

Université de Montréal

**Les fluctuations glycémiques et l'inflammation dans le
diabète secondaire à la fibrose kystique**

par
Sophie Ziai

Département de nutrition
Faculté de médecine

Thèse présentée à la Faculté des études supérieures
en vue de l'obtention du grade de *Philosophiæ Doctor* (Ph.D)
en Nutrition

Juillet, 2014

© Sophie Ziai, 2014

Université de Montréal
Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse intitulée :

Les fluctuations glycémiques et l'inflammation dans le diabète secondaire à la fibrose kystique

Présentée par :

Sophie Ziai

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Chantal Bémeur	président-rapporteur
Rémi Rabasa-Lhoret	directeur de recherche
Martin Richter	co-directeur
Mathieu Ferron	membre du jury
Constantin Polychronakos	évaluateur externe
Jacques Archambault	représentant de la doyenne

Résumé

La fibrose kystique (FK) est la maladie autosomique récessive la plus fréquente chez les individus de race caucasienne. Elle est secondaire à la mutation du gène *Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator* (CFTR). Grâce à des traitements plus agressifs, la médiane de l'espérance de vie des individus atteints de la FK a augmenté et cette augmentation est associée à l'émergence du diabète secondaire ou associé à la FK (DAFK), une complication associée à une augmentation du taux de mortalité. La pathophysiologie du DAFK n'est pas parfaitement comprise. Par exemple, la cause de l'accélération de la perte de la fonction pulmonaire, qui débute des années avant l'apparition du DAFK, n'est pas élucidée.

Tous les patients atteints de la FK, même ceux sans le DAFK, présentent de l'hyperglycémie et des fluctuations glycémiques. D'ailleurs, une étude a démontré que la réactivité immunitaire est affectée par l'hyperglycémie dans un modèle animal de la FK et il y a des évidences que les lymphocytes sans CFTR fonctionnel ou en présence d'un excès de glucose ont des réactions inflammatoires anormales. Donc, nous avons émis l'hypothèse que les patients atteints de la FK, surtout ceux non-diabétiques et pré-diabétiques, auront une plus grande proportion de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant la cytokine pro-inflammatoire IL-17A comparativement aux sujets sains et que l'augmentation de cette cytokine pourrait influencer la chute accélérée des fonctions pulmonaires avant l'apparition du DAFK. Des niveaux élevés d'IL-17A sont retrouvés dans les poumons des patients atteints de la FK et dans le sang périphérique des patients avec le diabète de type 1 (DT1) et de type 2 (DT2). L'IL-17A peut aussi être produite par les lymphocytes T_{reg} dysfonctionnels. Habituellement, ces lymphocytes atténuent les réponses inflammatoires excessives, mais lorsqu'ils sont dysfonctionnels, ils peuvent produire de l'IL-17A, contribuant ainsi à l'état inflammatoire. De plus, nous avons supposé que les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A seront associées aux fonctions pulmonaires des patients atteints de la FK et que l'alimentation, l'activité physique et la composition corporelle influenceraient ces relations.

Les résultats de cette thèse ont montré que, malgré une association entre la proportion de lymphocytes dans le sang périphérique et les indices de fluctuations glycémiques, celles-ci

n'influençaient pas les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A lorsqu'ils étaient mis en culture pour 24 ou 48 heures dans des milieux contenant soit 5 mM ou 25 mM de glucose et stimulés par le phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) et le phytohemagglutinine (PHA) ou, encore, non stimulés. De plus, ces proportions étaient semblables entre les patients atteints de la FK et les individus en santé. Toutefois, les proportions de lymphocytes T_{reg} stimulés produisant de l'IL-17A des sujets sains étaient plus élevées que les proportions de lymphocytes T_{reg} non stimulés de tous les participants (patients atteints de la FK et individus en santé). Tout ceci suggérant donc que les T_{reg} des sujets sains et atteints de la FK ne réagissaient pas de la même façon à la stimulation. D'ailleurs, la durée d'incubation affectait les proportions de Th17 produisant de l'IL-17A, mais elle n'avait aucun effet sur les proportions de T_{reg} produisant cette cytokine. Donc, ces types cellulaires réagissaient différemment dans les mêmes milieux de culture. De plus, nous avons observé que seulement l'énergie provenant des glucides affectait modestement les indices de fluctuations glycémiques et que les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A n'étaient pas associées aux fonctions pulmonaires des patients atteints de la FK.

En conclusion, les patients atteints de la FK avaient plus d'hyperglycémie et de fluctuations glycémiques, mais elles n'influençaient pas les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A *ex vivo*. Dans des études futures, il faudrait étudier le rôle de l'IL-17A dans les poumons des patients avec et sans le DAFK et réaliser une étude prospective pour déterminer si une augmentation des niveaux d'IL-17A chez les patients sans le DAFK se traduit par une chute accélérée des fonctions pulmonaires avant l'apparition de cette complication.

Mots-clés : Diabète secondaire à la fibrose kystique, fluctuations glycémiques, hyperglycémie, IL-17A, lymphocytes Th17, lymphocytes T_{reg}, nutrition, dépense énergétique, composition corporelle, VEMS

Abstract

Cystic fibrosis (CF) is the most common autosomal recessive genetic disease among Caucasians and it is caused by a mutation in the Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator (CFTR) gene. With the emergence of more aggressive therapies to treat CF, the median life expectancy of patients with CF has increased and new complications, such as CF-related diabetes (CFRD), have emerged. CFRD is associated with increased mortality. The pathophysiology of this complication is not fully understood. For instance, the reason why people with CF have an accelerated decline in lung functions years before the diagnosis of CFRD is not known.

Patients with CF, even those without CFRD, have increased hyperglycemia and glucose fluctuations. In addition, a study has reported that hyperglycemia affected immune reactivity in a mouse model of the disease. Furthermore, studies have shown that lymphocytes without a functional CFTR or that have increased uptake of glucose have abnormal immune responses. Therefore, we hypothesized that patients with CF, specifically those with normal and impaired glucose tolerance, would have increased proportions of Th17 and T_{reg} lymphocytes producing the pro-inflammatory cytokine IL-17A and that the increase in IL-17A levels would contribute to the accelerated decline of lung functions before the onset of CFRD. Increased levels of IL-17A have been found in the lungs of patients with CF and the peripheral blood of patients with type 1 (T1D) and 2 diabetes (T2D). Dysfunctional T_{reg} lymphocytes can also produce IL-17A. These lymphocytes usually attenuate excessive immune responses but, in certain cases, can be dysfunctional and produce the pro-inflammatory cytokine IL-17A. Moreover, we hypothesized that the proportions of these cells producing IL-17A would be associated to lung functions in patients with CF and that nutrition, physical activity and body composition could influence the relationship between inflammation and glucose fluctuations.

Although an association between the proportion of lymphocytes in the peripheral blood of participants and glucose fluctuations was observed, glucose fluctuations did not affect the proportions of Th17 and T_{reg} lymphocytes producing IL-17A stimulated with PHA and PMA

or not stimulated in media containing either 5 or 25 mM of glucose for 24 or 48 hours. Furthermore, these proportions were similar between healthy individuals and patients with CF with the exception of the proportion of stimulated T_{reg} lymphocytes producing IL-17A of healthy individuals that was greater than the proportions of non-stimulated T_{reg} lymphocytes producing IL-17A of all participants (patients with CF and healthy individuals). This suggests that T_{reg} lymphocytes of healthy individuals and CF patients do not respond in the same manner to stimulation by phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) and phytohemagglutinin (PHA). Also, the duration of incubation affected the proportions of Th17 cells producing IL-17A but did not affect the proportion of T_{reg} producing this cytokine. Therefore, these two types of lymphocytes are differently affected in the same culture media. Also, only the proportion of calories from carbohydrates affected modestly glucose fluctuations and the proportions of Th17 and T_{reg} lymphocytes producing IL-17A were not associated to lung functions in CF patients.

To conclude, patients with CF had increased hyperglycemia and glucose fluctuations when compared to healthy individuals but this glucose variability did not affect the proportions of Th17 and T_{reg} lymphocytes producing IL-17A *ex vivo*. Future studies are needed to explore the role of IL-17A in the lungs of patients with CFRD and a prospective study would be important in order to determine if an increase in IL-17A in patients without CFRD is associated to an accelerated decrease in lung functions before the onset of this complication.

Keywords: Cystic fibrosis-related diabetes, glucose fluctuations, hyperglycemia, IL-17A, Th17 lymphocytes, T_{reg} lymphocytes, nutrition, energy expenditure, body composition, FEV₁

Table des matières

Résumé	iii
Abstract.....	v
Table des matières	vii
Liste des tableaux.....	xi
Liste des figures.....	xiii
Liste des annexes.....	xv
Liste des sigles.....	xvi
Liste des abréviations.....	xvii
Dédicace.....	xx
Remerciements.....	xxi
Avant-propos	1
Chapitre 1 : Mise en contexte	4
1.1 La fibrose kystique.....	4
1.1.1 Historique.....	4
1.1.2 <i>Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator</i>	5
1.1.3 Atteinte pulmonaire.....	6
1.1.4 Insuffisance pancréatique exocrine.....	6
1.1.5 Autres organes affectés par la maladie.....	7
1.1.6 Classes de mutations	8
1.1.7 Relation génotype-phénotype.....	9
1.2 Diabète associé ou secondaire à la fibrose kystique.....	10
1.2.1 Physiopathologie.....	10
1.2.1.1 Phase pré-diabétique.....	11
1.2.1.2 Diminution de la sécrétion d'insuline.....	11
1.2.1.3 Résistance à l'insuline.....	12
1.2.2 Différences avec les autres types de diabète.....	12
1.2.3 Diagnostic du diabète associé ou secondaire à la fibrose kystique.....	12
1.2.3.1 Hyperglycémie provoquée par voie orale.....	14

1.2.3.2 Méthodes alternatives.....	14
1.2.4 Hyperglycémie et fluctuations glycémiques.....	15
1.2.4.1 Conséquences de l'hyperglycémie et des fluctuations glycémiques.....	16
1.2.4.2 Indices de fluctuations glycémiques.....	17
1.3 Traitement de la fibrose kystique.....	20
1.3.1 Aspects nutritionnels de la fibrose kystique.....	20
1.3.1.1 Malnutrition.....	20
1.3.1.2 Indice de masse corporelle.....	21
1.3.1.3 Dépense énergétique.....	21
1.3.1.3.1 Outils pour mesurer la dépense énergétique.....	22
1.3.1.4 Apport en protéines.....	22
1.3.1.4.1 Techniques pour estimer la composition corporelle.....	23
1.3.1.5 Apports en lipides.....	24
1.3.1.6 Micronutriments.....	24
1.3.1.6.1 Techniques pour estimer l'apport nutritionnel.....	25
1.3.1.7 Recommandations.....	27
1.3.2 Diabète associé ou secondaire à la fibrose kystique.....	28
1.3.2.1 Insuline.....	28
1.3.2.2 Recommandations nutritionnelles.....	28
1.3.2.3 Activité physique.....	29
1.3.3 Antibiotiques.....	29
1.3.4 Correcteurs.....	30
1.3.5 Autres traitements.....	31
1.4 Détérioration clinique accélérée	31
1.5 Inflammation.....	31
1.5.1 Lymphocytes T auxiliaires T-helper 1 et T-helper 2.....	32
1.5.1.1 T-helper 1 et T-helper 2 dans la fibrose kystique.....	33
1.5.1.2 T-helper 1 et T-helper 2 dans le diabète de type 1.....	33
1.5.2 Lymphocytes T auxiliaires T-helper 17.....	33

1.5.2.1	T-helper 17 dans la fibrose kystique.....	34
1.5.2.1.1	Traitements ciblant l'IL-17.....	36
1.5.2.2	T-helper 17 dans le diabète de type 1.....	37
1.5.2.3	T-helper 17 dans le diabète de type 2.....	39
1.5.3	Lymphocytes T régulateurs.....	40
1.5.3.1	T régulateur dans la fibrose kystique.....	40
1.5.3.2	T régulateur dans le diabète de type 1.....	41
1.5.3.3	T régulateur dans le diabète de type 2.....	41
1.6	Résumé.....	42
Chapitre 2	Hypothèses et objectifs.....	45
2.1	Problématique.....	45
2.2	Hypothèses.....	46
2.2	Objectifs.....	47
Chapitre 3	Méthodologie.....	49
3.1	Participants de l'étude.....	49
3.1.1	Critères d'inclusion et d'exclusion.....	49
3.2	Approbation éthique.....	50
3.3	Collecte des données cliniques.....	51
3.3.1	Génotype et test de sueur.....	51
3.3.2	Fonction pulmonaire.....	51
3.3.3	Surinfection.....	51
3.4	Tests de l'étude.....	52
3.4.1	Hyperglycémie provoquée par voie orale.....	52
3.4.2	Holter glycémique.....	53
3.4.3	Mesure de l'activité physique.....	53
3.4.4	Estimation de la composition corporelle.....	54
3.4.5	Estimation de l'apport nutritionnel.....	54
3.5	Phénotypage des lymphocytes.....	55
3.5.1	Isolation des lymphocytes.....	55
3.5.2	Mise en culture des cellules.....	56
3.5.3	Stimulation.....	56

3.5.4 Viabilité cellulaire.....	57
3.5.5 Marqueurs pour isoler les lymphocytes Th17 et T _{reg}	58
3.5.6 Cytométrie en flux.....	60
3.5.6.1 Billes de captage d'anticorps.....	61
3.5.7 Stratégies d'analyse des données de cytométrie en flux.....	61
3.6 Calcul de puissance.....	65
3.7 Analyse statistique.....	66
3.7.1 Comparaisons des caractéristiques et données cliniques des participants.....	66
3.7.2 Effets des fluctuations glycémiques sur l'inflammation.....	67
3.7.3 Effets des facteurs confondants sur la variabilité glycémique.....	68
3.7.4 Association entre les marqueurs inflammatoires et la fonction pulmonaire.....	69
Chapitre 4 : Résultats.....	70
4.1 Comparaisons des caractéristiques et données cliniques des participants.....	70
4.2 Effets des fluctuations glycémiques sur l'inflammation.....	76
4.3 Effets des facteurs confondants sur la variabilité glycémique.....	97
4.4 Association entre les marqueurs inflammatoires et la fonction pulmonaire.....	101
Chapitre 5 : Discussion.....	104
5.1 Participants.....	104
5.2 Fluctuations glycémiques, activité physique et composition corporelle	105
5.3 Fluctuations glycémiques et inflammation.....	109
5.4 Facteurs modulant les fluctuations glycémiques.....	114
5.5 L'association entre l'inflammation et les fonctions pulmonaires.....	116
5.6 Limites de l'étude.....	117
5.7 Études futures.....	119
Chapitre 6 : Conclusion.....	121
Références.....	124
Annexes.....	I

Liste des tableaux

Tableau I : Classes de mutations du gène <i>Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator</i> et leurs conséquences	9
Tableau II : Comparaison du diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique avec les diabètes de type 1 et 2.....	13
Tableau III : Glycémies utilisées pour diagnostiquer le diabète.....	14
Tableau IV : Indices de fluctuations glycémiques.....	18
Tableau V : Recommandations nutritionnelles pour les patients atteints de la fibrose kystique.....	27
Tableau VI : Description des visites pour l'étude.....	52
Tableau VII : Panneau des anticorps couplés à des fluorochromes pour isoler les lymphocytes Th17 et T _{reg} produisant de l'IL-17A.....	60
Tableau VIII : Caractéristiques des participants.....	71
Tableau IX : Indices de fluctuations glycémiques et dépense énergétique des participants.....	73
Tableau X : Composition corporelle des participants.....	75
Tableau XI : Corrélations de Spearman entre la proportion de lymphocytes dans le sang périphérique et les indices de fluctuations glycémiques pour les sujets sains et les patients atteints de la fibrose kystique.....	81
Tableau XII : Nombre de participants avec des données de cytométrie en flux utilisées pour les analyses statistiques.....	83
Tableau XIII : Modèle linéaire mixte pour déterminer les facteurs d'incubation ou de groupes affectant la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A.....	85
Tableau XIV : Modèles linéaires mixte pour déterminer l'effet des variations glycémiques sur la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A.....	86
Tableau XV : Modèle linéaire mixte pour déterminer les facteurs d'incubation ou de groupes affectant la proportion de T _{reg} produisant de l'IL-17A.....	89
Tableau XVI : Modèles linéaires mixte pour déterminer l'effet des variations glycémiques sur la proportion de T _{reg} produisant de l'IL-17A.....	90

Tableau XVII : Modèle linéaire mixte pour déterminer les facteurs d'incubation ou de groupes affectant la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10.....	94
Tableau XVIII : Modèles linéaires mixtes pour déterminer l'effet des variations glycémiques sur la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10.....	95
Tableau XIX : Modèles de régression linéaire pour déterminer les macronutriments affectant les fluctuations glycémiques pour les sujets sains et les patients atteints de la fibrose kystique.....	98
Tableau XX : Modèles de régression linéaire pour déterminer les composantes de la dépense énergétique affectant les fluctuations glycémiques pour les sujets sains et les patients atteints de la fibrose kystique.....	99
Tableau XXI : Modèles de régression linéaire pour déterminer les composantes de la composition corporelle affectant les fluctuations glycémiques pour les sujets sains et les patients atteints de la fibrose kystique.....	100

Liste des figures

Figure 1 : Structure de la protéine <i>Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator</i>	5
Figure 2 : Glycémies durant une hyperglycémie provoquée par voie orale de deux heures chez des sujets sains et des patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques, pré-diabétiques et avec le diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique.....	16
Figure 3 : Différents types de lymphocytes T.....	32
Figure 4 : Mécanisme potentiel par lequel les bactéries attirent les cellules dendritiques dans les poumons et recrutent les Th17 et T _{reg} produisant de l'IL-17A perpétuant l'infiltration chronique des poumons de neutrophiles.....	43
Figure 5 : Hypothèse liant l'hyperglycémie et les fluctuations glycémiques à des niveaux plus élevés d'IL-17A et à la chute accélérée des fonctions pulmonaires dans la fibrose kystique.....	48
Figure 6 : Différentes couches de cellules obtenues après centrifugation utilisant la méthode de Ficoll-Pâque.....	56
Figure 7 : Exemple de graphique de <i>forward-scattered light</i> et <i>side-scattered light</i> utilisé pour discriminer entre différents types cellulaires en cytométrie en flux.....	62
Figure 8 : Exemple de sélection de lymphocytes CD3 ⁺ et CD8 ⁻	63
Figure 9 : Exemple de sélection de lymphocytes CD4 ⁺ et CD19 ⁻	63
Figure 10 : Exemple de lymphocytes CD25 ^{élevé} et CD25 ^{bas}	64
Figure 11 : Exemple de lymphocytes CD25 ^{élevé} FoxP3 ⁺	64
Figure 12 : Proportions de lymphocytes dans le sang périphérique des sujets sains et des patients atteints de la fibrose kystique dans différents groupes de tolérance au glucose.....	77
Figure 13 : Nombre de lymphocytes dans le sang périphérique des sujets sains et des patients atteints de la fibrose kystique de différents groupes de tolérance au glucose.....	78
Figure 14 : Proportions de neutrophiles dans le sang périphérique des sujets sains et des patients atteints de la fibrose kystique dans différents groupes de tolérance au glucose.....	79
Figure 15 : Corrélation de Spearman entre la proportion de lymphocytes dans le sang périphérique et le MAGE pour les sujets sains et les patients atteints de la fibrose kystique...	80

Figure 16 : Exemple de données de cytométrie en flux de la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A stimulés par le PMA et le PHA et non stimulés 24 ou 48 heures dans un milieu avec 5 mM de glucose chez un sujet sain et chez un patient atteint de la fibrose kystique.....87

Figure 17 : Exemple de données de cytométrie en flux de la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A stimulés et non stimulés et incubés 24 heures dans un milieu avec 5 mM de glucose chez un sujet sain et chez des patients atteints de la fibrose kystique non-diabétique, pré-diabétique et diabétique.....91

Figure 18 : Proportions de T_{reg} stimulés par le PHA et le PMA et non stimulés produisant de l'IL-17A chez des sujets sains et chez des patients atteints de la fibrose kystique non-diabétique, pré-diabétique et diabétique.....92

Figure 19 : Exemple de données de cytométrie en flux de la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 de lymphocytes non stimulés incubés 24 heures dans un milieu avec 5 mM de glucose chez un sujet sain et chez un patient atteint de la fibrose kystique.....96

Figure 20 : Association entre la proportion de lymphocytes Th17 non stimulés produisant de l'IL-17A, incubées 24 heures avec 5 mM de glucose et la fonction pulmonaire chez des patients atteints de la fibrose kystique.....102

Figure 21 : Association entre la proportion de lymphocytes T_{reg} non stimulés produisant de l'IL-17A, incubés 24 heures avec 5 mM de glucose et la fonction pulmonaire des patients atteints de la fibrose kystique.....102

Figure 21 : Association entre la proportion de lymphocytes T_{reg} non stimulés produisant de l'IL-10, incubés 24 heures avec 5 mM de glucose et la fonction pulmonaire des patients atteints de la fibrose kystique.....103

Liste des annexes

Annexe 1 : Formulaire de consentement de l'étude de l'Institut de recherches cliniques de Montréal.....	II
Annexe 2 : Formulaire de consentement de l'étude du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal.....	XI
Annexe 3 : Curriculum Vitæ.....	XX

Liste des sigles

cm	centimètre
°C	degré Celsius
g	gramme
kcal	kilocalorie
kDa	kilodalton
kg	kilogramme
m	mètre
µg	microgramme
µl	microlitre
ml	millilitre
mM	millimolaire
mmol/L	millimole/litre
ng	nanogramme
rpm	<i>rotations per minute</i> ou rotations par minute

Liste des abréviations

ABC	<i>ATP Binding Cassette</i>
ADN	acide désoxyribonucléique
AIB	analyse d'impédance bioélectrique
ANOVA	<i>Analysis Of Variance</i>
AR	arthrite rhumatoïde
ATP	adénosine triphosphate
BCG	<i>bacillus Calmette-Guéri</i>
CD	<i>cluster of differentiation</i>
CFTR	<i>Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator</i>
CHUM	Centre hospitalier de l'Université de Montréal
CGMS	<i>Continuous Glucose Monitoring System</i>
CO ₂	dioxyde de carbone
CRP	<i>C Reactive Protein</i> ou protéine C-réactive
CV	coefficient de variation
DAS28	<i>Disease Activity Score in 28 joints</i>
DAFK	diabète associé ou secondaire à la fibrose kystique
DÉT	dépense énergétique totale
DHA	<i>Docosahexaenoic Acid</i> ou acide docosahexaénoïque
DT1	diabète de type 1
DT2	diabète de type 2
DXA	<i>Dual-energy X-Ray Absorptiometry</i>
ELISA	<i>Enzyme-Linked Immunosorbent Assay</i>
ENaC	<i>Epithelial Sodium Channel</i>
FBS	<i>Fetal Bovin Serum</i> ou sérum fœtal bovin
FCÉN	fichier canadien sur les éléments nutritifs
FK	fibrose kystique
FOXO1	<i>Forkhead box protein O1</i>
FoxP3	<i>Forkhead box P3</i>
FSC	<i>foward-scattered light</i>

GM-CSF	<i>Granulocyte-Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
GR	<i>Glucocorticoid Receptor</i>
HBSS	<i>Hanks Balanced Salt Solution</i>
HGPO	hypoglycémie provoquée par voie orale
IFN- γ	interféron gamma
IGT	<i>Impaired Glucose Tolerance</i> ou glucose de tolérance pré-diabétique
IL	interleukine
IL-17RA	récepteur d'IL-17A
IMC	indice de masse corporelle
IRCM	Institut de recherches cliniques de Montréal
KHCO ₃	bicarbonate de potassium
LA	<i>linoleic acid</i> ou acide linoléique
LPS	lipopolysaccharide
MAGE	<i>Mean Amplitude of Glycemic Excursions</i>
MCFC	<i>Montreal Cystic Fibrosis Cohort</i>
MDCK	<i>Madin-Darby Canine Kidney</i>
MIP2	<i>Macrophage Inflammatory Protein 2</i>
MG	masse grasse
MNG	masse non grasse
NBD	<i>Nucleotide Binding Domain</i>
NGT	<i>Normal Glucose Tolerance</i> ou tolérance au glucose normale
NH ₄ Cl	chlorure d'ammonium
NOD	<i>Non-Obese Diabetic</i>
NOD1	<i>Nucleotide-binding Oligomerisation Domain 1</i>
PASI	<i>Psoriasis Area and Severity Index</i>
PHA	phytohémagglutinine
PKC	protéine kinase C
PMA	phorbol 12-myristate 13-acetate
PRR	<i>Pattern Recognition Receptor</i> ou protéine intracellulaire de récepteur de reconnaissance de motifs moléculaires
Q-Q	quantile-quantile

r	coefficient de corrélation
r ²	coefficient de régression
ROR γ	<i>Retinoic Acid Receptor (RAR)-related orphan receptor gamma</i>
RPMI	<i>Roswell Park Memorial Institute</i>
SD	<i>standard deviation</i>
SODI	syndrome d'occlusion distale de l'intestin
SSC	<i>side-scattered light</i>
STZ	streptozotocine
SWA	<i>Sensewear Armband</i>
T-aux	T auxiliaire
TGF- β	<i>Tumor Growth Factor beta</i>
<i>TGFB1</i>	<i>Transforming Growth Factor beta 1</i>
Th	<i>T-helper</i>
TLR	<i>Toll-like receptor</i>
TMD	<i>Transmembrane Domain</i>
TNF α	<i>Tumor Necrosis Factor alpha</i>
T _{reg}	T régulateur
VEMS	volume expiré maximal en une seconde
VIH	virus de l'immunodéficience humaine

À mes parents.

Remerciements

D'abord, je remercie mon directeur de recherche Dr. Rabasa-Lhoret pour son support et sa confiance ces 6 dernières années. Réaliser mes études supérieures dans votre laboratoire a été un privilège et j'en serai toujours reconnaissante. Aussi, un énorme merci à mon co-directeur Dr. Martin Richter pour m'avoir toujours rassurée, m'avoir poussée à m'améliorer et m'avoir aidée avec tous les aspects techniques de mon projet de recherche.

Merci au FRQ-S, au CRDM, à l'IRCM et aux IRSC de m'avoir accordée des bourses et à Fibrose kystique Canada et aux participants de m'avoir permis de réaliser mon étude. Merci aux membres passés et présents du laboratoire, de l'IRCM et de l'Hôtel-Dieu pour les discussions scientifiques et non-scientifiques, pour l'encouragement et pour m'avoir aidée à grandir en tant que personne. J'aimerais remercier Annie Tardif pour son aide qui m'a permis de surmonter beaucoup d'obstacles depuis 6 ans. Merci à Adèle Coriati de m'avoir accompagnée dans chaque étape de cette aventure en tant qu'étudiante au doctorat et surtout amie.

Merci à mes magnifiques amies Vickie, Julianne et Mélissa. Merci pour vos conseils, votre support et votre écoute. Vous m'avez fait rire et vivre de beaux moments pendant cette longue aventure.

Merci à mes parents de m'avoir encouragée à poursuivre des études graduées même lorsque je pensais que je n'étais pas capable. Merci de m'avoir supportée même pendant les périodes plus difficiles et pour votre amour inconditionnel. Merci à ma sœur Ashley qui a toujours su comment me motiver lorsque j'étais découragée. Finalement, un merci à mon merveilleux copain Guillaume. Je te remercie non seulement pour ton aide avec la correction de cette thèse, mais aussi pour ton amour qui m'a permis de passer à travers les moments les plus difficiles.

Avant-propos

La fibrose kystique (FK) est une maladie génétique autosomique récessive causée par une mutation du gène *Cystic Fibrosis Transmembrane Receptor* (CFTR) (1). Le diabète associé ou secondaire à la fibrose kystique (DAFK) est la complication la plus fréquente de la FK (2). Il est associé à une augmentation du taux de morbidité et de mortalité (3). Bien que la diminution de la sécrétion d'insuline soit la cause principale de son développement (4-9) et que des facteurs de risque tels que le sexe féminin soient identifiés (3), sa pathophysiologie n'est pas tout à fait comprise. D'ailleurs, les raisons pour lesquelles les fonctions pulmonaires chutent de façon accélérée des années avant l'apparition du diabète ne sont pas connues (10).

En 2008, une étude a démontré que l'hyperglycémie affectait la réactivité immunitaire dans un modèle animal de la FK (11). D'ailleurs, les patients atteints de la FK, même ceux sans le DAFK, ont plus d'excursions glycémiques, d'hyperglycémie et de fluctuations glycémiques comparativement aux individus en santé (12, 13) et celles-ci affecteraient donc l'inflammation. En outre, les lymphocytes sans gène CFTR fonctionnel ou dans un milieu avec un excès de glucose réagissent anormalement (14-16).

L'IL-17A est une cytokine pro-inflammatoire, impliquée dans plusieurs pathologies inflammatoires dont l'arthrite rhumatoïde (17), dans l'inflammation pulmonaire dans la FK (18-23) ainsi que les diabètes de type 1 (DT1) (24-30) et de type 2 (DT2) (31, 32). Elle est produite principalement par les lymphocytes Th17 (33) et les lymphocytes T régulateurs (T_{reg}) dysfonctionnels (34). Ces dernières sont des cellules qui atténuent normalement les réponses inflammatoires excessives en produisant, parmi d'autres mécanismes, de l'IL-10 (35), mais elles peuvent aussi être dysfonctionnelles et, dans ce cas, produire de l'IL-17A (34). Les niveaux de cette cytokine sont élevés dans les poumons des patients atteints de la FK (18, 21, 22) et dans le sang périphérique des individus avec le DT1 (27) et le DT2 (31).

Ainsi, le but de cette thèse était de déterminer, dans un premier temps, si l'hyperglycémie et les fluctuations glycémiques observées chez les patients atteints de la FK affectaient les lymphocytes Th17 et T_{reg} dysfonctionnels produisant de l'IL-17A des patients atteints de la FK cliniquement stables non-diabétiques, pré-diabétiques et avec le DAFK. Dans un deuxième temps, nous avons examiné l'effet de l'alimentation, la composition corporelle et la dépense énergétique sur la variabilité glycémique chez des sujets sains et des patients atteints de la FK. De plus, nous avons vérifié si les proportions de cellules T_{reg} et Th17 produisant l'IL-17A étaient associées aux fonctions pulmonaires des patients atteints de la FK. Les résultats présentés dans cette thèse nous permettront de mieux décrire la variabilité glycémique dans la FK, puis, de déterminer si elle influence les lymphocytes produisant de l'IL-17A et, finalement, d'établir si elle est influencée par le mode de vie des sujets.

Les résultats de cette thèse contribuent à l'avancement des connaissances de plusieurs façons. D'une part, nous sommes les premiers à quantifier les fluctuations glycémiques à l'aide d'indices calculés mathématiquement (comme le *standard deviation* (SD), le coefficient de variation (CV) et le *Mean Amplitude of Glucose Excursions* (MAGE)) (36) dans la FK. De plus, nous avons comparé, pour la première fois, ces indices chez des patients atteints de la FK de différents groupes de tolérance au glucose et nous avons vérifié si ces indices de fluctuations glycémiques sont affectés par l'alimentation, la composition corporelle et la dépense énergétique. D'autre part, nous avons exploré le rôle des lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A dans le DAFK.

Cette thèse est divisée en six chapitres. Le premier chapitre sert de mise en contexte et il fait, dans un même temps, une revue de la littérature utilisée pour formuler les questions de recherche. Il est suivi d'un deuxième chapitre décrivant en détails les hypothèses et les objectifs de cette thèse. Par la suite, le troisième chapitre explique la méthodologie et les analyses statistiques employées, alors que le quatrième chapitre contient les figures et les tableaux avec les résultats obtenus dans le cadre de cette étude. Dans le cinquième chapitre,

nous discutons en profondeur de ces résultats et, finalement, dans le dernier chapitre, nous concluons sur les implications cliniques.

Chapitre 1 : Mise en contexte

1.1 La fibrose kystique

1.1.1 Historique

En 1938, la Dre Dorothy H. Andersen, une pédiatre américaine, a été la première en Amérique du Nord à identifier et nommer une maladie dans laquelle des enfants avaient des masses fibreuses au pancréas : la FK (37). Par la suite, en 1948, le Dr. Paul di Sant'Agnese a remarqué que les enfants avec la FK ayant des symptômes pulmonaires produisaient aussi une sueur très salée et il a donc suggéré que la FK était liée à un problème cellulaire de transport des ions sodium et chlore (38, 39). Puis, un test de la sueur a été développé par Gibson et Cooke afin de déterminer si un individu était atteint de la FK (40). Pour ce test, des électrodes sont posées sur la peau de l'individu et elles stimulent la production de sueur des glandes sudoripares. Des concentrations élevées de sel dans la sueur permettent souvent de faire un diagnostic de la FK (41). Les Drs Andersen et Hodges furent les premiers à conclure que la FK était une maladie génétique et ce, dès 1946 (42). Par contre, la cause de la maladie demeurait inconnue pour ces pionniers.

Il a fallu attendre 1989 pour que les Drs Tsui, Riordan et Collins découvrent qu'une délétion d'une phénylalanine à la position 508 du gène *Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator* (CFTR) (aussi appelé ABCC7) était une mutation responsable de cette maladie génétique (1, 43, 44).

La FK est la maladie autosomique récessive la plus fréquemment retrouvée chez les personnes de race caucasienne (9, 45), elle touche une naissance sur 3600 au Canada (46). Elle est, de surcroît, la plus fréquemment retrouvée chez les enfants et jeunes adultes de ce pays (46), car une personne sur 25 a au moins une copie défective du gène CFTR alors qu'au Québec, la statistique grimpe à une personne sur 20, voire même une personne sur 15 dans la

région du Saguenay-Lac-St-Jean (47). Pour être atteint de la FK, un enfant doit avoir finalement deux copies mutées, soit une copie mutée du gène de chacun de ses parents (47) .

1.1.2 Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator

Le gène CFTR se situe sur le bras long du chromosome 7, contient 27 exons et se traduit en une protéine de 1480 acides aminés d'une masse d'environ 170 000 kDa (1, 48). Celle-ci est exprimée sur la membrane apicale des cellules épithéliales (49) et forme un canal ionique qui fait partie de la famille des transporteurs *ATP Binding Cassette* (ABC). Ce canal est non seulement responsable de la sécrétion du chlore, mais également en charge de la sécrétion de bicarbonate (HCO_3^-) (50). La protéine est composée de deux domaines transmembranaires (TMD1, TMD2) de six hélices alpha chacun, de deux sites de liaisons nucléotidiques (NBD1, NBD2) et d'un domaine régulateur (51). Comme d'autres transporteurs de la famille ABC, le canal CFTR utilise comme source d'énergie l'ATP pour changer de conformation et pour réguler l'absorption et la sécrétion d'ions (48). La mutation la plus fréquente se trouve dans le NBD1 (51) (Figure 1).

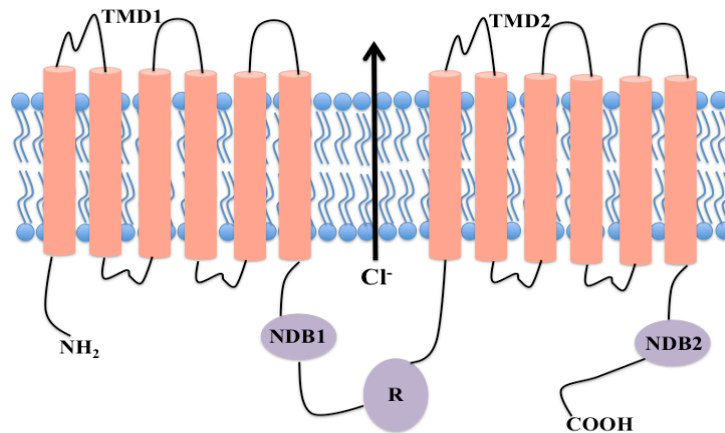


Figure 1 : Structure de la protéine *Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator* (adaptée de (52)) R : domaine régulateur

1.1.3 Atteinte pulmonaire

En l'absence d'un canal CFTR fonctionnel, les patients atteints de la FK souffrent d'infections pulmonaires récurrentes (53). Il existe plusieurs hypothèses pour expliquer la susceptibilité accrue de ces patients aux infections pulmonaires.

D'une part, les Drs. Smith et Welsh supposent que, chez une personne avec la FK, la concentration de NaCl à l'extérieur de la cellule est anormalement élevée comparativement à un individu en santé en raison d'une absence ou d'une diminution du transport du chlore. Cette concentration trop élevée en sel rendrait inefficace des protéines responsables de tuer les bactéries comme les défensines (54). En 2001, ces auteurs ont également suggéré qu'une sécrétion déficiente de bicarbonate serait impliquée dans les infections pulmonaires récurrentes (55). Finalement, en 2012, ils ont rapporté que le liquide de surface des voies respiratoires des cochons avec la FK était plus acide et qu'il n'était pas aussi efficace à tuer des bactéries (56).

D'autre part, les Drs Knowles et Boucher proposent l'hypothèse qu'il y aurait moins de liquide de surface des voies respiratoires et que celui-ci serait déshydraté. C'est ainsi qu'en 1995, Stutts *et al.* ont démontré qu'une co-transfection du canal de sodium ENaC et du CFTR dans des cellules MDCK et dans des fibroblastes 3T3 diminuait le courant Na^+ comparativement aux cellules transfectées seulement avec le ENaC (57), suggérant que le canal CFTR inhibe l'activité d'ENaC. Sans CFTR, le chlore ne sort pas de la cellule et il y a une entrée non contrôlée de sodium et d'eau dans les cellules épithéliales. En conséquence, le liquide à l'extérieur de la cellule devient déshydraté et visqueux. Dans la FK, les cils, qui sont normalement responsables de dégager les voies respiratoires de ces sécrétions visqueuses, sont incapables de battre en présence de ce liquide épais dans la FK (58). Ainsi, plusieurs bactéries, dont le *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* colonisent ces sécrétions visqueuses (59-61). Jusqu'à présent, le mécanisme d'interaction entre ces deux canaux n'est pas encore élucidé (59).

Les patients atteints de la FK subissent ainsi des infections récurrentes qui contribuent à une dégradation progressive des fonctions pulmonaires caractérisée par une diminution du volume expiré maximal en une seconde (VEMS) et meurent, pour la plupart, de façon prématurée, d'insuffisance respiratoire (62, 63).

1.1.4 Insuffisance pancréatique exocrine

Fibrose kystique Canada rapporte que 85% des patients adultes canadiens atteints de la FK ont une insuffisance pancréatique exocrine (46). Les glandes exocrines sont responsables du transport de sécrétions dans la lumière des organes et la portion exocrine du pancréas se charge de la sécrétion des enzymes digestives telles que la lipase et la trypsine dans le système digestif (64). Même les patients pancréosuffisants ont des pancréas endommagés et un risque accru de développer des pancréatites chroniques (65). Le mécanisme exact du développement de cette manifestation de la FK reste inconnu malgré que les recherches récentes pointent dans la direction du bicarbonate (66). Chez une personne sans la FK, l'acidité dans le duodénum stimule la production de sécrétine lorsqu'elle mange. Celle-ci provoque, par la suite, la sécrétion d'un liquide riche en bicarbonate et en protéines dans les canaux pancréatiques. Par contre, dans la FK, il est possible que ce liquide n'ait pas une concentration adéquate de HCO_3^- et que les canaux baignent dans un milieu acide. Dans ce cas, les protéines dans le liquide précipiteraient et bloqueraient les canaux pancréatiques (67-70). Parallèlement, les cellules des acini du pancréas exocrine (les cellules produisant les enzymes digestives) dégénèrent et une fibrose se développe dans le pancréas exocrine (71). De plus, en absence d'anions, le sodium et l'eau rentreront dans les cellules épithéliales et, conséquemment, le liquide dans les canaux pancréatiques sera visqueux et déshydraté. Aussi, l'acidité du milieu sans HCO_3^- pourrait activer prématurément les enzymes pancréatiques (68, 72). Ainsi, l'insuffisance pancréatique est possiblement causée par le blocage du transit des enzymes digestives du pancréas au système digestif et l'activation précoce de celles-ci.

1.1.5 Autres organes affectés

La FK est une maladie affectant plusieurs organes dont les poumons et le pancréas, mais elle affecte aussi le foie, les intestins et le système reproducteur. Trente-trois pourcents des adultes et des enfants atteints de la FK subissent des complications hépatiques et la majorité de ceux-ci développe aussi une stéatose hépatique. Les complications hépatiques sont causées par l'absence du canal CFTR fonctionnel à la membrane apicale des cellules des voies biliaires et la plus fréquente, chez les patients atteints de la FK, est la cirrhose biliaire (73). La pathophysiologie de cette complication est très peu connue malgré que l'insuffisance hépatique soit la cause de décès la plus importante dans la FK après les complications respiratoires (74).

Par ailleurs, le syndrome d'occlusion distale de l'intestin (SODI) affecte les patients atteints de la FK avec et sans insuffisance pancréatique (75). Il est causé principalement par des sécrétions plus visqueuses dans l'intestin à la suite d'une absence de CFTR et d'une activité plus importante du canal ENaC (75). D'autres facteurs tels qu'une motilité gastrique diminuée (76) et l'épaississement des parois du tube digestif dans la FK (77) jouent possiblement un rôle dans la pathophysiologie du SODI.

Des problèmes de fertilité sont également présents dans la FK. D'une part, l'azoospermie secondaire à une absence congénitale bilatérale du vas deferens affecte 97-98% des hommes (78). D'autre part, le liquide du col de l'utérus des femmes atteintes de la FK est déshydraté et ceci affecterait la fécondation des ovules par les spermatozoïdes. Par contre, il est important de noter que la majorité femmes atteintes de la FK n'est pas infertile (79).

Les patients atteints de la FK souffrent aussi de polypes nasaux (80) et de lithiases urinaires (81). Tout ceci démontre à quel point cette maladie dégrade de multiples organes.

1.1.6 Classes de mutations

La mutation la plus fréquente est la délétion de la phénylalanine en position 508 (Phe508del) et 90% des patients atteints de la FK au Canada possèdent au moins une copie du CFTR avec cette mutation (46). Plus de 1000 mutations du CFTR ont été répertoriées (liste

disponible sur www.genet.sickkids.on.ca/cftr) et elles se divisent en cinq groupes (Tableau I). Les mutations de classes I et II sont généralement considérées les plus sévères puisqu'il n'y a pas ou peu de protéine CFTR à la surface cellulaire (82). Les mutations de classes I, II, III et VI sont souvent associées à une insuffisance pancréatique (83) alors que celles des classes IV et V ne le sont généralement pas (74).

Tableau I : Classes de mutations du gène *Cystic Fibrosis Transmembrane Regulator* et leurs conséquences (adapté de (84, 85))

Classe de mutation	Exemple de mutations	Problème moléculaire	Conséquence
I	Gly542X Arg553X, Trp1282X	Mutations et délétions changeant le cadre de lecture et créant un codon d'arrêt prématuré	Aucune synthèse de la protéine CFTR
II	Phe508del, Asn1303Lys	Mutations et délétions modifiant le repliement de la protéine et la migration de la protéine vers la surface cellulaire	La protéine CFTR n'est pas transportée à la surface cellulaire ou n'est pas présente en quantité suffisante
III	Gly551Asp, Gly551Ser, Gly1349Asp	Mutations modifiant des acides aminés et modifiant le fonctionnement du canal CFTR	Ouverture du canal de CFTR réduite ou absente
IV	Arg117His, Asp110His, Arg347His	Mutation modifiant des acides aminés et modifiant le fonctionnement du pore du canal CFTR	Mouvement des ions Cl ⁻ perturbé
V	3272- 26A>G, Ala455Glu	Mutations donnant des ARNm d'épissage alternatif du gène <i>cftr</i>	Moins de protéines CFTR synthétisées et moins à la surface cellulaire
VI	120del23, Asn287Tyr	Mutations rendant la protéine CFTR instable à la surface cellulaire	Recyclage et remplacement rapide de la protéine CFTR

1.1.7 La relation génotype-phénotype

Les classes de mutations distinguent les patients ayant ou non une insuffisance pancréatique. Les patients pancréosuffisants ont au moins une mutation de classe IV ou V (72). Par contre, le lien entre le génotype et le phénotype n'est pas clair pour l'atteinte pulmonaire. Il existe, en effet, différents degrés de sévérité de la maladie pulmonaire chez les personnes avec le même génotype et ceci s'explique possiblement par des facteurs environnementaux comme l'infection par des bactéries spécifiques (86, 87) ou des facteurs génétiques comme les gènes modificateurs (88). Ils sont des variantes de gènes qui modulent l'atteinte pulmonaire dans la FK. Par exemple, la variante c.869T du gène *Transforming Growth Factor beta 1 (TGFB1)* impliqué dans l'inflammation et la variante du gène *Glucocorticoid Receptor (GR)* impliqué dans le transport ionique sont associées à une détérioration accélérée des fonctions pulmonaires (87, 88).

