:80-82.
3. Korndorfer IP, Brueckner F, Skerra A: The crystal structure of the human (S100A8/S100A9)₂ heterotetramer, calprotectin, illustrates how conformational changes of interacting alpha-helices can determine specific association of two EF-hand proteins. *J Mol Biol* 2007, 370:887-898.
4. Lim SY, Raftery MJ, Geczy CL: Oxidative modifications of DAMPs suppress inflammation: the case for S100A8 and S100A9. *Antioxid Redox Signal* 2011, 15:2235-2248.
5. Rahman MT, Myles A, Gaur P, Misra R, Aggarwal A: TLR4 endogenous ligand MRP8/14 level in enthesitis-related arthritis and its association with disease activity and TLR4 expression. *Rheumatology (Oxford)* 2014, 53:270-274.
6. Baillet A, Trocme C, Berthier S, Arlotto M, Grange L, Chenau J, Quetant S, Seve M, Berger F, Juvin R *et al*: Synovial fluid proteomic fingerprint: S100A8, S100A9 and S100A12 proteins discriminate rheumatoid arthritis from other inflammatory joint diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2010, 49:671-682.
7. Frosch M, Strey A, Vogl T, Wulffraat NM, Kuis W, Sunderkotter C, Harms E, Sorg C, Roth J: Myeloid-related proteins 8 and 14 are specifically secreted during interaction of phagocytes and activated endothelium and are useful markers for monitoring disease activity in pauciarticular-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000, 43:628-637.
8. Hammer HB, Odegard S, Fagerhol MK, Landewe R, van der Heijde D, Uhlig T, Mowinckel P, Kvien TK: Calprotectin (a major leucocyte protein) is strongly and independently correlated with joint inflammation and damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007, 66:1093-1097.
9. Oktayoglu P, Bozkurt M, Mete N, Caglayan M, Em S, Nas K: Elevated serum levels of calprotectin (myeloid-related protein 8/14) in patients with ankylosing spondylitis and its association with disease activity and quality of life. *J Investig Med* 2014, 62:880-884.
10. Thai LH, Charles P, Resche-Rigon M, Desseaux K, Guillevin L: Are anti-proteinase-3 ANCA a useful marker of granulomatosis with polyangiitis (Wegener's) relapses? Results of a retrospective study on 126 patients. *Autoimmun Rev* 2014, 13:313-318.
11. Whitehead SJ, French J, Brookes MJ, Ford C, Gama R: Between-assay variability of faecal calprotectin enzyme-linked immunosorbent assay kits. *Ann Clin Biochem* 2013, 50:53-61.
12. Berthier S, Nguyen MV, Baillet A, Hograindleur MA, Pacllet MH, Polack B, Morel F: Molecular interface of S100A8 with cytochrome b558 and NADPH oxidase activation. *PLoS One* 2012, 7:e40277.
13. Thewissen M, Damoiseaux J, van de Gaar J, Tervaert JW: Neutrophils and T cells: bidirectional effects and functional interferences. *Mol Immunol* 2011, 48:2094-2101.
14. Lee DG, Woo JW, Kwok SK, Cho ML, Park SH: MRP8 promotes Th17 differentiation via upregulation of IL-6 production by fibroblast-like synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Exp Mol Med* 2013, 45:e20.
15. Lee Y, Jang S, Min JK, Lee K, Sohn KC, Lim JS, Im M, Lee HE, Seo YJ, Kim CD *et al*: S100A8 and S100A9 are messengers in the crosstalk between epidermis and dermis modulating a psoriatic milieu in human skin. *Biochem Biophys Res Commun* 2012, 423:647-653.
16. Kane D, Roth J, Frosch M, Vogl T, Bresnihan B, FitzGerald O: Increased perivascular synovial membrane expression of myeloid-related proteins in psoriatic arthritis. *Arthritis Rheum* 2003, 48:1676-1685.

17. Abildtrup M, Kingsley GH, Scott DL: Calprotectin as a biomarker for rheumatoid arthritis: a systematic review. *J Rheumatol* 2015, 42:760-770.
18. Hammer HB, Fagerhol MK, Wien TN, Kvien TK: The soluble biomarker calprotectin (an S100 protein) is associated to ultrasonographic synovitis scores and is sensitive to change in patients with rheumatoid arthritis treated with adalimumab. *Arthritis Res Ther* 2011, 13:R178.
19. Hammer HB, Odegard S, Syversen SW, Landewe R, van der Heijde D, Uhlig T, Mowinckel P, Kvien TK: Calprotectin (a major S100 leucocyte protein) predicts 10-year radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2010, 69:150-154.
20. Jonsson MK, Sundlisaeter NP, Nordal HH, Hammer HB, Aga AB, Olsen IC, Brokstad KA, van der Heijde D, Kvien TK, Fevang BS *et al*: Calprotectin as a marker of inflammation in patients with early rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2017, 76:2031-2037.
21. Chevreau M, Paclet MH, Romand X, Quesada JL, Vittecoq O, Dieude P, Toussaint B, Gaudin P, Baillet A: Calprotectin is not independent from baseline erosion in predicting radiological progression in early rheumatoid arthritis. Comment on 'Calprotectin as a marker of inflammation in patients with early rheumatoid arthritis' by Jonsson et al. *Ann Rheum Dis* 2018.
22. Hurnakova J, Hulejova H, Zavada J, Hanova P, Komarc M, Mann H, Klein M, Sleglova O, Olejarova M, Forejtova S *et al*: Relationship between serum calprotectin (S100A8/9) and clinical, laboratory and ultrasound parameters of disease activity in rheumatoid arthritis: A large cohort study. *PLoS One* 2017, 12:e0183420.
23. Nordal HH, Brokstad KA, Solheim M, Halse AK, Kvien TK, Hammer HB: Calprotectin (S100A8/A9) has the strongest association with ultrasound-detected synovitis and predicts response to biologic treatment: results from a longitudinal study of patients with established rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2017, 19:3.
24. Inciarte-Mundo J, Ramirez J, Hernandez MV, Ruiz-Esquide V, Cuervo A, Cabrera-Villalba SR, Pascal M, Yague J, Canete JD, Sanmarti R: Calprotectin and TNF trough serum levels identify power Doppler ultrasound synovitis in rheumatoid arthritis and psoriatic arthritis patients in remission or with low disease activity. *Arthritis Res Ther* 2016, 18:160.
25. Patro PS, Singh A, Misra R, Aggarwal A: Myeloid-related Protein 8/14 Levels in Rheumatoid Arthritis: Marker of Disease Activity and Response to Methotrexate. *J Rheumatol* 2016, 43:731-737.
26. Obry A, Lequerre T, Hardouin J, Boyer O, Fardellone P, Philippe P, Le Loet X, Cosette P, Vittecoq O: Identification of S100A9 as biomarker of responsiveness to the methotrexate/etanercept combination in rheumatoid arthritis using a proteomic approach. *PLoS One* 2014, 9:e115800.
27. Choi IY, Gerlag DM, Herenius MJ, Thurlings RM, Wijbrandts CA, Foell D, Vogl T, Roth J, Tak PP, Holzinger D: MRP8/14 serum levels as a strong predictor of response to biological treatments in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2015, 74:499-505.
28. Smith SL, Plant D, Eyre S, Hyrich K, Morgan AW, Wilson AG, Isaacs JD, Barton A: The predictive value of serum S100A9 and response to etanercept is not confirmed in a large UK rheumatoid arthritis cohort. *Rheumatology (Oxford)* 2017, 56:1019-1024.
29. Tweehuysen L, den Broeder N, van Herwaarden N, Joosten LAB, van Lent PL, Vogl T, van den Hoogen FHJ, Thurlings RM, den Broeder AA: Predictive value of serum calprotectin (S100A8/A9) for clinical response after starting or tapering anti-TNF treatment in patients with rheumatoid arthritis. *RMD Open* 2018, 4:e000654.
30. Rudwaleit M, van der Heijde D, Landewe R, Akkoc N, Brandt J, Chou CT, Dougados M, Huang F, Gu J, Kirazli Y *et al*: The Assessment of SpondyloArthritis International Society classification criteria for peripheral spondyloarthritis and for spondyloarthritis in general. *Ann Rheum Dis* 2011, 70:25-31.

