

Université de Montréal

**Anomalies de la tolérance au glucose chez les patients atteints de fibrose
kystique**
Nouveaux facteurs de risque

Par

Johann Colomba

Faculté de Médecine, Département de Nutrition de l'Université de Montréal.

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Docteur en Nutrition

Mai 2020

© Johann Colomba, 2020

Université de Montréal

Département de Nutrition, Faculté de Médecine

Cette thèse intitulée

Anomalies de la tolérance au glucose chez les patients atteints de fibrose kystique

Nouveaux facteurs de risque

Présentée par

Johann Colomba

A été évaluée par un jury composé des personnes suivantes

Valérie Marcil

Président-rapporteur

Rémi Rabasa-Lhoret

Directeur de recherche

Jennifer Estall

Membre du jury

André Cantin

Examineur externe

Jean-Claude Moubarac

Représentant de la Doyenne

Résumé en Français

Introduction : La fibrose kystique (FK) est une maladie génétique qui atteint plusieurs organes dont le pancréas, le foie et les poumons. Elle s'exprime par une accumulation de mucus visqueux qui va entraîner une altération des fonctions de ces organes. Les progrès scientifiques ont permis d'améliorer la condition de vie et d'augmenter considérablement l'espérance de vie des patients atteints de FK. L'amélioration de l'espérance de vie des patients FK est associée à l'apparition d'anomalies de la tolérance au glucose précédant l'apparition du diabète associé à la FK (DAFK). Le DAFK présente des similitudes avec le diabète de type 1 [DT1] (faible poids, faible sécrétion d'insuline) et le diabète de type 2 [DT2] (intolérance au glucose, anomalies de la sensibilité à l'insuline), mais il est spécifique pour ses causes et ses conséquences. Le DAFK est associé à un risque accru de perte de poids, de réduction de la fonction pulmonaire et de mortalité précoce et touche 50 % des patients adultes. La principale cause de ce diabète est décrite par une sécrétion d'insuline réduite et retardée. Les facteurs de risque, menant au développement du DAFK et les conséquences de son apparition ne sont pas encore bien comprises. La diète (riche en lipides et en énergie) recommandée en FK visant à maintenir un poids adéquat pourrait être responsable de l'accumulation de graisse ectopique, de résistance à l'insuline, de stéatose hépatique et d'anomalies du bilan lipidique rapportés en FK. Pour les patients sans FK, ces anomalies sont associées au développement du DT2.

Objectif : Le but de ce travail de thèse visait à l'identification de nouveaux facteurs de risque d'anomalies de la tolérance au glucose dans une population d'adultes atteints de FK.

Méthode : Pour cela nous avons i) observé l'évolution de la sécrétion d'insuline chez les patients FK âgés ; ii) identifié l'association entre les enzymes hépatiques et la prévalence du DAFK ; iii) identifié la prévalence de dyslipidémie chez les patients FK adultes et l'association avec le risque de développement du DAFK.

Résultats : Nos résultats ont montré que les patients FK adultes présentent une sécrétion d'insuline altérée, mais qu'elle ne se dégrade pas davantage sur une décennie. Par contre, sur la même période, les patients deviennent plus résistants à l'insuline. Nous avons mis en évidence l'existence d'une relation entre le niveau d'enzymes alanine aminotransférase (ALT) élevé et la prévalence de DAFK. Enfin, nous avons montré l'existence d'une forte prévalence de dyslipidémie en FK, mais ces anomalies ne sont pas associées à la survenue du DAFK.

Conclusion : Ces travaux ont permis de mieux comprendre l'association entre différents facteurs de risque en lien avec les anomalies de la tolérance au glucose chez des patients adultes FK. Nous avons identifié un mécanisme et un possible biomarqueur du DAFK, les enzymes hépatiques ALT, chez les patients FK adultes. Ces données peuvent fournir un rationnel pertinent pour la poursuite d'autres études cliniques dans le but d'améliorer la qualité de vie des patients atteints de FK.

Mots-clés : Fibrose kystique, diabète, DAFK, insuline, résistance à l'insuline, dyslipidémie, triglycérides, enzymes hépatiques, stéatose.

Summary

Introduction: Cystic fibrosis (CF) is a genetic disorder that affects several organs including the pancreas, liver, and lungs. It is expressed by an accumulation of viscous mucus which will cause an impairment of the functions of these organs. Scientific advances have improved the condition of life and significantly increased the life expectancy of patients with CF. This improved life expectancy of CF patients is associated with the onset of glucose tolerance abnormalities before the onset of CF-associated diabetes (CFRD).

CFRD has similarities with type 1 diabetes [T1D] (low body weight, low insulin secretion) and type 2 diabetes [T2D] (glucose intolerance, abnormal insulin sensitivity), but it is specific for its causes and consequences. CFRD is associated with an increased risk of weight loss, reduced lung function and early mortality and affects 50% of adult patients. The main cause of this diabetes is described as a reduced and delayed insulin secretion. The risk factors leading to the development of CFRD and the consequences of its appearance are not well understood. The diet (rich in lipids and energy) recommended in CF, that aims at maintaining an adequate body weight, could be responsible for the accumulation of ectopic fat, insulin resistance, fatty liver and abnormalities of the lipid balance reported in FK. For patients without CF these anomalies are associated with the development of T2D.

Objective: The aim of this thesis work was to identify new risk factors for abnormal glucose tolerance in a population of adults with CF.

Method: For this we have i) observed the evolution of insulin secretion in elderly CF patients; ii) identified the association between liver enzymes and the prevalence of CFRD; iii) studied the prevalence of dyslipidemia in adult CF patients and the association with the risk of developing CFRD.

Results: Our results have shown that adult CF patients have impaired insulin secretion, but it has not degraded further over a decade. However, over the same period, patients become more resistant to insulin. We have highlighted a relationship between the high alanine aminotransferase (ALT) enzyme level and the prevalence of CFRD. Finally, we have shown the existence of a high prevalence of dyslipidemia in CF but these anomalies are not associated with the occurrence of CFRD.

Conclusion: This work has made possible to better understand the association between different risk factors linked to glucose tolerance abnormalities in adult CF patients. We have identified a mechanism and a possible biomarker, ALT hepatic enzyme, of CFRD in adult CF patients. These data may provide a relevant rationale for the pursuit of other clinical studies in order to improve the quality of life of patients with CF.

Keywords: Cystic fibrosis, diabetes, CFRD, insulin, insulin resistance, dyslipidemia, triglycerides, liver enzymes, steatosis.

Table des matières

Résumé en Français	3
Summary	5
Liste des tableaux	9
Liste des figures	9
Liste des sigles et abréviations	10
Dédicace	12
Remerciements	14
Avant-propos	16
CHAPITRE 1- MISE EN CONTEXTE	18
1.1. La Fibrose kystique	18
1.1.1 Définition de la maladie	18
1.1.2. Prévalence et fardeau de la FK	18
1.1.3. Génétique	19
1.1.4. Physiopathologie de la FK	20
1.1.5. Complications	22
1.1.5.1. Complications pulmonaires	22
1.1.5.2. Complications pancréatiques	23
1.1.5.3. Complications gastro-intestinales	24
1.1.5.4. Complications et maladies osseuses	25
1.1.5.5. Fertilité	26
1.1.6. Dépistage de la maladie de la FK	27
1.1.6.1. Le test de sudation	27
1.1.6.2. Dépistage par génotypage	28
1.1.7. Traitements actuels en FK	28
1.1.7.1. Thérapies pulmonaires	28
1.1.7.2. Physiothérapie	29
1.1.7.3. Thérapies nutritionnelles	29
1.1.7.4. Mode de vie / activité physique	30
1.1.7.5. Traitements pharmacologiques	31
2. Anomalies glycémiques en FK	31
1.2.1. Présentation clinique du diabète associé à la fibrose kystique (DAFK)	31
1.2.2. Introduction au métabolisme des glucides	33
1.2.2.1. Digestion, absorption et métabolisme des glucides alimentaires	33
1.2.2.2. La glycogénolyse	34
1.2.2.3. La néoglucogenèse	34
1.2.3. Physiopathologie du DAFK	34
1.2.3.1. Altération dans la sécrétion d'insuline	34
1.2.3.2. La résistance à l'insuline	36
1.2.3.3. Autres facteurs impliqués dans l'apparition du DAFK	38
1.2.4. Dépistage des anomalies glycémiques en FK	39
1.2.5. Traitements actuels pour le DAFK	41
1.3. Facteurs de risque et anomalies glycémiques en FK	43
1.3.1. L'âge comme facteur de risque du DAFK	43
1.3.2. La maladie du foie comme facteur de risque du DAFK	46
1.3.2.1. Introduction au foie et complications en FK	46
1.3.2.2. Le rôle des enzymes hépatiques : ALT, AST et GGT	47
1.3.3. Les lipides comme facteur de risque du DAFK	48
1.3.3.1. Contribution des TG dans la résistance hépatique	48

1.3.3.2. Contribution des lipoprotéines de haute densité (HDL)	49
CHAPITRE 2- HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS	51
2.1. Justification et but du projet de recherche	51
2.2. Objectifs et hypothèses	53
CHAPITRE 3- MÉTHODOLOGIE	56
3.1. Population	56
3.1.1. Cohorte de FK de Montréal	56
3.1.2. Déroulement de l'étude	56
3.2. Méthodes et mesures	57
3.2.1. Test HGPO	57
3.2.1.1. Mesure de la glycémie	57
3.2.1.2. Mesure de l'insulinémie	58
3.2.1.3. Estimation de la sensibilité à l'insuline	58
3.2.2. Analyses sanguines	60
3.2.2.1. Hémoglobine glyquée (HbA1c)	60
3.2.2.2. Bilan lipidique (Triglycérides, HDL)	60
3.2.2.3. Bilan hépatique (ALT, AST, GGT)	60
3.2.3. Insuffisance pancréatique	60
3.2.4. Fonction pulmonaire	60
3.2.5. Mesures anthropométriques	61
3.2.5.1. Taille, poids et tour de taille	61
3.2.5.2. Pourcentage de gras et IMC	61
CHAPITRE 4- RÉSULTATS	63
4.1. Article 1: "The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity". JCF, doi: 10.1016/j.jcf.2019.01.009.	64
4.2. Article 2: "Hepatic enzyme ALT as a predictor of glucose abnormality in men with cystic fibrosis." PLoS ONE, doi.org/10.1371/journal.pone.0219855.	84
4.3. Article 3: "Dyslipidemia is not associated with the development of glucose intolerance or diabetes in cystic fibrosis." doi : 10.1016/j.jcf.2020.04.004	103
CHAPITRE 5- DISCUSSION	125
5.1. La sécrétion d'insuline au cours du vieillissement en FK	126
5.2. Les facteurs hépatiques dans le DAFK	130
5.3. La dyslipidémie en FK et le risque de développement de DAFK	132
5.4. Forces et limites des études	134
5.5. Perspectives futures	136
CHAPITRE 6- CONCLUSION	138
RÉFÉRENCES	141

Liste des tableaux

Table 1. Complications de la fibrose kystique aux États-Unis.	26
Table 2. Comparaison du DAFK avec le DT1 et le DT2.....	33
Table 3. Les transporteurs de glucose et leurs fonctions.	38

Liste des figures

Fig 1. Classe de mutation génétique en fibrose kystique.....	19
Fig 2. Transmission parentale de la maladie de la FK.....	20
Fig 3. « Gating » du canal CFTR.....	21
Fig 4. Valeurs plasmatiques d'insuline lors d'un test HGPO.....	36
Fig 5. Courbe de glycémie lors de l'HGPO selon les classes de tolérance au glucose.....	41
Fig 6. Captation du glucose sanguin par la cellule musculaire.....	43
Fig 7. Effet clinique du vieillissement sur l'organisme.....	45
Fig 8. Prévalence du DAFK selon groupe d'âge chez les 527 patients.....	45
Fig 9. Transport des lipides dans l'organisme.....	50

Liste des sigles et abréviations

ADA	American diabetes Association (= Association américaine du diabète)
ADN	Acide désoxyribonucléique
ALT	Alanine aminotransférase
AMP-k	AMP-Activated protein kinase
Apo-B	Apolipoprotéine B
ARN	Acide ribonucléique messenger
AST	Aspartate aminotransférase
AVC	Accident vasculaire cérébral
AP	Activité physique
CFTR	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CHOL	Cholestérol
CHUM	Centre hospitalier de l'université de Montréal
CRP	Protéine C-réactive
CFKM	Cohorte de fibrose kystique de Montréal
DAFK	Diabète associé à la Fibrose kystique
DT1	Diabète de type 1
DT2	Diabète de type 2
FK	Fibrose kystique
GGT	Gamma-glutamyl-transférase
GLUT	Glucose Transporter
VEMS	Volume expiratoire maximum en 1 seconde (fonction respiratoire)
HDL-Chol	Lipoprotéines de haute densité transporteur de cholestérol
IMC	Indice de masse corporelle
IRCM	Institut de recherches cliniques de Montréal

IRS	Récepteur de l'insuline
Kcal	Kilocalorie
LDL-Chol	Lipoprotéines de faible densité transporteur de cholestérol
LPS	Lipopolysaccharides
MCV	Maladie cardiovasculaire
MG	Masse grasse
MGV	Masse grasse viscérale aussi appelée tissu adipeux viscéral (TAV)
OMS	Organisation mondiale de la santé
SCFA	Short chain fatty acid (Acide gras volatils [AGV])
SGLT2	Sodium/glucose co-transporteur 2
TG	Triglycerides
TNF- α	Tumor necrosis factor alpha
VLDL	Lipoprotéines de très basse densité

Dédicace

À ma tendre épouse,

Qui a été une aide des plus précieuses par sa présence dans ma vie, qui m'a offert un soutien particulier pendant cette dernière ligne droite de doctorat, qui a été conciliante pour accepter ces longues heures de travail d'écriture nocturne, qui a accepté de sacrifier son temps pour moi et qui plus que tout, m'a apporté une force enivrante en croyant en moi jusqu'au bout. Je remercie Dieu de l'avoir placée sur mon chemin.

À mes parents,

Qui m'ont permis de devenir qui je suis aujourd'hui, qui ont contribué à l'épanouissement et la réussite de leurs deux enfants dans leurs études supérieures. Je remercie ma mère pour le foyer et les sacrifices ainsi que mon père pour la famille et l'héritage spirituel, et pour m'avoir toujours poussé à me surpasser. Je les remercie sincèrement pour l'éducation, le soutien et de m'avoir permis de relever ce grand défi que représente l'école.

À ma sœur,

Qui a su croire en son petit frère en l'accompagnant durant ce long chemin académique, et en lui permettant de tenir et d'aller jusqu'au bout en croyant tous les jours en sa réussite même dans les moments les plus difficiles. Merci pour ses demandes d'analyses de dernières minutes pour ses congrès de médecine, qui m'ont permis de développer des compétences statistiques jusqu'alors méconnues ! Merci à son mari et à leurs filles, ce foyer qui m'a tant de fois accueilli et visité ici au Canada.

À mes cousines leurs maris et leurs enfants, qui ont su malgré la distance outre-Atlantique m'accompagner par leurs encouragements, leurs chaleureux messages et leurs prières.

Merci à ma belle-famille, qui m'a accueilli ici à Montréal, qui m'a ouvert son foyer et son cœur, qui m'a supporté pendant ces années d'études au Québec loin des miens. Merci à la doyenne Mamie pour les prières et les voyages visant à réunir la famille. Merci au « bro » Steeve pour la persévérance et la force !

À la Team SUDJ,

À Auguste, Alexis, Hakim, qui ont chacun contribué d'une manière ou d'une autre, à mon épanouissement personnel, par leur impact dans ma vie en tant qu'amis fidèles. Ce parcours

n'aurait pas été possible sans la joie, les rires, les sports, les voyages, l'aventure, les tournj et leur présence à tous (... ou presque !), lors des moments forts de ma vie. Une mention spéciale au Docteur Gus, qui a su me soutenir, m'encourager et me challenger au travers de nos parcours parallèles de doctorat, de Staps à Ph. D. À Dr Ahmed Ghachem, qui m'a soutenu et encouragé durant tout mon doctorat de Sherbrooke à Montréal.

Aux jeunes de mon quartier,

Je tiens à dédier cette réalisation à tous mes amis et collègues de Nanterre. « Une réalité insoupçonnée... » Rappelons-nous toujours que la réussite n'est pas un héritage familial ni social, malgré ce qu'on tend à nous faire entendre... Que nos rêves ne restent pas enterrés, mais que nous puissions avoir la force d'aller de l'avant afin d'accomplir les choses qui nous tiennent à cœurs, en défiant ainsi les obstacles sociaux ou culturels, et en servant d'exemple aux générations futures. Oui, faire de longues études peut sembler insurmontable et parfois même, n'être destiné qu'au plus chanceux, mais la grâce en aura touché un de plus et continuera d'en toucher, si seulement nous persévérons avec foi.

Remerciements

Merci Seigneur pour cette magnifique expérience durant ces années d'études, qui m'a permis de mieux me connaître et de rencontrer de merveilleuses personnes que je veux prendre le temps de remercier.

Je tiens tout d'abord à remercier le Dr Rémi Rabasa-Lhoret, sans qui tout ce travail de recherche n'aurait été possible. Plus qu'un Directeur, une personne au grand cœur. Je tiens à le remercier pour son mentorat, son accompagnement, sa patience, et pour m'avoir soutenu durant cette belle expérience au sein de l'Institut de Recherches cliniques de Montréal (IRCM). Je le remercie pour m'avoir accueilli, recueilli, pour m'avoir ouvert la porte de son labo, pour avoir été disponible à l'écoute, et pour avoir cru en moi jusqu'au bout. Je pense qu'aucun laboratoire ne pourra jamais égaler ce que ce grand Monsieur nous permet de vivre tant sur le plan de la construction de notre carrière scientifique que dans notre épanouissement personnel.

Je tiens également, à remercier mes collègues et étudiants qui ont contribué de près ou de loin à mes travaux de recherche en FK, Valérie Boudreau, Anne Bonheure, Cindy Bergeron, Adèle Coriati. Je remercie, les étudiants en Nutrition Élisabeth Nguyen, Lucas Goulet-Gélinas pour leur accompagnement dans notre vie au laboratoire. Un remerciement particulier à Katherine Desjardins et Valérie Boudreau qui ont effectué les relectures des versions préliminaires de cette thèse et fourni des commentaires constructifs.

J'aimerais remercier toute l'équipe du laboratoire IRCM pour leur accueil et la précieuse aide durant mon travail au sein du laboratoire de la Plateforme de recherche en obésité métabolisme et diabète. Un grand merci à l'équipe d'infirmières, Daniela Bojvan, Valérie Parent, Marie Raffray, Marie Darveaux, ainsi que toutes les personnes ressources, Diane Migneault, Virginie Messier, Katherine Desjardins, Josée Thérien.

J'aimerais également remercier toute l'équipe de Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) pour leur support. Merci aux infirmières du CHUM du service d'endocrinologie, Anne, Sarah, Lucrétia, pour leur patience et leur travail. Merci à Marjolaine Maillot, nutritionniste au CHUM, qui a su m'apporter une aide précieuse autour des recommandations nutritionnelles faites aux patients FK.

Un grand merci à tous les patients qui ont contribué à la construction de bases de données et qui ont donné beaucoup de leur temps pour la recherche permettant ainsi aux étudiants de s'investir en recherche clinique. Merci pour leur contribution volontaire à la recherche.

Je tiens particulièrement à remercier les sources de financement qui m'ont soutenu lors de mon programme de doctorat. Un grand merci au réseau de recherche en santé cardiometabolique diabète et obésité (CMDO) pour la bourse de stage intercentre de 10 k \$ octroyés sur concours. Merci à l'Université de Montréal pour les multiples bourses et prix. Je tiens également à remercier la chaire de recherche du Dr Rémi Rabasa-Lhoret, J-A Desève, pour son soutien financier d'une bourse nominative annuelle de doctorat.

Avant-propos

Kinésologue de formation, je me suis intéressé depuis tout jeune aux sciences du vivant avec un engouement particulier pour la biologie et la physiologie. Avec une carrière de sportif (basketteur) très rapidement entamée, je me suis dirigé dans un cursus universitaire en Sciences et Technologies des Activités Physiques et Sportives (STAPS) à l'Université de Paris-Ouest Nanterre La Défense. Par la suite j'ai eu l'occasion de voyager pour un échange universitaire qui m'aura donné l'opportunité d'intégrer le laboratoire de recherche en santé sur le vieillissement de l'Université de Sherbrooke. C'est alors que j'ai découvert le domaine de la recherche dans les sciences de la santé. Lors d'un deuxième échange, j'ai pu intégrer le laboratoire du Dr Rabasa-Lhoret à l'Institut de Recherches Cliniques de Montréal (IRCM) ce qui m'a permis de travailler sur une des plus grosses cohortes en Fibrose kystique (FK), pour étudier une complication émergente : le diabète associé à la fibrose kystique (DAFK).

Cette maladie génétique aussi connue dans d'autres pays francophones sous le nom de mucoviscidose était alors un tout nouvel univers pour moi. Mon intérêt a été stimulé par le fait que le diabète est présent chez plus de 50 % des patients adultes. C'est donc à l'IRCM que je commençais à m'intéresser aux anomalies de la tolérance au glucose chez les patients atteints de FK afin de contribuer à mieux comprendre les facteurs de risque de cette complication de la FK qui est la plus fréquente après les atteintes pulmonaires.

Le diabète de type 2 (DT2) est la forme la plus fréquente de diabète et touche actuellement plus de 400 millions de personnes. Les complications du diabète sont la cause de 1,3 million de décès chaque année. Bien que l'hérédité soit un facteur de risque majeur du DT2, dans la population générale, les anomalies lipidiques sont fréquentes et associées à des facteurs de risque tels que l'obésité, la sédentarité et une mauvaise qualité alimentaire. Les anomalies de certaines lipoprotéines incluant la présence de triglycérides élevés ou de HDL-cholestérol bas sont fortement associées à la survenue du risque cardiométabolique qui comprend le DT2. Les mêmes facteurs de risque sont associés à une grande fréquence de certaines maladies du foie (stéatose, stéato-hépatite non alcoolique) qui sont elles-mêmes associées à une grande fréquence de diabète de type 2. Les deux principaux mécanismes qui contribuent au diabète de type 2 sont : une sécrétion d'insuline réduite et retardée ainsi qu'une résistance à l'action de l'insuline.

Au-delà des prédispositions génétiques et de l'âge, le mode de vie (nutrition, activité physique) va contribuer de façon très significative au développement du diabète. Un mode de vie sain réduit significativement le risque de développer le diabète de type 2.

La fibrose kystique (FK) est une maladie génétique autosomique dominante qui touche environ 1 personne sur 3 600. Cette maladie est reliée à une mutation sur le canal *CFTR* qui occasionne des sécrétions visqueuses. La principale manifestation est une atteinte pulmonaire avec de la toux et des infections répétées qui mènent à une baisse de la fonction pulmonaire. Il existe de multiples autres atteintes dont celles du pancréas qui touche à la fois le pancréas exocrine et endocrine. L'atteinte exocrine occasionne une baisse de la sécrétion d'enzymes pancréatiques responsable d'un déficit d'absorption des nutriments qui se traduit par un risque de malnutrition. L'atteinte endocrine contribue à la destruction des îlots de Langerhans où l'insuline est produite ce qui occasionne une grande fréquence de diabète. On parle alors de diabète associé à la FK (DAFK) qui a une physiopathologie distincte du diabète de type 2 avec un rôle prépondérant de la baisse de sécrétion de l'insuline. Au cours des 50 dernières années, l'espérance de vie s'est énormément améliorée passant de 18 à 52 ans au Canada. Cependant, les multiples complications de la FK et les processus biologiques qui les accompagnent, par exemple le stress oxydant, peuvent occasionner un vieillissement prématuré.

Dans ce travail nous explorons si des mécanismes connus pour être associés et possiblement en cause de la survenue du diabète de type 2 (dyslipidémies et maladies hépatiques) sont associés à la survenue d'anomalies de la tolérance au glucose en FK. Nous évaluons aussi si les mécanismes connus pour prédisposer au DAFK chez les sujets les plus jeunes s'appliquent aux patients les plus âgés. Enfin dans la discussion nous exposons brièvement un projet en cours dans lequel nous étudions si des interventions portant sur le mode de vie peuvent influencer les excursions glycémiques après un repas.

CHAPITRE 1- MISE EN CONTEXTE

1.1. La Fibrose kystique

1.1.1 Définition de la maladie

Découverte en 1938 par Dorothy Anderson, la fibrose kystique (FK), également connue sous le nom de mucoviscidose, est une maladie génétique autosomique récessive [1]. Elle est provoquée par la mutation du gène codant pour le Régulateur de la conductivité transmembranaire de la FK ou « *Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator* » (*CFTR*), un canal qui est impliqué dans les flux liquidiens à la surface des cellules. La FK est caractérisée par un dysfonctionnement sécrétoire épithélial responsable d'une accumulation de mucus visqueux associé à une obstruction des canaux entraînant : une obstruction des voies aériennes et des infections respiratoires chroniques qui conduisent à l'insuffisance respiratoire, l'insuffisance pancréatique exocrine et endocrine, qui induit une malabsorption de nutriments et une forme spécifique de diabète, une perte excessive du chlorure de sodium, de possibles problèmes hépatiques ou de fertilité et une majoration de la dépense énergétique. Le diagnostic biologique repose sur le test de la sueur (chlorure > 60 mmol / L) confirmé par la présence d'une mutation sur deux allèles du gène *CFTR*. La FK est responsable de mort prématurée par insuffisance respiratoire terminale.

1.1.2. Prévalence et fardeau de la FK

La FK est la maladie génétique récessive rare mortelle la plus fréquente affectant les individus caucasiens, environ 1 cas sur 3 600 naissances [2]. Elle touche moins de 0,01 % de la population américaine (30 000 patients en 2017, dont 53,5 % sont des adultes) et canadienne (4 300 patients en 2018, dont 61 % sont des adultes). Le nombre de patients diagnostiqués pour la FK dans le monde est d'environ 70 000. Les progrès scientifiques permettent de voir le nombre d'adultes s'accroître tandis que le nombre d'enfants reste stable. La mise en place du dépistage néonatal systématique depuis 2007 au Canada a permis de passer en 10 ans de 10 % à plus de 57 % des diagnostics obtenus dès la naissance. Actuellement, plus de 80 % des patients sont diagnostiqués avant l'âge de 3 ans [3] et seulement 7 % ont un diagnostic tardif, soit après 18 ans [2]. La prise en charge précoce ainsi que les conseils génétiques permettent à un couple hétérozygote connu de connaître le risque d'avoir un enfant malade (Fig. 2). La FK reste néanmoins une maladie incurable, mais les progrès de l'intervention thérapeutique ont permis d'augmenter la qualité et

l'espérance de vie des malades. Ainsi, l'espérance de vie médiane a atteint 52,3 ans au Canada en 2017 [2].

1.1.3. Génétique

L'étiologie de la FK est d'ordre génétique, liée à la mutation du gène codant pour le CFTR. Il y a plus de 2 000 mutations connues pour cette maladie [3, 4]. La plupart des tests génétiques dépistent seulement les mutations les plus courantes. Le gène *CFTR* est situé sur le chromosome 7. Selon le registre canadien de FK près de 90 % des patients canadiens atteints possèdent la mutation la plus courante $\Delta F508$ (delta-F508). Cette mutation correspond à une délétion de 3 paires de bases reliées par des ponts d'hydrogène, causant la perte de phénylalanine (F) en position 508 de la protéine CFTR. Chez les patients manifestant cette mutation, environ 50 % possèdent deux fois le même gène mutant, soit $\Delta F508$ homozygotes, correspondant à un génotype associé à la forme classique de la maladie. Les patients hétérozygotes quant à eux, représentent 40 %, tandis que 10 % des patients présentent une mutation autre que $\Delta F508$ sur les deux allèles [2].

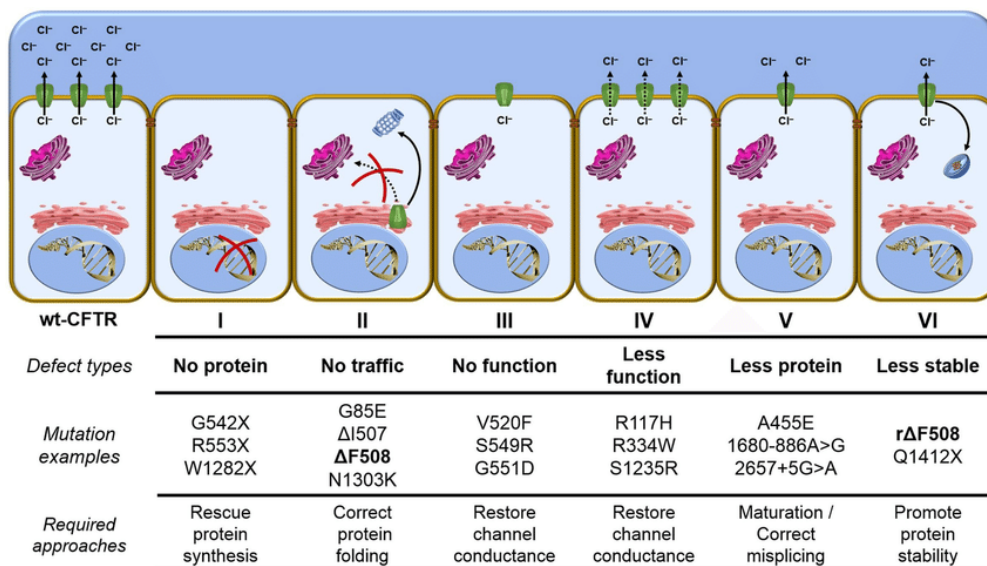


Fig 1. Classe de mutation génétique en fibrose kystique. Tiré de Lopes-Pacheco, 2016 [5].

Pour exprimer la maladie, il faut posséder deux allèles défectueux pour le gène *CFTR*. Une personne porteuse d'une mutation-sur un seul allèle n'est donc pas affectée par la maladie. Un

enfant ayant ses deux parents porteurs à une probabilité de 1 sur 4 d'hériter des deux allèles défectueux et d'exprimer ainsi la maladie (Fig 2).

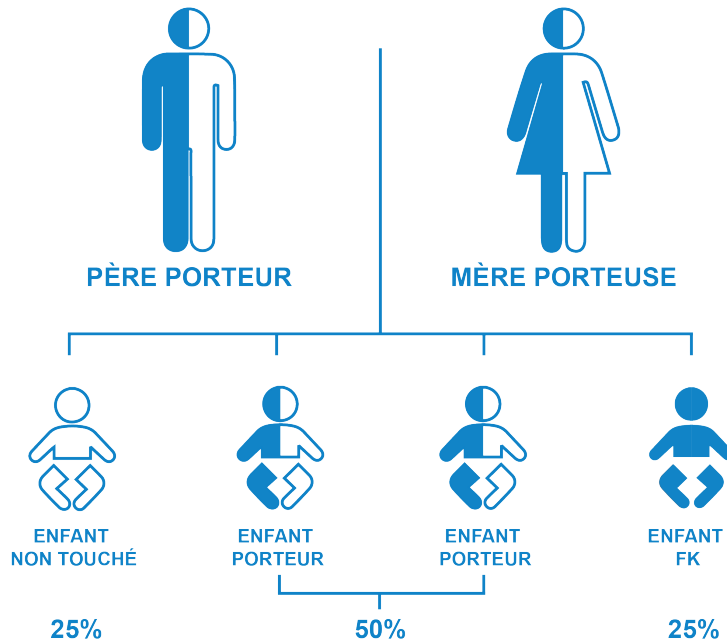


Fig 2. Transmission parentale de la maladie de la FK. Tiré de Fibrose kystique Canada, 2017 [2].

1.1.4. Physiopathologie de la FK

Le CFTR est un canal perméable aux anions tels que le chlorure (Cl^-), le bicarbonate (HCO_3^-), le thiocyanate et autres. Le CFTR joue un rôle important dans la viscosité du mucus entourant les cellules épithéliales. La sécrétion de mucus est physiologique. Elle intervient dans la protection des cellules bronchiales contre le stress oxydatif, l'inflammation des cellules, les pathogènes, les peptides inhalés, et représente une protection épithéliale importante [6]. En condition non pathologique, le canal CFTR permet aux ions Cl^- de passer du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire, régulant ainsi l'hydratation et le pH du mucus du milieu extracellulaire.

L'altération du gène *CFTR* va engendrer la dégradation de la réponse aux ions chlorure. Les cellules épithéliales dans lesquelles le gène *CFTR* mutant est exprimé vont empêcher la libération des ions chlorures ayant pour rôle de réguler la viscosité du mucus excrété à l'extérieur de la cellule. Les ions chlorure restent alors à l'intérieur de la cellule et la concentration en eau et en

sodium (Na^+) va s'accroître menant ainsi à une diminution du pH dans le milieu extracellulaire (plus acide). L'absence d'ions chlorure dans le milieu extracellulaire est responsable de l'accumulation de mucus épais et visqueux causant l'obstruction et/ou de la surinfection et/ou la destruction de certains tissus dans divers organes tels que les poumons, le foie, l'appareil reproductif ainsi que ceux du tube digestif.

Les canaux ioniques, comme le CFTR, sont des protéines membranaires qui facilitent le passage d'ions du milieu intra vers le milieu extracellulaire. L'activation des canaux Cl^- de la protéine codée est exécutée par des cycles de phosphorylation du domaine de régulation, grâce aux liaisons à l'adénosine triphosphate (ATP) aux nucléotides par hydrolyse de l'ATP. La diffusion facilitée utilise les propriétés électriques des membranes biologiques afin de modifier leur perméabilité et de faciliter ainsi la diffusion du substrat par un potentiel électrochimique. On parle de « gating », qui est la capacité d'un canal de passer d'un état ouvert à un état fermé. L'activation des canaux potassiques basolatéraux facilite l'hyperpolarisation et engendre une force électromotrice permettant aux ions Cl^- de sortir de la cellule via ces canaux [3]. Les canaux potassium (K^+) sont définis comme nécessaires pour la libération des ions Cl^- [4]. Les canaux KvLQT1 et KCa3.1 sont deux canaux K^+ présents dans les cellules des épithéliums participant à la sécrétion des ions Cl^- . L'inhibition de ces canaux a démontré une diminution de la sécrétion des ions Cl^- [5]. Dans le CFTR, c'est la protéine kinase A qui stimule l'ouverture du canal ionique. Il a été démontré que ENaC, un canal sodique situé de part et d'autre du CFTR et situé à la membrane apicale des cellules de surface, pouvait également avoir une activité modulée par l'absence de CFTR fonctionnel. Dans ce cas, ENaC accélère la réabsorption du Na^+ et de l'eau entraînant ainsi la déshydratation du milieu extracellulaire responsable de l'accumulation du mucus [6].

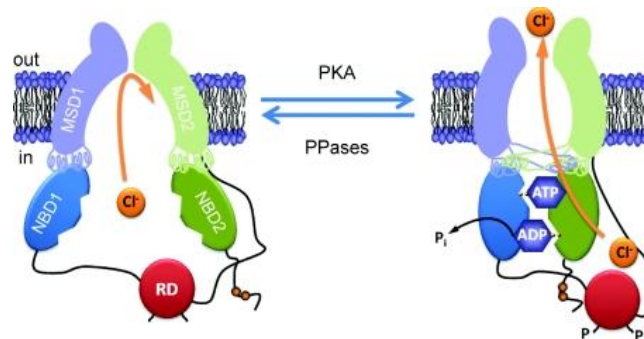


Fig 3. « Gating » du canal CFTR. Tiré de Hwang and Sheppard, 2009 [7].

Le niveau de sévérité de la maladie dépend donc de l'expression génétique, c'est-à-dire du type de mutation et du niveau d'altération (conduction des protéines déficientes, altération du niveau de production des protéines ou défaut d'adressage de la protéine à la membrane apicale de la cellule).

1.1.5. Complications

Les progrès thérapeutiques ont permis d'augmenter l'espérance de vie des patients atteints de FK [2]. Cependant, l'augmentation de l'espérance de vie expose les patients à des complications de cette maladie et à de nouvelles comorbidités. L'atteinte de la FK est souvent progressive avec une évolution chronique. La principale cause de mortalité est d'ordre respiratoire [8]. Les manifestations cliniques de la maladie vont toucher les sinus, les poumons, le pancréas, les systèmes digestif et reproducteur, les glandes sudoripares et plusieurs autres tissus.

1.1.5.1. Complications pulmonaires

L'inflammation, les infections microbiennes chroniques et l'obstruction par le mucus participent à la perte de la fonction pulmonaire, exprimée par le volume expiratoire maximale en 1 seconde (VEMS₁), ainsi qu'à la manifestation de la maladie pulmonaire. La baisse d'activité du gène CFTR va être responsable d'une diminution de la lumière des voies aériennes, de l'évacuation du mucus [9] et de l'activité mucociliaire [10, 11]. Le déclin de la fonction pulmonaire lié à l'âge est inversement corrélé à la mortalité [12]. Les progrès thérapeutiques de ces dernières années ont permis de ralentir le déclin pulmonaire et ainsi améliorer la fonction pulmonaire moyenne de la population FK comparativement aux années précédentes. Selon le dernier registre canadien de FK (2018), la perte moyenne du VEMS₁ chez une personne atteinte de FK est de 1 % par année [2, 13].

Le registre canadien de FK définit l'atteinte pulmonaire par le pourcentage du VEMS₁ obtenu lors d'un test de spirométrie. La classification définit un VEMS₁ \geq 90 % correspondant à une fonction pulmonaire normale ; un VEMS₁ de 70 à 89 % à une atteinte pulmonaire légère ; un VEMS₁ de 40 à 69 % est décrit comme atteinte pulmonaire modérée tandis qu'un VEMS₁ < 40% correspond à une atteinte pulmonaire sévère [2]. L'atteinte pulmonaire peut se développer dès le très jeune âge et peut s'accompagner de dommages au niveau des tissus des poumons. Ces anomalies structurelles et lésions tissulaires irréversibles sont antérieures au déclin pulmonaire et n'ont

parfois pas de conséquence directe sur le VEMS₁ [14]. Les infections pulmonaires sont fréquentes chez les patients FK. Certains évènements d'infections nécessitent une hospitalisation et un traitement par antibiotiques intraveineux [15]. L'augmentation épisodique ou régulière de l'intensité des infections pulmonaires augmente le risque de transplantation et de mortalité chez les patients FK [16, 17]. La fréquence d'exacerbation pulmonaire augmente avec l'âge des patients et accentue le risque de mortalité d'ordre respiratoire.

1.1.5.2. Complications pancréatiques

Le pancréas est un organe ayant à la fois des fonctions exocrines, par la production d'enzymes digestives, de bicarbonate de sodium et d'eau directement au sein du duodénum [18], et endocrines par la production et la sécrétion d'hormones glucorégulatrices, telles que l'insuline et le glucagon, directement dans le système sanguin [19]. Proportionnellement, la masse du pancréas représente à 85 % son implication exocrine et à 15 % son implication endocrine. Au niveau exocrine, les sécrétions pancréatiques d'eau et d'ions vont permettre la dilution et la dissolution du contenu riche en protéines provenant des aliments au sein du duodénum. La production et la sécrétion d'enzymes déversées dans le duodénum et activée par l'acidité du milieu, ont pour rôle de dissocier les molécules constituant les aliments (glucides, protéines et lipides) afin de faciliter leur absorption. Enfin, la sécrétion des ions bicarbonates permet de neutraliser l'acidité du bol alimentaire [18].

Chez les patients atteints de FK la diminution des fonctions du canal CFTR empêche la livraison des enzymes pancréatiques vers le duodénum. Également, la diminution des fonctions du canal CFTR empêche la sécrétion des ions chlorures et bicarbonates ayant pour rôle de réduire l'acidité. Il en résulte une diminution du pH vers un milieu acide au sein du pancréas [20]. Ce phénomène d'obstruction des conduits pancréatiques et d'augmentation du niveau acide du pancréas entraîne l'activation des enzymes digestives à l'intérieur du pancréas. Il va s'ensuivre un état de protéolyse où les enzymes vont digérer les protéines du pancréas (c'est l'autophagie du pancréas) causant ainsi la destruction progressive de ses fonctions exocrines menant à l'insuffisance pancréatique [21]. L'insuffisance pancréatique touchait 85 % à 90 % des patients canadiens atteints de FK en 2017 [2, 22]. Elle est également associée à un moins bon pronostic de survie [23].

Au niveau endocrine, la principale manifestation de la maladie s'exprime par la déficience de sécrétion d'insuline [24]. Plusieurs acteurs participent à cette altération endocrine. Premièrement, l'autodestruction du pancréas, va mener à une destruction cellulaire des îlots de Langerhans, lieu

où se situent les cellules β , productrices des hormones glucorégulatrices [24]. À cela vient s'ajouter une insuffisance de dépolarisation due à la mutation du gène *CFTR* au niveau des cellules β en réponse à la présence de glucose [25]. Le réticulum endoplasmique, premier compartiment de la voie de sécrétion, subit un stress prolongé dû à la présence de protéines *CFTR* mal codées, qui mène à l'induction de facteurs pro-apoptiques et conduit à l'apoptose des cellules β [26]. En plus du défaut de sécrétion d'insuline, la diminution de la sensibilité à l'insuline, surtout lors de l'infection pulmonaire et de l'utilisation de glucocorticoïdes, s'ajoute au problème endocrinien [24]. L'inflammation chronique pourrait jouer un rôle dans cette baisse de la sensibilité à l'action de l'insuline. Parmi les causes évoquées, il y a la production des espèces réactives de l'oxygène (ROS), l'augmentation de la sécrétion de cytokines pro-inflammatoires et la faible absorption d'antioxydants liposolubles [27]. Par exemple, le TNF- δ jouerait un rôle via la diminution du recrutement et de la translocation des transporteurs de glucose en réponse à l'insuline [28].

Enfin, les patients atteints de la mutation $\Delta F508$ homozygotes sont plus à risque de présenter des complications endocrines et de développer le diabète. Le DAFK est une complication endocrinienne courante et sa prévalence augmente avec l'âge [29]. Le DAFK est diagnostiqué chez 40 à 50 % des patients de plus de 30 ans [22] et environ 35 % sont diagnostiqués intolérants au glucose (IGT) [30].

1.1.5.3. Complications gastro-intestinales

L'atteinte gastro-intestinale touche 90 % des patients FK [2]. La dérégulation des électrolytes et du fluide contribue à des sécrétions déshydratées dans les conduits gastro-intestinaux. En conséquence aux fonctions diminuées du canal *CFTR*, les sécrétions dépourvues d'ions bicarbonates (HCO_3^-) entraînent une augmentation de l'acidité des contenus gastriques, menant à des dommages à la surface de l'épithélium gastrique [31]. De plus, l'inflammation causée par la présence de mucus, la dysbiose microbienne ainsi qu'une réponse auto-immune altérée, accroît la malabsorption et l'obstruction intestinale [32]. Cette condition est responsable de la malnutrition qui entraîne un ralentissement de la croissance staturo-pondérale observé chez les patients [33]. Notons qu'en FK, un faible poids est corrélé avec une faible fonction pulmonaire et une mortalité plus accrue [34]. La malabsorption des graisses, l'augmentation de la viscosité et le ralentissement du frein iléal participent au phénomène d'occlusion distale de l'intestin [35]. L'utilisation chronique de médication comme les antibiotiques va également altérer le microbiote intestinal. La croissance bactérienne dans le petit intestin engendre des dommages au niveau de

l'entérocyte, participant également à la malabsorption, l'inflammation et la malnutrition [36]. Également, la fermentation d'acides aminés va également contribuer à la libération de métabolites et autres produits toxiques [37]. La déshydratation touchant le gros intestin va entraîner l'augmentation des épisodes de constipation, du risque de prolapsus rectal et de cancer du côlon [31, 36]. Enfin, la déshydratation au niveau de la vésicule biliaire va augmenter le risque d'apparition de calculs biliaires [31].