Finalement, toutes ces informations indiquent que le lien génotype-phénotype s'établit pour la fonction pancréatique, mais il s'avère moins claire pour la fonction pulmonaire.

1.2 Diabète associé ou secondaire à la fibrose kystique

Lorsque Dre Andersen a identifié la maladie au début du 20^{ième} siècle, les enfants atteints de la FK vivaient jusqu'à l'âge d'un an (58). En 2013, grâce à des interventions nutritionnelles et des traitements d'antibiotiques plus agressifs, la médiane de l'âge de survie des patients atteignait 48.5 ans au Canada (46). Avec cette augmentation de la médiane de l'âge de survie, plusieurs complications, qui apparaissent plus tardivement, ont émergé, dont le DAFK (9, 89).

Après les complications pulmonaires et pancréatiques, le DAFK s'avère la complication la plus fréquente et il touche plus de 20% des adultes atteints de la FK alors que le diabète affecte seulement environ 8% de la population aux États-Unis (46, 90). De plus, la proportion de patients avec le DAFK augmente avec l'âge (46).

1.2.1 Physiopathologie

Le diabète est défini par un niveau de glucose élevé dans le sang causé par une carence ou un défaut d'utilisation de l'insuline (91). L'insuline, qui régule la glycémie sanguine, est une petite protéine de 51 acides aminés, elle est composée de deux chaînes polypeptidiques (92). Elle est sécrétée par les cellules β du pancréas en réponse à une augmentation de la concentration de glucose et/ou d'acides aminés dans le sang (92). Sa sécrétion se fait en deux phases : une première de sécrétion rapide d'insuline et une deuxième de sécrétion plus soutenue pour réduire la glycémie à la valeur initiale avant la prise alimentaire (64, 92). L'insuline est responsable de l'entrée du glucose dans les cellules de différents organes comme le foie et les muscles (64, 91) et assure le maintien de l'homéostasie glycémique (64). Cette homéostasie est perturbée dans la FK.

1.2.1.1 Phase pré-diabétique

Le DAFK est précédé par une phase pré-diabétique caractérisée par la présence d'excursions glycémiques postprandiales (9). Dès 1977, Lippe *et al.* ont rapporté un défaut de la sécrétion d'insuline dans la FK (4) et depuis, cette observation a été confirmée par plusieurs autres groupes de chercheurs (5-9). En plus des symptômes classiques du diabète comme la polyurie (uriner fréquemment) et la polydipsie (soif excessive), une perte de poids malgré une alimentation adéquate, une diminution des fonctions pulmonaires ou la puberté retardée sont des symptômes du DAFK et surviennent avant le diagnostic de cette complication (93, 94). La perte de poids et la perte accélérée des fonctions pulmonaires sont détectées deux à quatre ans avant le diagnostic du DAFK (10).

1.2.1.2 Diminution de la sécrétion d'insuline

Une diminution de la sécrétion d'insuline et, plus particulièrement, de la première phase est fort probablement une cause importante du DAFK (9, 95). En conséquence, les patients avec le DAFK ont des glycémies plus élevées, en réponse au glucose, que des individus sans la FK (9). Toutefois, la dysfonction du pancréas endocrine dans la FK et la pathophysiologie du DAFK ne sont pas bien comprises. Quelques études ont tenté de

comprendre les causes de la diminution de la sécrétion d'insuline. Des autopsies pratiquées sur des patients atteints du DAFK ont révélé des masses fibreuses, de l'atrophie et une diminution du nombre de cellules β (96-98). Comme dans le DT2, des dépôts amyloïdes sont retrouvés dans les pancréas des patients avec le DAFK (99). Ces anomalies sont insuffisantes pour expliquer le défaut de sécrétion de l'insuline qui est détectable dès la naissance dans un modèle animal de la FK (le furet) (100). Elles font suspecter un rôle direct de la mutation du canal CFTR dans les anomalies de sécrétion de l'insuline (100). Il est important de noter que la diminution de la sécrétion d'insuline est associée à une diminution des fonctions pulmonaires (101).

1.2.1.3 Résistance à l'insuline

Il y a aussi une contribution probable de la résistance à l'insuline (9), mais les études sur la résistance à l'insuline des patients atteints de la FK ont donné des résultats très variables rapportant des valeurs réduites, augmentées ou semblables à celles des individus en santé sans la FK (102-106). Il est probable que ces résultats soient reliés à la taille des échantillons. De plus, en 2001, Hardin *et al.* ont proposé que la résistance à l'insuline observée dans la FK était plutôt une conséquence de la détérioration clinique des patients et qu'elle était associée à l'inflammation, aux multiples infections et aux niveaux élevés de cytokines comme le TNF- α . Des niveaux plus élevés de cette cytokine sont retrouvés chez les patients atteints de la FK IGT et chez les patients insulino-résistants comparativement à des sujets sains (107). Ainsi, les patients plus malades et avec plus de cytokines pro-inflammatoires sanguins comme le TNF- α seraient plus résistants à l'insuline (107).

1.2.2 Différences avec les autres types de diabète

Le DAFK est une forme spécifique de diabète qui diffère des formes classiques (89, 93). Le DT1 est une maladie auto-immune et le DT2 s'associe davantage à l'obésité et à une diminution de la signalisation des récepteurs à l'insuline (93, 108). La première cause de mortalité dans les DT1 et DT2 sont les maladies cardiovasculaires alors que dans le DAFK, les

patients meurent principalement d'insuffisance respiratoire (62, 109, 110). Le DAFK partage certaines des caractéristiques du DT1, telles que la diminution marquée de la sécrétion d'insuline et l'âge de survenue, mais aussi des caractéristiques du DT2, telles que l'existence d'une phase pré-diabétique et des dépôts amyloïdes dans les cellules β pancréatiques (93). Néanmoins, les patients avec le DAFK, comme dans les autres formes de diabète, sont exposés au même risque de complications spécifiques (rétinopathie, néphropathie et neuropathie) pour lesquelles l'hyperglycémie chronique joue un rôle fondamental (93) (Tableau II).

Tableau II : Comparaisons du diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique avec les diabètes de type 1 et 2 (adapté de (105))

Aspects	DAFK	T1D	T2D
Âge de survenue du diabète	20-24 ans	Enfance, adolescence	Moitié à la fin de l'âge adulte
Sécrétion d'insuline	Très diminuée	Nulle	Diminuée et variable
Résistance à l'insuline	Dépend de l'état du patient	Modeste	Sévère
Maladie auto-immune	Non	Oui	Non
Complications microvasculaires	Oui	Oui	Oui
Cause de décès	Insuffisance respiratoire	Maladies cardiovasculaires	Maladies cardiovasculaires

1.2.3 Diagnostic du diabète associé ou secondaire à la fibrose kystique

Il est recommandé de dépister annuellement le DAFK chez les enfants atteints de la FK dès l'âge de dix ans (2). Il existe différentes façons de diagnostiquer cette complication de la FK parmi lesquelles le test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) est le test recommandé (2).

1.2.3.1 Hyperglycémie provoquée par voie orale

Un test utilisé pour dépister le diabète dans la population générale et dans la FK est l'HGPO. Ce test doit être idéalement réalisé chez des patients en état stable, c'est-à-dire ceux à distance d'une surinfection ou de traitements pouvant modifier significativement la tolérance au glucose (par exemple : la prise de stéroïdes). Pour l'HGPO, les patients arrivent à jeun, boivent un jus sucré contenant 1,75g de glucose/kg de poids corporel de glucose (maximum 75g) et des prises de sang sont prélevées au début du test et après deux heures (9). Les valeurs de glycémie à jeun et à la deuxième heure déterminent la tolérance au glucose (111) (Tableau III).

Tableau III : Glycémies utilisées pour diagnostiquer le diabète à la suite d'une hyperglycémie provoquée par voie orale (111)

Tolérance au glucose	Glucose à jeun (mmol/L)		Glucose 2 heures (mmol/L)
Normale ou non-diabétique (NGT)	< 7.0	et	< 7.8
Pré-diabétique (IGT)	< 7.0	et	7.8-11.0
Diabétique (DAFK)	< ou > 7.0	ou	≥11.1

1.2.3.2 Méthodes alternatives

L'hémoglobine glyquée (HbA1c), le produit de la fixation du glucose sur l'hémoglobine (protéine des globules rouges importante pour le transport de l'oxygène (112)), est un bio-marqueur de contrôle glycémique des trois mois précédents qui est utilisé pour le diagnostic des DT1 et DT2. L'HbA1c n'est pas recommandé dans la FK (2), car plusieurs auteurs, dont Godbout *et al.*, ont démontré son manque de fiabilité pour le diagnostic du DAFK (113). Les auteurs de cette dernière étude ont proposé que l'anémie, fréquente dans la

FK, la régénération plus rapide des globules rouges ou la fixation altérée du glucose sur l'hémoglobine expliquerait ce manque de fiabilité du HbA1c dans la FK (113).

Tout comme dans le DT2, il est également possible de diagnostiquer le DAFK en mesurant la glycémie à jeun (2). Une glycémie plus élevée que 7.0 mmol/L signale la présence du DAFK (2). Néanmoins, comme la glycémie à jeun reste normale longtemps dans la FK, l'utilisation de ce dosage manque de spécificité (2).

1.2.4 Hyperglycémie et fluctuations glycémiques

En 2004, le *Montreal Cystic Fibrosis Cohort* (MCFC) a été établi pour dépister le DAFK avec l'HGPO chez les patients non-diabétiques pré-diabétiques atteints de la FK. Des résultats obtenus de la MCFC nous ont permis de conclure que les patients atteints de la FK et considérés comme normo-tolérants au glucose, présentent des excursions glycémiques significatives même si leur glycémie à jeun et à la deuxième heure du test sont normales et semblables aux sujets sains (9) (Figure 2). Ces observations ont été confirmées par d'autres groupes (13, 114). D'autres études ont démontré que les patients atteints de la FK avec une tolérance normale au glucose avaient des excursions glycémiques importantes puisqu'ils avaient des glycémies élevées (glycémies >11.1 mmol/L) ainsi que des fluctuations glycémiques plus importantes comparativement à des sujets sains (12, 13). Ainsi, les sujets atteints de la FK, même ceux avec une tolérance normale au glucose, présentent des excursions glycémiques répétées et significativement plus importantes que celles de sujets sains sans la FK. Chez les patients atteints de la FK pré-diabétiques et avec le DAFK, des valeurs de glycémies élevées s'appellent l'hyperglycémie (115). Pour simplifier la thèse, nous regrouperons dorénavant les termes excursions glycémiques et hyperglycémie pour maintenant les définir par «hyperglycémie» (glycémie >10 mmol/L) pour tous les patients atteints de la FK (Tableau IV).

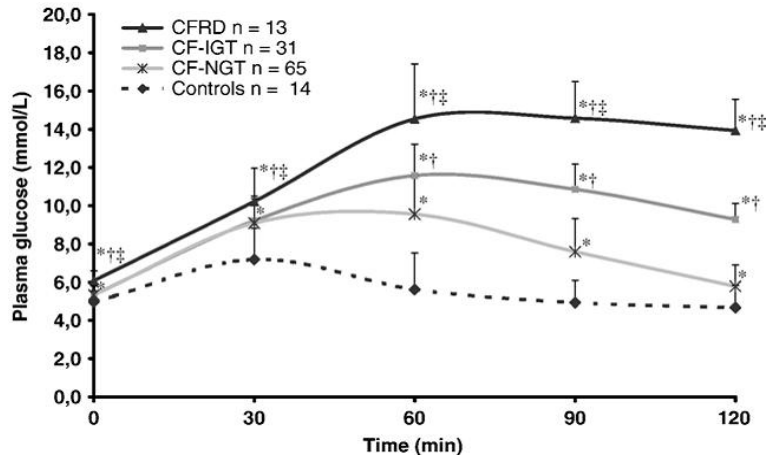


Figure 2: Glycémies durant une hyperglycémie provoquée par voie orale de deux heures chez des sujets sains (*Controls*, n=14) et des patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques (*CF-NGT*, n=65), pré-diabétiques (*CF-IGT*, n=31) et avec le diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique (*CFRD*, n=13). * p<0.05 vs *Controls*, † p < 0.05 vs *CF-NGT* et ‡ p < 0.05 vs *CF-IGT* (reproduite avec permission d’Elsevier (9)).

1.2.4.1 Conséquences de l’hyperglycémie et des fluctuations glycémiques

Une étude de 2006 a démontré que les fluctuations glycémiques sont positivement associées au marqueur de stress oxydatif, 8-iso prostaglandine F2 alpha, chez des patients avec le DT2 (116). Par la suite, Meugnier *et al.* ont observé une augmentation de l’expression génique de FOXO1A (protéine impliquée dans la transcription de d’autres protéines anti-oxydatives telles que le superoxyde dismutase de manganèse (117)) et des métallothionines (molécules captant des radicaux libres comme le hydroxyde (118)) en réponse à l’hyperglycémie chez des adultes en santé (119). De plus, l’hyperglycémie et les fluctuations glycémiques peuvent stimuler la production de marqueurs inflammatoires tels que l’IL-6 et la protéine C-réactive (CRP) chez des adultes en santé, mais l’antioxydant glutathion peut inverser cette production (120). Ainsi, l’hyperglycémie et les fluctuations glycémiques provoquent de l’inflammation et du stress oxydatif.

1.2.4.2 Indices de fluctuations glycémiques

Un appareil existant est capable d'évaluer les fluctuations glycémiques et l'hyperglycémie. Les holters glycémiques (*Continuous Glucose Monitoring System*; CGMS) sont des appareils mesurant la glycémie dans le liquide interstitiel sous-cutané toutes les 5 minutes pendant 72 heures à six jours et permettent d'évaluer l'hyperglycémie (glycémie >7.8 mmol/L), l'hypoglycémie (glycémies <3.9 mmol/L) (121) ainsi que les fluctuations glycémiques (36). Ces appareils ne sont pas utilisés pour diagnostiquer le DAFK, mais permettent de voir le profil glycémique d'un individu (2). Les 144 à 288 valeurs de glycémies collectées chaque jour avec le CGMS sont néanmoins difficilement interprétables individuellement. Pour cette raison, des indices de fluctuations glycémiques existent pour analyser les données de CGMS et pour mesurer la qualité du contrôle glycémique (36) (Tableau IV).

Tableau IV : Indices de fluctuations glycémiques (36, 111, 121)

Indices	Description	Avantages	Désavantages
Glycémie moyenne	-Moyenne de toutes les valeurs de glycémie obtenues durant 72 heures à toutes les 5 minutes	-Simple -Méthode statistique classique	-Ne permet de détecter des épisodes d'hypoglycémie ou d'hyperglycémie sévère
Hypoglycémie (% temps)	- Glycémie <3.9 mmol/L	-	-
Hyperglycémie (% temps)	- Glycémie > 10 mmol/L	-	-
<i>Standard deviation (SD)</i> ou écart-type	-Écart-type de toutes les valeurs de glycémie obtenues durant 72 heures à toutes les 5 minutes -Mesure de la dispersion des données autour de la moyenne	-Simple -Méthode statistique classique	-Ne tient pas compte de distribution de données non-Gaussienne ou asymétrique ni de valeurs aberrantes
<i>Mean Amplitude of Glycemic Excursions (MAGE)</i>	-Moyenne des variations glycémiques de plus d'un SD	-Décrit les fluctuations glycémiques majeures - Corrélé avec le SD	-Rarement utilisé
% Coefficient Variation (CV)	- %CV=100 * SD /glycémie moyenne -Mesure de la variation des données autour de la moyenne	-Simple -Méthode statistique classique	-Ne tient pas compte de distribution de données non-Gaussienne ou asymétrique ni de valeurs aberrantes

Indices (suite)	Description (suite)	Avantages (suite)	Désavantages (suite)
J	<ul style="list-style-type: none"> - $J=0.001 * (\text{glycémie moyenne} + \text{SD})^2$ - Mesure de la dispersion des données autour de la moyenne 	<ul style="list-style-type: none"> -Formule simple -Corrélé avec le temps que la glycémie est entre 4.4 et 11 mmol/L (marqueur de contrôle glycémique) 	<ul style="list-style-type: none"> -Rarement utilisé

1.3 Traitements de la fibrose kystique

En 2014, malgré les efforts pour développer des molécules corrigeant les mutations du CFTR (123), la FK reste une maladie incurable pour la majorité des patients (46). Néanmoins, il y a eu beaucoup de progrès depuis les années 1980 pour arriver aux recommandations nutritionnelles actuelles. Les outils utilisés pour évaluer la dépense énergétique, la composition corporelle et l'apport nutritionnel ainsi que les recommandations sont décrits en détails dans la section suivante.

1.3.1 Aspects nutritionnels de la fibrose kystique

La nutrition est un aspect important dans le traitement de la FK. L'absence d'enzymes digestives pancréatiques produites par le pancréas exocrine dans le système digestif cause la malnutrition, car ces enzymes sont essentielles pour la digestion des lipides et des protéines (1, 46, 62, 64). Pour cette raison, les patients atteints de la FK prennent des enzymes pancréatiques avec chaque ingestion alimentaire (46).

1.3.1.1 Malnutrition

Il existe une association négative entre le niveau de malnutrition et les fonctions pulmonaires (124-126). La survie des patients en état de malnutrition se trouve conséquemment menacée, d'où l'intérêt d'assurer une nutrition adéquate chez ces patients. La mise au point de médicaments contenant les enzymes pancréatiques a permis de changer radicalement les conseils nutritionnels d'une diète complexe avec des restrictions ciblant les lipides vers une diète riche et libérale contenant une grande proportion de l'énergie provenant des lipides (127). Ce changement de principes de traitement améliore très significativement l'espérance de vie des patients atteints de la FK (127) parce que la malnutrition résulte en une diminution de l'indice de masse corporelle (IMC) ainsi qu'une perte de masse grasse (MG) et/ou de masse non grasse (MNG) (126). Ces modifications de composition corporelle sont liées à une baisse des fonctions pulmonaires (128) et limitent la capacité des patients à avoir accès aux calories nécessaires pour lutter contre les surinfections (129).

1.3.1.2 *Indice de masse corporelle*

L'indice de masse corporelle correspond à la division du poids en kilogrammes par la taille en mètres au carré (kg/m^2) et est utilisé pour déterminer si un individu souffre de maigreur, surpoids, obésité ou pèse un poids santé (130). Dans la population en général, les IMC associés à un meilleur profil de santé sont compris entre 18.5 et 24.9 kg/m^2 (131).

Selon une étude du *Cystic Fibrosis Foundation* des États-Unis, les hommes atteints de la FK avec un IMC supérieur à 23 kg/m^2 et les femmes atteintes de la FK avec un IMC supérieur à 22 kg/m^2 présentent de meilleures fonctions pulmonaires que les patients avec un IMC plus bas (131). Il est donc recommandé d'atteindre et de maintenir ces niveaux d'IMC chez les patients. Pour atteindre cet objectif, les patients reçoivent des recommandations nutritionnelles quantitatives et qualitatives. Leur besoin énergétique et leur niveau sanguin de micronutriments diffèrent des individus en santé. Ainsi, les recommandations nutritionnelles reflètent ces différences.

1.3.1.3 *Dépense énergétique*

Il est souvent difficile pour les patients atteints de la FK de maintenir un IMC adéquat puisqu'ils ont une dépense d'énergie plus importante que les individus sans la FK. Les recherches suggèrent que ceci est dû à un effort physique plus important relié aux efforts respiratoires (126, 132) et à la majoration des besoins lors des infections récurrentes (133). Alors, il est suggéré pour ces patients d'ingérer 20-50% de plus de calories que la recommandation quotidienne pour une personne sans la FK de même poids, de même taille, de même âge ainsi que du même sexe (126, 134). Par exemple, une femme sédentaire de 28 ans, 171 cm et 64 kg sans la FK devra ingérer 1737 calories par jour alors qu'une avec la FK devra en ingérer 2085 à 2605 pour maintenir son poids (135).

1.3.1.3.1 Outils pour mesurer la dépense énergétique

La dépense énergétique totale (DÉT) se divise en trois composantes : la dépense énergétique de repos, la thermogénèse alimentaire et la dépense énergétique liée à l'activité physique (136). La méthode de référence pour mesurer la DÉT est la calorimétrie directe. Elle a pour but de mesurer la chaleur produite par le corps et la consommation d'oxygène pour estimer la DÉT et elle se déroule souvent dans des pièces isolées. L'équipement utilisé est extrêmement coûteux et ne permet pas d'évaluer la DÉT dans des conditions ambulatoires représentatives de mode de vie usuel (137).

Cette technique peut être remplacée par des méthodes comme l'eau doublement marquée au deutérium qui estime la DÉT dans un contexte ambulatoire. Pour ce test, les sujets boivent de l'eau doublement marqué par des isotopes stables (D_2O^{18}). Le taux d'apparition des isotopes dans l'urine, la salive et le sang permet d'estimer la production de CO_2 dans le corps et, en conséquence, l'énergie dépensée. Elle est également dispendieuse et l'analyse des échantillons biologiques par spectrométrie de masse est complexe, longue et nécessite un équipement coûteux (138).

Pour ces raisons, des appareils moins coûteux et plus faciles à utiliser ont fait leur apparition dont les accéléromètres. Les accéléromètres bi-axiaux comme le *Sensewear Armband* (SWA) utilisent une évaluation du mouvement, qui combinée à des données physiologiques comme la température de la peau, la chaleur dégagée et la sueur, permettent d'estimer la DÉT (139). Dans notre laboratoire, le SWA a été validé pour mesurer la DÉT chez des adultes en santé avec l'eau doublement marquée (140).

1.3.1.4 Apport en protéines

Un apport adéquat en protéine est primordial dans la FK. Une étude réalisée en 2002, par Ionescu et ses collaborateurs, a démontré que les patients cliniquement stables et atteints de la FK puisaient une plus grande quantité d'énergie dans leurs réserves de protéines que les

individus en santé et que les fonctions pulmonaires étaient inversement proportionnelles à la MNG des patients (141). Il apparaît donc important d'avoir une diète comportant une quantité suffisante de protéines.

1.3.1.4.1 Techniques pour estimer la composition corporelle

Des études ont démontré que l'IMC n'était pas toujours assez sensible pour détecter une déplétion de la MNG dans la FK (142), alors, il est important de pouvoir estimer la composition corporelle.

La méthode de référence pour mesurer la composition corporelle est la pesée hydrostatique. Pour ce test, les participants sont immergés dans un bain et l'eau déplacée détermine leur densité (g/ml). Cette densité est inversement proportionnelle à la MG (143). Cette technique nécessite beaucoup d'équipements spécialisés et elle est difficile pour les personnes fragiles ou malades, car elle nécessite une immersion presque complète dans l'eau (144). De plus, cette technique ne permet pas d'évaluer la répartition de cette MG dans des régions spécifiques, par exemple le tronc (143).

Un autre appareil utilisé fréquemment en recherche clinique pour mesurer la MG et la MNG est le *Dual-energy X-Ray Absorptiometry* (DXA). Cet appareil est conçu pour mesurer la densité osseuse (145), mais il est fréquemment employé pour mesurer la composition corporelle. Il calcule la différence d'énergie entre deux rayons X pénétrant le corps pour départager la MG, la MNG ou l'os (146). La DXA coûte environ 150 000\$ et, donc, des appareils moins dispendieux sont aussi utilisés pour évaluer la composition corporelle comme l'analyse d'impédance bioélectrique (AIB) qui envoie un courant électrique dans le corps. La MNG permet facilement le passage du courant alors que la MG est très peu conductrice. En fonction de l'impédance, c'est-à-dire de la résistance des tissus à un faible courant électrique, on peut ainsi déduire la composition corporelle (147). Il existe différents modèles d'AIB et le plus fréquent est une balance mesurant le passage du courant entre les deux pieds. Le DXA et l'AIB sont les méthodes les plus utilisées puisqu'elles sont plus facilement réalisables et moins chères que les autres. Par contre, deux études, dont une de notre laboratoire, ont

démontré que l'AIB ne pouvait pas remplacer la DXA dans la FK (148, 149). En effet, nous avons démontré qu'il y avait une différence de 8 à 11% entre les résultats du DXA et de l'AIB (148). Donc, dans un milieu de recherche où des valeurs précises de MG et de MNG sont nécessaires afin de phénotyper les patients, on ne peut pas remplacer le DXA par l'AIB.

1.3.1.5 Apport en lipides

Une étude en 1988 par Corey *et al.* a comparé la survie des patients de deux cliniques de FK : une à Toronto où les patients avaient une diète riche en lipides et prenaient les enzymes digestives nécessaires pour les absorber et une à Boston où les patients avaient une diète faible en lipides et riche en glucides. Cette étude a démontré que les patients atteints de la FK de la clinique de Toronto vivaient plus longtemps que les patients de celle de Boston. Cette étude a permis de déterminer qu'une diète riche en gras combinée à un traitement médical optimal incluant la prise d'enzymes pancréatiques aidaient les patients à vivre plus longtemps (127). Donc, il est recommandé de manger une diète riche en gras dont 35-40% des calories proviennent des lipides (134). Par contre, même la prise d'enzymes pancréatiques ne permet pas d'atteindre des niveaux adéquats de certains composés lipidiques tels que les acides gras polyinsaturés ou les vitamines liposolubles (150, 151).

1.3.1.6 Micronutriments

Même avec des suppléments d'enzymes pancréatiques adéquats, des niveaux d'acide linoléique (LA) et d'acide docosahexaénoïque (DHA) inférieurs à la normale sont observés chez les patients atteints de la FK et il se pourrait que l'absence du canal CFTR en soit la cause (151, 152). Le DHA se convertit en docosatriènes et en resolvines, des composés anti-inflammatoires (153, 154). Une moins grande quantité de ces produits anti-inflammatoires expliquerait en partie l'inflammation plus importante chez les patients atteints de la FK comparativement aux individus sans la FK (155, 156). Par contre, les nombreuses études de supplémentation avec le DHA dans la FK n'ont pas démontré d'impact positif sur l'état clinique des patients (157).

Une proportion importante de patients atteints de la FK prend des suppléments de vitamines A, D, E, et K afin d'avoir des niveaux sanguins optimaux de ces composés liposolubles (158). Ces vitamines jouent plusieurs rôles importants dans la FK (150). La vitamine A est impliquée dans l'immunité et les fonctions pulmonaires. Une étude chez 102 patients atteints de la FK a observé une association négative entre les fonctions pulmonaires et les niveaux de vitamine A (rétinol) sériques (159). La vitamine D est, quant à elle, importante pour la minéralisation des os et le métabolisme calcique, mais aussi pour l'immunité innée, le diabète et les fonctions pulmonaires (150). Chez des adultes atteints de la FK, une étude a démontré une association positive entre les niveaux sériques de vitamine D (25(OH)D) et les fonctions pulmonaires (160). Tout récemment, une étude a observé que les adolescents ayant des bas niveaux sériques de vitamine D avaient plus de surinfections que ceux avec des niveaux plus élevés (161). Il existe très peu d'études examinant la vitamine E, un antioxydant et la vitamine K, un facteur important pour la coagulation et leurs rôles dans l'inflammation pulmonaire dans la FK (150).

Le zinc est aussi un élément important dans la FK puisqu'il régule la sécrétion d'insuline, l'inflammation ainsi que la fonction des cils pulmonaires (162). Par contre, tous les patients atteints de la FK n'ont pas un niveau optimal de ce micronutriment. En 2014, Damphousse *et al.* ont rapporté que plus de 20% des patients atteints de la FK avaient des niveaux inadéquats de zinc plasmatique (162). Il n'existe présentement pas de recommandations quant à la façon dont il faut supplémenter les patients atteints de la FK en zinc.

1.3.1.6.1 Outils pour estimer l'apport nutritionnel

On dispose de plusieurs outils pour estimer l'apport nutritionnel d'un individu et les plus couramment utilisés sont les journaux alimentaires, les questionnaires de fréquence alimentaire et le rappel de 24 heures.

Parmi ces outils, le journal alimentaire permet la meilleure quantification des aliments consommés (163). Les données d'un journal alimentaire de sept jours sont fortement associées

à des biomarqueurs urinaires comme le sodium et la vitamine C (164). Les journaux alimentaires sont utilisés pour estimer la quantité de nourriture et de breuvages consommée durant une période allant de trois à 16 jours. Les participants doivent noter de façon détaillée les aliments consommés en mentionnant les repas et leurs quantités et en décrivant les différentes composantes de ces derniers ainsi que les marques et les modes de cuisson. Ces données doivent être indiquées au moment des repas ou des collations (163). Cette méthode nécessite beaucoup de travail de la part des participants (165) et, en conséquence, ils peuvent changer leurs habitudes alimentaires afin de rendre la tâche plus facile (166). Aussi, certaines personnes ne remplissent pas immédiatement leur journal ce qui peut introduire un biais de rappel ou encore des données imprécises introduisant un biais de précision. Le travail pour l'équipe de recherche est, lui aussi, significatif puisque chaque item doit être vérifié avec le participant, être analysé idéalement en double, puis être saisi dans un logiciel d'analyse alimentaire. Malgré le fait qu'un journal alimentaire de sept jours est le meilleur outil, un journal alimentaire de trois jours incluant une journée de fin de semaine est souvent utilisé, car il représente un compromis acceptable entre l'importance des données à obtenir et la charge de travail pour les participants et l'équipe de recherche.

Le questionnaire de fréquence alimentaire est un outil différent du journal alimentaire et il s'utilise dans les études épidémiologiques puisqu'il se complète en 10 à 20 minutes, le plus souvent en répondant à des questions formulées par un interviewer entraîné ou plus récemment sur un site web. L'objectif est de décrire la fréquence avec laquelle des aliments (comme une pomme) ou des groupes d'aliments (comme les fruits) sont consommés sur une période déterminée (par exemple : deux ou six mois). Le questionnaire inclut habituellement une liste de 20 à 200 items et le participant y mentionne la fréquence à laquelle il consomme cet item (par exemple : jamais ou trois fois par jour). Ce type de questionnaire ne permet pas d'évaluation précise des apports alimentaires (par exemple : nombre de calories consommées par jour) et il est plutôt utilisé pour évaluer la consommation d'un aliment, d'un groupe alimentaire ou d'un nutriment pour un groupe de sujets ou une population (163). Par exemple, on peut évaluer le lien entre la consommation de la vitamine D et le cancer avec les questionnaires de fréquence alimentaire en comparant une population atteinte de cancer et une population en santé.

Le dernier outil est le rappel de 24 heures. Il s'agit d'une méthode rapide de 20 à 30 minutes permettant de quantifier la consommation d'aliments et breuvages dans les dernières 24 heures. Le rappel de 24 heures peut être fait au téléphone, en personne ou rempli sur un site web (167). Il existe différentes façons de procéder pour le rappel, mais habituellement, l'interviewer demande au participant de décrire tous les aliments consommés la veille. Ensuite, il demande des questions quant aux quantités, la cuisson ou les marques des aliments. Pour les quantités, des photographies ou des modèles permettent de mieux évaluer les apports. Il est important de choisir une journée représentative de l'alimentation usuelle afin de minimiser les biais. Cette méthode convient moins aux enfants et aux personnes âgées puisqu'ils ne se souviennent pas toujours du détail des aliments consommés. Ce type d'évaluation convient bien aux études avec un grand nombre de sujets (163).

1.3.1.7 Recommandations

Une diète adéquate, comprenant 120-150% de l'énergie recommandée pour une personne sans la FK, dont 35-40% de l'énergie des calories proviennent des lipides, 15-20% des protéines et le restant (40-50%) des glucides, est suggérée aux patients atteints de la FK (93, 134). Les patients doivent également prendre des enzymes digestives (46), des suppléments de vitamines liposolubles (158) et, dans certains cas, du zinc (162). Dans la population générale, une diète comprenant 20-35% de l'énergie provenant des lipides, 10-35% des protéines et 45-65% des glucides est recommandée (168).

Tableau V: Recommandations nutritionnelles pour les patients atteints de la fibrose kystique

Recommandations	
Énergie	120-150% de l'énergie recommandée pour une personne sans la FK
Lipides	35-40% de l'énergie
Protéines	15-20% de l'énergie
Glucides	40-50% de l'énergie

1.3.2 Diabète associé ou secondaire à la fibrose kystique

1.3.2.1 Insuline

Le traitement recommandé pour le DAFK est l'insuline afin de minimiser le risque de complications spécifiques, de contribuer à maintenir un état nutritionnel optimal et de possiblement contribuer à réduire les risques de perte de poids et de fonctions pulmonaires (2, 169). L'insuline injectable est préférée aux anti-diabétiques oraux, car il s'agit du seul traitement qui ait démontré à la fois un contrôle de l'hyperglycémie et une capacité à maintenir le poids (169). Basé sur les résultats de l'essai randomisé contrôlé *Cystic Fibrosis-Related Diabetes Trial*, on propose aux patients des injections d'insuline ultra-rapide à chaque repas et avec les grosses collations afin de cibler l'hyperglycémie postprandiale (2). Il y a quelques années, une étude non contrôlée chez des enfants a suggéré qu'une seule injection par 24 heures d'une insuline de plus longue durée d'action procurerait des bénéfices comparables pour le maintien du poids (170).

1.3.2.2 Recommandations nutritionnelles

De plus, les patients avec le DAFK reçoivent des conseils nutritionnels pour minimiser l'hyperglycémie. La consommation de sucres raffinés provoque des pics de glucose et d'insuline sanguins (171). Dans la population sans la FK, une diète riche en sucres raffinés favorise une accumulation de gras viscéral associé à la résistance à l'insuline et à l'inflammation (171). On recommande, pour les patients atteints de la FK, de prioriser les glucides complexes versus les sucres simples (172) et de manger les repas à des heures régulières en répartissant les glucides sur la journée (134). On ne recommande pas la restriction calorique comme dans le DT2 afin d'éviter la perte de poids (2, 134). La vitamine D serait possiblement importante dans le DAFK, car une étude a associé un apport inadéquat de vitamine D au DAFK (173). Chez les sujets sains sans la FK, les taux de vitamine D bas sont associés avec une moindre sensibilité à l'insuline et une altération de la sécrétion de l'insuline (174). Les auteurs de cette étude proposent que l'insuffisance en vitamine D affecterait la sécrétion et la sensibilité à l'insuline dans la FK et jouerait un rôle dans la

physiopathologie du DAFK (173).

1.3.2.3 *Activité physique*

L'activité physique est bénéfique dans la FK puisque sa pratique permet d'améliorer la qualité de vie, la capacité aérobie, la prise de poids, la force musculaire des jambes et diminue la détérioration des fonctions pulmonaires (175). L'activité physique (entraînement aérobie et de résistance) peut aussi diminuer la variabilité glycémique chez des patients avec le DT2 (176). Donc, il est possible que l'activité physique améliore le contrôle glycémique chez les patients atteints du DAFK. Pour l'instant, il n'y a pas de recommandations quant à la pratique d'activité physique dans la FK pour améliorer l'intolérance au glucose ou le diabète. Néanmoins, une étude est actuellement en cours à l'Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM) pour évaluer l'impact de l'activité physique sur la glycémie et la sécrétion d'insuline chez des patients atteints de la FK pré-diabétiques et avec le DAFK.

1.3.3 *Antibiotiques*

Plusieurs bactéries, dont le *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, ainsi que les champignons tels que l'aspergillose colonisent les sécrétions visqueuses des poumons des patients atteints de la FK (60, 61, 177). Pour minimiser la fréquence, l'importance et les conséquences des infections, les antibiotiques jouent un rôle essentiel dans le traitement de la FK (177). Les antibiotiques peuvent également être utilisés pour combattre des surinfections, des épisodes d'infections pulmonaires, particulièrement dommageables pour les poumons, caractérisés par une diminution marquée des fonctions pulmonaires (diminution de plus de 10% du VEMS) et une augmentation sérique de marqueurs inflammatoires tels que la CRP (177). Généralement, les antibiotiques oraux ou les nébuliseurs sont d'abord utilisés, mais peuvent être remplacés par les antibiotiques intraveineux si ces derniers ne sont pas efficaces à combattre l'infection (177)

Pour se débarrasser de ces organismes, le système immunitaire déclenche donc une ou plusieurs réponses inflammatoires pour attirer les neutrophiles par chimiotaxie. Parmi les

substances chimiotactiques pour les neutrophiles, on retrouve les peptides N-formylés, tels le N-formyl-méthionine-leucine-phénylalanine (178), ainsi que les chimiokines (MIP2) et les cytokines (IL-8) produites par les cellules épithéliales pulmonaires (179). Ensuite, les neutrophiles réagissent en sécrétant des oxydants et des protéases pour tuer les bactéries (180, 181). Par contre, la réponse inflammatoire des neutrophiles serait excessive et inefficace dans la FK (181) et contribuerait ainsi à la destruction du tissu pulmonaire. En conséquence, la baisse des fonctions pulmonaires secondaire à un épisode d'infection pulmonaire peut être secondaire à l'infection, mais aussi à la réponse inflammatoire excessive de l'organisme (181). Il est recommandé de traiter agressivement ces infections avec des antibiotiques comme l'azithromycine afin de ralentir ou de prévenir la détérioration progressive des fonctions pulmonaires (177, 182). La prise d'antibiotiques de façon préventive est aussi suggérée pour prévenir la colonisation par des bactéries comme le *Pseudomonas aeruginosa* (177). Ces approches sont utilisées à la clinique de la FK à l'Hôtel-Dieu du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), mais ce n'est pas nécessairement le cas aux autres cliniques de la FK au Canada.

1.3.4 Correcteurs

En septembre 2012, Santé Canada a approuvé l'utilisation de l'ivacaftor (Kalydeco®) chez les patients avec une copie de la mutation Gly551Asp. Elle est de la classe III et affecte la fonction du canal CFTR. Au Canada, environ 100 personnes ont une copie du gène CFTR avec cette mutation (46). L'ivacaftor est une molécule qui permet un meilleur fonctionnement du canal CFTR en aidant à ouvrir celui-ci (183) et, en conséquence, en ciblant la cause de la maladie, améliore la fonction pulmonaire des patients (46). De plus, une autre étude clinique vérifie présentement l'effet d'une autre molécule, le VX-809. Combinée avec l'ivacaftor, elle corrigerait le défaut du gène CFTR le plus commun, Phe508delta (134). Si cette combinaison de molécules peut effectivement corriger le défaut génique de la mutation la plus fréquente, la grande majorité des personnes atteintes de la fibrose kystique pourrait préserver ses fonctions pulmonaires et, ainsi, vivre plus longtemps. En conséquence, la fibrose kystique deviendrait, un jour, une maladie curable. Par contre, il est à noter que l'ivacaftor est une molécule dont l'administration coûte 300 000\$ par année et par individu et, qu'elle n'est pas couverte par le

régime public d'assurance maladie au Québec (46).

1.3.5 Autres traitements

Le dornase alfa, une ADNase détruisant l'ADN des neutrophiles contribuant à rendre les sécrétions visqueuses, (184) et le salin hydrotonique, une solution salée hydratant les sécrétions, sont utilisés pour aider à dégager les voies respiratoires des sécrétions visqueuses (185-187). Le *clapping*, une technique de physiothérapie qui vise à mobiliser et drainer les sécrétions visqueuses (188), aide aussi à dégager les sécrétions.

1.4 Détérioration clinique accélérée

En 1992, Lanng *et al.* ont démontré, dans une étude rétrospective de cas-contrôle, que les patients qui développeront éventuellement le DAFK subissent une perte de poids et une chute des fonctions pulmonaires plus prononcées de deux à quatre ans avant le diagnostic du DAFK comparativement aux patients atteints de la FK qui ne développeront pas le DAFK (10). Ainsi, le DAFK augmente le taux de morbidité et de mortalité chez les patients atteints de la FK (189). La ou les causes de l'accélération de la perte de la fonction pulmonaire débutant des années avant l'apparition du DAFK échappent toujours aux chercheurs. En 2008, Stalvey *et al.* ont démontré que l'hyperglycémie influencerait la réactivité immunitaire dans un modèle animal (souris) de la FK (11) suggérant que l'inflammation serait impliquée dans la pathophysiologie du DAFK.

1.5 Inflammation

L'immunité se divise en deux branches : innée et adaptative. L'immunité innée est importante pour la réponse inflammatoire initiale aux pathogènes et aux bactéries alors que l'immunité adaptative est activée après la réponse initiale et elle est essentielle dans la reconnaissance et la mort de pathogènes ayant déjà été combattus par le corps (190). Comme mentionné précédemment, la réponse inflammatoire dans les poumons des patients atteints de la FK est dominée par l'immunité innée parce qu'il y a une infiltration importante de

neutrophiles (180, 181). Par contre, l'immunité adaptative module aussi l'inflammation, car les lymphocytes sont impliqués dans cette réponse inflammatoire (191, 192). Il existe deux grandes familles de lymphocytes: les lymphocytes B et T. Les lymphocytes B sont importants pour la production d'anticorps, alors que les lymphocytes T sont responsables de l'immunité cellulaire (192).

En outre, il existe deux types de lymphocytes T : les lymphocytes T cytotoxiques $CD8^+$ et les lymphocytes T auxiliaires (T-aux) $CD4^+$ (193) qui sont divisés en trois sous-groupes principaux de cellules effectrices, les *T-helper 1* (Th1), *T-helper 2* (Th2) et *T-helper 17* (Th17) (194, 195) (Figure 3). Ces lymphocytes ont diverses fonctions dans le système immunitaire. D'une part, les lymphocytes T cytotoxiques tuent des cellules cibles (par exemple : cancéreuses ou infectées par un virus). D'autre part, les lymphocytes T-aux sécrètent des cytokines et aident à activer les lymphocytes T cytotoxiques et les lymphocytes B (193, 196).

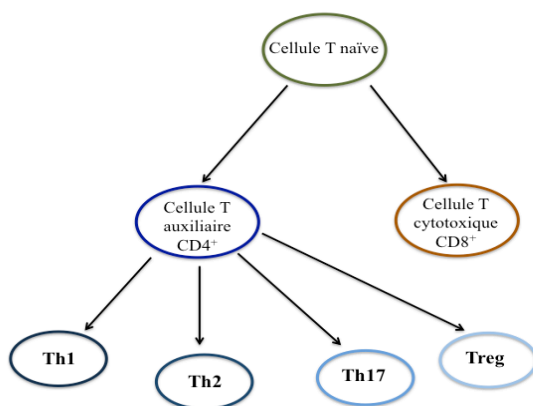


Figure 3 : Différents types de lymphocytes T (64, 193, 194)

1.5.1 Lymphocytes T auxiliaires *T-helper 1* et *T-helper 2*

Les sous-types de lymphocytes T-aux ont également des fonctions spécifiques. Les Th1 se différencient en présence d'IL-12, produisent principalement de l'interferon- γ (IFN- γ), l'IL-2 et la lymphotoxine et ils sont surtout impliqués dans la réponse cytotoxique contre des pathogènes intracellulaires alors que les Th2 se différencient en présence d'IL-4, produisent de

l'IL-4, l'IL-5 et l'IL-13 et sont nécessaires pour la réponse humorale contre les pathogènes extracellulaires (33, 194).

1.5.1.1 T-helper 1 et T-helper 2 dans la fibrose kystique

Des études ont examiné les lymphocytes T-aux Th1 et Th2 dans la FK. Des niveaux élevés de lymphocytes T ont été retrouvés dans la muqueuse des poumons des patients atteints de la FK (197). Ensuite, une étude par Pukhalsky *et al.* a démontré qu'une réponse lymphocytaire dominée par les Th1 au lieu des Th2 était associée à une meilleure fonction pulmonaire dans la FK (198). De plus, une autre étude par Hartl *et al.* a conclu que les lavages bronchoalvéolaires des patients atteints de la FK infectés avec le *Pseudomonas* contenaient des niveaux plus élevés de Th2, d'IL-4 et d'IL-13 que ceux des patients sans infection et que les niveaux de ces cytokines corrélaient négativement avec les fonctions pulmonaires (199).

1.5.1.2 T-helper 1 et T-helper 2 dans le diabète de type 1

Le DT1 est une maladie auto-immune causée par la destruction des cellules β du pancréas produisant l'insuline par des lymphocytes T cytotoxiques et les T-aux et, plus particulièrement, les Th1 (24, 200). Les personnes avec le DT1 n'ont conséquemment plus la capacité de produire assez d'insuline pour réguler leurs glycémies et doivent s'injecter de l'insuline avant leurs repas et collations ainsi qu'avant le coucher (111).

1.5.2 Lymphocytes T auxiliaires T-helper 17

Depuis les années 2000, une nouvelle famille de T-aux, celle des lymphocytes Th17 est de plus en plus étudiée. Les Th17 se différencient en présence du TGF- β et de l'IL-6 et ils produisent principalement la cytokine pro-inflammatoire IL-17A, mais aussi les IL-17F, IL-21 et IL-22 (33). Ces T-aux tuent les bactéries extracellulaires et les levures (par exemple : *Candida albicans*) (201, 202) et des niveaux élevés d'IL-17A sont impliqués dans la physiopathologie de plusieurs maladies auto-immunes dont l'arthrite rhumatoïde (AR) (17) et la sclérose en plaques (203). D'autres cellules immunitaires, comme les cellules T $\gamma\delta$ et les

cellules T *natural killer* (18), produisent l'IL-17A (204). L'IL-17A se lie au récepteur A de l'IL-17 (IL-17RA) et les IL-17RA se trouvent sur plusieurs types de cellules (205) dont les cellules épithéliales bronchiques humaines (19).