31. de Winter J, de Hooge M, van de Sande M, de Jong H, van Hoeven L, de Koning A, Berg IJ, Ramonda R, Baeten D, van der Heijde D *et al*: Magnetic Resonance Imaging of the Sacroiliac Joints Indicating Sacroiliitis According to the Assessment of SpondyloArthritis international Society Definition in Healthy Individuals, Runners, and Women With Postpartum Back Pain. *Arthritis Rheumatol* 2018, 70:1042-1048.
32. Baillet A, Gastaldi R, Ravey JN, Gaudin P: Bone Marrow Edema in the Sacroiliac Joint-Degenerative Sacroiliac Joint Disease Might Be More Likely Than Spondyloarthritis: Comment on the Article by Turina *et al*. *Arthritis Rheumatol* 2017, 69:1123-1124.
33. Benhamou M, Gossec L, Dougados M: Clinical relevance of C-reactive protein in ankylosing spondylitis and evaluation of the NSAIDs/coxibs' treatment effect on C-reactive protein. *Rheumatology (Oxford)* 2010, 49:536-541.
34. Hammer HB, Kvien TK, Glennas A, Melby K: A longitudinal study of calprotectin as an inflammatory marker in patients with reactive arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1995, 13:59-64.
35. Cypers H, Varkas G, Beeckman S, Debusschere K, Vogl T, Roth J, Drennan MB, Lavric M, Foell D, Cuvelier CA *et al*: Elevated calprotectin levels reveal bowel inflammation in spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2016, 75:1357-1362.
36. Gupta L, Bhattacharya S, Agarwal V, Aggarwal A: Elevated levels of serum MRP8/14 in ankylosing spondylitis: associated with peripheral arthritis and active disease. *Clin Rheumatol* 2016, 35:3075-3079.
37. Huang J, Yin Z, Song G, Cui S, Jiang J, Zhang L: Discriminating Value of Calprotectin in Disease Activity and Progression of Nonradiographic Axial Spondyloarthritis and Ankylosing Spondylitis. *Dis Markers* 2017, 2017:7574147.
38. Klingberg E, Carlsten H, Hilme E, Hedberg M, Forsblad-d'Elia H: Calprotectin in ankylosing spondylitis--frequently elevated in feces, but normal in serum. *Scand J Gastroenterol* 2012, 47:435-444.
39. Turina MC, Sieper J, Yeremenko N, Conrad K, Haibel H, Rudwaleit M, Baeten D, Poddubnyy D: Calprotectin serum level is an independent marker for radiographic spinal progression in axial spondyloarthritis. *Ann Rheum Dis* 2014, 73:1746-1748.
40. Turina MC, Yeremenko N, van Gaalen F, van Oosterhout M, Berg IJ, Ramonda R, Lebre CM, Landewe R, Baeten D: Serum inflammatory biomarkers fail to identify early axial spondyloarthritis: results from the SpondyloArthritis Caught Early (SPACE) cohort. *RMD Open* 2017, 3:e000319.
41. Grossi V, Infantino M, Manfredi M, Meacci F, Bellio E, Bellio V, Gobbi FL, Ugolini S, Catani S, Sarzi-Puttini P *et al*: Serum Calprotectin Levels as a Marker of Arthritis: An Italian Experience. *Curr Rheumatol Rev* 2016.
42. Melchior C, Aziz M, Aubry T, Gourcerol G, Quillard M, Zalar A, Coeffier M, Dechelotte P, Leroi AM, Ducrotte P: Does calprotectin level identify a subgroup among patients suffering from irritable bowel syndrome? Results of a prospective study. *United European Gastroenterol J* 2017, 5:261-269.
43. Kopylov U, Starr M, Watts C, Dionne S, Girardin M, Seidman EG: Detection of Crohn Disease in Patients with Spondyloarthropathy: The SpACE Capsule Study. *J Rheumatol* 2018, 45:498-505.
44. Turina MC, Yeremenko N, Paramarta JE, De Rycke L, Baeten D: Calprotectin (S100A8/9) as serum biomarker for clinical response in proof-of-concept trials in axial and peripheral spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther* 2014, 16:413.
45. Baeten D, Baraliakos X, Braun J, Sieper J, Emery P, van der Heijde D, McInnes I, van Laar JM, Landewe R, Wordsworth P *et al*: Anti-interleukin-17A monoclonal antibody secukinumab in treatment of ankylosing spondylitis: a randomised, double-blind, placebo-controlled trial. *Lancet* 2013, 382:1705-1713.
46. Madland TM, Larsen A, Brun JG: S100 proteins calprotectin and S100A12 are related to radiographic changes rather than disease activity in psoriatic arthritis with low disease activity. *J Rheumatol* 2007, 34:2089-2092.