Les maladies du foie comprennent la cirrhose biliaire, l'hypertension portale, la stéatose hépatique, les calculs biliaires, la formation de tissus cicatriciels (fibrose) et la destruction des tissus hépatiques [36]. Les maladies du foie sont connues pour être la deuxième cause de mortalité après l'atteinte pulmonaire en FK [38]. Le gène *CFTR* n'est pas exprimé au niveau des hépatocytes, mais il intervient au niveau de l'épithélium des conduits biliaires (cholangiocytes) et dans les cellules de la vésicule biliaire [31]. L'altération du gène *CFTR* entraîne une production de bile anormale et favorise la production de radicaux libres qui augmente l'inflammation et l'infection. L'accumulation d'acides biliaires s'avère toxique et altère directement les cellules hépatiques. Cet état inflammatoire va entraîner une fibrose périportale qui va engendrer la production de collagène libérant des cytokines et des facteurs de croissance qui vont intensifier le phénomène de fibrose. Parmi toutes les maladies hépatobiliaires, la stéatose hépatique reste la plus importante et représente à elle seule 23 à 75 % des cas [39].

1.1.5.4. Complications et maladies osseuses

Les maladies de l'os dans la FK sont multifactorielles, elles sont en lien avec l'insuffisance pancréatique, la malnutrition et le ralentissement de la croissance, le manque d'activité physique, l'inflammation chronique, la médication et les carences alimentaires [40]. La malabsorption des vitamines D et K a été mise en avant dans la maladie de l'os. La vitamine D participe au métabolisme osseux par la sécrétion de cytokines pro-ostéocalciques et par la régulation de la sécrétion de collagène dans la matrice osseuse. La déficience en vitamine D est liée au rachitisme et à l'ostéomalacie et explique le ralentissement de la croissance chez les patients FK et les risques importants d'ostéoporose d'apparition précoce. En FK, la maladie de l'os est caractérisée par une perte de densité minérale osseuse qui augmente la fragilité de l'os et les risques de fractures de vertèbres [41] et des côtes et peut causer la scoliose [40]. Également, la vitamine K intervient dans le métabolisme osseux. Elle agit comme coenzyme dans la carboxylation des protéines vitamine K-dépendantes comme l'ostéocalcine, une protéine sécrétée par les

ostéoblastes. La vitamine K permet l'activation de l'ostéocalcine qui participe à la formation osseuse. Chez les adultes, la prévalence des patients atteints d'ostéopénie et d'ostéoporose est de 38 % et 23,5 % respectivement [42]. Elle atteint 55-65 % chez les adultes de plus de 45 ans [41].

1.1.5.5. Fertilité

L'absence de vas déférent chez les hommes atteints de FK, est une conséquence de l'altération des fonctions du canal CFTR et conduit à l'infertilité. Il y a toutefois possibilité d'avoir des enfants en ayant recours au prélèvement de spermatozoïdes en amont de cette obstruction. L'azoospermie, qui est l'absence totale de spermatozoïdes dans le sperme due à l'obstruction des canaux transportant les spermatozoïdes, touche 98 % des patients FK [43]. Chez les femmes, l'atteinte se situe au niveau du col de l'utérus (cervix), avec une obstruction par l'épais mucus qui peut empêcher le passage du sperme jusqu'à l'ovule [44]. Il faut parfois recourir à une insémination ou à une fertilisation *in vitro* pour contourner cet obstacle mécanique [45].

Table 1. Complications de la fibrose kystique aux États-Unis.

Complications de la FK, 2017			
	Age < 18 (%)	Age ≥ 18 (%)	All (%)
Nombre d'individus (n)	13,831	14,508	28,339
Pourcentage sans complications	24.2	4.6	14.2
Pourcentage avec complications non rapportées	1.2	1.2	1.2
Diabète associé à la fibrose kystique			
Diabète associé à la fibrose kystique (DAFK)	5.3	31.0	18.5
Hépatobiliaires			
Diabète associé à la fibrose kystique (DAFK)	0.1	0.3	0.2
Calcul biliaire	0.1	0.3	0.2
Maladie du foie, cirrhorse	2.4	3.8	3.1
Maladie du foie, non cirrotique	3.4	3.7	3.5
Hépatite aigüe	0.1	0.1	0.1
Stéatose hépatique	0.6	0.7	0.6
Maladie du foie, autres	1.9	1.7	1.8
Os/Articulations			
Arthrite/ arthropathie	0.5	6.2	3.4
Fracture de l'os	0.2	0.2	0.2
Ostéopénie	1.4	19.0	10.4
Ostéoporose	0.5	7.0	3.8
Pulmonaire			
Allergie bronchopulmonaire aspergillosis	2.6	7.5	5.1
Asthme	30.5	33.4	32.0
Hémoptysis	0.8	5.9	3.4
Hémoptysis, massive ^c	<0.1	0.7	0.4
Pneumothorax nécessitant une intubation	0.1	0.4	0.2
Gastro-Intestinale			
	Age < 18 (%)	Age ≥ 18 (%)	All (%)
Syndrome d'obstruction intestinale distale	2.0	2.6	2.3
Colonopathie fibreuse/ sténose colique	<0.1	<0.1	<0.1
Reflux gastro-œsophagien	36.1	39.6	37.9
Saignement gastro-intestinal nécessitant une hospitalisation	<0.1	<0.1	<0.1
Antécédents de chirurgie de l'intestin ou du colon	3.6	1.5	2.6
Pancréatite	0.5	1.6	1.0
Ulcère gastro-duodénal	<0.1	0.1	<0.1
Prolapsus rectal	0.5	0.1	0.3
Santé Mentale			
Troubles anxieux	4.1	20.6	12.5
Dépression	3.6	26.8	15.5
Autres Complications			
Cancer confirmé par histology	0.0	0.5	0.2
Perte d'audition	1.3	3.1	2.2
Hypertension	0.4	5.7	3.1
Calculs rénaux ^c	0.2	1.3	0.8
Polypes nasaux nécessitant une chirurgie	1.9	1.5	1.7
Insuffisance rénale nécessitant une dialyse	<0.1	0.2	0.1
Maladie des sinus	22.7	53.8	38.6

Patient registry, Annual data report, Cystic fibrosis Foundation [3].

1.1.6. Dépistage de la maladie de la FK

1.1.6.1. Le test de sudation

Le test de sudation est la méthode de référence pour confirmer le diagnostic de FK il est ensuite confirmé par la recherche d'une mutation. Il consiste en l'analyse du taux de chlorure contenu dans la sueur par la technique iontophorèse, après stimulation à la pilocarpine [46, 47]. Dans une condition physiologique normale, la sueur contient moins de 40 mmol/L de chlore. On considère que le test est anormal au-delà de 60 mmol/L. Le test est répété plusieurs fois si le résultat se situe entre 40 et 60 mmol/L. Deux tests sont nécessaires afin de confirmer le diagnostic de la maladie. Il est également possible d'utiliser une méthode chimique pour doser les chlorures. Le test de sudation est pratiqué dans 89 % des cas aux États-Unis [3].

1.1.6.2. Dépistage par génotypage

Le génotypage est un test diagnostique par analyse moléculaire du gène *CFTR*. Il peut être réalisé dans le cadre d'un dépistage néonatal visant à identifier les nouveau-nés à risque de développer la maladie en vue d'initier un traitement précoce. Ce test peut être également réalisé en lien avec des symptômes suggérant la présence de la maladie [48]. En 2017, plus de 98 % de la population américaine était diagnostiqué par génotypage [3]. Il existe également d'autres tests de dépistage par l'utilisation de biomarqueurs tels que la trypsine immunoréactive, une enzyme pancréatique dont le taux élevé chez les nouveau-nés atteints de FK reflète une obstruction des canaux pancréatiques.

1.1.7. Traitements actuels en FK

Malgré les progrès, les infections restent fréquentes et peuvent conduire à des hospitalisations, qui peuvent avoir des effets délétères à cause de l'effet de l'alitement sur le déconditionnement physique [49] et de la perte de poids corporel [50]. Également, la surinfection entraîne une élévation de la dépense énergétique par l'effort engendré par les expectorations visant à faire sortir le mucus des voies respiratoires [51]. L'augmentation de la dépense énergétique / calorique accélère la perte de poids augmentant ainsi le risque de perte de fonction pulmonaire. Pour pallier à cela, les patients FK reçoivent de nombreux traitements visant à améliorer leur qualité de vie.

1.1.7.1. Thérapies pulmonaires

Ces thérapies comprennent les thérapies antibiotiques, les thérapies anti-inflammatoires et sont souvent couplées avec des thérapies mucolytiques inhalées et de la physiothérapie pectorale [52]. Les thérapies pulmonaires reposent sur le traitement des infections par vaccination

(coqueluche, diphtérie, tétanos, poliomyélite, rougeole, grippe, tuberculose, pneumocoque) en plus des antibiotiques visant à traiter les infections chroniques. Les bactéries les plus fréquentes sont le staphylocoque doré, haemophilus influenza et la pseudomonas aeruginosa (chez 40 % des patients canadiens) [2]. La durée de traitement peut s'étendre de 7 à 14 jours voire plus si les symptômes d'infection n'ont pas disparu.

Également, il existe d'autres traitements comme les corticoïdes qui sont administrés pour traiter l'inflammation et qui pourraient également participer au développement des anomalies glycémiques en FK [53].

1.1.7.2. Physiothérapie

Le recours à la physiothérapie a pour but de dégager le mucus des voies respiratoires. Ces techniques de physiothérapie respiratoire combinent à la fois le drainage postural manuel, les percussions thoraciques et la vibration et ont pour but de dégager les voies respiratoires. Elles se pratiquent dans diverses positions : latérale, inclinée, déclinée, en utilisant la gravité de manière à drainer le mucus présent dans les différentes parties des poumons. Ces techniques sont souvent combinées à des cycles de respiration contrôlée, prolongée, active et profonde. Elles peuvent être appliquées plusieurs fois par jour. Des études à court terme ont démontré des bénéfices pour ces techniques, mais représentent toutefois un inconfort pour les patients ce qui peut expliquer la faible adhérence aux pratiques [54, 55]. Le gilet thoracique à haute fréquence d'oscillation est la technique de dégagement des voies respiratoires la plus utilisée chez les patients de plus de 10 ans (75,9 %) [3].

1.1.7.3. Thérapies nutritionnelles

Les enzymes pancréatiques de remplacement (EPR) sont recommandées dans le traitement nutritionnel des patients FK avec insuffisance pancréatique exocrine. L'insuffisance pancréatique est responsable d'une maldigestion et participe à la malabsorption de certains nutriments tels que les lipides particulièrement, ainsi que les protéines, les glucides complexes et les vitamines liposolubles (A, D, E, K). Pour pallier à ce déficit, il est recommandé que les patients FK consomment entre 2 000 et 10 000 unités de lipase/kg/jour d'EPR afin de mieux assimiler les nutriments ingérés. Les EPR peuvent également être réparties sur les repas en respectant les recommandations entre 500 et 2 500 unités de lipase/kg/repas [56]. Le registre canadien mentionne que 85 % des patients canadiens consomment des EPR [2].

La thérapie nutritionnelle s'axe sur une diète hypercalorique afin de répondre à la malnutrition en FK causée par la malabsorption, une dépense énergétique accrue associée aux infections et à la dépense énergétique liée aux efforts respiratoires [56, 57]. Les recommandations nutritionnelles ont donc pour objectifs : de prévenir ou corriger les carences alimentaires, favoriser un état nutritionnel optimal ; et maintenir ou atteindre un IMC ≥ 23 kg/m² pour les hommes, ou ≥ 22 kg/m² pour les femmes [58]. Le Canada se base sur les recommandations de la Fondation américaine de FK, qui préconise une diète hypercalorique, adaptée aux besoins énergétiques élevés des patients FK qui sont estimés entre 110 à 200 % des besoins de la population générale américaine [59]. L'intervention nutritionnelle cible donc une diète riche en sel et en lipides avec une répartition des macronutriments comme suit : 35 à 40% des apports énergétiques provenant des lipides, 40-45% provenant des glucides et 15-20% des protéines, ce qui est différent des recommandations pour la population générale (20-35% lipides, 45-65% glucides et 10-35% protéines) [60].

Un supplément de multivitamines s'ajoute à la thérapie nutritionnelle afin de répondre aux besoins en vitamines et en minéraux des patients. Ainsi, il est recommandé un apport quotidien de vitamines liposolubles : vitamine A avec 10 000 UI (aux États-Unis) [61], vitamine D3 entre 800 et 2000 UI [59], vitamine E entre 200 et 400 UI (aux États-Unis) [61], vitamine K entre 0,3 et 0,5 mg [61]. En 2017, 81,3 % des patients adultes de plus de 20 ans ont eu recourant à une supplémentation de vitamines spécifiques à la FK (vitamines A, D, E et K). Également, 12,8 % des patients recevaient une prescription d'acide ursodésoxycholique afin de traiter une maladie du foie relative à la FK [3]. Selon le niveau de carence de certains patients, il pourra être aussi recommandé des suppléments en fer, calcium et zinc. Ces suppléments doivent être pris lors de la prise alimentaire avec des aliments gras afin de favoriser leur absorption et souvent aussi combinés avec les EPR.

1.1.7.4. Mode de vie / activité physique

Les recommandations en FK sur la pratique d'activité physique visent une activité de type aérobie de 20 à 45 minutes, 3 à 5 fois par semaine [62]. L'activité physique correspond à l'ensemble des activités qui engendrent une augmentation de la dépense énergétique [63]. L'exercice physique, lui, correspond à une pratique physique structurée et répétitive en vue d'améliorer ou de maintenir la condition physique ou la santé. L'activité physique a le potentiel d'avoir de nombreux effets bénéfiques sur la santé des patients atteints de FK, sur leur condition physique, leur fonction

pulmonaire et la densité minérale osseuse, cependant il existe encore peu de données probantes à ce sujet [64]. En 2017, aux Etats-Unis, 49,6 % des patients déclaraient faire de l'exercice comme méthode de dégagement des voies respiratoires [3].

En FK, dans un contexte de fonction pulmonaire altérée et réduite et de risque de sarcopénie, la question de la pratique d'activité physique se pose. Le contexte de la maladie est bien souvent propice au comportement sédentaire. Cependant, une étude a démontré que la plupart des patients FK même ceux atteints d'une atteinte pulmonaire sévère (> 40 %) peuvent s'engager dans une pratique d'activité physique régulière [65, 66]. Enfin, il existe un engouement ces dernières années pour les caractéristiques des modalités de l'exercice excentrique qui permet d'atteindre de hauts niveaux d'intensités d'activité musculaire avec une très faible sollicitation cardio-respiratoire comparativement à l'exercice concentrique [67].

1.1.7.5. Traitements pharmacologiques

L'avancée des recherches a permis de mettre au point différents moyens pharmacologiques appelés modulateurs pour le CFTR, correspondant à des classes de médicaments qui ciblent les déficiences au niveau moléculaire du gène. Ils comprennent : i) les potentiateurs du gène CFTR, ii) les correcteurs et iii) les amplificateurs et stabilisateurs [68, 69]. Ces thérapies ont des résultats très hétérogènes en particulier en fonction des classes de mutation génétique. Ces modulateurs ont néanmoins démontré des résultats convaincants spécifiquement sur la fonction pulmonaire [70], la colonisation bactérienne [71] et le gain de poids corporel [72]. Aux Etats-Unis, l'ivacaftor / lumacaftor est prescrit chez 63,2 % des patients FK éligibles, de six ans et plus, étant homozygotes pour la mutation F508del [3].

2. Anomalies glycémiques en FK

1.2.1. Présentation clinique du diabète associé à la fibrose kystique (DAFK)

Le diabète s'exprime par un taux excessif et récurrent de glucose dans le sang. Dans un fonctionnement physiologique normal, la concentration de glucose sanguin varie entre 3,9 et 5,5 mmol/L [73]. Le foie, les muscles squelettiques, le tissu adipeux, le pancréas, les hormones insuline et glucagon sont alors responsables de la régulation du métabolisme du glucose. En FK, la majorité de ces tissus sont altérés par l'absence ou la baisse de fonction du canal CFTR. Du fait

de l'altération de ces tissus et de la condition de la maladie, les patients atteints de FK évoluent dans un contexte d'insuline considérablement réduit comparativement à la population non-FK [74]. Ceci va conduire à des anomalies glycémiques progressives pour finalement mener à l'apparition du DAFK.

Le DAFK est un diabète caractéristique possédant des similitudes avec le DT1 et le DT2. Comme dans le DT1, il touche des sujets jeunes et nécessite souvent de l'insuline ; comme dans le DT2, la survenue du diabète est précédée d'une longue phase d'intolérance au glucose. Cependant, le DAFK est une forme spécifique de diabète caractérisée par un défaut sévère de la sécrétion de l'insuline couplé à des épisodes de résistance à l'insuline fluctuant en fonction des infections pulmonaires [73]. Dans la population non-FK l'hyperglycémie prolongée et le diabète peuvent causer des risques de complications microvasculaires : rétinopathie (10 à 36 % de rétinopathies pouvant mener à la cécité), neuropathie (3 à 17 % de neuropathies au niveau des membres inférieurs pouvant majorer le risque d'amputation) et néphropathie (10 à 21 % de micro albuminurie pouvant aller jusqu'à l'insuffisance rénale terminale) [75, 76]. Pour les patients atteints de FK le risque d'atteinte macro-vasculaire (infarctus du myocarde et AVC) reste rare (on recense quelques études de cas) [77, 78], la cause principale de mortalité étant l'atteinte pulmonaire [79]. Une glycémie plasmatique > 8,00 mmol/L a été associée à une majoration de la concentration de glucose dans les voies respiratoires. La présence de ce glucose dans les voies respiratoires favorise la croissance d'agents pathogènes [80]. Ainsi, dans les 3-4 années qui précèdent la survenue du DAFK, on observe un déclin de la fonction pulmonaire plus rapide que ce qui est observé chez les patients qui ne développeront pas le DAFK [79]. La survenue du DAFK est ainsi associée à un risque de mortalité jusqu'à 3 fois plus élevé comparativement aux patients FK non-DAFK [79]. Même si les femmes sont plus à risque de développer le DAFK [79], il reste un facteur de risque de mortalité proportionnellement plus important chez les hommes [81].

Table 2. Comparaison du DAFK avec le DT1 et le DT2.

	Diabète de type 1	Diabète de type 2	Diabète associé à la FK
Prévalence	0,2 %	4 à 8 %	35 %
Mode de survenue	Aigue	Insidieux	insidieux
Âge de survenue	Enfant, jeune	Adulte	18-25 ans
Poids	Normal	Obèse	Normal / dénutrition
Étiologie auto-immune	Oui	Non	Non
Déficiência en insuline	Quasi complète	Partiel, variable	Sévère non complète
Sensibilité à l'insuline	Quasi normale	Très diminuée	Très variable
Cétose	Fréquente	Rare	Rare
Traitement	Insuline	ADOs / insuline	insuline
Complications microvasculaires	Oui	Oui	Oui
Complications macrovasculaires	Oui	Oui	Non
Cause de décès	Cardiovasculaire	Cardiovasculaire	Respiratoire

ADOs : antidiabétiques oraux.

Adapté de Fibrose kystique Canada, 2017 [2].

1.2.2. Introduction au métabolisme des glucides

1.2.2.1. Digestion, absorption et métabolisme des glucides alimentaires

Dans une diète standard retrouvée dans les pays industrialisés comme en Amérique du Nord, les glucides peuvent représenter de 50 à 80 % de l'énergie provenant de l'alimentation. Ces aliments sont issus de la production des plantes par un processus de photosynthèse. Parmi les glucides, on trouve les sucres, dont l'un d'eux est le glucose. Les aliments glucidiques sont digérés au niveau de l'intestin grêle par le biais des enzymes, afin d'être décomposés en molécules simples de glucose, fructose ou galactose. Par la suite, l'organisme convertit les trois formes de sucre en fructose (utilisé principalement sous forme d'énergie) et en glucose. Le glucose intervient dans la production d'énergie ainsi que dans la synthèse de composés organiques. En traversant la paroi intestinale, le glucose va se retrouver dans la circulation sanguine via la veine porte afin d'être redistribué vers tout l'organisme. Le premier organe que le glucose rencontre est le foie. Le glucose y est stocké sous forme de glycogène : c'est la synthèse du glycogène. Les muscles et le tissu adipeux sont également des sites de stockage du glucose. Par la suite au niveau de la cellule, le glucose va subir une phosphorylation par la glucokinase au niveau du foie ou par l'exokinase au niveau des autres tissus. C'est ainsi qu'il va ainsi être transformé en glucose-6-phosphate afin d'intervenir dans la glycolyse ou d'être polymérisé en glycogène pour sa mise en réserve.

1.2.2.2. La glycogénolyse

La glycogénolyse correspond à la production de glucose par la phosphorylation du glycogène et à pour produit du glucose-6-phosphate. Cette voie métabolique permet de remettre le glucose en circulation sanguine afin de maintenir la glycémie. Elle est stimulée par le glucagon et inhibée par l'insuline. Elle intervient donc durant le jeûne et entre les repas par exemple. Le foie est le principal organe capable de libérer une quantité importante de glucose via la glycogénolyse, car il contient des réserves importantes de glycogène, comparativement à d'autres organes tels que les reins. Les cellules hépatiques expriment l'enzyme glucose-6-phosphatase impliquée dans la réaction permettant de faire sortir le glucose et le phosphate du réticulum endoplasmique de ces cellules. D'autres organes comme les reins et les intestins ne constituent pas des sites importants de stockage du glycogène, mais participent à l'augmentation du glucose sanguin en période de jeûne par exemple. Une fois les réserves de glycogène hépatique épuisées, l'organisme va alors utiliser une autre voie métabolique afin de produire du glucose comme la néoglucogénèse.

1.2.2.3. La néoglucogénèse

Elle correspond à la synthèse de glucose à partir d'intermédiaires métaboliques non glucidiques tels que les acides aminés, le lactate, l'acétyl-CoA. La néoglucogénèse intervient de manière continue et varie selon l'apport glucidique provenant de l'alimentation. On observe donc une augmentation de l'activité de la néoglucogénèse lors du jeûne prolongé. La néoglucogénèse se produit principalement au niveau du foie, bien qu'aussi au niveau du rein et de l'intestin. Le foie va permettre la production du glucose à partir du glycérol, obtenu par l'hydrolyse des lipides du tissu adipeux, et à partir d'acides aminés, issus de l'hydrolyse des protéines musculaires principalement. La néoglucogénèse est stimulée par le glucagon et est inhibée en présence d'insuline. Tout comme la glycogénolyse, elle a pour but de maintenir un niveau de glycémie dans des valeurs normales.

1.2.3. Physiopathologie du DAFK

1.2.3.1. Altération dans la sécrétion d'insuline

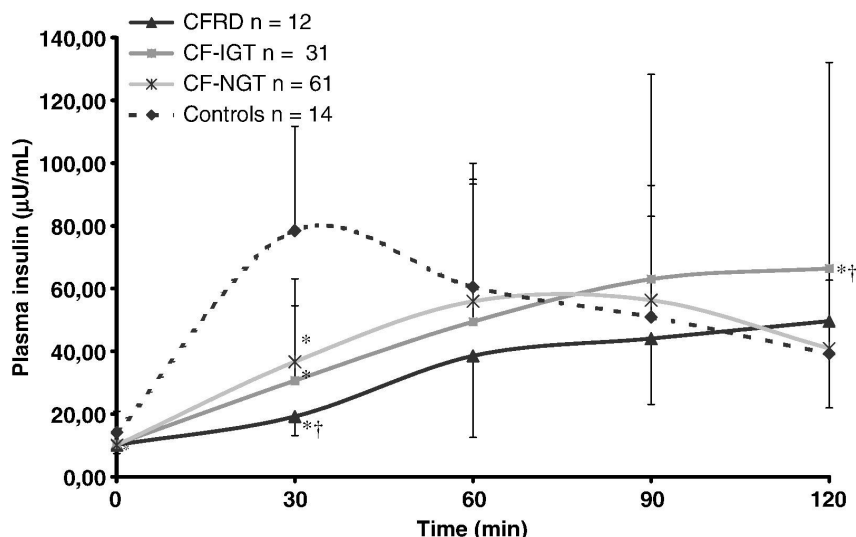
L'absence ou la réduction des fonctions du canal CFTR engendre des conséquences délétères sur les organes et tissus participants à la régulation du métabolisme du glucose (pancréas, foie). La

diminution de la sécrétion d'insuline est un élément central du DAFK [74]. L'insuline est une hormone anabolique régulatrice sécrétée par les cellules β du pancréas et participant à la baisse de la glycémie ; elle est dite hypoglycémiant. Par opposition, le glucagon est une hormone catabolique contre-régulatrice, sécrétée par les cellules alpha du pancréas et qui participe à la hausse de la glycémie, lors du jeûne par exemple. L'insuline a pour rôle de permettre au glucose sanguin de pénétrer dans la cellule où il va être métabolisé ou stocké sous forme de glycogène réduisant ainsi la glycémie.

La perte du nombre et la réduction de la masse des cellules β , causées par la pancréatite chronique, sont responsables du défaut de sécrétion d'insuline en FK [24]. Des signes d'atrophie et la présence de fibrose sont observés au niveau du pancréas (pancréatite) des patients FK [82-84]. Les patients atteints de DAFK ont une réduction considérable de la surface de l'aire et du nombre de cellules productrices d'insuline au niveau des îlots du pancréas comparativement aux patients FK non diabétiques et aux patients non-FK [82, 85]. De plus, une étude a démontré que le gène *CFTR* affectait également la fonction des cellules β [86]. C'est par un mécanisme paracrine impliquant la sécrétion de facteurs pro-inflammatoires au niveau des îlots, que les cellules β vont être affectées [86]. À cela s'ajoute le stress prolongé du réticulum endoplasmique (RE) dans les tissus sensibles à l'insuline [25]. Le stress prolongé du RE, traduit par la réponse cellulaire appelée UPR (unfolding protein response) conduit à des facteurs pro-apoptiques au niveau des cellules bêta engendrant l'apoptose. Ainsi, le rôle direct du CFTR dans la réduction de la sécrétion de l'insuline est probablement modeste alors que la perte de masse et de fonction des cellules β reliée à la fibrose, à l'inflammation et aux anomalies paracrines semble prépondérante [87].

Plusieurs études ont rapporté que la première phase de sécrétion d'insuline est notablement diminuée dans le contexte de la FK [88, 89] et engendre une hyperglycémie précoce après la prise alimentaire (à 1-h postprandiale) [90]. La première phase de sécrétion d'insuline correspond à un pic de sécrétion en réponse à la stimulation par une hausse de la glycémie [91]. Elle apparaît lors des 10 premières minutes post-stimulation. Elle est suivie d'une seconde phase décrite par une montée plus lente et progressive qui intervient après 20 minutes [92]. La diminution de la première phase de sécrétion d'insuline expliquerait alors l'apparition de hautes excursions glycémiques à 1-h d'un test d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) [93].

Fig 4. Valeurs plasmatiques d'insuline lors d'un test HGPO.



Tiré de Costa, 2007 [52]. CF-NGT : Patients FK Normo-glycotolérants ; CF- IGT : Patients Intolérance au glucose ; CFRD : Patients atteints de DAFK. * : P <0,05 versus Contrôles ; † : P <0,05 versus CF-NGT.

Les principaux organes de stockage du glucose sont le foie, les muscles et le tissu adipeux. Au niveau du foie, l'absence, la réduction ou le retard de sécrétion d'insuline entraîne un phénomène de diminution de la synthèse du glycogène (appelé aussi glycogénogenèse pour le stockage du glucose sous forme de glycogène), une augmentation de la néoglucogenèse ainsi qu'une augmentation de la glycogénolyse (production de glucose à partir de glycogène).

Au niveau des muscles squelettiques, l'insuline permet d'augmenter la glycogénogenèse, augmenter la glycolyse et diminuer la glycogénolyse [94]. L'accumulation de lipides intramusculaires peut altérer la voie de signalisation de l'insuline et le métabolisme du glucose au niveau du muscle.

La déficience ou le retard de sécrétion d'insuline empêchent le stockage du glucose sanguin et apparaissent comme les principales causes du DAFK [95]. Cependant, chez certains patients FK on observe une résistance à l'insuline [96] qui, dans un contexte de capacité réduite de sécrétion d'insuline, peut jouer un rôle dans la survenue du DAFK.

1.2.3.2. La résistance à l'insuline

La résistance à l'insuline fait, par opposition, référence à la sensibilité à l'insuline. La sensibilité à l'insuline correspond à la capacité du glucose sanguin à être capté par les tissus ainsi qu'à la

diminution de la production de glucose hépatique en réponse à la présence d'insuline. Au niveau cellulaire, la résistance à l'insuline se traduit par l'incapacité d'une concentration normale d'insuline à produire une réponse biologique normale pour le maintien de l'homéostasie du glucose. Cliniquement, ces deux termes impliquent qu'une plus grande quantité d'insuline doit rejoindre les tissus pour contribuer au maintien d'une glycémie normale. La résistance à l'insuline peut se manifester de manière physiologique (grossesse, puberté), être d'origine génétique (personne apparentée à un patient vivant avec le DT2), en conséquence aux traitements pharmacologiques (corticothérapie), conséquence d'une pathologie (infection, obésité) ou d'un mode de vie sédentaire [97]. En FK, les résultats sur la résistance à l'insuline sont controversés. Certains chercheurs ont rapporté une résistance à l'insuline hépatique et périphérique [28, 98, 99], tandis que d'autres n'ont signalé aucun changement et parfois même une amélioration de la sensibilité périphérique à l'insuline chez certains sujets [100].

Les récepteurs de l'insuline interviennent au début de la chaîne de stockage du glucose. Une altération au niveau de ces récepteurs empêche les mécanismes subséquents ayant pour but de faire entrer le glucose dans les cellules. Plus précisément, la présence d'insuline permet d'activer le domaine tyrosine kinase des récepteurs de l'insuline situés sur la membrane apicale des cellules cibles. Les récepteurs vont ensuite recruter l'IRS-1 (Insulin receptor substrate) en le phosphorylant ce qui va engendrer la translocation des transporteurs du glucose (GLUT = GLUcose Transporter), des compartiments endosomiques vers la membrane plasmique de la cellule, afin de s'y fixer. Cette translocation va former un pore perméable au niveau de la membrane cellulaire et va permettre un transport dit « facilité » et augmente ainsi la vitesse d'entrée du glucose au sein de la cellule.

Les récepteurs de l'insuline se retrouvent dans de multiples organes tels que le tissu musculaire, adipeux ou hépatique. Des auteurs ont démontré qu'un défaut des récepteurs de l'insuline au niveau des muscles ou du foie contribue à la dyslipidémie et à l'intolérance au glucose [101, 102]. Au niveau du foie, la résistance à l'insuline, aussi appelée insulino-résistance hépatique, entraîne une majoration de la production de glucose hépatique. Après un repas, la résistance à l'insuline périphérique empêche le stockage du glucose au niveau des muscles et du tissu adipeux. Ces deux mécanismes se combinent et contribuent à l'hyperglycémie présente initialement après les repas puis ensuite à jeun.

Table 3. Les transporteurs de glucose et leurs fonctions.

TRANSPORTEUR (gène)	LOCALISATION	RÔLE
GLUT1 (gène SLC2A1)	Exprimé dans la plupart des tissus humains. (Retrouvé à un faible niveau dans le foie et les muscles squelettiques.	Principal transporteur du glucose dans les érythrocytes. KMglucose = 3 - 7 mM.
GLUT2 (gène SCL2A2)	Exprimé essentiellement dans le foie, les cellules pancréatiques β , les reins et l'intestin grêle.	Participe au transport du fructose et du galactose. Assure le transport bidirectionnel du glucose au travers de la membrane : stockage et excrétion. KMglucose = 15 - 20 mM.
GLUT3 (gène SCL2A3)	Exprimé essentiellement dans les neurones.	KM le plus faible de tous les transporteurs du glucose.
GLUT4 (gène SCL2A4)	Exprimé dans les tissus insulino-dépendants comme les tissus adipeux et les muscles squelettiques.	KMglucose = 5 mM.
GLUT5 (gène SCL2A5)	Exprimé essentiellement dans les entérocytes et l'intestin grêle.	Il transporte spécifiquement le fructose.
GLUT6 (gène SCL2A6)	Exprimé dans le cerveau et les leucocytes.	Il transporte le glucose. Il a aussi comme appellation GLUT9, mais il est différent du suivant.
GLUT9 (gène SCL2A9)	Exprimé essentiellement dans les reins, le foie et le placenta.	Il transporte le glucose à une vitesse plus faible. Il transporte aussi l'urée et le fructose.

Adapté de E. Jaspard et B. Thorens [103, 104]

1.2.3.3. Autres facteurs impliqués dans l'apparition du DAFK

Il existe d'autres hormones glucorégulatrices appelées incrétines telles que le glucagon-like peptide-1 (GLP-1) et le gastric inhibitory polypeptide (GIP), qui sont hypoglycémiantes via leurs effets facilitant la sécrétion d'insuline. L'absence de réponse incrétine contribue à l'apparition d'hyperglycémie postprandiale [105]. Dans le contexte de FK, le rôle des hormones incrétines est discuté. Alors que certaines études ne retrouvent aucune anomalie [106] d'autres, plus récentes, suggèrent un rôle [107] avec un possible impact des analogues du récepteur du GLP-1 pour corriger l'hyperglycémie [108]. De façon intéressante la prise d'enzyme pancréatique a un effet important sur la correction de concentration basse de GLP-1 et, dans une moindre mesure, pour celle de GIP [109]. Plus récemment, des anomalies de la ghréline acylée, un peptide gastrique jouant un rôle dans la sécrétion de l'insuline, ont été mises en évidence [106].

Une autre des caractéristiques du DAFK est la présence de fibrose associée à l'infiltration de lipides et au dépôt de plaques d'amyloïdes au niveau des îlots du pancréas comme décrit dans le

DT2 [82-84]. Ces anomalies ont été associées à un retard de la réponse de sécrétion d'insuline suite à un test d'HGPO ou à un test de glucose par intraveineuse [110].

1.2.4. Dépistage des anomalies glycémiques en FK

Le diagnostic systématique annuel précoce dès l'âge de 10 ans est recommandé (ADA Consensus) [8, 111] et vise à éviter les détériorations cliniques associées à la survenue du DAFK [96]. L'HGPO de 2 heures reste la méthode recommandée afin de détecter un profil de tolérance anormale au glucose ainsi que pour diagnostiquer le DAFK [111, 112].

Le test d'HGPO consiste en l'ingestion en moins de 5 minutes de 1,75 g/kg de poids de corps (jusqu'à 75 g maximum), de glucose après une nuit de 12-h à jeun, selon les recommandations de l'Association canadienne du diabète [113]. Des échantillons de sang sont prélevés à 0 minute (à jeun) et à 120 minutes (post absorption). Il existe plusieurs autres méthodes de dépistage telles que le test de glycémie aléatoire ($< 7,00$ mmol/L), HbA1C. Cependant, il a été observé qu'au début de la maladie la majorité des patients atteints de DAFK présentent une glycémie à jeun normale, une HbA1C moyen $< 6\%$, et une fluctuation des glycémies très variable au cours d'une période de 24 heures. Les valeurs enregistrées par les lecteurs en continu de la glycémie, appareil portatif de lecture de la glycémie ambulatoire, permettent d'identifier les personnes à risque, par l'enregistrement d'épisodes d'hyperglycémies postprandiales répétées. Ces données révèlent entre autres que la glycémie à jeun, le HbA1C, et la glycémie à 0 et 120 minutes seules lors d'un HGPO restent peu sensibles pour la détection du DAFK et des personnes à risque [114].

Le HbA1C (un biomarqueur des glycémies moyennes sur 3 mois) restant faible dans la population de FK, les recommandations cliniques ne supportent pas ce test pour le dépistage du DAFK, de même que la fructosamine (un biomarqueur des glycémies moyennes sur 3 semaines) et la glycosurie (présence de sucre dans les urines qui apparaît le plus souvent lorsque la glycémie est supérieure à 11 mmol/L) [115]. En effet, l'HbA1c tout en restant proportionnelle au niveau de glycémie, est pour une raison inconnue en moyenne plus faible chez les patients atteints de FK comparativement aux autres formes de diabète plus fréquentes comme le DT1 [116]. Il est ainsi possible qu'un sujet présente une HbA1c normale alors que l'HGPO démontre un DAFK. Par exemple, Salomon et coll. ont démontré qu'environ 75 % des patients avec une tolérance anormale au glucose ne seraient pas diagnostiqués avec le HbA1c [112]. Les symptômes classiques du diabète (polyurie, polydipsie, fatigue et perte de poids) sont également utilisés en

combinaisons avec le test d'HGPO [65], cependant ces symptômes peuvent facilement être confondus avec les symptômes d'une surinfection. Il est également recommandé que les femmes, qui n'avaient pas une tolérance normale au glucose (NGT) lors des 6 derniers mois, qui prévoient d'avoir un enfant ou qui ont un test confirmé de grossesse, procèdent au test d'HGPO afin de s'assurer qu'elles ne sont pas diabétiques [65].

Les résultats du test d'HGPO permettent d'identifier et de regrouper les patients selon des 4 catégories de tolérance au glucose :

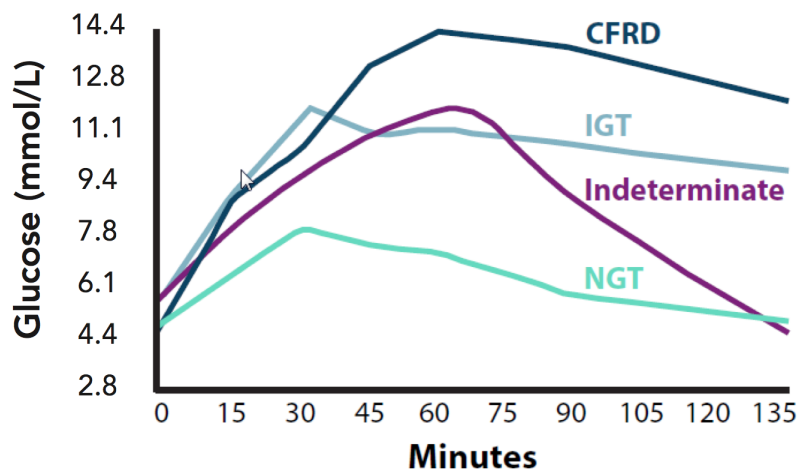
- Normo-glucotolérant (NGT : glycémie à jeun $\leq 7,0$ mmol/L et glycémie à 2h $\leq 7,7$ mmol/L)
- Tolérance au glucose indéterminée (INDET : glycémie à jeun $\leq 7,0$ mmol/L et glycémie à 2h $\leq 7,7$ mmol/L, mais glycémie à 1h $\geq 11,1$ mmol/L)
- Intolérant au glucose (IGT : glycémie à jeun $\leq 7,0$ mmol/L et glycémie à 2h $\geq 7,8$ mmol/L et $< 11,0$ mmol/L)
- Et enfin diabétique de novo (DAFK ou CFRD en anglais pour "Cystic fibrosis related diabetes" ; glycémie à 2h $\geq 11,1$ mmol/L) [117].

Les catégories NGT, IGT et DAFK sont définies selon les critères diagnostiques du DT2 basés sur le risque de rétinopathie [73]. En 2009, l'Association américaine de diabète (ADA) et la Fondation de fibrose kystique (CFF) ont proposé une nouvelle sous-catégorie de tolérance au glucose considérée comme « patients indéterminés » (INDET) spécifique à la FK [65]. Les patients DAFK démontrent un HGPO caractérisé par une excursion glycémique précoce, suivi d'une normalisation rapide avec des effets majeurs dans les premières phases de sécrétion d'insuline [93]. Une méthode alternative à l'HGPO à seulement 2 mesures a donc été proposée avec l'ajout d'un prélèvement 1-h après le début du test. L'HGPO continue avec des points de mesures toutes les 30 minutes pendant 2-h permet ainsi de mieux identifier les patients à risque d'anomalies glycémiques comme les patients INDET. Elle permet aussi d'estimer la sensibilité et la sécrétion de l'insuline et est fréquemment utilisée dans le cadre des projets de recherche [118].

Cette spécificité d'excursion glycémique précoce à 1-h est associée avec une moins bonne fonction pulmonaire chez une population jeune [119]. L'intérêt de la détection des patients INDET avec HGPO continue a été démontré en révélant une relation entre le pic de glucose sanguin lors de l'HGPO et la diminution du poids et de la fonction pulmonaire, alors que la glycémie à 2-h ne révélait pas cette association [120]. De récentes études ont démontré que les

patients INDET ont un haut risque de développer la DAFK [117, 121]. De façon intéressante, la valeur pronostique de la glycémie à 1-h d’HGPO est aussi démontrée dans la population non-FK. Elle est bien établie pour le diabète de gestation et sa valeur est suggérée pour la prédiction de la survenue du DT2 [122].

Fig 5. Courbe de glycémie lors de l’HGPO selon les classes de tolérance au glucose.



Adapté de Children's Hospital of Philadelphia Research Institute, 2019 [123].

1.2.5. Traitements actuels pour le DAFK

Actuellement, le seul traitement préconisé pour traiter le DAFK est l’insulinothérapie puisque c’est le seul pour lequel il existe des évidences à la fois pour le contrôle glycémique ainsi qu’un effet positif sur l’évolution du poids [46, 65, 118]. Moran et coll. recommandent, pour la prise en charge, un suivi trimestriel des patients DAFK incluant plusieurs professionnels de santé aussi bien spécialisés en FK qu’en diabète tels que des nutritionnistes, des psychologues, et travailleurs sociaux [65]. L’intérêt de débiter une insulinothérapie au stade de l’intolérance au glucose, avant l’apparition du DAFK, est considéré chez certains patients afin de maintenir le poids et la fonction pulmonaire, mais aussi de limiter l’impact néfaste des hyperglycémies répétées [118, 124, 125].