1.5.2.1 T-helper 17 dans la fibrose kystique

Les chercheurs se sont intéressés aux T-aux Th17 et leurs rôles dans l'inflammation pulmonaire. Plusieurs études chez la souris ont démontré que les Th17 et l'IL-17A jouent un rôle important dans la réponse immunitaire pulmonaire contre des bactéries comme *Klebsiella pneumoniae* et *Bordetella pertussis* (206). De plus, d'autres études démontrent que l'IL-17A stimule la sécrétion de cytokines comme l'IL-8 et l'IL-6 des cellules épithéliales et que ces cytokines recrutent les neutrophiles (206). L'IL-17A favorise aussi l'expression des gènes de mucines (*MUC5AC* et *MUC5B*) *in vitro* dans des cellules épithéliales trachéobronchiques humaines (207). Les mucines sont impliquées dans la production de sécrétions visqueuses dans les poumons des patients atteints de la FK (62).

En 2005, McAllister *et al.* ont été les premiers à s'intéresser aux niveaux d'IL-17A dans la FK. Ils ont comparé les niveaux d'IL-17A dans les crachats de huit patients atteints de la FK durant un épisode de surinfection pulmonaire et quatre sujets sains et ils ont conclu que les patients atteints de la FK avaient des niveaux d'IL-17A plus élevés que les autres sujets (19). Les niveaux d'IL-17A des patients atteints de la FK ont diminué après un traitement d'antibiotique. Ces auteurs suggèrent que les pathogènes dans les sécrétions visqueuses activent les cellules dendritiques présentes dans les poumons. Celles-ci produisent de l'IL-23 qui, une fois produite, recrute les Th17 qui, à leur tour, produisent de l'IL-17A et attirent les neutrophiles par chimiotaxie. Les Th17, en présence d'IL-23, réagissent de façon exagérée puisque cette cytokine augmente leur stabilité et leur survie (208).

Une autre étude, publiée en 2009 par Roussel *et al.* a conclu que l'IL-17A déclenche l'inflammation en amorçant une réaction plus vive des cellules épithéliales pulmonaires sans CFTR fonctionnel à des bactéries comme *P. aeruginosa* en augmentant l'expression du

nucleotide-binding oligomerisation domain 1 (NOD1), une protéine intracellulaire de récepteur de reconnaissance de motifs moléculaires (PRR) (20).

Ensuite, en 2010, Decraene *et al.* ont réalisé une étude transversale pour comparer les niveaux d'IL-17A dans les crachats des patients atteints de la FK sans surinfection pulmonaire et des sujets sains sans la FK. Ils ont rapporté des niveaux d'ARNm et de protéine d'IL-17A plus élevés chez les patients atteints de la FK démontrant bien qu'il y a des niveaux plus élevés d'IL-17A dans les poumons de ces patients (21).

Par la suite, en 2009, Brodlić *et al.* ont mesuré des niveaux plus élevés d'IL-17A dans les poumons des patients atteints de la FK (n=43) comparativement à des personnes avec de l'hypertension pulmonaire (n=35). Ils ont, par la suite, stimulé des cellules épithéliales bronchiques humaines des patients atteints de la FK avec de l'IL-17A et ils ont observé une augmentation de la production d'IL-8, d'IL-6 et du GM-CSF. Ces cytokines recrutent des neutrophiles à des sites d'inflammation (22). Leur étude suggère que l'IL-17A recruterait les neutrophiles aux poumons dans la FK et aurait possiblement un rôle dans l'infiltration chronique des neutrophiles. Dans la FK, les macrophages contribuent également à l'inflammation pulmonaire en produisant de l'IL-6 et de l'IL-8, des cytokines recrutant des neutrophiles (209).

Tan et ses collaborateurs ont, plus récemment, démontré l'importance des lymphocytes Th17 et de l'IL-17 dans la pathologie de la FK en trouvant des lymphocytes CD4⁺ IL-17⁺ et des niveaux plus élevés d'IL-17 dans les lavages endobronchiques d'enfants atteints de la FK comparativement à des enfants sains sans la FK. De plus, ils ont observé plus de cellules IL-17⁺ (cellules CD4⁺, neutrophiles, etc.) chez les enfants nouvellement diagnostiqués avec la FK versus les enfants sains sans la FK démontrant l'importance des Th17 et de l'IL-17 dans l'inflammation pulmonaire des patients atteints de la FK dès les premières années de la vie (18).

Une étude très récente par Mizunoe *et al.* démontre que l'activation des récepteurs *Toll-like* (TLR) TLR2 et TLR4 ainsi que la présence de l'IL-17A stimulent la production d'IL-

8 dans une lignée de cellules épithéliales pulmonaires de personne atteinte de la FK, mais, que ces deux stimuli agissaient en synergie pour augmenter la production d'IL-8 (23). Ceci démontre que l'IL-17A contribuerait à stimuler une réponse inflammatoire pulmonaire importante dans la FK.

En 2014, une étude a démontré que les patients atteints de la FK avaient moins de Th17 avec une mémoire cellulaire spécifique pour le *P. aeruginosa* dans leur sang périphérique et ses auteurs proposent que ces cellules inflammatoires se rendent aux poumons pour combattre cette bactérie (210).

Finalement, une étude récente a démontré que les cellules T naïves des patients atteints de la FK sont plus prédisposées à devenir des Th17 alors que les Th1 et T_{reg} se comportent semblablement à celles des sujets sains (211).

1.5.2.1.1 Thérapies ciblant l'IL-17

Dans les trois dernières années, plusieurs études cliniques de phase II ciblant l'IL-17 dans l'AR et le psoriasis ont eu lieu. Une étude randomisée contrôlée à double insu avec 237 patients atteints de l'AR a démontré que ceux prenant les doses élevées de secukinumab, un anticorps se liant spécifiquement à l'IL-17 humain, pour 16 semaines, amélioraient leur *Disease Activity Score in 28 joints* (DAS28) et que leur niveau de CRP diminuait également comparativement aux patients du groupe contrôle prenant le placebo (212, 213). Deux études de phase III se déroulent présentement pour examiner la sécurité et l'efficacité du secukinumab pour traiter l'AR (213, 214).

Deux autres anticorps bloquant la voie d'IL-17 ont été utilisés dans des études de phase II pour traiter le psoriasis modéré à sévère : le brodalumab, un anticorps contre le récepteur humain d'IL-17, et l'ixekizumab, un anticorps se liant spécifiquement à l'IL-17A. Dans ces études randomisées contrôlées à double insu, le brodalumab et l'ixekizumab amélioraient le *Psoriasis Area and Severity Index* (PASI) de 75% chez une majorité des participants (\approx 77-82%) prenant les composés actifs (213, 215, 216). Il aurait été intéressant de vérifier l'effet de

ces composés sur la glycémie même si l'AR et le psoriasis ne sont pas des maladies associées au diabète.

Finalement, en 2010, Mueller *et al.* ont démontré qu'en inhibant l'IL-17E, un membre de la famille de la cytokine IL-17 impliqué dans l'activation de la réponse inflammatoire des lymphocytes Th2, néfaste dans la FK, ils diminuaient la production de cytokines Th2 par des lymphocytes T dans la FK (213, 217). Pour ce faire, ils ont injecté, dans les muscles de souris CFTR^{-/-}, un vecteur viral adéno-associé recombinant exprimant le récepteur soluble d'IL-17E et ils ont observé une diminution de la production d'IL-4 et d'IL-13 par les lymphocytes T CD4⁺. Alors, en ciblant l'IL-17A avec un anticorps ou un récepteur, la production d'autres cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-4, l'IL-13, l'IL-6 ou l'IL-8 diminuera et l'inflammation pulmonaire dans la FK en sera atténuée. Par contre, les infections pulmonaires sont un des effets secondaires les plus fréquents de ces anticorps (213). Donc, il reste à déterminer si les anticorps ciblant l'IL-17 pourraient être utilisés dans la FK et à découvrir les effets qu'ils auront sur la santé pulmonaire des patients.

1.5.2.2 T-helper 17 dans le diabète de type 1

Les facteurs déclenchant le DT1 ne sont pas connus. En revanche, il est reconnu que plusieurs cytokines jouent un rôle dans l'apoptose des cellules β dont l'IL-1 β , l'IL-6 et l'IL-17 (218).

En 2009, Emamaullee *et al.* ont injecté des anticorps anti-IL-17 et anti-IL-25 dans des souris diabétiques (modèle de souris NOD qui développe spontanément le diabète auto-immun) et ils ont noté une diminution du nombre de cellules T infiltrées dans le pancréas et du nombre d'auto-anticorps contre les cellules β du pancréas. Ces chercheurs suggéraient que l'IL-17 est impliquée dans le développement du DT1 (24).

Leurs travaux sont confirmés par Kuriya *et al.* qui ont observé qu'en supprimant génétiquement l'IL-17 chez des souris NOD, la destruction des cellules β s'avérait moins

sévères. Ainsi, ils proposaient que l'IL-17 participe aux premières phases de la destruction pancréatique dans le DT1 (29).

En parallèle, Lee *et al.* ont noté qu'en bloquant la voie d'IL-17 en injectant le B7-H4.Ig, un membre de la famille B7/CD28 costimulation/coinhibition impliqué dans les maladies autoimmunes, moins de souris NOD développent le diabète et les glycémies de celles l'ayant déjà développé s'améliorent (30).

En 2011, des chercheurs ont vacciné des souris rendues diabétiques à la suite d'injections de streptozotocine (STZ) avec des cellules T inactives et autoréactives. La STZ est un composé chimique fréquemment utilisé en recherche afin de provoquer un modèle de diabète de type 1 chez les rongeurs. Son mécanisme d'action induit un stress oxydatif en augmentant la production de peroxyde d'hydrogène et d'autres molécules nocives ayant pour effet de provoquer la nécrose des cellules β du pancréas (219). Les conséquences de la vaccination sur le système immunitaire ne sont pas complètement comprises, mais il est reconnu que la vaccination engendre une inhibition de l'action des Th1. Les auteurs de cette étude ont néanmoins remarqué que le vaccin inhibait également les lymphocytes Th17, qu'il diminuait l'hyperglycémie, qu'il préservait le nombre d'îlots de cellules β pancréatiques et qu'il augmentait la production d'insuline par les îlots du pancréas (25).

Plus récemment, une équipe de chercheurs brésiliens a observé une corrélation entre les niveaux d'IL-17 dans le pancréas et le niveau d'inflammation des cellules β de souris STZ (26) démontrant un lien possible entre l'IL-17 et la destruction pancréatique des cellules β .

À l'opposé, Nikoopour *et al.* ont plutôt noté que l'IL-17 protégeait les souris du DT1. Par contre, les souris NOD de cette étude avaient reçu des injections de *bacillus Calmette-Guéri* (BCG), un mélange de mycobactéries, et, ensuite, reçu des lymphocytes Th17 diabétiques. Par la suite, ces auteurs ont remarqué des niveaux plus élevés d'IL-17, mais aussi d'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire, chez ces souris (220). Ceci expliquerait les raisons pour lesquelles ces souris n'ont pas développé le diabète.

À la suite de ces études sur les souris diabétiques, Honkanen *et al.* ont retrouvé plus de lymphocytes CD4 produisant l'IL-17 dans le sang périphérique des enfants avec le DT1 comparativement à des enfants sans le DT1 et ils ont suggéré que l'IL-17 aurait potentiellement un effet pro-apoptotique sur les cellules β du pancréas (27).

Arif *et al.* ont, quant à eux, isolé des cellules T-aux du sang périphérique de 50 patients avec le DT1 et de 30 sujets sains qu'ils ont exposés à des auto-anticorps contre les cellules β et ils ont mesuré les niveaux d'IL-17. Ils ont observé que les lymphocytes T-aux d'une plus grande proportion de personnes avec le DT1 ont produit de l'IL-17 comparativement aux sujets sains. Ils ont aussi mesuré des niveaux plus élevés d'ARNm de l'IL-17 dans les pancréas de deux sujets décédés du DT1 comparativement à trois sujets non-diabétiques. Ces données ont permis aux auteurs de conclure que l'IL-17 joue probablement rôle clé dans la pathogénèse du DT1 (28).

Alors, toutes ces études démontrent que l'IL-17 et les lymphocytes T-aux Th17 seraient possiblement impliqués dans la destruction des cellules β dans le DT1, mais le mécanisme exact n'est pas encore élucidé.

1.5.2.3 T-helper 17 dans le diabète de type 2

Le DT2 est associé à l'obésité et caractérisé par la résistance à l'insuline et une dysfonction progressive des cellules β du pancréas, responsable de l'hyperglycémie (221). Des études ont démontré que le DT2 est associé à un état d'inflammation sub-clinique caractérisé par la présence élevée de cytokines et de protéines de phase aiguë (222). De plus, les personnes avec le DT2 ont des niveaux plus élevés d'IL-6, d'IL-1 β et de TGF- β , trois cytokines associées à la différenciation des Th17 (223-227).

En 2011, Jagannathan-Bogdan *et al.* ont trouvé plus de lymphocytes Th17 et une sécrétion plus importante d'IL-17 et IFN- γ des lymphocytes T de patients avec le DT2 comparativement à des sujets non-diabétiques (31).

Récemment, en 2012, Zeng et ses collaborateurs ont rapporté que les personnes avec le DT2 avaient plus de lymphocytes Th17 comparativement à des sujets en santé (32). Les Th17 et l'IL-17 pourraient possiblement avoir un rôle dans la pathophysiologie du DT2, mais il est nécessaire de faire d'autres études pour explorer les mécanismes impliqués.

1.5.3 Lymphocytes T régulateurs

Pour contrôler les actions des cellules effectrices, le système immunitaire utilise des cellules de tolérance immunitaire dérivées des cellules CD4⁺ (194) : les lymphocytes T_{reg}. Ils se différencient en présence de TGF- β , expriment le facteur de transcription FoxP3, de hauts niveaux de CD25 (chaîne alpha du récepteur de l'IL-2) et produisent la cytokine anti-inflammatoire IL-10 (228, 229). Les T_{reg} atténuent les réponses inflammatoires excessives des cellules effectrices (Th1, Th2 et Th17) et ils assurent un équilibre entre les réponses pro et anti-inflammatoires (230). Une perturbation de cet équilibre est observée dans des maladies auto-immunes comme l'AR et la sclérose en plaques (231). De plus, les T_{reg} peuvent se dédifférencier en cellules Foxp3⁻ (117) et devenir des cellules pro-inflammatoires (232). En présence d'IL-6 et d'IL-1, les T_{reg} peuvent se transformer en Th17 (233).

1.5.3.1 T régulateurs dans la fibrose kystique

Peu d'études ont examiné les T_{reg} dans la FK. D'abord, en 2013, Iannitti *et al.* ont rapporté que les souris CFTR^{-/-} et les humains avec la FK présentaient un débalancement de l'équilibre Th17/T_{reg} en réponse à la bactérie *Aspergillus fumigatus* dû à une activité dysfonctionnelle de l'indoleamine 2,3-dioxygénase, une enzyme dégradant le tryptophane et importante pour la fonction et la survie des lymphocytes T (234, 235). Augmenter l'activité de l'indoleamine 2,3-dioxygénase ou bloquer la voie Th17 améliorerait l'inflammation pulmonaire dans le modèle murin de la FK (235).

Enfin, Anil *et al.* ont observé que les enfants atteints de la FK avaient moins de T_{reg} comparativement à des sujets sains et qu'ils étaient moins capables de contrôler des réactions immunitaires excessives. Les proportions de T_{reg} sont étonnamment associées positivement aux fonctions pulmonaires (VEMS) des enfants (236) suggérant qu'il existe possiblement une relation entre les fonctions pulmonaires et la proportion de T_{reg} .

1.5.3.2 *T régulateurs dans le diabète de type 1*

En 2010, Marwaha *et al.* ont démontré que l'IL-17 produite par les lymphocytes des individus avec le DT1 provient aussi des T_{reg} et que ces lymphocytes n'atténuent plus suffisamment les réponses inflammatoires excessives (34). D'autres chercheurs appuient cette conclusion en rapportant que le nombre de T_{reg} de souris diabétiques STZ et d'humains avec le DT1 est plus élevé, mais que ces T_{reg} sont dysfonctionnels et ne contrôlent plus les réponses inflammatoires (34, 237). Par contre, l'injection d'insuline aux souris diabétiques STZ corrige la dysfonction des T_{reg} (237). Des T_{reg} dysfonctionnels produisant de l'IL-17 sont aussi rapportés dans d'autres maladies auto-immunes comme le psoriasis (238).

1.5.3.3 *T régulateurs dans le diabète de type 2*

À l'inverse, les individus obèses ont moins de lymphocytes T_{reg} dans leurs tissus adipeux (239). Par ailleurs, des chercheurs ont observé que les lymphocytes T, surtout les Th1 et T_{reg} dans le tissu adipeux, jouent un rôle important dans la régulation du poids corporel, dans la résistance à l'insuline et dans la progression du DT2 chez les souris et les humains (239, 240).

De plus, une étude récente a démontré que l'hyperinsulinémie inhibe la production d'IL-10 par les T_{reg} ainsi que leur capacité à bloquer la production d'une cytokine pro-inflammatoire, le $TNF\alpha$. Les mêmes auteurs notent moins de production d'IL-10 dans le tissu adipeux viscéral de souris obèses et hyperinsulinémiques (241).

En 2011, Jagannathan-Bogdan *et al.* ont mesuré des niveaux de T_{reg} moins élevés chez des patients avec le DT2 comparativement à des sujets sains, mais ils supposent que dans une maladie chronique et un milieu pro-inflammatoire comme dans le DT2, il est possible que les T_{reg} deviennent dysfonctionnels et produisent de l'IL-17 comme les Th17 (31).

1.6. Résumé

En résumé, l'infiltration chronique de neutrophiles dans les poumons et leurs sécrétions d'oxydants et de protéases contribuent probablement à la diminution des fonctions pulmonaires chez les patients atteints de la FK (180, 181). Bien que les T-aux Th1 et Th2 modulent l'inflammation pulmonaire dans la FK (198, 199), les T-aux Th17 semblent perpétuer l'infiltration des neutrophiles puisque l'IL-17A stimule les cellules épithéliales pulmonaires à produire des cytokines comme l'IL-6 et l'IL-8 qui recrutent d'autres neutrophiles (19, 22, 23) (Figure 4). L'IL-17 est aussi probablement responsable de l'infiltration chronique pulmonaire des neutrophiles dans la maladie pulmonaire obstructive chronique et l'asthme (242, 243).

Ainsi, les Th17 et la cytokine IL-17A jouent un rôle important dans la réponse inflammatoire pulmonaire des patients atteints de la FK. De plus, la cytokine pro-inflammatoire IL-17 et les T-aux Th17 affectent probablement la destruction des cellules β du pancréas dans le DT1 (24-26) (82,101,102). Par ailleurs, dans la FK, il y a un déséquilibre Th17/ T_{reg} (235) et les T_{reg} des individus avec le DT1 et la FK sont dysfonctionnels puisqu'ils se trouvent dans l'incapacité d'atténuer les réponses inflammatoires (34, 236). Parallèlement, les niveaux de T-aux Th17 et d'IL-17 sont élevés chez les individus avec le DT2 comparativement à des individus sains non-diabétiques et il est possible que les T_{reg} soient aussi dysfonctionnels dans cette maladie (31, 32).

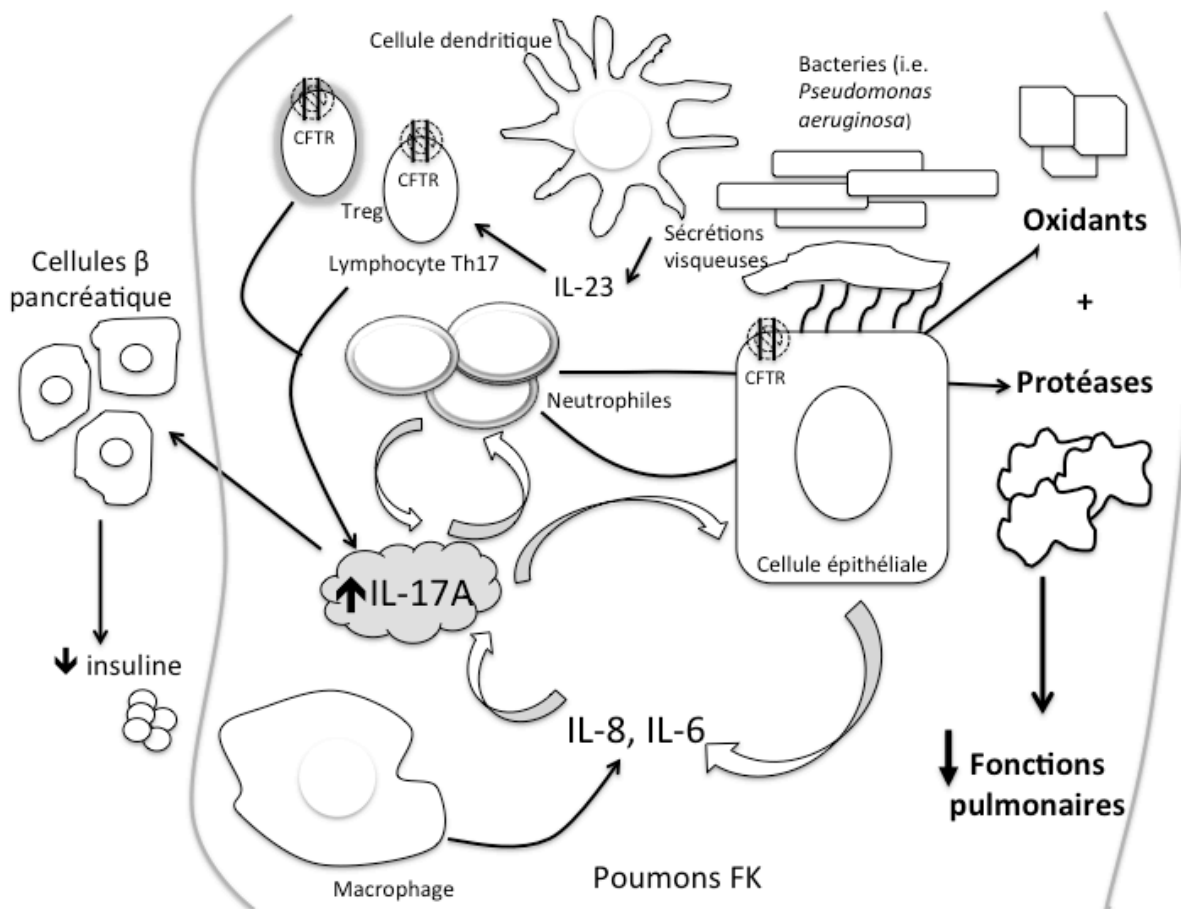


Figure 4: Mécanisme potentiel par lequel les bactéries attirent les cellules dendritiques dans les poumons et recrutent les Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A, perpétuant l'infiltration chronique des poumons de neutrophiles dans la FK. L'IL-17A présente dans les poumons pourrait ensuite se rendre au pancréas et endommager les cellules β produisant l'insuline. Elle contribuerait aussi au déclin des fonctions pulmonaires (adaptée de (213))

Ces études ont plusieurs limites. D'abord, elles n'ont pas investigué l'effet de facteurs confondants modulant les fluctuations glycémiques comme la dépense énergétique, la composition corporelle et l'alimentation. De plus, les études dans le DT1 et le DT2 n'ont pas examiné l'effet du glucose sur les populations de Th17 et de T_{reg} ainsi que leurs productions d'IL-17. Dans la littérature actuelle, il n'y pas d'étude examinant les lymphocytes Th17 et T_{reg} ainsi que l'IL-17A dans le développement du DAFK.

Pour les patients atteints de la FK, il est donc possible que ces différents types de cellules immunitaires participent, à la fois, à la chute accélérée des fonctions pulmonaires, mais aussi à la survenue du DAFK. Cette hypothèse, à la base de cette thèse, est développée dans un article de revue (213).

2. Hypothèses et objectifs

2.1 Problématique

L'hyperglycémie et les fluctuations glycémiques sont présentes non seulement chez les patients avec le DAFK, mais aussi chez les patients atteints de la FK non-diabétiques ou pré-diabétiques (9, 13, 114). Comparativement aux patients atteints de la FK qui resteront normotolérants au glucose, chez les patients qui développeront le DAFK, on observe une accélération de la dégradation des fonctions pulmonaires deux à quatre ans avant le diagnostic du DAFK pour une raison encore inconnue (10). Par contre, comme mentionné précédemment, l'hyperglycémie associée à la réactivité immunitaire serait impliquée (11). De plus, une étude publiée en 2008 par Maciver *et al.* démontre que les lymphocytes réagissent de façon exagérée en présence d'un excès de glucose (14). Comme mentionné ci-haut, les T-aux Th17 et l'IL-17 sont impliqués dans l'inflammation pulmonaire dans la FK (18-23, 210) ainsi que dans la destruction des cellules β du pancréas dans le DT1 (24-26, 29, 30), suggérant qu'ils joueraient aussi un rôle dans l'hyperglycémie progressive des patients atteints de la FK. En outre, les T_{reg} dysfonctionnels sont présents dans la FK (236) et ils produisent de l'IL-17 dans le DT1 (34) et peut-être dans le DT2 (32).

De plus, des expériences sur des souris CFTR^{-/-} ont démontré que ces souris ont des réponses inflammatoires hyperactives et que celles-ci dépendent du génotype CFTR des cellules CD3⁺ CD4⁺ (T-aux) (15). Par ailleurs, McDonald *et al.* ont observé que le canal CFTR est exprimé dans les lymphocytes (16) et, ensuite, Mueller et ses collègues ont observé qu'une dysfonction du CFTR dans les lymphocytes provoque des réponses inflammatoires anormales (15). Des études ont également démontré que ce canal est exprimé dans d'autres cellules du système immunitaire dont les neutrophiles (244) et les macrophages dérivés des monocytes (245) et son absence affecte leurs activités (244, 245).

Ces études suggèrent que l'hyperglycémie et les fluctuations glycémiques plus prononcées retrouvées chez les patients atteints de la FK non-diabétiques et pré-diabétiques affecteraient la réactivité immunitaire et les lymphocytes sans CFTR fonctionnel en modulant les lymphocytes Th17 et T_{reg} ainsi que leurs productions d'IL-17A. Ces lymphocytes sont impliqués dans l'inflammation dans la FK, le DT1 et le DT2. L'IL-17A produite par ces lymphocytes se rendrait aux poumons, perpétuerait l'infiltration des neutrophiles, endommagerait le tissu pulmonaire et contribuerait à la chute accélérée des fonctions pulmonaires avant l'apparition du DAFK.

2.2 Hypothèses

À la lumière de ces informations, nous émettons ainsi l'hypothèse que les patients pré-diabétiques et non-diabétiques atteints de la FK présentant de l'hyperglycémie et des fluctuations glycémiques auront une plus grande proportion de lymphocytes Th17 et de T_{reg} dysfonctionnels circulants produisant de l'IL-17A. Ainsi, les niveaux d'IL-17A circulants augmenteraient et cette cytokine se rendrait aux poumons des patients atteints de la FK pour perpétuer l'infiltration des neutrophiles. Donc, les lymphocytes Th17, T_{reg} et l'IL-17A contribueraient à la destruction des tissus pulmonaires et à la chute accélérée des fonctions pulmonaires observée deux à quatre ans avant le développement du DAFK (Figure 5). Ainsi, ces populations lymphocytaires, de par leur rôle potentiel dans l'inflammation associée à l'hyperglycémie ainsi que l'inflammation pulmonaire, constituent un lien possible qui expliquerait les associations observées entre l'hyperglycémie progressive, les fluctuations glycémiques et l'accélération de la baisse de la fonction pulmonaire dans la FK (Figure 5). De plus, nous croyons que l'alimentation, l'activité physique et la composition corporelle moduleraient ces relations.

En résumé, les hypothèses de cette thèse sont :

1. les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A seront affectées par les fluctuations glycémiques;

2. les patients pré-diabétiques et non-diabétiques atteints de la FK auront une plus grande proportion de lymphocytes Th17 et de T_{reg} dysfonctionnels produisant de l'IL-17A comparativement aux sujets sains;
3. les proportions des lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A des patients atteints de la FK seront négativement associées aux fonctions pulmonaires;
4. l'alimentation, l'activité physique et la composition corporelle moduleront ces relations.

2.3 Objectifs

Afin de répondre aux hypothèses de cette thèse, les objectifs sont :

1. d'abord, d'examiner les effets des fluctuations glycémiques sur les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} dysfonctionnels et leurs productions d'IL-17A chez les patients atteints de la FK (non-diabétiques, pré-diabétiques, avec le DAFK) comparativement à des sujets sains sans la FK ni le diabète;
2. puis, de comparer les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} dysfonctionnels produisant de l'IL-17A des patients atteints de la FK (non-diabétiques, pré-diabétiques, avec le DAFK) et les sujets sains;
3. ensuite, de vérifier l'association entre les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A et les fonctions pulmonaires des patients atteints de la FK;
4. enfin, de vérifier les effets de l'alimentation, de l'activité physique et de la composition corporelle sur ces relations.

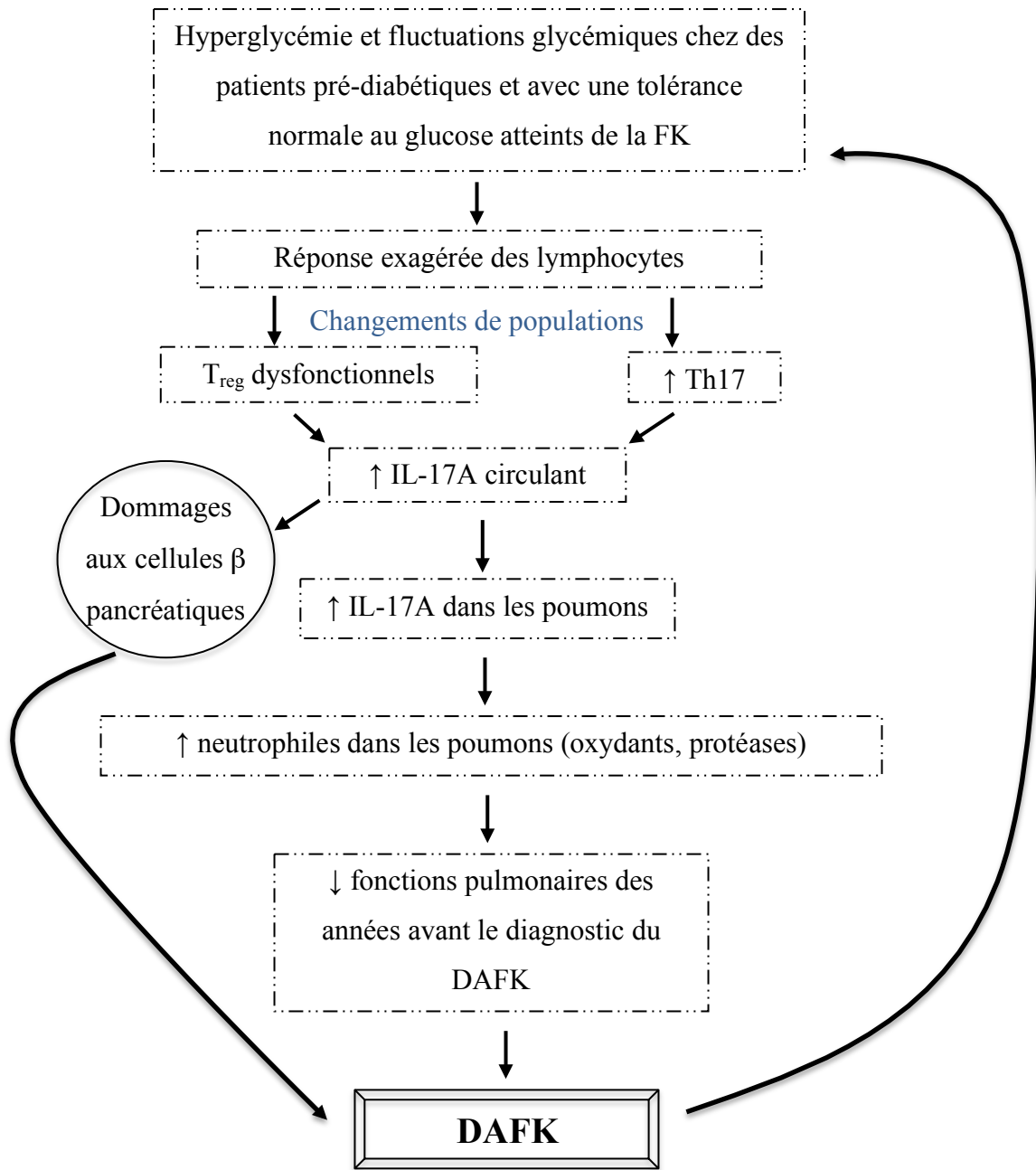


Figure 5 : Hypothèse liant l’hyperglycémie et les fluctuations glycémiques à des niveaux plus élevés d’IL-17 et à la chute accélérée des fonctions pulmonaires dans la fibrose kystique

3. Méthodologie

L'étude s'est déroulée à la plateforme de recherche clinique de l'IRCM entre mars 2009 et novembre 2013.

3.1 Participants de l'étude

Dix patients atteints de la FK non-diabétiques, 10 pré-diabétiques (IGT) ainsi que 16 patients avec le DAFK stable de la clinique de FK de l'Hôtel-Dieu du CHUM ont participé à cette étude transversale. Vingt-cinq sujets sains sans la FK ni le diabète, appariés pour l'âge, le sexe et l'IMC avec les 36 patients atteints de la FK, recrutés par annonce à l'IRCM ont été également inclus dans l'étude. Tous les sujets sains ont rencontré un médecin avant leur participation à l'étude afin de s'assurer qu'ils étaient éligibles.

3.1.1 Critères d'inclusion et d'exclusion

Critères d'inclusion pour les patients atteints de la FK :

- être âgés > 18 ans;
- avoir reçu un diagnostic de la FK par test génétique ou test de la sueur;
- avoir réalisé une HGPO dans l'année de la participation à l'étude;
- être non-fumeurs;
- avoir un traitement antidiabétique stable (sans changement depuis au moins deux semaines) pour les patients avec le DAFK.

Critères d'exclusion pour les patients atteints de la FK :

- être en surinfection diagnostiquée par un pneumologue de la clinique de la FK;
- avoir été hospitalisés dans le mois précédent la participation à l'étude;

- avoir pris des antibiotiques intraveineux dans le mois précédent la participation à l'étude;
- prendre, par voie orale, des médicaments anti-inflammatoires affectant le métabolisme des glucides (par exemple : prednisone, mégace).

Critères d'inclusion pour les sujets sains :

- être âgés > 18 ans;
- avoir réalisé une HGPO immédiatement avant la participation à l'étude et être non-diabétique;
- être non-fumeurs.

Critères d'exclusion pour les sujets sains:

- avoir été hospitalisés dans le mois précédent la participation à l'étude;
- avoir pris des antibiotiques intraveineux ou oraux dans le mois précédent la participation à l'étude;
- avoir pris des médicaments anti-inflammatoires affectant le métabolisme des glucides (par exemple : prednisone, mégace);
- avoir un membre de la famille immédiate avec un diagnostic de la FK;
- être atteint d'une maladie inflammatoire (par exemple : la maladie de Crohn, VIH).

3.2 Approbation éthique

Tous les participants ont lu et signé le formulaire de consentement de l'étude accepté par les comités d'éthique de la recherche de l'IRCM et du CHUM (voir annexe) avant la participation à l'étude. L'étude a respecté les principes éthiques applicables à la recherche médicale impliquant des êtres humains de la déclaration de Helsinki (246).

3.3 Collecte des données cliniques

3.3.1 Génotype, test de sueur et insuffisance pancréatique

Le génotype et/ou le résultat du test de la sueur ont été récupérés dans les dossiers médicaux des patients atteints de la FK du CHUM. Un test de sueur confirmant le diagnostic de la FK présente une valeur supérieure à 60 mmol/L de NaCl (41). L'information sur la prise d'enzymes pancréatiques a été recueillie auprès des patients atteints de la FK.

3.3.2 Fonction pulmonaire

Les valeurs de VEMS ont été obtenues des dossiers médicaux des patients atteints de la FK du CHUM (Medgraphic 1870, St-Paul, MN, É-U). Comme le tabagisme affecte les fonctions pulmonaires (247), les fumeurs ont été exclus pour s'assurer que ce facteur ne soit pas confondant.

3.3.3 Surinfection

Les dossiers médicaux des patients ont été vérifiés pour s'assurer qu'ils n'avaient pas de surinfection. Les pneumologues détectent une surinfection par un changement de la production de crachat (volume, couleur ou viscosité), une apparition ou une augmentation de l'hémoptysie, une toux plus fréquente, une dyspnée plus importante, une fatigue ou une léthargie, une fièvre avec température $>38^{\circ}\text{C}$, l'anorexie, des douleurs aux sinus, une diminution $>10\%$ du VEMS d'une valeur précédente ou la prise d'antibiotiques intraveineux (9).

3.4 Tests de l'étude

L'étude a eu lieu sur quatre à cinq jours. Lors de la première visite, souvent les jeudis ou les vendredis, les participants récupéraient le matériel pour l'étude. Dans un même temps, le déroulement de l'étude ainsi que le fonctionnement des appareils leur étaient expliqués (Tableau VI). Les sujets sains devaient réaliser une HGPO avant cette visite. Ensuite, tous les participants revenaient pour une deuxième visite, souvent les lundis ou les mardis, pour rendre le matériel, effectuer des prises de sang et subir des tests de composition corporelle.

Tableau VI : Description des visites pour l'étude

Visite	Calendrier	Description de la visite
0	-	<i>Sujets sains</i> : signature du formulaire de consentement, visite médicale avec un médecin et HGPO
1	Jour 1	<i>Patients atteints de la fibrose kystique</i> : signature du formulaire de consentement <i>Tous les participants</i> : CGMS, SWA, explications du journal alimentaire
2	Jour 4 ou 5	<i>Tous les participants</i> : Retour du CGMS, du SWA et du journal alimentaire ainsi que des prises de sang et réalisation du DXA

3.4.1 Hyperglycémie provoquée par voie orale

Pour l'HGPO, les sujets sains arrivaient à la clinique de l'IRCM entre 8:00 et 10:00 et ils devaient être à jeun depuis au moins huit heures. Du sang était prélevé et, ensuite, ils buvaient, en moins de 10 minutes, un jus sucré contenant 75 g de glucose (Glucodex®). Des prélèvements sanguins étaient effectués à toutes les 30 minutes jusqu'à deux heures après la prise du liquide sucré. Pour diagnostiquer la tolérance au glucose des participants, les valeurs de l'Association Canadienne du Diabète (Tableau III) (111) ont été utilisées.

3.4.2 Holter glycémique

Dans le cadre de l'étude, tous les participants ont porté un CGMS (Gold, Medtronic, Pointe-Claire, Québec, Canada) mesurant la glycémie du liquide interstitiel à toutes les 5 minutes pour 72 heures. Un cathéter relié au CGMS a été installé dans le bas du dos ou le ventre du participant par une infirmière. Ensuite, l'appareil se calibrant durant une heure. Il est à noter que les patients devaient, de plus, être à jeun depuis au moins une heure avant de se présenter puisque l'appareil se calibre plus facilement si la glycémie est stable. Durant l'heure de calibration, le mode d'emploi de l'appareil a été expliqué aux participants. On leur a aussi demandé de prendre leurs glycémies quatre fois par jour pour calibrer l'appareil.

À l'aide du logiciel GStat (gracieuseté de Dr. Hovarka, *University of Cambridge*, Royaume-Uni), les indices de fluctuations glycémiques tels que la glycémie moyenne, la proportion du temps qu'un individu passe en hyperglycémie (≥ 10 mmol/L) ou en hypoglycémie (< 3.9 mmol/L) en moyenne par jour ainsi que le SD, le MAGE, le J et le CV ont été calculés (36). En 2003, Dobson *et al.* ont validé le CGMS dans la FK en comparant les valeurs de glycémies du CGMS à des valeurs capillaires et de sang périphérique chez les patients atteints de la FK et des sujets sains (248).

3.4.3 Mesure de l'activité physique

Les participants ont également porté un SWA (BodyMedia, Pittsburgh, PA, É-U) durant 72 heures pour mesurer leur dépense énergétique. Étant donné que la FK est caractérisée par une sueur salée, il est possible que cela affecte le fonctionnement du SWA. Donc, Dwyer *et al.* ont décidé de valider cet appareil dans la FK en comparant la dépense énergétique mesurée par le SWA et celle mesurée avec la calorimétrie indirecte chez les patients atteints de la FK et des sujets sains. Ils ont ainsi déterminé que le SWA estime de façon précise la DÉT et le nombre de pas marchés dans la FK (249).

Cet appareil n'étant pas étanche, on a donc demandé aux participants de le retirer lors de la douche, mais de ne pas l'enlever plus d'une heure par jour. Aussi, à l'exception des activités nautiques, nous leur avons mentionné de ne pas changer leur pratique habituelle d'activité physique.

3.4.4 Estimation de la composition corporelle

Ensuite, les participants ont réalisé un scan de DXA (GE Healthcare, Baie d'Urfé, Québec, Canada) lors de leur deuxième visite afin d'évaluer leur composition corporelle. Ce scan a été utilisé dans le cadre de plusieurs études avec les patients atteints de la FK (138-140). Le DXA est un appareil qui émet une quantité minime de rayons-X (~0.03 millirem) donc, avant le test, toutes les femmes ont réalisé un test de grossesse pour confirmer qu'elles n'étaient pas enceintes. Lors du scan, les participants portaient des vêtements légers et se sont débarrassés de toutes pièces métalliques (par exemple : ceinture, clés, monnaie). Ils restaient couchés immobiles sur un matelas durant 15 à 20 minutes. Par la suite, le logiciel du DXA analysait les données et il fournissait la MG, la MNG, le % MG et l'IMC parmi d'autres informations.

3.4.5 Estimation de l'apport nutritionnel

Finalement, tous les participants ont rempli un journal alimentaire détaillé durant les trois jours qu'ils ont porté le CGMS et le SWA. Une nutritionniste leur a expliqué comment remplir le journal alimentaire détaillé, leur précisant de ne pas changer leurs comportements alimentaires habituels. Les instructions pour remplir le journal étaient également indiquées sur celui-ci. Les participants le remplissaient une journée de semaine et deux journées de fin de semaine. Idéalement, on aurait dû comptabiliser une seule journée de fin de semaine. Par contre, l'étude se déroulait plutôt la fin de semaine pour favoriser la participation des sujets travaillant la semaine. Ce journal avec seulement une journée de semaine était un compromis pour pouvoir mener à bien l'étude. Les journaux ont été révisés par une nutritionniste lors de la deuxième visite.

Le logiciel *Food Processor* (Esha Research, Salem, OR, É-U) a été employé pour analyser les journaux alimentaires en utilisant le fichier canadien sur les éléments nutritifs (FCÉN) (version 2001). Chaque journal a été d'abord analysé par une nutritionniste formée et ensuite révisé par une seconde personne formée. Étant donné que la base de données n'est pas complète, les informations nutritionnelles pour plusieurs nutriments dont les vitamines, les fibres solubles et insolubles ainsi que les acides gras oméga 3 et 6 ne sont pas disponibles ou fiables. Donc, les proportions d'énergie provenant des macronutriments en moyenne par jour (% lipides, % protéines, % glucides) ainsi que la quantité d'énergie (en kcal/jour) seulement ont été évaluées.

3.5 Phénotypage des lymphocytes

Des prélèvements de sang veineux ont été réalisés pour chaque participant. Immédiatement après le prélèvement, un échantillon de 160 µL de sang total a été utilisé pour déterminer les proportions de cellules immunitaires dans le sang périphérique à l'aide de l'appareil Advia120 (Siemens Healthcare Global, Erlangen, Allemagne).

3.5.1 Isolation des lymphocytes

Soixante millilitres de sang périphérique ont été utilisés pour isoler les lymphocytes à l'aide d'une méthode basée sur la migration des substances selon leur densité durant une centrifugation : la méthode de Ficoll-Paque (GE Healthcare, Baie d'Urfé, Québec, Canada). Pour cette méthode, le sang est mélangé en quantité égale au tampon phosphate salin et il est ensuite déposé sur la couche de Ficoll-Paque. Des tubes coniques contenant 30 ml de sang total et de tampon ainsi que 20 ml de Ficoll-Paque ont été, par la suite, centrifugés 30 minutes à 910 g sans frein afin de séparer les différentes couches de cellules (Figure 6). Cette méthode permet d'isoler la couche contenant les cellules mononucléaires du sang périphérique (lymphocytes et monocytes). Les cellules isolées sont ensuite lavées deux fois (avec 3 ml de tampon phosphate salin et 3 ml de HBSS) et une dernière fois avec 4 ml d'un tampon de lyse pour les globules rouges contenant du NH_4Cl et du KHCO_3 .