47. Frosch M, Vogl T, Seeliger S, Wulffraat N, Kuis W, Viemann D, Foell D, Sorg C, Sunderkotter C, Roth J: Expression of myeloid-related proteins 8 and 14 in systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2003, 48:2622-2626.
48. Moncrieffe H, Ursu S, Holzinger D, Patrick F, Kassoumeri L, Wade A, Roth J, Wedderburn LR: A subgroup of juvenile idiopathic arthritis patients who respond well to methotrexate are identified by the serum biomarker MRP8/14 protein. *Rheumatology (Oxford)* 2013, 52:1467-1476.
49. Falk RJ, Terrell RS, Charles LA, Jennette JC: Anti-neutrophil cytoplasmic autoantibodies induce neutrophils to degranulate and produce oxygen radicals in vitro. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1990, 87:4115-4119.
50. Brinkmann V, Reichard U, Goosmann C, Fauler B, Uhlemann Y, Weiss DS, Weinrauch Y, Zychlinsky A: Neutrophil extracellular traps kill bacteria. *Science* 2004, 303:1532-1535.
51. Sangaletti S, Tripodo C, Chiodoni C, Guarnotta C, Cappetti B, Casalini P, Piconese S, Parenza M, Guiducci C, Vitali C *et al*: Neutrophil extracellular traps mediate transfer of cytoplasmic neutrophil antigens to myeloid dendritic cells toward ANCA induction and associated autoimmunity. *Blood* 2012, 120:3007-3018.
52. Urban CF, Ermert D, Schmid M, Abu-Abed U, Goosmann C, Nacken W, Brinkmann V, Jungblut PR, Zychlinsky A: Neutrophil extracellular traps contain calprotectin, a cytosolic protein complex involved in host defense against *Candida albicans*. *PLoS Pathog* 2009, 5:e1000639.
53. Bjarnason I, Helgason KO, Geirsson AJ, Sigthorsson G, Reynisdottir I, Gudbjartsson D, Einarsdottir AS, Sherwood R, Kristjansson K, Kjartansson O *et al*: Subclinical intestinal inflammation and sacroiliac changes in relatives of patients with ankylosing spondylitis. *Gastroenterology* 2003, 125:1598-1605.
54. Schultz H, Csernok E, Herlyn K, Reichel PH, Moosig F, Cornely OA, Fagerhol MK, Gross WL: ANCA against bactericidal/permeability-increasing protein, azurocidin, calprotectin and defensins in rheumatic and infectious diseases: prevalence and clinical associations. *Clin Exp Rheumatol* 2003, 21:S117-120.
55. Pepper RJ, Hamour S, Chavele KM, Todd SK, Rasmussen N, Flint S, Lyons PA, Smith KG, Pusey CD, Cook HT *et al*: Leukocyte and serum S100A8/S100A9 expression reflects disease activity in ANCA-associated vasculitis and glomerulonephritis. *Kidney Int* 2013, 83:1150-1158.
56. Pepper RJ, Wang HH, Rajakaruna GK, Papakrivopoulou E, Vogl T, Pusey CD, Cook HT, Salama AD: S100A8/A9 (calprotectin) is critical for development of glomerulonephritis and promotes inflammatory leukocyte-renal cell interactions. *Am J Pathol* 2015, 185:1264-1274.
57. Pepper RJ, Draibe JB, Caplin B, Fervenza FC, Hoffman GS, Kallenberg CG, Langford CA, Monach PA, Seo P, Spiera R *et al*: Association of Serum Calprotectin (S100A8/A9) Level With Disease Relapse in Proteinase 3-Antineutrophil Cytoplasmic Antibody-Associated Vasculitis. *Arthritis Rheumatol* 2017, 69:185-193.
58. Weston VC, Jones AC, Bradbury N, Fawthrop F, Doherty M: Clinical features and outcome of septic arthritis in a single UK Health District 1982-1991. *Ann Rheum Dis* 1999, 58:214-219.
59. Rutherford AI, Subesinghe S, Bharucha T, Ibrahim F, Kleymann A, Galloway JB: A population study of the reported incidence of native joint septic arthritis in the United Kingdom between 1998 and 2013. *Rheumatology (Oxford)* 2016, 55:2176-2180.
60. Ornelas-Aguirre JM: Septic arthritis in adults in a tertiary care center. *Reumatol Clin* 2016, 12:27-33.
61. Lim SY, Lu N, Choi HK: Septic arthritis in gout patients: a population-based cohort study. *Rheumatology (Oxford)* 2015, 54:2095-2099.
62. Valour F, Bouaziz A, Karsenty J, Ader F, Lustig S, Laurent F, Chidiac C, Ferry T, Lyon BJJsg: Determinants of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* native bone and joint infection treatment failure: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis* 2014, 14:443.

63. Zhao J, Zhang S, Zhang L, Dong X, Li J, Wang Y, Yao Y: Serum procalcitonin levels as a diagnostic marker for septic arthritis: A meta-analysis. *Am J Emerg Med* 2017, 35:1166-1171.
64. Kehl-Fie TE, Chitayat S, Hood MI, Damo S, Restrepo N, Garcia C, Munro KA, Chazin WJ, Skaar EP: Nutrient metal sequestration by calprotectin inhibits bacterial superoxide defense, enhancing neutrophil killing of *Staphylococcus aureus*. *Cell Host Microbe* 2011, 10:158-164.
65. Garcia YM, Barwinska-Sendra A, Tarrant E, Skaar EP, Waldron KJ, Kehl-Fie TE: A Superoxide Dismutase Capable of Functioning with Iron or Manganese Promotes the Resistance of *Staphylococcus aureus* to Calprotectin and Nutritional Immunity. *PLoS Pathog* 2017, 13:e1006125.
66. Li SP, Goldman ND: Regulation of human C-reactive protein gene expression by two synergistic IL-6 responsive elements. *Biochemistry* 1996, 35:9060-9068.
67. Roseth AG, Fagerhol MK, Aadland E, Schjonsby H: Assessment of the neutrophil dominating protein calprotectin in feces. A methodologic study. *Scand J Gastroenterol* 1992, 27:793-798.
68. Andres Cerezo L, Mann H, Pecha O, Plestilova L, Pavelka K, Vencovsky J, Senolt L: Decreases in serum levels of S100A8/9 (calprotectin) correlate with improvements in total swollen joint count in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther* 2011, 13:R122.
69. Levitova A, Hulejova H, Spiritovic M, Pavelka K, Senolt L, Husakova M: Clinical improvement and reduction in serum calprotectin levels after an intensive exercise programme for patients with ankylosing spondylitis and non-radiographic axial spondyloarthritis. *Arthritis Res Ther* 2016, 18:275.

Table 1. Blood calprotectin correlates with disease activity in Rheumatoid arthritis.

Study	CRP	ESR	DAS28	SJC	Blood samples	ASSAY ; Mean calprotectin level
Hammer HB <i>et al.</i> 2010 [19]	0.59	0.67	N/A	N/A	EDTA plasma	Home-made ELISA [67] ; Median 2.2, IQR (1.1–4.2) mg/l
Hammer HB <i>et al.</i> 2007 [17]	0.57	0.50	0.55	0.49	EDTA plasma	Home-made ELISA [67]; Median 1.8, Range (0.3–8.7) mg/l
Andres Cerezo L <i>et al.</i> 2011 [68]	0.44	N/A	0.50	0.44	Serum	BÜHLMANN LABORATORIES AG, SWITZERLAND; Mean±SD 5.99±0.88 mg/L and 1.92± 1.16 mg/L respectively before and after treatment
Jonsson MK <i>et al.</i> ,2017 [20]	0.66	0.50	N/A	N/A	EDTA plasma	CALPROLAB, NORWAY; Median (IQR) 1.05 (0.57, 2.24) mg/L
Hurnakova J <i>et al.</i> 2017 [22]	0.56	0.380	0.35	N/A	Serum	BÜHLMANN LABORATORIES AG, SWITZERLAND; Median (range) 2.9 (0.8-3.4) and 1.7 (0.4-3.4) µg/mL
Nordal HH <i>et al.</i> 2017 [23]	N/A	N/A	0.49	0.47	EDTA plasma	CALPRO AS, NORWAY Median (IQR) 1.15 (0.70–1.945) mg/L

CRP: C-reactive protein, ESR: Erythrocyte Sedimentation Rate, DAS 28: Disease Activity Score of 28 joints, SJC: Swollen Joint Count, EDTA: Éthylènediaminetétraacétique, IQR= 25,75 percentile, N/A not assessed.

Table 2. Calprotectin as a biomarker of DMARD response in rheumatoid arthritis.