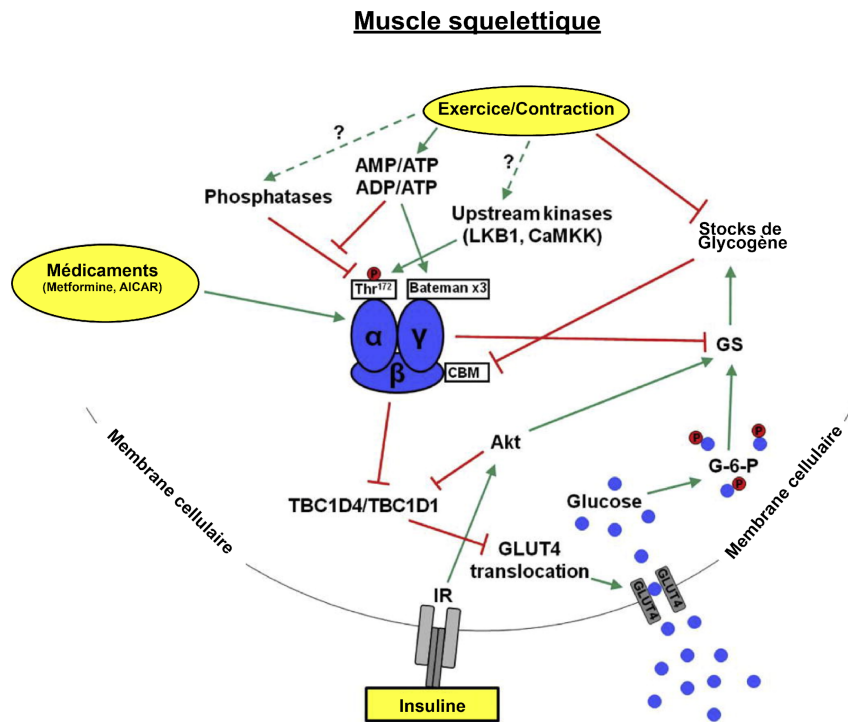
Une perte de poids et des épisodes d’exacerbations peuvent précéder l’apparition du DAFK [93]. Puisque le maintien du poids est un élément crucial dans le traitement de la FK, contrairement

aux autres types de diabète, la restriction alimentaire n'est pas recommandée dans le cas du DAFK [118, 126]. En plus d'un apport calorique adapté aux besoins accrus des patients, les conseils nutritionnels recommandent la répartition des apports en glucides sur différents repas et collations afin d'éviter les risques d'hyperglycémies postprandiales. Également, la consommation de boissons sucrées est à éviter et il est suggéré qu'une consommation d'aliments à faible indice glycémique puisse également réduire les risques d'hyperglycémies postprandiales [65]. Le traitement vise à maintenir une glycémie dans les cibles des recommandations de la ADA, soit une glycémie postprandiale < 10,0 mmol/L pour les adultes et les adolescents, et < 11,1 mmol/L pour les enfants [65, 118].

La faible capacité de pratiquer de l'exercice est associée à une mauvaise tolérance au glucose [127]. Pour autant, une étude de notre groupe a démontré, sur un petit nombre de sujets (n = 14), les bienfaits d'un programme d'entraînement combinant des activités aérobies et en résistance chez des patients atteints de FK sur la régulation de la glycémie avec une amélioration des glycémies après une charge en glucose [128].

Il est donc recommandé aux patients atteints de FK de pratiquer de l'exercice physique de type aérobie à intensité modérée au moins 150 minutes par semaine comme pour la population générale [65]. L'exercice musculaire a permis une augmentation de la captation du glucose sanguin par le biais d'une cascade physiologique alternative à l'insuline, via la protéine kinase AMP-dépendante (AMPK) [129]. La sensibilité à l'insuline est également augmentée lors de l'exercice de manière aiguë et chronique. La contraction musculaire entraîne la captation du glucose au niveau des cellules musculaires de manière non insulino-dépendante [130]. La contraction active le recrutement et la translocation des transporteurs du glucose GLUT4, par l'intervention de l'AMPK [131]. De plus, il a été démontré un effet hémodynamique de l'exercice augmentant le transport et la captation du glucose au niveau musculaire, hépatique et adipeux [132]. Finalement, l'exercice physique augmente la concentration et la disponibilité des GLUT4 dans le muscle et améliore la sensibilité à l'insuline et l'activation de la synthèse de glycogène [133]. Ainsi l'activité physique est probablement un complément utile aux autres approches thérapeutiques. Cependant, il est important d'ajuster les apports caloriques pour tenir compte de la dépense énergétique reliée au type d'activité physique et, chez les patients sous insulinothérapie, il est important de prévenir les hypoglycémies en suivant les recommandations établies pour le DT1 [134].

Fig 6. Captation du glucose sanguin par la cellule musculaire via la contraction, la metformine ou l'insuline.



Tiré de Friedrichsen & coll, 2013 [132].

1.3. Facteurs de risque et anomalies glycémiques en FK

Plusieurs facteurs de risque ont déjà mis en évidence, par exemple l'insuffisance pancréatique exocrine, certaines mutations associées à un phénotype plus sévère, la prise chronique de corticostéroïdes oraux et la mise en place d'une nutrition entérale [65], mais ils ne sont pas traités dans cet ouvrage. Dans cette section nous nous intéressons à certains facteurs de risque en lien avec les contributions originales présentes dans cette thèse : âge, rôle des anomalies hépatiques et du bilan lipidique.

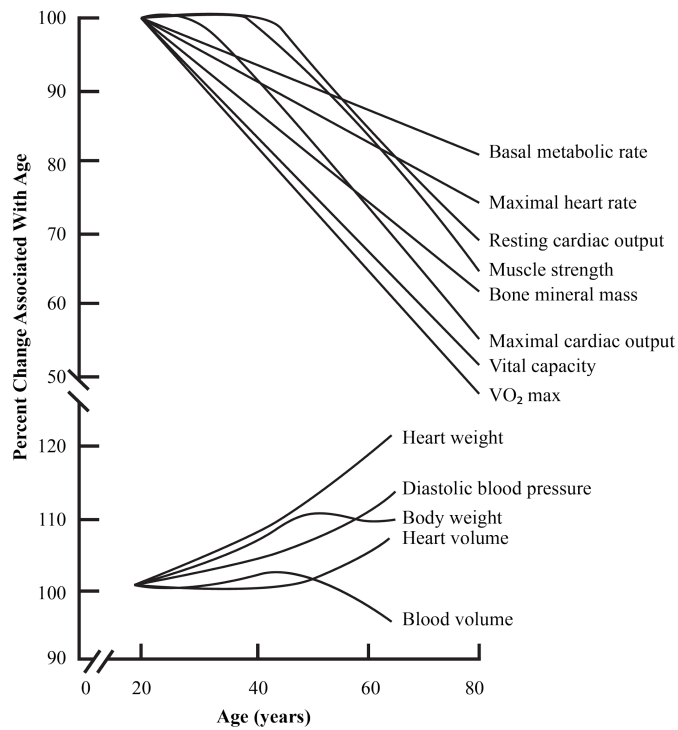
1.3.1. L'âge comme facteur de risque du DAFK

Le vieillissement est un processus naturel qui est associé à plusieurs modifications physiologiques qui mènent à la sénescence. La sénescence se définit par une diminution physiologique

inéluçtable de l'activité vitale des cellules et des fonctions de l'organisme. Ces modifications du profil de santé entraînent une baisse de la dépense énergétique, une accumulation de graisse au niveau viscérale et sous-cutanée [135], une baisse de la qualité musculaire, une augmentation de l'inflammation [136], une diminution du fonctionnement et du nombre de cellules bêta [137]. Ces modifications ont des effets sur le profil de santé métabolique et sur le fonctionnement de certains organes, notamment avec un plus grand risque d'apparition d'anomalies de la tolérance au glucose avec des épisodes de résistance à l'insuline [138].

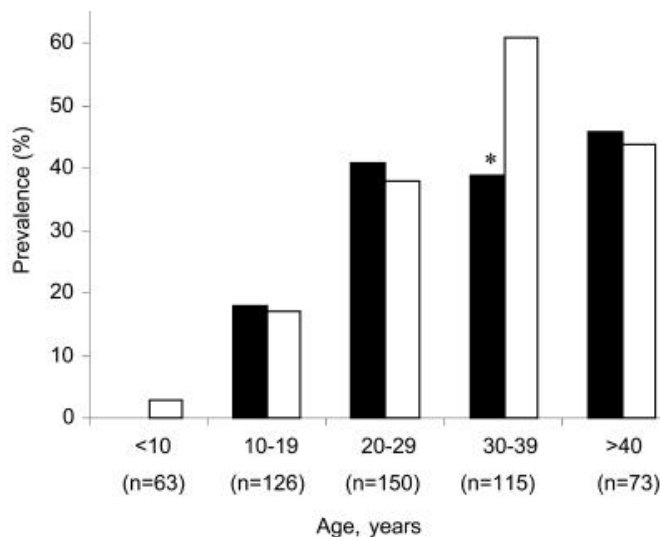
L'homéostasie du corps se définit par une balance appropriée des processus physiologiques qui permettent le maintien d'un fonctionnement normal de l'organisme. Lorsque qu'un déséquilibre homéostatique se produit, on parle alors de stress physiologique lié à un élément perturbateur. Dans la population non-FK, la détérioration du profil lipidique apparaît à partir de 40 ans et est en partie due à une redistribution des graisses ectopiques notamment au niveau abdominal [139, 140]. L'accumulation d'acides gras sous forme de triglycérides au niveau des cellules des organes mène à des états de résistance à l'insuline, précurseur du diabète sucré et conduit à l'augmentation du risque cardiométabolique. Le nombre de personnes atteintes d'anomalies de la tolérance au glucose et de DT2 est plus important après l'âge de 60 ans. En FK, la médiane d'âge de survie est aujourd'hui de 52 ans avec une amélioration spectaculaire au cours des dernières décennies. L'augmentation de l'espérance de vie expose les patients à de nouvelles comorbidités. Chez les patients atteints de FK, il existe une majoration marquée du risque de DAFK et des autres anomalies de la tolérance au glucose avec l'âge. Alors que le risque de DAFK est proche de 10 % avant la puberté, ce risque monte progressivement pour atteindre 40 % à 50 % chez les patients de 30 à 40 ans, un pourcentage comparable de patients présente des anomalies de la tolérance au glucose (prédiabète) [8]. Le vieillissement en FK apparaît donc comme un facteur de risque de complications des anomalies glycémiques à la fois dans la population générale et de façon encore plus marquée chez les patients atteints de FK.

Fig 7. Effet clinique du vieillissement sur l'organisme.



Tiré de Wolk Robert , 2002 [141].

Fig 8. Prévalence du DAFK selon groupe d'âge chez les 527 patients suivis à l'Université du Minnesota.



Tiré de Moran et coll., 2009 [79]. DAFK hommes (■) ; DAFK femmes (□).
 * P = 0,02, hommes vs femmes.

1.3.2. La maladie du foie comme facteur de risque du DAFK

1.3.2.1. Introduction au foie et complications en FK

Le foie est un organe qui participe à la régulation de la glycémie ainsi qu'au métabolisme des graisses et des protéines. Il sécrète de nombreuses substances dont la bile, un liquide nécessaire à l'absorption de certaines graisses et vitamines. Le foie est considéré comme le plus volumineux des viscères du corps humain et pèse en moyenne 1,5 kg (environ 2 % du poids corporel). Il possède une double vascularisation qui lui apporte un débit équivalent à 1,5 L par minute. L'artère hépatique apporte le sang oxygéné (30 % du débit total) et la veine porte (70 %) apporte le sang riche en substances nutritives directement depuis l'estomac et l'intestin. Entre autres, le foie a pour rôle de maintenir la glycémie à un niveau optimal aussi bien dans les phases postprandiales (après un repas) que pendant le jeûne. Le foie métabolise 25 à 30 % du glucose absorbé lors des repas et est aussi le site principal d'action de l'insuline sécrétée par le pancréas [142]

Les maladies du foie peuvent être d'origine infectieuse (ex : hépatites virales), toxique (ex : médicaments, alcool), traumatique (accident), auto-immune (inflammation chronique du foie due à des auto-anticorps), ou cancéreuse. Les maladies du foie sont relativement fréquentes en FK et apparaissent de manière précoce. Elles touchent un tiers des patients FK [143] et comptent pour 3,4 % de la mortalité en FK et ce, toutes causes confondues [3]. Le Consensus du Groupe de la Fondation de Maladie Hépatobiliaire en FK recommande le dépistage annuel des maladies du foie à partir d'échantillons sanguins hépatiques pour détecter les anomalies et aussi afin de considérer l'initiation d'une thérapie à l'acide ursodéoxycholique pour traiter l'atteinte hépatique [3].

Dans la population générale, la maladie non alcoolique du foie (NAFLD) est la plus fréquente des maladies hépatiques chroniques et est associée au développement du diabète. En FK, les lésions hépatiques les plus communes sont la cirrhose biliaire focale, responsable d'obstruction biliaire et associée à des processus fibrotiques menant au développement de la cirrhose, à l'hypertension portale ou à l'insuffisance hépatique [143]. Dans certains cas d'insuffisance hépatique, définie par l'altération des fonctions de synthèse ou de dégradation du glucose par le foie, il peut survenir des signes cliniques d'hyperglycémie. La maladie sévère du foie a été démontrée comme un facteur de risque pour le développement du DAFK [144].

1.3.2.2. Le rôle des enzymes hépatiques : ALT, AST et GGT

Le diagnostic des maladies hépatiques repose sur l'examen du foie par un professionnel de la santé, l'évaluation de ses fonctions par analyse biochimique, ultrason, CT-scan, imagerie par résonance magnétique (IRM) et le plus souvent, une biopsie hépatique est requise pour confirmer le diagnostic [145].

Les enzymes hépatiques sont présentes à l'intérieur des cellules hépatiques, musculaires, cardiaques et rénales. Les enzymes sont des catalyseurs biologiques ayant pour rôle l'accélération d'une réaction chimique de transfert d'un groupe aminé d'un acide alpha-aminé à un acide alpha cétonique. Il existe 2 enzymes transaminases : l'alanine aminotransférase (ALT) et l'aspartame aminotransférase (AST). Le dosage de ces enzymes est utilisé dans la population générale pour le diagnostic et le suivi des maladies du foie [146]. En FK, l'analyse biochimique de routine peut comprendre les enzymes hépatiques ALT, AST et la gamma-glutamyl-transférase (GGT). L'interprétation reste difficile, car ces marqueurs sont à la fois peu sensibles et peu spécifiques dans la population générale et leur performance est encore moins sensible chez les patients atteints de FK [147].

Le plus souvent, en première intention, il est recommandé de se limiter au dosage de l'ALT. En effet, contrairement aux AST, les ALT sont spécifiques au foie et proviennent du cytosol des hépatocytes. En situation physiologique normale, les taux sériques d'ALT sont bas. L'élévation du taux d'ALT dans le sang représente donc un marqueur sensible d'une atteinte hépatocellulaire. Lors d'une atteinte hépatocellulaire, les membranes des hépatocytes deviennent plus perméables ou sont détruites, permettant ainsi à l'enzyme d'être libérée dans le sang [148].

Moins sensible que l'ALT pour le foie, l'AST est également présente dans divers organes tels que les muscles squelettiques, le muscle cardiaque et le cerveau. Les AST proviennent du cytosol et des mitochondries.

La GGT se retrouve dans les hépatocytes ainsi que dans les cellules épithéliales biliaires. Cette enzyme peut s'élever lors de pathologies rénale ou pancréatique et n'est donc pas utilisée exclusivement comme un marqueur de la fonction hépatique.

1.3.3. Les lipides comme facteur de risque du DAFK

L'augmentation de la consommation calorique, telle que recommandée dans la diète FK riche en lipides, combinée à la faible pratique d'activité physique des patients FK [149, 150], peut engendrer une balance énergétique positive. Si celle-ci est maintenue de façon chronique, elle sera favorable au développement du tissu adipeux dont l'architecture et la composition peuvent être modifiées en présence de cellules inflammatoires. Lorsque la capacité de stockage maximale dans le tissu adipeux est atteinte, il y a une possibilité de dépôts de gras dans des sites ectopiques tels que le foie, le pancréas, le muscle et le cœur. [151]. Ces observations ont été récemment rapportées en FK et pourraient être en lien avec l'augmentation du risque de complications cardiométaboliques des patients.

1.3.3.1. Contribution des TG dans la résistance hépatique

Les triglycérides (TG) représentent près de la totalité (95 %) des matières grasses dans l'organisme. Une fois métabolisés, ils contribuent en tant que source d'énergie, de structure des membranes cellulaires ou encore dans les voies métaboliques de synthèse des molécules. Les lipides doivent subir la digestion, c'est à dire le désassemblage des molécules afin d'être absorbés par l'organisme. À l'intérieur de l'intestin grêle, les TG vont être hydrolysés en acides gras (AG) libres et en monoglycérides. [152]. Une fois passés à l'intérieur de la muqueuse intestinale, les lipides vont être réassemblés en TG afin d'être combinés aux chylomicrons, les lipoprotéines assurant leur transport. Les chylomicrons vont ainsi transporter les lipides dans la circulation lymphatique. Après le passage dans la lymphe, la lipoprotéine lipase, une enzyme présente dans les capillaires sanguins, va hydrolyser les TG en acides gras afin qu'ils rejoignent la circulation sanguine. Les cellules des divers tissus vont ainsi capter les acides gras libérés.

La lipolyse correspond au processus de dégradation par hydrolysatation des TG sous forme d'acides gras. La lipolyse du tissu adipeux est responsable du relargage d'acides gras libres en circulation sanguine. Chez les sujets non-FK obèses ou ayant une accumulation excessive de tissu adipeux viscéral, les adipocytes vont être hypertrophiés et vont développer une résistance à l'effet anti-lipolytique de l'insuline [152]. L'excès d'activité de la lipolyse au niveau du tissu adipeux viscéral participe à l'augmentation de la circulation des acides gras libres. Les acides gras libres vont être recaptés par le foie, ce qui va augmenter la sécrétion de TG et réduire la dégradation hépatique de l'apolipoprotéine B (ApoB). Il va s'en suivre une insulino-résistance hépatique accompagnée d'une augmentation de la production hépatique de glucose [153]. L'accumulation

excessive d'acides gras sous forme de TG au niveau du foie a été décrite comme participant au développement du DT2 [154].

Puisque l'insuline a une action anti-lipolytique marquée, la résistance à l'insuline entraîne une élévation de l'activité lipolytique du tissu adipeux. La présence d'insuline augmente la lipogenèse au niveau hépatique et participe avec les acides gras libres à l'accumulation des TG hépatiques. Bien souvent l'état de prédiabète, défini par la résistance à l'insuline et l'hypersécrétion d'insuline, précède la stéatose hépatique, qui va à son tour majorer le risque de survenue du diabète [155]. Ainsi, les anomalies du bilan lipidique comme les TG plasmatiques élevés sont associées à un risque accru de développer le DT2. Il existe peu de données sur la dyslipidémie en FK [156] et son lien avec le développement du diabète [157].

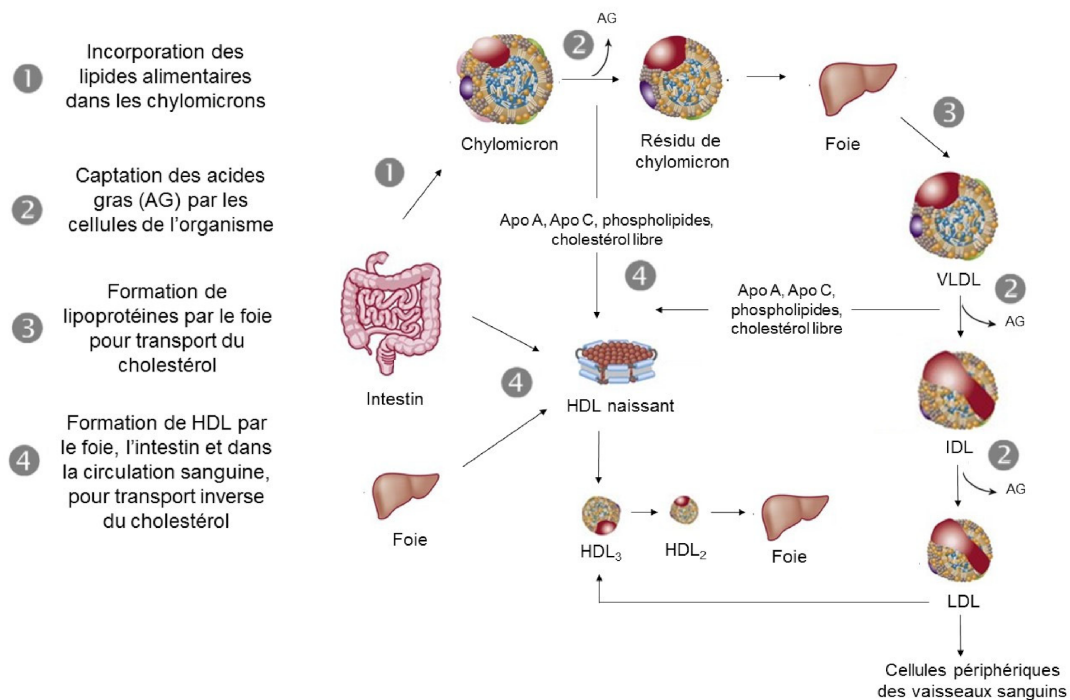
1.3.3.2. Contribution des lipoprotéines de haute densité (HDL)

Le cholestérol alimentaire est un lipide de la famille des stérols. Il est absorbé au niveau des intestins puis transporté par les chylomicrons jusqu'au foie qui a pour rôle de le redistribuer vers le reste de l'organisme. Le foie associe le cholestérol et les TG aux lipoprotéines de très faible densité (les VLDL) pour les transporter vers les tissus cibles. Les VLDL se déchargeront en premier des TG, constituant alors des lipoprotéines de plus en plus riches en cholestérol appelées lipoprotéines de faible densité (LDL). Les LDL vont poursuivre la distribution du cholestérol aux tissus de l'organisme avant de retourner au foie. Le cholestérol est présent dans la plupart des tissus humains puisqu'il fait partie de la constitution des membranes cellulaires. Il peut être fabriqué dans divers tissus (cerveau, foie) et participe à la synthèse de divers stéroïdes comme les hormones sexuelles (œstrogènes, androgènes et progestérone) ou aux acides biliaires nécessaires à la digestion des graisses alimentaires. Le cholestérol n'est cependant pas utilisé en tant que source d'énergie [60]. L'accumulation excessive de cholestérol au niveau de l'organisme peut être nuisible, car sa voie d'élimination se limite à l'excrétion fécale.

Les HDL-cholestérol, communément appelées « bon cholestérol », sont synthétisées par le foie et sont responsables de la récupération de l'excès de cholestérol des tissus périphériques pour l'acheminer vers le foie afin qu'il l'élimine dans la bile. Le niveau de HDL-cholestérol est inversement corrélé aux risques CV par ses propriétés anti-athérogènes. [158].

Un faible niveau de HDL-cholestérol peut donc entraîner un ralentissement de l'élimination du cholestérol en excès et engendrer une augmentation de la lipotoxicité au niveau de certains organes. Le niveau de HDL-cholestérol en circulation est utilisé afin d'identifier la présence de dyslipidémie et les risques cardiovasculaires. Le ratio cholestérol total/HDL-cholestérol, correspondant au rapport du cholestérol total en circulation dans les différents types de lipoprotéines, sur le cholestérol présent uniquement dans les HDL, est également utilisé en tant qu'indice du risque coronarien [159]. Un faible niveau de HDL-cholestérol, causé par l'augmentation du catabolisme des HDL, est associé au syndrome métabolique et à la résistance à l'insuline [160]. Comme pour les TG plasmatiques élevés, un HDL-cholestérol bas est associé avec une majoration du risque de développer le DT2. En effet, ces 2 anomalies lipidiques font partie de la définition du syndrome métabolique [161].

Fig 9. Transport des lipides dans l'organisme.



Tiré de Tessier-Grenier M., 2017 [162].

CHAPITRE 2- HYPOTHÈSES ET OBJECTIFS

2.1. Justification et but du projet de recherche

Les avancées scientifiques ont permis de faire augmenter l'espérance de vie des patients FK de près de 20 années entre 2001 et 2017. La médiane de survie est actuellement 52,3 ans. Cependant, l'augmentation de l'espérance de vie chez les patients atteints de FK est associée à l'émergence de complications et de comorbidités telles que le diabète, l'obésité et la dyslipidémie.

La FK a longtemps été caractérisée comme une maladie infantile, puisque dans les années 1970 la plupart des patients mouraient avant l'âge de 18 ans. Les recommandations actuelles nutritionnelles et pharmaceutiques se basent sur l'ensemble de la littérature disponible, conduite dans le début des années 1980 principalement chez les enfants FK avec une forme sévère de la maladie. L'objectif principal à cette époque était de contrer la condition catabolique de cette maladie. Le poids étant associé positivement à la fonction pulmonaire et à la mortalité, l'objectif de la prise et du maintien du poids fut dès lors une priorité en FK. Lorsque l'hyperglycémie survient, afin de prévenir le ralentissement de la croissance staturo-pondérale due à la déficience d'insuline, la fondation américaine de FK recommande l'insulinothérapie en première intention visant ainsi à maintenir un IMC et une glycémie normale.

Cependant, à côté du tableau classique du patient jeune qui présente à la fois une hyperglycémie et un état catabolique, il existe aussi un sous-groupe de patients souvent plus âgés, le plus souvent asymptomatiques sans problèmes significatifs de poids, qui manifestent eux aussi des anomalies de la tolérance au glucose tel que le DAFK. Le poids des patients FK s'étant significativement amélioré ces dernières années, la nécessité d'un recours à l'insulinothérapie en première ligne chez certains patients adultes DAFK sans problème pondéral ou état catabolique est plus discutable. Les causes de la survenue du diabète chez ce sous-groupe de population suscitent un questionnement quant aux adaptations physiologiques chez des patients FK plus âgés. La nécessité de réévaluer les capacités de sécrétion d'insuline de ce sous-groupe de patients s'impose et pourrait permettre de mettre à jour certaines recommandations thérapeutiques.

Aux vues des chapitres précédents, l'émergence des complications telles que le DAFK souligne l'importance du suivi médical en FK. Une étude s'intéressant à l'adhérence des visites de dépistage pour le DAFK a démontré que plus de la moitié des patients (51,5 %) ne se présentait pas à leur visite annuelle [163], ce qui correspond également à notre expérience de dépistage au

sein de notre cohorte. Parmi les causes de cette faible adhésion aux mesures de dépistage, on retrouve la lourdeur des tests à la fois pour les patients et les professionnels de la santé. La durée du test (2-h), le déplacement à jeun du patient, le besoin de mobiliser du personnel, les implications du diagnostic sont tous des éléments qui peuvent expliquer la faible adhésion aux recommandations de dépistage [164]. L'utilisation d'outils diagnostiques visant à l'identification des patients à risque de développer le DAFK afin de les orienter vers le test de dépistage de façon ciblée et non systématique apparaît donc comme pertinente. Dans la population non-FK, les enzymes transaminases sont associées aux risques de développement du diabète. En FK, les mécanismes de développement du DAFK sont toujours à l'étude. L'atteinte hépatique ainsi que la résistance hépatique pourraient contribuer à la survenue du DAFK. Il serait intéressant d'évaluer comme pour le DT2, l'existence d'une association entre les biomarqueurs de la fonction hépatique et les anomalies glycémiques en FK.

Le poids en FK est utilisé comme marqueur du statut nutritionnel. La malnutrition en FK est associée à une faible fonction pulmonaire et une augmentation de la mortalité. De nombreux bénéfices ont été observés chez les enfants grâce à l'intervention d'une diète riche en calories et riche en aliments gras visant ainsi à mieux absorber certains nutriments [165]. Ces propositions nutritionnelles ont dès lors révolutionné le traitement, la prise en charge et notablement amélioré le pronostic et la survie des patients FK. Le recours à une diète riche en gras visait à favoriser la prise de poids des patients FK jeunes et très malades. Ces conseils nutritionnels ont permis de faire augmenter le poids moyen de la population FK. Cependant, dans la population non-FK, l'augmentation du poids et de l'IMC ainsi que la consommation d'une diète riche en gras sont associées à des complications comme l'accumulation de graisse au niveau abdominal, le développement de stéatose hépatique et l'augmentation de la prévalence de dyslipidémie. Également, la consommation d'aliments riches en lipides pourrait contribuer au développement de la résistance à l'insuline et pourrait ainsi participer à l'apparition du DAFK. Une attention particulière devrait être portée sur l'évaluation du statut lipidique des patients FK. Comme pour les anomalies hépatiques il est possible que les anomalies du bilan lipidique permettent d'identifier les sujets plus à risque de DAFK, ou à l'opposé d'identifier des sujets à plus faible risque permettant ainsi d'ajuster la fréquence du dépistage au niveau de risque.

2.2. Objectifs et hypothèses

Ce travail de thèse a pour objectif l'identification de nouveaux facteurs de risque menant au développement des anomalies de la tolérance au glucose ainsi que leurs mécanismes, dans une population de patients adultes atteints de FK.

Les hypothèses de mes travaux de recherche sont :

- Chez les patients FK adultes vieillissants, l'évolution de la sécrétion d'insuline dans le temps est différente de la baisse progressive décrite dans les populations plus jeunes.
- La résistance à l'insuline contribue au développement du DAFK chez les adultes FK vieillissants.
- Les biomarqueurs de la dysfonction hépatique sont associés à la détérioration du profil glycémique en FK comme observé dans la population générale.
- Il existe une forte prévalence de dyslipidémie chez les patients adultes FK.
- La dyslipidémie en FK est associée au développement du diabète.

Nous tentons de répondre à ces hypothèses au travers d'études observationnelles dans la cohorte de FK de Montréal. Également, nous abordons dans la discussion quelques résultats préliminaires d'une étude interventionnelle sur le style de vie (alimentation et activité physique) qui vise à réduire les excursions glycémiques postprandiales.

La première étude vise à étudier l'évolution ou le développement d'anomalies de la tolérance au glucose chez les patients FK vieillissants en i) explorant l'évolution de la sécrétion d'insuline chez les patients FK adultes et en ii) évaluant la résistance à l'insuline comme mécanisme potentiel du développement du diabète chez ces patients. Cette étude qui comprend un suivi prospectif observationnel de 10 ans nous permet de comprendre d'un point de vue clinique les facteurs liés à la sécrétion d'insuline et à la résistance à l'insuline chez les adultes au cours du temps.

Objectif N°1 : Pour répondre à cela, nous avons effectué une analyse transversale et prospective au sein d'une cohorte de plus de 300 patients. Nous avons sélectionné les patients les plus âgés (> 35 ans, la médiane d'âge de survie dans cette population étant de 52 ans, et la médiane d'âge de

notre cohorte de 35 ans). Nous avons étudié l'évolution de la sécrétion d'insuline dans le temps en comparant la première visite à l'inclusion dans la cohorte et la visite la plus récente. Également, nous avons comparé l'évolution de la sensibilité à l'insuline au cours de temps de manière à comprendre la survenue du DAFK dans ce sous-groupe de population survivant.

Nous émettons l'hypothèse que chez les patients adultes vieillissants, au cours du temps la baisse de sécrétion d'insuline est négligeable comparativement à la baisse de sensibilité à l'insuline dans la contribution du développement du DAFK.

Article 1 : “The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity”.

Publié dans Journal of Cystic Fibrosis, doi: 10.1016/j.jcf.2019.01.009.

Une seconde étude, transversale, vise à i) évaluer la fonction hépatique chez les patients FK adultes et ii) déterminer l'association entre les biomarqueurs de routine de la fonction du foie et l'intolérance au glucose chez les patients adultes atteints de FK. Nous avons vu précédemment que dans la population générale, il existe une association entre les ALT et le développement du DT2. Nous visons donc à explorer si cette même relation existe pour les patients qui vivent avec la FK et si la présence d'ALT élevés pourrait s'avérer un outil de diagnostic utile pour l'orientation des patients vers le dépistage du DAFK.

Objectif N°2 : À l'aide des données d'analyses biologiques des enzymes transaminases ALT, nous avons évalué le statut hépatique en FK. Également, nous visons à déterminer un seuil critique pour l'ALT en relation avec le risque de développement du DAFK. Nous avons comparé les patients ayant des ALT basses (< 25 UL) versus les patients ayant des ALT plus élevées (> 25 UL). Nous avons déterminé si le groupe possédant des ALT plus élevées possède une plus grande prévalence d'anomalies glycémique et de DAFK.

Nous émettons l'hypothèse qu'il existe une plus grande prévalence d'anomalies glycémiques et de DAFK chez les patients FK possédant un niveau élevé d'enzymes hépatiques ALT, comparativement à ceux possédant des ALT plus basses.

Article 2 : “Hepatic enzyme ALT as a predictor of glucose abnormality in men with cystic fibrosis.” Publié dans Plos One, doi.org/10.1371/journal.pone.0219855.

Dans un troisième temps, une étude transversale et prospective vise à i) évaluer la prévalence de dyslipidémie chez les patients FK et ii) observer l’existence d’une association entre le profil lipidique de routine et l’intolérance au glucose chez les patients adultes atteints de FK. Comme décrit au chapitre précédent, le développement de la dyslipidémie est en lien étroit avec le développement de la résistance hépatique à l’insuline et apparaît comme un facteur de risque de DT2 dans la population générale.

Objectif N°3 : Nous visions à évaluer la présence de dyslipidémie (faible HDL : plus bas quartile de la cohorte, et/ou hypertriglycéridémie caractérisée par des TG $\geq 1,7$ mmol/L) et sa contribution dans le risque de développer le DAFK. Nous avons comparé la prévalence de DAFK, ainsi que la sécrétion et la résistance à l’insuline entre les patients atteints de dyslipidémie et les patients ayant un profil lipidique normal.

Nous émettons l’hypothèse que les patients FK adultes atteints de dyslipidémie auraient des caractéristiques d’anomalies de la tolérance au glucose et un risque de DAFK plus élevé que les patients au profil lipidique normal.

Article 3 : “Dyslipidemia is not associated with the development of glucose intolerance or diabetes in cystic fibrosis.” Publié dans le Journal of Cystic Fibrosis, le 14 Avril, 2020.

CHAPITRE 3- MÉTHODOLOGIE

3.1. Population

3.1.1. Cohorte de FK de Montréal

Les résultats de nos études proviennent des données collectées dans le cadre de la Cohorte de FK de Montréal (CFKM). Cette cohorte prospective observationnelle repose sur le programme de dépistage annuel des anomalies de la tolérance au glucose qui intègre aux tests cliniques la collecte de données à des fins de recherche. L'objectif de la CFKM est d'étudier les mécanismes conduisant au DAFK et ses conséquences. Cette cohorte adulte est actuellement l'une des plus grandes cohortes de FK du Québec, ayant comme objectif la compréhension des mécanismes et des conséquences des anomalies de la glycémie chez les patients atteints de FK. La CFKM regroupe plus de 300 patients âgés de 18 à 71 ans avec des suivis s'attendant jusqu'à 14 ans, sur une période allant de 2003 à 2019.

3.1.2. Déroulement de l'étude

Les patients sont invités à participer à l'étude de cohorte au moment de leur test HGPO dans le cadre de leur bilan annuel détaillé à la clinique de FK du CHUM. Les participants inclus sont ensuite suivis chaque année pour les tests d'HGPO subséquents. Les patients diagnostiqués *de novo* DAFK sont exclus de la cohorte et référés vers un médecin endocrinologue spécialiste afin de confirmer le diagnostic de diabète.

Les critères d'inclusion dans la CFKM sont les suivants : diagnostic de FK et être âgé de plus de 18 ans. Les critères d'exclusions comprennent : grossesse ; diagnostic confirmé de DAFK ou présence d'un traitement pharmacologique hypoglycémiant ; transplantation pulmonaire ou greffe de foie ; médication pouvant altérer le métabolisme du glucose (les patients sous antibiotiques pour cause d'infection sont momentanément exclus de la cohorte puis ré-inclus une fois l'événement passé). Les participants inclus dans cette étude ont donné leur consentement libre et éclairé.

Plusieurs données sont collectées directement dans les dossiers médicaux, à partir du bilan annuel détaillé effectué le jour de l'HGPO :

- Bilan sanguin de routine, incluant l'HbA1C, le bilan hépatique, le profil lipidique, des marqueurs de l'inflammation,
- La fonction pulmonaire,
- Caractéristiques des participants, incluant le génotype, les données sociodémographiques, l'insuffisance pancréatique.

En plus du bilan régulier des patients qui requiert la collecte de sang à jeun puis 2-h après la prise de la charge orale en glucose, des prélèvements sanguins additionnels sont effectués à des fins de recherche, soit des prélèvements aux 30 minutes pour mesurer le glucose plasmatique et l'insulinémie. Des échantillons sont également congelés pour des analyses futures en lien avec les causes et les conséquences des anomalies glycémiques. Les mesures anthropométriques (poids, tour de taille, taille et estimation de la composition corporelle par impédancemétrie) sont aussi effectuées par l'équipe de recherche afin d'obtenir des données standardisées.

Toutes ces données sont conservées de façon anonyme. Les résultats des patients sont mis à jour à chaque nouvelle visite, permettant ainsi d'observer l'évolution de l'atteinte de la maladie et le statut clinique des patients au cours du temps de manière individuelle et pour l'ensemble de la cohorte.

3.2. Méthodes et mesures

3.2.1. Test HGPO

Le test d'HGPO (ou OGTT en anglais) est un test dynamique visant à observer la réaction physiologique à une surcharge de glucose par voie orale. Il consiste en l'ingestion d'une boisson de glucose équivalent à 1.75 g de glucose/kg de poids de corps (maximum 75 g) en moins de 5 min après une nuit à jeun (8 heures). Grâce à un cathéter installé sur la veine du patient, des prélèvements sanguins sont effectués toutes les 30 minutes pendant deux heures (Temps 0 min [T0] à jeun puis T30 min ; T60 min ; T90 min ; T120 min) suite à la consommation de la boisson de glucose. Le glucose plasmatique est ensuite analysé afin de classifier les patients selon leur groupe de tolérance au glucose.

3.2.1.1. Mesure de la glycémie

La glycémie plasmatique est mesurée par analyseur de glucose YSI (Yellow Springs Instrument 2300 STAT PLUS Glucose and Lactate Analyzer) selon la technique glucose oxydase. Le YSI est un instrument de mesure utilisé en clinique et en médecine afin de mesurer la glycémie à partir d'un échantillon sanguin prélevé d'un patient. Les valeurs sont exprimées en mmol/L (en dL/mg aux États-Unis) de la concentration de glucose présente dans le sang au moment du prélèvement. Les valeurs de glycémie aux temps 0min, 30min, 60min, 90min, 120min permettent ainsi de tracer une courbe de glycémie caractéristique de leur réponse à l'HGPO et de définir le niveau de tolérance au glucose d'un patient. Les mesures de la glycémie obtenue par YSI servent également à estimer l'aire totale sous la courbe (AUC) de la glycémie lors du test.

3.2.1.2. Mesure de l'insulinémie

L'insulinémie est mesurée en duplicata et exprimée en mmol/L lors des prélèvements sanguins par immunoradio-essais (Linco Research, Inc.). Chaque mesure de glycémie, correspond à une mesure d'insulinémie effectuée avec le même échantillon soit à 0, 30, 60, 90 et 120 min. Les données d'insuline expriment le taux d'insuline en circulation au moment du prélèvement sanguin.

3.2.1.3. Estimation de la sensibilité à l'insuline

La sensibilité à l'insuline est estimée par une équation. Cette estimation renseigne sur la capacité à sécréter de l'insuline en réaction au taux de glucose. L'indice de Stumvoll est utilisé par notre groupe à l'IRCM. Il intègre dans son équation les valeurs de glycémie à 2-h et les valeurs d'insuline à jeun et à 2-h visant à rendre l'estimation plus dynamique en rapport à la variation de sécrétion d'insuline en fonction du taux de glucose [166]. L'Homeostatic Model Assessment (HOMA), pour quantifier la résistance à l'insuline (IR), utilisé dans le DT2 est une équation estimée à partir de données de glycémie et d'insuline à jeun [167] et témoigne d'un état pathologique de résistance à l'insuline principalement hépatique. Ces 2 indices sont validés dans la population sans FK [168]. Parmi les multiples indices disponibles, le choix s'est porté sur l'index le plus utilisé (HOMA-IR) et sur un indice bien validé qui incorpore la glycémie à la 2^e heure de l'HGPO plus susceptible de capturer les anomalies présentes en FK.

Équation Indice de Stumvoll [169] :

*0.156 - 0.0000459 (insuline Time 120min x 6.945) - 0.000321 (insuline Time 0min x 6.945) -
0.00541 glycémie Time 120min.*

3.2.2. Analyses sanguines

3.2.2.1. Hémoglobine glyquée (HbA1c)

L'HbA1c (≥ 6.5 %) est mesurée par Immunotubidimeter (ADVIA1650 ; Bayer Health Care diagnosis) par prélèvement sanguin sans nécessité d'être à jeun. L'HbA1c est utilisée comme outil de diagnostic pour le dépistage du diabète. Elle représente la proportion moyenne de glucose liée à l'hémoglobine et s'exprime en pourcentage. Le glucose se fixe sur les molécules d'hémoglobine présentes dans les globules rouges afin d'assurer son transport dans le flux sanguin. Le glucose en circulation s'accumule ainsi sur ces molécules pendant toute la durée de vie de l'hémoglobine (environ 120 jours). Cette technique de mesure est approuvée dans la population non-FK, mais non recommandée en FK, car peu fiable pour le diagnostic du DAFK [73]. Bien qu'aucun seuil n'ait été défini pour la population FK afin d'établir le diagnostic, elle reste utilisée et permet d'observer les différences cliniques au sein d'une même population FK.

3.2.2.2. Bilan lipidique (Triglycérides, HDL)

Les TG et le HDL-cholestérol sont mesurés suite au prélèvement sanguin à jeun (T0 min). Ils sont analysés par réaction enzymatique (ADVIA1650, Bayer Health Care Diagnostics).

3.2.2.3. Bilan hépatique (ALT, AST, GGT)

Les ALT, AST et GGT sont mesurés à jeun (T0 min) et analysés par réaction enzymatique (ADVIA1650, Bayer Health Care Diagnostics).

3.2.3. Insuffisance pancréatique

L'insuffisance pancréatique au sein de la cohorte est déterminée par le recours « oui » ou « non » de l'utilisation d'enzymes pancréatiques de remplacement (EPR). La consommation d'EPR sur une base régulière était évaluée lors de l'examen médical avec le médecin et représente une estimation de la population atteinte d'insuffisance pancréatique.

3.2.4. Fonction pulmonaire

La fonction pulmonaire exprimée par le volume expiratoire maximale en 1 seconde (VEMS ou FEV en anglais) est mesurée par spirométrie (Medgraphic 1870, St. Paul, MN, USA) lors de la visite médicale par un médecin pneumologue. Le VEMS s'exprime en L/min, mais est également rapporté en %VEMS afin de pouvoir comparer les patients entre eux en limitant la variabilité entre patients (ajusté pour le poids, le sexe et la grandeur) [170]. Les paramètres requis pour cette mesure sont la Capacité vitale forcée (CVF), le débit expiratoire entre les valeurs de 25 % et 75 % de la capacité vitale forcée (DEM_{25-75}) et le rapport en pourcentage du VEMS sur la CVF (VEMS/CVF %) [171].