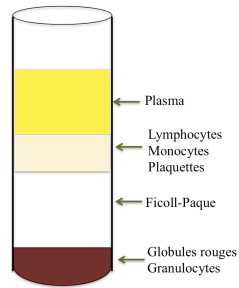


Figure 6 : Différentes couches de cellules obtenues après centrifugation utilisant la méthode de Ficoll-Paque (adaptée de GE Healthcare).

Sachant que les lymphocytes n’adhèrent pas à la surface des flacons de culture cellulaire comme les monocytes et les plaquettes, les cellules de la couche isolée ont été incubées deux heures dans 30 ml de milieu de RPMI-1640 (Invitrogen, Life Technologies, Burlington, Ontario, Canada) contenant 5 mM de glucose. Le milieu contenait également 1% de pénicilline et de streptomycine (Life Technologies, Burlington, Ontario, Canada) pour prévenir la contamination bactérienne, 10% de sérum fœtal bovin (FBS) (Life Technologies, Burlington, Ontario, Canada) contenant des facteurs de croissance cellulaire ainsi que de la L-glutamine pour favoriser la viabilité cellulaire.

3.5.2 Mise en culture des cellules

Les cellules n’ayant pas adhéré à la surface du flacon ont été comptées avec un hémacymètre et quatre millions de cellules ont été conservées pour chaque condition d’incubation. Ensuite, les lymphocytes ont été incubés pour 24 ou 48 heures dans 20 ml de ce même milieu de RPMI-1640 contenant cette fois-ci soit 5 mM (concentration normale) ou 25 mM (concentration élevée) de glucose (à 37°C avec 5% CO₂).

3.5.3 Stimulation des cellules

En 2009, il y avait peu de littérature sur la façon optimale de stimuler les lymphocytes pour augmenter la production d’IL-17A. Le but principal de ce projet était de quantifier les

proportions de Th17 et de T_{reg} produisant cette cytokine. Par contre, pour s'assurer que le protocole de marquage des cellules par des anticorps couplés à des fluorochromes était optimal, les proportions de ces cellules produisant de l'IL-2, une cytokine nécessaire pour la croissance et prolifération des lymphocytes (250), ont aussi été mesurées.

En 2000, Sullivan *et al.* ont comparé différentes façons de stimuler la production d'IL-2 par des cellules mononucléaires du sang périphérique et ont conclu que la stimulation par le PMA et le PHA augmentait de 49 fois la production de l'IL-2 par les cellules. Donc, nous avons utilisé le PHA et le PMA pour stimuler la production de cytokines des lymphocytes Th17 et T_{reg}.

Le PMA (100 ng/ml) (Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario, Canada), un activateur de la protéine kinase C, qui se lie au domaine pseudosubstrat de celle-ci (251, 252) et stimule possiblement la production de cytokines via NF-κB (253, 254), et le PHA (10 µg/ml) (Sigma-Aldrich, Oakville, Ontario, Canada), un agent qui induit la prolifération cellulaire en favorisant la mitose des lymphocytes T (255), ont été ajoutés cinq heures avant le début du marquage des cellules avec les anticorps couplés aux fluorochromes et 20 minutes avant l'ajout de la Brefeldin-A (1000X). La Brefeldin-A (Biolegend, San Diego, CA, É-U) bloque la sécrétion de protéine de la cellule en bloquant le golgi et permet de séquestrer les cytokines produites par la cellule à l'intérieur de celle-ci. Deux flacons pour chaque condition ont été préparés afin d'en avoir quatre avec des cellules stimulées (lymphocytes incubés soit 24 ou 48 heures dans un milieu contenant soit 5 ou 25 mM de glucose) et quatre autres avec des cellules non stimulées dans ces mêmes conditions. Il y avait donc, au total, huit flacons pour chaque participant.

3.5.4 Viabilité cellulaire

Cinq heures après la stimulation, les cellules stimulées et non stimulées ont été comptées et un million de cellules de chaque condition ont été utilisées pour le marquage des cellules par des anticorps couplés à des fluorochromes. En juin 2011, un marqueur de viabilité de cellules fixées (*LIVE/DEAD*® *Fixable Yellow Dead Stain Kit*, Molecular Probes,

Burlington, Ontario, Canada) a été ajouté au protocole suivant les instructions du fabricant afin de confirmer que les cellules analysées en cytométrie en flux étaient viables. Ce marqueur réagit avec les amines libres à l'intérieur d'une cellule en nécrose et seulement avec les amines sur la surface cellulaire de celles viables. En conséquence, les cellules avec le plus de fluorescence (environ 50 fois de plus) du marqueur ne sont pas viables. Le marqueur était ajouté aux cellules cinq heures après l'ajout du PHA, du PMA et de la Brefeldin-A. Pour avoir un contrôle pour ce marqueur de viabilité, 500 000 cellules ont été incubées à 60 °C durant une heure pour les tuer et ensuite combinées à 500 000 cellules non-chauffées et, analysées par cytométrie en flux.

Une expérience avec et sans marqueur de viabilité a été effectuée pour comparer les résultats de ces deux façons de procéder. Cette expérience a démontré que les cellules analysées avec et sans ce marqueur, étaient les mêmes et que nous pouvions comparer les résultats obtenus avant et après juin 2011.

3.5.5 Marqueurs pour isoler les lymphocytes Th17 et T_{reg}

Les marqueurs de surface cellulaire, les cytokines et le facteur de transcription FoxP3 permettent d'isoler et de quantifier la proportion de lymphocyte Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A. La protéine de surface cellulaire CD3 est un marqueur de surface de cellules T, alors que la protéine CD4 est présente sur la surface de plusieurs types cellulaires dont les cellules T-aux, monocytes et macrophages (256). De plus, FoxP3 est un facteur de transcription spécifique aux lymphocytes T_{reg} et CD25 est le récepteur de IL-2 présent sur les cellules T activées (257). Ces deux derniers marqueurs ont permis d'isoler les proportions de T_{reg} (CD3⁺ CD4⁺ CD25^{élevé} FoxP3⁺) (258). CD3 et CD4 combinés ensemble permettent d'isoler ceux produisant de l'IL-17A, les Th17 (CD3⁺ CD4⁺ CD25^{bas} FoxP3⁻ IL-17A⁺) (259). Des anticorps couplés à des fluorochromes pour CD19, un marqueur de cellule B, et CD8 (employé jusqu'à juin 2011), un marqueur de cellule cytotoxique (190), ont été utilisés pour éliminer les autres types cellulaires dans les analyses de cytométrie en flux.

À la suite de l'ajout du marqueur de viabilité, les récepteurs Fc (des récepteurs d'immunoglobines (260)) des cellules ont été bloqués en ajoutant 4 ml de FBS durant 15 minutes aux échantillons de cellules dans le but de prévenir la liaison non-spécifique des anticorps sur ces récepteurs (261). Ensuite, les lymphocytes ont été incubés 30 minutes à l'abri de la lumière avec des anticorps monoclonaux contre des marqueurs de surface cellulaires (CD3, CD4, CD8 avant juin 2011, CD19 et CD25) couplés à des fluorochromes. Ces derniers sont excités à différentes longueurs d'onde et émettent des longueurs d'onde spécifiques à la suite de l'excitation (Table VI) (Biolegend, San Diego, CA, É-U, eBioscience, San Diego, CA, É-U, Invitrogen, Life Technologies, Burlington, Ontario, Canada).

Après le marquage des protéines de surface cellulaire, des tampons de fixation et de perméabilisation (*FoxP3 Fix/Perm Buffer Set*, eBioscience, San Diego, CA, É-U) ont été ajoutés aux échantillons selon les instructions du fabricant afin de fixer les cellules et faciliter le marquage des cytokines intracellulaires et le facteur de transcription FoxP3. Après la fixation des cellules durant 30 minutes à l'abri de la lumière et un lavage avec le tampon de perméabilisation, les anticorps monoclonaux couplés aux fluorochromes pour l'IL-17A, l'IL-10, l'IL-2 et le FoxP3 ont été ajoutés aux échantillons et incubés pour 30 minutes à l'abri de la lumière (Tableau VII). Les quantités de fluorochromes ajoutées aux échantillons dépendaient des instructions du fabricant. Après l'incubation des cellules avec les anticorps pour les marqueurs intracellulaires et un lavage avec le tampon de perméabilisation, les cellules ont été suspendues dans un tampon phosphate salin avec de l'albumine de sérum bovin.

Tableau VII : Panneau des anticorps couplés à des fluorochromes pour isoler les lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant l'IL-17A

Marqueurs /Cytokines	Fonction	Fluoro-chromes	Longueur d'onde d'excitation (nm)	Longueur d'onde d'émission (nm)
CD3	Marqueur de lymphocyte	APC Cy7	650;755	767
CD4	Marqueur de T-aux	Alexafluor 647	652	668
CD8 ^a	Marqueur de T cytotoxique	Pacific Orange	403	551
<i>LIVE/DEAD</i> ® <i>Fixable Yellow Dead Stain Kit</i> ^b	Marqueur de viabilité	-	400	575
CD19	Marqueur de cellule B	PE-Texas Red	480;565	613
CD25	Marqueur de T _{reg}	PE Cy7	480;565;743	767
IL-17A	Cytokine	Pacific Blue	403	455
IL-2	Cytokine	PerCP-Cy5.5	490;675	695
IL-10 ^c	Cytokine	Alexa488	499	519
FoxP3	Marqueur de transcription de T _{reg}	PE	480;565	578

a : utilisé de mars 2009 à juin 2011, b : utilisé de juin 2011 à novembre 2013, c : utilisé à partir de janvier 2011

3.5.6 Cytométrie en flux

Après le marquage, les proportions de Th17 et de T_{reg} produisant de l'IL-17A ont été déterminées à l'aide d'un appareil de cytométrie en flux avec trois lasers captant jusqu'à neuf fluorochromes dans un même échantillon, le *CyAn™ ADP Analyzer* (Beckman Coulter, Mississauga, Ontario, Canada). La calibration de l'appareil est effectuée mensuellement. Un échantillon de cellules non marquées par des anticorps a été utilisé comme contrôle négatif. Les voltages utilisés par l'appareil ont été optimisés avant le début de l'étude et sont restés similaires pendant l'étude. L'optimisation des voltages permet d'attester de meilleures résolutions des signaux de fluorescence faibles et de minimiser la compensation par la suite.

3.5.6.1 Billes de capture d'anticorps

Des billes de capture d'anticorps (Bangs Laboratories, Fisher, IN, É-U) ont été employées comme contrôles positifs pour l'analyse de cytométrie en flux. Ces billes sont couvertes d'anticorps de chèvre contre l'IgG de souris ou de rat et se lient aux anticorps générés dans la souris ou le rat. En conséquence, les anticorps couplés à des fluorochromes se lient aux billes de compensation. Un échantillon de billes de capture d'anticorps a été préparé pour chaque fluorochrome et utilisé comme contrôle positif pour celui-ci lors de l'analyse des données de cytométrie en flux.

3.5.7 Stratégie d'analyse des données de cytométrie en flux

Le logiciel Flowjo (Flowjo versions 9 et 10, Ashland, OR, É-U) a été employé pour l'analyse des données obtenues par la cytométrie en flux. L'analyse s'effectuait en plusieurs étapes.

D'abord, les données des participants étaient compensées à l'aide du *Compensation Wizard* de FlowJo. Cette fonction utilise les contrôles positifs et le contrôle négatif pour

corriger la superposition des longueurs d'onde d'émission de certains fluorochromes afin d'obtenir seulement la fluorescence du fluorochrome choisi pour chaque marqueur. La matrice de compensation était vérifiée après chaque compensation.

Par la suite, en utilisant le graphique de *forward-scattered light* (FSC) et *side-scattered light* (SSC), l'analyse s'est concentrée sur les lymphocytes (Figure 7). Ces deux paramètres sont déterminés par la déviation de la lumière passant dans une cellule quelconque et permettent de discriminer entre les différents types cellulaires dans un échantillon basé sur leurs grosseurs, la présence de granules et leurs complexités.

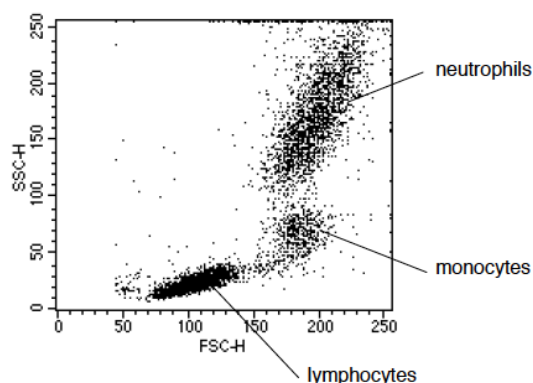


Figure 7 : Exemple de graphique de *forward-scattered light* (FSC) et *side-scattered light* (SSC) utilisé pour discriminer entre différents types cellulaires en cytométrie en flux (reproduite avec permission de BD Biosciences).

À la suite de cette étape, nous avons sélectionné les cellules $CD3^+$ et $CD8^-$ (sans le marqueur de surface CD8) ou $CD3^+$ avec le moins de fluorescence du marqueur de viabilité.

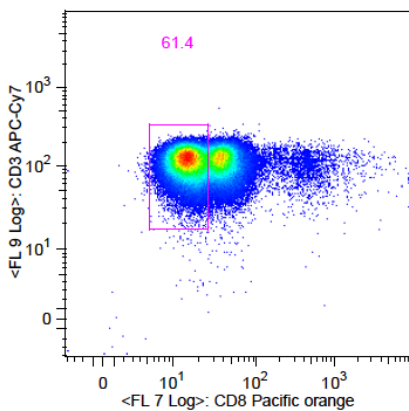


Figure 8 : Exemple de sélection de lymphocytes CD3⁺ et CD8⁻

La prochaine étape était de sélectionner de ces mêmes cellules, celles CD4⁺ et CD19⁻ (Figure 9).

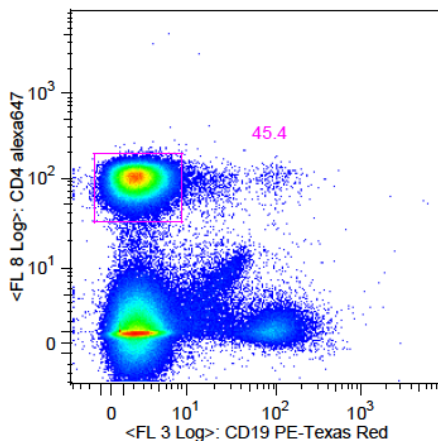


Figure 9 : Exemple de sélection de lymphocytes CD4⁺ et CD19⁻

Ensuite, les cellules avec le marqueur CD25 étaient divisées entre celles en exprimant beaucoup sur leurs surfaces cellulaires ($CD25^{\text{élevé}}$) et celles en exprimant peu ($CD25^{\text{bas}}$) (Figure 10).

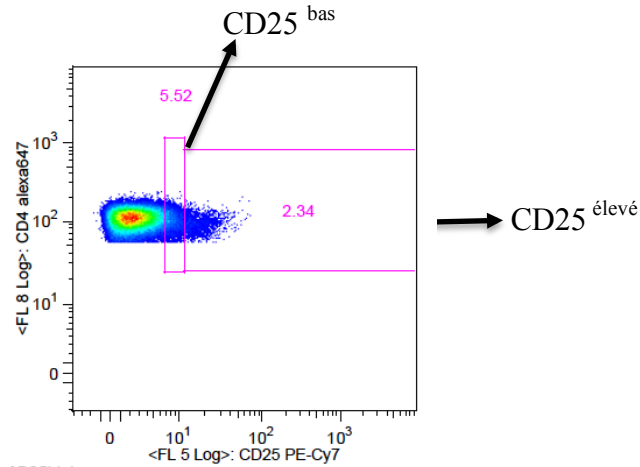


Figure 10 : Exemple de lymphocytes $CD25^{\text{élevé}}$ et $CD25^{\text{bas}}$

Des cellules $CD25^{\text{élevé}}$, celles exprimant FoxP3 ($FoxP3^+$) étaient ensuite sélectionnées (Figure 11).

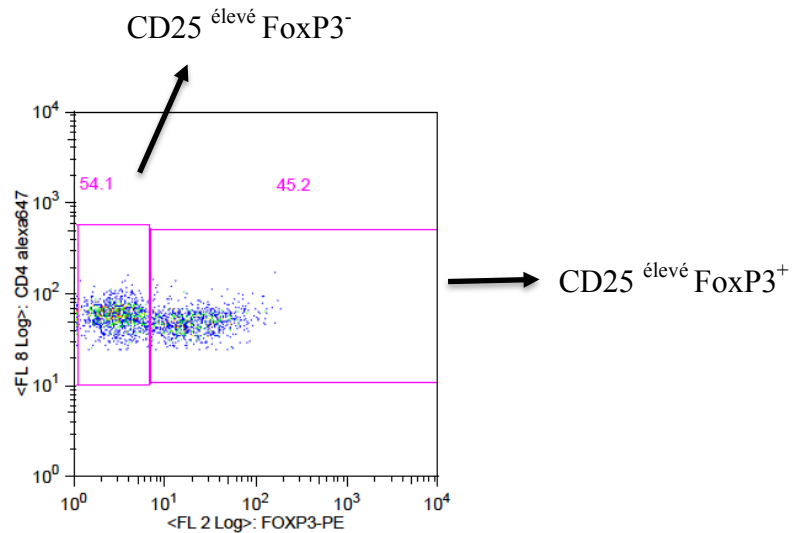


Figure 11 : Exemple de lymphocytes $CD25^{\text{élevé}}$ $FoxP3^+$

De ces cellules, la proportion produisant de l'IL-17A (IL-17A⁺) était retenue comme étant les T_{reg} produisant de l'IL-17A (CD3⁺ CD4⁺ CD25^{élevé} FoxP3⁺ IL-17A⁺). Il était possible d'isoler la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 également (CD3⁺ CD4⁺ CD25^{élevé} FoxP3⁺ IL-10⁺). Des cellules CD25^{bas}, celles n'exprimant pas de FoxP3 (FoxP3⁻) et produisant de l'IL-17A ont été retenues comme les Th17 produisant de l'IL-17A (CD3⁺ CD4⁺ CD25^{bas} FoxP3⁻ IL-17A⁺).

Tout au long de l'analyse, la présence de populations positives pour CD25, IL-17A, IL-10, IL-2 et FoxP3 a été confirmée en comparant où se situaient ces populations dans les cellules T (CD3⁺). Comme prévu, les marqueurs d'intérêt étaient concentrés à l'intérieur de cette population.

3.6 Calcul de puissance

Cette étude fait partie d'une plus grande étude sur l'impact de l'inflammation et du stress oxydatif sur le DAFK. En conséquence, dans la demande de fonds de cette étude, le calcul de puissance pour déterminer le nombre de participants par groupe (n=25 sujets sains, n=25 patients atteints de la FK non-diabétiques, n=25 patients atteints de la FK pré-diabétiques et n=25 patients avec le DAFK) a été déterminé selon la probabilité de voir une différence significative ($p \leq 0.05$, puissance de $\beta = 0.80$) entre les groupes pour un marqueur de stress oxydatif, le F2-isoprostane urinaire. Malheureusement, la différence de moyenne entre les patients atteints de la FK et les sujets sains pour ce marqueur n'était pas précisée dans la demande de fonds de la plus grande étude.

Le recrutement pour cette étude a été difficile puisqu'elle était exigeante et nécessitait beaucoup de temps de la part des participants. Ainsi, l'objectif de 25 participants par groupe n'a pas été atteint. Par contre, un calcul de puissance réalisé en octobre 2013 pour s'assurer qu'il y avait une différence significative ($p < 0.05$) de fluctuations glycémiques entre les individus sains et les patients atteints de la FK a démontré qu'il y avait assez de participants

recrutés à l'étude. Une différence de fluctuations glycémiques a été choisie comme objectif pour le calcul de puissance puisque cette différence confirmait notre hypothèse selon laquelle les patients atteints de la FK subissent plus de variabilité glycémique et elle nous permettait, entre autre, de comparer l'inflammation entre les groupes avec plus ou moins de fluctuations glycémiques.

3.7 Analyse statistique

Les données ont été analysées à l'aide du logiciel de statistiques R (www.r-project.org). Avant de réaliser les analyses statistiques, des tests de Shapiro ont été effectués pour chacune des variables afin de vérifier si elles étaient distribuées normalement, c'est-à-dire, selon une distribution Gaussienne (la courbe en cloche) (122). Si la variable ne l'était pas, des tests statistiques non-paramétriques étaient utilisés alors que si les données de la variable suivaient une distribution normale, des tests paramétriques étaient employés.

3.7.1 Comparaisons des caractéristiques et données cliniques des participants

Pour comparer les caractéristiques et les résultats du CGMS, du SWA et du DXA entre les quatre groupes, des *Analysis of Variance* (ANOVA) à un facteur suivies d'un post-hoc de Bonferroni ont été réalisées pour les données distribuées normalement selon le test de Shapiro. Des ANOVA à un facteur sont des tests statistiques employés pour comparer les moyennes d'une variable donnée entre plus de deux groupes et, dans notre cas, on compare des moyennes entre quatre groupes (sujets sains, NGT, IGT et DAFK). Le post-hoc de Bonferroni permet de déterminer entre quels groupes se trouvent les différences statistiques de l'ANOVA tout en corrigeant pour les multiples comparaisons faites par l'ANOVA.

Des tests de Kruskal-Wallis suivis de post-hoc Wilcoxon avec un p ajusté pour de multiples comparaisons ont été employés pour comparer les données non-normalement

distribuées. Le test de Kruskal-Wallis est l'équivalent non-paramétrique de l'ANOVA et il compare les médianes de variables non-normalement distribuées. Étant donné qu'il n'existe pas d'équivalent non-paramétrique du post-hoc Bonferroni, nous avons employé le test de Wilcoxon (l'équivalent non-paramétrique du T test) pour déterminer entre quels groupes les médianes sont différentes. De plus, il a fallu corriger manuellement pour les multiples comparaisons du test Kruskal-Wallis en divisant le p de signification ($p < 0.05$) par le nombre de comparaisons qu'on faisait entre les quatre groupes (6 comparaisons en tout). Donc, le p de signification devient ($0.05/6 =$) < 0.0083 pour les analyses non-normalement distribuées.

3.7.2 Effets des fluctuations glycémiques sur l'inflammation

D'abord, pour déterminer s'il y avait une différence entre la proportion et le nombre de lymphocytes ainsi que la proportion de neutrophiles dans le sang périphérique des patients atteints de la FK de différents groupes de tolérance au glucose et des sujets sains, une ANOVA à un facteur suivie d'un post-hoc de Bonferroni a été réalisée pour la proportion de lymphocytes et un test de Kruskal-Wallis pour le nombre absolu de lymphocytes ainsi que la proportion de neutrophiles. Par la suite, pour vérifier l'association entre les fluctuations glycémiques et la proportion ainsi que le nombre de lymphocytes dans le sang périphérique, des corrélations de Spearman ont été employées. Les corrélations de Spearman sont utilisées pour déterminer s'il existe une association entre deux variables dont une ou les deux sont non-normalement distribuées.

Pour examiner l'effet des fluctuations glycémiques sur les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A, des modèles linéaires mixtes ont été utilisés. Les modèles linéaires mixtes font partie des analyses de régression et leurs utilisations sont avantageuses pour cette étude puisqu'ils permettent de vérifier l'effet de différentes conditions d'incubation sur les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A ou de l'IL-10 pour tous les participants même si des données sont manquantes pour certaines conditions d'incubation.

Dans un premier temps, des modèles tenant compte du fait que chaque participant avait des lymphocytes dans diverses conditions d'incubation (les milieux de culture contenaient soit 5 ou 25 mM de glucose et les lymphocytes étaient incubés soit 24 ou 48 heures et étaient stimulés par le PMA et le PHA ou non stimulés), et du fait qu'il y avait quatre groupes (sujets sains, NGT, IGT et DAFK) ont été réalisés afin de déterminer quels facteurs mentionnés ci-haut affectaient les marqueurs inflammatoires. Malgré une transformation mathématique des données d'inflammation (racine carrée des données), les indices de fluctuations glycémiques et les données d'inflammation n'étaient pas normalement distribuées. Par contre, les résidus de tous les modèles linéaires mixtes étaient plutôt normalement distribués et ceci a été vérifié avec des graphiques Q-Q (quantile-quantile) démontrant l'association entre les quantiles des valeurs réelles et théorique des résidus du modèle. Les résidus sont la différence entre la valeur réelle de chaque donnée et sa valeur théorique selon le modèle ($i_{réelle} - i_{théorique} = \text{résidu}$). Si les résidus sont normalement distribués, elles suivent l'équation $y=x$ sur le graphique Q-Q. Les variances des quatre groupes étaient différentes, donc, les modèles linéaires mixtes ont été corrigés par rapport à ces différences.

Dans un deuxième temps, un autre modèle linéaire mixte pour chaque paramètre inflammatoire a été réalisé pour déterminer l'effet des fluctuations glycémiques sur les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A. Dans ce modèle, il y a eu une correction pour les facteurs pouvant influencer l'inflammation (la stimulation des cellules, la durée de l'incubation ou la concentration en glucose du milieu d'incubation) trouvés dans le premier modèle linéaire mixte. Les résidus de tous les modèles ont été vérifiés avec un graphique Q-Q et ils étaient plutôt normalement distribués. Chaque modèle a été corrigé pour le nombre de comparaison à l'intérieur de celui-ci à l'aide d'une correction de Tukey.

3.7.3 Effets des facteurs confondants sur la variabilité glycémique

L'impact de la dépense énergétique (DÉT, nombre de pas), de la composition corporelle (% MG, % MNG) et de l'alimentation (énergie, % lipides, % glucides et %

protéines) sur les fluctuations glycémiques chez les sujets sains et les patients atteints de la FK a été déterminé à l'aide de régressions linéaires. Ces analyses nous permettent de, non seulement déterminer s'il existe une association entre des variables, mais, également, de vérifier si une des variables indépendantes peut expliquer la variable dépendante. Les données n'étaient pas normalement distribuées, mais les résidus des trois modèles pour le MAGE, SD et CV étaient plutôt normalement distribués et ceci a été vérifié avec des graphiques Q-Q. Par contre, les résidus des modèles pour la glycémie moyenne, le J et l'hyperglycémie n'étaient pas normalement distribués et n'ont pas été utilisés.

3.7.4 Association entre les marqueurs inflammatoires et la fonction pulmonaire

Les associations entre les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17 ainsi que la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 et les VEMS des patients atteints de la FK ont été déterminées par des corrélations de Spearman puisque les données n'étaient pas normalement distribuées selon le test de Shapiro.

4. Résultats

4.1 Comparaisons des caractéristiques et données cliniques de participants

Des 25 sujets sains inclus dans l'étude, 24 l'ont complétée. La personne n'ayant pas terminé l'étude a eu un problème avec son CGMS et les données de variabilité glycémique n'étaient pas disponibles. Tous les sujets sains avaient une tolérance normale au glucose.

Les participants à l'étude étaient âgés entre 18 et 55 ans et avaient un IMC entre 17.8 et 27.9 kg/m². Les fonctions pulmonaires des patients atteints de la FK variaient entre 19 et 106% et la mutation la plus commune, Phe508del, affectait la majorité. Les participants atteints de la FK des différents groupes de tolérance au glucose (NGT, IGT, DAFK) et les sujets sains avaient des âges et des IMC comparables (Tableau VIII).

Plus de 70% des patients atteints de la FK dans chaque groupe de tolérance au glucose prenaient des enzymes pancréatiques (Tableau VIII). Les patients atteints du DAFK se conformaient à des traitements variés pour gérer leur diabète. Cinq patients (31%) s'injectaient de l'insuline, deux patients (13%) prenaient un anti-diabétique oral stimulant la sécrétion d'insuline (sitagliptin) et neuf étaient traités par la diète seule (56%) (résultats non montrés).

Tableau VIII : Caractéristiques des participants (n=60)

	Sujets sains	NGT	IGT	DAFK
Sexe (H/F)	14/10	4/6	6/4	8/8
Âge (années)*	26.0 ± 7.75	31.0 ± 12.5	30.0 ± 9.75	27.0 ± 13.5
IMC (kg/m ²)#	22.8 ± 2.21	23.2 ± 2.65	21.0 ± 2.36	21.7 ± 2.29
VEMS (%) ^{#a}	-	69.3 ± 22.3	64.6 ± 25.9	62.3 ± 24.8
Prise d'enzymes pancréatiques	-	70%	90%	81%
Génotype (%)				
Phe508del/ Phe508del	-	40%	50%	50%
Phe508del/ autre	-	40%	30%	13%
autre/autre ou inconnu	-	20%	20%	38%

NGT : patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques, IGT : patients atteints de la fibrose kystique pré-diabétiques, DAFK : patients avec le diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique, IMC : indice de masse corporelle, VEMS : volume expiratoire maximal en une seconde, H : hommes, F : femmes, # moyenne ± écart-type et test statistique ANOVA à un facteur (p<0.05), * médiane ± écart interquartile et test statistique Krukal-Wallis, ^a NGT n =6, IGT n=4, DAFK n=10

Le tableau IX compare les indices de variabilité glycémique et de dépense énergétique des patients atteints de la FK et les sujets sains.

Les patients atteints de la FK pré-diabétiques (IGT) et diabétiques (DAFK) avaient des glycémies moyennes plus élevées que les sujets sains. La glycémie moyenne des patients DAFK (7.00 ± 2.19 mmol/L) était également plus élevée que les sujets atteints de la FK non-diabétiques (NGT) (5.45 ± 1.03 mmol/L) ($p < 0.05$). Malgré qu'il n'y ait pas de différence significative du pourcentage de temps en moyenne par jour en hypoglycémie entre les quatre groupes, les patients atteints de la FK avaient un pourcentage plus élevé du temps en hyperglycémie comparativement aux individus en santé ($p < 0.05$). De plus, les patients DAFK avaient un pourcentage de temps plus élevé en hyperglycémie que les patients atteints de la FK NGT (9.57 ± 22.4 % vs 0.00 ± 0.52 % respectivement, $p < 0.05$). Pour le MAGE et le CV, tous les patients atteints de la FK avaient plus de fluctuations glycémiques que les sujets sains et les patients IGT et DAFK en avaient plus que les patients NGT. Quant au SD et J, les patients IGT et DAFK avaient plus de fluctuations glycémiques que les sujets sains et NGT et aussi, les patients DAFK en avaient plus que les IGT.

La DÉT et le nombre de pas marchés par jour ont aussi été comparés entre les quatre groupes. La DÉT des patients atteints de la FK était moins élevée que celle des sujets sains et ils avaient marché environ 4000 pas de moins par jour.

Tableau IX : Indices de fluctuations glycémiques et de dépense énergétique (n=60)

	Sujets sains (n=24)	NGT (n=10)	IGT (n=10)	DAFK (n=16)
Variations glycémiques				
Glycémie (mmol/L) *	5.15 ± 0.35	5.45 ± 1.03	5.75 ± 0.59 [¶]	7.00 ± 2.19 ^{¶¥}
Hypoglycémie (% temps/jour) *	1.96 ± 6.09	4.67 ± 12.64	2.92 ± 6.35	1.82 ± 6.65
Hyperglycémie (% temps/jour) *	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.52 [¶]	0.56 ± 2.67 [¶]	9.57 ± 22.4 ^{¶¥}
MAGE (mmol/L) *	1.30 ± 0.55	2.03 ± 0.80 [¶]	2.47 ± 2.06 [¶]	5.05 ± 4.58 ^{¶¥}
SD (mmol/L) *	0.69 ± 0.26	0.84 ± 0.36	1.12 ± 0.57 ^{¶¥}	2.30 ± 1.38 ^{¶¥f}
CV (%) *	14.3 ± 5.49	17.1 ± 5.09 [¶]	17.8 ± 8.35 [¶]	32.9 ± 9.84 ^{¶¥f}
J ((mmol/L) ²) *	0.035 ± 0.009	0.040 ± 0.016	0.048 ± 0.016 [¶]	0.086 ± 0.076 ^{¶¥f}
Activité physique				
DÉT (kcal/jour) *	2600 ± 806	2300 ± 412 [¶]	2129 ± 460 [¶]	2152 ± 461 [¶]
Nombre de pas [#]	12 370 ± 3474	8874 ± 2625 [¶]	8899 ± 4260 [¶]	7033 ± 3186 [¶]

NGT : patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques, IGT : patients atteints de la fibrose kystique pré-diabétiques, DAFK : patients avec le diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique, MAGE : *Mean Amplitude of Glycemic Excursions*, SD : *standard deviation*, CV : coefficient de variation, DÉT : dépense énergétique totale, # moyenne ± écart-type et test statistique ANOVA à un facteur avec post-hoc de Bonferroni (p<0.05), * médiane ± écart interquartile et test statistique Kruskal-Wallis avec post-hoc Wilcoxon (p<0.0083) , ¶ vs contrôles sains, ¥ vs NGT, f vs IGT

Les données de composition corporelle sont présentées dans le Tableau X. Les valeurs de MG et de MNG étaient différentes entre les hommes et les femmes et, pour cette raison, les données sont séparées selon le sexe. Les hommes en santé et atteints de la FK avaient une MG similaire alors que les femmes atteintes de la FK NGT en avaient plus que les femmes dans les trois autres groupes. Les femmes de ce groupe avaient une médiane de MG de 22.8 kg et celles pour les autres groupes étaient inférieures à 20 kg. Parallèlement, les hommes atteints de la FK NGT et DAFK avaient moins de MNG que les hommes en santé (43.3 ± 5.19 kg et 50.0 ± 4.90 kg vs 58.2 ± 6.56 kg respectivement, $p < 0.05$). Les pourcentages de MG et de MNG étaient similaires entre les quatre groupes pour les hommes et les femmes.

Tableau X : Composition corporelle des participants (n=60)

	Sujets sains (n=24)	NGT (n=10)	IGT (n=10)	DAFK (n=16)
MG (kg)*				
Hommes	15.4 ± 7.43	11.9 ± 9.81	6.52 ± 2.84	10.0 ± 3.50
Femmes	17.0 ± 4.46 [¥]	22.8 ± 5.73	13.0 ± 3.84 [¥]	13.5 ± 3.88 [¥]
MG (%) [#]				
Hommes	19.0 ± 5.17	19.6 ± 7.61	12.7 ± 3.95	17.4 ± 6.31
Femmes	28.5 ± 8.21	31.4 ± 5.11	26.5 ± 5.49	28.0 ± 6.50
MNG (kg)*				
Hommes	58.2 ± 6.56	43.3 ± 5.19 [¶]	47.7 ± 10.0	50.0 ± 4.90 [¶]
Femmes	38.9 ± 2.35	41.4 ± 1.21	36.8 ± 4.74	36.0 ± 4.84
MNG (%) [#]				
Hommes	76.9 ± 5.02	76.1 ± 7.26	82.9 ± 3.77	78.9 ± 6.30
Femmes	67.7 ± 7.83	65.1 ± 4.87	69.6 ± 5.35	68.4 ± 6.27

NGT : patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques, IGT : patients atteints de la fibrose kystique pré-diabétiques, DAFK : patients avec le diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique, MG : masse grasse, MNG : masse non grasse, # moyenne ± écart-type et test statistique ANOVA à un facteur (p<0.05), * médiane ± écart interquartile et test statistique Krukall-Wallis avec post-hoc Wilcoxon (p<0.0083), ¶ vs contrôles sains, ¥ vs NGT

4.2 Effets des fluctuations glycémiques sur l'inflammation

Les figures 12,13 et 14 contiennent les données sur la proportion et le nombre de lymphocytes ainsi que la proportion de neutrophiles dans le sang périphérique des participants à l'étude. Un sujet sain et une personne atteinte de la FK IGT n'avaient pas de valeur puisque l'appareil mesurant les proportions de cellules immunitaires était défectueux lors de leur visite. De plus, un patient IGT a été exclu de toutes les analyses plus approfondies puisqu'il prenait de l'insuline. Cette hormone, anabolique et possédant des propriétés anti-inflammatoires (64, 262), est prise généralement pour la gestion du diabète (2). Par contre, cet individu la prenait uniquement pour gagner du poids, donc, il a été exclu. Ainsi, les valeurs de la proportion et du nombre de lymphocytes étaient disponibles pour 23 sujets sains, 10 patients NGT, 8 patients IGT et 16 patients avec le DAFK.

D'une part, les sujets sains avaient une plus grande proportion de lymphocytes et une proportion moindre de neutrophiles dans leur sang périphérique comparativement aux patients atteints de la FK ($p < 0.006$) (Figures 12 et 14) même si, en valeurs absolues, le nombre de ces cellules étaient semblables dans les quatre groupes (Figure 13). D'autre part, les proportions de lymphocytes étaient associées aux indices de fluctuations glycémiques (temps en hyperglycémie, MAGE, SD, CV, J) avec des coefficients de corrélations (r) variant de -0.30 et -0.43 ($p < 0.029$) (Figure 15 et Tableau XI). Ces associations n'étaient pas observées lorsque nous utilisons le nombre de lymphocytes au lieu de la proportion de ces cellules immunitaires (résultats non montrés).

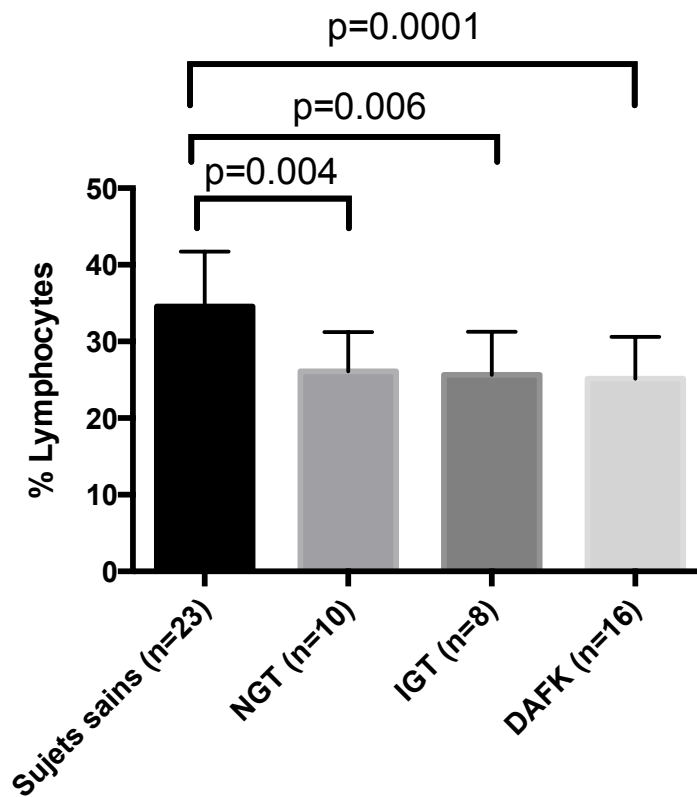


Figure 12 : Proportions de lymphocytes dans le sang périphérique des sujets sains et des patients atteints de la fibrose kystique de différents groupes de tolérance au glucose (n=57) (moyenne \pm écart-type, NGT : patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques, IGT : patients atteints de la fibrose kystique pré-diabétiques, DAFK : patients avec le diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique)

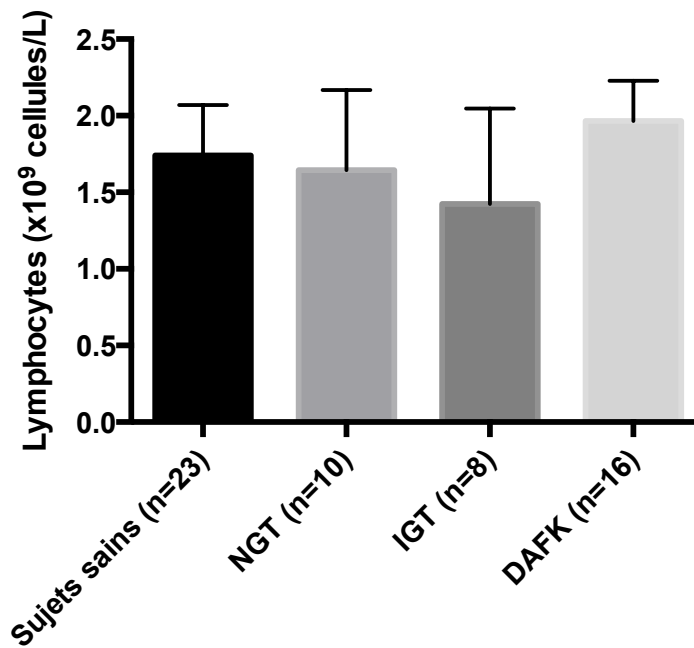


Figure 13 : Nombre de lymphocytes dans le sang périphérique des sujets sains et des patients atteints de la fibrose kystique de différents groupes de tolérance au glucose (n=57) (médiane ± écart interquartile, NGT : patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques, IGT : patients atteints de la fibrose kystique pré-diabétiques, DAFK : patients avec le diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique)

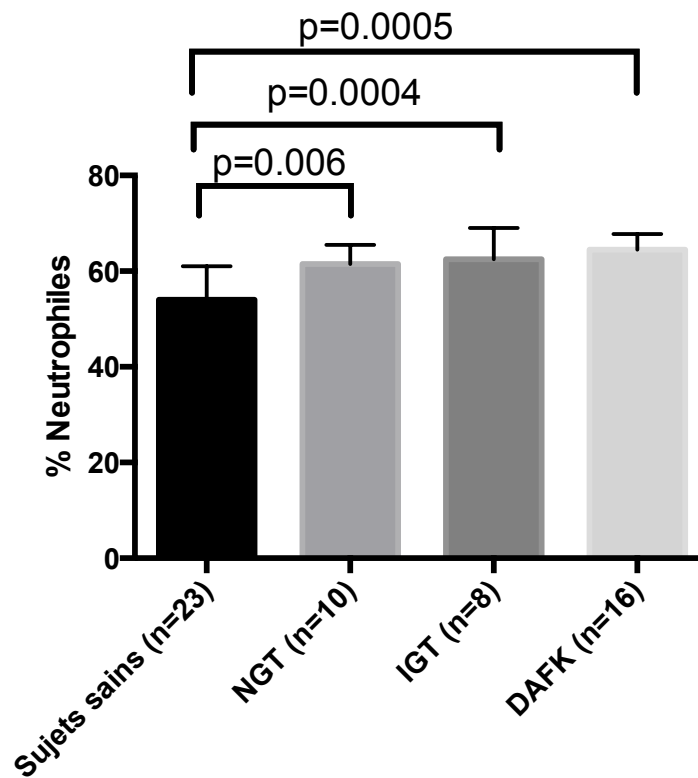


Figure 14 : Nombre de neutrophiles dans le sang périphérique des sujets sains et des patients atteints de la fibrose kystique de différents groupes de tolérance au glucose (n=57) (médiane \pm écart interquartile, NGT : patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques, IGT : patients atteints de la fibrose kystique pré-diabétiques, DAFK : patients avec le diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique)

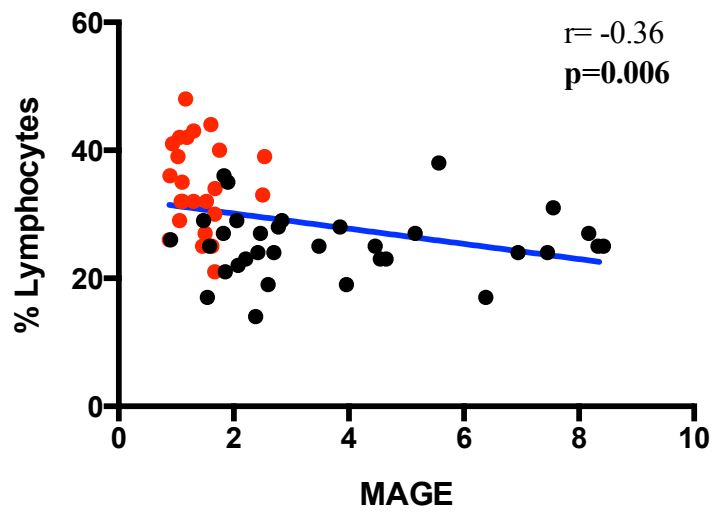


Figure 15 : Corrélation de Spearman entre la proportion de lymphocytes dans le sang périphérique et le MAGE pour les sujets sains (points rouges) et les patients atteints de la fibrose kystique (points noirs) (n=57) (MAGE : *Mean Amplitude of Glycemic Excursions*).