Study	Treatment	Serum plasma /	Calprotectin in responders vs. non responders	Threshold	Results
Nordal <i>et al.</i> [23]	ETN 40%, RTX 22%, TCZ 9%, IFX 9%, CZP 8%, ADA 4%, ABA 3%	Plasma calprotectin (ELISA calpronorway)	Higher baseline value of calprotectin in EULAR responders at 3 and 12 months	ND	ND
Patro <i>et al.</i> [25]	MTX	Serum calprotectin (ELISA BMA biomed)	Responders 23.99µg/ml 95%CI [15.39; 42.75] Non responders 9.58 µg/ml 95%CI [6.11; 24.93], p=0.003	13.7 µg/ml	AUC 0.70% 95%CI [0.54; 0.86] Se 79% Spe 69% VPP 73%
Obry <i>et al.</i> [26]	MTX + ETN	Serum calprotectin (ELISA CUSABIO)	Responders 510±130ng/ml Non responders 770±210ng/ml, p=0.32	ND	ND
Choi <i>et al.</i> [27]	ADA (n= 86)	Serum calprotectin ELISA	Responders 1100ng/ml IQR 711-1615 Non responders 730 ng/ml IQR 575-1065, p=0.010	995 ng/ml	Se 57% Spe 71%
	IFX (n= 60)	Serum ELISA	Responders 2650 ng/ml IQR 1483-4120 Non responders 1220 ng/ml IQR 1053-1533, p=0.001	2027 ng/ml	Se 62% Spe 86%
	RTX (n= 24)	Serum ELISA	Responders 2811 ng/ml IQR 1945-4525 Non responders 1050 ng/ml IQR 780-1290, p <0.001	1665 ng/ml	Spe 91% Se 85%
Tweehuysen <i>et al.</i> [13]	ADA (n= 50) ETN (n= 75)	Serum calprotectin ELISA (university of Münster)	Responders 985 ng/ml IC 95% (558; 1417) Non responders 645 ng/ml IC 95% (415; 973) p =0.04	ND	AUC 0.61 95% IC (0.50; 0.71)
Smith <i>et al.</i> [28]	ETN (n= 236)	Serum calprotectin ELISA (Cusabio, china)	Good responders 165.5 ng/m Moderate responders 183.7 ng/ml Non responders 183.8ng/ml, p=0.957	ND	OR 1.0 95% CI (0.997, 1.003)

EULAR: European League Against Rheumatism, ND: non defined, OR: odd ratio, AUC : area under the curve, Se: sensitivity, Spe: specificity, PPV : positive predictive value, CI: confidence interval, IQR : interquartile range, ADA: adalimumab, IFX: infliximab, RTX: rituximab, ETN: etanercept, MTX : methotrexate, TCZ: tocilizumab, CZP: certolizumab, ABA : abatacept

Table 3. Serum calprotectin correlates weakly with disease activity in axial spondyloarthritis.

Study	Disease	CRP	BASDAI	ASDAS-CRP	SJC	Structural
J.Huang <i>et al.</i> 2017 [37]	AS mNY+ Nr-axSpA ASAS +	0.431 ^{***}	0.481 ^{***}	0.378 ^{***}	N/A	SPARCC-SI 0.405 ^{***} mSASSS -0.033
Turina <i>et al.</i> 2014 [39]	AS mNY + or ax SpA with one syndesmophyte	0.382 ^{***}	N/A	N/A	N/A	N/A
Cypers <i>et al.</i> 2016 [35]	axSpA ASAS + or SpA peripheral ASAS+	0.386 ^{***}	NS	N/A	NS	N/A
Gupta <i>et al.</i> 2016 [36]	axSpA ASAS +	0.279 ^{**}	0.15 ^{NS}	0.23 ^{**}	0.38 ^{**}	N/A
Oktayoglu <i>et al.</i> 2014 [9]	AS mNY +	-0.234 ^{NS}	-0.278 ^{NS}	0.243 ^{NS}	N/A	N/A
Klingberg <i>et al.</i> 2012 [38]	AS mNY +	0.337 ^{***}	NS	0.162 ^{NS}	N/A	N/A
Turina <i>et al.</i> 2014 [44]	SpA ESSG +	0.646 [*]	0.325 [*]	N/A	N/A	N/A

SpA : spondyloarthritis, AS : ankylosing spondylitis, Nr-ax SpA : non radiological axial spondyloarthritis, axSpA: axial spondyloarthritis, mNY+: modified New York criteria, ASAS: Assessment of Spondyloarthritis international Society criteria, ESSG: European Spondylarthropathy Study Group, SPARCC: SPondyloArthritis Research Consortium of Canada, mSASSS: modified Stokes Ankylosing Spondylitis Spine Score

*p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001, N/A: not assessed, NS: not significant

Table 4. Serum calprotectin level assessed with different ELISA kit in axial spondyloarthritis and ankylosing spondylitis.

Study	Elisa Kit	Disease	Patients (n)	Male (%)	Age, years	Disease duration, years	HLA B27 (%)	BASDAI	Serum calprotectin (mg/L)
Turina et al. [40]	HYCULT BIOTECH, the Netherlands §	axSpA ASAS +	119	51	32±8	1.1±0.6	86	3.9±2.4	0.294 (0.214-0.367)
Turina et al. [39]		AS mNY + or axSpA with syndesmophyte	76	66	38±12	4.6±2.8	82	ND	mSASSS worsening 0.68±0.21 without mSASSS worsening 0.48±0.26
Turina et al. [44]		SpA ESSG +	37	68	48 (29-66)	8.0 (2.0-34.0)	55	5.3 (2.8-8.6)	SpA 1.760±0.13
Huang et al. [37]	CUSABIO BIOTECH Co, China	AS mNY+ or axSpA ASAS +	53 AS, 59 nr-axSpA Nr-axSpA	66	AS 32±8, Nr-axSpA 34±8	AS 5.2±3.6, Nr-axSpA 5.0±4.1	AS 86.7 Nr-axSpA: 81.3	AS 3.4±1.1 Nr-axSpA 4.2±1.4	AS 0,015±0,007 Nr-axSpA 0.018±0.009
Cypers et al. [35]	BÜHLMANN LABORATORIES AG, Schoenenbuch, Switzerland §§	axSpA ASAS + or peripheral SpA ASAS +	45 AS, 59 nr-ax SpA, 21peripheral SpA ASAS +	ND	ND	ND	AS 86, Nr-axSpA 70, periphereal SpA 55	ND	No bowel inflammation 3.022 (0.741–10.106), bowel inflammation 3.948 (0.782–17.246)
Levitova et al. [69]		axSpA ASAS +	40 All axSpA ASAS+ 18Nr-axSpA 22 AS	All axSpA ASAS + 67,5, Nr-axSpA 50, AS 82	All axSpA ASAS + 37±1, Nr-axSpA 37±2, AS 37±1	All axSpA ASAS+ 9.9±1.3, Nr-axSpA 7.1±2.2, AS 12.3±1	All axSpA ASAS+ 90.0, Nr-axSpA 89 AS 91	All axSpA ASAS+ 2.78±0.31, Nr-axSpA 2.98±0.28, AS 2.63±0.35	All axSpA ASAS+ 2.408±0.183, Nr-axSpA 2.379±0.243 AS 2.430±0.270
Gupta et al. [36]	BIOLEGEND, USA §	axSpA ASAS +	99	91	30 (16-62)	6.0 (0.3-30.0)	90	ND	34.1 (17.94–264.58)
Oktayoglu et al. [9]	IMMUNDIAGNOS TIK, Germany	AS mNY +	31	74	29.7±8.1	5.5±4.5	71	4.2±1.7	0.819±0.553
Klingberg et al. [38]		AS mNY+	205	57	50±13	24±13	87	3.6±2.1	0.660±0.860

ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, HLA B27: human leukocyte antigen B27, BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, AS: ankylosing spondylitis, mNY: modified New York criteria, AxSpA: axial spondyloarthritis, Nr-axSpA: non radiological axial spondyloarthritis, ASAS: Assessment of Spondyloarthritis international Society criteria, mSASSS: modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score, ESSG: European Spondylarthropathy Study Group criteria, ND: Not Defined.