3.2.5. Mesures anthropométriques

3.2.5.1. Taille, poids et tour de taille

La taille exprimée en mètre est mesurée à l'aide d'une toise murale. Le poids est exprimé en kilogramme et est mesuré à l'aide d'une balance électronique (Tanita Corporation Arlington Heights, IL, USA). Il existe plusieurs techniques pour mesurer le tour de taille [172]. Notre laboratoire utilise le protocole recommandé pour les Instituts Nationaux de Santé (INS) [173]. Ainsi, le tour de taille est obtenu à l'aide d'un ruban à mesurer muni d'un tensiomètre en se référant à la ligne médiane transverse au niveau du sommet des deux crêtes iliaques du patient [174].

3.2.5.2. Pourcentage de gras et IMC

Le pourcentage de gras est obtenu par mesure d'impédancemétrie sur une balance électronique (Tanita Corporation Arlington Heights, IL, USA). Cette mesure est obtenue à l'aide d'un algorithme interprétant la variation de la vitesse d'un faible courant électrique circulant à travers le corps du patient, debout pieds nus sur la balance. La variation de vitesse de circulation du courant à travers les différentes matières du corps (liquides, masse maigre, masse grasse, masse osseuse) permet d'estimer le pourcentage de gras, ainsi que le pourcentage de masse maigre. Pour les patients atteints de FK, cette méthode est validée pour une évaluation sur de grands groupes, par contre comparativement à la méthode de référence (ostéodensitométrie par absorption biphotonique ; DEXA) elle sous-estime la masse grasse et surestime la masse non grasse [175]. Ces données complètent l'évaluation du statut nutritif des patients. L'IMC correspond au poids en kilogramme divisé par le carré de la taille en mètre et est donc exprimée en kg/m^2 . L'IMC était

obtenu lors de la pesée à l'aide de la balance électronique (Tanita Corporation Arlington Heights, IL, USA)

CHAPITRE 4- RÉSULTATS

4.1. Article 1: “The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity”. JCF, doi: 10.1016/j.jcf.2019.01.009.

Les contributions à cette étude comprenaient les éléments suivants :

Conceptualisation : Johann Colomba, Valérie Boudreau.

Acquisition des données : Johann Colomba, Valérie Boudreau, Catherine Lehoux-Dubois, Adèle Coriati.

Analyse formelle : Johann Colomba, Valérie Boudreau.

Financement : Rémi Rabasa-Lhoret.

Méthodologie : Johann Colomba, Valérie Boudreau, Rémi Rabasa-Lhoret.

Ressources : François Tremblay, Rémi Rabasa-Lhoret, Adèle Coriati.

Supervision : Rémi Rabasa-Lhoret.

Rédaction - ébauche originale : Johann Colomba, Valérie Boudreau.

Formatage et soumission : Johann Colomba.

Révision et édition : Johann Colomba, Valérie Boudreau, Catherine Lehoux-Dubois, Adèle Coriati, Katherine Desjardins, François Tremblay, Rémi Rabasa- Lhoret.

Article publié dans Journal of Cystic Fibrosis. 2019 Jan; 10.1016/j.jcf.2019.01.009

1569-1993/© 2019 European Cystic Fibrosis Society. Published by Elsevier B.V.

TITLE: The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity.

Running title: Insulin resistance in older CF patients

Johann Colomba MSc.^{1,2,*}, Valérie Boudreau MSc.^{1,2,*}, Catherine Lehoux-Dubois MSc^{1,2},
Katherine Desjardins MSc¹, Adèle Coriati PhD¹, François Tremblay MD^{3,4}, Rémi Rabasa-Lhoret
MD, PhD¹⁻⁴

* equal contribution

¹ Institut de Recherches Cliniques de Montréal, 110 avenue des Pins Ouest, Montréal H2W 1R7, Québec, Canada ;

² Department of Nutrition, l'Université de Montréal, 2900 Boulevard Edouard-Montpetit, Montréal, QC H3T 1J4, Québec, Canada ;

³ Cystic Fibrosis Clinic, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), 1051 Rue Sanguinet, Montréal, QC H2X 3E4, Québec, Canada ;

⁴ Department of Medicine, Université de Montréal, 2900 Boulevard Edouard-Montpetit, Montréal, QC H3T 1J4, Québec, Canada ;

Declarations of interest : None.

Words count: 3335

Number of tables: 3

Number of figures: 2

Corresponding author:

Rémi Rabasa-Lhoret

Institut de recherches cliniques de Montréal

110 avenue des Pins Ouest,

Montréal, QC,

Canada, H2W 1R7

Telephone number: 514 987 5762

E-mail : remi.rabasa-lhoret@ircm.qc.ca

ABSTRACT

Background: Aging cystic fibrosis (CF) patients are at high risk of developing CF-related diabetes (CFRD). Decrease in insulin secretion over time is the main hypothesis to explain this increasing prevalence but mechanisms are still not well elucidated. The objective is to assess evolution of glucose tolerance and insulin secretion/sensitivity in aging CF patients.

Methods: This is a retro-prospective observational analysis in the older adult CF patients from the Montreal Cystic Fibrosis Cohort (n=46; at least 35 years old at follow-up) and followed for at least 4 years. Baseline and follow-up (last visit to date) 2-h oral glucose tolerance test (OGGT with glucose and insulin measurements every 30 minutes) were performed. Pulmonary function test (FEV1) and anthropometric data were measured the same day. Insulin sensitivity was measured by the Stumvoll Index.

Results: After a mean follow-up of 9.9 ± 2.6 years, mean age at follow-up was 43.5 ± 8.1 years old. An increase of body weight ($+2.6 \pm 6.5$ kg, $p = 0.01$) and a decrease in pulmonary function (FEV1; $73.4 \pm 21.2\%$ to $64.5 \pm 22.4\%$, $p \leq 0.001$) were observed. Overall, insulin secretion is maintained at follow-up but all OGTT glucose values increased (for all values, $p \leq 0.028$). At follow-up, 28.3% of patients had a normal glucose tolerance while 71.7% had abnormal glucose tolerance (AGT). AGT patients decreased their insulin sensitivity over time ($p = 0.029$) while it remained the same in NGT patients ($p = 0.917$).

Conclusion: In older CF patients, the progression of impaired glucose tolerance is occurring with stable insulin secretion but reduced insulin sensitivity.

Key words: Cystic Fibrosis, diabetes, CFRD, glycaemia, insulin secretion.

1. Introduction

Cystic fibrosis (CF) is a rare genetic autosomal disease affecting approximately 1 per 3000 newborns in the Caucasian population, more than 4000 people live with CF in Canada, and approximately 70 000 people worldwide [176]. To our knowledge, the evolution of insulin secretion and resistance in aging CF patients has not been studied. In the general population, aging is associated with progressive insulin resistance, partly explaining the increased risk on type 2 diabetes with age [177]. Increased fat percentage including visceral fat, decreased lean body mass, lower physical activity level, reduced peripheral glucose utilization and increased liver glucose production may be involved [178]. In CF, it has been observed that patients may

have a high total or visceral body fat accumulation despite normal BMI, which could increase insulin resistance [179]. Moreover, variations in clinical status may also impact insulin resistance over time. It has been observed that insulin resistance varies over 4 years in an adult CF population and thus influences glucose tolerance [30]. Thus, following a type 2 diabetes logic, although insulin secretion loss is a key factor to CFRD development, gradual insulin resistance may be important, especially in an aging population. The risk of developing type 2 diabetes or CFRD increases significantly with age. Moreover, insulin secretion may also decrease over time, increasing even more the risk of diabetes [177, 178]. CF is associated with a high risk of early death [180] but due to earlier screening and better therapeutic management life expectancy is improving: nowadays, a vast majority of patients can expect to reach adulthood, which was not observed 30 years ago.

This increased life expectancy is associated with emergence of secondary complications out of which CF-related diabetes (CFRD) is the most frequent [22]. Aging CF patients are at risk to develop glucose intolerance and CFRD [181]. It is estimated that 40% of patients over 40-50 years of age have CFRD while an approximate equal proportion of patients have impaired glucose tolerance [22]. Moreover, hyperglycemia in CF patients is associated with both a low body weight and a lower pulmonary function [182-184]. It has been shown that an acceleration of weight and lung function loss can occur up to 4 years before the onset of CFRD [185]. Reduced weight and lung function in patients with CFRD translate into an increase in mortality in CFRD patients compared to CF patients without diabetes [34, 176]. With the progressive CF-patients increase life expectancy the gap for the risk of earlier death between CF patients without diabetes persist but is narrowing [34].

Despite sharing some characteristics with both type 1 and type 2 diabetes CFRD is a specific form of diabetes [186]. Several studies suggested that the main mechanism responsible for the development of CFRD is a gradual decrease of insulin secretion, starting early during development and in large part caused by the combination of altered pancreatic β cells and pancreatitis [8, 86]. However, up to now this mechanism has been described in the younger CF population including children, teenagers and/or young adult, but not in older CF patients. In addition, beside the evident alteration in insulin secretion the additional mechanisms leading to the progression of glucose tolerance with age are still incompletely understood [28, 98]. Therefore, the purpose of this study is to assess glucose and insulin homeostasis in an older

cohort of CF patients. The aims of this study were to 1) explore the clinical evolution and 2) evaluate insulin secretion and sensitivity over time in older CF patients.

2. Material and methods

2.1 Participants

Adult patients were selected from the Montreal CF cohort (MCFC), this prospective observational cohort is designed to study mechanisms of glucose intolerance and its association with CF clinical status in patients without known CFRD: each 12 to 18 months patients undertake on the same day an oral glucose tolerance test (OGTT), pulmonary function test and detailed medical examination [90]. MCFC main inclusion criteria are adult age (≥ 18 years old), confirmed CF diagnosis, and no known CFRD. Exclusion criteria are previous diagnosis of diabetes, ongoing pregnancy, and pulmonary exacerbations in the past month or conditions that could interfere with glucose metabolism such as intravenous antibiotic, steroids (oral or intravenous) or growth hormone treatment [90]. Patients meeting an exclusion criterion at the time of their OGTT were temporary excluded and may retake the OGTT when they were clinically stable, at least one month past the end of the exclusion criterion (eg: pulmonary exacerbation). Patients with de novo CFRD at baseline were excluded from this study and referred to an endocrinologist.

Patients selected for this retro-prospective analysis had to respond to the following additional criteria: patients should be at least 35 years at their last available visit which was used for follow-up analysis and should have been followed for at least 4 years. We choose the threshold of at least 35 years old at follow-up which corresponds to the oldest tertile of our CF population to select our sample of older CF patients. At the time of this analysis out of the 278 available patients from the MCFC database, a total of 46 patients met the inclusion criteria used for the present analysis.

2.2 Genotype classification

The genotype was harvested using medical files. Genotype was categorized into five established classes reflecting CFTR expression and function [187]. Patients with two mutations of the same class were assigned to that class. Heterozygotes for F508del were assigned to the class of the non-f508del allele. Patients who have not yet been clearly established or which include two different mutation classes on the allele (e.g. I-IV) were assigned to the “other” category. Patients with mutant alleles of classes I, II and III were categorized as having severe genotype, while patients with mutations of classes IV, V or other were categorized as having mild genotype.

2.3 Clinical data

Age, sex and genotype were harvested using medical files. Body weight and standing height were measured using an electronic scale (Tanita Corporation Arlington heights, IL, USA) and a wall stadiometer, respectively. Body mass index (BMI) was calculated using weight in kilograms divided by height in square meter (kg/m^2). FEV was measured by spirometry on the same day as the OGTT tests, using the forced expiratory volume in 1 second percent predicted (% FEV1: Medgraphic 1870, ST Paul, MN, USA) as the main measure.

2.4 Oral glucose tolerance test (OGTT): glucose tolerance and estimation of insulin secretion/sensitivity

Patients had to fast for 8 hours and consume a sweet glucose beverage (1.75g/kg of body weight up to a maximum of 75g or 300 ml) in 5 minutes. A catheter was installed before the test for blood sampling [65]. Blood samples were taken at 0, 30, 60, 90 and 120 minutes of the OGTT, to measure glycemic excursion and insulin levels over time. Plasma glucose were analysed by Glucose Analyzer (YSI 2300 STAT plus, glucose and lactate analyzing; YSI Inc.). Insulin sample were frozen at -80°C then chemically measured by Immunitubidimeter, ADVIAI650; Bayer Health Car diagnosis. Measures for glycosylate hemoglobin have been described previously [90]. Based on their 2-hour glucose value during the OGTT, subjects were categorized as having normal glucose tolerance (NGT; <7.8 mmol/L), impaired glucose tolerance (IGT; ≥ 7.8 mmol/L and < 11.1 mmol/L), indeterminate glucose tolerance (INDET; <7.8 mmol/L, but 1-h glycemia ≥ 11.1 mmol/L) or de novo CFRD (≥ 11.1 mmol/L). Fasting glucose value ≥ 7.0 mmol/L was also considered as de novo CFRD. The abnormal glucose tolerant group (AGT) includes IGT, INDET and CFRD de novo patients. Insulin sensitivity following a glucose challenge was calculated according to the Stumvoll index ($0.156 - 0.0000459 \times \text{Ins}_{120} - 0.000321 \times \text{Ins}_0 - 0.00541 \times \text{Gluc}_{120}$) [169, 181, 188]. Insulin area under the curve (AUC)₀₋₃₀ from time 0 to 30 min of the OGTT was used as an index of early insulin secretion, insulin AUC₃₀₋₁₂₀ (AUC from time 30 to 120 min of the OGTT), as an index for late phase insulin secretion, 2-h insulin AUC₀₋₁₂₀ as an index for overall insulin secretory capacity [188]. The disposition index, which graphically represents insulin secretion capacity, adjusted for the degree of insulin resistance was calculated.

2.5 Statistical analysis

The results are presented as mean \pm standard deviation (SD). A cross-sectional analysis was used to compare data from baseline to the last visits of each patient (Follow-up). Mann-Whitney and

Wilcoxon Test were performed to compare changes between baseline and follow-up between and within groups of patients, respectively. A significant effect was determined for a value of $P < 0.05$. All analyzes have been performed on SPSS 17.0 program for windows (SPSS, Chigaco, IL) and area under the curve were calculated on Graph Pad Prism program for Windows.

3. Results

3.1 Study population at baseline and follow-up

From or overall CF cohort ($n = 278$), 134 were too young or completed only one OGTT visit so far, 85 patients were excluded (pulmonary transplantation, CFRD diagnosis, death or cancer) and 13 moved out of the Montreal area and were transferred to another CF center. A total of 46 patients with CF and without CFRD at baseline were included in this study with an average of 9.9 ± 2.6 years between testing at baseline and at follow-up. Mean age at inclusion was 33.6 ± 9.0 years old and 43.5% of participants are women. Mean age at follow-up was 43.5 ± 8.1 years. The proportion of patients taking enzymes for pancreatic insufficiency was 67.4%. When comparing follow-up values to baseline values, we observed a significant increase in body weight (64.1 ± 10 kg and 66.7 ± 14.2 kg for baseline and follow-up respectively, $P = 0.01$) and a decrease in FEV₁ (73.4 ± 21.2 and 64.5 ± 22.4 for baseline and follow-up respectively, $P \leq 0.001$) (Table 2). At baseline, 52.2% of the population was NGT, when 47.8% were AGT. After the follow-up period, only 23.3% patients were NGT and 68.7% were AGT, including 6 (10%) of de novo CFRD patients.

As observed in Table 1, there was a significant increase in fasting blood glucose ($P = 0.010$), 1-h OGTT plasma glucose ($P = 0.002$) and 2-h OGTT plasma glucose ($P = 0.003$) from baseline to follow-up. Thereby, there was an increase in the total area under the curve (AUC) for plasma glucose ($P \leq 0.001$) over time. Also, the glucose AUC for 0 to 30 min and for 30-120 min significantly increased from baseline to follow-up ($P = 0.017$). In contrast, insulin values at 0, 60 and 120 min of the OGTT did not vary between baseline and follow-up over 10 years ($P = 0.105$) (Table 1). Accordingly, total insulin AUC, insulin AUC 0-30 min and 30-120 min were unchanged from baseline to follow-up ($P = 0.150$). The insulin sensitivity index did however decrease ($P = 0.033$) from baseline to follow-up (Figure 1).

3.2 Normal versus Abnormal glucose tolerant patients

The cohort was then categorized into two subgroups according to their glucose status at follow-up (NGT =13 and AGT= 33) (Table 2). In the subgroup of NGT patients (NGT baseline versus

follow-up), there was no change in BMI, insulin and glucose values. However, FEV₁ decreased significantly at follow-up (P=0.003). For AGT patients at follow-up (NGT or AGT at baseline and AGT at follow-up), the mean BMI increased (p = 0.014) and the mean FEV₁ decreased (P ≤ 0.001) from baseline to follow-up (Table 2).

As awaited, in the AGT subgroup, we observed an increase in total glucose AUC value (Table 2) and a significant increase of glucose at each time point of the OGTT at follow-up (Figure 1). There was no change in insulin secretion for NGT patients over time (Table 2, Figure 1). However, 120 minutes insulin secretion increased in AGT patients at follow-up (P =0.039). There was a significant decrease in insulin sensitivity assessed by the Stumvoll index at follow-up for AGT patients (Table 2, Figure 1). The Stumvoll index decreased from baseline to follow-up for the AGTs (0.083 ± 0.021 to 0.067 ± 0.032 , p = 0.029). We assessed the disposition index for both groups (Figure 2). AGT patients present at baseline a numerically non-significant lower insulin secretion than NGT patients. At follow-up AGT patient present a significant deterioration of insulin sensitivity (0.083 ± 0.021 at baseline to 0.067 ± 0.032 at follow-up, p =0.029) without ability to increase accordingly insulin secretion. In contrast, the NGT group showed similar disposition index from baseline to follow-up.

For NGT and AGT patients, FEV₁ decreased within groups over time but there is no significant difference between both groups for FEV₁ at baseline nor at follow-up (P = 0.143 and P = 0.380, respectively). Body weight increase over time in both groups but is comparable for both groups at baseline and at follow-up (P =0.526 and P =0.874 respectively).

4. Discussion

The median age of survival for CF patients is now 52 years in Canada, 40 years in the UK [189] and 43 in the USA [190]. With an average age of 43.5 years of age at follow-up, our study sample is thus representative of the emerging large sub-group of aging CF population. The main purpose of the present study was to assess, in aging CF patients, the evolution of glucose tolerance as well as key underlying mechanisms: insulin secretion/sensitivity in aging CF-patients. To our knowledge this is the first report specifically focusing patient subgroup.

In that specific subgroup representing the top third of the age distribution of our large prospective observational cohort, after 10 years of follow-up, our results indicate that over time i) pulmonary function was reduced significantly, however ii) patients increased their body weight and BMI and in such context iii) glucose excursion are significantly higher but iv) insulin secretion remained unchanged and finally iv) there is a reduction of insulin sensitivity which is a

possible underlying mechanism. Interestingly, when classified by glucose tolerance status at follow-up, AGT patients gained weight in the same way as NGT patients, and their lung function does not decrease more than the NGT group. In addition, although glucose tolerance of AGT patients is reduced, there is no important difference in insulin secretion, while insulin sensitivity is reduced.

It is well established that insulin secretion loss over time is the main cause of glucose intolerance and CFRD onset [8, 86]. A number of studies have demonstrated the relationship between CFRD onset and decreased insulin production [24] in the first phase of insulin secretion [88, 91] due to impaired β -cells function in the pancreas [191]. Still especially in the context of this limited insulin secretion capacity, some additional mechanisms could play a role. Over 10 years the present data is showing an increase of OGTT glycemic excursion with a stable insulin secretion over time while estimated insulin sensitivity was reduced in patients who degraded their glucose tolerance. We therefore suggest that in this aging CF-patient subgroup in a context of significantly altered but stable insulin secretion capacity, as patients face a decrease in insulin sensitivity they are unable to increase insulin secretion and thus degrade their glucose tolerance over time. Although these results are preliminary, they are consistent with recent data reporting that on the short term (21 month of observational follow-up) variations of insulin sensitivity are associated with variations of glucose tolerance in adult patients with CF [181] while combined exercise training, known to improve insulin sensitivity, was able to improve glucose tolerance in adult patients with CF [128]. This observation is also supported by animal data, *Fontés et al.* compared $\Delta F508$ mutant mice with wild-type (WT) littermates at 12 and 24 weeks of age [192]. They conclude that on the top of the $\Delta F508$ β -cell mass deficit, CFTR mutation is associated with insulin resistance in aging CF-mice. Thus in aging CF-patients mechanism explaining glucose intolerance share some similarities with a driving mechanism leading to type 2 diabetes in which β -cell are unable to compensate for insulin resistance [161].

These novel findings are important to explain the increase of AGT occurrence with age in the CF population facing multiple factors which could be associated with reduced insulin sensitivity [193]: chronic infections [182], associated chronic low-grade inflammation with cytokines release [194], sedentary lifestyle related to the progressive burden of the disease [195], high caloric diet with a large proportion of fat necessary to maintain and/or increase weight but potentially inducing lipoglucoxicity [196] and, despite overall low fat mass a tendency for abdominal fat accumulation [197].

In our study population, aging CF patients gained around 2.6 kg over 10 years and lost at a rate of approximately 1% per year their lung function, regardless if patients were NGT or AGT at follow-up. This observation is discordant with the seminal observation that when CFRD develops, an insidious decline in overall clinical status with and accelerated weight and/or lung function loss is observed 3 to 4 years prior to its diagnosis [198]. The combination of a possible different dominant mechanism: insulin resistant rather than progressive insulin secretory deficit with a specific clinical status evolution: progressive lung function loss without acceleration in presence of glucose intolerance along with weight gain strongly suggest that mechanism leading to glucose intolerance as well as association between glucose intolerance and clinical status might be different in aging CF-patients.

Insulin is the only recommended treatment for CFRD patients [65] because its use is associated with positive impact (stabilization and/or improvement) on weight and lung function [199-201] possible due to its positive impact on protein breakdown [202, 203] . However, in the sub-group of patients selected for this analysis with the reasonably preserved clinical status (baseline BMI 22.9 kg/m² and FEV1 73.4%), when glucose intolerance occurs a therapeutic approach focusing solely on glucose control might be acceptable. Our data suggest that, for glucose control, targeting insulin sensitivity might be beneficial in some aging patients with CF. Because of its numerous benefits for patients with CF including improved glucose tolerance and insulin sensitivity, exercise would appear as an important tool to reduce the progression of glucose intolerance. The only widely available pharmacological treatment targeting insulin sensitivity is Metformin but this therapeutic have not been well assessed in the context of CF [204, 205] were gastrointestinal side effect might limit its usage.

Our study has several limitations. First, our observation is limited to a Canadian based population relatively homogenous and healthy with strict selection criteria. Confirmation of our data in other population will thus be important. Included patients are only those who were not CFRD at baseline and who have been able to be followed over time, which can be associated with selection bias.

5. Conclusion

The present study is a longitudinal study characterizing aging CF patients followed over a mean period of 10 years. Our data demonstrate an overall increase of abnormal glucose, in the

context of decrease in insulin sensitivity but unchanged insulin secretion capacity. Further studies are needed to investigate the mechanisms involved in insulin resistance for CF patients and if interventions aimed to improve insulin sensitivity could improve glucose tolerance in this rapidly growing patient subgroup.

6. Acknowledgements

We thank patients and the CF and diabetes clinic nurses for their involvement into CFRD screening.

Contributions included the following: R.R.-L., J.C., and V.B. designed the study. J.C. and V.B. wrote the manuscript. J.C. formatted the manuscript for the submission. J.C. and V.B. analyzed the data, conducted the literature search, and drafted the manuscript. J.C., V.B., C.L.D. and A.C. recruited the subjects and collected the data. J.C., V.B., C.L.D., A.C., K.D., F.T., and R.R.-L. reviewed and edited the manuscript. As the corresponding author and guarantor of this article, R.R.-L. takes full responsibility for the work as a whole, including the study design, access to the data, and the decision to submit and publish the manuscript.

Funding: This work was supported by an operating grant from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation (#2883) and the J-A DeSève Diabetes research chair both to RRL. VB and CLD were supported by the Canadian Institute of Health Research (CIHR) and by the Fonds de recherche du Québec – Santé (FRQS) scholarships. AC was supported by the Cystic Fibrosis Canada Fellowship.

The authors declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. Cystic fibrosis foundation. Patient registry. Annual data report 2001. . Cystic fibrosis Foundation. 1-12. , 2002. .
2. Moller, N., L. Gormsen, J. Fuglsang and J. Gjedsted, Effects of ageing on insulin secretion and action. *Horm Res*, 2003. 60(Suppl 1): p. 102-4.
3. Barzilai, N., D.M. Huffman, R.H. Muzumdar and A. Bartke, The critical role of metabolic pathways in aging. *Diabetes*, 2012. 61(6): p. 1315-22.
4. Chaves, C.R., A.L. Cunha, A.C. Costa, S. Costa Rde and S.V. Lacerda, Nutritional status and body fat distribution in children and adolescents with Cystic Fibrosis. *Cien Saude Colet*, 2015. 20(11): p. 3319-28.
5. Boudreau, V., A. Coriati, I. Hammana, S. Ziai, K. Desjardins, Y. Berthiaume, et al., Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity? *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 2016. 15(6): p. 839-45.
6. Finkelstein, S.M., C.L. Wielinski, G.R. Elliott, W.J. Warwick, J. Barbosa, S.C. Wu, et al., Diabetes mellitus associated with cystic fibrosis. *J Pediatr*, 1988. 112(3): p. 373-7.
7. Costa, M., S. Potvin, Y. Berthiaume, L. Gauthier, A. Jeanneret, A. Lavoie, et al., Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab*, 2005. 31(3 Pt 1): p. 221-32.
8. Boudreau, V., A. Coriati, I. Hammana, S. Ziai, K. Desjardins, Y. Berthiaume, et al., Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity? *Journal of Cystic Fibrosis*, 2016. 15(6): p. 839-45.
9. Lavie, M., D. Fisher, D. Vilozni, R. Forschmidt, I. Sarouk, H. Kanety, et al., Glucose intolerance in cystic fibrosis as a determinant of pulmonary function and clinical status. *Diabetes Res Clin Pract*, 2015. 110(3): p. 276-84.
10. Tofe, S., J.C. Moreno, L. Maiz, M. Alonso, H. Escobar and R. Barrio, Insulin-secretion abnormalities and clinical deterioration related to impaired glucose tolerance in cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol*, 2005. 152(2): p. 241-7.
11. Moran, A., P. Pekow, P. Grover, M. Zorn, B. Slovis, J. Pilewski, 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): p. 1783-8.
12. Terliesner, N., M. Vogel, A. Steighardt, R. Gausche, C. Henn, J. Hentschel, et al., Cystic-fibrosis related-diabetes (CFRD) is preceded by and associated with growth failure and deteriorating lung function. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*, 2017. 30(8): p. 815-21.

13. Moran, A., D. Becker, S.J. Casella, P.A. Gottlieb, M.S. Kirkman, B.C. Marshall, et al., Epidemiology, pathophysiology, and prognostic implications of cystic fibrosis-related diabetes: a technical review. *Diabetes Care*, 2010. 33(12): p. 2677-83.
14. Moran, A., L. Doherty, X. Wang and W. Thomas, Abnormal glucose metabolism in cystic fibrosis. *J Pediatr*, 1998. 133(1): p. 10-7.
15. Moran, A., D. Hardin, D. Rodman, H.F. Allen, R.J. Beall, D. Borowitz, et al., Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus: a consensus conference report. *Diabetes Res Clin Pract*, 1999. 45(1): p. 61-73.
16. Sun, X., Y. Yi, W. Xie, B. Liang, M.C. Winter, N. He, et al., CFTR Influences Beta Cell Function and Insulin Secretion Through Non-Cell Autonomous Exocrine-Derived Factors. *Endocrinology*, 2017. 158(10): p. 3325-38.
17. Hardin, D.S., A. Leblanc, G. Marshall and D.K. Seilheimer, Mechanisms of insulin resistance in cystic fibrosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2001. 281(5): p. E1022-8.
18. Yung, B., F.H. Noormohamed, M. Kemp, J. Hooper, A.F. Lant and M.E. Hodson, Cystic fibrosis-related diabetes: the role of peripheral insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Diabet Med*, 2002. 19(3): p. 221-6.
19. Coriati, A., L. Belson, S. Ziai, E. Haberer, M.S. Gauthier, G. Mailhot, et al., Impact of sex on insulin secretion in cystic fibrosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*, 2014. 99(5): p. 1767-73.
20. Dequeker, E., M. Stuhmann, M.A. Morris, T. Casals, C. Castellani, M. Claustres, et al., Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders--updated European recommendations. *Eur J Hum Genet*, 2009. 17(1): p. 51-65.
21. Moran, A., C. Brunzell, R.C. Cohen, M. Katz, B.C. Marshall, G. Onady, 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): p. 2697-708.
22. Ziai, S., L. Belson, I. Hammana, Y. Berthiaume and R. Rabasa-Lhoret, Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 2011. 10(2): p. 145.
23. Stumvoll, M., T. Van Haefen, A. Fritsche and J. Gerich, Oral glucose tolerance test indexes for insulin sensitivity and secretion based on various availabilities of sampling times. *Diabetes Care*, 2001. 24(4): p. 796-7.
24. Service, N.H., <https://www.nhs.uk/conditions/cystic-fibrosis/> - complications-of-cystic-fibrosis. 2018.

25. Foundation, C.F., CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION PATIENT REGISTRY HIGHLIGHTS. Bethesda, Maryland, 2016.
26. Barrio, R., Management of endocrine disease: Cystic fibrosis-related diabetes: novel pathogenic insights opening new therapeutic avenues. *Eur J Endocrinol*, 2015. 172(4): p. R131-41.
27. Cano Megías, M., O. González Albarrán, P. Guisado Vasco, A. Lamas Ferreiro and L. Máiz Carro, Insulin resistance, β -cell dysfunction and differences in curves of plasma glucose and insulin in the intermediate points of the standard glucose tolerance test in adults with cystic fibrosis. *Endocrinología y Nutrición*, 2015. 62(2): p. 91-9.
28. Hammana, I., S. Potvin, A. Tardif, Y. Berthiaume, L. Coderre and R. Rabasa-Lhoret, Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis patients. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*, 2009. 8(6): p. 378-81.
29. Merjaneh, L., Q. He, Q. Long, L.S. Phillips and A.A. Stecenko, Disposition index identifies defective beta-cell function in cystic fibrosis subjects with normal glucose tolerance. *Journal of Cystic Fibrosis*, 2015. 14(1): p. 135-41.
30. Beaudoin, N., G.F. Bouvet, A. Coriati, R. Rabasa-Lhoret and Y. Berthiaume, Combined Exercise Training Improves Glycemic Control in Adult with Cystic Fibrosis. *Med Sci Sports Exerc*, 2017. 49(2): p. 231-7.
31. Fontes, G., J. Ghislain, I. Benterki, B. Zarrouki, D. Trudel, Y. Berthiaume, et al., The DeltaF508 Mutation in the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Is Associated With Progressive Insulin Resistance and Decreased Functional beta-Cell Mass in Mice. *Diabetes*, 2015. 64(12): p. 4112-22.
32. Cardiometabolic Risk Working Group: Executive, C., L.A. Leiter, D.H. Fitchett, R.E. Gilbert, M. Gupta, G.B. Mancini, et al., Identification and management of cardiometabolic risk in Canada: a position paper by the cardiometabolic risk working group (executive summary). *Can J Cardiol*, 2011. 27(2): p. 124-31.
33. Kessler, L. and M. Abely, [Pancreatic infringement exocrine and endocrine in cystic fibrosis]. *Arch Pediatr*, 2016. 23(12S): p. 12S21-12S32.
34. Lopez-Moreno, J., S. Garcia-Carpintero, R. Jimenez-Lucena, C. Haro, O.A. Rangel-Zuniga, R. Blanco-Rojo, et al., Effect of Dietary Lipids on Endotoxemia Influences Postprandial Inflammatory Response. *J Agric Food Chem*, 2017. 65(35): p. 7756-63.
35. Machado, F.V.C., F. Pitta, N.A. Hernandez and G.L. Bertolini, Physiopathological relationship between chronic obstructive pulmonary disease and insulin resistance. *Endocrine*, 2018.

36. Sone, H. and Y. Kagawa, Pancreatic beta cell senescence contributes to the pathogenesis of type 2 diabetes in high-fat diet-induced diabetic mice. *Diabetologia*, 2005. 48(1): p. 58-67.
37. Huang, T.T., X.S. Qiu, M.L. Du, Z.Y. Shen, Z.Y. Ke and F. Lai, [Expression of tumor necrosis factor alpha mRNA in adipose cell of intrauterine growth retarded rats and its relation to insulin resistance]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*, 2005. 43(1): p. 39-43.
38. Lanng, S., B. Thorsteinsson, J. Nerup and C. Koch, Influence of the development of diabetes mellitus on clinical status in patients with cystic fibrosis. *European journal of pediatrics*, 1992. 151(9): p. 684-7.
39. Nousia-Arvanitakis, S., A. Galli-Tsinopoulou and M. Karamouzis, Insulin improves clinical status of patients with cystic-fibrosis-related diabetes mellitus. *Acta Paediatr*, 2001. 90(5): p. 515-9.
40. Mohan, K., K.L. Israel, H. Miller, R. Grainger, M.J. Ledson and M.J. Walshaw, Long-term effect of insulin treatment in cystic fibrosis-related diabetes. *Respiration*, 2008. 76(2): p. 181-6.
41. Lanng, S., B. Thorsteinsson, J. Nerup and C. Koch, Diabetes mellitus in cystic fibrosis: effect of insulin therapy on lung function and infections. *Acta Paediatr*, 1994. 83(8): p. 849-53.
42. Rafii, M., K. Chapman, C. Stewart, E. Kelly, A. Hanna, D.C. Wilson, et al., Changes in response to insulin and the effects of varying glucose tolerance on whole-body protein metabolism in patients with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr*, 2005. 81(2): p. 421-6.
43. American Diabetes, A., Standards of medical care in diabetes--2009. *Diabetes Care*, 2009. 32 Suppl 1: p. S13-61.
44. Onady, G.M. and L.J. Langdon, Insulin versus oral agents in the management of Cystic Fibrosis Related Diabetes: a case based study. *BMC Endocr Disord*, 2006. 6: p. 4.
45. van den Berg, J.M. and H.G. Heijerman, Proof of principle. Treatment of cystic fibrosis-related diabetes: a possible role for complementary metformin? *Journal of Cystic Fibrosis*, 2009. 8: p. S82.

Table 1. Evolution of clinical, glucose and insulin profile of CF patients over 10 years.

	Baseline (n=46)	Follow-up (n=46)	P value
Genotype classification			
Severe: Classes I, II, III n,(%)	27 (58.7)	-	-
Mild: Classes IV, V, VI n,(%)	18 (39.1)	-	-
Other: (Undetermined) n,(%)	1 (2.2)	-	-
<hr/>			
Sex men, n (%)	27 (58.7)		
Age (years)	33.6 ± 9.0	43.5 ± 8.1	≤ 0.001
Body weight (kg)	64.1 ± 10.0	66.7 ± 14.2	0.010
BMI (kg/m ²)	22.9 ± 2.9	24.1 ± 4.2	0.020
FEV ₁ (%)	73.4 ± 21.2	64.5 ± 22.4	≤ 0.001
NGSP-HbA1c (%)	5.5 ± 0.4	5.5 ± 0.4	0.807
HbA1c (mmol/mol)	37	37	
<hr/>			
OGTT glucose value (mmol/L)			
Time 0	5.33 ± 0.47	5.53 ± 0.54	0.010
Time 30min	9.06 ± 1.43	9.74 ± 2.27	0.028
Time 60min	9.99 ± 2.09	11.48 ± 2.56	0.002
Time 90min	8.39 ± 2.13	10.02 ± 2.70	≤ 0.001
Time 120min	6.65 ± 1.69	7.88 ± 2.61	0.003
AUC glucose 0-30min	215.79 ± 25.06	229.02 ± 40.43	0.017
AUC glucose 30-120min	786.32 ± 145.61	909.93 ± 192.08	≤ 0.001
AUC glucose Total	1002.19 ± 157.61	1138.82 ± 217.87	≤ 0.001
<hr/>			
OGTT insulin value (μU/ml)			
Time 0	10.23 ± 4.15	10.48 ± 6.82	0.806
Time 30min	35.87 ± 21.88	36.26 ± 27.20	0.890
Time 60min	54.88 ± 36.00	58.67 ± 38.76	0.426
Time 90min (μU/ml)	55.28 ± 30.00	61.17 ± 41.68	0.321
Time 120min (μU/ml)	45.77 ± 22.88	55.86 ± 40.82	0.105
AUC insulin 0-30min	753 ± 504	717 ± 490	0.791
AUC insulin 30-120min	4879 ± 3189	5053 ± 3290	0.329
AUC insulin Total	5632 ± 3650	5770 ± 3720	0.387
Stumvoll insulin sensitivity index	0.084 ± 0.019	0.073 ± 0.030	0.033

Table1. T-Test with repeated measures were performed to compare changes between patients from baseline to follow up. Data are presented as Means ± SD Bold value are significant P values (P < 0.05). Abbreviations: BMI: body mass index, FEV₁: forced expiratory volume in 1s, NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program, OGTT: oral glucose tolerance test glycemia, HbA1c: glycosylated hemoglobin, AUC: area under the curve.

Table 2. Glucose tolerance evolution from baseline to follow-up (N =46).

	Baseline	Follow-up
NGT n, (%)	24 (52.2%)	13 (23.3%)
INDET n, (%)	9 (19.6%)	12 (26.1%)
IGT n, (%)	13 (28.2%)	15 (32.6%)
CFRD n, (%)	0 (0)	6 (10.0%)

Table 3. Clinical, glucose and insulin status evolution of NGT and AGT patients**(N=46).**

	NGT at Follow-up			AGT at Follow-up		
	Baseline status	Follow-up status	<i>P</i> value*	Baseline status	Follow-up status	<i>P</i> value*
	N = 13 (28.3%)			N = 33 (71.7%)		
Severe: Classes I, II, III n,(%)	5 (38.5%)	-	-	22 (66.7%)	-	-
Mild: Classes IV, V, VI n,(%)	7 (53.8%)	-	-	11 (33.3%)	-	-
Other: (Undetermined) n,(%)	1 (7.7%)	-	-	0 (0.0%)	-	-
Pancreatic insufficiency yes n,(%)	4 (30.8%)	5 (38.5)	0.002	21 (63.6%)	26 (78.8)	0.002
Sex men, n (%)	4 (30.8%)	-	-	23 (69.7%)	-	-
Age (years)	36.46 ± 12.09	46.00 ± 10.51	0.001	32.52 ± 7.38	42.55 ± 6.83	≤ 0.001
Body weight (kg)	61.80 ± 9.44	65.06 ± 12.73	0.328	65.01 ± 11.42	67.32 ± 14.84	0.100
BMI (kg/m ²)	22.81 ± 2.75	24.35 ± 4.75	0.235	22.92 ± 2.96	23.94 ± 4.09	0.014
FEV ₁ (%)	80.23 ± 22.66	68.85 ± 26.18	0.003	70.52 ± 20.24	62.71 ± 20.85	≤ 0.001
NGSP-HbA1c (%)	5.6 ± 0.5	5.5 ± 0.4	0.625	5.5 ± 0.5	5.5 ± 0.4	0.625
HbA1c (mmol/mol)	38	37		37	37	
Fasting plasma glucose (mmol/L)	5.10 ± 0.35	5.31 ± 0.42	0.101	5.42 ± 0.48	5.61 ± 0.56	0.061
120min-OGTT plasma glucose (mmol/L)	5.96 ± 1.48	5.84 ± 1.36	0.753	6.93 ± 1.72	8.68 ± 2.55	0.001
AUC glucose Total	927 ± 147	919 ± 81	0.861	1031 ± 153	1225 ± 192	≤ 0.001
Fasting plasma insulin (μU/ml)	9.82 ± 2.06	10.05 ± 4.64	0.753	10.42 ± 4.86	10.67 ± 7.70	1.000
120min-OGTT plasma insulin (μU/ml)	55.65 ± 21.91	53.18 ± 28.95	0.917	41.49 ± 22.30	57.02 ± 45.40	0.039
AUC insulin Total	6582 ± 2683	6499 ± 2843	0.937	5252 ± 3947	5447 ± 4046	0.400
Stumvoll insulin sensitivity (Stumvoll index)	0.084 ± 0.013	0.085 ± 0.021	0.917	0.083 ± 0.021	0.067 ± 0.032	0.029

Table 2. *Wilcoxon non-parametric test were performed to compare changes from baseline to follow-up within groups. **U Mann-Whitney Test were performed to compare changes between groups (NGT at follow-up vs AGT at follow-up), from baseline to follow up. Statistical significance is set at $P < 0.05$. Data are presented as Means ± SD. Bold value are significant *P* values. NGT: patients who were classify normal glucose tolerant at the follow-up OGTT (N = 13), AGT: patients who were classify abnormal glucose tolerance at the follow-up OGTT (N = 33), which is the combination of indeterminate glucose tolerance (INDET), Impaired Glucose Tolerance (IGT) and de novo CFRD. Abbreviations: AGT: abnormal glucose tolerance, NGT: normal glucose tolerant, BMI: body mass index, FEV₁: forced expiratory volume in 1s, NGSP: National Glycohemoglobin Standardization Program, OGTT: Oral glucose tolerance test.

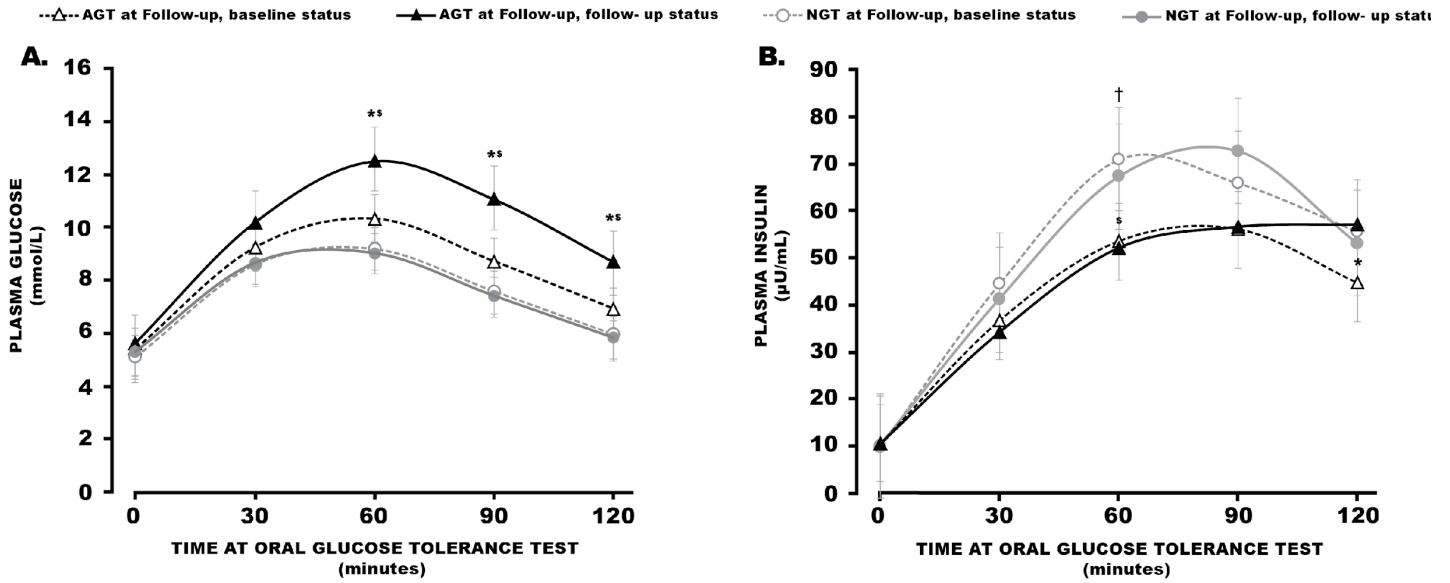


Figure 1. Evolution of A) Plasma glucose and B) insulin profiles for NGT patients at follow-up (N = 13) and AGT patients at follow-up (N = 33). Dotted dark line is AGT at follow-up, baseline status ; plain dark line is AGT at follow-up, follow-up status ; Dotted grey line is NGT at follow-up, baseline status ; plain grey line is NGT at follow-up, follow-up status. *p < 0.05 between AGT Follow-up versus AGT Baseline, ^s p < 0.05 between AGT Follow-up versus NGT Follow-up, [†] p < 0.05 between AGT baseline versus NGT baseline.