Tableau XI : Corrélations de Spearman entre la proportion de lymphocytes dans le sang périphérique et les indices de fluctuations glycémiques pour les sujets sains et les patients atteints de la fibrose kystique (n=57)

Variables	% Lymphocytes	
	r	p
Glycémie moyenne (mmol/L)	-0.17	0.208
Hyperglycémie (% temps/jour)	-0.43	0.001
SD (mmol/L)	-0.34	0.009
CV (%)	-0.37	0.005
J ((mmol/L) ²)	-0.30	0.029

SD : *standard deviation*, CV : coefficient de variation

Les données de cytométrie en flux n'étaient pas disponibles pour tous les participants puisqu'il y a eu des problèmes techniques comme des bris de l'appareil de cytométrie en flux. De plus, des expériences ont permis de constater que la séparation des populations FoxP3⁻ et FoxP3⁺ pour une même personne avec des échantillons de cellules incubées dans différentes conditions variait énormément et, ceci, pour tous les participants de l'étude. Par exemple, pour un échantillon de lymphocytes non stimulés incubés 24 heures dans un milieu contenant 5 mM de glucose, on pouvait bien distinguer entre les lymphocytes CD25^{élevé} FoxP3⁻ et FoxP3⁺ alors que c'était impossible pour l'échantillon de lymphocytes stimulés par le PMA et le PHA dans les mêmes conditions. Il était également possible de ne pas distinguer entre les populations CD25^{bas} FoxP3⁻ et FoxP3⁺. Ceci peut être causé, en partie, par l'utilisation de différents clones de l'anticorps de FoxP3 couplé à un fluorochrome. Des expériences en laboratoire ont confirmé que, dépendamment du clone utilisé, la séparation des populations FoxP3⁻ et FoxP3⁺ était différente. En conséquence, les données de certaines personnes n'ont pas été utilisées et le nombre d'échantillons inclus dans l'analyse variait par groupe et par condition d'incubation (Tableau XII).

Tableau XII : Nombre de participants avec des données de cytométrie en flux utilisées pour les analyses statistiques

Conditions	% Th17 produisant				% T _{reg} produisant				% T _{reg} produisant			
	IL-17A				IL-17A				IL-10			
G St Du	SS	N	I	D	SS	N	I	D	SS	N	I	D
5 mM S 24 heures	10	5	4	7	10	5	4	7	6	5	3	7
5 mM NS 24 heures	14	7	4	10	14	7	4	10	8	6	3	8
25 mM S 24 heures	6	5	4	8	6	5	4	8	2	5	3	7
25 mM NS 24 heures	14	8	3	9	14	8	3	8	8	7	2	6
5 mM S 48 heures	6	3	1	6	6	3	1	6	4	3	1	6
5 mM NS 48 heures	14	7	4	7	14	7	4	6	7	6	4	5
25 mM S 48 heures	6	5	1	6	6	4	1	5	3	4	1	5
25 mM NS 48 heures	13	8	4	7	13	8	4	6	7	7	4	5

G : concentration de glucose dans le milieu de culture, St : stimulation, Du : durée de l'incubation, S : cellules stimulées, NS : cellules non stimulées, SS : sujets sains, N : patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques, I : patients atteints de la fibrose kystique pré-diabétiques, D : patients atteints de la fibrose kystique avec le diabète secondaire ou associé à la fibrose kystique

Les tableaux XIII et XIV montrent les résultats des modèles linéaires mixtes effectués pour évaluer l'effet des fluctuations glycémiques sur les proportions de Th17 produisant de l'IL-17A.

Le tableau XIII est le premier modèle pour déterminer lesquels des facteurs d'incubation (la stimulation des cellules par le PHA et le PMA, la durée d'incubation de 24 ou 48 heures ou la concentration de glucose de 5 ou 25 mM dans le milieu de culture) ou des groupes (sujets sains, NGT, IGT, DAFK) influençaient la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A. Dans ce premier modèle, la stimulation par le PMA et le PHA ($p < 0.001$) et la durée d'incubation ($p = 0.038$) modulaient l'inflammation. Donc, nous avons contrôlé ces facteurs ainsi que le sexe dans le deuxième modèle linéaire mixte.

Dans le deuxième modèle (Tableau XIV), conçu pour évaluer si les fluctuations glycémiques ont un impact sur la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A, aucun indice de variabilité glycémiques (temps en hyperglycémie, MAGE, SD, J ou CV) n'avait un impact sur la proportion de ces dernières. Par contre, la stimulation par le PMA et PHA des Th17 (médiane \pm écart interquartile, lymphocytes stimulés par le PMA et PHA 0.308 ± 0.503 vs ceux non stimulés 0.143 ± 0.230 , $p < 0.001$) ainsi que l'incubation pour 24 heures au lieu de 48 heures (médiane \pm écart interquartile, lymphocytes incubés 24 heures 0.210 ± 0.324 vs ceux incubés 48 heures 0.153 ± 0.265 , $p = 0.038$) augmentaient la proportion de ces cellules T-aux produisant de l'IL-17A.

Un exemple des données de cytométrie en flux pour les lymphocytes stimulés par le PMA et le PHA et non stimulés et incubés 24 ou 48 heures dans un milieu contenant 5 mM de glucose chez un sujet sain et chez un patient atteint de la FK est présenté à la Figure 16.

Tableau XIII: Modèle linéaire mixte pour déterminer les facteurs d'incubation ou de groupes affectant la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A* (n=216)

Variables	χ^2 Wald	p
Modèle 1		
Groupe	3.67	0.299
Concentration	0.112	0.738
Stimulation	13.3	<0.001
Durée	4.31	0.038
Groupe*Concentration	0.488	0.922
Groupe*Stimulation	3.55	0.314
Groupe*Durée	0.956	0.812
Concentration*Stimulation	0.406	0.524
Concentration*Durée	0.045	0.832
Stimulation*Durée	0.725	0.395
Groupe*Concentration*Stimulation	0.530	0.912
Groupe*Concentration*Durée	1.989	0.575
Groupe*Stimulation*Durée	1.659	0.646
Concentration*Stimulation*Durée	0.412	0.521
Groupe*Concentration*Stimulation*Durée	1.014	0.798

* Racine carrée de la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A utilisée pour ce modèle;
 Groupes : sujets sains, patients atteints de la FK NGT, patients atteints de la FK IGT et patients atteints de la FK DAFK; Concentration : lymphocytes incubés dans un milieu contenant 5 ou 25 mM de glucose; Stimulation : lymphocytes stimulés par le PHA et le PMA ou non stimulés; Duration : lymphocytes incubés 24 ou 48 heures

Tableau XIV: Modèles linéaire mixte pour déterminer l'effet des variations glycémiques sur la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A* (n=216)

Variables	<i>Hyperglycémie</i>		<i>MAGE</i>		<i>SD</i>		<i>J</i>		<i>CV</i>	
	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p
Modèles 2										
Stimulation	25.1	<0.001	25.1	<0.001	25.1	<0.001	25.2	<0.001	25.0	<0.001
Durée	5.41	0.020	5.36	0.021	5.36	0.021	5.34	0.021	5.31	0.021
Sexe	1.29	0.708	1.32	0.725	1.33	0.722	1.22	0.749	1.43	0.698
Hyperglycémie (% temps)	0.233	0.630	-	-	-	-	-	-	-	-
MAGE (mmol/L)	-	-	0.0723	0.788	-	-	-	-	-	-
SD (mmol/L)	-	-	-	-	0.081	0.775	-	-	-	-
J ((mmol/L) ²)	-	-	-	-	-	-	0.002	0.964	-	-
CV (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.205	0.651

* Racine carrée de la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A utilisée pour ce modèle; Stimulation : lymphocytes stimulés par le PHA et le PMA ou non stimulés; Duration : lymphocytes incubés 24 ou 48 heures; MAGE : *Mean Amplitude of Glycemic Excursions* ; SD : *standard deviation*; CV : coefficient de variation

24 heures

48 heures

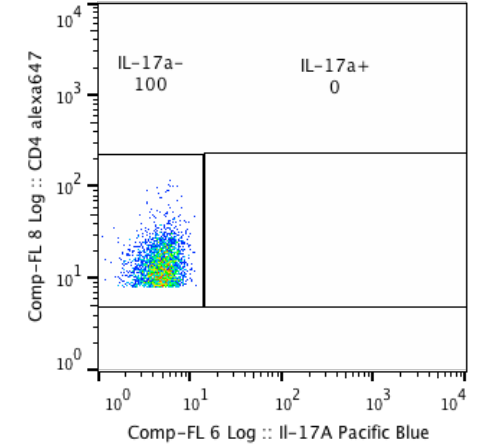
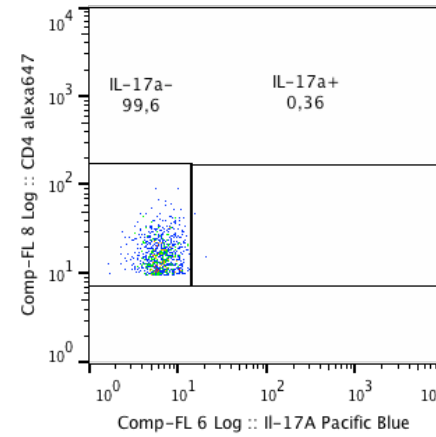
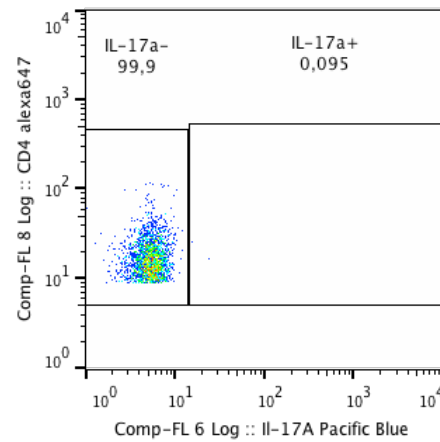
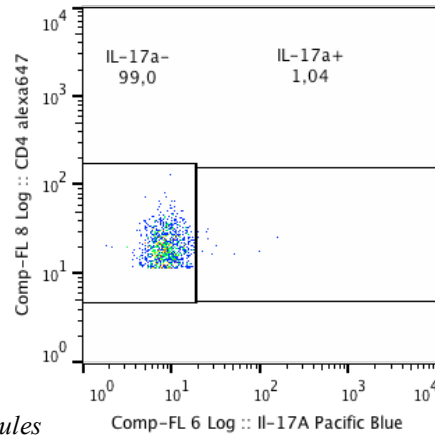
Sujet sain

FK

Sujet sain

FK

Cellules
stimulées



Cellules
non stimulées

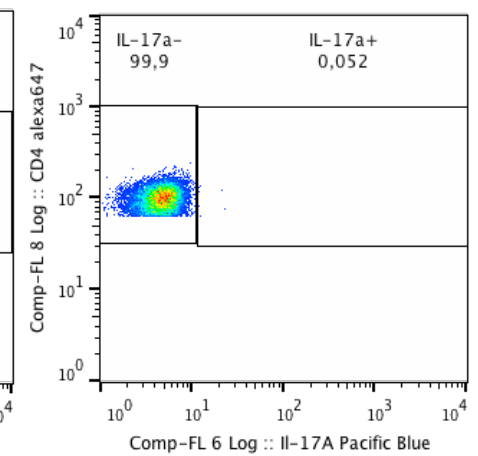
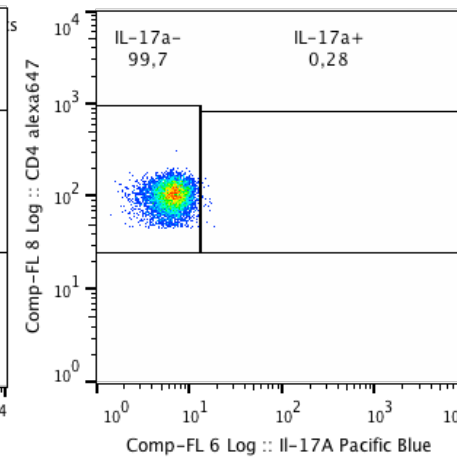
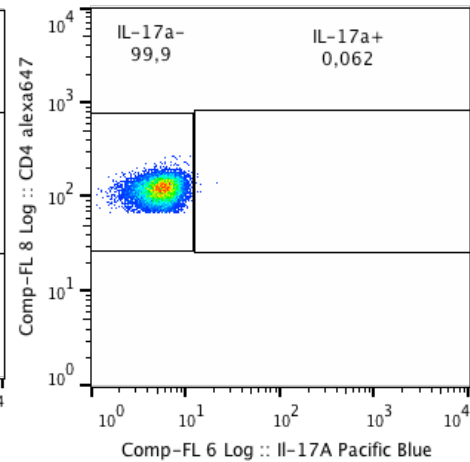
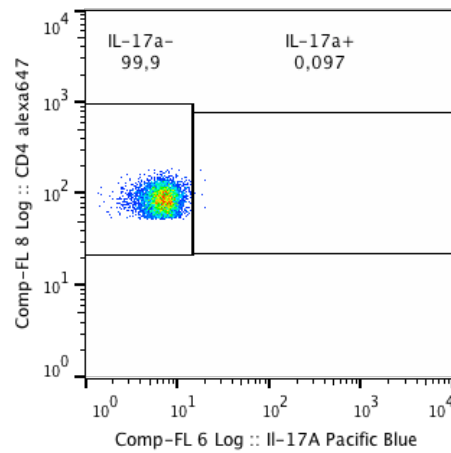


Figure 16: Exemple de données de cytométrie en flux de la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A stimulés par le PMA et le PHA et non stimulés incubés 24 heures ou 48 heures dans un milieu avec 5 mM de glucose chez un sujet sain et chez un patient atteint de la fibrose kystique (FK).

Les mêmes modèles linéaires mixtes ont été employés pour déterminer quels facteurs d'incubation ou de groupes et quels indices de fluctuations glycémiques affectaient la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A.

Le tableau XV indique que la stimulation par le PMA et le PHA des lymphocytes affectait la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A ($p=0.014$) et qu'il existait des différences de proportions entre les quatre groupes ($p=0.028$). Il existait même une interaction entre la stimulation des cellules et les groupes, c'est-à-dire que la stimulation par le PMA et le PHA affectait différemment la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A dans les différents groupes ($p=0.031$). Dans le modèle du tableau XVI, ces deux facteurs ainsi que leur interaction modulaient la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A ($p<0.020$) alors que les indices de fluctuations glycémiques n'affectaient pas la proportion de ces cellules produisant cette cytokine ($p>0.05$). Pour cette raison, l'exemple de données de cytométrie en flux présenté à la Figure 17 montre les données de lymphocytes incubés dans un milieu contenant 5 mM de glucose stimulés par le PMA et le PHA et non stimulés chez des participants dans les quatre groupes. En regardant plus spécifiquement l'interaction entre les facteurs stimulation et groupe et on a remarqué que les proportions de lymphocytes stimulés par le PMA et PHA des sujets sains étaient plus élevées que celles des lymphocytes non stimulés des individus en santé et des patients atteints de la FK ($p<0.001$) (Figure 18). Cinq valeurs entre 12.8 et 18.8% (quatre pour les lymphocytes des sujets sains stimulés et une pour les lymphocytes stimulés d'un patient DAFK) n'ont pas été incluses dans la figure 17 afin d'être capable de clairement voir les proportions entre 0 et 6%. Les valeurs non incluses dans la figure 18 ont été tout de même utilisées pour les analyses statistiques.

Tableau XV: Modèle linéaire mixte pour déterminer les facteurs d'incubation et de groupes affectant la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A* (n=211)

Variables	χ^2 Wald	p
Modèle 1		
Groupe	9.086	0.028
Concentration	0.489	0.484
Stimulation	5.96	0.014
Durée	1.01	0.313
Groupe*Concentration	0.896	0.826
Groupe*Stimulation	8.86	0.031
Groupe*Durée	0.396	0.941
Concentration*Stimulation	0.594	0.441
Concentration*Durée	0.196	0.658
Stimulation*Durée	4 x10 ⁻⁴	0.985
Groupe*Concentration*Stimulation	0.699	0.874
Groupe*Concentration*Durée	0.863	0.834
Groupe*Stimulation*Durée	1.08	0.782
Concentration*Stimulation*Durée	0.331	0.565
Groupe*Concentration*Stimulation*Durée	0.214	0.975

* Racine carrée de la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A utilisée pour ce modèle;
 Groupes : sujets sains, patients atteints de la FK NGT, patients atteints de la FK IGT et patients atteints de la FK DAFK; Concentration : lymphocytes incubés dans un milieu contenant 5 ou 25 mM de glucose; Stimulation : lymphocytes stimulés par le PHA et le PMA ou non stimulés; Duration : lymphocytes incubés 24 ou 48 heures

Tableau XVI: Modèles linéaire mixte pour déterminer l'effet des variations glycémiques sur la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A* (n=211)

Variables	<i>Hyperglycémie</i>		<i>MAGE</i>		<i>SD</i>		<i>J</i>		<i>CV</i>	
	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p
Modèles 2										
Stimulation	10.6	0.001	10.8	0.001	10.9	<0.001	10.9	<0.001	10.7	0.001
Groupe	10.4	0.016	9.66	0.021	11.2	0.011	11.9	0.008	9.80	0.020
Stimulation*Groupe	10.8	0.013	10.6	0.014	10.5	0.015	10.9	0.012	10.4	0.016
Sexe	2.00	0.571	2.09	0.553	0.58	0.0.581	2.45	0.484	-	0.622
Hyperglycémie (% temps)	0.998	0.318	-	-	-	-	-	-	-	-
MAGE (mmol/L)	-	-	1.64	0.200	-	-	-	-	-	-
SD (mmol/L)	-	-	-	-	3.36	0.067	-	-	-	-
J ((mmol/L) ²)	-	-	-	-	-	-	3.36	0.067	-	-
CV (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	1.95	0.163

*Racine carrée de la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A utilisée pour ce modèle; Groupes : sujets sains, patients atteints de la FK NGT, patients atteints de la FK IGT et patients atteints de la FK DAFK; Stimulation : lymphocytes stimulés par le PHA et le PMA ou non stimulés; MAGE : *Mean Amplitude of Glycemic Excursions* ; SD : *standard deviation*; CV : coefficient de variation

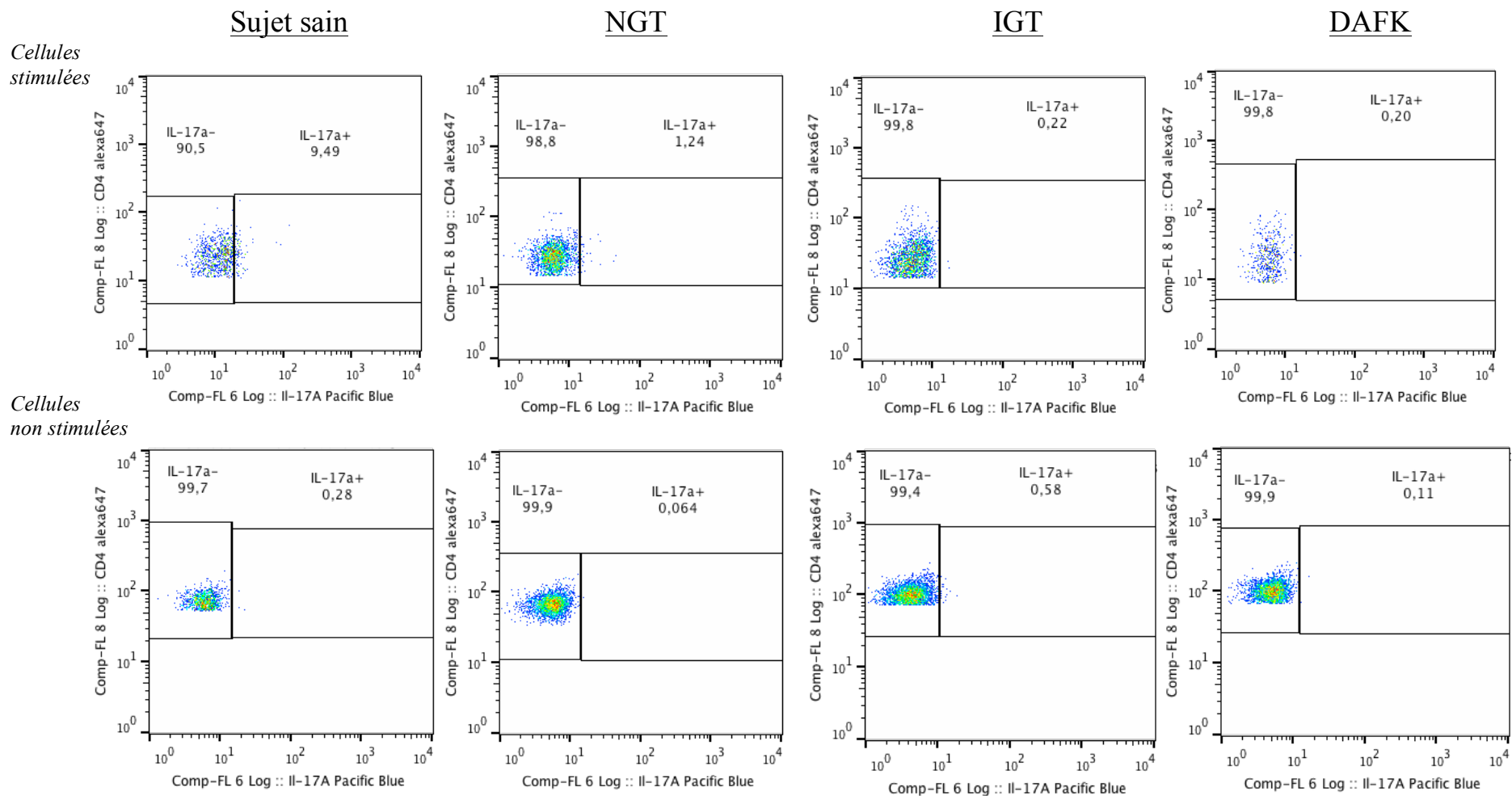


Figure 17: Exemple de données de cytométrie en flux de la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A stimulés et non stimulés par le PMA et le PHA et incubés 24 heures dans un milieu avec 5 mM de glucose chez un sujet sain et chez des patients atteints de la fibrose kystique non-diabétique (NGT), pré-diabétique (IGT) et diabétique (DAFK).

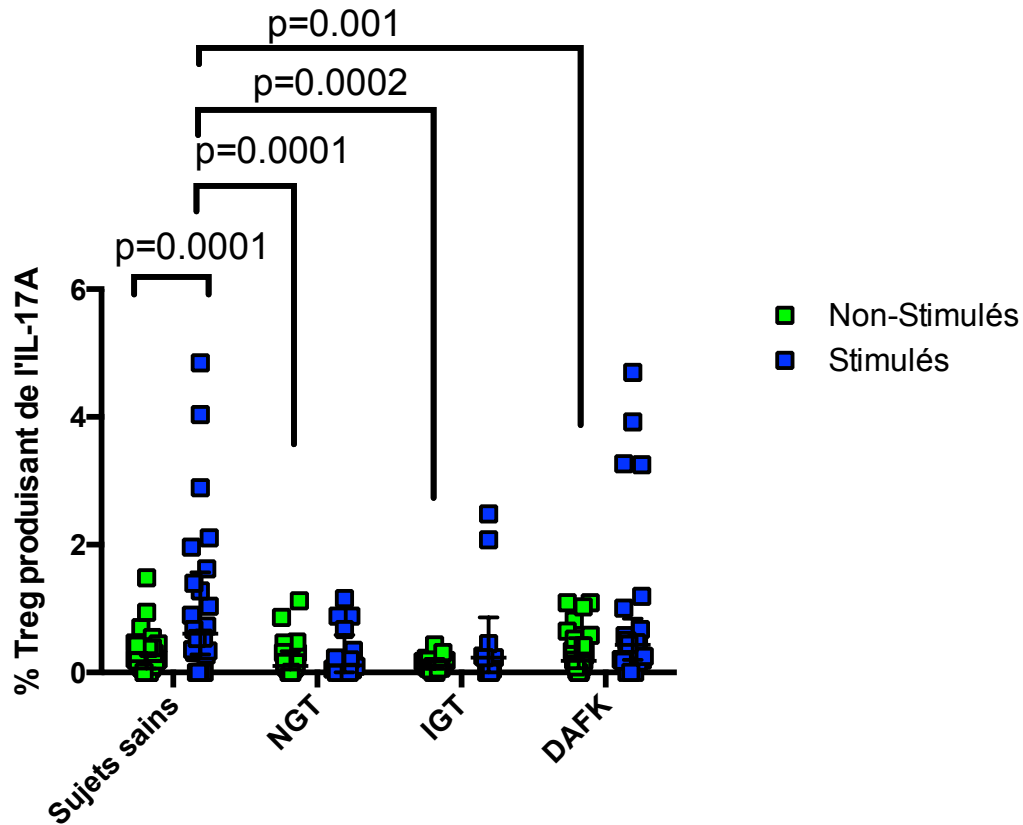


Figure 18: Proportions de T_{reg} stimulés par le PMA et le PHA et non stimulés produisant de l'IL-17A chez des sujets sains (n stimulés par le PMA et le PHA=28, n non stimulés=55) et chez des patients atteints de la fibrose kystique non-diabétiques (NGT; n stimulés par le PMA et le PHA=17, n non stimulés=30), pré-diabétiques (IGT; n stimulés par le PMA et le PHA=10, n non stimulés=15) et diabétiques (DAFK; n stimulés par le PMA et le PHA=26, n non stimulés=30) (médiane \pm écart interquartile,) (log % T_{reg} produisant de l'IL-17A utilisé pour les analyses).

Finalement, les derniers modèles mixtes ont été réalisés pour déterminer quels facteurs affecteraient la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10. Les tableaux XVII et XVIII indiquent que la stimulation des cellules par le PMA et le PHA, les concentrations de 5 ou 25 mM de glucose dans le milieu d'incubation, la durée d'incubation de 24 ou 48 heures, les groupes de tolérance au glucose, le sexe et les fluctuations glycémiques n'affectaient pas la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 ($p > 0.05$). Ainsi, l'exemple de données de cytométrie en flux démontre seulement les données de lymphocytes non stimulés et incubés 24 heures dans un milieu contenant 5 mM du glucose d'un sujet sain et d'un patient atteint de la FK (Figure 19).

Tableau XVII: Modèle linéaire mixte pour déterminer les facteurs d'incubation et de groupes affectant la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10* (n=158)

Variables	χ^2 Wald	p
Modèle 1		
Groupe	6.42	0.093
Concentration	0.033	0.855
Stimulation	2.22	0.136
Durée	0.325	0.569
Groupe*Concentration	0.351	0.950
Groupe*Stimulation	0.904	0.825
Groupe*Durée	3.40	0.335
Concentration*Stimulation	0.938	0.332
Concentration*Durée	0.232	0.630
Stimulation*Durée	0.124	0.725
Groupe*Concentration*Stimulation	4.65	0.200
Groupe*Concentration*Durée	0.602	0.896
Groupe*Stimulation*Durée	0.832	0.842
Concentration*Stimulation*Durée	0.974	0.324
Groupe*Concentration*Stimulation*Durée	1.57	0.666

*Racine carrée de la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 utilisée pour ce modèle;

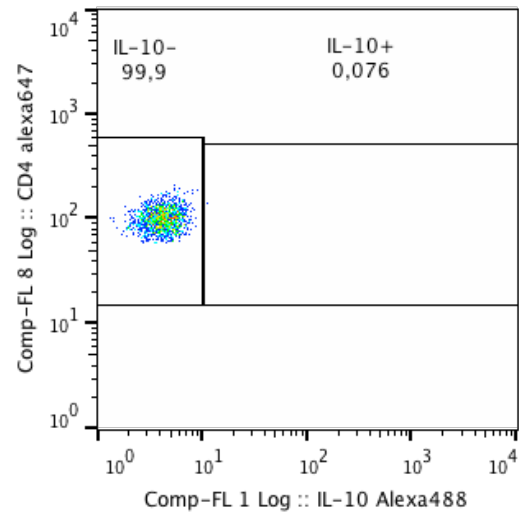
Groupes : sujets sains, patients atteints de la FK NGT, patients atteints de la FK IGT et patients atteints de la FK DAFK; Concentration : lymphocytes incubés dans un milieu contenant 5 ou 25 mM de glucose; Stimulation : lymphocytes stimulés par le PHA et le PMA ou non stimulés; Duration : lymphocytes incubés 24 ou 48 heures

Tableau XVIII: Modèles linéaire mixte pour déterminer l'effet des variations glycémiques sur la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 (n=158)*

Variables	<i>Hyperglycémie</i>		<i>MAGE</i>		<i>SD</i>		<i>J</i>		<i>CV</i>	
	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p	χ^2 Wald	p
Modèles 2										
Sexe	1.80	0.616	1.98	0.576	2.22	0.523	1.86	0.601	2.50	0.474
Hyperglycémie (% temps)	0.212	0.645	-	-	-	-	-	-	-	-
MAGE (mmol/L)	-	-	0.353	0.552	-	-	-	-	-	-
SD (mmol/L)	-	-	-	-	0.642	0.423	-	-	-	-
J ((mmol/L) ²)	-	-	-	-	-	-	0.320	0.572	-	-
CV (%)	-	-	-	-	-	-	-	-	0.879	0.348

* Racine carrée de la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 utilisée pour ce modèle; MAGE : *Mean Amplitude of Glycemic Excursions* ; SD : *standard deviation*; CV : coefficient de variation

Sujet sain



FK

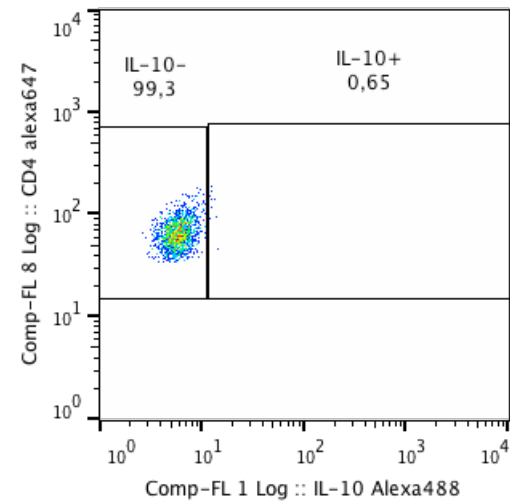


Figure 19 : Exemple de données de cytométrie en flux de la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 de lymphocytes non stimulés par le PMA et le PHA incubés 24 heures dans un milieu avec 5 mM de glucose chez un sujet sain et chez un patient atteint de la fibrose kystique.

4.3 Effets des facteurs confondants sur la variabilité glycémique

Des régressions linéaires ont été réalisées afin de vérifier l'effet de l'alimentation, de la dépense énergétique et de la composition corporelle sur les fluctuations glycémiques.

D'abord, l'effet de l'énergie provenant des glucides, lipides et protéines sur le MAGE, le SD et le CV a été vérifié. Un modèle de régression linéaire a été réalisé pour chaque indice de fluctuations glycémiques et a démontré que la proportion d'énergie provenant des glucides affectait, de façon statistiquement significative, ces indices ($p < 0.03$). Il est important de noter que les coefficients de régression (r^2) des trois modèles variaient entre 0.046 et 0.069 (Tableau XIX).

Par la suite, nous avons observé que la DÉT et le nombre de pas ne modulaient pas les fluctuations glycémiques ($p > 0.05$) (Tableau XX). Les coefficients de régressions (r^2) de ces modèles variaient entre 0.109 et 0.164. Les résultats étaient semblables pour l'effet de la composition corporelle sur les fluctuations glycémiques. Les pourcentages de MG et de MNG n'influençaient pas le MAGE, le SD et le CV ($p > 0.05$) (Tableau XXI). Ce dernier modèle avait des coefficients de régression allant de -0.023 à 0.002.

Tableau XIX : Modèles de régression linéaire pour déterminer les macronutriments affectant les fluctuations glycémiques pour les sujets sains et les patients atteints de la fibrose kystique (n=59)

Variables dépendantes	Variables indépendantes	r ² ajusté	Coefficient	t	p
MAGE		0.046			
(mmol/L) ^a	Ordonnée à l'origine		-4.47	-1.56	0.124
	Énergie (kcal/jour)		1.19x10 ⁻³	1.10	0.278
	% glucides		0.054	2.23	0.030
	% lipides		0.033	1.20	0.236
	% protéines ^b		0.331	0.331	0.274
SD ^a		0.060			
(mmol/L)	Ordonnée à l'origine		-5.29	-2.12	0.039
	Énergie (kcal/jour)		1.15x10 ⁻⁴	1.21	0.231
	% glucides		5.15x10 ⁻²	2.45	0.017
	% lipides		3.44x10 ⁻²	1.45	0.153
	% protéines ^b		3.57x10 ⁻¹	1.37	0.177
CV ^a (%)		0.069			
	Ordonnée à l'origine		-1.58	0.837	0.406
	Énergie (kcal/jour)		5.72x10 ⁻⁵	0.802	0.426
	% glucides		4.33x10 ⁻²	2.74	0.008
	% lipides		3.42x10 ⁻²	1.91	0.061
	% protéines ^b		2.86x10 ⁻¹	1.45	0.152

^a : log de la valeur utilisé pour la régression linéaire, ^b : racine carrée de la valeur utilisée pour la régression linéaire; MAGE : *Mean Amplitude of Glycemic Excursions* ; SD : *standard deviation*; CV : coefficient de variation; % : énergie provenant des

Tableau XX : Modèles de régression linéaire pour déterminer les composantes de la dépense énergétique affectant les fluctuations glycémiques pour les sujets sains et les patients atteints de la fibrose kystique (n=59)

Variable dépendante	Variabes indépendantes	r ² ajusté	Coefficient	t	p
MAGE ^a (mmol/L)	Ordonnée à l'origine	0.116	6.66	1.71	0.094
	DÉT ^a (kcal/jour)		-7.07x10 ⁻¹	-1.35	0.184
	Nombre de pas		3.09x10 ⁻⁵	-1.07	0.291
SD ^a (mmol/L)	Ordonnée à l'origine	0.109	4.60	1.33	0.188
	DÉT ^a (kcal/jour)		-5.42x10 ⁻¹	-1.17	0.247
	Nombre de pas		-3.02x10 ⁻⁵	-1.18	0.242
CV ^a (%)	Ordonnée à l'origine	0.164	7.33	2.90	0.005
	DÉT ^a (kcal/jour)		-5.32x10 ⁻¹	1.57	0.123
	Nombre de pas		-2.41x10 ⁻⁵	1.28	0.205

^a : log de la valeur utilisé pour la régression linéaire; MAGE : *Mean Amplitude of Glycemic Excursions* ; SD : *standard deviation*; CV : coefficient de variation; DÉT : dépense énergétique totale

Tableau XXI : Modèles de régression linéaire pour déterminer les composantes de la composition corporelle affectant les fluctuations glycémiques pour les sujets sains et les patients atteints de la fibrose kystique (n=59)

Variables dépendantes	Variables indépendantes	r ² ajusté	Coefficient	t	p
MAGE ^a		-0.023			
(mmol/L)	Ordonnée à l'origine		-16.1	-0.789	0.433
	% MG		0.172	0.830	0.410
	% MNG		0.178	0.830	0.410
SD ^a		-0.011			
(mmol/L)	Ordonnée à l'origine		-20.9	-1.17	0.247
	% MG		0.210	1.17	0.247
	% MNG		0.220	1.18	0.245
CV ^a (%)					
	Ordonnée à l'origine	0.002	-16.8	-1.25	0.218
	% MG		0.201	1.48	0.148
	% MNG		0.206	1.46	0.149

^a : log de la valeur utilisé pour la régression linéaire; MAGE : *Mean Amplitude of Glycemic Excursions* ; SD : *standard deviation*; CV : coefficient de variation; % MG : pourcentage de masse grasse; % MNG : pourcentage de masse non grasse

4.4 Association entre les marqueurs inflammatoires et la fonction pulmonaire

Enfin, l'association entre les fonctions pulmonaires et l'inflammation a été examinée. Il est important de noter que les valeurs de VEMS n'étaient pas disponibles pour tous les patients durant l'année de leur participation à l'étude. Les proportions de Th17 et de T_{reg} produisant de l'IL-17A ainsi que la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 des lymphocytes non stimulés et incubés 24 heures avec 5 mM de glucose n'étaient pas négativement associées au VEMS des patients atteints de la FK ($p > 0.05$) (Figure 20-22). Cette condition d'incubation a été choisie puisqu'il n'y a pas de stimulus comme la stimulation ou l'hyperglycémie pour provoquer la sécrétion de cytokines et puisqu'elle représente le mieux ce qui est retrouvé dans le sang périphérique des patients. Par contre, des corrélations avec le VEMS ont également été effectuées pour les proportions de lymphocytes stimulés par le PHA et le PMA et incubés dans un milieu contenant 5 mM de glucose et ceux incubés dans un milieu contenant 25 mM de glucose pour 24 heures et il n'y avait pas d'association (résultats non montrés). Il est important de noter qu'il manque une valeur de 3.6% sur la Figure 22. Cette valeur a été comprise dans l'analyse statistique, mais enlevée du graphique pour conserver les mêmes axes que les Figures 20 et 21.

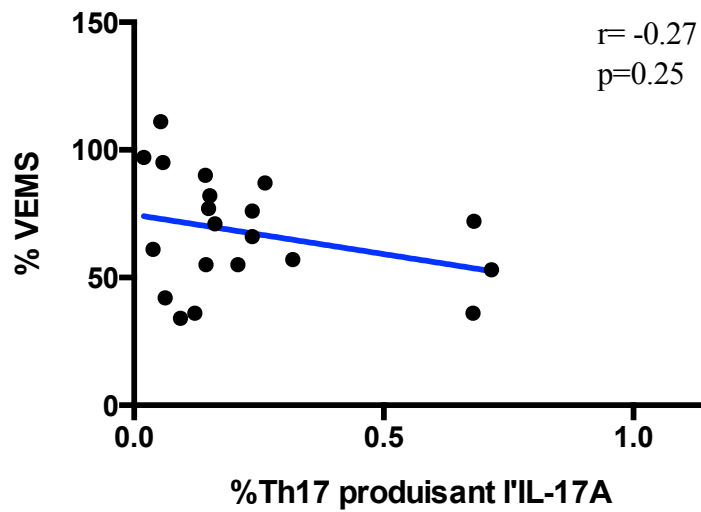


Figure 20 : Association la entre proportion de lymphocytes Th17 non stimulés produisant de l'IL-17A, incubés 24 heures avec 5 mM de glucose et la fonction pulmonaire chez des patients atteints de la fibrose kystique (n=20)

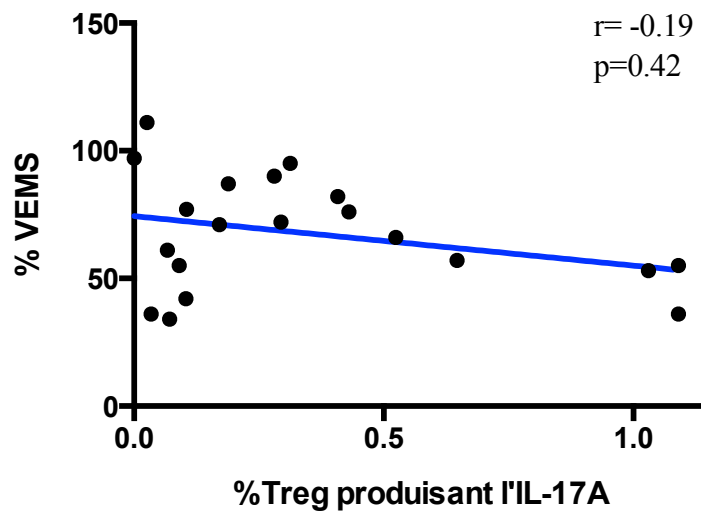


Figure 21: Association entre la proportion de lymphocytes T_{reg} non stimulés produisant de l'IL-17A, incubés 24 heures avec 5 mM de glucose et la fonction pulmonaire des patients atteints de la fibrose kystique (n=20)

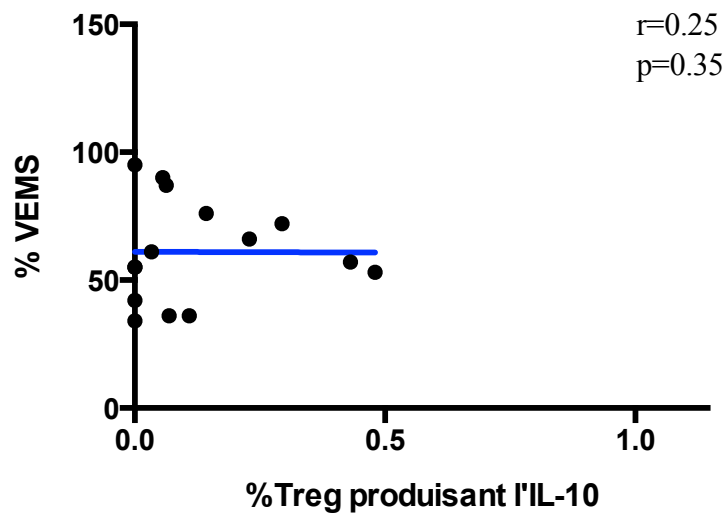


Figure 22 : Association entre la proportion de lymphocytes T_{reg} non stimulés produisant de l'IL-10, incubés 24 heures avec 5 mM de glucose et les fonctions pulmonaires des patients atteints de la fibrose kystique (n=16)

5. Discussion

Les objectifs de cette thèse étaient d'examiner les effets des fluctuations glycémiques sur les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant la cytokine pro-inflammatoire IL-17A, de comparer les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A, de vérifier l'association entre les fonctions pulmonaires et la proportion de ces cellules produisant cette cytokine et, finalement, d'évaluer l'impact de l'alimentation, de l'activité physique et de la composition corporelle sur ces relations.

Les résultats de cette thèse démontrent que les patients atteints de la FK, et surtout ceux IGT et avec le DAFK, avaient de l'hyperglycémie et des fluctuations glycémiques plus importantes que les sujets sains. De plus, contrairement à notre hypothèse, les patients atteints de la FK n'avaient pas une proportion plus élevée de lymphocytes Th17 et de T_{reg} produisant de l'IL-17A comparativement aux sujets sains. De plus, les fluctuations glycémiques n'affectaient pas les proportions de cellules Th17 et de T_{reg} produisant cette cytokine en culture dans différentes conditions.

Par ailleurs, les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A mis en culture n'étaient pas négativement associées aux fonctions pulmonaires des patients atteints de la FK. Finalement, la DÉT, le nombre de pas, les pourcentages de MNG et de MG, les proportions d'énergie provenant des protéines et des lipides ne modulaient pas la variabilité glycémique, alors que la proportion d'énergie provenant des glucides ingérés influençait les indices de fluctuations glycémiques.

5.1 Participants

Nous avons recruté un groupe de sujets sains ainsi que trois groupes de patients atteints

de la FK dans différentes catégories de tolérance au glucose sans épisode de surinfection et qui ne prenaient pas des médicaments pouvant affecter significativement le métabolisme des glucides (autre qu'un traitement antidiabétique pour les patients avec le DAFK). D'ailleurs, les moyennes d'IMC des trois groupes de patients atteints de la FK étaient des valeurs santé entre 21 et 23.2 kg/m² (131). Aussi, ces trois mêmes groupes avaient des fonctions pulmonaires semblables, avec des moyennes de groupe entre 62 et 69%, celles-ci se trouvent près du pourcentage médian des patients canadiens de 65.5% (46). Nous avons donc étudié des patients comparables à la moyenne des patients atteints de la FK, mais beaucoup moins malades que ceux éligibles à une greffe pulmonaire (VEMS inférieur à 30%) (263). Ainsi, nous avons pu comparer les fluctuations glycémiques et les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A ainsi que celles des lymphocytes T_{reg} produisant de l'IL-10 entre les sujets sains et les trois groupes de patients atteints de la FK cliniquement stables sans corriger les résultats à cause d'une condition contribuant à l'inflammation comme la malnutrition (126). La malnutrition peut altérer l'état inflammatoire en diminuant, entre autre, la quantité de lymphocytes T CD4⁺ et, aussi, la production de cytokines telles que l'IL-2 et l'IFN- γ chez des humains (264).

5.2 Fluctuations glycémiques, activité physique et composition corporelle

Selon nos connaissances, cette étude est la première à quantifier les fluctuations glycémiques des patients atteints de la FK à l'aide d'indices largement utilisés tels que le MAGE, le SD, le CV et le J et à comparer les fluctuations glycémiques des patients atteints de la FK de différents groupes de tolérance au glucose à celles des sujets sains. Bien que ces indices soient calculés de façons différentes, les résultats obtenus restaient semblables (Tableau V) et indiquaient que les patients atteints de la FK, et plus particulièrement ceux avec le DAFK, avaient plus de fluctuations glycémiques que les sujets sains. Par ailleurs, les patients NGT ont, eux aussi, plus de fluctuations glycémiques avec les indices MAGE et CV et elles étaient plutôt reliées à l'hypoglycémie alors que les patients DAFK avaient des fluctuations glycémiques davantage associées à l'hyperglycémie.

Parallèlement, tous les patients atteints de la FK passaient plus de temps en hyperglycémie que les sujets en santé. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus dans le laboratoire où les patients atteints de la FK IGT et avec le DAFK avaient de l'hyperglycémie à la suite d'une HGPO (9). De plus, les patients atteints de la FK IGT et DAFK avaient une glycémie moyenne plus élevée que les sujets sains, alors que les patients NGT avaient une glycémie moyenne semblable aux individus en santé. Ceci suggère donc que les patients atteints de la FK NGT, bien que présentant plus de fluctuations glycémiques, maintiennent leurs glycémies moyennes dans les valeurs physiologiques d'une façon comparable aux individus en santé. L'explication se trouverait du côté d'une sécrétion d'insuline plus importante qui permettrait de corriger la majorité des fluctuations glycémiques. Pour confirmer cette hypothèse, il aurait fallu mesurer les niveaux d'insuline en parallèle avec la mesure de la glycémie interstitielle avec le CGMS, mais, malheureusement, cette technologie n'existe pas présentement. Si un appareil mesurant l'insuline simultanément avec la glycémie interstitielle à toutes les cinq minutes existait, on pourrait vérifier si les patients NGT auraient des niveaux d'insuline plus élevés lors des fluctuations glycémiques comparativement aux patients IGT et DAFK.