Continuous data are presented as mean \pm standard deviation or median (range). § Research use only ELISA kit; §§ In vitro diagnosis ELISA kit

Figure 1. Calprotectin enhances NADPH oxidase activity

ROS production assay (Amplex red™) of pseudo-neutrophils (PMA-differentiated PLB985 at day 4) incubated with calprotectin or Phosphate Buffer Saline (PBS) during 1H at 37°C. Relative Luminescence Unit: RLU

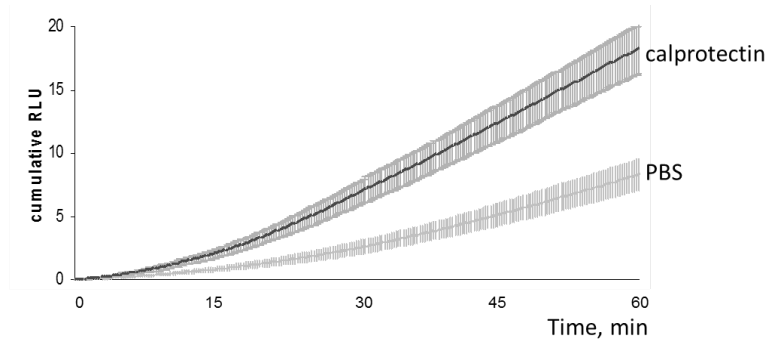
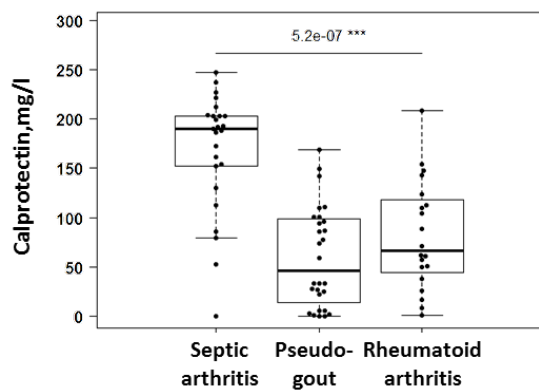


Figure 2. Calprotectin discriminates septic arthritis from pseudogout and rheumatoid arthritis.



Kruskal-Wallis rank sum test (septic arthritis *versus* pseudogout *versus* rheumatoid arthritis), *** $p < 0.001$.

3. **Annexe tableau 1.** Calprotectine sérique dosée par méthode ELISA dans la spondyloarthrite axiale et spondylarthrite ankylosante.

Etudes	Kit ELISA	Type de SpA	Patients (n)	Male (%)	Age, (années)	Durée maladie (années)	HLA B27 (%)	BASDAI	Calprotectine sérique (mg/L)
Turina et al. (83)	HYCULT BIOTECH, Pays Bas [§]	SpAax ASAS +	119	51	32±8	1,1±0,6	86	3,9±2,4	0,294 (0,214-0,367)
Turina et al. (94)		SA mNY + ou SpAax avec syndesmophytes	76	66	38±12	4,6±2,8	82	NR	ProgressEUR mSASSS 0,68±0,21 Non progressEUR mSASSS 0,48±0,26
Turina et al. (91)		SpA ESSG +	37	68	48 (29-66)	8,0 (2,0-34,0)	55	5,3 (2,8-8,6)	SpA 1,760±0,13
Huang et al. (88)	CUSABIO BIOTECH Co, Chine	SA mNY+ or SpAax ASAS +	53 SA, 59 Nr-SpAax	66	SA 32±8, Nr-SpAax 34±8	SA 5,2±3,6, Nr SpAax : 5,0±4,1	SA: 86,79% Nr-SpAax: 81,36%	SA: 3,4±1,1 Nr-SpAax: 4,2±1,4	SA 0,015±0,007 Nr-SpAax 0,018±0,009
Cypers et al. (92)	BÜHLMANN LABORATORIES AG, Schoenenbuch, Suisse ^{§§}	SpAax ASAS + or SpA périphérique ASAS +	45 AS, 59 nr-SpAax et 21 SpA périphérique ASAS +	NR	NR	NR	86%SA, 70%Nr SpAax, 55% SpA périphérique	NR	Absence inflammation digestive : 3,022 (0,741–10,106), Présence inflammation digestive 3,948 (0,782–17,246)
Levitova et al. (108)		SpAax ASAS +	SpAax ASAS+ 40	SpAax ASAS+ 67,5	SpA ax ASAS+ 37±1,	SpAax ASAS+ 9,9±1,3,	SpA ax ASAS+ 90,0	SpAax ASAS+ 2,78±0,31,	SpAax ASAS+ 2,408±0,183,
Gupta et al. (89)	BIOLEGEND, Etats Unis [§]	SpAax ASAS +	99	91	30 (16-62)	6,0 (0.3-30,0)	90	NR	34,1 (17,94–264,58)
Oktayoglu et al. (90)	IMMUNDIAG NOSTIK, Allemagne	SA mNY +	31	74	29,7±8,1	5,5±4,5	71	4,2±1,7	0,819±0,553
Klingberg et al. (85)		SA mNY+	205	57	50±13	24±13	87	3,6±2,1	0,660±0,860

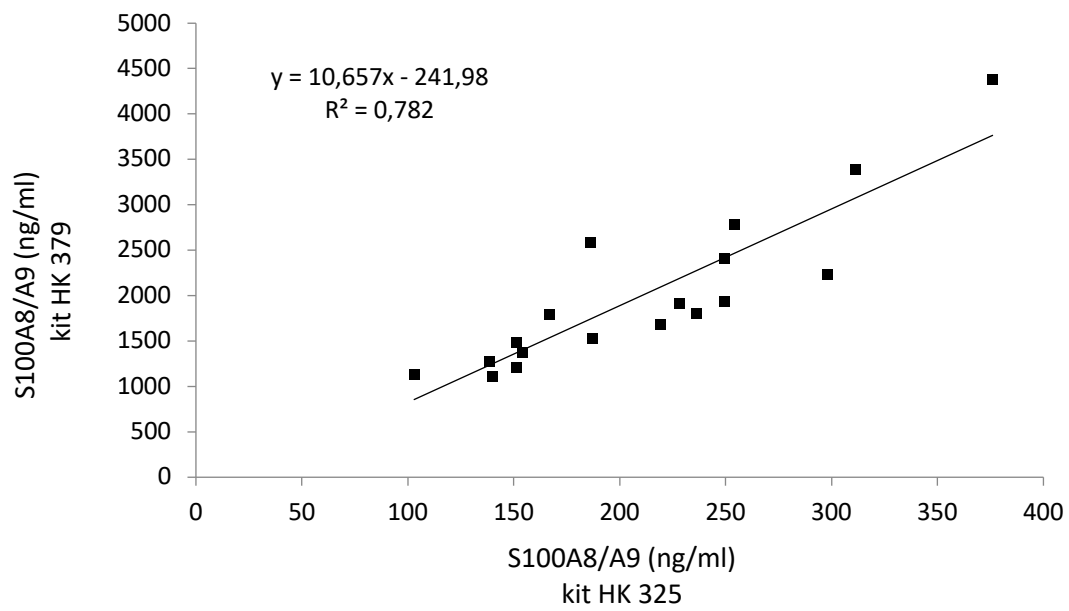
ELISA: Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, HLA B27: human leukocyte antigen B27, BASDAI: Bath Ankylosing Spondylitis Disease Activity Index, SA: spondylarthrite ankylosante, mNY: critères de New York modifiés, SpAax: spondyloarthrite axiale, Nr-SpAax: spondyloarthrite axiale non radiologique, ASAS: critère de l'Assessment of Spondyloarthritis international Society, mSASSS: modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal Score, ESSG : critères de l'European Spondylarthropathy Study Group, NR: non rapporté. Les données continues sont présentées comme la moyenne ± l'écart type ou la médiane (gamme de valeurs). [§] ELISA kit uniquement pour la recherche; ^{§§} ELISA kit diagnostic in vitro