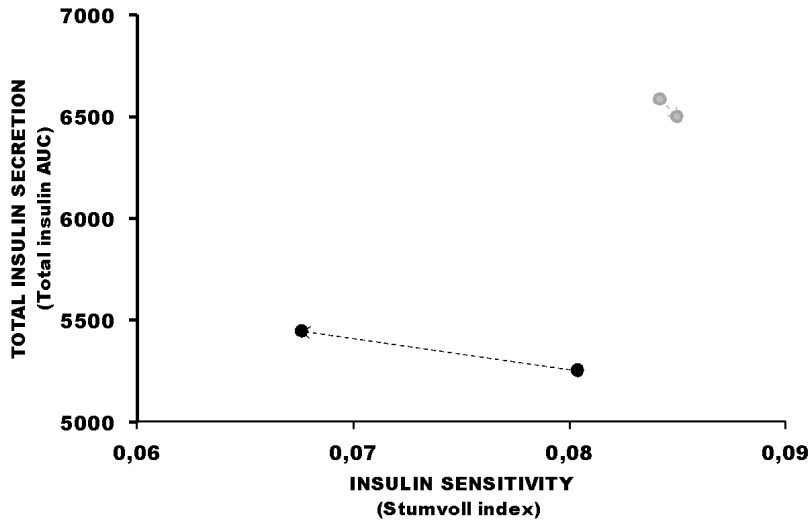


Figure. 2. Disposition index over 10 years from baseline to follow-up in CF patients (n = 46). Total insulin secretion is assessed by total insulin AUC from 0 to 120 minutes value at the OGTT. Insulin sensitivity index is assessed by the Stumvoll index. Grey arrow and circles represent NGT at follow-up, from baseline status to follow-up (N = 13) and dark arrow and circles represent AGT at follow-up, from baseline status to follow-up (N = 33).

4.2. Article 2: “Hepatic enzyme ALT as a predictor of glucose abnormality in men with cystic fibrosis.” PLoS ONE, doi.org/10.1371/journal.pone.0219855.

Les contributions à cette étude comprenaient les éléments suivants :

Conceptualisation : Johann Colomba, Silvia R Netedu, Catherine Lehoux-Dubois,

Acquisition des données : Johann Colomba, Catherine Lehoux-Dubois, Adèle Coriati, Valérie Boudreau.

Financement : Rémi Rabasa-Lhoret.

Méthodologie : Julio A Leey, Rémi Rabasa- Lhoret.

Ressources : François Tremblay Julio A Leey, Rémi Rabasa- Lhoret, Kenneth Cusi.

Supervision : Julio A Leey, Rémi Rabasa- Lhoret.

Rédaction - ébauche originale : Johann Colomba, Silvia R Netedu.

Rédaction et révision : Johann Colomba, Silvia R Netedu, Adèle Coriati, Valérie Boudreau, François Tremblay, Kenneth Cusi.

Analyse formelle : Johann Colomba, Julio A Leey, Rémi Rabasa-Lhoret.

Article publié dans PLoS ONE, 2019 Jul; 10.1371/journal.pone.0219855

© 2019 Colomba et al. This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License

Hepatic enzyme ALT as a marker of glucose abnormality in men with cystic fibrosis

Johann Colomba^{1,2,¶}, Silvia R Netedu^{1,3,¶}, Catherine Lehoux-Dubois^{1,2}, Adèle Coriati^{1,2,5},
Valérie Boudreau^{1,2}, François Tremblay^{3,4}, Kenneth Cusi⁶, Rémi Rabasa-Lhoret^{1-4*}, Julio
A Leey⁶

¹ Montreal Clinical Research Institute (IRCM), Montréal, Québec, Canada;

² Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada;

³ Department of Medicine, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada;

⁴ Cystic Fibrosis Clinic, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), Montréal, Québec, Canada;

⁵ Adult Cystic Fibrosis Centre, Department of Respiriology, St. Michael's Hospital, Toronto, Ontario, Canada;

⁶ Division of Endocrinology, Diabetes and Metabolism, University of Florida, Gainesville, Florida, USA.

*Corresponding author:

Email: remi.rabasa-lhoret@ircm.qc.ca (RRL)

¶These authors contributed equally to this work.

Abstract

Aim: Cystic fibrosis (CF) patients are at high risk of developing CF-related diabetes (CFRD). In non-CF patients, liver disease, specifically steatosis and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), is strongly associated with type 2 diabetes. We compared glycemic status and metabolic profiles in CF patients according to a biomarker of hepatic injury, alanine aminotransferase (ALT).

Methods: We conducted a cross-sectional study among 273 adult CF patients recruited from the Montreal CF Cohort. A 2-hour oral glucose tolerance test (OGTT) was performed to collect glucose and insulin measures every 30 minutes. Fasting ALT levels and anthropometric measures were also obtained. Patients were categorized into 2 groups based on ALT cut-off of 25 U/L.

Results: Patients in the high ALT group were mostly men (83%), had higher mean weight and BMI ($p < 0.001$) and showed elevated glucose levels throughout OGTT ($p \leq 0.01$). When stratified by sex, only men with high ALT showed significantly higher weight ($p < 0.001$), higher glycemic values at 60, 90 and 120 minutes of OGTT ($p \leq 0.01$), higher frequency of de novo CFRD (20.5% vs 8.2%, $p = 0.04$) as well as lower insulin sensitivity than men with normal ALT ($p = 0.03$). ALT levels were strongly associated with HOMA-IR in CFRD patients ($p = 0.001$, $r^2 = 0.28$).

Conclusions: Adult CF men with higher ALT show an increased frequency of dysglycemia and de novo CFRD, lower insulin sensitivity and higher weight. Our data suggests that ALT levels could be an interesting tool to guide targeted diabetes screening, particularly among CF men. Prospective studies are needed to confirm these observations.

Key words: CFRD, insulin sensitivity, ALT, steatosis, diabetes screening.

Introduction

There is increasing evidence of a strong association between liver disease, particularly hepatic steatosis and non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), and the presence of type 2 diabetes mellitus (T2DM) [206, 207], with insulin resistance as a main factor involved [208]. Even lean patients with NAFLD are typically insulin resistant [209]. Plasma measures of alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) are routinely used to detect hepatocellular damage. Although they can be normal in NAFLD patients, several studies have shown that high ALT levels, but not AST, can predict the risk for T2DM and are also associated with insulin resistance [210-212].

Cystic fibrosis (CF) is a genetic disease involving a mutation in the CF transmembrane conductance regulator (*CFTR*) gene which results in accumulation of viscous secretions affecting primarily the respiratory and digestive systems [213]. The pancreas is often severely affected, leading to exocrine pancreatic insufficiency, malabsorption and low weight [33]. Endocrine pancreatic failure is also frequently encountered, with CF-related diabetes (CFRD) being now one of the most common complications of CF, especially in the context of prolonged life expectancy of this population [214]. The cause of CFRD is multifactorial and a decreased beta-cell mass with decreased insulin secretion is recognized as being the main factor underlying the pathophysiology [22, 87, 215]. The role of insulin resistance is currently debated, but there is evidence to suggest its contribution to the development of dysglycemia in CF patients, particularly in certain states, such as the use of steroids and acute pulmonary infections [215, 216]. Furthermore, it has been shown that in the context of low insulin secretion, insulin resistance can modulate glucose tolerance changes over time [30, 217] and in response to exercise [128].

CF has been associated with various hepatic abnormalities, ranging from liver transaminitis and steatosis to secondary biliary cirrhosis and portal hypertension [218]. Although there is no clear consensus on the definition of abnormal liver enzyme levels in CF, the use of lower thresholds has been proposed in order to detect initial signs of liver damage. Pediatric liver centers now recognize ALT >25 U/L for boys and ALT >22 U/L for girls as the threshold for abnormal ALT in CF patients [218]. Hepatic steatosis can develop in CF patients in response to malnutrition and uncontrolled CFRD [219]. It is not clear though if it increases the probability of progression towards fibrosis and cirrhosis, as it is observed in the non-CF population [218]. However, a recent retrospective chart review study identified 17 out of 114 CF patients (14.9%) with hepatic steatosis based on abdominal imaging [220]. These patients with liver steatosis had

higher HbA1c, higher body mass index (BMI) and higher levels of ALT, supporting an association between liver steatosis and dysglycemia [220].

The purpose of our study was to further investigate the potential association between liver disease and dysglycemia in CF, by comparing glucose tolerance status and metabolic profiles in adult CF patients according to ALT level, the main plasma biomarker of hepatic injury. Moreover, we wanted to assess the response in men and women separately, given that sex differences have already been documented by our group in CF in terms of insulin secretion and insulin sensitivity [90].

Material and methods

Patients

Participants were recruited from the Montreal CF cohort (MCFC), a prospective observational cohort designed to study glucose intolerance development and its association with clinical outcomes. Patients are followed every 12 to 18 months and they undertake on the same day an oral glucose tolerance test (OGTT), pulmonary function tests and a detailed medical examination [90, 93, 221]. The MCFC main inclusion criteria are adult age (≥ 18 years old), confirmed CF diagnosis and not known CFRD. Exclusion criteria are previous diagnosis of diabetes, ongoing pregnancy, pulmonary exacerbation in the previous month, conditions that could interfere with glucose metabolism such as intravenous antibiotics, corticosteroids (oral or intravenous) or growth hormone treatment and previous lung or liver transplantation [90]. Patients categorized as *de novo* CFRD following the OGTT protocol were referred to an endocrinologist to undergo further tests to confirm the diagnosis. All patients in the MCFC who have available data for OGTT plasma glucose and insulin and also ALT levels at baseline were included in the analysis.

Clinical data

Age, sex and genotype were obtained from medical files. Patients on pancreatic enzymes replacement supplements were categorized as having pancreatic insufficiency. Body weight and fat mass were determined using an electronic scale (Tanita Corporation Arlington Heights, IL, USA) and standing height was measured using a wall stadiometer. BMI was calculated using

weight in kilograms divided by height in squared meter (kg/m^2). Pulmonary capacity was measured by spirometry on the same day as the OGTT and was expressed using the percentage of predicted forced expiratory volume in 1 second ($\text{FEV}_1\%$: Medgraphic 1870, ST Paul, MN, USA).

Oral glucose tolerance test (OGTT) and categories for glucose tolerance

Patients had to fast for 8 hours and then consume a sweet glucose beverage (1.75g/kg of body weight up to a maximum of 75g or 300 ml) in less than 5-min. A catheter was installed before the test for blood sampling [65]. Blood samples were taken at 0, 30, 60, 90 and 120-min of the OGTT to measure glycemic excursion and insulin levels over time. Plasma glucose was analysed by Glucose Analyzer (YSI 2300 STAT plus, glucose and lactate analyzing; YSI Inc.). Insulin samples were frozen at -80°C then chemically measured by Immunitubidimeter, ADVIAI650; Bayer Health Car diagnosis.

Based on their 2-hours glucose value during the OGTT, subjects were categorized as having normal glucose tolerance (NGT; <7.8 mmol/L), impaired glucose tolerance (IGT; ≥ 7.8 mmol/L and <11.1 mmol/L), indeterminate glucose tolerance (INDET; <7.8 mmol/L, but 1-h glycemia ≥ 11.1 mmol/L) or de novo CFRD (≥ 11.1 mmol/L). Fasting glucose value ≥ 7.0 mmol/L was also considered as de novo CFRD. Insulin sensitivity was calculated using the Stumvoll index and HOMA-IR formula as previously defined [30, 222].

Blood sample data

Fasting blood sample was also used to measure hepatic enzymes (ALT, AST, GGT), lipid profile and glycosylated hemoglobin (HbA1c), as described previously [90]. All hepatic enzymes measurements were done in the same laboratory in order to avoid inter-assay variability. As no widely accepted ALT cut-off exists in CF population to predict the development of liver disease, we relied on previous proposed data from CF [218] and non-CF patients [211, 223] and set the ALT cut-off at 25 U/L in our analysis.

Statistical analysis

The results are presented as mean \pm standard deviation (SD). A student's t-test was performed to compare groups' means. A Chi-square was performed for categorical variables. Pearson's correlation was used to assess the association between ALT level and HOMA-IR. All analyses were performed on SPSS 17.0 program for Windows (SPSS, Chicago, IL). Statistical tests were considered significant at p-value <0.05 .

Results

A total of 273 patients were included in the study (Table 1). The mean age of the population was 25.7 ± 8.0 years, the mean BMI was 21.8 ± 3.0 kg/m² and the mean FEV1 was $73.3 \pm 21.8\%$. Pancreatic insufficiency was present in 79.3% of the patients. There were more patients with pancreatic insufficiency in the high ALT group (85.7%) than in the normal ALT group (75.3%). When we examined the overall population, we observed a high prevalence of men in the high ALT group compared to the normal ALT group (83% vs 36.5%, $p < 0.001$). We also noticed a higher BMI in the high ALT group (23.0 ± 3.0 kg/m² vs 21.0 ± 2.6 kg/m², $p < 0.001$). Interestingly, the FEV₁% was not significantly different between the 2 groups ($p = 0.332$).

Table 1. Baseline patient characteristics and metabolic profile comparison between normal ALT and high ALT groups

	All patients N = 273	Normal ALT (< 25 U/L) N = 167	High ALT (≥ 25 U/L) N = 106	p-value
Age (years)	25.7 ± 8.0	25.1 ± 8.1	26.8 ± 8.0	0.085
Sex (% men)	54.6	36.5	83.0	$< 0.001^*$
ALT (U/L)	25.3 ± 14.6	17.3 ± 4.1	38.0 ± 16.0	< 0.001
Glucose tolerance group				
NGT (%)	39.9	42.5	35.8	0.177*
IGT (%)	28.9	30.5	26.4	0.177*
INDET (%)	16.8	16.2	17.9	0.177*

CFRD (%)	14.3	10.8	19.8	0.177*
DelF508 mutation (% homozygote)	47.8	45.2	55.3	0.160*
Pancreatic Enzyme Supplement (%)	79.3	75.3	85.7	0.045*
FEV ₁ (%)	73.3 ± 21.8	72.7 ± 21.8	75.3 ± 21.2	0.332
Weight (kg)	60.3 ± 11.1	56.9 ± 9.3	66.2 ± 11.3	< 0.001
BMI (kg/m ²)	21.8 ± 3.0	21.0 ± 2.6	23.0 ± 3.0	< 0.001
Fat mass (%)	18.9 ± 7.8	19.4 ± 8.1	18.3 ± 7.4	0.247
OGTT glucose measure (mmol/L)				
T0 min	5.5 ± 0.8	5.3 ± 0.7	5.7 ± 0.9	< 0.001
T30 min	9.3 ± 1.8	9.3 ± 1.8	10.1 ± 2.2	0.001
T60 min	10.2 ± 3.1	10.7 ± 2.6	12.2 ± 3.6	< 0.001
T90 min	9.9 ± 3.5	9.1 ± 2.8	11.0 ± 4.2	< 0.001
T120 min	8.0 ± 3.3	7.6 ± 2.8	8.6 ± 3.8	0.013
AUC _{0-120min}	1121.9 ± 284.7	1063.1 ± 225.6	1213.1 ± 339.3	< 0.001
OGTT insulin measure (µU/mL)				
T0 min	10.6 ± 5.1	10.7 ± 5.2	10.5 ± 5.0	0.718
T30 min	33.7 ± 22.5	34.3 ± 21.7	32.6 ± 24.0	0.556
T60 min	54.2 ± 38.5	57.2 ± 41.3	49.7 ± 33.9	0.143
T90 min	59.4 ± 39.2	63.4 ± 41.8	53.0 ± 34.7	0.047
T120 min	51.8 ± 38.5	55.5 ± 40.5	45.7 ± 34.9	0.052
AUC _{0-120min}	5326.6 ± 3196.6	5591.4 ± 3331.1	4901.1 ± 2986.1	0.102
HbA1c (%)	5.7 ± 0.6	5.7 ± 0.5	5.8 ± 0.6	0.007
Insulin Sensitivity (Stumvoll index)	0.072 ± 0.027	0.073 ± 0.026	0.071 ± 0.030	0.618
HOMA-IR	2.58 ± 1.28	2.53 ± 1.23	2.66 ± 1.36	0.441
AST (mmol/L)	25.6 ± 8.1	20.1 ± 4.3	31.1 ± 12.0	< 0.001
GGT (mmol/L)	19.7 ± 18.5	15.0 ± 13.0	27.2 ± 23.0	< 0.001
TG (mmol/L)	1.2 ± 0.8	1.2 ± 0.6	1.2 ± 1.0	0.792
CHOL (mmol/L)	3.5 ± 0.9	3.6 ± 1.0	3.4 ± 0.9	0.158
HDL (mmol/L)	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.3	1.1 ± 0.3	0.023
LDL (mmol/L)	1.8 ± 0.7	1.8 ± 0.8	1.8 ± 0.7	0.642

Table legend: ALT: alanine aminotransferase; NGT: normal glucose tolerance; IGT: impaired glucose tolerance; INDET: indeterminate

glucose tolerance; CFRD: cystic fibrosis-related diabetes; FEV1: forced expiratory volume expired in 1 second; BMI: body mass index; OGTT: oral glucose tolerance test; AUC0-120min: area under the curve from T0 to T120 min OGTT; HbA1c: glycosylated hemoglobin; HOMA-IR: insulin resistance index, AST: aspartate aminotransferase, GGT: gamma-glutamyl transferase; TG: triglycerides; CHOL: cholesterol; HDL: high-density lipoprotein cholesterol, LDL: low-density lipoprotein cholesterol.
 Data are presented as mean \pm SD. Student's t-test was performed to compare groups' means. *Chi square test was performed for categorical variables. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$. Values in bold represent significant p -values.

The high ALT group showed more elevated glucose levels for all OGTT time-points ($p \leq 0.013$) (Fig 1), without significant changes in insulin levels overall. Although it remained in the normal range, HbA1c was also higher in the high ALT group ($5.8 \pm 0.6\%$ vs $5.7 \pm 0.5\%$, $p = 0.007$). Even though it didn't reach statistical significance, high ALT group CF patients had a 9% absolute increase in CFRD incidence (19.8% vs 10.8%, $p = 0.177$). Furthermore, HDL cholesterol levels were slightly lower in the high ALT group (1.14 ± 0.29 mmol/L vs 1.23 ± 0.33 mmol/L, $p = 0.023$). We also found a statistical difference in AST and GGT values between the normal and high ALT groups ($p < 0.001$), but only ALT showed association with the T120-min OGTT glycemia ($r = 0.129$, $p = 0.033$), which was not observed with the other liver enzymes.

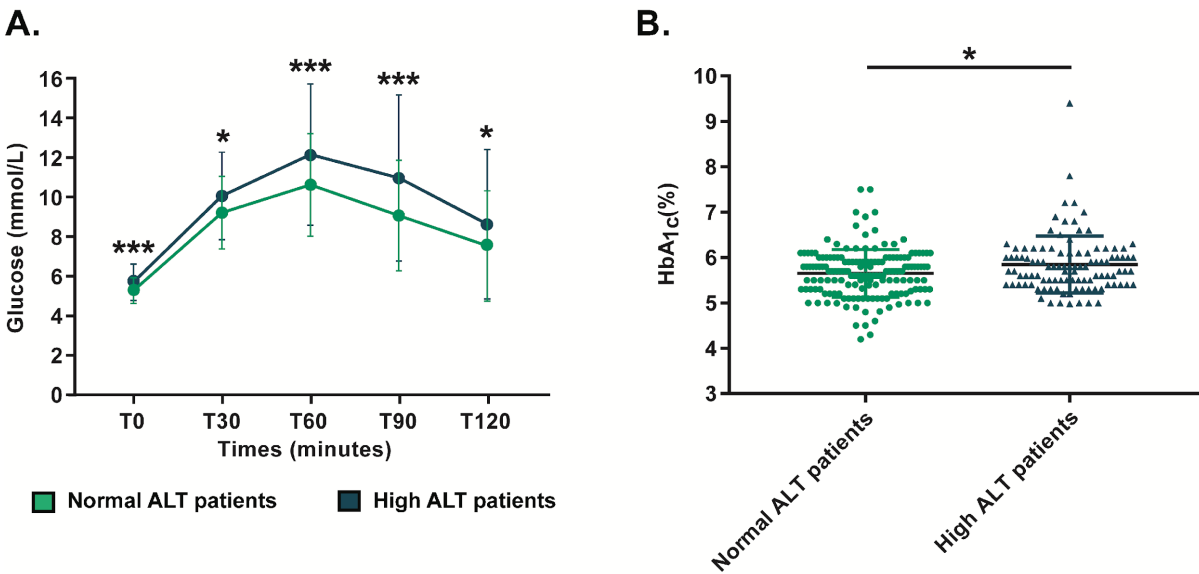


Fig. 1. Glycemia excursion during OGTT (A) and HbA1c (B) in normal and high ALT groups. Patients in high ALT group demonstrate higher glycemia levels at all OGTT time-points and higher HbA1c. * $p \leq 0.05$; *: $p \leq 0.001$.**

A sub-analysis of the CFRD group (n = 39) revealed that CFRD patients with high ALT had higher glycemia levels for all OGTT time-points (p = 0.037), higher values of AUC_{Gluc-total} (p = 0.005), higher HOMA-IR (p = 0.040) and lower insulin sensitivity by Stumvoll index (p = 0.045) than CFRD patients with normal ALT (Table 2). There also was a strong positive correlation between ALT and HOMA-IR (p = 0.001, r = 0.527), which represents 27.8 % of the variance. This association didn't exist for AST or GGT.

Table 2. Comparison of glycemic profile between normal ALT and high ALT in CFRD

patients

	All CFRD patients	Normal ALT (< 25 U/L)	High ALT (≥ 25 U/L)	p-value
	N = 39	N = 18	N = 21	
Age (years)	26.4 \pm 7.2	25.4 \pm 7.9	27.2 \pm 6.7	0.403
Sex (% men)	59.0	27.8	85.7	< 0.001*
ALT (U/L)	29.0 \pm 13.2	18.1 \pm 3.6	38.4 \pm 11.0	< 0.001
OGTT glucose measure (mmol/L)				
T0 min	6.3 \pm 1.2	5.8 \pm 0.8	6.6 \pm 1.4	0.037
T30 min	11.4 \pm 2.6	10.4 \pm 1.8	12.2 \pm 3.0	0.027
T60 min	15.5 \pm 3.4	14.0 \pm 2.6	16.7 \pm 3.6	0.011
T90 min	15.9 \pm 3.5	14.2 \pm 2.1	17.3 \pm 3.9	0.004
T120 min	14.3 \pm 2.5	13.3 \pm 2.5	15.1 \pm 2.3	0.031
AUC _{0-120min}	1592.1 \pm 398.9	1445.2 \pm 208.1	1713.0 \pm 337.5	0.005
HbA1c (%)	6.33 \pm 0.82	6.26 \pm 0.63	6.40 \pm 0.97	0.602
Insulin sensitivity (Stumvoll index)	0.037 \pm 0.024	0.046 \pm 0.021	0.030 \pm 0.25	0.045
HOMA-IR	3.07 \pm 1.62	2.49 \pm 1.32	3.59 \pm 1.72	0.040

Table legend: ALT: alanine aminotransferase; OGTT: oral glucose tolerance test; AUC0-120min: area under the curve from T0 to T120 min OGTT; HbA1c: glycosylated hemoglobin; HOMA-IR: insulin resistance index.

Data are presented as mean \pm SD. Student's t-test was performed to compare groups' means. *Chi square test was performed for categorical variables. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$. Values in bold represent significant p-values.

When stratified by sex, we observed that mostly men showed significant differences for the majority of glycemic and metabolic variables at study (Table 3). Men in the high ALT group presented higher glucose values for OGTT time-points T60-min to T120-min ($p \leq 0.014$) (Fig 2-

A). They were also more frequently affected by CFRD (20.5% vs 8.2%, $p = 0.04$). A significantly lower insulin sensitivity by Stumvoll index ($p = 0.029$) was also found in men with high ALT compared to those with normal ALT (Fig 2-B). Additionally, the high ALT group demonstrated a higher mean body weight (68.3 ± 10.6 kg vs 61.5 ± 9.1 kg, $p < 0.001$) and BMI (23.2 ± 3.0 kg/m² vs 21.0 ± 2.3 kg/m², $p < 0.001$) (Fig 2-C, D).

For the high ALT women compared to normal ALT women, we noticed a trend towards higher BMI ($p = 0.067$), higher glycemia at T90-min ($p = 0.097$) and also higher Hb1Ac ($p = 0.056$), but those differences remained statistically non-significant. Also, there was no ALT-dependent difference in pulmonary function (FEV₁%) for either sex.

Table 3. Metabolic profile comparison between normal ALT and high ALT groups following sex stratification

	Men (N = 149)			Women (N = 124)			Men vs. Women	
	Normal ALT (< 25 U/L) n = 61	High ALT (≥ 25 U/L) n = 88	<i>p</i> -value	Normal ALT (< 25 U/L) n = 106	High ALT (≥ 25 U/L) n = 18	<i>p</i> -value	Normal ALT (< 25 U/L)	High ALT (≥ 25 U/L)
Age (years)	24.7 ± 7.1	26.7 ± 8.2	0.123	25.3 ± 8.6	27.3 ± 7.2	0.352	0.639	0.770
ALT (U/L)	18.3 ± 3.6	37.5 ± 14.9	< 0.001	16.6 ± 4.2	40.4 ± 21.3	< 0.001	0.009	0.484
CFRD (%)	5 (8.2)	18 (20.5)	0.042*	13 (12.3)	3 (16.7)	0.606*	0.417	0.717
Glucose tolerance group			0.244*			0.660*	0.417	0.717
NGT (N/%)	27 (44.3)	33 (37.5)		44 (41.5)	5 (27.8)			
IGT (N/%)	16 (26.2)	20 (22.7)		35 (33.0)	8 (44.4)			
INDET (N/%)	13 (21.3)	17 (19.3)		14 (13.2)	2 (11.1)			
CFRD (N/%)	5 (8.2)	18 (20.5)		13 (12.3)	3 (16.7)			
Pancreatic enzymes (%)	78.3	88.5	0.095	73.6	72.2	0.904	0.496	0.072
FEV1 (%)	72.5 ± 24.0	75.3 ± 21.3	0.467	72.8 ± 20.7	75.3 ± 20.9	0.633	0.947	0.997
Weight (kg)	61.5 ± 9.1	68.3 ± 10.6	< 0.001	54.3 ± 8.4	55.8 ± 8.4	0.473	< 0.001	< 0.001
BMI (kg/m ²)	21.0 ± 2.3	23.2 ± 3.0	< 0.001	21.0 ± 2.8	22.4 ± 3.3	0.067	0.897	0.328
Fat mass (%)	12.3 ± 4.1	16.8 ± 6.3	< 0.001	23.4 ± 7.0	25.6 ± 8.4	0.225	< 0.001	< 0.001
OGTT glucose measure (mmol/L)								
T0 min	5.6 ± 0.7	5.8 ± 1.0	0.090	5.2 ± 0.6	5.2 ± 0.5	0.915	< 0.001	< 0.001
T30 min	9.8 ± 1.9	10.3 ± 2.2	0.124	9.0 ± 1.8	8.9 ± 1.7	0.965	0.004	0.014
T60 min	10.9 ± 2.6	12.4 ± 3.8	0.005	10.5 ± 2.6	11.3 ± 2.1	0.238	0.437	0.113
T90 min	8.8 ± 2.8	11.1 ± 4.5	< 0.001	9.3 ± 2.8	10.5 ± 2.6	0.088	0.260	0.588
T120 min	7.2 ± 2.7	8.6 ± 4.0	0.014	7.8 ± 2.9	8.8 ± 2.4	0.132	0.227	0.730

AUC _{0-120min}	1074.6 ± 211.9	1229.6 ± 361.2	0.001	1056.5 ± 233.8	1132.3 ± 187.9	0.195	0.619	0.104
OGTT insulin measure (µU/mL)								
T0 min	9.9 ± 5.4	10.8 ± 5.4	0.387	11.2 ± 5.1	9.2 ± 2.9	0.122	0.167	0.248
T30 min	29.8 ± 21.6	33.4 ± 25.5	0.412	36.8 ± 21.4	29.1 ± 15.6	0.156	0.061	0.507
T60 min	50.4 ± 41.4	49.5 ± 35.1	0.894	61.1 ± 41.0	50.7 ± 28.5	0.322	0.136	0.889
T 90 min	52.6 ± 30.1	52.0 ± 35.7	0.918	69.2 ± 46.0	58.0 ± 30.0	0.353	0.023	0.529
T120 min	41.4 ± 28.0	43.0 ± 33.8	0.786	63.3 ± 44.2	58.0 ± 38.2	0.648	0.002	0.108
AUC _{0-120min}	4755.4 ± 2804.0	4853.5 ± 3091.8	0.855	6044.2 ± 3515.5	5119.5 ± 2514.0	0.302	0.024	0.741
HbA1c (%)	5.6 ± 0.6	5.8 ± 0.7	0.041	5.7 ± 0.5	5.9 ± 0.4	0.056	0.471	0.632
Insulin sensitivity (Stumvoll index)	0.082 ± 0.023	0.072 ± 0.032	0.029	0.068 ± 0.026	0.069 ± 0.021	0.870	0.001	0.727
HOMA-IR	2.47 ± 1.35	2.78 ± 1.44	0.221	2.57 ± 1.16	2.13 ± 0.72	0.138	0.648	0.075
AST (mmol/L)	20.8 ± 3.9	31.5 ± 12.5	< 0.001	19.8 ± 4.5	29.4 ± 9.5	< 0.001	0.015	0.510
GGT (mmol/L)	18.4 ± 19.5	28.9 ± 24.2	0.004	13.1 ± 6.2	18.7 ± 14.3	0.132	0.011	0.096
TG (mmol/L)	1.1 ± 0.6	1.2 ± 1.1	0.704	1.2 ± 0.6	1.1 ± 0.6	0.513	0.731	0.643
CHOL (mmol/L)	3.3 ± 1.0	3.3 ± 0.8	0.687	3.8 ± 0.9	3.9 ± 1.1	0.611	0.001	0.009
HDL (mmol/L)	1.1 ± 0.3	1.1 ± 0.3	0.814	1.3 ± 0.3	1.4 ± 0.3	0.252	< 0.001	< 0.001
LDL (mmol/L)	1.7 ± 0.8	1.8 ± 0.6	0.406	1.9 ± 0.7	2.0 ± 0.8	0.723	0.019	0.141

Table legend: ALT: alanine aminotransferase; NGT: normal glucose tolerance; IGT: impaired glucose tolerance; INDET: indeterminate glucose tolerance; CFRD: cystic fibrosis-related diabetes; FEV1: forced expiratory volume expired in 1 second; BMI: body mass index; OGTT: oral glucose tolerance test; AUC_{0-120min}: area under the curve from T0 to T120 min OGTT; HbA1c: glycosylated hemoglobin; HOMA-IR: insulin resistance index, AST: aspartate aminotransferase, GGT: gamma-glutamyl transferase; TG: triglycerides; CHOL: cholesterol; HDL: high-density lipoprotein cholesterol, LDL: low-density lipoprotein cholesterol.

Data are presented as mean ± SD. Student's t-test was performed to compare groups' means. *Chi square test was performed for categorical variables. Statistical significance was set at $p \leq 0.05$. Values in bold represent significant p -values.

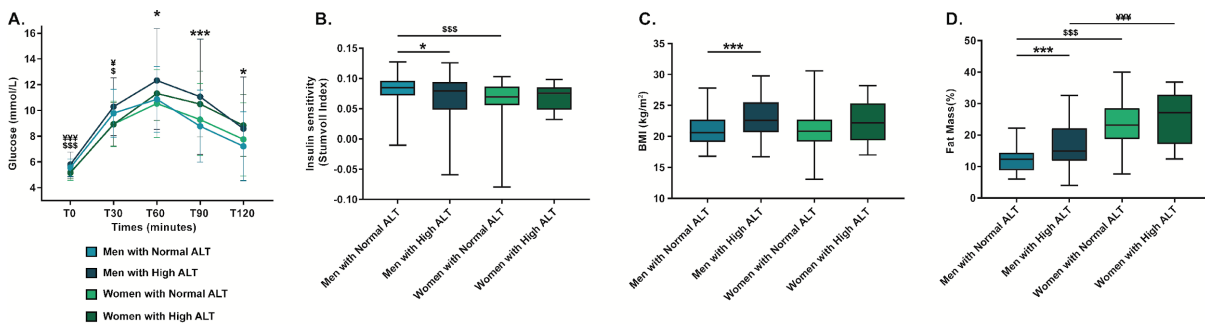


Fig. 2. Glucose (A), insulin sensitivity (B), BMI (C) and fat mass percentage (D) differences between normal and high ALT groups following sex stratification. Men with high ALT have higher glucose levels at T60 to T120 min and show markers of decreased insulin sensitivity compared to men with normal ALT. Men with high ALT have higher BMI and higher percentage of fat body mass than men with normal ALT. No significant differences were observed between the women groups. *: $p \leq 0.05$ between men with normal and high ALT; *: $p \leq 0.001$ between men with normal and high ALT; \$: $p \leq 0.05$ between men and women with normal ALT; \$\$\$: $p \leq 0.001$ between men and women with normal ALT; ¥: $p \leq 0.05$ between men and women with high ALT; ¥¥¥: $p \leq 0.001$ between men and women with high ALT.**

Discussion

CF patients are at increased risk of developing glucose intolerance that could eventually progress to CFRD [22, 214]. CF patients are also at higher risk for liver disease [218, 219]. In the general population, fatty liver disease is a strong risk factor for dysglycemia [206, 207, 210]. We report here the association between glucose tolerance status and easily accessible biomarkers of hepatic function in a CF population cohort. Our results demonstrate that higher ALT levels are associated with higher glycemic levels, higher HbA1c and more frequent *de novo* CFRD diagnosis. These observations were particularly obvious in CF men. High ALT levels are similarly associated to higher weight and BMI and lower insulin sensitivity, which supports the hypothesis that CFRD development might share metabolic pathways frequently observed in T2DM. Thus ALT measures could help in better targeting adult patients for glucose intolerance screening by annual OGTT. Interestingly, the presence of higher ALT and worse glycemic control didn't affect pulmonary capacity, as evaluated by FEV₁%, which is a key clinical outcome in CF patients.

Our results revealed that CF patients with higher ALT levels have higher weight and BMI, particularly in men. It is an interesting trend, as previous data have shown a predominance of adult men with CF as being overweight or obese [215]. We have also observed an increase in body fat in high ALT men, although we couldn't specifically quantify the fat distribution in our cohort. Insulin resistance is closely related to visceral fat deposition which induces low-grade inflammation and oxidative stress and predisposes to liver injury and NAFLD [208, 224]. A previous study has shown that CF patients also have increased central fat distribution compared to healthy controls, which could influence insulin sensitivity [225]. Half of these patients were diagnosed with diabetes. Our results also point towards lower insulin sensitivity in the group of

men with high ALT when measured by Stumvoll index, but not with HOMA-IR. Although no insulin sensitivity index has been thoroughly validated in CF cohorts, the Stumvoll index has been used previously by our group because of its capacity to screen for dynamic change in a glucose tolerance challenge [30, 90], while the HOMA-IR mostly reflects fasting insulin resistance. When we underwent a sub-analysis focusing on CFRD patients only, we found that the metabolic profile seems to be worse in those with ALT levels ≥ 25 U/L. Such patients had worse glycemic values at all OGTT time-points and evidence of increased estimated insulin resistance, when estimated by both Stumvoll index and HOMA-IR. This data suggests that a mechanism of hepatic insulin resistance induced by steatosis could play a role in the increase of plasma glucose concentration even in CF patients. Furthermore, ALT levels were strongly correlated with insulin resistance indices. This supports our hypothesis that high ALT status, indicative of hepatic damage, is associated with dysglycemia and incidence of CFRD through a mechanism probably implicating insulin resistance.

Early recognition and treatment of CFRD is important, given that its occurrence is associated with adverse outcomes in terms of increase risk for weight loss and pulmonary function decline leading to a higher early mortality, but also because of the risk of diabetes-related microvascular complications (e.g. retinopathy) [22, 65]. The current gold standard for CFRD screening is an annual 75-g oral glucose tolerance test (OGTT) [65] which can be a substantial burden for patients and care providers [164]. Given the low adherence of patients to OGTT screening for CFRD [226], having another simple screening tool that can be used conjointly, such as hepatic ALT, becomes interesting in order to target patients and encourage them to follow the recommended screening guidelines, especially in the younger patient population. Also, it might be worth evaluating if a combination of ALT measures with fructosamine or HbA1c in CF patients is robust enough to screen for CFRD. This way, it could reduce the number of required and hopefully avoid repetitive OGTT and ease the screening process in the CF population.

Despite similar trends the metabolic parameters were not significantly different between the two hepatic enzyme female groups. Among reasons for such sex difference could include the fact that we had a small group of women with high ALT (n= 18) this group size might limit our power. In addition, it is possible that appropriate cut-off could be gender specific as some studies suggest that normal values are lower in women [227, 228]. In addition, adult women with CF can have a preserved insulin secretion [90] which is a key factor to preserve normal glucose regulation, it has been speculated that estrogens can modulate insulin secretion through several

actions on pancreatic β -cell function [90, 229]. It is also possible that well known body fat distribution between sexes with at least up to menopause a far less tendency for visceral fat deposition in women could also explain a lower risk for diabetes and hepatic steatosis in some women [230].

Our data suggests that men with higher ALT tend to accumulate factors associated to the metabolic syndrome. It is worth mentioning that the mean age of our population is less than 30 years old, which could mean that with advancing age observed abnormalities could tend to increase. Indeed recent data suggest that with aging the cause of metabolic profile could evolve [231].

Our study has some limitations. It might be difficult to generalize the data, given the single center analysis with a mostly French-Canadian ethnic origin. Still, this large cohort is well-characterized and comparable for key parameters, such as weight and pulmonary function, to other North-American published data [232]. Given the cross-sectional design, we can only comment on associations between the variables at study. On the other hand, our findings are relevant because hepatic enzymes are low cost and easily accessible biomarkers, though they only give a crude assessment of liver damage without an indication on the actual cause of liver damage. We are confident though that by choosing a lower ALT threshold in accordance to available literature, our data revealed an association that has been repeatedly observed before in T2DM. Also, it is important to note that in cross-sectional studies, biochemical parameters can change along the follow-up period.

Conclusions

In summary, this study suggests a potential new use of ALT in CF, as a simple biomarker which is associated with dysglycemia, predominantly in men. If our results are confirmed in other patient group, ALT could help in targeting the frequency of OGTT testing as the proposed cut-off at 25 U/L allowed to detect twice as more men with CFRD. To our knowledge, this is the first study to describe glycemie variation and insulin sensitivity in relation to ALT levels in a CF population, supporting similarities between the development of CFRD and T2DM. Additional studies are required to confirm these observations and validate the most appropriate ALT cut-off to use in clinical practice.

Acknowledgements

We acknowledge all the patients and the CF and diabetes clinic nurses for their involvement into the Montreal Cystic Fibrosis Cohort. This work was supported by the J-A DeSève chair awarded to R Rabasa-Lhoret.

References

1. Bril F, Cusi K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The New Complication of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2016;45(4):765-81.
2. Mantovani A, Byrne CD, Bonora E, Targher G. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Risk of Incident Type 2 Diabetes: A Meta-analysis. *Diabetes Care.* 2018;41(2):372-82.
3. Chen Z, Yu R, Xiong Y, Du F, Zhu S. A vicious circle between insulin resistance and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):203.
4. Cusi K. Nonalcoholic steatohepatitis in nonobese patients: Not so different after all. *Hepatology.* 2017;65(1):4-7.
5. Vozarova B, Stefan N, Lindsay RS, Saremi A, Pratley RE, Bogardus C, et al. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes.* 2002;51(6):1889-95.
6. Lorenzo C, Hanley AJ, Rewers MJ, Haffner SM. Discriminatory value of alanine aminotransferase for diabetes prediction: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabet Med.* 2016;33(3):348-55.
7. Portillo-Sanchez P, Bril F, Maximos M, Lomonaco R, Biernacki D, Orsak B, et al. High Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Normal Plasma Aminotransferase Levels. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015;100(6):2231-8.
8. Grasmann H, Ratjen F. Early lung disease in cystic fibrosis. *Lancet Respir Med.* 2013;1(2):148-57.
9. Singh VK, Schwarzenberg SJ. Pancreatic insufficiency in Cystic Fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2017;16 Suppl 2:S70-S8.
10. Brennan AL, Geddes DM, Gyi KM, Baker EH. Clinical importance of cystic fibrosis-related diabetes. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2004;3(4):209-22.
11. Kelly A, Moran A. Update on cystic fibrosis-related diabetes. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2013;12(4):318-31.
12. Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, et al. Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab.* 2005;31(3 Pt 1):221-32.
13. Hart NJ, Aramandla R, Poffenberger G, Fayolle C, Thames AH, Bautista A, et al. Cystic fibrosis-related diabetes is caused by islet loss and inflammation. *JCI Insight.* 2018;3(8).

14. O'Riordan SM, Robinson PD, Donaghue KC, Moran A, Consensus ICP. Management of cystic fibrosis-related diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2008;9(4 Pt 1):338-44.
15. Boudreau V, Coriati A, Hammana I, Ziai S, Desjardins K, Berthiaume Y, et al. Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity? *J Cyst Fibros*. 2016;15(6):839-45.
16. Colomba J, Boudreau V, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F, et al. The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity. *J Cyst Fibros*. 2019.
17. Beaudoin N, Bouvet GF, Coriati A, Rabasa-Lhoret R, Berthiaume Y. Combined Exercise Training Improves Glycemic Control in Adult with Cystic Fibrosis. *Med Sci Sports Exerc*. 2017;49(2):231-7.
18. Leung DH, Narkewicz MR. Cystic Fibrosis-related cirrhosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2017;16 Suppl 2:S50-S61.
19. Flass T, Narkewicz MR. Cirrhosis and other liver disease in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2013;12(2):116-24.
20. Ayoub F, Trillo-Alvarez C, Morelli G, Lascano J. Risk factors for hepatic steatosis in adults with cystic fibrosis: Similarities to non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*. 2018;10(1):34-40.
21. Coriati A, Belson L, Ziai S, Haberer E, Gauthier MS, Mailhot G, et al. Impact of sex on insulin secretion in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(5):1767-73.
22. Coriati A, Ziai S, Lavoie A, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. The 1-h oral glucose tolerance test glucose and insulin values are associated with markers of clinical deterioration in cystic fibrosis. *Acta diabetologica*. 2015.
23. Boudreau V, Coriati A, Desjardins K, Rabasa-Lhoret R. Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2016;15(2):258-60.
24. 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.
25. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;294(1):E15-26.