Cette hypothèse est plausible même si lors d'une HGPO, les patients NGT ne sécrètent pas plus d'insuline que les autres patients atteints de la FK (9). Les fluctuations glycémiques mesurées avec un CGMS se produisaient à la suite de la prise de repas ou de collations mixtes (composés de lipides, de protéines et de glucides) alors qu'une HGPO mesure la sécrétion d'insuline après la prise d'un jus contenant uniquement du glucose (265). De plus, une étude par Olivier *et al.* a démontré que la régulation de la glycémie était anormale chez le jeune furet avec une mutation du gène CFTR. Cette étude montrait qu'il y avait trop d'insuline sécrétée en situation hypoglycémique et pas assez dans l'hyperglycémie (100). Ceci expliquerait la raison pour laquelle les patients atteints de la FK NGT auraient plus de fluctuations glycémiques, mais une glycémie similaire à celle à des sujets sains. Les aspects qualitatifs de la sécrétion de l'insuline chez les patients atteints de la FK pourraient aussi expliquer les fluctuations glycémiques postprandiales. En effet, les patients atteints de la FK présentent un défaut de la

sécrétion précoce de l'insuline, un élément important pour limiter les excursions glycémiques (9). Les patients atteints de la FK IGT commenceraient à perdre cette capacité de préserver leur glycémie moyenne à des valeurs semblables aux sujets sains puisque leur glycémie moyenne était plus élevée même si leurs fluctuations glycémiques ressemblaient à celles des sujets NGT. Chez les patients IGT, la combinaison d'anomalies qualitatives (cf. ci-dessus) et quantitatives (insulinémies moyennes plus basses) de la sécrétion de l'insuline observées lors du test de l'HGPO (9) explique probablement les fluctuations glycémiques et les glycémies moyennes augmentées. Chez les patients avec le DAFK, la majoration de ces anomalies qualitatives et quantitatives se traduit par une glycémie moyenne plus élevée et une amplification des fluctuations glycémiques.

Sachant que des études ont démontré que les patients atteints de la FK ont une dépense énergétique plus importante que les individus en santé, ceci étant probablement relié à un effort plus important pour respirer (126), nous avons comparé la DÉT des patients atteints de la FK et des individus en santé. Les résultats indiquent que les patients atteints de la FK avaient une DÉT moins élevée comparativement aux sujets sains. Cette différence entre les études déjà publiées et celle-ci peut être attribuée au fait que nous avons inclus, dans l'étude, des patients qui n'étaient pas en état de malnutrition (avec des IMC normaux (131)), une condition associée à des fonctions respiratoires diminuées (124-126), qui étaient cliniquement stables et qui marchaient moins. Si des patients en surinfection, une condition augmentant la DÉT (126), ou ceux qui marchaient un nombre de pas semblable aux sujets sains étaient inclus, ceci aurait possiblement permis d'observer que les patients atteints de la FK ont une DÉT plus élevée que les individus en santé.

Sur le plan de la composition corporelle, malgré que la MNG et la MG étaient semblables entre les hommes et les femmes des quatre groupes lorsqu'elles étaient exprimées en pourcentage, la quantité (en kg) de MG des femmes NGT était plus importante que celles des autres groupes et les MNG des hommes NGT et DAFK étaient différentes de celle des sujets sains. Ceci est dû au fait que les femmes NGT pesaient plus, mais qu'elles avaient, tout

de même, un pourcentage de MG semblable aux femmes dans les autres groupes. Quant aux hommes NGT et DAFK, ce phénomène est inversé. Les hommes de ces groupes pesaient moins, mais avaient, malgré tout, un pourcentage de MNG semblable aux sujets sains. Les patients atteints de la FK n'étaient pas en état de malnutrition puisque leur composition corporelle n'était pas altérée comparativement aux sujets sains. Leur IMC et leurs pourcentages de MG et de MNG étaient semblables à ceux des individus en santé (131, 266).

Tant pour les données obtenues avec l'accéléromètre que pour celles de la composition corporelle, il existe des risques de biais reliés aux critères d'inclusion et à la taille de l'échantillon. Les critères d'inclusions nous ne permettaient pas inclure des patients plus fragiles comme ceux en épisode de surinfection. De plus, le recrutement pour l'étude a été difficile, donc, il n'y avait pas plus que 16 patients par groupe de patients atteints de la FK. Ces données devront alors être confirmées avec des groupes de patients plus importants et plus diversifiés.

En résumé, les patients atteints de la FK avaient plus de fluctuations glycémiques et d'hyperglycémie que les sujets sains malgré que les patients NGT avaient une glycémie moyenne semblable aux individus en santé. Tout cela est probablement dû à une altération progressive de la sécrétion d'insuline, qui est modeste chez les patients NGT et marquée chez les patients présentant un DAFK. De plus, contrairement à ce que l'on retrouve dans la littérature, les patients atteints de la FK avaient une DÉT moins grande que les sujets sains, probablement parce qu'ils marchaient moins de pas par jour. Finalement, les patients atteints de la FK et les sujets sains avaient des pourcentages de MG et de MM semblables malgré que le poids des femmes NGT et des hommes NGT et DAFK étaient différents de ceux des autres groupes.

5.3 Les fluctuations glycémiques et l'inflammation

La première étape de cette analyse a été de vérifier si les fluctuations glycémiques étaient associées à la proportion de lymphocytes dans le sang périphérique. Effectivement, les proportions de lymphocytes des patients atteints de la FK et des sujets sains étaient négativement associées au MAGE, au SD, au J et au CV, mais pas à la glycémie moyenne. Curieusement, ces associations n'étaient pas observées en utilisant le nombre absolu de lymphocytes au lieu de la proportion dans le sang périphérique. Une étude a démontré que lorsque la glycémie sanguine est supérieure à 8 mmol/L, du glucose se retrouve dans les sécrétions nasales des patients atteints de la FK et que ceci est possiblement associé à une susceptibilité accrue de développer des infections respiratoires (267). D'ailleurs, Lanng *et al.* ont observé que les cultures positives de crachats pour *Haemophilus influenzae* et le *Streptococcus pneumoniae* diminuaient à la suite de l'administration d'insuline aux patients avec le DAFK (104). Comme mentionné précédemment, tous les patients atteints de la FK ont davantage de fluctuations glycémiques comparativement aux individus en santé. Cette variabilité glycémique, associée à des glycémies supérieures à 8 mmol/L, affecterait la colonisation des poumons par des bactéries et cette dernière nécessiterait une plus grande présence de neutrophiles dans le sang périphérique des patients atteints de la FK. Ainsi, la proportion de lymphocytes serait diminuée chez ces patients à la suite de fluctuations glycémiques alors que la quantité relative de ces cellules resterait semblable. Pour vérifier cette hypothèse, on installerait un CGMS à des patients atteints de la FK de différentes catégories de tolérance au glucose avant et après une surinfection associée à de l'hyperglycémie (268) et on mesurerait, parallèlement, le nombre et la proportion de lymphocytes dans le sang périphérique.

Ces observations n'ont jamais été rapportées dans la littérature et elles nous ont motivés à approfondir nos analyses et à vérifier l'association entre les indices de fluctuations glycémiques et les proportions de lymphocytes importants dans la FK et le diabète, les Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A.

Nous avons donc examiné si les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A étaient associées aux fluctuations glycémiques présentes chez les participants de l'étude. En même temps, nous avons vérifié si différentes conditions d'incubation comme 5 mM ou 25 mM de glucose dans le milieu de culture, l'incubation pour 24 heures au lieu de 48 heures ou la stimulation par le PMA et PHA modulaient ces proportions. En parallèle, nous avons investigué lesquels des facteurs énumérés ci-haut affectaient la proportion de lymphocytes T_{reg} produisant de l'IL-10, une cytokine anti-inflammatoire peu étudiée dans la FK et non étudiée dans le DAFK.

Nos analyses ont ainsi permis de conclure que la stimulation par le PMA et le PHA augmentait la proportion de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A, mais qu'elle n'avait aucun effet sur la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10. Ces résultats sont rassurants puisque notre objectif, en 2009, était d'augmenter la proportion de lymphocytes produisant de l'IL-17A en utilisant des composés stimulant la production d'IL-2. Pour compléter ces résultats et stimuler la production d'IL-10 par les T_{reg} dans des conditions proches de celles observées lors des surinfections, l'utilisation du lipopolysaccharide (LPS) serait à considérer (269). Le LPS induit l'inflammation pulmonaire chez les patients atteints de la FK colonisé par le *P. aeruginosa* (270). Aussi, il stimule le récepteur TLR4, responsable de la réponse inflammatoire systémique et de la sécrétion de cytokines comme le TNF- α et l'IL-10 (271). Ce récepteur joue par ailleurs un rôle dans l'inflammation pulmonaire dans la FK (23).

En outre, il y avait une plus grande proportion de lymphocytes Th17 produisant de l'IL-17A dans les milieux de culture cellulaire incubés 24 heures comparativement à ceux incubés 48 heures alors que la durée d'incubation n'affectait pas les proportions de T_{reg} produisant de l'IL-17A ni de T_{reg} produisant de l'IL-10. Nous supposons qu'une moins grande quantité de lymphocytes Th17 a survécu lorsqu'incubés pendant 48 heures au lieu de pendant 24 heures. D'ailleurs, l'incubation de cellules 48 heures avec une concentration élevée de glucose est connue comme étant néfaste pour la survie des cellules endothéliales (272). Nos

résultats suggèrent que c'est également le cas pour les lymphocytes Th17 produisant de l'IL-17A incubés 48 heures. Les lymphocytes T d'animaux meurent généralement après leur activation, mais ajouter de l'IL-2 empêcherait leur apoptose *in vivo* et *in vitro* (273). L'IL-2 n'a pas été ajouté aux milieux de culture et ceci expliquerait la raison pour laquelle il y a une proportion moins importante de lymphocytes Th17 produisant de l'IL-17A après 48 heures d'incubation. Par contre, cette durée d'incubation modulait seulement les proportions des lymphocytes Th17 et non des lymphocytes T_{reg} produisant de l'IL-17A. Il appert donc que la survie de ces cellules T-aux, en particulier, serait sensible à la durée d'incubation en milieu de culture. Une future étude pourrait tenter de comprendre les raisons pour lesquelles la proportion de Th17 est affectée à la suite de à 48 heures d'incubation contrairement aux lymphocytes T_{reg}. L'ajout d'IL-2 au milieu de culture mimerait aussi d'une meilleure façon des conditions physiologiques (273).

En plus de la stimulation, le facteur de groupes (sujets sains vs NGT vs. IGT vs. DAFK) affectait également la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-17A et la stimulation affectait différemment les quatre groupes puisqu'il y avait une interaction entre ces facteurs. En examinant les différences de proportions de T_{reg} produisant de l'IL-17A entre les groupes, nous avons observé que la proportion de lymphocytes T_{reg} stimulés par le PMA et PHA produisant de l'IL-17A chez les sujets sains était plus élevée que les proportions de lymphocytes non stimulés des quatre groupes (sujets sains, NGT, IGT, DAFK). Ceci indiquerait que les T_{reg} des sujets sains réagissaient plus vivement à la stimulation que ceux des patients atteints de la FK. Par contre, il s'avère que les comparaisons statistiques entre les lymphocytes T_{reg} stimulés des sujets sains et ceux non-stimulés des patients atteints de la FK ne sont pas nécessairement biologiquement pertinentes. Il est intéressant de noter que c'est la première fois qu'il est démontré que des lymphocytes T_{reg} de patients atteints de la FK produisent de l'IL-17A. Aussi, l'effet de la stimulation de lymphocytes T_{reg} de patients atteints de la FK par le PMA et le PHA n'a jamais été rapporté dans la littérature. Ainsi, cette étude est la première à rapporter les effets de la stimulation par le PMA et le PHA des lymphocytes T_{reg} des patients atteints de la FK.

Il est important de souligner que l'incubation pour 24 ou 48 heures, avec 5 mM ou 25 mM de glucose dans le milieu et la stimulation par le PMA et le PHA n'affectaient pas la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10. Il est possible que les lymphocytes T_{reg} de tous les participants n'aient pas été sensibles à ces conditions d'incubation et, que, pour cette raison, leur production d'IL-10 était semblable. Mesurer la proportion de lymphocytes T_{reg} produisant de l'IL-10 immédiatement après les prélèvements sanguins ou, encore mieux, dans les crachats, aurait été une meilleure approche pour comparer, entre les quatre groupes, les proportions de lymphocytes produisant cette cytokine. La proportion de lymphocytes T_{reg} produisant de l'IL-10 dans les poumons est surtout intéressante à investiguer puisqu'une étude, publiée en 1995, a démontré que les niveaux d'IL-10 sont inférieurs chez les patients atteints de la FK comparativement aux sujets sains. Ces auteurs ont aussi observé que les cellules épithéliales bronchiques des patients atteints la FK produisent moins d'IL-10 comparativement à celles des sujets sains (274). Il est possible que la production moins importante de cette cytokine par les lymphocytes T_{reg} dans les poumons contribue à ces niveaux inférieurs d'IL-10.

De façon surprenante et, contrairement à notre hypothèse, les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A et la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 étaient plutôt similaires entre les quatre groupes. Une étude par Bayes *et al.* a observé que les patients atteints de la FK ont moins de lymphocytes Th17 spécifiques au *P. aeruginosa* dans leur sang périphérique comparativement à des sujets sains (210). Ils postulent ainsi que les Th17 se retrouvent plutôt dans les poumons et, pour cette raison, la proportion de Th17 dans le sang périphérique est moins élevée. Cette migration des lymphocytes Th17 du sang périphérique aux poumons expliquerait également les proportions semblables de T_{reg} et Th17 produisant de l'IL-17A chez les patients atteints de la FK comparativement aux sujets sains. Dans cette situation, les lymphocytes Th17 et T_{reg} et les cytokines qu'ils produisent se retrouveraient dans les poumons, l'organe le plus affecté dans la FK (62). Pour vérifier cette hypothèse, il faudrait évaluer les proportions de ces lymphocytes produisant ces cytokines dans les poumons en isolant une partie de cet organe du patient ayant eu une greffe pulmonaire et en analysant par cytométrie en flux les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant

de l'IL-17A. Néanmoins, elle est supportée par la proportion moins importante de lymphocytes dans le sang périphérique des patients atteints de la FK comparativement aux sujets sains. Toutefois, le nombre absolu de lymphocytes était semblable entre les sujets sains et les patients atteints de la FK, donc, la plus grande proportion de neutrophiles dans le sang périphérique (résultats non montrés) influence probablement la proportion de lymphocytes. Il est ainsi possible que les patients atteints de la FK stables et les sujets sains aient tout simplement des proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A semblables dans les différentes conditions d'incubations choisies pour l'étude. Inclure des patients atteints de la FK en surinfection comme Bayes et ses collaborateurs (210) serait intéressant pour une étude future.

De plus, les fluctuations glycémiques ne modulaient pas la proportion de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant d'IL-17A ni la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 *ex vivo*. Les indices de variabilité glycémique étaient calculés à partir de données obtenues *in vivo*. Par contre, les lymphocytes Th17 et T_{reg} étaient en culture pour au moins 24 heures avant d'être analysés par cytométrie en flux. Ces cellules n'étaient ainsi plus dans des conditions physiologiques où la glycémie change fréquemment en réponse à la prise alimentaire et, en conséquence, il est possible que leur production de cytokines n'était plus la même. L'association des fluctuations glycémiques aux niveaux directement *ex vivo* d'IL-17A aurait été idéale. Par contre, l'essai très sensible d'ELISA de BD Biosciences pour mesurer les niveaux d'IL-17A dans les liquides biologiques n'a pas détecté d'IL-17A dans la majorité de nos échantillons de plasma (>60%) des patients atteints de la FK et des sujets sains. On aurait pu également tenter de mesurer les niveaux d'IL-17A et d'IL-10 dans les crachats des patients atteints de la FK, pour ensuite vérifier s'ils étaient associés aux indices de fluctuations glycémiques.

La stimulation par le PMA et le PHA augmentait la proportion de lymphocytes Th17 produisant de l'IL-17A de tous les participants alors qu'elle augmentait seulement la proportion de lymphocytes T_{reg} produisant cette cytokine des sujets sains suggérant que la

stimulation des lymphocytes T_{reg} des patients atteints de la FK n'était pas efficace par le PMA et le PHA. De plus, l'incubation pour 48 heures au lieu de 24 heures semblait compromettre la survie des lymphocytes Th17 produisant de l'IL-17A. Par ailleurs, aucun de ces facteurs d'incubation n'affectait la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10, mais il est reconnu que le LPS stimule la production de cette cytokine (269). D'ailleurs, il n'y avait pas de différence de proportions de ces lymphocytes produisant de l'IL-17 ou et des T_{reg} produisant de l'IL-10 entre les quatre groupes de participants et les fluctuations glycémiques *in vivo* semblaient pas moduler pas ces proportions obtenues *ex vivo*.

5.4 Facteurs modulant les fluctuations glycémiques

Étant donné que les fluctuations glycémiques n'influençaient pas les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A, l'étude a examiné lesquels des facteurs alimentaires, de la dépense énergétique ou de la composition corporelle modulaient ces indices de variabilité glycémique chez les patients atteints de la FK et chez les sujets sains.

D'une part, de toutes les composantes de l'alimentation utilisées pour les analyses (l'énergie, la proportion de l'énergie provenant des glucides, des lipides et des protéines), la proportion de l'énergie provenant des glucides affectait modestement les indices MAGE, SD et CV. Ce résultat n'est pas étonnant puisque des études ont déjà démontré que la prise de glucides influence la glycémie postprandiale (275). Les lipides et les protéines influenceraient également la variation de la glycémie à la suite d'un repas (275). Néanmoins, les impacts de ces nutriments apparaît essentiellement pour des proportions supra-physiologiques et ils sont surtout mis en évidence au laboratoire sans être capable de confirmer ces observations dans un contexte ambulatoire chez des patients avec le DT1 (276, 277). Ces observations expliquent probablement le fait que seule la proportion d'énergie provenant des glucides déterminait faiblement les fluctuations glycémiques. Cette même analyse a été menée sans les patients avec le DAFK prenant de l'insuline, car il est bien démontré que la technique de calcul des glucides permet un contrôle optimal des fluctuations glycémiques pour les patients avec le

DT1 (278), ce qui aurait constitué un facteur confondant significatif. Même après avoir exclu ces sujets, les associations restaient statistiquement significatives entre le MAGE, le CV et le SD et la proportion d'énergie provenant des glucides (résultats non montrés). Ces résultats suggèrent que, même avec une sécrétion d'insuline altérée chez les patients atteints de la FK, les relations entre la glycémie et l'alimentation sont comparables aux individus sans la FK. De plus, vérifier quels types de glucides, par exemple les fibres ou sucres simples, affectent les fluctuations glycémiques serait une prochaine étape à réaliser afin d'explorer quels aspects de l'alimentation sont plus importants pour la variabilité glycémique.

D'autre part, selon nos analyses, la DÉT, le nombre de pas, les pourcentages de MG et de MNG n'affectaient pas les fluctuations glycémiques. L'exercice a comme effet de diminuer la glycémie pendant et après l'effort physique (279) et de provoquer un pic glycémique principalement à la suite d'une activité de courte durée et d'intensité élevée (280). Par contre, dans notre étude, la DÉT et le nombre de pas marchés mesurés par le SWA ne paraissaient pas affecter la variabilité glycémique. Pour effectivement examiner l'effet de l'activité physique sur les fluctuations glycémiques, il aurait fallu idéalement utiliser la dépense énergétique liée à l'activité physique mesurée par le SWA et non la DÉT puisqu'elle est composée de l'énergie du métabolisme de base, de la thermogénèse alimentaire ainsi que de l'activité physique (136). De plus, même si on connaissait le nombre de pas marchés par jour, on n'avait pas l'information détaillée sur la quantité d'énergie dépensée en faisant de l'activité physique ni de sa durée et son intensité. Toutefois, un appareil qui mesure la dépense énergétique liée à l'activité physique dans un contexte ambulatoire n'est pas validé en ce moment pour les patients atteints de la FK. En conséquence, nous avons utilisé l'outil et les mesures validées chez les patients atteints de la FK. Pour démontrer l'effet de l'exercice sur les fluctuations glycémiques, il faudrait mesurer l'effet d'un programme d'entraînement sur ce paramètre. Cette étude est en cours au laboratoire.

Dès 1979, une étude a démontré une association positive entre la MG et l'intolérance au glucose (281). En 1992, Spiegelman *et al.* ont démontré que la MG est un facteur affectant

le glucose sanguin (282). Toutefois, nous n'avons pas observé d'association entre les pourcentages de MG et de MNG et le MAGE, le SD et le CV. Les pourcentages de MG et de MNG ont été employés au lieu de la MG et MNG en kg puisque nous voulons utiliser des données que nous pouvons comparer entre les groupes. La majorité des individus inclus dans l'analyse étaient des patients atteints de la FK (35 patients atteints de la FK sur 59 participants). Comme mentionné précédemment dans la discussion, la régulation de leur glycémie est anormale et, pour cette raison, il est possible que l'association entre la glycémie et la MG n'était pas présente chez ces patients et n'était pas observée dans les analyses statistiques. Il est aussi possible qu'avec la taille de l'échantillon, les patients atteints de la FK ne présentent pas une variabilité assez importante de la dépense énergétique ou de la composition corporelle pour explorer de façon satisfaisante ces associations.

Ainsi, comme anticipé, la proportion de l'énergie provenant des glucides influençait les fluctuations glycémiques alors que les proportions d'énergie provenant des lipides et des protéines, la composition corporelle et les composantes de la dépense énergétique n'affectaient pas celles-ci. Un échantillon plus important renforcera la validité de nos observations qui devront, de toutes les façons, être confirmées par une étude d'intervention, par exemple un programme d'exercice ou une intervention nutritionnelle.

5.5 L'association entre l'inflammation et les fonctions pulmonaires

Considérant que des études ont démontré que la proportion de lymphocytes T_{reg} et que les niveaux d'IL-17A du sang périphérique sont associés aux VEMS (236, 283), nous avons pensé qu'il y aurait des associations entre les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A, la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 et les fonctions pulmonaires. Cependant, nous n'avons pas observé d'association entre le VEMS des patients atteints de la FK et les proportions de ces lymphocytes produisant ces deux cytokines. Il faut noter qu'il n'y avait que 20 patients (et 16 patients pour les T_{reg} produisant de l'IL-10) pour lesquels nous avons des données de VEMS pour la même année durant laquelle ils ont participé à l'étude. Ainsi,

conduire cette même analyse avec un nombre plus élevé de participants pourrait être intéressant. De plus, quantifier la proportion de lymphocytes T_{reg} et Th17 produisant de l'IL-17A et la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 immédiatement après le prélèvement sanguin comme Anil et ses collaborateurs (236) ou dans les crachats des voies respiratoires serait également pertinent à réaliser au lieu d'incuber les lymphocytes pour 24 ou 48 heures.

Les fonctions pulmonaires des patients atteints de la FK n'étaient pas négativement associées aux proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A ainsi que la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10. Par contre, une autre technique, telle que la quantification des proportions tout juste après un prélèvement serait à envisager pour vérifier l'association entre les proportions de lymphocytes T_{reg} et Th17 produisant de l'IL-17A de celle des T_{reg} produisant de l'IL-10 et le VEMS.

5.6 Limites de l'étude

Cette étude comporte plusieurs limites. D'abord, notre devis expérimental transversal nous ne permettait pas de constater si une diminution des fonctions pulmonaires avant l'apparition du DAFK est associée à un changement dans la proportion de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A. Par contre, notre étude est une première étape pour comprendre l'impact des fluctuations glycémiques sur l'IL-17A chez des patients atteints de la FK NGT, IGT et avec le DAFK.

Ensuite, il était impossible de mesurer les niveaux d'IL-17A plasmatique, et, donc, de vérifier l'effet des fluctuations glycémiques directement sur les niveaux d'IL-17A *in vivo*. Compte tenu du fait que les niveaux d'IL-17A étaient indétectables avec un ELISA très sensible, il est possible que les niveaux d'IL-17A dans le sang périphérique des patients atteints de la FK n'ont pas de véritable impact clinique sur la santé des ces derniers et l'IL-17A se retrouverait plutôt dans les poumons.

De plus, nous avons inclus des patients atteints de la FK cliniquement stables et avec des IMC normaux. Bien que nous ayons inclus quatre patients atteints de la FK dans différents groupes de tolérances au glucose en attente de greffe pulmonaire, nous ne pouvons généraliser nos résultats à tous les patients atteints de la FK incluant ceux en surinfection, en attente de greffe pulmonaire ou en état de malnutrition. Néanmoins, en recherche clinique, cela expose à plusieurs facteurs confondants dont la prise de stéroïdes, tels que le prednisone, pour traiter une surinfection. Par contre, ce médicament augmente également la glycémie, donc, il introduit un biais (284).

Aussi, les résultats de la cytométrie en flux n'étaient pas disponibles pour tous les participants de l'étude. Nous avons fait des expériences pour tenter de comprendre ce qui pouvait nous permettre d'obtenir des populations de cellules FoxP3⁺ et FoxP3⁻ claires avec certains participants et dans certaines conditions contrairement aux autres. Par contre, les expériences ont seulement permis de conclure que le clone de l'anticorps de FoxP3 utilisé affectait les résultats de la cytométrie en flux. Cette raison n'est pas suffisante pour expliquer tous les résultats que nous n'avons pas inclus. Il est possible que les tampons de perméabilisation et de fixation utilisés pour le FoxP3 n'aient pas toujours été efficaces et n'aient pas permis aux anticorps de se rendre au noyau de la cellule. Une étude de 2009 a démontré que l'efficacité du marquage de FoxP3 dépend de l'anticorps couplé au fluorochrome choisi ainsi que les tampons utilisés (285). Donc, il est possible que la combinaison de l'anticorps et des tampons choisis ne permettait pas un marquage adéquat de FoxP3 pour tous les participants et toutes les conditions. L'optimisation de ce type d'expérience était difficile avec des sujets humains puisque la répétition du même protocole d'expérience n'est généralement pas possible.

Finalement, nous n'avons pas réalisé des essais de l'activité de suppression des lymphocytes T_{reg} *ex vivo* afin de vérifier si ces cellules maintenaient leur capacité d'atténuer les réponses inflammatoires excessives dans le DAFK. Nous savons que les lymphocytes T_{reg}

des patients atteints de la FK et les sujets sains étaient dysfonctionnels puisqu'ils produisaient la cytokine pro-inflammatoire IL-17A. Pour confirmer cette constatation, la mesure, par exemple, de la capacité des T_{reg} à atténuer la prolifération des cellules $CD4^+CD25^-$ aurait été suffisante (286).

5.7 Études futures

Le design expérimental de cette thèse n'était pas optimal pour comprendre si les fluctuations glycémiques influencent les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A chez les patients atteints de la FK et les sujets sains. Malgré les résultats majoritairement négatifs de cette thèse, quelques études futures pourraient être menées pour nous permettre de comprendre si l'IL-17A est impliquée dans le DAFK.

Tout d'abord, mesurer les proportions de Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A et la proportion de T_{reg} produisant de l'IL-10 directement du sang périphérique sans incuber les lymphocytes serait utile puisque nous savons que l'incubation avec différentes concentrations de glucose n'affecte pas la proportion de lymphocytes produisant de l'IL-17A ni d'IL-10 et que l'incubation pour 24 ou 48 heures influence seulement la proportion de Th17 produisant de l'IL-17A. D'ailleurs, l'ajout d'un autre marqueur des lymphocytes Th17, comme ROR γ (287), permettrait de s'assurer que seulement les lymphocytes Th17 sont isolés durant la cytométrie. Une autre piste de solution mènerait vers la mesure des niveaux d'IL-17A dans les échantillons de crachats des patients atteints de la FK par ELISA très sensible étant donné que cette cytokine joue un rôle important dans l'inflammation pulmonaire dans la FK (18-23, 210). De plus, mesurer l'ARN messager d'IL-17A par la réaction en chaîne par polymérase quantitative (*Quantitative-PCR*) serait également pertinent. Aussi, on pourrait stimuler les lymphocytes T_{reg} d'autres façons, comme avec de l'ionomycine ou des billes $CD3^+/CD28^+$ (286), pour augmenter leur production d'IL-17A surtout par les patients atteints de la FK. Il est important de noter que d'autres expériences doivent être réalisées pour comprendre

comment les tampons de fixation et de perméabilisation ou les anticorps utilisés affectent la séparation des populations FoxP3⁻ et FoxP3⁺ par cytométrie en flux.

Ensuite, inclure des patients atteints de la FK plus malade (malnutrition, surinfection) serait également intéressant. Par contre, il faudrait contrôler les analyses statistiques en créant différents groupes de patients (par exemple : patients en surinfection, patients en état de malnutrition, patients stables) parce que ces patients ont des conditions pouvant affecter l'inflammation.

De plus, une étude prospective pour déterminer si un changement des proportions de T_{reg} et Th17 produisant de l'IL-17A est associé à la chute accélérée des fonctions pulmonaires avant le développement du DAFK serait vraiment intéressante. Dans celle-ci, les patients pourraient également porter un CGMS. En 2010, une étude a démontré que les enfants non-diabétiques atteints de la FK avec des pics glycémiques >11.1 mmol/L durant le port du CGMS avaient plus de chance de développer une intolérance au glucose (12). Donc, la vérification de cette constatation chez les patients adultes NGT ayant des pics de glycémies >11.1 mmol/L serait pertinente. De plus, une étude par O'Riordan *et al.* a comparé le CGMS avec l'HGPO simultanément chez des enfants et elle a démontré qu'il n'y avait que 0.81 mmol/L de glucose de différence entre les résultats des deux méthodes et que les valeurs de glucose obtenues des deux étaient bien corrélées (288). Donc, il serait important de comparer ces deux méthodes dans une cohorte d'adultes atteints de la FK dans différentes catégories de tolérance au glucose et, éventuellement, trouver des valeurs diagnostiques avec le CGMS pour détecter le DAFK. Cette méthode est plus onéreuse, mais donne beaucoup plus d'informations qu'une HGPO sur la régulation de la glycémie à la suite des repas, les hyperglycémies et les fluctuations glycémiques néfastes pour la santé (119, 120).

6. Conclusion

Les résultats les plus marquants de cette présente thèse sont que les patients atteints de la FK, de tous les groupes de tolérance au glucose, avaient définitivement plus de fluctuations glycémiques et d'hyperglycémie comparativement aux sujets sains, mais que celles-ci n'étaient pas associées aux proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A dans nos conditions expérimentales. De plus, seulement la proportion d'énergie provenant des glucides ingérés affectait modestement les fluctuations glycémiques.

Il existe probablement un mécanisme, impliquant l'insuline, pour contrer la variabilité glycémique chez les patients toujours NGT. Il reste, par contre, à explorer la dynamique entre le glucose et l'insuline, dans un contexte ambulatoire, avant le développement de l'intolérance au glucose afin de déterminer si l'insuline joue un rôle compensatoire pour les patients NGT et pour quelles raisons la sécrétion d'insuline ne réussit plus à gérer les glycémies correctement pour les patients IGT et DAFK. La technologie permettant une mesure ambulatoire de l'insuline n'est pas actuellement disponible.

Même si nous n'avons pas observé l'impact des fluctuations glycémiques sur les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A dans nos conditions expérimentales, l'hyperglycémie et les fluctuations glycémiques restent probablement néfastes pour la santé puisqu'elles augmentent le stress oxydatif et, en conséquence, l'inflammation (120). L'hyperglycémie est, de plus, associée aux complications microvasculaires du diabète dont la rétinopathie, la neuropathie et la néphropathie (93). Ainsi, il est probablement important de diminuer celles-ci dans la FK, une maladie associée à un niveau plus élevé de stress oxydatif (156). Si la réduction des fluctuations glycémiques a un impact, elle pourrait être positive pour réduire les complications microvasculaires et/ou améliorer les fonctions pulmonaires. Il est important de noter que la DAFK peut simplement être une conséquence et pas une cause de la dégradation de l'état de santé du patient atteint de la FK marquée par une

diminution accélérée des fonctions pulmonaires. Dans ce cas, les patients plus malades ayant une diminution accélérée des fonctions pulmonaires serait aussi plus susceptibles de développer le DAFK.

Une façon de diminuer les fluctuations glycémiques chez les patients atteints de la FK serait de changer la proportion d'énergie provenant des glucides ingérés puisqu'elle affecte faiblement les fluctuations glycémiques. Par ailleurs, réévaluer la recommandation de 40-50% de l'énergie provenant des glucides serait nécessaire afin d'éviter l'hyperglycémie et les fluctuations glycémiques le plus possible. D'ailleurs, plus de 50% des patients atteints de la FK de notre étude n'ingéraient pas la proportion suggérée d'énergie provenant des glucides. Trente-quatre pourcents consommaient plus de 50% de leur énergie quotidienne en glucides, alors que 17% en consommaient moins de 40% de leur énergie quotidienne (résultats non montrés). Ainsi, diminuer la proportion de l'énergie provenant des glucides serait envisageable tout en considérant qu'une diète équilibrée est à privilégier puisqu'une proportion trop importante d'énergie provenant des lipides a aussi des effets néfastes pour la santé comme l'obésité, par exemple (289).

De plus, les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A mis en culture n'étaient pas associées avec les fluctuations glycémiques et elles étaient semblables entre les sujets sains et les patients atteints de la FK. Par contre, plusieurs études ont démontré un rôle pour l'IL-17A dans l'inflammation pulmonaire dans la FK (18-23, 210), donc, il serait intéressant d'investiguer les niveaux de cette cytokine et les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} la produisant dans les poumons des patients avec le DAFK afin de vérifier si elle peut être impliquée dans cette complication de la FK.

Pour conclure, les fluctuations glycémiques et l'hyperglycémie étaient présentes chez les patients atteints de la FK et elles étaient faiblement modulées par la quantité d'énergie provenant des glucides de l'alimentation. Aussi, les proportions de lymphocytes Th17 et T_{reg} produisant de l'IL-17A dans nos conditions expérimentales n'étaient pas affectées par les

concentrations de glucose dans les milieux de culture ni par les fluctuations glycémiques *in vivo* pour les sujets sains et les patients atteints de la FK.

Bibliographie

1. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, et al. *Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping*. Science. 1989;245(4922):1059-65.
2. Moran A, Brunzell C, Cohen RC, Katz M, Marshall BC, Onady G, et al. *Clinical care guidelines for cystic fibrosis-related diabetes: a position statement of the American Diabetes Association and a clinical practice guideline of the Cystic Fibrosis Foundation, endorsed by the Pediatric Endocrine Society*. Diabetes Care. 2010;33(12):2697-708.
3. Stecenko AA, Moran A. *Update on cystic fibrosis-related diabetes*. Current Opinion in Pulmonary Medicine. 2010;16(6):611-5.
4. Lippe BM, Sperling MA, Dooley RR. *Pancreatic alpha and beta cell functions in cystic fibrosis*. The Journal of Pediatrics. 1977;90(5):751-5.
5. Lanng S, Thorsteinsson B, Roder ME, Orskov C, Holst JJ, Nerup J, et al. *Pancreas and gut hormone responses to oral glucose and intravenous glucagon in cystic fibrosis patients with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance*. Acta Endocrinologica. 1993;128(3):207-14.
6. Moran A, Diem P, Klein DJ, Levitt MD, Robertson RP. *Pancreatic endocrine function in cystic fibrosis*. The Journal of Pediatrics. 1991;118(5):715-23.
7. Cucinotta D, Conti Nibali S, Arrigo T, Di Benedetto A, Magazzu G, Di Cesare E, et al. *Beta cell function, peripheral sensitivity to insulin and islet cell autoimmunity in cystic fibrosis patients with normal glucose tolerance*. Hormone Research. 1990;34(1):33-8.
8. De Schepper J, Hachimi-Idrissi S, Smitz J, Dab I, Loeb H. *First-phase insulin release in adult cystic fibrosis patients: correlation with clinical and biological parameters*. Hormone Research. 1992;38(5-6):260-3.
9. Costa M, Potvin S, Hammana I, Malet A, Berthiaume Y, Jeanneret A, et al. *Increased glucose excursion in cystic fibrosis and its association with a worse clinical status*. Journal of Cystic Fibrosis : Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2007;6(6):376-83.

10. Lanng S, Thorsteinsson B, Nerup J, Koch C. *Influence of the development of diabetes mellitus on clinical status in patients with cystic fibrosis*. European Journal of Pediatrics. 1992;151(9):684-7.
11. Stalvey MS, Brusko TM, Mueller C, Wasserfall CH, Schatz DA, Atkinson MA, et al. *CFTR mutations impart elevated immune reactivity in a murine model of cystic fibrosis related diabetes*. Cytokine. 2008;44(1):154-9.
12. Schiaffini R, Brufani C, Russo B, Fintini D, Migliaccio A, Pecorelli L, et al. *Abnormal glucose tolerance in children with cystic fibrosis: the predictive role of continuous glucose monitoring system*. European Journal of Endocrinology / European Federation of Endocrine Societies. 2010;162(4):705-10.
13. Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT. *Conventional measures underestimate glycaemia in cystic fibrosis patients*. Diabetic Medicine : a Journal of the British Diabetic Association. 2004;21(7):691-6.
14. Maciver NJ, Jacobs SR, Wieman HL, Wofford JA, Coloff JL, Rathmell JC. *Glucose metabolism in lymphocytes is a regulated process with significant effects on immune cell function and survival*. Journal of Leukocyte Biology. 2008;84(4):949-57.
15. Mueller C, Braag SA, Keeler A, Hodges C, Drumm M, Flotte TR. *Lack of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator in CD3+ lymphocytes leads to aberrant cytokine secretion and hyperinflammatory adaptive immune responses*. American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology. 2011;44(6):922-9.
16. McDonald TV, Nghiem PT, Gardner P, Martens CL. *Human lymphocytes transcribe the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene and exhibit CF-defective cAMP-regulated chloride current*. The Journal of Biological Chemistry. 1992;267(5):3242-8.
17. Lubberts E. *The role of IL-17 and family members in the pathogenesis of arthritis*. Current Opinion in Investigational Drugs. 2003;4(5):572-7.
18. Tan HL, Regamey N, Brown S, Bush A, Lloyd CM, Davies JC. *The Th17 pathway in cystic fibrosis lung disease*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2011;184(2):252-8.
19. McAllister F, Henry A, Kreindler JL, Dubin PJ, Ulrich L, Steele C, et al. *Role of IL-17A, IL-17F, and the IL-17 receptor in regulating growth-related oncogene-alpha and*

- granulocyte colony-stimulating factor in bronchial epithelium: implications for airway inflammation in cystic fibrosis*. Journal of Immunology. 2005;175(1):404-12.
20. Roussel L, Rousseau S. *IL-17 primes airway epithelial cells lacking functional Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator (CFTR) to increase NOD1 responses*. Biochemical and Biophysical Research Communications. 2010;391(1):505-9.
 21. Decraene A, Willems-Widyastuti A, Kasran A, De Boeck K, Bullens DM, Dupont LJ. *Elevated expression of both mRNA and protein levels of IL-17A in sputum of stable Cystic Fibrosis patients*. Respiratory Research. 2010;11:177.
 22. Brodlie M, McKean MC, Johnson GE, Anderson AE, Hilkens CM, Fisher AJ, et al. *Raised interleukin-17 is immunolocalised to neutrophils in cystic fibrosis lung disease*. The European Respiratory Journal. 2011;37(6):1378-85.
 23. Mizunoe S, Shuto T, Suzuki S, Matsumoto C, Watanabe K, Ueno-Shuto K, et al. *Synergism between interleukin (IL)-17 and Toll-like receptor 2 and 4 signals to induce IL-8 expression in cystic fibrosis airway epithelial cells*. Journal of Pharmacological Sciences. 2012;118(4):512-20.
 24. Emamaullee JA, Davis J, Merani S, Toso C, Elliott JF, Thiesen A, et al. *Inhibition of Th17 cells regulates autoimmune diabetes in NOD mice*. Diabetes. 2009;58(6):1302-11.
 25. Wang M, Yang L, Sheng X, Chen W, Tang H, Sheng H, et al. *T-cell vaccination leads to suppression of intrapancreatic Th17 cells through Stat3-mediated RORgammat inhibition in autoimmune diabetes*. Cell Research. 2011;21(9):1358-69.
 26. Yaochite JN, Caliari-Oliveira C, Davanso MR, Carlos D, Malmegrim KC, Cardoso CR, et al. *Dynamic changes of the Th17/Tc17 and regulatory T cell populations interfere in the experimental autoimmune diabetes pathogenesis*. Immunobiology. 2013;218(3):338-52.
 27. Honkanen J, Nieminen JK, Gao R, Luopajarvi K, Salo HM, Ilonen J, et al. *IL-17 immunity in human type 1 diabetes*. Journal of Immunology. 2010;185(3):1959-67.
 28. Arif S, Moore F, Marks K, Bouckenooghe T, Dayan CM, Planas R, et al. *Peripheral and islet interleukin-17 pathway activation characterizes human autoimmune diabetes and promotes cytokine-mediated beta-cell death*. Diabetes. 2011;60(8):2112-9.

29. Kuriya G, Uchida T, Akazawa S, Kobayashi M, Nakamura K, Satoh T, et al. *Double deficiency in IL-17 and IFN-gamma signalling significantly suppresses the development of diabetes in the NOD mouse.* Diabetologia. 2013;56(8):1773-80.
30. Lee IF, Wang X, Hao J, Akhoundsadegh N, Chen L, Liu L, et al. *B7-H4.Ig inhibits the development of type 1 diabetes by regulating Th17 cells in NOD mice.* Cellular Immunology. 2013;282(1):1-8.
31. Jagannathan-Bogdan M, McDonnell ME, Shin H, Rehman Q, Hasturk H, Apovian CM, et al. *Elevated proinflammatory cytokine production by a skewed T cell compartment requires monocytes and promotes inflammation in type 2 diabetes.* Journal of Immunology. 2011;186(2):1162-72.
32. Zeng C, Shi X, Zhang B, Liu H, Zhang L, Ding W, et al. *The imbalance of Th17/Th1/Tregs in patients with type 2 diabetes: relationship with metabolic factors and complications.* Journal of Molecular Medicine. 2012;90(2):175-86.
33. Louten J, Boniface K, de Waal Malefyt R. *Development and function of TH17 cells in health and disease.* The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2009;123(5):1004-11.
34. Marwaha AK, Crome SQ, Panagiotopoulos C, Berg KB, Qin H, Ouyang Q, et al. *Cutting edge: Increased IL-17-secreting T cells in children with new-onset type 1 diabetes.* Journal of Immunology. 2010;185(7):3814-8.
35. Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. *How regulatory T cells work.* Nature Reviews Immunology. 2008;8(7):523-32.
36. Rodbard D. *Interpretation of continuous glucose monitoring data: glycemic variability and quality of glycemic control.* Diabetes Technology & Therapeutics. 2009;11 Suppl 1:S55-67.
37. Andersen DH. *Celiac syndrome III.* American Journal of Diseases of Children. 1944;70:100-13.
38. West JR, Di Sant'Agnese PA. *Studies of pulmonary function in cystic fibrosis of the pancreas.* AMA American Journal of Diseases of Children. 1953;86(4):496-8.
39. Di Sant'Agnese PA. *The pulmonary manifestations of fibrocystic disease of the pancreas.* Diseases of the Chest. 1955;27(6):654-67.

40. Gibson LE, Cooke RE. *A test for concentration of electrolytes in sweat in cystic fibrosis of the pancreas utilizing pilocarpine by iontophoresis*. Pediatrics. 1959;23(3):545-9.
41. Farrell PM, Rosenstein BJ, White TB, Accurso FJ, Castellani C, Cutting GR, et al. *Guidelines for diagnosis of cystic fibrosis in newborns through older adults: Cystic Fibrosis Foundation consensus report*. The Journal of Pediatrics. 2008;153(2):S4-S14.
42. Andersen DH, Hodges RG. *Celiac syndrome; genetics of cystic fibrosis of the pancreas, with a consideration of etiology*. American Journal of Diseases of Children. 1946;72:62-80.
43. Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, et al. *Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis*. Science. 1989;245(4922):1073-80.
44. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, et al. *Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA*. Science. 1989;245(4922):1066-73.
45. Davis PB. *Cystic fibrosis since 1938*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2006;173(5):475-82.
46. Fibrose kystique Canada [site Internet]. Toronto ON, Canada : Fibrose kystique Canada; c2012 [cité 30 juillet 2014]. Disponible à : www.cysticfibrosis.ca
47. Fibrose kystique Québec [site Internet]. Montréal, QC, Canada : Fibrose kystique Québec; c2011 [cité 30 juillet 2014]. Disponible à : www.fibrosekystiquequebec.com
48. Krasnov KV. *Functional studies or rare missense mutations facilitate interpretation of genotype-phenotype relationships* [thèse Ph.D]. Baltimore, MD, États-Unis: John Hopkins University; 2008.
49. Rogan MP, Stoltz DA, Hornick DB. *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator intracellular processing, trafficking, and opportunities for mutation-specific treatment*. Chest. 2011;139(6):1480-90.
50. Reddy MM, Quinton PM. *Selective activation of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator Cl⁻ and HCO₃⁻ conductances*. JOP : Journal of the Pancreas. 2001;2(4 Suppl):212-8.
51. Sferra TJ, Collins FS. *The molecular biology of cystic fibrosis*. Annual Review of Medicine. 1993;44:133-44.