4. **Annexe tableau 2.** Résultats du dosage de la calprotectine sérique et comparaison des résultats en fonction des kits ELISA utilisés dans la spondyloarthrite axiale répondant aux critères ASAS et spondylarthrite ankylosante.

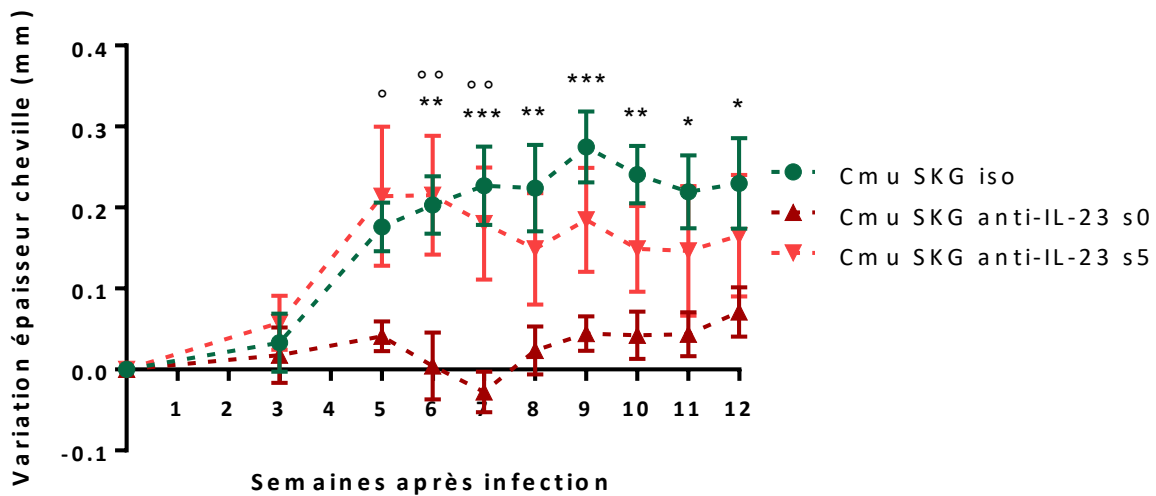
Kit ELISA dosage calprotectine sérique	Etudes	Calprotectine sérique (ng/mL)	Ratio SpAax ASAS ^a	Ratio SA mNY ^a	Ratio test ELISA pour SpAax ASAS ^b
Hycult Biotech, Pays Bas	Romand <i>et al.</i>	SpAax ASAS+ : 277,6±175,63 SA mNY+ : 288,4±170,08	Ref	Ref	Ref
	Turina <i>et al.</i> ARD 2014 (94)	SA mNY+ progressEUR mSASSS : 680±21 SA mNY+ mSASSS non progressEUR: 480±26		2,36 1,66	2,36
	Turina <i>et al.</i> RMD open 2017 (83)	SpAax ASAS+ : 294 (214-367)	1,06		1,06
Cusabio Biotech Co., Chine	J.Huang <i>et al.</i> Disease Markers 2017 (88)	SA mNY+ : 15,30 ± 6,49 Nr-SpAax ASAS+ : 17,76 ± 8,59	0,06	0,05	
Bühlmann Laboratories AG, Schoenenbuch, Suisse	Cypers <i>et al.</i> ARD 2016 (92)	SpAax ASAS+ avec biopsie digestive normale : 3022 (741–10 106)	10,9		Ref
	Levitova <i>et al.</i> Arthritis Research & Therapy 2016 (108)	SpAax ASAS+ : 2408,0 ± 183,30 SA mNY+ : 2430,0 ± 269,70	8,6	8,4	0,8
BioLegend, San Diego États Unis	Gupta <i>et al.</i> Clin Rheumatol 2016 (89)	SpAax ASAS+ : 3410 (1794–26458)	12,3		
Immundiagnostik, AG, Bensheim Allemagne	Oktayoglu <i>et al.</i> J Investig Med 2014 (90)	SA mNY+ : 818,58 +/- 553,13		2,84	Ref
	Klingberg <i>et al.</i> Scandinavian Journal of Gastroenterology 2012 (85)	SA mNY+ : 660 ± 860 ng/mL		2,29	0,81

ELISA : Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay, SA : Spondylarthrite Ankylosante, mNY : critères de New York modifiés, SpAax : spondyloarthrite axiale, ASAS : critères de l'Assessment of Spondyloarthritis international Society, mSASSS : modified stoke ankylosing spondylitis spinal score
^arapport entre le niveau de calprotectine sérique retrouvé dans l'étude, pour la même pathologie comparé au niveau de calprotectine retrouvée dans notre étude, ^brapport entre le niveau de calprotectine sérique retrouvé dans une étude comparé au niveau de calprotectine retrouvée dans un étude choisi de façon arbitraire utilisant le même kit de dosage ELISA.

5. **Annexe figure 1.** Corrélation des dosages de calprotectine sérique entre le kit HK 325 (kit utilisé dans notre étude) et le kit HK 379, effectués sur 18 échantillons de patients choisis aléatoirement dans la cohorte DESIR.



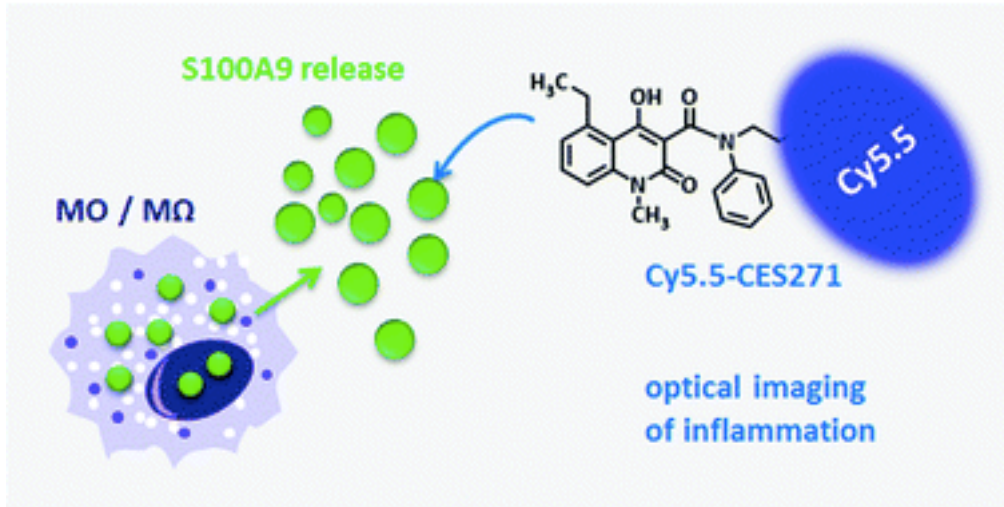
6. Annexe figure 2. Évolution hebdomadaire de l'index inflammatoire des chevilles chez les souris SKG infectées par *C.muridarum* (Cmu SKG) avec blocage de l'IL-23p19 par une immunoglobuline monoclonale anti-IL-23p19.