26. Maximos M, Bril F, Portillo Sanchez P, Lomonaco R, Orsak B, Biernacki D, et al. The role of liver fat and insulin resistance as determinants of plasma aminotransferase elevation in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2015;61(1):153-60.
27. Asrih M, Jornayvaz FR. Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulin resistance the link? *Mol Cell Endocrinol*. 2015;418 Pt 1:55-65.
28. Moriconi N, Kraenzlin M, Muller B, Keller U, Nusbaumer CP, Stohr S, et al. Body composition and adiponectin serum concentrations in adult patients with cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(4):1586-90.
29. Sylvain C, Lamothe L, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. How patients' representations of cystic fibrosis-related diabetes inform their health behaviours. *Psychol Health*. 2016;31(10):1129-44.
30. Boudreau V, Reynaud Q, Dubois CL, Coriati A, Desjardins K, Durieu I, et al. Screening for Cystic Fibrosis-Related Diabetes: Matching Pathophysiology and Addressing Current Challenges. *Can J Diabetes*. 2016;40(5):466-70.
31. Di Bonito P, Sanguigno E, Di Fraia T, Forziato C, Boccia G, Saitta F, et al. Association of elevated serum alanine aminotransferase with metabolic factors in obese children: sex-related analysis. *Metabolism*. 2009;58(3):368-72.
32. Poustchi H, George J, Esmaili S, Esna-Ashari F, Ardalan G, Sepanlou SG, et al. Gender differences in healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels in adolescence. *PLoS One*. 2011;6(6):e21178.
33. Mauvais-Jarvis F, Le May C, Tiano JP, Liu S, Kilic-Berkmen G, Kim JH. The Role of Estrogens in Pancreatic Islet Physiopathology. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1043:385-99.
34. Kautzky-Willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Rev*. 2016;37(3):278-316.
35. Colomba J, Boudreau V, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F, et al. The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2019.
36. Quon BS, Sykes J, Stanojevic S, Marshall BC, Petren K, Ostrenga J, et al. Clinical characteristics of cystic fibrosis patients prior to lung transplantation: An international comparison between Canada and the United States. *Clin Transplant*. 2018;32(3):e13188.

4.3. Article 3: “Dyslipidemia is not associated with the development of glucose intolerance or diabetes in cystic fibrosis.” doi : 10.1016/j.jcf.2020.04.004

Les contributions à cette étude comprenaient les éléments suivants :

Conceptualisation : Johann Colomba, Kathryn Potter, Rémi Rabasa-Lhoret.

Acquisition des données : Johann Colomba, Anne Bonhoure, Cindy Bergeron, Valérie Boudreau.

Analyse formelle : Johann Colomba, Kathryn Potter.

Financement : Rémi Rabasa-Lhoret.

Méthodologie : Kathryn Potter, Rémi Rabasa- Lhoret.

Ressources : François Tremblay, Kathryn Potter, Rémi Rabasa- Lhoret, Peter Senior.

Supervision : Kathryn Potter, Rémi Rabasa- Lhoret.

Rédaction - ébauche originale : Johann Colomba, Kathryn Potter.

Rédaction et révision : Johann Colomba, Kathryn Potter, Anne Bonhoure, Cindy Bergeron, Valérie Boudreau, Peter Senior.

Article publié dans Journal of Cystic Fibrosis, 2020 Apr; doi : 10.1016/j.jcf.2020.04.004

Copyright © 2020. Published by Elsevier B.V.

Dyslipidemia is not associated with the development of glucose intolerance or diabetes in cystic fibrosis.

Johann Colomba^{1,2}, Rémi Rabasa-Lhoret^{1-5**}, Anne Bonhoure^{1,3}, Cindy Bergeron^{1,2},
Valérie Boudreau^{1,2}, François Tremblay^{4,5}, Peter Senior⁶, Kathryn Potter¹

¹ Montreal Clinical Research Institute (IRCM), Montréal, Québec, Canada;

² Department of Nutrition, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada;

³ Division of Experimental Medicine, Faculty of Medicine, McGill University, Montréal, Québec, Canada;

⁴ Department of Medicine, Faculty of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada;

⁵ Cystic Fibrosis Clinic, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), Montréal, Québec, Canada;

⁶ Division of Endocrinology, University of Alberta, Edmonton, Alberta, Canada

****Corresponding author:**

Rémi Rabasa-Lhoret, MD, PhD

IRCM, 110 Av des Pins

Montréal (QC) Canada H2W1R7

Phone: +1 (514) 987-5657 Fax: +1 (514) 987-5670

Email: remi.rabasa-lhoret@ircm.qc.ca

Word count

Abstract: 250

Manuscript: 3959

Number of tables: 4

Number of figures: 2

Dyslipidemia is not associated with the development of glucose intolerance or diabetes in cystic fibrosis.

ABSTRACT

Background: A high-fat, high-calorie diet is recommended in patients with cystic fibrosis (CF) as it improves nutritional status, respiratory health and longevity. In the general population, this diet is associated with the risk of diabetes. It is unknown whether dyslipidemic changes might contribute to the development of CF-related diabetes (CFRD).

Objective: This study aimed to (i) characterize dyslipidemia and (ii) examine the association between dyslipidemia and development of glucose intolerance.

Methods: Prospective observational study with serial assessments of pulmonary function, glucose tolerance, and lipid profile. Due to intrinsically low total, HDL and LDL cholesterol in patients with CF, subjects were characterized as having dyslipidemia if they had i) HDL in the lowest quartile and/or ii) hypertriglyceridemia (≥ 1.7 mmol/L).

Results: A total of 256 patients with CF were included (age: 25.5 ± 7.7 years; BMI: 21.7 ± 3.0 kg/m²; FEV1%: $73.2 \pm 22.1\%$; pancreatic insufficiency: 87%). Amongst these patients, 22.7% had low HDL, 9.0% had hypertriglyceridemia and 3.9% had mixed dyslipidemia. There were no differences in HbA1c ($p = 0.583$) or estimated insulin resistance [HOMA-IR ($p = 0.206$) or Stumvoll index ($p = 0.397$)]. Patients with hypertriglyceridemia had higher fat mass ($p = 0.038$) and fewer had pancreatic insufficiency. Lipid profiles were similar between subjects with CF and subjects with *de novo* CFRD. There was no effect of low HDL or hypertriglyceridemia on the development of CFRD over 10 years ($p = 0.683$).

Conclusion: In adult patients with CF, dyslipidemia is not associated with the risk of developing hyperglycemia or CFRD.

1. Introduction

The median lifespan of patients with cystic fibrosis (CF) has increased to 53 years in Canada in 2017 [2]. This is largely attributed to changes in nutritional management adopted in the late 1980s. The introduction of an unrestricted hypercaloric (120-150% of recommended daily intake), high fat (35-40% of energy) diet along with pancreatic enzyme supplementation improved body mass index and, accordingly, slowed decline in pulmonary function [165]. As life expectancy increases, patients with CF are developing co-morbid conditions that complicate health maintenance [34]. Prevalence studies show that up to 50% of adults with CF will develop CF-related diabetes (CFRD) by 50 years of age [22]. CFRD is associated with significant nutritional, respiratory, and microvascular morbidity and increased early mortality [34].

The pathogenesis and etiology of CFRD is not fully understood. A key factor is reduced beta cell function and mass, although insulin resistance (IR) may worsen beta cell dysfunction [34, 233]. In non-CF adults, aging, obesity, and a high fat diet are risk factors for metabolic syndrome. Moreover, a specific pattern of dyslipidemic changes (e.g. low HDL-cholesterol [<1.0 mmol/L for men and <1.3 for women] and hypertriglyceridemia [≥ 1.7 mmol/l]), is associated with insulin resistance and the risk of type 2 diabetes [234-236]. Patients with CF are chronically exposed to a high fat diet to maintain their nutritional status. These cases are living longer and an increasing proportion are becoming overweight or obese [237]. As such, the standard of care high-fat diet encouraged in CF may promote lipid abnormalities that predispose to insulin resistance and hyperglycemia.

Patients with CF and pancreatic insufficiency tend to have low total, LDL, and HDL cholesterol; additionally, a subgroup of patients display hypertriglyceridemia [157, 238-243]. Those with pancreatic sufficiency are more likely to develop hypercholesterolemia [157]. Generally accepted criteria for dyslipidemia by the National Cholesterol Education Program (NCEP) [244] and European Society of Cardiology (ESC) ([234]) need to be applied cautiously in CF. According to the NCEP definition, 52% of subjects with CF and pancreatic insufficiency and 41% with pancreatic sufficiency were found to have low HDL [157]. No previous work has distinguished a threshold at which low HDL cholesterol is associated with pro-atherogenic changes in the CF population. The characterization of metabolic abnormalities is challenging in a population in whom all levels of cholesterol tend to be low at baseline.

Chronic exposure to a high fat diet causes metabolic syndrome and insulin resistance in the general population [236]. We sought to characterize whether pro-atherogenic dyslipidemic changes might play a role in the pathogenesis of CFRD in a contemporary cohort. Given known limitations in applying traditional definitions of dyslipidemia in CF, we used a novel approach to identify low levels of HDL. We hypothesized that a lipid profile characterized by a low HDL and/or hypertriglyceridemia might reflect insulin resistance that would increase the risk of CFRD. Furthermore, we hypothesize that dyslipidemia would be present in individuals at the onset of CFRD prior to the initiation of insulin. Using data from the prospective observational Montreal Cystic Fibrosis Cohort (MCFC), the purpose of this study was to i) characterize dyslipidemia in adult patients with CF with and without de novo CFRD and ii) examine the effect of dyslipidemia on the future risks of CFRD.

2. Patients and methods

2.1. Design and setting

This prospective study was performed using the MCFC at Centre Hospitalier de l'Université de Montreal. This cohort established in 2004 and includes more than 300 adult patients as of today. It has been designed for CFRD screening to study mechanisms of glucose intolerance and its association with CF clinical status in patients without known CFRD who undergo repeated recommended oral glucose tolerance tests (OGTT), blood sampling, and evaluation of pulmonary function (%FEV₁) [90]. For this particular study, the last enrolled subject who was enrolled in the study was enrolled in March 2018. We used data collected at the end of August 2019.

2.2. Participants

The study inclusion criteria were age \geq 18 years old, a confirmed diagnosis of CF, and glycemic and lipid profiles available over the course of the study. Exclusion criteria were: a prior history of diabetes (type 1, type 2, or prior diagnosis of CFRD), pregnancy, previous lung or liver

transplantation, a pulmonary exacerbations in the prior month, or conditions that could interfere with glucose metabolism such as intravenous antibiotics, steroids (oral or intravenous) or growth hormone [90]. For the present analysis, patients with total cholesterol > 6.0 mmol/L were excluded as this degree of elevation is often associated with genetic causes, liver disease, kidney disease or uncontrolled hypothyroidism.

Some of the study participants were diagnosed with incident CFRD by single OGTT at time of initial screening and blood sampling. These patients were not treated for CFRD at time of the analysis but were referred to an endocrinologist to undergo confirmatory tests and to be treated, if required. After a diagnosis of CFRD, patients were no longer followed in the prospective study. Patients with a pulmonary exacerbation within 1 month or on medications interfering with glucose metabolism at the time of their OGTT visit were rescheduled when they were clinically stable, at least one month past the end of the exclusion criterion (e.g. pulmonary exacerbation).

2.3. Clinical data and blood sample

Age, sex and genotype were collected by chart review. Body weight, standing height, body mass index, and FEV₁ were measured at each visit as previously described [90]. The percentage of fat was obtained by impedance measurement on an electronic scale (Tanita Corporation Arlington Heights, IL, USA). Hepatic enzymes (ALT, AST, GGT), lipid profile (serum total cholesterol, HDL, LDL, triglycerides) and glycosylated hemoglobin (HbA1c) were measured using fasting serum samples, as described previously [90]. Total cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol were measured by enzymatic reaction (ADVIA1650, Bayer Health Care Diagnostics). Total cholesterol, HDL-cholesterol and triglycerides were used in the Friedewald formula to calculate LDL-cholesterol concentration [245].

2.4. Oral glucose tolerance test (OGTT)

Oral glucose tolerance testing, with 30 min sampling interval, was performed as previously described [90]. Insulin sensitivity was estimated using the Stumvoll index and HOMA-IR formula as previously defined [30, 222]. Area under the curve (AUC) for glycemia and insulin were calculated from the OGTT measurement using the trapezoid method

2.4. Classification of patients

Subjects were categorized according to their initial OGTT on the basis of their glucose values at 0, 60 or 120 minutes as having normal glucose tolerance (NGT; 120 min < 7.8 mmol/L), impaired glucose tolerance (IGT; 120 min \geq 7.8 mmol/L and < 11.1 mmol/L), indeterminate glucose tolerance (INDET; 120 min < 7.8 mmol/L, but 60 min \geq 11.1 mmol/L) or incident CFRD (120 min \geq 11.1 mmol/L or fasting glucose value \geq 7.0 mmol/L).

Subjects were also classified according to their lipid profile. We characterized patients with dyslipidemia as having a low HDL and/or hypertriglyceridemia according to lipid abnormalities associated with insulin resistance and the risk of type 2 diabetes [234-236]. We used the European Society of Cardiology (ESC) definition of hypertriglyceridemia with high triglycerides (TG) level (\geq 1.7 mmol/L; 150mg/dL) [234] to identify hyperglycemia patients. Due to the inherently low HDL levels in previously published cohorts and in our own cohort, we defined patients having low HDL as the lowest quartile of HDL. We determined quartiles of HDL for men and women separately, as HDL levels are known to be different between genders [246]. We divided subjects as follows: normal lipid profile; low HDL (HDL in the lowest quartile by gender); hypertriglyceridemia; and mixed dyslipidemia. We compared these 4 groups at their initial visit and at their last visit (i.e. most recent visit).

2.5. Statistical analysis

Statistical analysis was done using SPSS 17.0 (SPSS, Chicago, IL). AUC and Kaplan-Meier survival curves were derived using GraphPad Prism (GraphPadInc, San Diego, CA). Results are presented as mean \pm standard deviation (SD). Analysis of variance (ANOVA) was used to compare multiple groups containing continuous variables. The equality of means was tested using the Welch test and the Levene statistical test was used to test for homogeneity of variance. A Bonferroni test was used as post-hoc test. Unpaired and paired Student's T-tests (for normally distributed data) were used to compare groups. P value < 0.05 was considered significant.

3. Results

3.1. Description of the cohort

There were 256 subjects in the MCFC with had available data at the time of data analysis. Baseline demographics of this population are presented in Table 1. Of these 256 patients included in the first analysis, 39 have CFRD incidence at inclusion (shown in Table 2) and were then excluded from our cohort and from follow-up analysis (Table 3), 23 had no follow-up data. Finally, only 194 have baseline and follow-up data for sub-analysis (Table 3, and Figure 3). One hundred and fifty-five subjects had not developed diabetes as of September 2019, while another 39 patients developed CFRD over time after baseline inclusion (Table 3, Figure 3).

3.2. Characterization of lipid abnormalities in overall patients at baseline

Analysis of baseline characteristics in the overall population and, more specifically, in patients without and with dyslipidemia at the initial screening visit, is shown in Table 1. According to fasting lipid profiles, 165 patients (64.5%) had a normal lipid profile, while 91 patients (35.5%) displayed dyslipidemia. Of those with dyslipidemia, 22.7% of had isolated low HDL-cholesterol, 9% had isolated hypertriglyceridemia and 3.9% had mixed dyslipidemia. When comparing baseline characteristics of patients according to their lipid profile groups, there were no differences in age ($p = 0.728$), genotype ($p = 0.354$), BMI ($p = 0.246$), FEV₁% ($p = 0.724$), or pancreatic insufficiency ($p = 0.360$).

Subjects with mixed dyslipidemia tended to have a higher systolic blood pressure (124.3 ± 13.9 vs. 112.0 ± 11.3 mmol/L; $p = 0.017$) than normal lipid profile subjects. Similarly, they also had higher diastolic blood pressure than the normal lipid group, (78.7 ± 11.8 vs. 67.7 ± 9.0 mmol/L; $p = 0.004$), than the low HDL group (78.7 ± 11.8 vs. 67.7 ± 8.5 mmol/L; $p = 0.009$), and than the hypertriglyceridemia group (78.7 ± 11.8 vs. 69.1 ± 7.4 mmol/L; $p = 0.043$). Subjects with hypertriglyceridemia showed higher insulin secretion at time 30 min after OGTT than the those in the normal lipid group subjects (48.7 ± 31.7 vs. 31.6 ± 21.3 mmol/L; $p = 0.005$) and than those in the low HDL group (48.7 ± 31.7 vs. 30.7 ± 16.3 mmol/L; $p = 0.009$). In Figure 1, we illustrate the baseline glycemc and insulinemic trends during OGTT testing for each group.

CFRD prevalence at baseline ($p = 0.434$), hemoglobin A1c ($p = 0.583$) and all OGTT time value for glucose ($p = 0.183$), were similar between groups. Similarly, insulin resistance estimated by was not statistically different (HOMA-IR, $p = 0.206$; Stumvoll index, $p = 0.397$).

Table 1. Baseline characteristics of the MCFC cohort according to lipid groups.

	Overall subjects N=256	Normal lipid group A N=165 (64.7%)	Low HDL (lowest quartile) group B N=58 (22.7%)	Hyper-triglyceridemia group C N=23 (9.0%)	Mixed dyslipidemia group N=10 (3.9%)	Un-adjusted p value
Age (years)	25.5 ± 7.7	25.6 ± 7.6	24.8 ± 7.2	25.7 ± 8.4	27.7 ± 10.5	0.728
Sex, n (% men)	141 (55.1%)	94 (57.0%)	33 (56.9%)	9 (39.1%)	5 (50.0%)	0.426*
Genotype						0.354*
Homozygous for ΔF508, n (% yes)	124 (48.6%)	74 (45.1%)	32 (55.2%)	10 (43.5%)	8 (80.0%)	
Heterozygous for ΔF508, n (% yes)	106 (41.6%)	74 (45.1%)	20 (34.5%)	10 (43.5%)	2 (20.0%)	
Other genotype, n (% yes)	26 (9.8%)	17 (9.8%)	6 (10.3%)	3 (13.0%)	0 (0.0%)	
FEV1 %	73.2 ± 22.2	73.9 ± 22.3	71.1 ± 21.7	71.8 ± 23.0	78.4 ± 20.5	0.724
Pancreatic insufficiency, n (% yes)	205 (87.0%)	131 (80.4%)	51 (87.9%)	14 (60.9%)	9 (90.0%)	0.040*
BMI (kg/m ²)	21.7 ± 3.0	21.7 ± 2.9	21.3 ± 2.8	22.5 ± 3.6	22.8 ± 2.9	0.246
Fat mass (%)	18.7 ± 7.9	18.5 ± 7.8	17.1 ± 7.6	22.5 ± 8.8 ^B	21.2 ± 6.1	0.036
TG (mmol/L)	1.2 ± 0.8	0.9 ± 0.3	1.0 ± 0.3	2.3 ± 0.4 ^{A,B}	3.4 ± 2.1 ^{A,B,C}	<0.0001
HDL in men (mmol/L)	1.1 ± 0.3	1.3 ± 0.3	0.8 ± 0.1 ^A	1.2 ± 0.2 ^B	0.8 ± 0.1 ^A	<0.0001
HDL in women (mmol/L)	1.2 ± 0.3	1.3 ± 0.2	0.9 ± 0.1 ^A	1.4 ± 0.3 ^B	0.8 ± 0.1 ^{A,C}	<0.0001
LDL (mmol/L)	1.8 ± 0.7	1.9 ± 0.7	1.4 ± 0.4 ^A	1.9 ± 0.6 ^B	1.5 ± 0.6	<0.0001
Total cholesterol (mmol/L)	3.5 ± 0.9	3.6 ± 0.8	2.6 ± 0.5 ^A	4.2 ± 0.7 ^{A,B}	3.6 ± 0.8 ^B	<0.0001
Non-HDL cholesterol (mmol/L)	2.3 ± 0.8	2.3 ± 0.8	1.8 ± 0.4 ^A	2.9 ± 0.6 ^{A,B}	2.8 ± 0.8 ^B	<0.0001
Ratio _{cholesterol/HDL}	3.0 ± 0.7	2.9 ± 0.7	3.1 ± 0.8 ^A	3.3 ± 0.7 ^A	4.0 ± 0.6 ^{A,B}	<0.0001
NGT, n (%)	102 (39.8%)	57 (34.5%)	28 (48.3%)	12 (52.2%)	5 (50.0%)	0.259*
INDET, n (%)	43 (16.8%)	31 (18.8%)	6 (10.3%)	5 (21.7%)	1 (10.0%)	0.381*
IGT, n (%)	72 (28.1%)	51 (30.9%)	16 (27.6%)	2 (8.7%)	3 (30.0%)	0.095*
de novo CFRD, n (%)	39 (15.2%)	26 (15.8%)	8 (13.8%)	4 (17.4%)	1 (10.0%)	0.434*
Systolic blood pressure (mmHg)	113.4 ± 11.7	112.0 ± 11.3	113.7 ± 11.3	112.6 ± 10.7	124.3 ± 13.9 ^A	0.028
Diastolic blood pressure (mmHg)	68.7 ± 9.2	67.7 ± 9.0	67.7 ± 8.5	69.1 ± 7.4	78.7 ± 11.8 ^{A,B,C}	0.007
HbA1c (%)	5.7288 ± 0.579	5.7383 ± 0.600	5.6654 ± 0.563	5.865 ± 0.544	5.66 ± 0.372	0.583
T0min glucose OGTT (mmol/L)	5.5 ± 0.8	5.5 ± 0.9	5.4 ± 0.8	5.3 ± 0.4	5.3 ± 0.6	0.737
T30min glucose OGTT (mmol/L)	9.5 ± 2.0	9.6 ± 2.1	9.3 ± 1.9	9.4 ± 1.9	9.1 ± 2.5	0.589
T60min glucose OGTT (mmol/L)	11.2 ± 3.1	11.5 ± 3.1	10.9 ± 3.2	10.4 ± 3.1	10.1 ± 1.6	0.183
T90min glucose OGTT (mmol/L)	9.9 ± 3.6	10.2 ± 3.7	9.6 ± 3.3	8.9 ± 3.2	8.9 ± 2.7	0.266
T120min glucose OGTT (mmol/L)	8.1 ± 3.3	8.3 ± 3.4	7.8 ± 3.1	7.5 ± 3.4	7.4 ± 2.4	0.518
AUC _{glucose} OGTT	1121.5 ± 284.7	1145.6 ± 296.0	1094.7 ± 273.9	1054.3 ± 262.5	1033.9 ± 146.1	0.271
T0 insulin OGTT (μU/mL)	10.5 ± 5.2	10.2 ± 5.2	10.2 ± 3.8	13.0 ± 7.8	11.7 ± 5.6	0.110
T30 insulin OGTT (μU/mL)	33.1 ± 22.2	31.6 ± 21.3	30.7 ± 16.3	48.7 ± 31.7 ^{A,B}	37.5 ± 30.2	0.006
T60 insulin OGTT (μU/mL)	52.2 ± 35.9	50.7 ± 32.9	48.4 ± 31.3	69.3 ± 59.3	60.9 ± 37.4	0.101
T90 insulin OGTT (μU/mL)	58.2 ± 38.5	57.4 ± 34.6	53.6 ± 26.1	72.8 ± 76.1	63.9 ± 40.9	0.253
T120 insulin OGTT (μU/mL)	51.1 ± 38.0	50.0 ± 33.2	48.1 ± 31.1	66.0 ± 74.5	54.1 ± 26.7	0.268
AUC _{insulin} OGTT	5198.8 ± 3153.8	5082.4 ± 2871.4	4813.2 ± 2192.8	6905.9 ± 6180.0	5854.0 ± 2929.7	0.070
AUC _{insulin} /AUC _{glucose}	4.9 ± 3.1	4.8 ± 3.1	4.7 ± 2.2	6.5 ± 4.8	5.9 ± 3.3	0.095
HOMA-IR	2.6 ± 1.3	2.5 ± 1.3	2.5 ± 1.1	3.1 ± 1.9	2.8 ± 1.4	0.206
Insulin sensitivity Stumvoll index	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.1 ± 0.0	0.397
ALT (mmol/L)	25.5 ± 14.9	25.2 ± 15.1	27.2 ± 15.7	22.7 ± 12.9	27.1 ± 10.5	0.634
AST (mmol/L)	24.5 ± 10.1	24.5 ± 10.9	25.5 ± 9.2	21.8 ± 7.5	23.9 ± 3.8	0.535
GGT (mmol/L)	20.0 ± 19.1	20.9 ± 21.7	17.8 ± 14.6	16.7 ± 7.7	24.0 ± 11.9	0.534

BMI: body mass index; TG: triglycerides; HDL: high-density lipoprotein cholesterol, LDL: low-density lipoprotein cholesterol; NGT: normal glucose tolerance; IGT: impaired glucose tolerance; INDET: indeterminate glucose tolerance; CFRD: cystic fibrosis-related diabetes; FEV1: forced expiratory volume expired in 1 second; HbA1c: glycosylated hemoglobin; OGTT: oral glucose tolerance test; AUC: area under the curve total from T0 to T120 min at OGTT; HOMA-IR: Homeostatic model assessment for insulin resistance, ALT: alanine aminotransferase; AST: aspartate aminotransferase, GGT: gamma-glutamyl.

Data are presented as Mean ± SD.

ANOVA were used to compare means groups for continuous variables and Chi-square test for categorical variables. Statistical significance was set at $p < 0.050$. Values in bold represent significant p-values. Bonferroni post-hoc test were assessed. ^A: significantly different from normal lipid group; ^B: significantly different from low HDL group; ^C: significantly different from hypertriglyceridemia group. All p values were ≤ 0.050 .

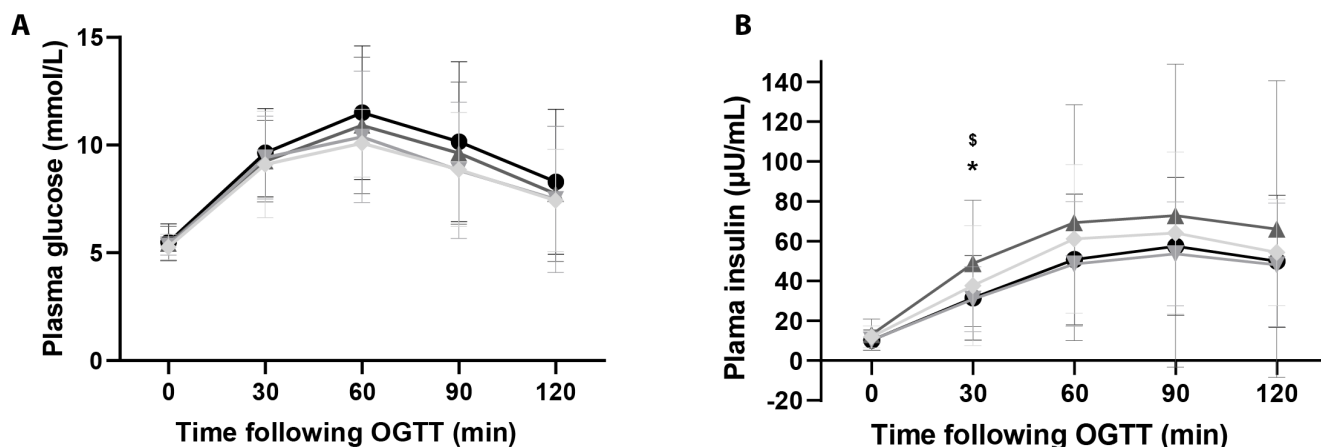


Fig 1. Plasma glucose (A) and insulin (B) during OGTT according to lipid groups N = 256. Dark line — = Normal lipid profile group ; Dark grey — = low HDL ; middle grey — = high TG group ; light grey — = mixed dyslipidemia group. * : difference between high TG and normal lipid profile ($p=0.005$). \$: difference between high TG and low HDL ($p=0.009$).

3.3. Impact of early diabetes on lipid profile

We compared lipid profiles from 155 subjects who remained non-diabetic for up to 15 years after initial screening to 39 that were diagnosed with incident CFRD at the first screening visit (Table 2). Both groups were similar for age ($p = 0.628$) and sex ($p = 0.679$), and genotype ($p = 0.309$). The BMI ($p = 0.235$) and the percentage of fat mass ($p = 0.417$) were also similar between groups. There was no difference in triglycerides ($p = 0.751$), total cholesterol ($p = 0.125$), or HDL in men ($p = 0.125$) or women ($p = 0.567$) between patients who remained non-diabetic and patients with early incident CFRD.

Patients with incident CFRD were more likely to be pancreatic insufficient than those who never developed CFRD (97.4% vs. 72.1%; $p \leq 0.0001$) and had lower FEV1% (69.1 ± 24.7 vs. $76.9 \pm$

20.3; $p = 0.046$). Subjects with CFRD had lower LDL (1.6 ± 0.6 vs. 1.9 ± 0.7 ; $p = 0.048$), a lower non-HDL-cholesterol (2.1 ± 0.6 vs. 2.4 ± 0.8 ; $p = 0.042$) and a lower ratio_{cholesterol/HDL} (2.7 ± 0.6 vs. 3.1 ± 0.7 ; $p = 0.010$).

Table 2. Baseline characteristics of patients who never developed CFRD and those who were diagnosed with incident CFRD at baseline.

N=194	Subjects who never developed CFRD N= 155	Subjects with incident CFRD at baseline N= 39	p value
Age (years)	25.7 ± 8.5	26.4 ± 7.2	0.628
Sex, n (% men)	85 (54.8%)	23 (59.0%)	0.679*
Homozygous for ΔF508, n (% yes)	70 (44.8%)	20 (51.3%)	0.309*
Heterozygous for ΔF508, n (% yes)	67 (43.5%)	18 (46.2%)	0.309*
Other genotype, n (% yes)	18 (11.7%)	1 (2.6%)	0.309*
FEV1 %	76.9 ± 20.3	69.1 ± 24.7	0.046*
BMI (kg/m ²)	21.9 ± 2.9	21.3 ± 3.0	0.235
Fat mass (%)	19.1 ± 7.9	17.9 ± 7.2	0.417
Pancreatic insufficiency, n (% yes)	111 (72.1%)	37 (97.4%)	< 0.0001*
TG (mmol/L)	1.2 ± 0.9	1.1 ± 0.8	0.751
HDL in men (mmol/L)	1.1 ± 0.3	1.2 ± 0.3	0.125
HDL in women (mmol/L)	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.3	0.567
LDL (mmol/L)	1.8 ± 0.7	1.6 ± 0.6	0.048
Total cholesterol (mmol/L)	3.5 ± 0.9	3.3 ± 0.8	0.125
Non-HDL cholesterol (mmol/L)	2.4 ± 0.8	2.1 ± 0.6	0.042
Ratio _{cholesterol/HDL}	3.1 ± 0.7	2.7 ± 0.6	0.010
HbA1c (%)	5.6 ± 0.4	6.3 ± 0.8	< 0.0001
T0min glucose OGTT (mmol/L)	5.3 ± 0.5	6.2 ± 1.2	< 0.0001
T30min glucose OGTT (mmol/L)	9.1 ± 1.6	11.2 ± 2.5	< 0.0001
T60min glucose OGTT (mmol/L)	10.1 ± 2.2	15.3 ± 3.3	< 0.0001
T90min glucose OGTT (mmol/L)	8.3 ± 2.1	15.8 ± 3.4	< 0.0001
T120min glucose OGTT (mmol/L)	6.5 ± 1.8	14.2 ± 2.5	< 0.0001
AUC _{glucose} OGTT	1002.1 ± 163.7	1578.4 ± 301.3	< 0.0001
T0 insulin OGTT (μU/mL)	10.8 ± 4.9	11.0 ± 6.0	0.894
T30 insulin OGTT (μU/mL)	37.5 ± 22.8	23.5 ± 15.3	0.001
T60 insulin OGTT (μU/mL)	59.4 ± 37.7	38.1 ± 26.2	0.001
T90 insulin OGTT (μU/mL)	62.5 ± 34.4	48.4 ± 34.0	0.027
T120 insulin OGTT (μU/mL)	51.9 ± 32.3	53.2 ± 37.4	0.826
AUC _{insulin} OGTT	5689.4 ± 2907.9	4242.9 ± 2671.8	0.007
AUC _{insulin} / AUC _{glucose}	5.8 ± 3.1	2.8 ± 1.9	< 0.0001
HOMA-IR	2.5 ± 1.2	3.0 ± 1.6	0.122
Insulin sensitivity Stumvoll index	0.080 ± 0.021	0.038 ± 0.024	< 0.0001
Systolic blood pressure (mmHg)	113.0 ± 11.2	114.0 ± 11.8	0.680
Diastolic blood pressure (mmHg)	69.0 ± 9.5	68.6 ± 8.3	0.847

BMI: body mass index; TG: triglycerides; HDL: high-density lipoprotein cholesterol, LDL: low-density lipoprotein cholesterol; HbA1c: glycosylated hemoglobin; OGTT: oral glucose tolerance test; AUC: total OGTT area under the curve (t0 to T120 min); HOMA-IR: Homeostatic model assessment for insulin resistance.

Data are presented as Mean ± SD. Student's t-test was performed to compare the means of groups. *: Chi square test was performed for categorical variables. Statistical significance was set at $p < 0.050$. Values in bold represent significant p-values.

We also performed a multivariable regression to examine factors contributing to CFRD by an alternate method (Table 3). This model was controlled for age, sex, and FEV₁(%). Our model showed that pancreatic insufficiency was an important factor in determining CFRD risk (OR: 16.07; [1.39, 185.75] 95% CI; p = 0.026). We found that HDL (p = 0.616), triglyceride level (OR: 0.79; [0.42, 1.52] 95% CI; p = 0.485), the proportion of fat mass (p = 0.890), systolic (p = 0.575) and diastolic blood pressure (p = 0.899) were not risk factors for CFRD. No variables associated with the lipid profile increased the risk of CFRD.

Table 3. Multivariate logistic regression analysis of factors associated with CFRD incidence.

N = 256	OR	95% CI	Sig.
Pancreatic insufficiency (yes)	16.065	[1.39, 185.75]	0.026
Pancreatic insufficiency (no)	1		
TG (mmol/L)	0.794	[0.42, 1.52]	0.485
HDL (mmol/L)	1.413	[0.37, 5.44]	0.616
Fat mass (%)	1.006	[0.92, 1.10]	0.890
Systolic blood pressure (mmHg)	1.017	[0.96, 1.08]	0.575
Diastolic blood pressure (mmHg)	1.005	[0.93, 1.09]	0.899

TG: triglycerides; HDL: high-density lipoprotein cholesterol.

Multivariate logistic regression was used. Models were adjusted by age, sex, and FEV₁%. Statistical significance was set at p < 0.050. Values in bold represent significant p-values.

3.4. Lipid abnormalities and risk of developing CFRD over time

We assessed the impact of baseline dyslipidemia on the risk of developing diabetes in CF subjects (Figure 2). After removing the 39 subjects who had a positive result for incident CFRD at baseline, we performed Kaplan-Meier analysis on the remaining 194 subjects according to lipid profile groups. There was no difference in the CFRD-free survival between subjects with hypertriglyceridemia, low HDL, mixed dyslipidemia or normal lipid profile (p = 0.683). The proportion of subjects who developed CFRD over time was not significantly different between these 4 groups; these proportions were as follows: normal, 26 patients (28.5%); low-HDL group, 10 patients (32.3%); hypertriglyceridemia group, 3 patients (23.1%); and 0 patients in the mixed dyslipidemia group.

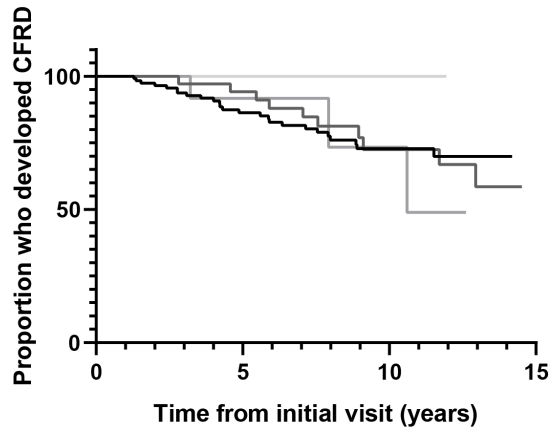


Fig 2. Kaplan-Meier curves illustrating CFRD-free survival in 194 patients from the Montreal Cystic Fibrosis Cohort (Log-rank Mantel-Cox; (p =0.683) of effect of dyslipidemia on development of CFRD. Dark line — = Normal lipid profile groups ; Dark grey — = low HDL ; middle grey — = high TG group ; light grey — = mixed dyslipidemia group.

3.5. Change in lipid profile over time

Finally, we compared the change in lipid profile over time (Table 4) between patients who never developed CFRD (N = 155, mean follow-up 7.8 ± 4.3 years) versus those who developed CFRD over time after their initial visit (N = 39, mean follow-up 5.8 ± 3.5 years). In patients who never developed CFRD, the lipid profile was unchanged over time for TG (p = 0.712), HDL in men (p = 0.459), LDL (p = 0.304), total cholesterol (p = 0.624) and non-HDL cholesterol (p = 0.542) and the ratio of total cholesterol/HDL (p = 0.485). Only the HDL for women increased over time (from 1.2 ± 0.2 to 1.5 ± 0.3 ; p <0.0001) in this group. There was no difference at baseline and at follow-up between patients who developed CFRD and those who never developed CFRD after initial visit.

Table 4: Characterization of changes in lipid profile over time in patients who did not develop diabetes and patients who developed CFRD after initial screening visit.

	Subjects who never developed CFRD N = 155			Subjects who developed CFRD after initial visit N = 39			Baseline difference between groups	Most recent visit difference between groups
	Baseline	Most recent visit	P value	Baseline	Most recent visit	P value	P value	P value
Age (years)	25.7 ± 8.5	33.4 ± 9.9	<0.0001	25.1 ± 6.0	30.9 ± 6.7	<0.0001	0.519	0.063
Homozygous for ΔF508, n (% yes)	70 (44.8%)	-	-	23 (59.0%)	-	-	-	-
Heterozygous for ΔF508, n (% yes)	67 (43.5%)	-	-	11 (28.2%)	-	-	-	-
Other genotype, n (% yes)	18 (11.7%)	-	-	5 (12.8%)	-	-	-	-
TG (mmol/L)	1.2 ± 0.9	1.2 ± 1.6	0.937	1.1 ± 0.5	1.2 ± 0.6	0.712	0.749	0.922
HDL in men (mmol/L)	1.1 ± 0.3	1.2 ± 0.3	0.224	1.2 ± 0.3	1.2 ± 0.3	0.459	0.499	0.591
HDL in women (mmol/L)	1.3 ± 0.3	1.4 ± 0.4	0.101	1.2 ± 0.2	1.5 ± 0.3	<0.0001	0.333	0.219
LDL (mmol/L)	1.8 ± 0.8	1.8 ± 0.8	0.997	1.7 ± 0.6	1.6 ± 0.5	0.304	0.547	0.148
Total cholesterol (mmol/L)	3.6 ± 1.0	3.6 ± 1.0	0.951	3.4 ± 0.8	3.5 ± 0.6	0.624	0.573	0.795
Non-HDL cholesterol (mmol/L)	2.4 ± 0.8	2.3 ± 1.0	0.456	2.3 ± 0.6	2.2 ± 0.6	0.410	0.542	0.438
Ratio cholesterol/HDL	3.0 ± 0.8	2.6 ± 0.8	<0.0001	3.0 ± 0.4	2.5 ± 0.8	0.054	0.485	0.613

TG: triglycerides ; HDL: high-density lipoprotein cholesterol ; LDL: low-density lipoprotein cholesterol.

Data are presented as Mean ± SD. Paired and unpaired Student's t-test was used to compare groups' means and interaction at baseline and follow up. *: Chi square test was performed for categorical variables. Values in bold represent significant p-values.

4. Discussion

In adult patients with CF, multiple factors such as increased lifespan, standard-of-care high fat diet, and excessive weight gain have the potential to promote dyslipidemic abnormalities (low HDL-cholesterol and high triglycerides) generally associated with insulin resistance and type 2 diabetes risk [235, 247]. Dyslipidemia is difficult to define in CF, due to characteristically low total, LDL, and HDL levels. As such, we defined a low HDL according to the lowest quartile of HDL for each gender. We used the ESC definition of hypertriglyceridemia (>1.7 mmol/L) [234]. By this definition, we identified that 23% of the population had an isolated low HDL, that 9% had isolated hypertriglyceridemia, and that 4% had a mixed hypertriglyceridemia.

Contrary to our hypothesis, we found no cross-sectional or prospective association between dyslipidemia and hyperglycemia in adult patients with CF. We found no differences in lipid profile between individuals with *de novo* CFRD and those without (Table 2). Lipid profiles remained stable over 5 to 7 years of follow up, both in patients who remained non-diabetic and those who became diabetic after initial screening (Table 4). Most importantly, dyslipidemia was not associated with the future risk of glycemic abnormalities (Table 1). In addition, we observed

no association between our measures of dyslipidemia and estimated insulin resistance. We conclude that dyslipidemia is not a risk factor for development of glucose intolerance and CFRD over the first decade of screening. Furthermore, it does not appear to cause a metabolic syndrome or increase insulin resistance over the time period of this prospective trial that was performed in a young, healthy population with CF.

Dyslipidemia was defined as hypertriglyceridemia and/or low HDL for several reasons. Primarily, we focused on lipid abnormalities that are specifically associated with insulin resistance [235]. In patients with metabolic syndrome, the presence of hypertriglyceridemia and low HDL-cholesterol increase the risk of developing type 2 diabetes [236]. It is, however, difficult to define low-HDL, as patients with CF often have low total, HDL, and LDL cholesterol [157, 238-243, 248, 249]. Previous studies overestimate dyslipidemia based on the use of HDL criteria used for non-CF adults (HDL < 1.0 mmol/L in men, HDL < 1.3 mmol/L in women) [242]. Interpretation of these studies is complicated by the inclusion of pediatric patients and CFRD patients on insulin. CFRD treatment with insulin could modify the relationship between dyslipidemia and glucose intolerance. Determination of CF-specific criteria for dyslipidemia is limited by the lack of data on long-term development of atherosclerosis, cardiovascular events, and/or insulin resistance. Our method of determination of low HDL based upon the lowest quartiles by gender attempted to identify the highest risk subjects in a population that tends to have low HDL at baseline.