52. Guggino WB, Stanton BA. *New insights into cystic fibrosis: molecular switches that regulate CFTR*. Nature Reviews Molecular Cell Biology. 2006;7(6):426-36.
53. Lyczak JB, Cannon CL, Pier GB. *Lung infections associated with cystic fibrosis*. Clinical Microbiology Reviews. 2002;15(2):194-222.
54. Smith JJ, Travis SM, Greenberg EP, Welsh MJ. *Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid*. Cell. 1996;85(2):229-36.
55. Welsh MJ, Smith JJ. *cAMP stimulation of HCO₃⁻ secretion across airway epithelia*. JOP : Journal of the Pancreas. 2001;2(4 Suppl):291-3.
56. Pezzulo AA, Tang XX, Hoegger MJ, Alaiwa MH, Ramachandran S, Moninger TO, et al. *Reduced airway surface pH impairs bacterial killing in the porcine cystic fibrosis lung*. Nature. 2012;487(7405):109-13.
57. Stutts MJ, Canessa CM, Olsen JC, Hamrick M, Cohn JA, Rossier BC, et al. *CFTR as a cAMP-dependent regulator of sodium channels*. Science. 1995;269(5225):847-50.
58. Cohen-Cymbberknoh M, Shoseyov D, Kerem E. *Managing cystic fibrosis: strategies that increase life expectancy and improve quality of life*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2011;183(11):1463-71.
59. Berdiev BK, Qadri YJ, Benos DJ. *Assessment of the CFTR and ENaC association*. Molecular Biosystems. 2009;5(2):123-7.
60. Rogers GB, Hoffman LR, Doring G. *Novel concepts in evaluating antimicrobial therapy for bacterial lung infections in patients with cystic fibrosis*. Journal of Cystic Fibrosis : Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2011;10(6):387-400.
61. Ratjen F, McColley SA. *Update in cystic fibrosis 2011*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2012;185(9):933-6.
62. Quinton PM. *Cystic fibrosis: lessons from the sweat gland*. Physiology. 2007;22:212-25.
63. Moyer K, Balistreri W. *Hepatobiliary disease in patients with cystic fibrosis*. Current Opinion in Gastroenterology. 2009;25(3):272-8.
64. Widmaier EP, Raff H, Strang KT. *Vander's Human Physiology*. New York, États-Unis: McGraw-Hill; 2006.
65. Wilschanski M, Novak I. *The cystic fibrosis of exocrine pancreas*. Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine. 2013;3(5):a009746.

66. Freedman SD, Blanco P, Shea JC, Alvarez JG. *Mechanisms to explain pancreatic dysfunction in cystic fibrosis*. The Medical Clinics of North America. 2000;84(3):657-64, x.
67. Tizzano EF, Buchwald M. *CFTR expression and organ damage in cystic fibrosis*. Annals of Internal Medicine. 1995;123(4):305-8.
68. Ntimbane T, Comte B, Mailhot G, Berthiaume Y, Poitout V, Prentki M, et al. *Cystic fibrosis-related diabetes: from CFTR dysfunction to oxidative stress*. The Clinical Biochemist Reviews / Australian Association of Clinical Biochemists. 2009;30(4):153-77.
69. Kopelman H, Corey M, Gaskin K, Durie P, Weizman Z, Forstner G. *Impaired chloride secretion, as well as bicarbonate secretion, underlies the fluid secretory defect in the cystic fibrosis pancreas*. Gastroenterology. 1988;95(2):349-55.
70. Kopelman H, Durie P, Gaskin K, Weizman Z, Forstner G. *Pancreatic fluid secretion and protein hyperconcentration in cystic fibrosis*. The New England Journal of Medicine. 1985;312(6):329-34.
71. Taylor CJ, Aswani N. *The pancreas in cystic fibrosis*. Paediatric Respiratory Reviews. 2002;3(1):77-81.
72. Durno C, Corey M, Zielenski J, Tullis E, Tsui LC, Durie P. *Genotype and phenotype correlations in patients with cystic fibrosis and pancreatitis*. Gastroenterology. 2002;123(6):1857-64.
73. Colombo C. *Liver disease in cystic fibrosis*. Current Opinion in Pulmonary Medicine. 2007;13(6):529-36.
74. Parisi GF, Di Dio G, Franzonello C, Gennaro A, Rotolo N, Lionetti E, et al. *Liver disease in cystic fibrosis: an update*. Hepatitis Monthly. 2013;13(8):e11215.
75. Colombo C, Ellemunter H, Houwen R, Munck A, Taylor C, Wilschanski M, et al. *Guidelines for the diagnosis and management of distal intestinal obstruction syndrome in cystic fibrosis patients*. Journal of Cystic Fibrosis : Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2011;10 Suppl 2:S24-8.
76. Gregory PC. *Gastrointestinal pH, motility/transit and permeability in cystic fibrosis*. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 1996;23(5):513-23.

77. Smith VV, Schappi MG, Bisset WM, Kiparissi F, Jaffe A, Milla PJ, et al. *Lymphocytic leiomyositis and myenteric ganglionitis are intrinsic features of cystic fibrosis: studies in distal intestinal obstruction syndrome and meconium ileus*. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 2009;49(1):42-51.
78. Chen H, Ruan YC, Xu WM, Chen J, Chan HC. *Regulation of male fertility by CFTR and implications in male infertility*. Human Reproduction Update. 2012;18(6):703-13.
79. Oppenheimer EA, Case AL, Esterly JR, Rothberg RM. *Cervical mucus in cystic fibrosis: a possible cause of infertility*. American Journal of Obstetrics and Gynecology. 1970;108(4):673-4.
80. Koitschev A, Wolff A, Koitschev C, Preyer S, Ziebach R, Stern M. [*Routine otorhinolaryngological examination in patients with cystic fibrosis*]. Hno. 2006;54(5):361-4, 6, 8.
81. Matthews LA, Doershuk CF, Stern RC, Resnick MI. *Urolithiasis and cystic fibrosis*. The Journal of Urology. 1996;155(5):1563-4.
82. Rowntree RK, Harris A. *The phenotypic consequences of CFTR mutations*. Annals of Human Genetics. 2003;67(Pt 5):471-85.
83. Geborek A, Hjelte L. *Association between genotype and pulmonary phenotype in cystic fibrosis patients with severe mutations*. Journal of Cystic Fibrosis : Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2011;10(3):187-92.
84. Mall MA, Elborn JS. *Cystic Fibrosis*. Sheffield, UK: European Respiratory Society; 2014.
85. Welsh MJ, Smith AE. *Molecular mechanisms of CFTR chloride channel dysfunction in cystic fibrosis*. Cell. 1993;73(7):1251-4.
86. Zielenski J. *Genotype and phenotype in cystic fibrosis*. Respiration; International Review of Thoracic Diseases. 2000;67(2):117-33.
87. *Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium*. The New England Journal of Medicine. 1993;329(18):1308-13.
88. Guillot L, Beucher J, Tabary O, Le Rouzic P, Clement A, Corvol H. *Lung disease modifier genes in cystic fibrosis*. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. 2014;52:83-93.

89. Dodge JA, Morrison G. *Diabetes mellitus in cystic fibrosis: a review*. Journal of the Royal Society of Medicine. 1992;85 Suppl 19:25-8.
90. *Centers for Disease Control and Prevention (CDC)* [site Internet]. Atlanta, GA, E-U: CDC; [cité 10 septembre 2012]. Disponible à : <http://cdc.gov>.
91. Diabète Québec [site Internet]. Montréal, QC, Canada: Diabète Québec; [mise à jour août 2012, cité 10 septembre 2012]. Disponible à: <http://www.diabete.qc.ca>.
92. Aronoff SL, Berkowitz K, Shreiner B, Want L. *Glucose metabolism and regulation : beyond insulin and glucagon*. Diabetes Spectrum. 2004;17(3):183-90.
93. Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, et al. *Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis*. Diabetes & Metabolism. 2005;31(3 Pt 1):221-32.
94. Hameed S, Morton JR, Jaffe A, Field PI, Belessis Y, Yoong T, et al. *Early glucose abnormalities in cystic fibrosis are preceded by poor weight gain*. Diabetes Care. 2010;33(2):221-6.
95. Milner AD. *Blood glucose and serum insulin levels in children with cystic fibrosis*. Archives of Disease in Childhood. 1969;44(235):351-5.
96. Soejima K, Landing BH. *Pancreatic islets in older patients with cystic fibrosis with and without diabetes mellitus: morphometric and immunocytologic studies*. Pediatric Pathology / affiliated with the International Paediatric Pathology Association. 1986;6(1):25-46.
97. Iannucci A, Mukai K, Johnson D, Burke B. *Endocrine pancreas in cystic fibrosis: an immunohistochemical study*. Human Pathology. 1984;15(3):278-84.
98. Abdul-Karim FW, Dahms BB, Velasco ME, Rodman HM. *Islets of Langerhans in adolescents and adults with cystic fibrosis. A quantitative study*. Archives of Pathology & Laboratory Medicine. 1986;110(7):602-6.
99. Couce M, O'Brien TD, Moran A, Roche PC, Butler PC. *Diabetes mellitus in cystic fibrosis is characterized by islet amyloidosis*. The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism. 1996;81(3):1267-72.
100. Olivier AK, Yi Y, Sun X, Sui H, Liang B, Hu S, et al. *Abnormal endocrine pancreas function at birth in cystic fibrosis ferrets*. The Journal of Clinical Investigation. 2012;122(10):3755-68.

- 101.Milla CE, Warwick WJ, Moran A. *Trends in pulmonary function in patients with cystic fibrosis correlate with the degree of glucose intolerance at baseline*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2000;162(3 Pt 1):891-5.
- 102.Moran A, Becker D, Casella SJ, Gottlieb PA, Kirkman MS, Marshall BC, et al. *Epidemiology, pathophysiology, and prognostic implications of cystic fibrosis-related diabetes: a technical review*. Diabetes Care. 2010;33(12):2677-83.
- 103.Moran A, Pyzdrowski KL, Weinreb J, Kahn BB, Smith SA, Adams KS, et al. *Insulin sensitivity in cystic fibrosis*. Diabetes. 1994;43(8):1020-6.
- 104.Lanng S, Thorsteinsson B, Roder ME, Nerup J, Koch C. *Insulin sensitivity and insulin clearance in cystic fibrosis patients with normal and diabetic glucose tolerance*. Clinical Endocrinology. 1994;41(2):217-23.
- 105.Laguna TA, Nathan BM, Moran A. *Managing diabetes in cystic fibrosis*. Diabetes, Obesity & Metabolism. 2010;12(10):858-64.
- 106.Moran A, Doherty L, Wang X, Thomas W. *Abnormal glucose metabolism in cystic fibrosis*. The Journal of Pediatrics. 1998;133(1):10-7.
- 107.Hardin DS, Leblanc A, Marshall G, Seilheimer DK. *Mechanisms of insulin resistance in cystic fibrosis*. American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism. 2001;281(5):E1022-8.
- 108.Kahn SE, Hull RL, Utzschneider KM. *Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes*. Nature. 2006;444(7121):840-6.
- 109.Nathan DM. *Long-term complications of diabetes mellitus*. The New England Journal of Medicine. 1993;328(23):1676-85.
- 110.Fox CS, Coady S, Sorlie PD, D'Agostino RB, Sr., Pencina MJ, Vasan RS, et al. *Increasing cardiovascular disease burden due to diabetes mellitus: the Framingham Heart Study*. Circulation. 2007;115(12):1544-50.
111. *Canadian Diabetes Association (CDA)* [site Internet]. Toronto, ON, Canada; CDA; c2012 [cité 10 septembre 2012]. Disponible à: <http://www.diabetes.ca>.
- 112.Diabetes.co.uk [site Internet]. Coventry, R-U; [cité 25 juillet 2014]. Disponible à: diabetes.co.uk.

113. Godbout A, Hammana I, Potvin S, Mainville D, Rakel A, Berthiaume Y, et al. *No relationship between mean plasma glucose and glycated haemoglobin in patients with cystic fibrosis-related diabetes*. *Diabetes & Metabolism*. 2008;34(6 Pt 1):568-73.
114. Anzeneder L, Kircher F, Feghelm N, Fischer R, Seissler J. *Kinetics of insulin secretion and glucose intolerance in adult patients with cystic fibrosis*. *Hormone and Metabolic Research*. 2011;43(5):355-60.
115. American Diabetes Association. *Diagnosis and classification of diabetes mellitus*. *Diabetes Care*. 2004;27 Suppl 1:S5-S10.
116. Monnier L, Mas E, Ginet C, Michel F, Villon L, Cristol JP, et al. *Activation of oxidative stress by acute glucose fluctuations compared with sustained chronic hyperglycemia in patients with type 2 diabetes*. *JAMA : the Journal of the American Medical Association*. 2006;295(14):1681-7.
117. Essers MA, Weijzen S, de Vries-Smits AM, Saarloos I, de Ruiter ND, Bos JL, et al. *FOXO transcription factor activation by oxidative stress mediated by the small GTPase Ral and JNK*. *The EMBO Journal*. 2004;23(24):4802-12.
118. Carpena E, Andreani G, Isani G. *Metallothionein functions and structural characteristics*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology : Organ of the Society for Minerals and Trace Elements*. 2007;21 Suppl 1:35-9.
119. Meugnier E, Faraj M, Rome S, Beauregard G, Michaut A, Pelloux V, et al. *Acute hyperglycemia induces a global downregulation of gene expression in adipose tissue and skeletal muscle of healthy subjects*. *Diabetes*. 2007;56(4):992-9.
120. Esposito K, Nappo F, Marfella R, Giugliano G, Giugliano F, Ciotola M, et al. *Inflammatory cytokine concentrations are acutely increased by hyperglycemia in humans: role of oxidative stress*. *Circulation*. 2002;106(16):2067-72.
121. Klonoff DC. *Continuous glucose monitoring: roadmap for 21st century diabetes therapy*. *Diabetes Care*. 2005;28(5):1231-9.
122. Daniel WW. *Biostatistics: A Foundation for Analysis in the Health Sciences*. 8th ed. Hoboken, NJ, États-Unis: John Wiley & Sons; 2005.
123. Kaiser J. *Personalized medicine. New cystic fibrosis drug offers hope, at a price*. *Science*. 2012;335(6069):645.

124. Kraemer R, Rudeberg A, Hadorn B, Rossi E. *Relative underweight in cystic fibrosis and its prognostic value*. *Acta Paediatrica Scandinavica*. 1978;67(1):33-7.
125. Sproul A, Huang N. *Growth Patterns in Children with Cystic Fibrosis*. *The Journal of Pediatrics*. 1964;65:664-76.
126. Pencharz PB, Durie PR. *Pathogenesis of malnutrition in cystic fibrosis, and its treatment*. *Clinical Nutrition*. 2000;19(6):387-94.
127. Corey M, McLaughlin FJ, Williams M, Levison H. *A comparison of survival, growth, and pulmonary function in patients with cystic fibrosis in Boston and Toronto*. *Journal of Clinical Epidemiology*. 1988;41(6):583-91.
128. Pedreira CC, Robert RG, Dalton V, Oliver MR, Carlin JB, Robinson P, et al. *Association of body composition and lung function in children with cystic fibrosis*. *Pediatric Pulmonology*. 2005;39(3):276-80.
129. Bell SC, Bowerman AM, Nixon LE, Macdonald IA, Elborn JS, Shale DJ. *Metabolic and inflammatory responses to pulmonary exacerbation in adults with cystic fibrosis*. *European Journal of Clinical Investigation*. 2000;30(6):553-9.
130. Organisation Mondiale de la Santé (OMS) [site Internet]. Genève, Suisse: OMS; [cité le 26 juillet]. Disponible à: <http://www.who.int>.
131. Stallings VA, Stark LJ, Robinson KA, Feranchak AP, Quinton H, Clinical Practice Guidelines on G, et al. *Evidence-based practice recommendations for nutrition-related management of children and adults with cystic fibrosis and pancreatic insufficiency: results of a systematic review*. *Journal of the American Dietetic Association*. 2008;108(5):832-9.
132. Pencharz PB, Berall G, Vaisman N, Corey M, Canny G. *Energy expenditure in children with cystic fibrosis*. *Lancet*. 1988;2(8609):513-4.
133. Steinkamp G, Drommer A, von der Hardt H. *Resting energy expenditure before and after treatment for Pseudomonas aeruginosa infection in patients with cystic fibrosis*. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1993;57(5):685-9.
134. Cystic Fibrosis Foundation [site Internet]. Bethesda, MD, États-Unis: Cystic Fibrosis Foundation; [cité 10 septembre 2014]. Disponible à: <http://cff.org>.

135. Roza AM, Shizgal HM. *The Harris Benedict equation reevaluated: resting energy requirements and the body cell mass*. The American Journal of Clinical Nutrition. 1984;40(1):168-82.
136. Donahoo WT, Levine JA, Melanson EL. *Variability in energy expenditure and its components*. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 2004;7(6):599-605.
137. Schutz Y. *The basis of direct and indirect calorimetry and their potentials*. Diabetes/Metabolism Reviews. 1995;11(4):383-408.
138. Levine JA. *Measurement of energy expenditure*. Public Health Nutrition. 2005;8(7A):1123-32.
139. Johannsen DL, Calabro MA, Stewart J, Franke W, Rood JC, Welk GJ. *Accuracy of armband monitors for measuring daily energy expenditure in healthy adults*. Medicine and Science in Sports and Exercise. 2010;42(11):2134-40.
140. St-Onge M, Mignault D, Allison DB, Rabasa-Lhoret R. *Evaluation of a portable device to measure daily energy expenditure in free-living adults*. The American Journal of Clinical Nutrition. 2007;85(3):742-9.
141. Ionescu AA, Nixon LS, Luzio S, Lewis-Jenkins V, Evans WD, Stone MD, et al. *Pulmonary function, body composition, and protein catabolism in adults with cystic fibrosis*. American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2002;165(4):495-500.
142. King SJ, Nyulasi IB, Strauss BJ, Kotsimbos T, Bailey M, Wilson JW. *Fat-free mass depletion in cystic fibrosis: associated with lung disease severity but poorly detected by body mass index*. Nutrition. 2010;26(7-8):753-9.
143. Francis KT. *Body-composition assessment using underwater weighing techniques*. Physical Therapy. 1990;70(10):657-62; discussion 62-3.
144. Mackie A, Hannan WJ, Tothill P. *An introduction to body composition models used in nutritional studies*. Clinical Physics and Physiological Measurement : an Official Journal of the Hospital Physicists' Association, Deutsche Gesellschaft für Medizinische Physik and the European Federation of Organisations for Medical Physics. 1989;10(4):297-310.

145. Norcross J, Van Loan MD. *Validation of fan beam dual energy x ray absorptiometry for body composition assessment in adults aged 18-45 years*. British Journal of Sports Medicine. 2004;38(4):472-6.
146. Bertin E, Ruiz JC, Mourot J, Peiniau P, Portha B. *Evaluation of dual-energy X-Ray absorptiometry for body-composition assessment in rats*. The Journal of Nutrition. 1998;128(9):1550-4.
147. Azcue M, Fried M, Pencharz PB. *Use of bioelectrical impedance analysis to measure total body water in patients with cystic fibrosis*. Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition. 1993;16(4):440-5.
148. Ziai S, Coriati A, Chabot K, Mailhot M, Richter MV, Rabasa-Lhoret R. *Agreement of bioelectric impedance analysis and dual-energy X-ray absorptiometry for body composition evaluation in adults with cystic fibrosis*. Journal of Cystic Fibrosis : Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2014.
149. King S, Wilson J, Kotsimbos T, Bailey M, Nyulasi I. *Body composition assessment in adults with cystic fibrosis: comparison of dual-energy X-ray absorptiometry with skinfolds and bioelectrical impedance analysis*. Nutrition. 2005;21(11-12):1087-94.
150. Maqbool A, Stallings VA. *Update on fat-soluble vitamins in cystic fibrosis*. Current Opinion in Pulmonary Medicine. 2008;14(6):574-81.
151. Worgall TS. *Lipid metabolism in cystic fibrosis*. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 2009;12(2):105-9.
152. Roulet M, Frascarolo P, Rappaz I, Pilet M. *Essential fatty acid deficiency in well nourished young cystic fibrosis patients*. European Journal of Pediatrics. 1997;156(12):952-6.
153. Hong S, Gronert K, Devchand PR, Moussignac RL, Serhan CN. *Novel docosatrienes and 17S-resolvins generated from docosahexaenoic acid in murine brain, human blood, and glial cells. Autacoids in anti-inflammation*. The Journal of Biological Chemistry. 2003;278(17):14677-87.
154. Serhan CN, Hong S, Gronert K, Colgan SP, Devchand PR, Mirick G, et al. *Resolvins: a family of bioactive products of omega-3 fatty acid transformation circuits initiated by aspirin treatment that counter proinflammation signals*. The Journal of Experimental Medicine. 2002;196(8):1025-37.

- 155.Freedman SD, Blanco PG, Zaman MM, Shea JC, Ollero M, Hopper IK, et al. *Association of cystic fibrosis with abnormalities in fatty acid metabolism*. The New England Journal of Medicine. 2004;350(6):560-9.
- 156.Galli F, Battistoni A, Gambari R, Pompella A, Bragonzi A, Pilolli F, et al. *Oxidative stress and antioxidant therapy in cystic fibrosis*. Biochimica et Biophysica Acta. 2012;1822(5):690-713.
- 157.Strandvik B. *Fatty acid metabolism in cystic fibrosis*. Prostaglandins, Leukotrienes, and Essential Fatty Acids. 2010;83(3):121-9.
- 158.Rayner RJ. *Fat-soluble vitamins in cystic fibrosis*. The Proceedings of the Nutrition Society. 1992;51(2):245-50.
- 159.de Pee S, Dary O. *Biochemical indicators of vitamin A deficiency: serum retinol and serum retinol binding protein*. The Journal of Nutrition. 2002;132(9 Suppl):2895S-901S.
- 160.Wolfenden LL, Judd SE, Shah R, Sanyal R, Ziegler TR, Tangpricha V. *Vitamin D and bone health in adults with cystic fibrosis*. Clinical Endocrinology. 2008;69(3):374-81.
- 161.McCauley LA, Thomas W, Laguna TA, Regelman WE, Moran A, Polgreen LE. *Vitamin D deficiency is associated with pulmonary exacerbations in children with cystic fibrosis*. Annals of the American Thoracic Society. 2014;11(2):198-204.
- 162.Damphousse V, Mailhot M, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R, Mailhot G. *Plasma zinc in adults with cystic fibrosis: correlations with clinical outcomes*. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology : Organ of the Society for Minerals and Trace Elements. 2014;28(1):60-4.
- 163.Medical Research Council (MRC) [site Internet]. London, R-U: MRC; [cité 27 juillet 2014]. Disponible à: <http://dapa-toolkit.mrc.ac.uk/index.html>.
- 164.Bingham SA, Gill C, Welch A, Cassidy A, Runswick SA, Oakes S, et al. *Validation of dietary assessment methods in the UK arm of EPIC using weighed records, and 24-hour urinary nitrogen and potassium and serum vitamin C and carotenoids as biomarkers*. International Journal of Epidemiology. 1997;26 Suppl 1:S137-51.
- 165.Dwyer J. *Modern Nutrition in Health and Disease*. 9th ed. Baltimore, MD, États-Unis: Willams and Wilkins; 1999.

166. Gillman MW, Hood MY, Moore LL, Singer MR. *Feasibility and acceptance of food records among inner-city fifth-grade students*. Journal of the American Dietetic Association. 1994;94(11):1311-3.
167. Brustad M, Skeie G, Braaten T, Slimani N, Lund E. *Comparison of telephone vs face-to-face interviews in the assessment of dietary intake by the 24 h recall EPIC SOFT program--the Norwegian calibration study*. European Journal of Clinical Nutrition. 2003;57(1):107-13.
168. Santé Canada [site Internet]. Ottawa, ON, Canada : Santé Canada; [cité 30 juillet 2014]. Disponible à : http://www.hc-sc.gc.ca/fn-an/nutrition/reference/table/ref_macronutr_tbl-eng.php.
169. Moran A, Pekow P, Grover P, Zorn M, Slovis B, Pilewski J, et al. *Insulin therapy to improve BMI in cystic fibrosis-related diabetes without fasting hyperglycemia: results of the cystic fibrosis related diabetes therapy trial*. Diabetes Care. 2009;32(10):1783-8.
170. Mozzillo E, Franzese A, Valerio G, Sepe A, De Simone I, Mazzarella G, et al. *One-year glargine treatment can improve the course of lung disease in children and adolescents with cystic fibrosis and early glucose derangements*. Pediatric Diabetes. 2009;10(3):162-7.
171. Arora SK, McFarlane SI. *The case for low carbohydrate diets in diabetes management*. Nutrition & Metabolism. 2005;2:16.
172. Hardin DS. *Pharmacotherapy of diabetes in cystic fibrosis patients*. Expert Opinion on Pharmacotherapy. 2010;11(5):771-8.
173. Pincikova T, Nilsson K, Moen IE, Fluge G, Hollsing A, Knudsen PK, et al. *Vitamin D deficiency as a risk factor for cystic fibrosis-related diabetes in the Scandinavian Cystic Fibrosis Nutritional Study*. Diabetologia. 2011;54(12):3007-15.
174. Chiu KC, Chu A, Go VL, Saad MF. *Hypovitaminosis D is associated with insulin resistance and beta cell dysfunction*. The American Journal of Clinical Nutrition. 2004;79(5):820-5.
175. Schneiderman JE, Wilkes DL, Atenafu EG, Nguyen T, Wells GD, Alarie N, et al. *Longitudinal relationship between physical activity and lung health in patients with cystic fibrosis*. The European Respiratory Journal. 2014;43(3):817-23.

- 176.Figueira FR, Umpierre D, Casali KR, Tetelbom PS, Henn NT, Ribeiro JP, et al. *Aerobic and combined exercise sessions reduce glucose variability in type 2 diabetes: crossover randomized trial*. PloS One. 2013;8(3):e57733.
- 177.Bhatt JM. *Treatment of pulmonary exacerbations in cystic fibrosis*. European Respiratory Review : an Official Journal of the European Respiratory Society. 2013;22(129):205-16.
- 178.Anton P, O'Connell J, O'Connell D, Whitaker L, O'Sullivan GC, Collins JK, et al. *Mucosal subepithelial binding sites for the bacterial chemotactic peptide, formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine (FMLP)*. Gut. 1998;42(3):374-9.
- 179.Strieter RM, Kunkel SL, Strandiford T. *Chemokines in the lung*. New York, NY, É-U: Marcel Dekker; 2003.
- 180.Hoiby N, Koch C. *Cystic fibrosis. 1. Pseudomonas aeruginosa infection in cystic fibrosis and its management*. Thorax. 1990;45(11):881-4.
- 181.Hayes E, Pohl K, McElvaney NG, Reeves EP. *The cystic fibrosis neutrophil: a specialized yet potentially defective cell*. Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis. 2011;59(2):97-112.
- 182.Ballmann M, Smyth A, Geller DE. *Therapeutic approaches to chronic cystic fibrosis respiratory infections with available, emerging aerosolized antibiotics*. Respiratory Medicine. 2011;105 Suppl 2:S2-8.
- 183.Eckford PD, Li C, Ramjeesingh M, Bear CE. *Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) potentiator VX-770 (ivacaftor) opens the defective channel gate of mutant CFTR in a phosphorylation-dependent but ATP-independent manner*. The Journal of Biological Chemistry. 2012;287(44):36639-49.
- 184.Shak S, Capon DJ, Hellmiss R, Marsters SA, Baker CL. *Recombinant human DNase I reduces the viscosity of cystic fibrosis sputum*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 1990;87(23):9188-92.
- 185.Pezzulo AA, Stoltz DA, Hornick DB, Durairaj L. *Inhaled hypertonic saline in adults hospitalised for exacerbation of cystic fibrosis lung disease: a retrospective study*. BMJ Open. 2012;2(2):e000407.

186. Donaldson SH, Bennett WD, Zeman KL, Knowles MR, Tarran R, Boucher RC. *Mucus clearance and lung function in cystic fibrosis with hypertonic saline*. The New England Journal of Medicine. 2006;354(3):241-50.
187. Suri R, Metcalfe C, Lees B, Grieve R, Flather M, Normand C, et al. *Comparison of hypertonic saline and alternate-day or daily recombinant human deoxyribonuclease in children with cystic fibrosis: a randomised trial*. Lancet. 2001;358(9290):1316-21.
188. Pryor JA. *Physiotherapy for airway clearance in adults*. The European Respiratory Journal. 1999;14(6):1418-24.
189. Moran A, Dunitz J, Nathan B, Saeed A, Holme B, Thomas W. *Cystic fibrosis-related diabetes: current trends in prevalence, incidence, and mortality*. Diabetes Care. 2009;32(9):1626-31.
190. Janeway CA, Jr., Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. *Immunobiology : The immune system*. New York, NY, États-Unis: Garland Science; 2001.
191. Hubeau C, Le Naour R, Abely M, Hinrasky J, Guenounou M, Gaillard D, et al. *Dysregulation of IL-2 and IL-8 production in circulating T lymphocytes from young cystic fibrosis patients*. Clinical and Experimental Immunology. 2004;135(3):528-34.
192. Azzawi M, Johnston PW, Majumdar S, Kay AB, Jeffery PK. *T lymphocytes and activated eosinophils in airway mucosa in fatal asthma and cystic fibrosis*. The American Review of Respiratory Disease. 1992;145(6):1477-82.
193. Schepers K, Arens R, Schumacher TN. *Dissection of cytotoxic and helper T cell responses*. Cellular and Molecular Life Sciences : CMLS. 2005;62(23):2695-710.
194. Awasthi A, Murugaiyan G, Kuchroo VK. *Interplay between effector Th17 and regulatory T cells*. Journal of Clinical Immunology. 2008;28(6):660-70.
195. Jager A, Kuchroo VK. *Effector and regulatory T-cell subsets in autoimmunity and tissue inflammation*. Scandinavian Journal of Immunology. 2010;72(3):173-84.
196. Starr C, Evers C, Starr L. *Biology today and tomorrow with physiology. 3rd ed*: Cengage Learning; 2009.
197. Hubeau C, Lorenzato M, Couetil JP, Hubert D, Dusser D, Puchelle E, et al. *Quantitative analysis of inflammatory cells infiltrating the cystic fibrosis airway mucosa*. Clinical and Experimental Immunology. 2001;124(1):69-76.

198. Pukhalsky AL, Shmarina GV, Kapranov NI, Kokarovtseva SN, Pukhalskaya D, Kashirskaja NJ. *Anti-inflammatory and immunomodulating effects of clarithromycin in patients with cystic fibrosis lung disease*. *Mediators of Inflammation*. 2004;13(2):111-7.
199. Hartl D, Griese M, Kappler M, Zissel G, Reinhardt D, Rebhan C, et al. *Pulmonary T(H)2 response in Pseudomonas aeruginosa-infected patients with cystic fibrosis*. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2006;117(1):204-11.
200. Roep BO, Peakman M. *Diabetogenic T lymphocytes in human Type 1 diabetes*. *Current Opinion in Immunology*. 2011;23(6):746-53.
201. Aujla SJ, Dubin PJ, Kolls JK. *Th17 cells and mucosal host defense*. *Seminars in Immunology*. 2007;19(6):377-82.
202. Dubin PJ, Kolls JK. *Th17 cytokines and mucosal immunity*. *Immunological Reviews*. 2008;226:160-71.
203. Lock C, Hermans G, Pedotti R, Brendolan A, Schadt E, Garren H, et al. *Gene-microarray analysis of multiple sclerosis lesions yields new targets validated in autoimmune encephalomyelitis*. *Nature Medicine*. 2002;8(5):500-8.
204. Rouvier E, Luciani MF, Mattei MG, Denizot F, Golstein P. *CTLA-8, cloned from an activated T cell, bearing AU-rich messenger RNA instability sequences, and homologous to a herpesvirus saimiri gene*. *Journal of Immunology*. 1993;150(12):5445-56.
205. Gaffen SL. *Recent advances in the IL-17 cytokine family*. *Current Opinion in Immunology*. 2011;23(5):613-9.
206. Nembrini C, Marsland BJ, Kopf M. *IL-17-producing T cells in lung immunity and inflammation*. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2009;123(5):986-94; quiz 95-6.
207. Chen Y, Thai P, Zhao YH, Ho YS, DeSouza MM, Wu R. *Stimulation of airway mucin gene expression by interleukin (IL)-17 through IL-6 paracrine/autocrine loop*. *The Journal of Biological Chemistry*. 2003;278(19):17036-43.
208. Dubin PJ, McAllister F, Kolls JK. *Is cystic fibrosis a TH17 disease?* *Inflammation Research : Official Journal of the European Histamine Research Society* [et al]. 2007;56(6):221-7.
209. Gwyer Findlay E, Hussell T. *Macrophage-mediated inflammation and disease: a focus on the lung*. *Mediators of Inflammation*. 2012;2012:140937.

210. Bayes HK, Bicknell S, MacGregor G, Evans TJ. *T helper cell subsets specific for Pseudomonas aeruginosa in healthy individuals and patients with cystic fibrosis*. PLoS One. 2014;9(2):e90263.
211. Kushwah R, Gagnon S, Swezey NB. *Intrinsic predisposition of naive cystic fibrosis T cells to differentiate towards a Th17 phenotype*. Respiratory Research. 2013;14:138.
212. Genovese MC, Durez P, Richards HB, Supronik J, Dokoupilova E, Mazurov V, et al. *Efficacy and safety of secukinumab in patients with rheumatoid arthritis: a phase II, dose-finding, double-blind, randomised, placebo controlled study*. Annals of the Rheumatic Diseases. 2013;72(6):863-9.
213. Ziai S, Coriati A, Gauthier MS, Rabasa-Lhoret R, Richter MV. *Could T cells be involved in lung deterioration and hyperglycemia in cystic fibrosis?* Diabetes Research and Clinical Practice. 2014;105(1):22-9.
214. Kellner H. *Targeting interleukin-17 in patients with active rheumatoid arthritis: rationale and clinical potential*. Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease. 2013;5(3):141-52.
215. Papp KA, Leonardi C, Menter A, Ortonne JP, Krueger JG, Kricorian G, et al. *Brodalumab, an anti-interleukin-17-receptor antibody for psoriasis*. The New England Journal of Medicine. 2012;366(13):1181-9.
216. Leonardi C, Matheson R, Zachariae C, Cameron G, Li L, Edson-Heredia E, et al. *Anti-interleukin-17 monoclonal antibody ixekizumab in chronic plaque psoriasis*. The New England Journal of Medicine. 2012;366(13):1190-9.
217. Mueller C, Keeler A, Braag S, Menz T, Tang Q, Flotte TR. *Modulation of exaggerated-IgE allergic responses by gene transfer-mediated antagonism of IL-13 and IL-17e*. Molecular Therapy : the Journal of the American Society of Gene Therapy. 2010;18(3):511-8.
218. Singh B, Nikoopour E, Huszarik K, Elliott JF, Jevnikar AM. *Immunomodulation and regeneration of islet Beta cells by cytokines in autoimmune type 1 diabetes*. Journal of Interferon & Cytokine Research : the Official Journal of the International Society for Interferon and Cytokine Research. 2011;31(10):711-9.

- 219.Szkudelski T. *The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas*. Physiological Research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca. 2001;50(6):537-46.
- 220.Nikoopour E, Schwartz JA, Huszarik K, Sandrock C, Krougly O, Lee-Chan E, et al. *Th17 polarized cells from nonobese diabetic mice following mycobacterial adjuvant immunotherapy delay type 1 diabetes*. Journal of Immunology. 2010;184(9):4779-88.
- 221.Tahrani AA, Bailey CJ, Del Prato S, Barnett AH. *Management of type 2 diabetes: new and future developments in treatment*. Lancet. 2011;378(9786):182-97.
- 222.Kolb H, Mandrup-Poulsen T. *An immune origin of type 2 diabetes?* Diabetologia. 2005;48(6):1038-50.
- 223.Herder C, Brunner EJ, Rathmann W, Strassburger K, Tabak AG, Schloot NC, et al. *Elevated levels of the anti-inflammatory interleukin-1 receptor antagonist precede the onset of type 2 diabetes: the Whitehall II study*. Diabetes Care. 2009;32(3):421-3.
- 224.Andriankaja OM, Barros SP, Moss K, Panagakos FS, DeVizio W, Beck J, et al. *Levels of serum interleukin (IL)-6 and gingival crevicular fluid of IL-1beta and prostaglandin E(2) among non-smoking subjects with gingivitis and type 2 diabetes*. Journal of Periodontology. 2009;80(2):307-16.
- 225.Osborn O, Brownell SE, Sanchez-Alavez M, Salomon D, Gram H, Bartfai T. *Treatment with an Interleukin 1 beta antibody improves glycemic control in diet-induced obesity*. Cytokine. 2008;44(1):141-8.
- 226.Yang L, Anderson DE, Baecher-Allan C, Hastings WD, Bettelli E, Oukka M, et al. *IL-21 and TGF-beta are required for differentiation of human T(H)17 cells*. Nature. 2008;454(7202):350-2.
- 227.Acosta-Rodriguez EV, Napolitani G, Lanzavecchia A, Sallusto F. *Interleukins 1beta and 6 but not transforming growth factor-beta are essential for the differentiation of interleukin 17-producing human T helper cells*. Nature Immunology. 2007;8(9):942-9.
- 228.Brusko TM, Putnam AL, Bluestone JA. *Human regulatory T cells: role in autoimmune disease and therapeutic opportunities*. Immunological Reviews. 2008;223:371-90.
- 229.Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. *Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25)*.

- Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases.* Journal of Immunology. 1995;155(3):1151-64.
230. Geiger TL, Tauro S. *Nature and nurture in Foxp3(+) regulatory T cell development, stability, and function.* Human Immunology. 2012;73(3):232-9.
231. Torgerson TR. *Regulatory T cells in human autoimmune diseases.* Springer Seminars in Immunopathology. 2006;28(1):63-76.
232. Gao Y, Lin F, Su J, Gao Z, Li Y, Yang J, et al. *Molecular mechanisms underlying the regulation and functional plasticity of FOXP3(+) regulatory T cells.* Genes and Immunity. 2012;13(1):1-13.
233. Yang XO, Nurieva R, Martinez GJ, Kang HS, Chung Y, Pappu BP, et al. *Molecular antagonism and plasticity of regulatory and inflammatory T cell programs.* Immunity. 2008;29(1):44-56.
234. Palafox D, Llorente L, Alberu J, Torres-Machorro A, Camorlinga N, Rodriguez C, et al. *The role of indoleamine 2,3 dioxygenase in the induction of immune tolerance in organ transplantation.* Transplantation Reviews. 2010;24(3):160-5.
235. Iannitti RG, Carvalho A, Cunha C, De Luca A, Giovannini G, Casagrande A, et al. *Th17/Treg imbalance in murine cystic fibrosis is linked to indoleamine 2,3-dioxygenase deficiency but corrected by kynurenines.* American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2013;187(6):609-20.
236. Anil N, Singh M. *CD4(+)CD25 (high) FOXP3(+) Regulatory T Cells Correlate with FEV1 in North Indian Children with Cystic Fibrosis.* Immunological Investigations. 2014;43(6):535-43.
237. Zhen Y, Sun L, Liu H, Duan K, Zeng C, Zhang L, et al. *Alterations of peripheral CD4+CD25+Foxp3+ T regulatory cells in mice with STZ-induced diabetes.* Cellular & Molecular Immunology. 2012;9(1):75-85.
238. Bovenschen HJ, van de Kerkhof PC, van Erp PE, Woestenenk R, Joosten I, Koenen HJ. *Foxp3+ regulatory T cells of psoriasis patients easily differentiate into IL-17A-producing cells and are found in lesional skin.* The Journal of Investigative Dermatology. 2011;131(9):1853-60.

239. Feuerer M, Herrero L, Cipolletta D, Naaz A, Wong J, Nayer A, et al. *Lean, but not obese, fat is enriched for a unique population of regulatory T cells that affect metabolic parameters*. Nature Medicine. 2009;15(8):930-9.
240. Winer S, Chan Y, Paltser G, Truong D, Tsui H, Bahrami J, et al. *Normalization of obesity-associated insulin resistance through immunotherapy*. Nature Medicine. 2009;15(8):921-9.
241. Han JM, Patterson SJ, Speck M, Ehses JA, Levings MK. *Insulin inhibits IL-10-mediated regulatory T cell function: implications for obesity*. Journal of Immunology. 2014;192(2):623-9.
242. Cazzola M, Matera MG. *IL-17 in chronic obstructive pulmonary disease*. Expert Review of Respiratory Medicine. 2012;6(2):135-8.
243. Wang YH, Wills-Karp M. *The potential role of interleukin-17 in severe asthma*. Current Allergy and Asthma Reports. 2011;11(5):388-94.
244. Painter RG, Valentine VG, Lanson NA, Jr., Leidal K, Zhang Q, Lombard G, et al. *CFTR Expression in human neutrophils and the phagolysosomal chlorination defect in cystic fibrosis*. Biochemistry. 2006;45(34):10260-9.
245. Del Porto P, Cifani N, Guarnieri S, Di Domenico EG, Mariggio MA, Spadaro F, et al. *Dysfunctional CFTR alters the bactericidal activity of human macrophages against Pseudomonas aeruginosa*. PloS One. 2011;6(5):e19970.
246. Déclaration d'Helsinki de l'AMM. Ferney-Voltaire, France: Association Médicale Mondiale; [cité 28 juillet 2014]. Disponible à : <http://www.wma.net/fr/30publications/10policies/b3/>.
247. Gold DR, Wang X, Wypij D, Speizer FE, Ware JH, Dockery DW. *Effects of cigarette smoking on lung function in adolescent boys and girls*. The New England Journal of Medicine. 1996;335(13):931-7.
248. Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT. *Validation of interstitial fluid continuous glucose monitoring in cystic fibrosis*. Diabetes Care. 2003;26(6):1940-1.
249. Dwyer TJ, Alison JA, McKeough ZJ, Elkins MR, Bye PT. *Evaluation of the SenseWear activity monitor during exercise in cystic fibrosis and in health*. Respiratory Medicine. 2009;103(10):1511-7.

250. Morgan DA, Ruscetti FW, Gallo R. *Selective in vitro growth of T lymphocytes from normal human bone marrows*. Science. 1976;193(4257):1007-8.
251. Allo SN, McDermott PJ, Carl LL, Morgan HE. *Phorbol ester stimulation of protein kinase C activity and ribosomal DNA transcription. Role in hypertrophic growth of cultured cardiomyocytes*. The Journal of Biological Chemistry. 1991;266(32):22003-9.
252. Garrett RH, Grisham CM. Biochimie. Bruxelles, Belgique: De Boeck Université; 2000.
253. Sun Z, Arendt CW, Ellmeier W, Schaeffer EM, Sunshine MJ, Gandhi L, et al. *PKC-theta is required for TCR-induced NF-kappaB activation in mature but not immature T lymphocytes*. Nature. 2000;404(6776):402-7.
254. Lin X, O'Mahony A, Mu Y, Geleziunas R, Greene WC. *Protein kinase C-theta participates in NF-kappaB activation induced by CD3-CD28 costimulation through selective activation of IkappaB kinase beta*. Molecular and Cellular Biology. 2000;20(8):2933-40.
255. Sofuni T, Yoshida MC. *Combined use of several mitogens for mitotic stimulation to human lymphocytes*. Journal of Radiation Research. 1992;33 Suppl:222-30.
256. Foss F. *T-Cell Lymphomas*. New York, NY, É-U: Spriner Science and Business Media; 2012.
257. Letourneau S, Krieg C, Pantaleo G, Boyman O. *IL-2- and CD25-dependent immunoregulatory mechanisms in the homeostasis of T-cell subsets*. The Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2009;123(4):758-62.
258. Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. *Foxp3 programs the development and function of CD4+CD25+ regulatory T cells*. Nature Immunology. 2003;4(4):330-6.
259. Brucklacher-Waldert V, Steinbach K, Lioznov M, Kolster M, Holscher C, Tolosa E. *Phenotypical characterization of human Th17 cells unambiguously identified by surface IL-17A expression*. Journal of Immunology. 2009;183(9):5494-501.
260. Hajela K. *Were lectins primitive Fc receptors?* Immunology Letters. 1991;27(3):183-90.
261. Burry RW. *Immunocytochemistry: A practical guide for biomedical research*: Springer Science & Business Media; 2009.
262. Dandona P, Chaudhuri A, Mohanty P, Ghanim H. *Anti-inflammatory effects of insulin*. Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care. 2007;10(4):511-7.