La barre représente la variation de l'épaisseur moyenne des chevilles par rapport à la moyenne de la mesure à baseline \pm SEM. Cmu SKG iso : 13 souris SKG infectées traitées par l'isotype, Cmu SKG anti-IL-23 s0 : 9 souris SKG infectées traitées par l'anti-IL-23p19 dès le jour de l'infection, Cmu SKG anti-IL-23 s5 : 8 souris SKG infectées traitées par l'anti-IL-23p19 à 5 semaines de l'infection. * $p < 0,05$, ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ comparant avec le test de Kruskal-Wallis le groupe Cmu SKG anti-IL-23p19 s0 au groupe Cmu SKG iso. ° $p < 0,05$, °° $p < 0,01$ comparant avec le test de Kruskal-Wallis le groupe CmuSKG anti-IL-23p19 s5 au groupe anti-IL-23p19 s0.

Données issue du Master 2 intitulé « Effet du blocage de l'IL-17A et IL-23 par anticorps monoclonaux anti-IL-17A et anti-IL-23p19 dans le modèle murin SKG d'arthrite réactionnelle induite par Chlamydia muridarum » X.Romand 2017.

7. **Annexe figure 3.** Le Cy5.5-CES27, nouveau radiotracer non peptidique, basé sur la conformation de la Quinoline-3-carboxamide, présentant une haute affinité pour la protéine S100 A9

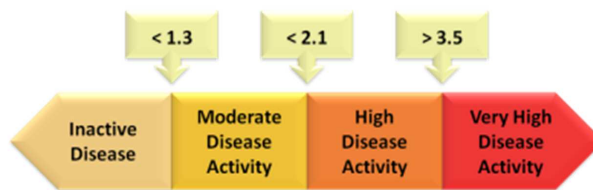


ASDAS

Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score

Back Pain [0-10]	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text"/>
Duration Morning Stiffness [0-10]	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text"/>
Patient Global [0-10]	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text"/>
Peripheral Pain/Swelling [0-10]	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text"/>
C-Reactive Protein (mg/l)	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text"/>
Erythrocyte Sedimentation Rate (mm/hr)	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text"/>
ASDAS-CRP	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text"/>
ASDAS-ESR	<input style="width: 100%; height: 20px;" type="text"/>

ASDAS disease activity states



ASDAS improvement criteria



A CRP value <math>< 2\text{mg/L}</math> is not allowed. If the conventional CRP is below the limit of detection or if the high sensitivity CRP is <math>< 2\text{mg/L}</math>, the constant value of 2mg/L should be used.

Score Ankylosing Spondylitis Disease Activity Score (ASDAS)

Score combinant cinq variables d'activité de la maladie en incluant le syndrome inflammatoire (CRP).

1. Pouvez-vous mettre vos chaussettes ou vos collants sans aide extérieure et sans moyen extérieur (ex. tire-bas) ?
2. Pouvez-vous vous pencher en avant pour ramasser un stylo par terre, sans aide ?
3. Pouvez-vous prendre quelque chose sur une étagère élevée sans aide (ex. pince) ?
4. Pouvez-vous vous lever d'un siège dans accoudoirs, sans vous aider de vos mains ni d'aucune aide ?
5. Pouvez-vous passer de la position couchée sur le dos à la position debout sans aide ?
6. Pouvez-vous rester debout 10 minutes sans soutien et sans avoir mal ?
7. Pouvez-vous monter 12 à 15 marches sans vous tenir à la rampe ou utiliser un autre soutien et en ne posant qu'un seul pied par marche ?
8. Pouvez-vous regarder par-dessus votre épaule sans vous retourner ?
9. Pouvez-vous effectuer des activités nécessitant un effort physique (ex : kinésithérapie, jardinage ou sport) ?
10. Pouvez-vous rester actif toute la journée, que ce soit chez vous ou au travail ?

TOTAL

||

Questionnaire Bath Ankylosing Spondylitis Functional Index (BASFI)

Chaque item est coté de 0 (action réalisée sans problème) à 10 (action impossible).
 Le score total est la moyenne de tous les items et varie de 0 à 10.

Instructions : Vous trouverez ci-dessous des affirmations formulées par des personnes atteintes de spondylarthrite ankylosante. Lisez attentivement chacune de ces affirmations et cochez « vrai » si elle s'applique à vous et « faux » dans le cas contraire.

Cochez **une seule** réponse, celle qui s'applique le mieux **au moment** où vous répondez.

- | | |
|--|--|
| 1. Ma maladie me limite dans mes déplacements | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 2. J'ai quelquefois envie de pleurer | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 3. J'ai des difficultés pour m'habiller | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 4. Il faut que je fasse des efforts pour faire ce qu'il y a à faire à la maison | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 5. Je n'arrive pas à dormir | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 6. Je ne peux pas participer à tout ce que font mes amis ou ma famille | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 7. Je suis tout le temps fatigué(e) | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 8. Il faut tout le temps que j'interrompe ce que je suis en train de faire pour me reposer | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 9. J'ai des douleurs insupportables | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 10. Il me faut longtemps pour me mettre en route le matin | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 11. Je ne peux pas faire ce qu'il y a à faire à la maison | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 12. Je suis facilement fatigué(e) | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 13. Je me sens souvent frustré(e) de ne pas faire ce que je veux | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 14. La douleur est toujours là | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 15. J'ai l'impression de passer à côté de beaucoup de choses | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 16. J'ai des difficultés pour me laver les cheveux | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 17. Ma maladie me démoralise | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |
| 18. L'idée qu'on ne puisse pas compter sur moi me tracasse | <input type="checkbox"/> Vrai
<input type="checkbox"/> Faux |

Questionnaire Ankylosing Spondylitis Quality Of Life Questionnaire (ASQoL)

Chaque item « oui » donne une note de 1 indiquant une mauvaise qualité de vie pour cet item et 0 si à l'inverse l'item « non » est coché.

Le score total varie de 0 (bonne qualité de vie) à 18 (mauvaise qualité de vie)

THÈSE SOUTENUE PAR : Xavier ROMAND

TITRE : LA CALPROTECTINE SÉRIQUE EST CORRÉLÉE AVEC L'ACTIVITÉ DE LA MALADIE DANS LES SPONDYLOARTHROSES AXIALES DÉBUTANTES MAIS NE PRÉDIT PAS LA PROGRESSION RADIOGRAPHIQUE À 2 ANS : RESULTATS DE LA COHORTE DESIR

CONCLUSION :

Objectif : Déterminer si le taux de calprotectine sérique peut prédire la progression structurale radiologique au rachis à 2 ans dans les spondyloarthroses axiales (SpAax) débutantes de la cohorte DESIR.