In this study, subjects with the lowest quartile of HDL have a similar clinical, biochemical, and diabetes risk to those with higher HDL and normal triglycerides. Those who were classified as having a normal lipid profile do tend to have low HDL compared to the general population, consistent with prior studies also demonstrating low total cholesterol and LDL in subjects with CF [157, 238-243, 248, 249]. Strikingly, however, subjects with hypertriglyceridemia appear to be a distinctive group. Hypertriglyceridemia tended to be mild in affected subjects. This group appears to be healthier, to have higher fat mass, and to have better exocrine pancreatic function. Insulin resistance was not significantly increased, but insulin secretory efficiency was greater, in keeping with our previous work [250]. They may be better able to digest and absorb triglycerides

and may have a greater beta cell mass due to less pancreatic inflammation. Elevated serum fatty acids are known to increase glucose-stimulated insulin secretion in humans and animal models, as well as to induce beta cell hypertrophy in the latter [251]. Although hypertriglyceridemia did not predispose to CFRD in our cohort, longer term studies are needed to determine whether it is associated with increased cardiometabolic risk in CF.

Few studies have analyzed lipid abnormalities in patients with CFRD and pre-existing data is confounded by the inclusion of patients on insulin. Rhodes *et al* [157] showed similar profiles between pancreatic-insufficient patients with CF and with CFRD; however in that study ongoing CFRD treatments (insulin, oral diabetes medications) could impact the association between dyslipidemia and glucose intolerance [252]. Figueroa *et al* [239] compared lipid profiles in patients with CF and normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance, or *de novo* diabetes prior to initiation of insulin. Our study only included individuals who were not on treatment for incident CFRD. Consistent with the study by Figueroa *et al* [239], our study showed no association between glycemic abnormalities and dyslipidemia. In addition, our data show that there is no deterioration in lipid profile prior to the onset of CFRD (Table 4). Most importantly, we demonstrate that dyslipidemia has no effect on the incidence of *de novo* CFRD over more than a decade. We cannot exclude that on a longer term and/or in older patients an association could exist.

Low HDL-cholesterol and/or hypertriglyceridemia are independent risk factors for cardiovascular disease and type 2 diabetes [253]. We have previously shown that overweight and obese patients with CF can develop hypercholesterolemia, hyperinsulinemia, and high LDL as in the general population [248]. Obesity rates are increasing in CF, but the majority of subjects are not overweight or obese in both our cohort and recently published literature [237]. It is thus possible that in the future, some adult-CF patients (e.g. obese patients with dyslipidemia) could face an increased cardiometabolic risk. Future studies of might include the measurement of apolipoprotein A1 glycation, apolipoprotein B levels, and quantification of small dense LDL particles to better delineate those at risk.

This study has limitations: these results are based on a homogenous population in a single region of Canada and includes younger and healthier patients than in other cohorts. Conversely, we used a large, well- characterized cohort which displays comparable key parameters, such as weight and pulmonary function, to other North-American published data. Furthermore, our cohort has been followed for an extensive period of time. We have attempted to minimize the potential for extrapolation error in HDL, but acknowledge that there might still be this risk with the definition that we proposed. We also acknowledge the challenges of the use of the OGTT in CF diagnosis, although it remains the diagnostic gold standard. Finally, we are only able to analyze the effects of the lipid profile until the time of a positive screen for CFRD, given the nature of this prospective screening study.

Conclusions

Dyslipidemia is challenging to define in CF due to intrinsically low total, HDL and LDL cholesterol. A subgroup of patients with hypertriglyceridemia tend to have a higher fat mass and are more likely to have exocrine pancreatic sufficiency. Low HDL (defined as the lowest quartile) and/or hypertriglyceridemia are not associated with glucose intolerance or with the development of diabetes in our adult-CF population. Lipid abnormalities at initial screen did not predict diabetes over a 10-year period. Lipid profiles were similar between patients who never developed diabetes and patients with early diabetes prior to initiation of insulin treatment. Finally, lipid profiles did not worsen over time in patients who remained non-diabetic or in patients who later developed CFRD. Overall these data do not support a role of dyslipidemia in the high risk of glucose intolerance in adult patients with CF. Current dietary recommendations do not appear to be causing any concerning or severe dyslipidemia, metabolic syndrome, or CFRD. With longer survival dedicated long-term studies will be required to assess cardiometabolic risk in this population, particularly in patients with hypertriglyceridemia.

Acknowledgments

We acknowledge all the patients time and participation. We are grateful to Centre Hospitalier de l'Université de Montréal CF and diabetes clinic nurses for their involvement into the Montreal Cystic Fibrosis Cohort.

Declarations of interest

None.

Funding

This work was supported by an operating grant from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation (#2883) and the J-A DeSève Diabetes research chair both to RRL.

Author Contributions

Conceptualization: Johann Colomba, Kathryn Potter, Rémi Rabasa-Lhoret.

Data acquisition: Johann Colomba, Anne Bonhoure, Cindy Bergeron, Valérie Boudreau.

Formal analysis: Johann Colomba, Kathryn Potter.

Funding: Rémi Rabasa-Lhoret.

Methodology: Kathryn Potter, Rémi Rabasa- Lhoret.

Resources: François Tremblay, Kathryn Potter, Rémi Rabasa- Lhoret, Peter Senior.

Supervision: Kathryn Potter, Rémi Rabasa- Lhoret.

Writing – original draft: Johann Colomba, Kathryn Potter.

Writing – review & editing: Johann Colomba, Kathryn Potter, sAnne Bonhoure, Cindy Bergeron, Valérie Boudreau, Peter Senior.

REFERENCES

1. Canada CF. The Canadian cystic fibrosis registry. 2017 Annual data report. 2018.
2. 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. *J Clin Epidemiol.* 1988;41(6):583-91. Epub 1988/01/01. doi: 10.1016/0895-4356(88)90063-7. PubMed PMID: 3260274.
3. 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. doi: 10.2337/dc10-1279. PubMed PMID: 21115770; PubMed Central PMCID: PMC2992212.
4. Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, et al. Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab.* 2005;31(3 Pt 1):221-32. Epub 2005/09/06. PubMed PMID: 16142013.
5. Colomba J, Boudreau V, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F, et al. The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity. *J Cyst Fibros.* 2019;18(4):551-6. Epub 2019/02/04. doi: 10.1016/j.jcf.2019.01.009. PubMed PMID: 30711385.
6. 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. Epub 2010/12/01. doi: 10.2337/dc10-1279. PubMed PMID: 21115770; PubMed Central PMCID: PMCPMC2992212.
7. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal.* 2019. doi: 10.1093/eurheartj/ehz455.
8. Hermans MP, Valensi P. Elevated triglycerides and low high-density lipoprotein cholesterol level as marker of very high risk in type 2 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2018;25(2):118-29. Epub 2018/03/02. doi: 10.1097/med.0000000000000398. PubMed PMID: 29493554.
9. Cardiometabolic Risk Working Group: Executive C, Leiter LA, Fitchett DH, Gilbert RE, Gupta M, Mancini GB, et al. Cardiometabolic risk in Canada: a detailed analysis and position

- paper by the cardiometabolic risk working group. *Can J Cardiol.* 2011;27(2):e1-e33. doi: 10.1016/j.cjca.2010.12.054. PubMed PMID: 21459257.
10. Harindhanavudhi T, Wang Q, Dunitz J, Moran A, Moheet A. Prevalence and factors associated with overweight and obesity in adults with cystic fibrosis: A single-center analysis. *J Cyst Fibros.* 2019. Epub 2019/11/16. doi: 10.1016/j.jcf.2019.10.004. PubMed PMID: 31727452.
 11. Slesinski MJ, Gloninger MF, Costantino JP, Orenstein DM. Lipid levels in adults with cystic fibrosis. *J Am Diet Assoc.* 1994;94(4):402-8. Epub 1994/04/01. doi: 10.1016/0002-8223(94)90095-7. PubMed PMID: 8144807.
 12. Figueroa V, Milla C, Parks EJ, Schwarzenberg SJ, Moran A. Abnormal lipid concentrations in cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(6):1005-11. Epub 2002/05/31. doi: 10.1093/ajcn/75.6.1005. PubMed PMID: 12036806.
 13. Woestenenk JW, Schulkes DA, Schipper HS, van der Ent CK, Houwen RHJ. Dietary intake and lipid profile in children and adolescents with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2017;16(3):410-7. Epub 2017/03/12. doi: 10.1016/j.jcf.2017.02.010. PubMed PMID: 28283399.
 14. Georgiopoulou VV, Denker A, Bishop KL, Brown JM, Hirsh B, Wolfenden L, et al. Metabolic abnormalities in adults with cystic fibrosis. *Respirology.* 2010;15(5):823-9. Epub 2010/05/26. doi: 10.1111/j.1440-1843.2010.01771.x. PubMed PMID: 20497385.
 15. Nowak JK, Szczepanik M, Wojsyk-Banaszak I, Madry E, Wykretowicz A, Krzyzanowska-Jankowska P, et al. Cystic fibrosis dyslipidaemia: A cross-sectional study. *J Cyst Fibros.* 2019;18(4):566-71. Epub 2019/04/14. doi: 10.1016/j.jcf.2019.04.001. PubMed PMID: 30979683.
 16. Levy E, Gurbindo C, Lacaille F, Paradis K, Thibault L, Seidman E. Circulating tumor necrosis factor-alpha levels and lipid abnormalities in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Res.* 1993;34(2):162-6. Epub 1993/08/01. doi: 10.1203/00006450-199308000-00011. PubMed PMID: 8233719.
 17. Rhodes B, Nash EF, Tullis E, Pencharz PB, Brotherwood M, Dupuis A, et al. Prevalence of dyslipidemia in adults with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2010;9(1):24-8. Epub 2009/10/31. doi: 10.1016/j.jcf.2009.09.002. PubMed PMID: 19875344.
 18. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary: A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am*

Coll Cardiol. 2019;73(24):3168-209. Epub 2018/11/14. doi: 10.1016/j.jacc.2018.11.002. PubMed PMID: 30423391.

19. Coriati A, Belson L, Ziai S, Haberer E, Gauthier MS, Maillhot G, et al. Impact of sex on insulin secretion in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014;99(5):1767-73. Epub 2014/01/23. doi: 10.1210/jc.2013-2756. PubMed PMID: 24446654.

20. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972;18(6):499-502. Epub 1972/06/01. PubMed PMID: 4337382.

21. Boudreau V, Coriati A, Hammana I, Ziai S, Desjardins K, Berthiaume Y, et al. Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity? *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2016;15(6):839-45. doi: 10.1016/j.jcf.2016.04.004. PubMed PMID: 27139162.

22. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2008;294(1):E15-26. doi: 10.1152/ajpendo.00645.2007. PubMed PMID: 17957034.

23. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation.* 2009;120(16):1640-5. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644. PubMed PMID: 19805654.

24. Krauss RM, Siri PW. Dyslipidemia in type 2 diabetes. *Med Clin North Am.* 2004;88(4):897-909, x. doi: 10.1016/j.mcna.2004.04.004. PubMed PMID: 15308384.

25. Coderre L, Fadainia C, Belson L, Belisle V, Ziai S, Maillhot G, et al. LDL-cholesterol and insulin are independently associated with body mass index in adult cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros.* 2012;11(5):393-7. Epub 2012/04/17. doi: 10.1016/j.jcf.2012.03.006. PubMed PMID: 22503692.

26. Peretti N, Roy CC, Drouin E, Seidman E, Brochu P, Casimir G, et al. Abnormal intracellular lipid processing contributes to fat malabsorption in cystic fibrosis patients. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2006;290(4):G609-15. Epub 2005/10/15. doi: 10.1152/ajpgi.00332.2005. PubMed PMID: 16223944.

27. Ishimo MC, Belson L, Ziai S, Levy E, Berthiaume Y, Coderre L, et al. Hypertriglyceridemia is associated with insulin levels in adult cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros*. 2013;12(3):271-6. Epub 2012/09/29. doi: 10.1016/j.jcf.2012.08.012. PubMed PMID: 23017500.
28. Simental-Mendia LE, Rodriguez-Moran M, Simental-Saucedo L, Guerrero-Romero F. Insulin secretion is increased in non-diabetic subjects with fasting hypertriglyceridaemia. *Diabetes Metab Res Rev*. 2013;29(3):214-9. Epub 2012/12/12. doi: 10.1002/dmrr.2379. PubMed PMID: 23225554.
29. Agardh CD, Nilsson-Ehle P, Schersten B. Improvement of the plasma lipoprotein pattern after institution of insulin treatment in diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1982;5(3):322-5. doi: 10.2337/diacare.5.3.322. PubMed PMID: 6756840.
30. Szalat A, Durst R, Leitersdorf E. Managing dyslipidaemia in type 2 diabetes mellitus. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2016;30(3):431-44. Epub 2016/07/20. doi: 10.1016/j.beem.2016.05.004. PubMed PMID: 27432076.

CHAPITRE 5- DISCUSSION

Le DAFK est une complication émergente de la FK observée suite à l'augmentation dans les dernières décennies de l'espérance de vie de ces patients. Le DAFK est une forme de diabète distincte. Bien que l'on connaisse certains facteurs impliqués dans sa physiopathologie (ex : rôle dominant de la baisse marquée de la sécrétion d'insuline), la physiopathologie reste en grande partie incomprise. Non seulement il se développe dans un contexte de maladie multi-systémique, mais en plus, la présence de DAFK rend le risque de mortalité de cause pulmonaire 3 fois plus élevé.

La cohorte de FK de Montréal a permis de suivre sur plus d'une décennie de façon observationnelle et prospective des patients de façon longitudinale afin de mieux comprendre les causes et les conséquences du DAFK. À partir de cette étude de cohorte, le projet de cette thèse a permis d'identifier de nouveaux facteurs de risque des anomalies glycémiques et du développement du DAFK dans une population contemporaine. Ce travail permet de refléter le profil des patients FK recevant des traitements actuels très différents de ceux disponibles dans le passé, et qui pourraient avoir mené la population vers de nouvelles conditions cliniques spécifiques à l'évolution de la maladie.

Les facteurs impliqués dans le développement du DAFK étudiés dans cette thèse sont i) la sécrétion et la sensibilité à l'insuline dans une population de patients plus âgés ; ii) les marqueurs de la fonction hépatique, et iii) le profil lipidique.

Une des composantes centrales du DAFK est la diminution progressive de la sécrétion d'insuline. Or, la majorité de ces données ont été rapportées dans des populations d'enfants très malades il y a plus d'une décennie à un moment où les traitements disponibles étaient très différents. Nous avons démontré, dans une population de patients plus âgés, qu'une baisse de la sensibilité à l'insuline participait aux anomalies de la tolérance au glucose, sans diminution contributive de la sécrétion d'insuline.

Les complications telles que la maladie du foie associée à la FK pourraient contribuer aux développements des anomalies glycémiques en FK. Dans la population générale, les dommages hépatiques, reflétés par un niveau élevé d'ALT, sont associés au développement du diabète. Nous

avons montré qu'en FK un niveau d'ALT élevé était associé à des anomalies glycémiques et à l'augmentation de la prévalence du DAFK, surtout chez les hommes.

Enfin, le risque cardiométabolique que représente la dyslipidémie n'a à ce jour jamais été évalué en FK. Dans la population générale il est démontré que des taux élevés de TG, accompagnés ou non d'un faible niveau de HDL-C, étaient associés au risque de développement du diabète. Nous avons démontré dans notre population d'adultes atteints de FK que la fréquence de dyslipidémie n'était pas associée à la prévalence d'anomalies glycémique ni de DAFK même après 15 ans de suivi.

5.1. La sécrétion d'insuline au cours du vieillissement en FK

Basée sur d'anciennes données publiées sur des enfants (< 18 ans) très malades, la principale cause de survenue du DAFK est décrite comme une baisse de la capacité de sécrétion d'insuline. Cette faible sécrétion d'insuline a été associée à un faible poids et une mort prématurée. Les conditions cataboliques de cette maladie étant responsables du ralentissement de la croissance staturo-pondérale des patients.

L'amélioration des multiples traitements disponibles et le recours à une diète riche en calories avec la prise d'enzymes pancréatiques ont permis une amélioration du poids et de la fonction pulmonaire des patients, ce qui a augmenté considérablement l'âge médian de la population FK (52,3 ans au Canada en 2017). Cependant, le rapport de la Fondation canadienne de FK fait état de l'augmentation de la prévalence d'anomalies glycémiques parallèlement à l'augmentation de l'espérance de vie avec plus de 1 patient adulte sur 2 atteint de DAFK. Au-delà de la baisse marquée de la sécrétion de l'insuline, les mécanismes de développement du DAFK sont toujours largement méconnus, d'autant plus que les mécanismes de survenue pour la population FK adulte n'ont été que rarement rapportés.

Nous avons voulu caractériser le profil clinique des patients FK adultes âgés (âge > 35 ans lors du dernier suivi ; 35 ans constituant la médiane de l'âge dans notre cohorte) afin de déterminer les mécanismes de l'altération de la tolérance au glucose de cette population vieillissante. Notre premier objectif était de déterminer si la capacité de sécrétion d'insuline s'était dégradée au cours du temps. Grâce à la taille (plus de 300 patients inclus) et à la durée du suivi longitudinal (cohorte

établie fin 2003) nous avons pu étudier le devenir de 46 patients ayant eu des mesures répétées sur plus d'une décennie.

L'autophagie du pancréas ainsi que l'inflammation causée par la maladie ont mis en évidence un contexte de sécrétion d'insuline beaucoup plus faible en FK que dans la population non-FK. Comme plusieurs autres équipes, nous avons rapporté que, comparativement à une population contrôle sans FK, les patients adultes atteints de FK ont une sécrétion d'insuline très altérée en réponse à une HGPO. Par exemple, sur les 114 premiers patients inclus dans la CFKM nous avons rapporté une baisse marquée de la sécrétion de l'insuline chez les adultes FK même en l'absence de DAFK (Figure 4, page 35) [52]. Des épisodes de résistance à l'insuline ont été observés en FK, mais leur rôle dans la survenue des anomalies de la tolérance au glucose reste controversé. Nous avons démontré que la sécrétion d'insuline était réduite comparativement à ce qui est rapporté chez des sujets sans FK, mais maintenue inchangée au cours du temps chez les patients adultes, et ce même après une moyenne d'environ 10 ans de suivi (Article 1). Nous avons également observé que des patients adultes devenaient diabétiques au cours du temps. L'augmentation de la prévalence d'anomalies glycémique au cours du temps, malgré une capacité de sécrétion d'insuline inchangée, est expliquée par un phénomène de résistance à l'insuline, aussi appelé baisse de sensibilité à l'insuline. Nous avons mis en évidence une diminution de la sensibilité à l'insuline (estimée par l'index de Stumvoll) au cours du temps chez nos patients adultes FK.

Nous avons également démontré l'existence de mécanismes compensatoires au travers de l'augmentation de la sécrétion d'insuline observée à 2-h du test d'HGPO (Article 1, Figure 1). Cette majoration de la sécrétion de l'insuline est cependant insuffisante pour normaliser la glycémie. Les changements biologiques au cours du vieillissement sont responsables de la baisse de la sensibilité à l'insuline que nous estimons grâce aux dosages répétés lors du test d'HGPO.

De nos jours, le seul traitement recommandé pour le traitement de l'intolérance au glucose en FK est l'insuline [80]. Cependant, nous observons aujourd'hui l'émergence d'un sous-groupe de population plus âgé, démontrant un IMC moyen normal qui tend à augmenter avec le temps ($22,9 \pm 2,9$ à $24,1 \pm 4,2$ kg/m²). Néanmoins, ce même groupe de patients démontre une baisse de la fonction pulmonaire mesurable ($\sim -1\%/année$), mais modeste comparativement à ce qui était

observé il y a quelques années. De plus, ce sous-groupe de population démontre une capacité de sécrétion d'insuline préservée dans le temps, malgré une diminution de la sensibilité à l'insuline.

Sans exclure un rôle de l'insulinothérapie, ces données suggèrent que cibler l'amélioration de la sensibilité à l'insuline pourrait contribuer à réduire les anomalies glycémiques dans ce sous-groupe de population. Le recours à l'activité physique a démontré des bienfaits sur l'amélioration de la glycémie via l'augmentation de la sensibilité à l'insuline en FK. Également, l'utilisation d'une autre classe de médicaments visant à améliorer la sensibilité à l'insuline des patients intolérants au glucose paraît être une voie intéressante. La metformine par exemple est une classe de médicaments utilisés en première intention chez les personnes atteintes de DT2. Cette médication vise à augmenter la sensibilité à l'insuline des tissus cibles (muscles, tissus adipeux) ainsi qu'à réduire la production de glucose par la néoglucogenèse hépatique. Contrairement à l'insuline injectée par voie sous-cutanée, la metformine est un hypoglycémiant oral peu coûteux et sans risque d'hypoglycémie. Afin de minimiser le risque d'effets secondaires digestifs (principalement diarrhée), sachant que la population atteinte de FK est déjà exposée à des symptômes digestifs significatifs, il est important de débiter à faible dose et de majorer de façon progressive les doses.

L'autre classe médicamenteuse orale qui améliore la sensibilité à l'insuline comprend les glitazones aussi appelées thiazolidinediones qui sont des agonistes du récepteur nucléaire PPAR-gamma principalement la Pioglitazone. Cependant, les doutes sur la sécurité de l'utilisation au long cours de ces traitements, avec en particulier un risque de fractures osseuses et un risque rare d'œdème aigu du poumon, ont largement limité l'emploi de cette classe d'agents oraux [254]. Inversement, ces agents ont un effet positif sur le risque de stéatose hépatique ce qui pourrait avoir un intérêt pour les patients atteints de FK [255].

Également, bien que sans effet direct sur la sensibilité à l'insuline, les agonistes du récepteur du GLP-1 pourraient être une alternative intéressante puisque les nouvelles formes ne nécessitent qu'une injection par semaine, sans risque d'hypoglycémie et avec un profil bénéfice-risque favorable bien établi [256]. Cependant, la perte de poids associée à leur utilisation vue de façon très favorable pour les patients DT2 pourrait poser des problèmes importants pour les patients atteints de FK. Ce type de médication peut aussi occasionner des effets secondaires digestifs comme la nausée, qui sont minimisés par un début de traitement à faible dose avec une majoration lente de la dose. À notre connaissance, une seule étude a rapporté l'effet d'une seule injection d'un agoniste du récepteur au GLP-1 de courte durée d'action (exanatide) sur

l'excursion glycémique postprandiale montrant un effet favorable [108]. Cet agoniste est associé à une perte de poids beaucoup moins importante que les versions plus récentes, mais nécessite une ou deux injections par jour. Une version orale d'un des agonistes du GLP-1 est en développement avancé (sémaglutide), mais occasionnerait une perte de poids significative qui à nouveau va limiter son utilisation chez les patients FK.

Encore plus récemment, la dernière classe médicamenteuse, les inhibiteurs de la SGLT2 (Empaglifozin, Dapaglifozin et Canaglifozin) qui permettent une fuite urinaire de glucose, pourrait aussi avoir un intérêt. Leur utilisation sera cependant limitée principalement par la perte de poids associé par la fuite urinaire de glucose, mais aussi à un moindre degré par le risque accru d'infection génitale.

Actuellement, aucun autre traitement que l'insuline n'est recommandé puisque ce traitement est le seul à avoir montré un impact positif à la fois sur le poids et sur la fonction pulmonaire [184]. Cependant, une perte de poids modeste pourrait être acceptable dans une population d'adultes avec un IMC au-dessus de la moyenne. Une alternative à l'insulinothérapie en première ligne permettrait d'alléger le fardeau thérapeutique que représente ce traitement, qui s'ajoute à l'ensemble des traitements pharmaceutiques quotidiens des patients nécessaires à l'amélioration de leur survie et de leur qualité de vie. Idéalement, cette alternative devrait impliquer moins d'inconvénients pour les patients (moins d'injections, pas de risque d'hypoglycémie) et ne pas avoir d'effets défavorables sur le poids et la fonction pulmonaire.

Notre étude ne démontre pas une relation de causalité faisant de la résistance à l'insuline la cause de l'augmentation de la prévalence du diabète dans le temps. Les résultats observés pourraient être associés à un problème de clairance de l'insuline ou encore un problème de maturation de l'insuline. La mesure du C-peptide ou de la pro-insuline pourrait apporter des renseignements supplémentaires intéressants.

Ces travaux mettent toutefois en évidence un paradoxe face auquel les cliniciens sont confrontés. Le recours à l'insuline comme traitement de première ligne serait bénéfique pour la régulation du métabolisme du glucose ainsi que la prise et le maintien du poids dans une population FK plus jeune. Les patients plus âgés sans problèmes de perte de poids ou de baisse rapide de la fonction pulmonaire ou encore très réticents à l'introduction de l'insulinothérapie pourraient peut-être bénéficier d'autres approches pharmacologiques avant d'introduire l'insuline.

5.2. Les facteurs hépatiques dans le DAFK

Notre étude a démontré qu'un niveau élevé d'ALT, considéré comme le biomarqueur le plus accessible pour évaluer la fonction hépatique [211], était associé aux anomalies glycémiques chez les patients FK adultes (Article 2). Le foie, organe clé dans le métabolisme du glucose, peut être la cible d'infiltration de lipides ou d'inflammation notamment en FK. La présence de stéatose non alcoolique est associée au risque de développement du DT2 [220]. Des cas de stéatose ont également été identifiés chez les patients FK [219]. La stéatose a différents stades de gravité de l'inflammation. Elle peut avoir un stade inflammatoire réversible jusqu'à l'apparition de tissus cicatriciels (fibrose) alors irréversible.

La diète riche en calories, préconisée en FK pourrait avoir des effets délétères sur le foie et pourrait ainsi être une des causes du développement du DAFK. L'accumulation de graisse au niveau des hépatocytes peut entraîner une résistance hépatique à l'action de l'insuline. Les maladies du foie apparaissent donc comme un facteur de risque du développement du diabète en FK. En clinique, il est utile d'établir des seuils pour faciliter la prise de décision thérapeutique. Une étude a démontré qu'un seuil d'ALT de 25 U/L définissait le plus souvent une atteinte hépatique [218].

Nous avons mis en évidence que les patients FK, principalement les hommes, démontrant un niveau d'ALT supérieur à 25 U/L, manifestaient des anomalies glycémiques et une prévalence plus élevée de DAFK que ceux avec des ALT < 25 U/L. Une des hypothèses est que les femmes ayant un niveau d'ALT supérieurs à 25 U/L seraient plus protégées du risque d'anomalies glycémiques, par le fait que les femmes adultes atteintes de FK sécrètent plus d'insuline que les hommes [90]. Également, les femmes possèderaient une protection au niveau de la distribution des graisses avec une accumulation viscérale moins importante que les hommes. Enfin, il semble y avoir une contribution hormonale de l'estrogène que pourrait moduler la sécrétion d'insuline au niveau du pancréas [229]. Il serait intéressant de déterminer si un autre seuil d'ALT plus sensible permettrait d'identifier davantage les femmes à risque d'anomalies glycémiques.

Dans la population non-FK, le niveau d'ALT élevé est associé à un risque accru de développer une résistance à l'insuline et le DT2 [210-212]. En FK, les enzymes hépatiques ALT pourraient

permettre de mieux cibler les patients à risque d'anomalies glycémiques afin de mieux les diriger vers le dépistage, diminuant ainsi la fréquence de dépistage pour les patients avec un risque plus faible.

L'intérêt pour le dépistage des anomalies glycémiques en FK est grandissant, d'autant plus que l'on sait que la présence de DAFK augmente la mortalité par 3 fois [79]. Malgré cela, les données de suivi pour le dépistage des anomalies glycémiques démontrent une perte d'adhérence des patients à leur rendez-vous. Ces données témoignent de la lourdeur des tests de dépistage par HGPO nécessitant l'anticipation, la programmation et le déplacement à jeun à 8 heures à l'hôpital, subir l'installation d'un cathéter pour les multiples prises de sang, la consommation d'une boisson très sucrée de 75 g de glucose et de patienter 2 heures afin de se faire prélever du sang. Ces tests répétés chaque année, en plus du traitement thérapeutique personnel quotidien de chaque patient, sont associés à une faible adhésion aux rendez-vous au CHUM avec un taux d'adhésion de l'ordre de 50 % proche de ce qui est rapporté dans les autres centres universitaires. Le test d'HGPO est le test standard pour le dépistage du diabète dans la population générale et reste le test recommandé en FK pour le dépistage du DAFK [65]. La FK est caractérisée par la fluctuation des patients entre les différentes classes de tolérance au glucose. De ce fait, le dépistage annuel est recommandé. L'identification d'outils cliniques permettant de cibler les patients les plus à risque pour le DAFK et nécessitant un test de dépistage régulier serait pertinent.

Finalement, malgré l'absence d'observation chez les femmes, nous avons démontré que la mesure du niveau d'ALT, effectuée lors du bilan sanguin de routine, est un outil peu coûteux, accessible et intéressant afin de pré-identifier les patients à risque de développer des anomalies glycémiques avec une spécificité de 74%. Une fois identifiés, ces patients pourraient être dirigés vers un test de dépistage pour DAFK par HGPO de 2-h. Cette étape intermédiaire permettrait d'alléger le suivi pour les patients non à risque en reportant leurs visites tous les 2 à 3 ans. Également, cet outil de prédiction permettrait d'alléger les tests au niveau des équipes de soins des cliniques. Les ALT pourraient être utilisées comme outil clinique et pourraient ainsi aider à réduire la perte d'adhérence observée à ce jour dans les cohortes de dépistage pour le DAFK.

Il est important de souligner que d'autres pistes sont explorées pour réduire le nombre ou la fréquence des HGPO par exemple avec une pré-sélection des patients selon un seuil d'HbA1c. Une récente étude menée par le groupe de St. Michael's Hospital, (University of Toronto), que

nous avons également validée dans notre cohorte à Montréal, suggère que le dépistage par HGPO est peu utile si l'HbA1c est inférieure à 5,5 % [163, 257], car peu de risque de DAFK. Nous explorons aussi si la lecture en continu de la glycémie, qui permet des centaines de mesures de glucose par jour dans des conditions ambulatoires au niveau du liquide interstitiel sous-cutané grâce à des dispositifs minimalement invasifs de la taille d'une pièce de 2 \$, pourrait permettre de diagnostiquer le DAFK.

5.3. La dyslipidémie en FK et le risque de développement de DAFK

Dans la population générale, la présence d'anomalies du bilan lipidique telles que les triglycérides élevés ou le HDL-Cholestérol abaissé sont des facteurs de risque significatifs de l'apparition du DT2 [247]. Ces anomalies apparaissent le plus souvent dans un contexte de diète hypercalorique, riche en lipides, chez des sujets en surpoids, sédentaires ou présentant une stéatose hépatique [224]. De plus en plus de patients atteints de la FK partagent ces facteurs de risque puisque le surpoids et l'obésité sont des conditions en émergence dans la FK [248, 258]. Le pourcentage de patients en surpoids et obèses augmente tandis que le pourcentage de patients ayant un poids normal ou en sous-poids diminue [2]. Aux États-Unis, entre 2002 et 2017, l'IMC moyen des adultes atteints de FK est passé de 21,0 à 22,2 kg/m² [3]. Au Canada en 2017, la prévalence d'obésité (IMC > 30 kg/m²) et de surpoids (IMC > 25 kg/m²) en FK était de 5,7 % et 19 % respectivement [3]. Les rares données disponibles indiquent une répartition androïde (abdominale) de cet excès de poids [225]. Les mécanismes impliqués dans les relations entre dyslipidémie et risque de DT2 comportent la résistance à l'insuline, l'inflammation et la stéatose hépatique [235, 236, 247].

Nos travaux nous ont permis d'évaluer la dyslipidémie (hypertriglycéridémie et cholestérol HDL bas) en FK. Nous avons démontré qu'il existait une forte incidence de dyslipidémie avec plus de 55 % de patients atteints au sein de notre cohorte adulte avec une large prépondérance de faible HDL-cholestérol. Une question importante à explorer à l'avenir serait le rôle potentiellement délétère de la diète recommandée aux patients atteints de FK. Sans compromettre les apports caloriques requis, il sera peut-être utile de mettre l'accent sur les aspects qualitatifs des apports lipidiques et glucidiques.

La présence de dyslipidémie mise en évidence dans notre population FK adulte n'avait cependant pas d'incidence sur le risque de développement du DAFK. Ces données suggèrent que l'apparition du DAFK interviendrait par des voies métaboliques autres que celles qui relient les anomalies lipidiques au risque de DT2, ou encore que l'impact de ces anomalies n'est pas significatif dans le contexte de la FK. Par exemple l'inflammation peut avoir de multiples autres causes.

La majoration du surpoids avec une répartition androïde, la fréquence des dyslipidémies et les anomalies de tolérance au glucose soulignent l'importance, dans les prochaines années, de surveiller la fréquence du syndrome métabolique chez les patients atteints de FK. Le syndrome métabolique regroupe des facteurs de risque qui, dans la population générale, majorent le risque de DT2 et de maladies cardiovasculaires. Il existe plusieurs définitions du syndrome métabolique, mais le Canada utilise les critères de la Fédération internationale du diabète [246] qui définit le syndrome métabolique par une i) obésité abdominale (concentration de graisse autour de la taille) définie par une circonférence de taille supérieure à 88 cm pour les femmes et 102 cm pour les hommes ; ii) un taux élevé de triglycérides sanguin ($\geq 1,7$ mmol/l ou 150 mg/dl) ; iii) une glycémie élevée ($\geq 5,6$ mmol/l ou 101 mg/dl) ; iv) un faible taux de HDL-C ($< 1,03$ mmol/l ou 40 mg/dl pour les hommes et $< 1,3$ mmol/l ou 50 mg/dl pour les femmes) ; v) de l'hypertension ($\geq 130/85$ mmHg). La présence d'au moins 3 de ces facteurs de risque définit le syndrome métabolique. Il sera important d'évaluer si les patients qui vivent avec la FK et qui présentent un syndrome métabolique sont plus à risque de développer un DAFK et aussi si ces patients présentent un risque cardiovasculaire accru. Puisque les causes sont multifactorielles et sont souvent liées au mode de vie, certains de ces facteurs sont modifiables par l'adoption de saines habitudes de vie parmi lesquelles l'activité physique régulière et la qualité alimentaire pourraient avoir une place importante.

Parmi les mécanismes qui pourraient expliquer le risque de diabète, le rôle du microbiote intestinal émerge [259]. Chez les patients atteints de FK, la sédentarité, une alimentation hyperlipidique, une utilisation répétée d'antibiotiques, l'impact de la maladie sur les sécrétions digestives pancréatiques et biliaires, pourraient avoir un effet néfaste sur le microbiote intestinal qui en retour pourrait favoriser l'apparition du DAFK. À notre connaissance, il n'existe pas encore de données spécifiquement dédiées au risque de DAFK en relation avec le microbiote.

5.4. Forces et limites des études

La CFKM est l'une des plus grandes cohortes adultes incluant en large majorité des patients Canadiens francophones et non greffés (foie et poumons). Ce sont donc des patients sans atteintes majeures avec une fonction pulmonaire moyenne souvent supérieure à 70 % du VEMS ce qui limite l'extension aux patients avec une atteinte pulmonaire sévère. Une des études de notre groupe (GLYCONE) a permis la comparaison des patients de la cohorte de FK de Montréal avec une autre grande cohorte française (N = 147) de la région Rhône-Alpes. Les résultats démontrent que les patients Canadiens sont plus souvent diabétiques que les patients Français, cependant contrairement à ce qui est souvent rapporté dans la littérature les patients Canadiens ont aussi un meilleur IMC, une meilleure fonction pulmonaire et une espérance de vie plus importante que leurs homologues français [260]. Il faut donc interpréter nos données avec prudence et s'assurer qu'elles soient répliquées dans d'autres populations avant de pouvoir les généraliser. Néanmoins, notre cohorte est bien caractérisée et comparable, pour des paramètres clés tels que le poids et la fonction pulmonaire, à d'autres cohortes nord-américaines [232].

Nous faisons mention que nos études sont construites à partir d'une cohorte d'adultes. Il serait important d'étendre nos données à un âge pédiatrique pour cibler une période pendant laquelle certaines différences s'installent, par exemple pour les associations entre le poids et les anomalies glycémiques. Il serait aussi important d'obtenir des données contemporaines puisque de nombreuses études qui ont façonné notre interprétation des relations entre dysglycémie et statut clinique ont été produites à une époque où les traitements disponibles étaient très différents. Il sera intéressant de voir si l'arrivée des triples thérapies modificatrices se traduira par un effet sur le risque de DAFK.

Nos études reposent sur le test recommandé pour diagnostiquer le DAFK : l'HGPO. Dans la mesure où l'HGPO est de plus en plus critiquée et qu'il existe une recherche intensive pour limiter le nombre d'HGPO, voire les remplacer par des méthodes alternatives comme la lecture en continu de la glycémie, il sera important d'explorer à l'avenir si les anomalies que nous avons mises en évidence sont aussi retrouvées lorsque la tolérance au glucose est explorée avec ces nouvelles méthodes émergentes.

Enfin, nos données collectées dans la CFKM sont celles des patients qui se sont présentés lors de leur rendez-vous pour HGPO. La question demeure quant au statut clinique des patients moins adhérents au programme de dépistage. Les patients adhérents pourraient alors représenter les patients les plus assidus dans la prise de leur traitement, et donc les plus en santé. Le pourcentage de patients présents dans notre cohorte au test de dépistage (49 %) nécessite d'interpréter ces résultats avec prudence.

La nature de nos études ne permet pas de démontrer un mécanisme précis, mais seulement de considérer des associations mises en évidence par l'analyse de nos variables principales. Des études de recherche fondamentale et/ou d'interventions sont nécessaires pour établir les mécanismes et les pistes d'intervention. Les résultats que nous avons obtenus peuvent servir de rationnel afin de mettre en place des essais contrôlés randomisés (ECR), sur le style de vie comme l'alimentation et l'activité physique, mais pourraient également permettre de mettre en place des études thérapeutiques, au profit de la metformine ou de médicaments hypolipémiants, chez certains patients FK.

Également, nous sommes conscients des limitations de certaines variables comme le Stumvoll index, qui reste une estimation de la sensibilité à l'insuline, contrairement à d'autres techniques de mesure plus directes telles les clamps. Cette technique constitue une limite dans l'interprétation de la sensibilité à l'insuline hépatique versus périphérique, néanmoins elle reste largement utilisée en FK. Nous n'avons pas non plus accès à tous les marqueurs du métabolisme glucidique (C-peptide, pro-insuline), hépatique (FGF 21, mesures morphologiques en échographie, scanner ou IRM), des paramètres inflammatoires (panel de cytokines), la composition corporelle détaillée (mesure du gras viscéral) qui permettraient de mieux expliquer nos observations.

L'avantage du suivi prospectif de la CFKM est la récolte de nombreuses données cliniques et biologiques sur un grand nombre de sujets avec des mesures répétées dans le temps. Bien que certains facteurs de risque soient bien définis dans le DT2, ils n'ont pas, ou peu, été étudiés en FK. Nos travaux ont répondu à l'importance d'étudier ces marqueurs pour comprendre leur implication dans la FK qui n'est pas nécessairement la même que dans les autres formes de diabète. Une de nos études est d'ailleurs la première, à notre connaissance, ayant évalué l'association entre la dyslipidémie et les anomalies glycémiques en FK chez des patients adultes.

Une limite est que nous n'avons pu observer l'évolution des paramètres cliniques des patients DAFK confirmés. En effet, les patients DAFK sont exclus de notre cohorte au moment du diagnostic afin d'être référés pour un suivi. Nous avons cependant utilisé les données des patients identifiés *de novo* DAFK lors de leur test diagnostique (alors encore sans traitement). Cela nous permet de limiter les facteurs confondants par exemple reliés aux traitements du diabète comme l'insulinothérapie, mais limite également notre capacité à étudier le devenir de patients avec un DAFK confirmé. Nos résultats s'appliquent donc à une population principalement à risque d'anomalies glycémiques avant traitements hypoglycémiants. Il serait intéressant d'avoir le suivi de l'évolution de la sécrétion d'insuline chez les patients atteints de DAFK confirmés. Ainsi, il serait possible de décrire l'effet de l'insulinothérapie sur les paramètres cliniques des patients adultes avec un poids bien contrôlé. Ces données permettraient davantage de commenter sur la nécessité de l'insulinothérapie sur les paramètres du poids et de la fonction pulmonaire décrits comme très bénéfiques chez des sujets jeunes au cours des 40 dernières années.

5.5. Perspectives futures

Comme mentionné précédemment, l'existence d'une résistance à l'insuline chez les patients FK adultes permet d'envisager la mise en place d'ECR sur le style de vie le but étant de proposer des stratégies visant à éviter ou ralentir le développement des anomalies de la tolérance au glucose dans la population atteinte de FK. Les ECR offrent un haut niveau de preuve en recherche et permettraient de confirmer certaines observations de nos études transversales.

Plusieurs études ont déjà montré les bienfaits de l'alimentation et de la pratique d'activité physique sur la glycémie à court et à long terme par la stimulation de la sensibilité à l'insuline [59, 128, 261].

Un essai clinique sur l'adoption d'une diète moins riche en lipides ou privilégiant des lipides de bonne qualité (exemple diète méditerranéenne) dans un sous-groupe de population FK adulte ayant un poids bien contrôlé serait intéressant, afin d'évaluer si la recommandation d'une diète riche en lipides chez tous les patients est toujours pertinente. En ce qui concerne les glucides, le fractionnement des apports sur la journée et le recours aux aliments à faible indice glycémique seront aussi à explorer. Enfin, des nutriments tels que certains acides aminés peuvent stimuler la sécrétion d'insuline et des incrétines. Ils pourraient donc eux aussi avoir un intérêt.

La stimulation de la sensibilité à l'insuline serait une perspective intéressante par le biais d'interventions sur l'alimentation et les effets bénéfiques des fibres alimentaires sur la glycémie. Une diète riche en fibres permet d'obtenir une richesse et une diversité microbiennes plus importantes qu'une contenant plus de produits transformés [262, 263]. Une étude de notre groupe nommée « Fibres solubles en FK » (SOFI) a tenté de répondre à l'hypothèse suivante : une supplémentation en fibres solubles lors des repas permettrait de moduler les excursions glycémiques postprandiales chez les patients adultes atteints de FK. Les résultats étaient non concluants (données non publiées). L'altération du microbiote intestinal et la présence de mucus chez les patients atteints de FK pourraient expliquer l'absence d'effet. Une dose plus importante ou d'autres types de fibres pourrait être envisagée.

Une autre piste de recherche serait d'évaluer si les patients FK peuvent également obtenir des bénéfices sur leurs profils lipidiques et cardiométaboliques à travers la pratique d'activité physique et l'alimentation. L'activité physique a déjà démontré ses bénéfices sur l'amélioration du profil glycémique dans la population FK. Au niveau alimentaire, la consommation de phytostérols aurait des effets hypocholestérolémiants par le ralentissement de l'absorption de cholestérol au niveau de l'intestin et pourrait avoir des avantages dans une diète riche en lipides telle que celle recommandée aux patients FK. À noter que les phytostérols réduisent l'absorption de certaines vitamines liposolubles comme la vitamine A et E [264], ce qui devra être contrôlé étant donné que l'absorption des vitamines liposolubles est déjà compromise en FK.