263. Kotloff RM, Zuckerman JB. *Lung transplantation for cystic fibrosis: special considerations*. Chest. 1996;109(3):787-98.
264. Gerriets VA, MacIver NJ. *Role of T cells in malnutrition and obesity*. Frontiers in Immunology. 2014;5:379.
265. Hammana I, Coderre L, Potvin S, Costa M, Berthiaume Y, Lavoie A, et al. *Dichotomy between postprandial glucose and lipid profiles in adults with cystic fibrosis: a pilot study*. Journal of Cystic Fibrosis : Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2009;8(2):128-34.
266. Ziai S, Coriati A, Chabot K, Mailhot M, Richter MV, Rabasa-Lhoret R. *Agreement of bioelectric impedance analysis and dual-energy X-ray absorptiometry for body composition evaluation in adults with cystic fibrosis*. Journal of Cystic Fibrosis : Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2014;13(5):585-8.
267. Brennan AL, Gyi KM, Wood DM, Johnson J, Holliman R, Baines DL, et al. *Airway glucose concentrations and effect on growth of respiratory pathogens in cystic fibrosis*. Journal of Cystic Fibrosis : Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2007;6(2):101-9.
268. Sc NN, Shoseyov D, Kerem E, Zangen DH. *Patients with cystic fibrosis and normoglycemia exhibit diabetic glucose tolerance during pulmonary exacerbation*. Journal of Cystic Fibrosis : Official Journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2010;9(3):199-204.
269. Berg DJ, Kuhn R, Rajewsky K, Muller W, Menon S, Davidson N, et al. *Interleukin-10 is a central regulator of the response to LPS in murine models of endotoxic shock and the Shwartzman reaction but not endotoxin tolerance*. The Journal of Clinical Investigation. 1995;96(5):2339-47.
270. Kronborg G. *Lipopolysaccharide (LPS), LPS-immune complexes and cytokines as inducers of pulmonary inflammation in patients with cystic fibrosis and chronic Pseudomonas aeruginosa lung infection*. APMIS Supplementum. 1995;50:1-30.
271. Lu YC, Yeh WC, Ohashi PS. *LPS/TLR4 signal transduction pathway*. Cytokine. 2008;42(2):145-51.

272. Ho FM, Liu SH, Liao CS, Huang PJ, Lin-Shiau SY. *High glucose-induced apoptosis in human endothelial cells is mediated by sequential activations of c-Jun NH(2)-terminal kinase and caspase-3*. *Circulation*. 2000;101(22):2618-24.
273. Vella AT, Dow S, Potter TA, Kappler J, Marrack P. *Cytokine-induced survival of activated T cells in vitro and in vivo*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 1998;95(7):3810-5.
274. Bonfield TL, Panuska JR, Konstan MW, Hilliard KA, Hilliard JB, Ghnaim H, et al. *Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs*. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*. 1995;152(6 Pt 1):2111-8.
275. Sheard NF, Clark NG, Brand-Miller JC, Franz MJ, Pi-Sunyer FX, Mayer-Davis E, et al. *Dietary carbohydrate (amount and type) in the prevention and management of diabetes: a statement by the American Diabetes Association*. *Diabetes Care*. 2004;27(9):2266-71.
276. Lafrance L, Rabasa-Lhoret R, Poisson D, Ducros F, Chiasson JL. *Effects of different glycaemic index foods and dietary fibre intake on glycaemic control in type 1 diabetic patients on intensive insulin therapy*. *Diabetic Medicine : a Journal of the British Diabetic Association*. 1998;15(11):972-8.
277. Rabasa-Lhoret R, Garon J, Langelier H, Poisson D, Chiasson JL. *Effects of meal carbohydrate content on insulin requirements in type 1 diabetic patients treated intensively with the basal-bolus (ultralente-regular) insulin regimen*. *Diabetes Care*. 1999;22(5):667-73.
278. Brazeau AS, Mircescu H, Desjardins K, Leroux C, Strychar I, Ekoe JM, et al. *Carbohydrate counting accuracy and blood glucose variability in adults with type 1 diabetes*. *Diabetes Research and Clinical Practice*. 2013;99(1):19-23.
279. Riddell MC, Iscoe KE. *Physical activity, sport, and pediatric diabetes*. *Pediatric Diabetes*. 2006;7(1):60-70.
280. Sigal RJ, Purdon C, Fisher SJ, Halter JB, Vranic M, Marliss EB. *Hyperinsulinemia prevents prolonged hyperglycemia after intense exercise in insulin-dependent diabetic subjects*. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*. 1994;79(4):1049-57.
281. Ratzmann KP, Knospe S, Heinke P, Schulz B. *Relationship between body fat mass, carbohydrate tolerance and IRI response during glucose infusion in subjects with early diabetes*. *Acta Diabetologica Latina*. 1979;16(1):67-75.

282. Spiegelman D, Israel RG, Bouchard C, Willett WC. *Absolute fat mass, percent body fat, and body-fat distribution: which is the real determinant of blood pressure and serum glucose?* The American Journal of Clinical Nutrition. 1992;55(6):1033-44.
283. Tiringer K, Treis A, Fucik P, Gona M, Gruber S, Renner S, et al. *A Th17- and Th2-skewed cytokine profile in cystic fibrosis lungs represents a potential risk factor for Pseudomonas aeruginosa infection.* American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine. 2013;187(6):621-9.
284. Bush A, Davies J. *Non! to non-steroidal anti-inflammatory therapy for inflammatory lung disease in cystic fibrosis (at least at the moment).* The Journal of Pediatrics. 2007;151(3):228-30.
285. Law JP, Hirschhorn DF, Owen RE, Biswas HH, Norris PJ, Lanteri MC. *The importance of Foxp3 antibody and fixation/permeabilization buffer combinations in identifying CD4+CD25+Foxp3+ regulatory T cells.* Cytometry Part A : the Journal of the International Society for Analytical Cytology. 2009;75(12):1040-50.
286. Collison LW, Vignali DA. *In vitro Treg suppression assays.* Methods in Molecular Biology. 2011;707:21-37.
287. Yang XO, Pappu BP, Nurieva R, Akimzhanov A, Kang HS, Chung Y, et al. *T helper 17 lineage differentiation is programmed by orphan nuclear receptors ROR alpha and ROR gamma.* Immunity. 2008;28(1):29-39.
288. O'Riordan SM, Hindmarsh P, Hill NR, Matthews DR, George S, Grealley P, et al. *Validation of continuous glucose monitoring in children and adolescents with cystic fibrosis: a prospective cohort study.* Diabetes Care. 2009;32(6):1020-2.
289. Astrup A, Buemann B, Western P, Toubro S, Raben A, Christensen NJ. *Obesity as an adaptation to a high-fat diet: evidence from a cross-sectional study.* The American Journal of Clinical Nutrition. 1994;59(2):350-5.

Annexes

Formulaire d'information et de consentement

Titre : Impact des fluctuations glycémiques sur la réponse inflammatoire dans le diabète secondaire à la fibrose kystique

Chercheur principal : **Dr. Rémi Rabasa-Lhoret MD, Ph.D**
Centre de recherche du CHUM (CR-CHUM)
Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM)
Adresse principale : 110, avenue des Pins Ouest
Montréal (Québec) H2W 1R7
514-987-5666

Collaborateurs : **Dr. Yves Berthiaume MD, Pneumologue, CHUM**
Dr. Annick Lavoie MD, Pneumologue, CHUM
Dr. Alphonse Jeanneret MD, Pneumologue, CHUM
Martin Richter, Ph.D, Université de Sherbrooke
Lise Coderre, Ph.D, IRCM
Émile Lévy Ph.D, Hôpital Sainte-Justine

Lieu où s'effectuera la recherche : CR-CHUM pour le recrutement des sujets atteints de fibrose kystique et l'IRCM pour la réalisation des tests.

Commanditaire : Fondation canadienne de la fibrose kystique

Préambule

Votre participation à un projet de recherche sur l'impact des fluctuations glycémiques (variations du taux de sucre dans le sang) sur le stress oxydatif (processus ayant des conséquences possiblement néfastes) et le système immunitaire (susceptibilité aux infections) est sollicitée en tant que personne souffrant de la fibrose kystique, avec ou sans diabète, ou en tant que sujet témoin, n'étant pas atteint par ces maladies. Avant de participer à ce projet, veuillez prendre le temps de lire et de comprendre les renseignements qui suivent. Le présent document peut contenir des termes que vous ne comprenez pas. Nous vous invitons à poser toutes les questions que vous jugez utiles aux chercheurs et à leurs assistants.

Objectif de l'étude

Le diabète secondaire à la fibrose kystique est une complication courante et sa fréquence augmente avec l'âge des patients. Le diabète correspond à un taux élevé de sucre dans le sang. Ce diabète a un début insidieux et est caractérisé par un état pré-diabétique : l'intolérance au glucose, qui correspond à un taux élevé de sucre uniquement après les repas. Le diabète peut être associé à des difficultés pour le traitement de la fibrose kystique : poids plus difficile à maintenir, perte de la fonction pulmonaire plus rapide, plus grande fréquence des infections et des problèmes rencontrés dans les autres formes de diabète au niveau des yeux, des reins et des nerfs (complications spécifiques). Le traitement du diabète prévient les complications spécifiques et il est probable que le traitement approprié de ce type de diabète améliore le pronostic de la fibrose kystique elle-même, d'où l'intérêt d'en connaître les causes.

Le but premier de cette étude est de connaître l'impact des fluctuations glycémiques sur le stress oxydatif, et le système immunitaire chez les patients atteints de fibrose kystique.

Au CHUM, nous réalisons un dépistage systématique du diabète secondaire à la fibrose kystique avec un test de tolérance au glucose appelé HGPO (hyperglycémie provoquée par voie orale) tous les 12 à 24 mois. Les informations obtenues pourront nous aider à comprendre les facteurs qui prédisposent les patients atteints de fibrose kystique à développer le diabète.

Quatre groupes de sujets participeront à l'étude : des sujets fibrose kystique normo-tolérants et intolérants au glucose, des sujets fibrose kystique diabétiques et des sujets contrôles sans fibrose kystique ni de diabète.

Nombre de participants et durée de la participation:

Si vous acceptez de participer, votre participation à l'étude va durer 5 à 6 jours. 100 sujets y participeront (25 sujets par groupe).

Déroulement de l'étude:

Hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) préalable
- *Sujets contrôles seulement*

- Pour les sujets contrôles sans fibrose kystique ni de diabète, nous effectuerons d'abord une hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) afin de déterminer votre tolérance au glucose. Vous devez être à jeun depuis au moins 8 heures et vous devez boire un liquide sucré contenant 75 grammes de glucose (sucre).
- Nous vous ferons des prélèvements (prise de sang) aux temps 0, 30, 60, 90 et 120 minutes. Pour ce faire, un cathéter sera installé, ce qui évite d'avoir à vous piquer à chaque fois. Les échantillons obtenus permettront de déterminer si vous avez une

tolérance normale au glucose, vous êtes intolérants ou diabétiques. Nous prélevons environ 36 ml de sang (2 ½ cuillère à table).

Ce test durera environ 2,5 heures.

Visite 1:

- Sujets contrôles et atteints de fibrose kystique

- Au cours de cette première visite, nous allons vous poser un lecteur de glycémie en continue, un appareil qui mesure le taux de sucre toutes les 5 minutes, en installant un cathéter pendant 3 jours au niveau du haut de la fesse ou de l'abdomen (selon votre préférence). Cet appareil fait moins de 2 cm de diamètre et pèse environ 50 grammes. Vous devrez réaliser en plus 4 glycémies capillaires (piqûre au bout du doigt) chaque jour afin de déterminer d'une autre manière votre glycémie. Ces valeurs sont indispensables pour l'analyse du lecteur de glycémie en continue. L'appareil pour réaliser ces mesures (glucomètre) ainsi que les bandelettes réactives vous seront fournis et le fonctionnement vous sera expliqué.
- Ensuite, nous vous installons un accéléromètre, un outil mesurant l'activité physique, au niveau du bras droit. Cet appareil qui a une taille de 10 par 5 cm et pèse environ 150 grammes. Vous devez porter cet appareil pour la durée de l'observation sauf pendant la douche, un bain ou des activités nautiques.
- De plus, nous vous expliquerons comment remplir un journal alimentaire de 3 jours, collecter votre urine pour une période de 24 heures et nous vous remettrons le matériel nécessaire. Il est très important que le journal alimentaire soit rempli de façon très précise (tous les aliments, quantités précises, etc.) afin de permettre une analyse pertinente de l'effet de votre alimentation sur les fluctuations glycémiques. Il est aussi important que vous collectiez toutes vos urines sur une période complète de 24 heures sans qu'il n'en manque aucune. Nous vous remettrons un contenant approprié et des consignes écrites afin de s'assurer que ces paramètres sont collectés de façon optimale.

La durée de cette première visite est d'environ 2 heures.

Visite 2:

- Lors de la deuxième visite, 4 ou 5 jours après la première visite, nous allons retirer le lecteur de glycémie, l'accéléromètre, réviser le journal alimentaire complété et recueillir l'urine collecté pour 24 heures.
- Nous allons prendre un échantillon de crachat. Aussi, nous allons prélever 90 ml de sang (environ 6 cuillères à table) pour mesurer des paramètres sanguins du stress oxydant et de l'immunité. Vous devez être à jeun depuis au moins 8 heures. La force maximale développée par chaque main sera évaluée par un dynamomètre. Le

dynamomètre est un petit appareil en métal ressemblant à une poignée qui mesure la force de préhension. Pour effectuer ce test, d'une durée d'environ 10 minutes, vous devrez vous asseoir confortablement et fléchir le coude à 90 degrés, ainsi que l'avant-bras et le poignet en position neutre (pouce vers le haut). Vous devrez serrer l'appareil le plus fort possible avec la main, en prenant le temps nécessaire afin de le serrer au maximum. Le test sera effectué à trois reprises, et ce, pour chaque main.

- Finalement, nous déterminerons votre composition corporelle (quantité de gras, de muscles et masse de vos os) à l'aide d'un appareil nommé «Dual Energy X-Ray Absorptiometry» (DEXA) et d'un impédancemètre, un pèse-personne où il faut monter pieds nus et qui est relié à une petite console.

La durée de la deuxième visite est d'environ une heure trente.

Ces tests sont faits pour déterminer le rôle des variations glycémiques, de l'exercice physique, de l'alimentation, de la composition corporelle et la force sur le stress oxydatif et l'immunité.

Visite	Calendrier	Description de la visite	Durée
0	-	<i>Sujets contrôles</i> : signature du formulaire de consentement et HGPO.	2,5 heures
1	Jour 1	<i>Sujets atteints de fibrose kystique</i> : signature du formulaire de consentement <i>Tous les sujets</i> : lecteur de glycémie en continue, accéléromètre, explications journal alimentaire et collecte d'urine 24 heures.	2 heures
2	Jour 5 ou 6	Retour du lecteur de glycémie, de l'accéléromètre, du journal alimentaire et de l'urine. Prise d'un échantillon d'expectoration, prise de sang, dynamomètre, DEXA et impédancemètre.	1,5 heure

Risques

Votre participation à cette étude comporte peu de risques physiques.

La prise du liquide sucré durant l'HGPO peut occasionner des nausées ou des maux d'estomac temporaires.

L'insertion du cathéter pour les prélèvements pourrait causer un léger inconfort. Des ecchymoses (bleus) ou plus rarement des étourdissements (malaise vagal) ou perte de conscience peuvent survenir.

Pour le lecteur de glycémie en continue, l'insertion du cathéter au niveau du haut de la fesse ou de l'abdomen peut comporter un risque d'infection et d'irritation de la peau. La réalisation des glycémies capillaires nécessite une piqûre au bout du doigt qui occasionne une légère douleur.

L'accéléromètre comporte une partie métallique qui contient du nickel au contact de la peau. Les patients allergiques sont donc exclus de cette étude. Il peut y avoir un léger inconfort à porter cet appareil en permanence.

Le risque de la DEXA se situe au niveau de l'exposition aux rayons X qui se chiffre à 0,03 millirem, ce qui est inférieure à l'exposition ambiante naturelle pour une journée et qui représente moins que la dose maximale permise par année. Toutes les patientes réaliseront un test de grossesse avec un échantillon urinaire avant de réaliser ce test. Si vous êtes enceinte, vous serez exclue de l'étude.

Bénéfices

Cette étude vous permettra d'avoir une analyse de votre profil alimentaire, de votre profil d'activité physique, des informations sur votre composition corporelle et la fréquence et l'importance de vos fluctuations glycémiques. Néanmoins, il est possible de vous offrir des soins optimaux sans ces informations. Les informations que nous recueillerons grâce à votre participation à cette étude peuvent nous aider à mieux comprendre le rôle des fluctuations glycémiques sur le stress oxydatif et le système immunitaire en relation avec la survenue du diabète secondaire à la fibrose kystique. Ce projet de recherche pourrait donc être bénéfique pour les personnes atteintes de fibrose kystique.

Participation volontaire et possibilité de retrait de l'étude

Votre participation est tout à fait volontaire et vous êtes totalement libre de participer ou non au présent projet de recherche. De plus, vous êtes libre, en tout temps, de vous retirer du projet sans que cela n'entraîne aucun inconvénient pour vous et vous continuerez de bénéficier des services et soins de santé dont vous bénéficiez actuellement. Si vous décidez de vous retirer de l'étude, vous devrez aviser le chercheur (Dr. Rabasa-Lhoret).

Le chercheur pourrait également vous retirer de l'étude sans votre consentement, notamment s'il estime que cela n'est plus dans votre meilleur intérêt.

Le chercheur s'engage à vous faire savoir tout nouveau développement qui pourrait influencer votre décision de participer à l'étude.

Confidentialité

Avec votre autorisation, votre médecin traitant sera avisé de votre participation à l'étude.

Durant votre participation à ce projet, le chercheur responsable ainsi que son personnel recueilleront et consigneront dans un dossier de recherche les renseignements vous concernant. Seuls les renseignements nécessaires pour répondre aux objectifs scientifiques de ce projet seront recueillis.

Ces renseignements peuvent comprendre les informations contenues dans vos dossiers médicaux concernant votre état de santé passé et présent, vos habitudes de vie ainsi que les résultats de tous les tests, examens et procédures que vous aurez à subir durant ce projet. Votre dossier peut aussi comprendre d'autres renseignements tels que votre nom, votre sexe, votre date de naissance et votre origine ethnique.

Tous les renseignements recueillis demeureront strictement confidentiels dans les limites prévues par la loi. Afin de préserver votre identité et la confidentialité des renseignements, vous ne serez identifié(e) que par un numéro de code. La clé du code reliant votre nom à votre dossier de recherche sera conservée par le chercheur responsable.

Le chercheur responsable du projet utilisera les données à des fins de recherche dans le but de répondre aux objectifs scientifiques du projet décrits dans le formulaire d'information et de consentement. Ces données seront conservées pendant 10 ans par le chercheur responsable.

Les données pourront être publiées dans des revues spécialisées ou faire l'objet de discussions scientifiques, mais il ne sera pas possible de vous identifier.

À des fins de surveillance et de contrôle, votre dossier de recherche ainsi que vos dossiers médicaux, s'il y a lieu, pourront être consultés par une personne mandatée par le comité d'éthique de la recherche de l'IRCM ou par l'établissement, par une personne des organismes réglementaires (ex. Santé Canada). Toutes ces personnes et ces organismes adhèrent à une politique de confidentialité.

À des fins de protection, notamment afin de pouvoir communiquer avec vous rapidement, vos noms et prénoms, vos coordonnées et la date de début et de fin de votre participation au projet seront conservés pendant un an après la fin du projet dans un répertoire à part maintenu par le chercheur responsable ou par l'établissement.

Vous avez le droit de consulter votre dossier de recherche pour vérifier les renseignements recueillis, et les faire rectifier au besoin, et ce, aussi longtemps que le chercheur responsable du projet ou l'établissement détiennent ces informations. Cependant, afin de préserver l'intégrité scientifique du projet, vous pourriez n'avoir accès à certaines.

Communication des renseignements généraux

Vous pourrez connaître les résultats généraux de cette étude si vous en faites la demande à la fin de l'étude. Un rapport d'étude clinique écrit sera distribué aux sites à la fin de l'étude.

Compensation

Vous recevrez une somme de 150.00\$ en compensation des frais encourus et des contraintes subies en raison de votre participation à cette étude.

Indemnisation en cas de préjudice et droits du sujet de recherche

Si vous deviez subir quelque préjudice que ce soit dû à votre participation au projet de recherche, vous recevrez tous les soins et services requis par votre état de santé, sans frais de votre part.

En acceptant de participer à ce projet, vous ne renoncez à aucun de vos droits ni ne libérez les chercheurs, l'organisme subventionnaire, ou l'établissement de leur responsabilité civile et professionnelle.

Financement

Le chercheur responsable du projet a reçu un financement de l'organisme subventionnaire pour mener à bien ce projet de recherche.

Personnes-ressources

Vous pouvez obtenir plus de renseignements concernant l'étude ou votre participation en communiquant avec :

-Le Dr. Rémi Rabasa-Lhoret au (514) 987-5666. Vous pouvez obtenir de l'aide médicale 24 heures sur 24 en téléphonant au service de messages aux médecins du CHUM au (514) 890-8000 poste 14444. Le service des messages peut joindre Dr. Rabasa-Lhoret en tout temps.

- Ou son assistante de recherche au (514) 987-5668.

Pour de plus amples informations au sujet de vos droits en tant que sujet de recherche ou si vous avez une plainte ou des commentaires à formuler, vous pouvez communiquer avec la D^{re} Madeleine Roy, membre du Comité d'éthique de l'IRCM ((514) 987-5636).

Surveillance des aspects éthiques du projet de recherche

Le comité d'éthique de la recherche de l'IRCM a approuvé ce projet de recherche et en assure le suivi. De plus, il approuvera au préalable toute révision et toute modification apportée au formulaire d'information et de consentement et au protocole de recherche.

Consentement

Je déclare avoir pris connaissance du présent formulaire de consentement. Je reconnais que la nature et le déroulement du projet de recherche m'ont été expliqués, qu'on a répondu à toutes mes questions et qu'on m'a laissé le temps voulu pour prendre une décision.

Je comprends en quoi consiste ma participation à cette étude et j'accepte volontairement et librement d'y participer. On me remettra une copie signée et datée du présent formulaire. Un exemplaire sera également inséré dans mon dossier médical pour des raisons de sécurité

et je comprends donc que cette information sera disponible à toute personne ou organisme à qui j'autoriserai l'accès à mon dossier.

En signant le présent formulaire, je ne renonce à aucun de mes droits légaux ni ne libère le chercheur, l'hôpital ou le commanditaire de leur responsabilité civile et professionnelle.

J'autorise Je n'autorise pas

Le chercheur ou son équipe à informer mon médecin de famille et à lui transmettre toute information pertinente.

Coordonnées du médecin : _____

Nom du participant	
Signature du participant	
Date	

Personne ayant expliqué le formulaire d'information et de consentement

J'ai expliqué au sujet de recherche les termes du présent formulaire d'information et de consentement et j'ai répondu aux questions qu'il m'a posées.

Nom de la personne chargée de la discussion sur le consentement	
Signature de la personne chargée de la discussion sur le consentement	
Date	

Engagement du chercheur

Je certifie qu'on a expliqué au sujet la nature du projet de recherche ainsi que le contenu du présent formulaire, qu'on a répondu à toutes ses questions et qu'on lui a indiqué qu'il/elle reste à tout moment libre de mettre un terme à sa participation. Une copie signée et datée de ce formulaire lui sera remise.

Nom du chercheur	D' Rémi Rabasa-Lhoret ou _____
Signature du chercheur	
Date	

Distribution du formulaire de consentement

- Remettre une copie originale au patient.
- Placer une copie dans le dossier médical du patient.
- Garder une copie originale aux dossiers du chercheur.



Formulaire d'information et de consentement

Titre : Impact des fluctuations glycémiques sur la réponse inflammatoire dans le diabète secondaire à la fibrose kystique

Chercheur principal : **Dr. Rémi Rabasa-Lhoref MD, Ph.D**

Centre de recherche du CHUM (CR-CHUM)

Institut de recherches cliniques de Montréal (IRCM)

Adresse principale : 110, avenue des Pins Ouest
Montréal (Québec) H2W 1R7

514-987-5666

Collaborateurs :

Dr. Yves Berthiaume MD, Pneumologues, CHUM

Dr. Annick Lavoie MD, Pneumologues, CHUM

Dr. Alphonse Jeanneret MD, Pneumologues, CHUM

Martin Richter, Ph.D, Université de Sherbrooke

Lise Coderre, Ph.D, IRCM

Émile Lévy Ph.D, Hôpital Sainte-Justine

Lieu où s'effectuera la recherche : CR-CHUM pour le recrutement des sujets atteints de fibrose kystique et l'IRCM pour la réalisation des tests.

Commanditaire : Fondation canadienne de la fibrose kystique

Préambule

Votre participation à un projet de recherche sur l'impact des fluctuations glycémiques (variations du taux de sucre dans le sang) sur le stress oxydatif (processus ayant des conséquences possiblement néfastes) et le système immunitaire (susceptibilité aux infections) est sollicitée en tant que personne souffrant de la fibrose kystique, avec ou sans diabète, ou en tant que sujet témoin, n'étant pas atteint par ces maladies. Avant de participer à ce projet, veuillez prendre le temps de lire et de comprendre les renseignements qui suivent. Le présent document peut contenir des termes que vous ne comprenez pas. Nous vous invitons à poser toutes les questions que vous jugez utiles aux chercheurs et à leurs assistants.

Objectif de l'étude

Le diabète secondaire à la fibrose kystique est une complication courante et sa fréquence augmente avec l'âge des patients. Le diabète correspond à un taux élevé de sucre dans le sang. Ce diabète a un début insidieux et est caractérisé par un état pré-diabétique : l'intolérance au glucose, qui correspond à un taux élevé de sucre uniquement après les repas. Le diabète peut être associé à des difficultés pour le traitement de la fibrose kystique : poids plus difficile à maintenir, perte de la fonction pulmonaire plus rapide, plus grande fréquence des infections et des problèmes rencontrés dans les autres formes de diabète au niveau des yeux, des reins et des nerfs (complications spécifiques). Le traitement du diabète prévient les complications spécifiques et il est probable que le traitement approprié de ce type de diabète améliore le pronostic de la fibrose kystique elle-même, d'où l'intérêt d'en connaître les causes.

Le but premier de cette étude est de connaître l'impact des fluctuations glycémiques sur le stress oxydatif, et le système immunitaire chez les patients atteints de fibrose kystique.

Au CHUM, nous réalisons un dépistage systématique du diabète secondaire à la fibrose kystique avec un test de tolérance au glucose appelé HGPO (hyperglycémie provoquée par voie orale) tous les 12 à 24 mois. Les informations obtenues pourront nous aider à comprendre les facteurs qui prédisposent les patients atteints de fibrose kystique à développer le diabète.

Quatre groupes de sujets participeront à l'étude : des sujets fibrose kystique normo-tolérants et intolérants au glucose, des sujets fibrose kystique diabétiques et des sujets contrôles sans fibrose kystique ni de diabète.

Nombre de participants et durée de la participation:

Si vous acceptez de participer, votre participation à l'étude va durer 5 à 6 jours. 100 sujets y participeront (25 sujets par groupe).

Déroulement de l'étude:

Hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) préalable
- *Sujets contrôles seulement*

- Pour les sujets contrôles sans fibrose kystique ni de diabète, nous effectuerons d'abord une hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) afin de déterminer votre tolérance au glucose. Vous devez être à jeun depuis au moins 8 heures et vous devez boire un liquide sucré contenant 75 grammes de glucose (sucre).

- Nous vous ferons des prélèvements (prise de sang) aux temps 0, 30, 60, 90 et 120 minutes. Pour ce faire, un cathéter sera installé, ce qui évite d'avoir à vous piquer à chaque fois. Les échantillons obtenus permettront de déterminer si vous avez une tolérance normale au glucose, vous êtes intolérants ou diabétiques. Nous prélevons environ 36 ml de sang (2 ½ cuillère à table).

Ce test durera environ 2,5 heures.

Visite 1:

- Sujets contrôles et atteints de fibrose kystique

- Au cours de cette première visite, nous allons vous poser un lecteur de glycémie en continue, un appareil qui mesure le taux de sucre toutes les 5 minutes, en installant un cathéter pendant 3 jours au niveau du haut de la fesse ou de l'abdomen (selon votre préférence). Cet appareil fait moins de 2 cm de diamètre et pèse environ 50 grammes. Vous devrez réaliser en plus 4 glycémies capillaires (piqûre au bout du doigt) chaque jour afin de déterminer d'une autre manière votre glycémie. Ces valeurs sont indispensables pour l'analyse du lecteur de glycémie en continue. L'appareil pour réaliser ces mesures (glucomètre) ainsi que les bandelettes réactives vous seront fournis et le fonctionnement vous sera expliqué.
- Ensuite, nous vous installons un accéléromètre, un outil mesurant l'activité physique, au niveau du bras droit. Cet appareil qui a une taille de 10 par 5cm et pèse environ 150 grammes. Vous devez porter cet appareil pour la durée de l'observation sauf pendant la douche, un bain ou des activités nautiques.
- De plus, nous vous expliquerons comment remplir un journal alimentaire de 3 jours, collecter votre urine pour une période de 24 heures et nous vous remettons le matériel nécessaire. Il est très important que le journal alimentaire soit rempli de façon très précise (tous les aliments, quantités précises, etc.) afin de permettre une analyse pertinente de l'effet de votre alimentation sur les fluctuations glycémiques. Il est aussi important que vous collectiez toutes vos urines sur une période complète de 24 heures sans qu'il n'en manque aucune. Nous vous remettons un contenant approprié et des consignes écrites afin de s'assurer que ces paramètres sont collectés de façon optimale.

La durée de cette première visite est d'environ 2 heures.

Visite 2:

- Lors de la deuxième visite, 4 ou 5 jours après la première visite, nous allons retirer le lecteur de glycémie, l'accéléromètre, réviser le journal alimentaire complété et recueillir l'urine collecté pour 24 heures.
- Nous allons prendre un échantillon de crachat. Aussi, nous allons prélever 90 ml de sang (environ 6 cuillères à table) pour mesurer des paramètres sanguins du stress oxydant et de l'immunité. Vous devez être à jeun depuis au moins 8 heures. La force maximale développée par chaque main sera évaluée par un dynamomètre. Le dynamomètre est un petit appareil en métal ressemblant à une poignée qui mesure la force de préhension. Pour effectuer ce test, d'une durée d'environ 10 minutes, vous devrez vous asseoir confortablement et fléchir le coude à 90 degrés, ainsi que l'avant-bras et le poignet en position neutre (pouce vers le haut). Vous devrez serrer l'appareil le plus fort possible avec la main, en prenant le temps nécessaire afin de le serrer au maximum. Le test sera effectué à trois reprises, et ce, pour chaque main.
- Finalement, nous déterminerons votre composition corporelle (quantité de gras, de muscles et masse de vos os) à l'aide d'un appareil nommé «Dual Energy X-Ray Absorptiometry» (DEXA) et d'un impédancemètre, un pèse-personne où il faut monter pieds nus et qui est relié à une petite console.

La durée de la deuxième visite est d'environ une heure trente.

Ces tests sont faits pour déterminer le rôle des variations glycémiques, de l'exercice physique, de l'alimentation, de la composition corporelle et la force sur le stress oxydatif et l'immunité.

Visite	Calendrier	Description de la visite	Durée
0	-	<i>Sujets contrôles</i> : signature du formulaire de consentement et HGPO.	2,5 heures
1	Jour 1	<i>Sujets atteints de fibrose kystique</i> : signature du formulaire de consentement <i>Tous les sujets</i> : lecteur de glycémie en continue, accéléromètre, explications journal alimentaire et collecte d'urine 24 heures.	2 heures
2	Jour 5 ou 6	Retour du lecteur de glycémie, de l'accéléromètre, du journal alimentaire et de l'urine. Prise d'un échantillon d'expectoration, prise de sang, dynamomètre, DEXA et impédancemètre.	1,5 heure

Risques

Votre participation à cette étude comporte peu de risques physiques. La prise du liquide sucré durant l'HGPO peut occasionner des nausées ou des maux d'estomac temporaires.

L'insertion du cathéter pour les prélèvements pourrait causer un léger inconfort. Des ecchymoses (bleus) ou plus rarement des étourdissements (malaise vagal) ou perte de conscience peuvent survenir.

Pour le lecteur de glycémie en continue, l'insertion du cathéter au niveau du haut de la fesse ou de l'abdomen peut comporter un risque d'infection et d'irritation de la peau. La réalisation des glycémies capillaires nécessite une pique au bout du doigt qui occasionne une légère douleur.

L'accéléromètre comporte une partie métallique qui contient du nickel au contact de la peau. Les patients allergiques sont donc exclus de cette étude. Il peut y avoir un léger inconfort à porter cet appareil en permanence.

Le risque de la DEXA se situe au niveau de l'exposition aux rayons X qui se chiffre à 0,03 millirem, ce qui est inférieure à l'exposition ambiante naturelle pour une journée et qui représente moins que la dose maximale permise par année. Toutes les patientes réaliseront un test de grossesse avec un échantillon urinaire avant de réaliser ce test. Si vous êtes enceinte, vous serez exclue de l'étude.

Bénéfices

Cette étude vous permettra d'avoir une analyse de votre profil alimentaire, de votre profil d'activité physique, des informations sur votre composition corporelle et la fréquence et l'importance de vos fluctuations glycémiques. Néanmoins, il est possible de vous offrir des soins optimaux sans ces informations. Les informations que nous recueillerons grâce à votre participation à cette étude peuvent nous aider à mieux comprendre le rôle des fluctuations glycémiques sur le stress oxydatif et le système immunitaire en relation avec la survenue du diabète secondaire à la fibrose kystique. Ce projet de recherche pourrait donc être bénéfique pour les personnes atteintes de fibrose kystique.

Participation volontaire et possibilité de retrait de l'étude

Votre participation est tout à fait volontaire et vous êtes totalement libre de participer ou non au présent projet de recherche. De plus, vous êtes libre, en tout temps, de vous retirer du projet sans que cela n'entraîne aucun inconvénient pour vous et vous continuerez de bénéficier des services et soins

de santé dont vous bénéficiez actuellement. Si vous décidez de vous retirer de l'étude, vous devrez aviser le chercheur (Dr. Rabasa-Lhoret).

Le chercheur pourrait également vous retirer de l'étude sans votre consentement, notamment s'il estime que cela n'est plus dans votre meilleur intérêt.

Le chercheur s'engage à vous faire savoir tout nouveau développement qui pourrait influencer votre décision de participer à l'étude.

Confidentialité

Avec votre autorisation, votre médecin traitant sera avisé de votre participation à l'étude.

Durant votre participation à ce projet, le chercheur responsable ainsi que son personnel recueilleront et consigneront dans un dossier de recherche les renseignements vous concernant. Seuls les renseignements nécessaires pour répondre aux objectifs scientifiques de ce projet seront recueillis.

Ces renseignements peuvent comprendre les informations contenues dans vos dossiers médicaux concernant votre état de santé passé et présent, vos habitudes de vie ainsi que les résultats de tous les tests, examens et procédures que vous aurez à subir durant ce projet. Votre dossier peut aussi comprendre d'autres renseignements tels que votre nom, votre sexe, votre date de naissance et votre origine ethnique.

Tous les renseignements recueillis demeureront strictement confidentiels dans les limites prévues par la loi. Afin de préserver votre identité et la confidentialité des renseignements, vous ne serez identifié(e) que par un numéro de code. La clé du code reliant votre nom à votre dossier de recherche sera conservée par le chercheur responsable.

Le chercheur responsable du projet utilisera les données à des fins de recherche dans le but de répondre aux objectifs scientifiques du projet décrits dans le formulaire d'information et de consentement. Ces données seront conservées pendant 10 ans par le chercheur responsable.

Les données pourront être publiées dans des revues spécialisées ou faire l'objet de discussions scientifiques, mais il ne sera pas possible de vous identifier.

À des fins de surveillance et de contrôle, votre dossier de recherche ainsi que vos dossiers médicaux, s'il y a lieu, pourront être consultés par une personne mandatée par le comité d'éthique de la recherche du CHUM ou par

l'établissement, par une personne des organismes réglementaires (ex. Santé Canada). Toutes ces personnes et ces organismes adhèrent à une politique de confidentialité.

À des fins de protection, notamment afin de pouvoir communiquer avec vous rapidement, vos noms et prénoms, vos coordonnées et la date de début et de fin de votre participation au projet seront conservés pendant un an après la fin du projet dans un répertoire à part maintenu par le chercheur responsable ou par l'établissement.

Vous avez le droit de consulter votre dossier de recherche pour vérifier les renseignements recueillis, et les faire rectifier au besoin, et ce, aussi longtemps que le chercheur responsable du projet ou l'établissement détiennent ces informations. Cependant, afin de préserver l'intégrité scientifique du projet, vous pourriez n'avoir accès à certaines.

Communication des renseignements généraux

Vous pourrez connaître les résultats généraux de cette étude si vous en faites la demande à la fin de l'étude. Un rapport d'étude clinique écrit sera distribué aux sites à la fin de l'étude.

Compensation

Vous recevrez une somme de 150.00\$ en compensation des frais encourus et des contraintes subies en raison de votre participation à cette étude.

Indemnisation en cas de préjudice et droits du sujet de recherche

Si vous deviez subir quelque préjudice que ce soit dû à votre participation au projet de recherche, vous recevrez tous les soins et services requis par votre état de santé, sans frais de votre part.

En acceptant de participer à ce projet, vous ne renoncez à aucun de vos droits ni ne libérez les chercheurs, l'organisme subventionnaire, ou l'établissement de leur responsabilité civile et professionnelle.

Financement

Le chercheur responsable du projet a reçu un financement de l'organisme subventionnaire pour mener à bien ce projet de recherche.

Personnes-ressources

Vous pouvez obtenir plus de renseignements concernant l'étude ou votre participation en communiquant avec :

-Le Dr. Rémi Rabasa-Lhoret au (514) 987-5666. Vous pouvez obtenir de l'aide médicale 24 heures sur 24 en téléphonant au service de messages aux médecins du CHUM au (514) 890-8000 poste 14444. Le service des messages peut joindre Dr. Rabasa-Lhoret en tout temps.

- Ou son assistante de recherche au (514) 890-8000 poste 12906 ou au (514) 987-5668.

Pour de plus amples informations au sujet de vos droits en tant que sujet de recherche ou si vous avez une plainte ou des commentaires à formuler, vous pouvez communiquer avec M^{me} Rita Crisante, commissaire local de la qualité des services à l'Hôtel-Dieu du CHUM ((514) 890-8000 poste 12761) ou la Dre Madeleine Roy, membre du Comité d'éthique de l'IRCM ((514) 987-5636).

Surveillance des aspects éthiques du projet de recherche

Le comité d'éthique de la recherche du CHUM a approuvé ce projet de recherche et en assure le suivi. De plus, il approuvera au préalable toute révision et toute modification apportée au formulaire d'information et de consentement et au protocole de recherche.

Consentement

Je déclare avoir pris connaissance du présent formulaire de consentement. Je reconnais que la nature et le déroulement du projet de recherche m'ont été expliqués, qu'on a répondu à toutes mes questions et qu'on m'a laissé le temps voulu pour prendre une décision.

Je comprends en quoi consiste ma participation à cette étude et j'accepte volontairement et librement d'y participer. On me remettra une copie signée et datée du présent formulaire. Un exemplaire sera également inséré dans mon dossier médical pour des raisons de sécurité et je comprends donc que cette information sera disponible à toute personne ou organisme à qui j'autoriserai l'accès à mon dossier.

En signant le présent formulaire, je ne renonce à aucun de mes droits légaux ni ne libère le chercheur, l'hôpital ou le commanditaire de leur responsabilité civile et professionnelle.

J'autorise Je n'autorise pas

Le chercheur ou son équipe à informer mon médecin de famille et à lui transmettre toute information pertinente.

Coordonnées du médecin : _____

Nom du participant	
Signature du participant	
Date	

Personne ayant expliqué le formulaire d'information et de consentement

J'ai expliqué au sujet de recherche les termes du présent formulaire d'information et de consentement et j'ai répondu aux questions qu'il m'a posées.

Nom de la personne chargée de la discussion sur le consentement	
Signature de la personne chargée de la discussion sur le consentement	
Date	

Engagement du chercheur

Je certifie qu'on a expliqué au sujet la nature du projet de recherche ainsi que le contenu du présent formulaire, qu'on a répondu à toutes ses questions et qu'on lui a indiqué qu'il/elle reste à tout moment libre de mettre un terme à sa participation. Une copie signée et datée de ce formulaire lui sera remise.

Nom du chercheur	Dr Rémi Rabasa-Lhoret ou _____
Signature du chercheur	
Date	

Distribution du formulaire de consentement

- Remettre une copie originale au patient.
- Placer une copie dans le dossier médical du patient.
- Garder une copie originale aux dossiers du chercheur.

Curriculum vitæ

Formation académique

- 2008-2014 Doctorat (Ph.D) en nutrition (passage direct M.Sc /Ph.D été 2011)
Département de nutrition, Faculté de médecine, Université de Montréal
Directeur: Rémi Rabasa-Lhoret MD Ph.D, Co-directeur : Martin Richter, Ph.D
- 2005-2008 Baccalauréat ès sciences en biochimie (B.Sc.) (Hons), *magna cum laude*,
Département de biochimie, Faculté des sciences, Université d'Ottawa

Publications

1. **Ziai S**, Coriati A, Chabot K, Mailhot M, Richter MV, Rabasa-Lhoret R. *Agreement of bioelectric impedance analysis and dual-energy x-ray absorptiometry for body composition evaluation in adults with cystic fibrosis*. J Cyst Fibros. 2014.
2. **Ziai S**, Coriati A, Gauthier MS, Rabasa-Lhoret R, Richter MV. *Could T cells be involved in lung deterioration and hyperglycemia in cystic fibrosis?* Diabetes Res Clin Pract 105(1): 22-29
3. **Ziai S**, Belson L, Malet A, Tardif A, Berthiaume Y, Coderre L, Rabasa-Lhoret R. *The association between leptin and insulin levels in adults with cystic fibrosis*. Diabetes Metab. 2012 Feb;38(1):34-9.
4. **Ziai S**, Elisha B, Hammana I, Tardif A, Berthiaume Y, Coderre L, Rabasa-Lhoret R. *Normal total and high molecular weight adiponectin levels in adults with cystic fibrosis*. J Cyst Fibros. 2011 Dec;10(6):483-6.

5. **Ziai S**, Belson L, Hammana I, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. *Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis*. J Cyst Fibros. 2011 Mar;10(2):145. (Lettre à l'éditeur)
6. Coriati A, Belson L, **Ziai S**, Haberer E, Gauthier MS, Maillhot G, Coderre L, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. *Impact of sex on insulin secretion in cystic fibrosis*. J Clin Endocrinol Metab. 2014 May;99(5):1767-73.
7. Coriati A, Elisha B, Virassamynaik S, Phaneuf M, **Ziai S**, Gauthier MS, Rabasa-Lhoret R. *Diagnosis of cystic fibrosis-related glucose abnormalities: Can we shorten the standard oral glucose tolerance test?* Appl Physiol Nutr Metab. 2013 Dec;38(12):1254-9.
8. Ishimo MC, Belson L, **Ziai S**, Levy E, Berthiaume Y, Coderre L, Rabasa-Lhoret R. *Hypertriglyceridemia is associated with insulin levels in adult cystic fibrosis patients*. J Cyst Fibros. 2013 May;12(3):271-6.
9. Coderre L, Fadainia C, Belson L, Belisle V, **Ziai S**, Maillhot G, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. *LDL-cholesterol and insulin are independently associated with body mass index in adult cystic fibrosis patients*. J Cyst Fibros. 2012 Sep;11(5):393-7.
10. Lavoie ME, Rabasa-Lhoret R, **Ziai S**, Lavoie JC. *Blood glutathione peroxidase activity in relation with risk of cardiovascular diseases in obese women*. Diabetes Metab. 2011 Sep, 2:6.
11. Elisha B, **Ziai S**, Karelis AD, Rakel A, Coderre L, Imbeault P, Rabasa-Lhoret R. *Similar associations of total adiponectin and high molecular weight adiponectin with cardio-metabolic risk factors in a population of overweight and obese postmenopausal women: a MONET study*. Horm Metab Res. 2010 Jul;42(8):590-4.
12. Lemaire S, Trinh TT, Le HT, Tang SC, Hincke M, Wellman-Labadie O, **Ziai S**. *Antimicrobial effects of H4-(86-100), histogranin and related compounds--possible involvement of DNA gyrase*. FEBS J. 2008 Nov;275(21):5286-97.