Méthodes : La présence d'une SpAax était retenue si le patient répondait à l'inclusion aux critères de l'Assessment in SpondyloArthritis Society. La calprotectine était dosée par ELISA dans le sérum à l'inclusion. La progression radiologique au rachis était définie par une aggravation de ≥ 2 points du score modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal à 2 ans. L'œdème inflammatoire en imagerie par résonance magnétique (IRM) était évalué par le score de BERLIN et de Spondyloarthritis Research Consortium of Canada (SPARCC). Le test de Wilcoxon était utilisé pour rechercher une différence significative entre deux groupes et la recherche de corrélation se faisait par le test de corrélation de Spearman.

Résultats : 426 patients avaient une SpAax à l'inclusion, 211 patients un score de mSASSS à l'inclusion et à 2 ans et 399 patients une IRM à l'inclusion. La calprotectine à l'inclusion ne permettait pas de prédire la progression radiologique au rachis à 2 ans. Une corrélation statistiquement significative mais faible existait entre la calprotectine et les scores de Berlin ($r=0,15$, $p=0,003$), SPARCC sacro-iliaque ($r=0,12$, $p=0,012$), SPARCC rachis ($r=0,16$, $p=0,002$) ainsi qu'avec le BASDAI ($r=0,16$, $p=0,001$) et ASDAS-CRP ($r=0,26$, $p<0,001$).

Conclusion : La calprotectine est faiblement corrélée avec les scores d'activité mais ne semble pas être un biomarqueur intéressant pour prédire la progression radiologique au rachis à 2 ans dans les SpAax débutantes.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER

Grenoble, le :

LE DOYEN

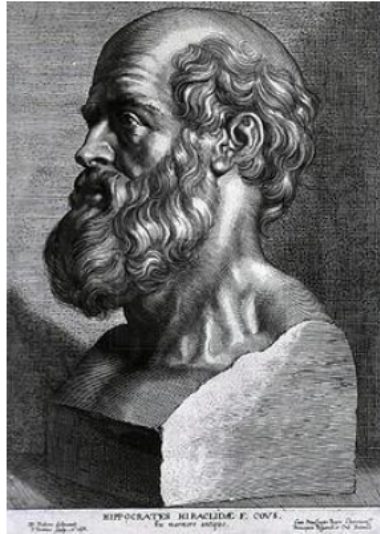


Pr. Patrice MORAND

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE



Pr. Philippe GAUDIN



SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Faculté, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'HIPPOCRATE,

Je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins gratuitement à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au dessus de mon travail. Je ne participerai à aucun partage clandestin d'honoraires.

Admis dans l'intimité des maisons, mes yeux n'y verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs, ni à favoriser le crime.

Je ne permettrai pas que des considérations de religion, de nation, de race, de parti ou de classe sociale viennent s'interposer entre mon devoir et mon patient.

Je garderai le respect absolu de la vie humaine.

Même sous la menace, je n'admettrai pas de faire usage de mes connaissances médicales contre les lois de l'humanité.

Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.

LA CALPROTECTINE SÉRIQUE EST CORRÉLÉE AVEC L'ACTIVITÉ DE LA MALADIE DANS LES SPONDYLOARTHROSES AXIALES DÉBUTANTES MAIS NE PRÉDIT PAS LA PROGRESSION RADIOGRAPHIQUE À 2 ANS : RESULTATS DE LA COHORTE DESIR

Objectifs : Déterminer si le taux de calprotectine sérique peut prédire la progression structurale radiologique au rachis à 2 ans dans les spondyloarthroses axiales (SpAax) débutantes de la cohorte DESIR.

Méthodes : La présence d'une SpAax était retenue si le patient répondait à l'inclusion aux critères de l'Assessment in SpondyloArthritis Society. La calprotectine était dosée par ELISA dans le sérum à l'inclusion. La progression radiologique au rachis était définie par une aggravation de ≥ 2 points du score modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spinal à 2 ans. L'œdème inflammatoire en imagerie par résonance magnétique (IRM) était évalué par le score de BERLIN et de Spondyloarthritis Research Consortium of Canada (SPARCC). Le test de Wilcoxon était utilisé pour rechercher une différence significative entre deux groupes et la recherche de corrélation se faisait par le test de corrélation de Spearman.

Résultats : 426 patients avaient une SpAax à l'inclusion, 211 patients un score de mSASSS à l'inclusion et à 2 ans et 399 patients une IRM à l'inclusion. La calprotectine à l'inclusion ne permettait pas de prédire la progression radiologique au rachis à 2 ans. Une corrélation statistiquement significative mais faible existait entre la calprotectine et les scores de Berlin ($r=0,15$, $p=0,003$), SPARCC sacro-iliaque ($r=0,12$, $p=0,012$), SPARCC rachis ($r=0,16$, $p=0,002$) ainsi qu'avec le BASDAI ($r=0,16$, $p=0,001$) et ASDAS-CRP ($r=0,26$, $p<0,001$).

Conclusion : La calprotectine est faiblement corrélée avec les scores d'activité mais ne semble pas être un biomarqueur intéressant pour prédire la progression radiologique au rachis à 2 ans dans les SpAax débutantes.

SERUM CALPROTECTIN LEVEL IS CORRELATED WITH DISEASE ACTIVITY IN EARLY AXIAL SPONDYLOARTHRITIS BUT DOES NOT PREDICT RADIOGRAPHIC PROGRESSION AT 2 YEARS: RESULTS FROM THE DESIR COHORT

Objectives: To determine whether serum calprotectin levels at baseline can predict the radiographic progression in spine after 2 years in the early axial spondyloarthritis (axSpA) cohort DEvenir des Spondyloarthroses Indifférenciées Récentes (DESIR).

Methods: Patients presenting with early inflammatory back pain from DESIR cohort were analyzed. axSpA patients were defined as patients who fulfilled the axial Assessment in SpondyloArthritis Society (ASAS) criteria at baseline. Calprotectin was assessed in the serum at the inclusion by enzyme-linked immunosorbent assay. Radiographic spinal progression was defined as worsening by ≥ 2 units of the modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score (mSASSS) 2 years after the inclusion. Magnetic resonance imaging (MRI) spine and sacroiliac joint (SIJ) inflammation was graded using BERLIN and Spondyloarthritis Research Consortium of Canada (SPARCC) score.

Results: Overall, 426 had an early axSpA with a calprotectin level assessment. 211 patients had mSASSS scoring at baseline and M24 and 399 an MRI scoring at baseline. Calprotectin level was significantly higher in patients who fulfilled axSpA ASAS sacroiliitis arm than those who did not fulfill or who fulfilled ASAS HLA B27 arm without signs of sacroiliitis. Calprotectin at baseline did not predict radiographic progression at M24 ($p=0.81$). Calprotectin correlated at baseline with SIJ, spine MRI inflammation (Berlin score ($r=0.15$, $p=0.003$), sacroiliac ($r=0.12$, $p=0.012$) and spine ($r=0.16$, $p=0.002$) SPARCC score) and disease activity index (BASDAI ($r=0.16$, $p=0.001$), ASDAS-CRP ($r=0.26$, $p<0.001$)).

Conclusion: Calprotectin is weakly correlated with disease activity but does not seem to be a helpful biomarker for predicting clinically relevant radiographic progression at 2 years follow-up in early axSpA.

MOTS CLÉS : calprotectine, biomarqueur, spondyloarthrite, spondylarthrite ankylosante, mSASSS

FILIÈRE : Médecine