Enfin, une intervention sur les effets de la metformine ou d'autres hypoglycémisants oraux ou injectables serait intéressante sur le contrôle glycémique chez les patients FK adultes à risque de DAFK ou avec un diagnostic récent de DAFK. Ce type d'essai clinique permettrait de déterminer si une alternative à l'insulinothérapie serait une voie prometteuse en FK.

Enfin, nous avons déterminé que les anomalies de la tolérance au glucose étaient causées par différents mécanismes. En plus d'un déficit et d'un retard de sécrétion d'insuline, la résistance à l'insuline contribue à l'hyperglycémie postprandiale. Nous avons aussi observé (données non publiées) que l'excursion glycémique après le déjeuner est souvent plus marquée qu'après les autres repas de la journée, et ce même si le dîner et le souper contiennent plus de glucides. Ce phénomène, qui combine entre autres une résistance à l'insuline plus marquée le matin et des

phénomènes hormonaux (cortisol), est décrit chez les sujets atteints de DT1 et de DT2, mais semble particulièrement marqué pour les patients atteints de FK. Dans ce contexte, il est possible qu'une intervention qui améliore la sensibilité à l'insuline ait un effet significatif sur l'excursion glycémique post déjeuner.

Dans le but de répondre aux anomalies de tolérance au glucose des patients FK adultes, nous avons développé une étude pilote visant à la fois un effet sur la sécrétion d'insuline, mais aussi la sensibilité à l'insuline. Ce projet d'intervention alimentaire et en activité physique a pour objectif de réduire ces hyperglycémies postprandiales des patients FK. Notre hypothèse est que la consommation d'une collation visant à la stimulation des hormones incrétines (GIP, GLP-1), 1-h avant le déjeuner, permettrait d'initier la première phase de sécrétion d'insuline afin de limiter l'hyperglycémie postprandiale. Cette stratégie alimentaire est comparée à un programme d'activité physique qui lui, vise principalement la sensibilité à l'insuline ainsi que l'utilisation des glucides du repas pour la production d'énergie. Afin d'observer l'effet indépendant et combiné des deux stratégies, nous avons conçu un devis en chassé-croisé à 4 bras d'intervention :

- 1) effet d'un placebo sur l'excursion glycémique postprandiale du déjeuner standardisé (condition contrôle) ;
- 2) effet de la collation sur l'excursion glycémique postprandiale du déjeuner standardisé (condition collation) ;
- 3) effet de l'activité physique de marche (5 fois : 3 min toutes les 30 min) sur l'excursion glycémique postprandiale du déjeuner standardisé (condition exercice) ;
- 4) effet de la collation combiné à l'activité physique de marche sur l'excursion glycémique postprandiale du déjeuner standardisé (condition collation + exercice).

Ce projet est en cours et permettra de tester une approche basée sur le mode de vie pour réduire les excursions glycémiques après le repas.

CHAPITRE 6- CONCLUSION

La FK est une maladie incurable multi-systémique qui va mener au développement de complications dont le DAFK est l'une des plus importante, touchant 50 % des adultes. Aujourd'hui, les causes et les mécanismes des anomalies de la glycémie menant au développement du DAFK restent encore controversés.

Ce travail de thèse contribue à la compréhension de l'association entre différents facteurs de risque/biomarqueurs en lien avec les anomalies de la tolérance au glucose chez des patients FK adultes. Ce travail apporte une meilleure compréhension de la physiopathologie du DAFK en particulier chez les sujets plus âgés, permet d'améliorer l'identification des patients à risque et explore des éléments qui pourraient permettre une prise en charge de l'hyperglycémie du DAFK.

Les résultats de nos études ont permis de décrire l'évolution clinique et des facteurs impliqués dans l'hyperglycémie pour un large sous-groupe de population : les patients FK plus âgés. Cela notamment en montrant que les patients FK adultes maintiennent leur capacité de sécrétion d'insuline résiduelle pendant une période d'environ 10 ans. Également, nous avons montré que ces patients deviennent moins sensibles à l'insuline dans le temps ce qui, dans ce sous-groupe, en fait un facteur sur lequel nous pourrions agir. Nous avons également mis en évidence la relation entre le niveau d'enzymes ALT élevé et un risque accru de DAFK en particulier chez les hommes. Cela pourrait permettre de cibler le dépistage par test HGPO chez des sujets plus à risque. Enfin, nous avons montré la forte prévalence de dyslipidémie en FK, principalement le HDL-cholestérol bas. Cependant, ces anomalies ne sont pas associées à une plus grande fréquence de DAFK. Il sera important de voir si à long terme, ces anomalies ont un impact sur la santé des patients atteints de FK. Nous sommes confiants que ces données participeront à l'avancement des connaissances et aux partages de savoirs et fournira ainsi un rationnel pertinent pour la poursuite d'autres études cliniques visant à améliorer la qualité de vie des patients atteints de FK.

Ce travail de doctorat m'aura permis de maîtriser et comprendre certains des nombreux mécanismes associés aux développements du diabète, dans une population spécifique atteinte d'une maladie génétique. Ces travaux menés au sein d'une population à risque de DAFK, bien souvent comparé aux DT1 et DT2, m'ont permis d'approfondir mes connaissances sur les différents processus biologiques impliqués dans les anomalies de la tolérance au glucose. La FK majore le risque de décès prématuré secondaire à l'insuffisance respiratoire, mais les progrès du traitement ont permis une amélioration très importante de l'espérance de vie au cours des dernières décennies. Le DAFK étant une complication secondaire à la FK, ceci constitue un axe de recherche pertinent quand on connaît son impact sur l'augmentation de la surinfection pulmonaire, l'altération du profil clinique et la mortalité des patients atteints.

Les résultats de ces travaux permettent de mieux comprendre, chez les patients adultes qui vivent avec la FK, les facteurs de risque pouvant mener ou non aux anomalies de la glycémie et au DAFK. L'amélioration des connaissances sur ces facteurs guidera de futures études visant à i) explorer de nouvelles approches pharmacologiques, ii) utiliser des outils cliniques de dépistages de façon plus ciblée, iii) réévaluer les recommandations de mode de vie (diète et exercice). Ces données ont été exclusivement obtenues à partir d'une cohorte de patients adultes. Elles fournissent donc un nouveau regard critique sur l'identification de facteurs de risque chez une population adulte comparativement aux nombreux travaux publiés chez les enfants FK. Enfin, je suis convaincu que ce travail de thèse viendra appuyer la recherche et contribuer à l'amélioration des connaissances dans le domaine de la FK.

RÉFÉRENCES

1. Davis PB. Cystic fibrosis since 1938. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173(5):475-82. doi: 10.1164/rccm.200505-840OE. PubMed PMID: 16126935.
2. Canada CF. The Canadian cystic fibrosis registry. 2017 Annual data report. 2018.
3. Foundation CF. Cystic Fibrosis Foundation Patient Registry. Annual Data Report 2017;Bethesda, Maryland.
4. Database CFM. (base de données CFTR) [consulté le 22 octobre 2019]. Available from: <http://www.genet.sickkids.on.ca/StatisticsPage.html>.
5. Lopes-Pacheco M. CFTR Modulators: Shedding Light on Precision Medicine for Cystic Fibrosis. *Front Pharmacol.* 2016;7:275. doi: 10.3389/fphar.2016.00275. PubMed PMID: 27656143; PubMed Central PMCID: PMC5011145.
6. Cantin AM, Bilodeau G, Ouellet C, Liao J, Hanrahan JW. Oxidant stress suppresses CFTR expression. *Am J Physiol Cell Physiol.* 2006;290(1):C262-70. doi: 10.1152/ajpcell.00070.2005. PubMed PMID: 16162662.
7. Hwang TC, Sheppard DN. Gating of the CFTR Cl⁻ channel by ATP-driven nucleotide-binding domain dimerisation. *J Physiol.* 2009;587(Pt 10):2151-61. doi: 10.1113/jphysiol.2009.171595. PubMed PMID: 19332488; PubMed Central PMCID: PMC2697289.
8. Moran A, Hardin D, Rodman D, Allen HF, Beall RJ, Borowitz D, et al. Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus: a consensus conference report. *Diabetes Res Clin Pract.* 1999;45(1):61-73. PubMed PMID: 10499886.
9. Ratjen F. Restoring airway surface liquid in cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 2006;354(3):291-3. doi: 10.1056/NEJMe058293. PubMed PMID: 16421371.
10. Ratjen FA. Cystic fibrosis: pathogenesis and future treatment strategies. *Respir Care.* 2009;54(5):595-605. PubMed PMID: 19393104.
11. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 2005;352(19):1992-2001. doi: 10.1056/NEJMra043184. PubMed PMID: 15888700.
12. Kerem E, Reisman J, Corey M, Canny GJ, Levison H. Prediction of mortality in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 1992;326(18):1187-91. doi: 10.1056/NEJM199204303261804. PubMed PMID: 1285737.

13. Brody AS, Tiddens HA, Castile RG, Coxson HO, de Jong PA, Goldin J, et al. Computed tomography in the evaluation of cystic fibrosis lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;172(10):1246-52. doi: 10.1164/rccm.200503-401PP. PubMed PMID: 16100011.
14. de Jong PA, Ottink MD, Robben SG, Lequin MH, Hop WC, Hendriks JJ, et al. Pulmonary disease assessment in cystic fibrosis: comparison of CT scoring systems and value of bronchial and arterial dimension measurements. *Radiology*. 2004;231(2):434-9. doi: 10.1148/radiol.2312021393. PubMed PMID: 15064392.
15. Goss CH, Burns JL. Exacerbations in cystic fibrosis. 1: Epidemiology and pathogenesis. *Thorax*. 2007;62(4):360-7. doi: 10.1136/thx.2006.060889. PubMed PMID: 17387214; PubMed Central PMCID: PMC2092469.
16. Stephenson AL, Tom M, Berthiaume Y, Singer LG, Aaron SD, Whitmore GA, et al. A contemporary survival analysis of individuals with cystic fibrosis: a cohort study. *Eur Respir J*. 2015;45(3):670-9. doi: 10.1183/09031936.00119714. PubMed PMID: 25395034.
17. de Boer K, Vandemheen KL, Tullis E, Doucette S, Fergusson D, Freitag A, et al. Exacerbation frequency and clinical outcomes in adult patients with cystic fibrosis. *Thorax*. 2011;66(8):680-5. doi: 10.1136/thx.2011.161117. PubMed PMID: 21680566.
18. Pandol SJ. The Exocrine Pancreas. *The Exocrine Pancreas. Colloquium Series on Integrated Systems Physiology: From Molecule to Function to Disease*. San Rafael (CA)2010.
19. Begg DP, Woods SC. Interactions between the central nervous system and pancreatic islet secretions: a historical perspective. *Adv Physiol Educ*. 2013;37(1):53-60. doi: 10.1152/advan.00167.2012. PubMed PMID: 23471249; PubMed Central PMCID: PMC3776474.
20. Walkowiak J, Lisowska A, Blaszczynski M. The changing face of the exocrine pancreas in cystic fibrosis: pancreatic sufficiency, pancreatitis and genotype. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2008;20(3):157-60. doi: 10.1097/MEG.0b013e3282f36d16. PubMed PMID: 18301292.
21. Quinton PM. Too much salt, too little soda: cystic fibrosis. *Sheng Li Xue Bao*. 2007;59(4):397-415. PubMed PMID: 17700961.
22. Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, et al. Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab*. 2005;31(3 Pt 1):221-32. PubMed PMID: 16142013.
23. Davis PB, Schluchter MD, Konstan MW. Relation of sweat chloride concentration to severity of lung disease in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2004;38(3):204-9. doi: 10.1002/ppul.20054. PubMed PMID: 15274098.

24. Barrio R. Management of endocrine disease: Cystic fibrosis-related diabetes: novel pathogenic insights opening new therapeutic avenues. *Eur J Endocrinol.* 2015;172(4):R131-41. doi: 10.1530/EJE-14-0644. PubMed PMID: 25336504.
25. Guo JH, Chen H, Ruan YC, Zhang XL, Zhang XH, Fok KL, et al. Glucose-induced electrical activities and insulin secretion in pancreatic islet beta-cells are modulated by CFTR. *Nat Commun.* 2014;5:4420. doi: 10.1038/ncomms5420. PubMed PMID: 25025956; PubMed Central PMCID: PMC4104438.
26. Ali BR. Is cystic fibrosis-related diabetes an apoptotic consequence of ER stress in pancreatic cells? *Med Hypotheses.* 2009;72(1):55-7. doi: 10.1016/j.mehy.2008.07.058. PubMed PMID: 18851900.
27. Galli F, Battistoni A, Gambari R, Pompella A, Bragonzi A, Pilolli F, et al. Oxidative stress and antioxidant therapy in cystic fibrosis. *Biochim Biophys Acta.* 2012;1822(5):690-713. doi: 10.1016/j.bbadis.2011.12.012. PubMed PMID: 22226887.
28. Hardin DS, Leblanc A, Marshall G, Seilheimer DK. Mechanisms of insulin resistance in cystic fibrosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2001;281(5):E1022-8. PubMed PMID: 11595659.
29. O'Shea D, O'Connell J. Cystic fibrosis related diabetes. *Curr Diab Rep.* 2014;14(8):511. doi: 10.1007/s11892-014-0511-3. PubMed PMID: 24915888.
30. Boudreau V, Coriati A, Hammana I, Ziai S, Desjardins K, Berthiaume Y, et al. Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity? *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2016;15(6):839-45. doi: 10.1016/j.jcf.2016.04.004. PubMed PMID: 27139162.
31. Kelly T, Buxbaum J. Gastrointestinal Manifestations of Cystic Fibrosis. *Digestive diseases and sciences.* 2015;60(7):1903-13. doi: 10.1007/s10620-015-3546-7. PubMed PMID: 25648641.
32. De Lisle RC, Borowitz D. The cystic fibrosis intestine. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013;3(9):a009753. doi: 10.1101/cshperspect.a009753. PubMed PMID: 23788646; PubMed Central PMCID: PMC3753720.
33. Singh VK, Schwarzenberg SJ. Pancreatic insufficiency in Cystic Fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2017;16 Suppl 2:S70-S8. Epub 2017/10/08. doi: 10.1016/j.jcf.2017.06.011. PubMed PMID: 28986019.
34. 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. doi: 10.2337/dc10-1279. PubMed PMID: 21115770; PubMed Central PMCID: PMC2992212.
35. Brown NJ, Read NW, Richardson A, Rumsey RD, Bogentoft C. Characteristics of lipid substances activating the ileal brake in the rat. *Gut*. 1990;31(10):1126-9. doi: 10.1136/gut.31.10.1126. PubMed PMID: 2128071; PubMed Central PMCID: PMCPMC1378736.
36. Gelfond D, Borowitz D. Gastrointestinal complications of cystic fibrosis. *Clin Gastroenterol Hepatol*. 2013;11(4):333-42; quiz e30-1. doi: 10.1016/j.cgh.2012.11.006. PubMed PMID: 23142604.
37. Macfarlane GT, Macfarlane S. Bacteria, colonic fermentation, and gastrointestinal health. *J AOAC Int*. 2012;95(1):50-60. PubMed PMID: 22468341.
38. Siano M, De Gregorio F, Boggia B, Sepe A, Ferri P, Buonpensiero P, et al. Ursodeoxycholic acid treatment in patients with cystic fibrosis at risk for liver disease. *Dig Liver Dis*. 2010;42(6):428-31. doi: 10.1016/j.dld.2009.07.022. PubMed PMID: 20034860.
39. Lindblad A, Glaumann H, Strandvik B. Natural history of liver disease in cystic fibrosis. *Hepatology*. 1999;30(5):1151-8. doi: 10.1002/hep.510300527. PubMed PMID: 10534335.
40. Gore AP, Kwon SH, Stenbit AE. A roadmap to the brittle bones of cystic fibrosis. *J Osteoporos*. 2010;2011:926045. doi: 10.4061/2011/926045. PubMed PMID: 21209785; PubMed Central PMCID: PMCPMC3010683.
41. Jacquot J, Delion M, Gangloff S, Braux J, Velard F. Bone disease in cystic fibrosis: new pathogenic insights opening novel therapies. *Osteoporos Int*. 2016;27(4):1401-12. doi: 10.1007/s00198-015-3343-3. PubMed PMID: 26431978.
42. Paccou J, Zeboulon N, Combescure C, Gossec L, Cortet B. The prevalence of osteoporosis, osteopenia, and fractures among adults with cystic fibrosis: a systematic literature review with meta-analysis. *Calcif Tissue Int*. 2010;86(1):1-7. doi: 10.1007/s00223-009-9316-9. PubMed PMID: 19949942.
43. Durieu I, Lepercq J, Rigot JM, Boggio D. [Cystic fibrosis. Fertility and reproduction]. *Rev Mal Respir*. 2000;17(3 Pt 2):802-6. PubMed PMID: 11076390.
44. Kopito LE, Kosasky HJ, Shwachman H. Water and electrolytes in cervical mucus from patients with cystic fibrosis. *Fertil Steril*. 1973;24(7):512-6. PubMed PMID: 4715225.
45. Ahmad A, Ahmed A, Patrizio P. Cystic fibrosis and fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol*. 2013;25(3):167-72. doi: 10.1097/GCO.0b013e32835f1745. PubMed PMID: 23429570.

46. LeGrys VA, Yankaskas JR, Quittell LM, Marshall BC, Mogayzel PJ, Jr., Cystic Fibrosis F. Diagnostic sweat testing: the Cystic Fibrosis Foundation guidelines. *J Pediatr.* 2007;151(1):85-9. doi: 10.1016/j.jpeds.2007.03.002. PubMed PMID: 17586196.
47. Beauchamp M, Grey V, Lands LC. Sweat collection for testing in Canadian Cystic Fibrosis Centers, is it optimal? *Clin Biochem.* 2005;38(10):934-7. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2005.05.007. PubMed PMID: 15953599.
48. Québec Indspd. Enjeux liés au diagnostic et à la prise en charge initiale des enfants atteints de la fibrose kystique au Québec Forum délibératif sur la fibrose kystique : Synthèse des connaissances. 2012.
49. Kyle UG, Pirlich M, Lochs H, Schuetz T, Pichard C. Increased length of hospital stay in underweight and overweight patients at hospital admission: a controlled population study. *Clin Nutr.* 2005;24(1):133-42. doi: 10.1016/j.clnu.2004.08.012. PubMed PMID: 15681111.
50. Alley DE, Koster A, Mackey D, Cawthon P, Ferrucci L, Simonsick EM, et al. Hospitalization and change in body composition and strength in a population-based cohort of older persons. *J Am Geriatr Soc.* 2010;58(11):2085-91. doi: 10.1111/j.1532-5415.2010.03144.x. PubMed PMID: 21054288; PubMed Central PMCID: PMC3059115.
51. Bell SC, Saunders MJ, Elborn JS, Shale DJ. Resting energy expenditure and oxygen cost of breathing in patients with cystic fibrosis. *Thorax.* 1996;51(2):126-31. doi: 10.1136/thx.51.2.126. PubMed PMID: 8711641; PubMed Central PMCID: PMC3059115.
52. 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. doi: 10.1016/j.jcf.2007.02.005. PubMed PMID: 17409029.
53. Marshall BC, Butler SM, Stoddard M, Moran AM, Liou TG, Morgan WJ. Epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes. *J Pediatr.* 2005;146(5):681-7. doi: 10.1016/j.jpeds.2004.12.039. PubMed PMID: 15870674.
54. Reisman JJ, Rivington-Law B, Corey M, Marcotte J, Wannamaker E, Harcourt D, et al. Role of conventional physiotherapy in cystic fibrosis. *J Pediatr.* 1988;113(4):632-6. doi: 10.1016/s0022-3476(88)80370-6. PubMed PMID: 3171787.
55. Desmond KJ, Schwenk WF, Thomas E, Beaudry PH, Coates AL. Immediate and long-term effects of chest physiotherapy in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr.* 1983;103(4):538-42. doi: 10.1016/s0022-3476(83)80579-4. PubMed PMID: 6620013.

56. Solomon M, Bozic M, Mascarenhas MR. Nutritional Issues in Cystic Fibrosis. *Clin Chest Med.* 2016;37(1):97-107. doi: 10.1016/j.ccm.2015.11.009. PubMed PMID: 26857771.
57. Stallings VA. Gender, death and cystic fibrosis: is energy expenditure a component? *J Pediatr.* 2003;142(1):4-6. doi: 10.1067/mpd.2003.mpd0339. PubMed PMID: 12520245.
58. 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. *J Am Diet Assoc.* 2008;108(5):832-9. doi: 10.1016/j.jada.2008.02.020. PubMed PMID: 18442507.
59. Li L, Somerset S. Dietary intake and nutritional status of micronutrients in adults with cystic fibrosis in relation to current recommendations. *Clin Nutr.* 2016;35(4):775-82. doi: 10.1016/j.clnu.2015.06.004. PubMed PMID: 26159903.
60. Marc Bélanger M-JL, Mireille Dubost. *La nutrition*2015.
61. Schindler T, Michel S, Wilson AW. Nutrition Management of Cystic Fibrosis in the 21st Century. *Nutrition in clinical practice : official publication of the American Society for Parenteral and Enteral Nutrition.* 2015;30(4):488-500. doi: 10.1177/0884533615591604. PubMed PMID: 26113561.
62. Williams CA, Benden C, Stevens D, Radtke T. Exercise training in children and adolescents with cystic fibrosis: theory into practice. *Int J Pediatr.* 2010;2010. doi: 10.1155/2010/670640. PubMed PMID: 20886030; PubMed Central PMCID: PMCPMC2945676.
63. OMS. *Stratégie mondiale pour l'alimentation, l'exercice physique et la santé.* 2004 9244592223.
64. Shelley J, Boddy LM, Knowles ZR, Stewart CE, Dawson EA. Physical activity and associations with clinical outcome measures in adults with cystic fibrosis; a systematic review. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2019;18(5):590-601. doi: 10.1016/j.jcf.2019.03.003. PubMed PMID: 30926321.
65. 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. Epub 2010/12/01. doi: 10.2337/dc10-1768. PubMed PMID: 21115772; PubMed Central PMCID: PMCPMC2992215.

66. Flume PA, Robinson KA, O'Sullivan BP, Finder JD, Vender RL, Willey-Courand DB, et al. Cystic fibrosis pulmonary guidelines: airway clearance therapies. *Respir Care*. 2009;54(4):522-37. PubMed PMID: 19327189.
67. Ellis R, Shields N, Lim K, Dodd KJ. Eccentric exercise in adults with cardiorespiratory disease: a systematic review. *Clin Rehabil*. 2015;29(12):1178-97. doi: 10.1177/0269215515574783. PubMed PMID: 25758944.
68. Loo TW, Bartlett MC, Clarke DM. Correctors promote folding of the CFTR in the endoplasmic reticulum. *Biochem J*. 2008;413(1):29-36. doi: 10.1042/BJ20071690. PubMed PMID: 18361776.
69. Yu H, Burton B, Huang CJ, Worley J, Cao D, Johnson JP, Jr., et al. Ivacaftor potentiation of multiple CFTR channels with gating mutations. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2012;11(3):237-45. doi: 10.1016/j.jcf.2011.12.005. PubMed PMID: 22293084.
70. De Boeck K, Munck A, Walker S, Faro A, Hiatt P, Gilmartin G, et al. Efficacy and safety of ivacaftor in patients with cystic fibrosis and a non-G551D gating mutation. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2014;13(6):674-80. doi: 10.1016/j.jcf.2014.09.005. PubMed PMID: 25266159.
71. Rowe SM, Heltshe SL, Gonska T, Donaldson SH, Borowitz D, Gelfond D, et al. Clinical mechanism of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator potentiator ivacaftor in G551D-mediated cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014;190(2):175-84. doi: 10.1164/rccm.201404-0703OC. PubMed PMID: 24927234; PubMed Central PMCID: PMC4226057.
72. Ramsey BW, Davies J, McElvaney NG, Tullis E, Bell SC, Drevinek P, et al. A CFTR potentiator in patients with cystic fibrosis and the G551D mutation. *N Engl J Med*. 2011;365(18):1663-72. doi: 10.1056/NEJMoa1105185. PubMed PMID: 22047557; PubMed Central PMCID: PMC3230303.
73. American Diabetes A. 2. Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care*. 2017;40(Suppl 1):S11-S24. doi: 10.2337/dc17-S005. PubMed PMID: 27979889.
74. Andersen HU, Lanng S, Pressler T, Laugesen CS, Mathiesen ER. Cystic fibrosis-related diabetes: the presence of microvascular diabetes complications. *Diabetes Care*. 2006;29(12):2660-3. doi: 10.2337/dc06-0654. PubMed PMID: 17130201.
75. Mackie AD, Thornton SJ, Edenborough FP. Cystic fibrosis-related diabetes. *Diabet Med*. 2003;20(6):425-36. doi: 10.1046/j.1464-5491.2003.00924.x. PubMed PMID: 12786675.

76. Reverri EJ, Morrissey BM, Cross CE, Steinberg FM. Inflammation, oxidative stress, and cardiovascular disease risk factors in adults with cystic fibrosis. *Free Radic Biol Med*. 2014;76:261-77. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2014.08.005. PubMed PMID: 25172163.
77. Sritippayawan S, MacLaughlin EF, Woo MS. Acute neurological deficits in a young adult with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2003;35(2):147-51. doi: 10.1002/ppul.10198. PubMed PMID: 12526078.
78. Al Lawati NM, Wilcox P. Paradoxical embolization in an adult cystic fibrosis patient. *Can Respir J*. 2007;14(5):293-4. doi: 10.1155/2007/492128. PubMed PMID: 17703245; PubMed Central PMCID: PMCPMC2676396.
79. 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. doi: 10.2337/dc09-0586. PubMed PMID: 19542209; PubMed Central PMCID: PMC2732133.
80. Ode KL, Moran A. New insights into cystic fibrosis-related diabetes in children. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2013;1(1):52-8. doi: 10.1016/S2213-8587(13)70015-9. PubMed PMID: 24622267.
81. Lewis C, Blackman SM, Nelson A, Oberdorfer E, Wells D, Dunitz J, et al. Diabetes-related mortality in adults with cystic fibrosis. Role of genotype and sex. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191(2):194-200. doi: 10.1164/rccm.201403-0576OC. PubMed PMID: 25479583; PubMed Central PMCID: PMCPMC4347432.
82. Abdul-Karim FW, Dahms BB, Velasco ME, Rodman HM. Islets of Langerhans in adolescents and adults with cystic fibrosis. A quantitative study. *Arch Pathol Lab Med*. 1986;110(7):602-6. PubMed PMID: 2872872.
83. Lohr M, Goertchen P, Nizze H, Gould NS, Gould VE, Oberholzer M, et al. Cystic fibrosis associated islet changes may provide a basis for diabetes. An immunocytochemical and morphometrical study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol*. 1989;414(2):179-85. PubMed PMID: 2492695.
84. Van Haren EH, Hopman WP, Rosenbusch G, Jansen JB, Van Herwaarden CL. Pancreatic morphology and function in adult patients with cystic fibrosis. *Scand J Gastroenterol*. 1992;27(8):695-8. PubMed PMID: 1439553.
85. Robert JJ, Mosnier-Pudar H. [Diagnosis and treatment of diabetes in adult patients with cystic fibrosis]. *Rev Mal Respir*. 2000;17(3 Pt 2):798-801. PubMed PMID: 11076389.
86. Sun X, Yi Y, Xie W, Liang B, Winter MC, He N, et al. CFTR Influences Beta Cell Function and Insulin Secretion Through Non-Cell Autonomous Exocrine-Derived Factors.

Endocrinology. 2017;158(10):3325-38. doi: 10.1210/en.2017-00187. PubMed PMID: 28977592; PubMed Central PMCID: PMC5659686.

87. Hart NJ, Aramandla R, Poffenberger G, Fayolle C, Thames AH, Bautista A, et al. Cystic fibrosis-related diabetes is caused by islet loss and inflammation. *JCI Insight*. 2018;3(8). Epub 2018/04/20. doi: 10.1172/jci.insight.98240. PubMed PMID: 29669939; PubMed Central PMCID: PMC5931120.

88. Hammana I, Potvin S, Tardif A, Berthiaume Y, Coderre L, Rabasa-Lhoret R. Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis patients. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2009;8(6):378-81. doi: 10.1016/j.jcf.2009.08.007. PubMed PMID: 19782008.

89. De Schepper J, Hachimi-Idrissi S, Smits J, Dab I, Loeb H. First-phase insulin release in adult cystic fibrosis patients: correlation with clinical and biological parameters. *Horm Res*. 1992;38(5-6):260-3. doi: 10.1159/000182555. PubMed PMID: 1307748.

90. Coriati A, Belson L, Ziai S, Haberer E, Gauthier MS, Mailhot G, et al. Impact of sex on insulin secretion in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(5):1767-73. Epub 2014/01/23. doi: 10.1210/jc.2013-2756. PubMed PMID: 24446654.

91. Cano Megías M, González Albarrán O, Guisado Vasco P, Lamas Ferreiro A, Máiz Carro L. Insulin resistance, β -cell dysfunction and differences in curves of plasma glucose and insulin in the intermediate points of the standard glucose tolerance test in adults with cystic fibrosis. *Endocrinología y Nutrición*. 2015;62(2):91-9. doi: 10.1016/j.endonu.2014.08.002.

92. Caumo A, Luzi L. First-phase insulin secretion: does it exist in real life? Considerations on shape and function. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2004;287(3):E371-85. doi: 10.1152/ajpendo.00139.2003. PubMed PMID: 15308473.

93. Coriati A, Ziai S, Lavoie A, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. The 1-h oral glucose tolerance test glucose and insulin values are associated with markers of clinical deterioration in cystic fibrosis. *Acta diabetologica*. 2015. doi: 10.1007/s00592-015-0791-3. PubMed PMID: 26215312.

94. Kelley DE, Reilly JP, Veneman T, Mandarino LJ. Effects of insulin on skeletal muscle glucose storage, oxidation, and glycolysis in humans. *Am J Physiol*. 1990;258(6 Pt 1):E923-9. doi: 10.1152/ajpendo.1990.258.6.E923. PubMed PMID: 2113769.

95. Coriati A, Ziai S, Azar M, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Characterization of patients with cystic fibrosis presenting an indeterminate glucose tolerance (INDET). *Journal of cystic*

- fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society. 2016;15(1):127-32. doi: 10.1016/j.jcf.2015.03.001. PubMed PMID: 25818059.
96. group. Ucftdw. Management of cystic fibrosis related diabetes. . In: Bromley, editor Cystic fibrosis trust Kent, UK: Cystic Fibrosis Trust. 2004.
97. Bastard JP, Antuna-Puente B, Rabasa-Lhoret R. Is it important to reduce inter- and intra-individual variations to explore insulin sensitivity? *Diabetes Metab.* 2010;36(3):249. doi: 10.1016/j.diabet.2010.01.005. PubMed PMID: 20359928.
98. Yung B, Noormohamed FH, Kemp M, Hooper J, Lant AF, Hodson ME. Cystic fibrosis-related diabetes: the role of peripheral insulin resistance and beta-cell dysfunction. *Diabet Med.* 2002;19(3):221-6. PubMed PMID: 11963922.
99. Hardin DS, LeBlanc A, Para L, Seilheimer DK. Hepatic insulin resistance and defects in substrate utilization in cystic fibrosis. *Diabetes.* 1999;48(5):1082-7. doi: 10.2337/diabetes.48.5.1082. PubMed PMID: 10331413.
100. Ahmad T, Nelson R, Taylor R. Insulin sensitivity and metabolic clearance rate of insulin in cystic fibrosis. *Metabolism.* 1994;43(2):163-7. doi: 10.1016/0026-0495(94)90239-9. PubMed PMID: 8121296.
101. Semple RK, Sleight A, Murgatroyd PR, Adams CA, Bluck L, Jackson S, et al. Postreceptor insulin resistance contributes to human dyslipidemia and hepatic steatosis. *J Clin Invest.* 2009;119(2):315-22. doi: 10.1172/JCI37432. PubMed PMID: 19164855; PubMed Central PMCID: PMC2631303.
102. Dong H, Maddux BA, Altomonte J, Meseck M, Accili D, Terkeltaub R, et al. Increased hepatic levels of the insulin receptor inhibitor, PC-1/NPP1, induce insulin resistance and glucose intolerance. *Diabetes.* 2005;54(2):367-72. doi: 10.2337/diabetes.54.2.367. PubMed PMID: 15677494.
103. Jaspard E. Les transporteurs d'oses. 2013. Available from: <http://biochimej.univ-angers.fr/Page2/TexteTD/6ModuleS5BG2/ZsuiteTDS5BG2/3RoleInsulinGlucagon/1RoleInsulinGlucagon.htm>.
104. Thorens B, Mueckler M. Glucose transporters in the 21st Century. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010;298(2):E141-5. doi: 10.1152/ajpendo.00712.2009. PubMed PMID: 20009031; PubMed Central PMCID: PMC2822486.
105. Frost F, Jones GH, Dyce P, Jackson V, Nazareth D, Walshaw MJ. Loss of incretin effect contributes to postprandial hyperglycaemia in cystic fibrosis-related diabetes. *Diabet Med.* 2019;36(11):1367-74. doi: 10.1111/dme.14121. PubMed PMID: 31466128.

106. Sun X, Yi Y, Liang B, Yang Y, He N, Ode KL, et al. Incretin dysfunction and hyperglycemia in cystic fibrosis: Role of acyl-ghrelin. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2019;18(4):557-65. doi: 10.1016/j.jcf.2019.01.010. PubMed PMID: 30738804; PubMed Central PMCID: PMC6591024.
107. Hillman M, Eriksson L, Mared L, Helgesson K, Landin-Olsson M. Reduced levels of active GLP-1 in patients with cystic fibrosis with and without diabetes mellitus. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2012;11(2):144-9. doi: 10.1016/j.jcf.2011.11.001. PubMed PMID: 22138561.
108. Geyer MC, Sullivan T, Tai A, Morton JM, Edwards S, Martin AJ, et al. Exenatide corrects postprandial hyperglycaemia in young people with cystic fibrosis and impaired glucose tolerance: A randomized crossover trial. *Diabetes Obes Metab*. 2019;21(3):700-4. doi: 10.1111/dom.13544. PubMed PMID: 30259623.
109. Kuo P, Stevens JE, Russo A, Maddox A, Wishart JM, Jones KL, et al. Gastric emptying, incretin hormone secretion, and postprandial glycemia in cystic fibrosis--effects of pancreatic enzyme supplementation. *J Clin Endocrinol Metab*. 2011;96(5):E851-5. doi: 10.1210/jc.2010-2460. PubMed PMID: 21389144.
110. Holl RW, Heinze E, Wolf A, Rank M, Teller WM. Reduced pancreatic insulin release and reduced peripheral insulin sensitivity contribute to hyperglycaemia in cystic fibrosis. *European journal of pediatrics*. 1995;154(5):356-61. PubMed PMID: 7641765.
111. Moran A, Milla C. Abnormal glucose tolerance in cystic fibrosis: why should patients be screened? *J Pediatr*. 2003;142(2):97-9. doi: 10.1067/mpd.2003.90. PubMed PMID: 12584525.
112. Solomon MP, Wilson DC, Corey M, Kalnins D, Zielenski J, Tsui LC, et al. Glucose intolerance in children with cystic fibrosis. *J Pediatr*. 2003;142(2):128-32. doi: 10.1067/mpd.2003.5. PubMed PMID: 12584532.
113. Committee CDACPGE. Canadian Diabetes Association 2013 Clinical Practice Guidelines for the Prevention and Management of Diabetes in Canada. *Can J Diabetes*. 2013;37(suppl 1):S1-S212.
114. Yung B, Kemp M, Hooper J, Hodson ME. Diagnosis of cystic fibrosis related diabetes: a selective approach in performing the oral glucose tolerance test based on a combination of clinical and biochemical criteria. *Thorax*. 1999;54(1):40-3. PubMed PMID: 10343630; PubMed Central PMCID: PMC6591024.
115. Zirbes J, Milla CE. Cystic fibrosis related diabetes. *Paediatr Respir Rev*. 2009;10(3):118-23; quiz 23. doi: 10.1016/j.prrv.2009.04.004. PubMed PMID: 19651382.

116. 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 Metab.* 2008;34(6 Pt 1):568-73. doi: 10.1016/j.diabet.2008.05.010. PubMed PMID: 18922724.
117. Schmid K, Fink K, Holl RW, Hebestreit H, Ballmann M. Predictors for future cystic fibrosis-related diabetes by oral glucose tolerance test. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2014;13(1):80-5. doi: 10.1016/j.jcf.2013.06.001. PubMed PMID: 23809507.
118. Moran A, Pillay K, Becker DJ, Acerini CL, International Society for P, Adolescent D. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2014. Management of cystic fibrosis-related diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes.* 2014;15 Suppl 20:65-76. doi: 10.1111/pedi.12178. PubMed PMID: 25182308.
119. Brodsky J, Dougherty S, Makani R, Rubenstein RC, Kelly A. Elevation of 1-hour plasma glucose during oral glucose tolerance testing is associated with worse pulmonary function in cystic fibrosis. *Diabetes Care.* 2011;34(2):292-5. doi: 10.2337/dc10-1604. PubMed PMID: 21228248; PubMed Central PMCID: PMC3024336.
120. 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. doi: 10.2337/dc09-1492. PubMed PMID: 19910502; PubMed Central PMCID: PMC2809253.
121. Ode KL, Frohnert B, Laguna T, Phillips J, Holme B, Regelman W, et al. Oral glucose tolerance testing in children with cystic fibrosis. *Pediatr Diabetes.* 2010;11(7):487-92. doi: 10.1111/j.1399-5448.2009.00632.x. PubMed PMID: 20202149; PubMed Central PMCID: PMC3856892.
122. Fiorentino TV, Marini MA, Succurro E, Andreozzi F, Perticone M, Hribal ML, et al. One-Hour Postload Hyperglycemia: Implications for Prediction and Prevention of Type 2 Diabetes. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018;103(9):3131-43. doi: 10.1210/jc.2018-00468. PubMed PMID: 30020454.
123. Institute CsHoPR. Cystic Fibrosis related Diabetes research studies. The Oral Glucose Tolerance Test. 2019 [cited 2019]. Available from: <https://cf.research.chop.edu/ogtt.php>.
124. 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. *Pediatr Diabetes.* 2009;10(3):162-7. doi: 10.1111/j.1399-5448.2008.00451.x. PubMed PMID: 19207231.

125. Bizzarri C, Lucidi V, Ciampalini P, Bella S, Russo B, Cappa M. Clinical effects of early treatment with insulin glargine in patients with cystic fibrosis and impaired glucose tolerance. *J Endocrinol Invest.* 2006;29(3):RC1-4. doi: 10.1007/BF03345538. PubMed PMID: 16682829.
126. Mailhot M. *Manuel de Nutrition clinique: Fibrose kystique ou mucoviscidose adultes.* 2016.
127. Foster K, Huang G, Zhang N, Crisalli J, Chini B, Amin R, et al. Relationship between exercise capacity and glucose tolerance in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2018;53(2):154-61. doi: 10.1002/ppul.23906. PubMed PMID: 29115018.
128. Beaudoin N, Bouvet GF, Coriati A, Rabasa-Lhoret R, Berthiaume Y. Combined Exercise Training Improves Glycemic Control in Adult with Cystic Fibrosis. *Med Sci Sports Exerc.* 2017;49(2):231-7. doi: 10.1249/MSS.0000000000001104. PubMed PMID: 27669451.
129. O'Neill HM. AMPK and Exercise: Glucose Uptake and Insulin Sensitivity. *Diabetes Metab J.* 2013;37(1):1-21. doi: 10.4093/dmj.2013.37.1.1. PubMed PMID: 23441028; PubMed Central PMCID: PMC3579147.
130. Ploug T, Galbo H, Richter EA. Increased muscle glucose uptake during contractions: no need for insulin. *Am J Physiol.* 1984;247(6 Pt 1):E726-31. doi: 10.1152/ajpendo.1984.247.6.E726. PubMed PMID: 6391198.
131. Musi N, Fujii N, Hirshman MF, Ekberg I, Froberg S, Ljungqvist O, et al. AMP-activated protein kinase (AMPK) is activated in muscle of subjects with type 2 diabetes during exercise. *Diabetes.* 2001;50(5):921-7. doi: 10.2337/diabetes.50.5.921. PubMed PMID: 11334434.
132. Friedrichsen M, Mortensen B, Pehmoller C, Birk JB, Wojtaszewski JF. Exercise-induced AMPK activity in skeletal muscle: role in glucose uptake and insulin sensitivity. *Mol Cell Endocrinol.* 2013;366(2):204-14. doi: 10.1016/j.mce.2012.06.013. PubMed PMID: 22796442.
133. Christ-Roberts CY, Pratipanawatr T, Pratipanawatr W, Berria R, Belfort R, Kashyap S, et al. Exercise training increases glycogen synthase activity and GLUT4 expression but not insulin signaling in overweight nondiabetic and type 2 diabetic subjects. *Metabolism.* 2004;53(9):1233-42. doi: 10.1016/j.metabol.2004.03.022. PubMed PMID: 15334390.
134. Riddell MC, Gallen IW, Smart CE, Taplin CE, Adolfsson P, Lumb AN, et al. Exercise management in type 1 diabetes: a consensus statement. *The lancet Diabetes & endocrinology.* 2017;5(5):377-90. doi: 10.1016/S2213-8587(17)30014-1. PubMed PMID: 28126459.
135. Douchi T, Yamamoto S, Yoshimitsu N, Andoh T, Matsuo T, Nagata Y. Relative contribution of aging and menopause to changes in lean and fat mass in segmental regions. *Maturitas.* 2002;42(4):301-6. doi: 10.1016/s0378-5122(02)00161-5. PubMed PMID: 12191853.

136. Cnop M, Havel PJ, Utzschneider KM, Carr DB, Sinha MK, Boyko EJ, et al. Relationship of adiponectin to body fat distribution, insulin sensitivity and plasma lipoproteins: evidence for independent roles of age and sex. *Diabetologia*. 2003;46(4):459-69. doi: 10.1007/s00125-003-1074-z. PubMed PMID: 12687327.
137. Szoke E, Shrayyef MZ, Messing S, Woerle HJ, van Haeften TW, Meyer C, et al. Effect of aging on glucose homeostasis: accelerated deterioration of beta-cell function in individuals with impaired glucose tolerance. *Diabetes Care*. 2008;31(3):539-43. doi: 10.2337/dc07-1443. PubMed PMID: 18083793.
138. Fulop T, Larbi A, Douziech N. Insulin receptor and ageing. *Pathol Biol (Paris)*. 2003;51(10):574-80. PubMed PMID: 14622948.
139. Despres JP, Lemieux I, Prud'homme D. Treatment of obesity: need to focus on high risk abdominally obese patients. *BMJ*. 2001;322(7288):716-20. doi: 10.1136/bmj.322.7288.716. PubMed PMID: 11264213; PubMed Central PMCID: PMCPMC1119905.
140. Kuk JL, Saunders TJ, Davidson LE, Ross R. Age-related changes in total and regional fat distribution. *Ageing Res Rev*. 2009;8(4):339-48. doi: 10.1016/j.arr.2009.06.001. PubMed PMID: 19576300.
141. Wolk Robert SVK. Overview of cardiovascular aging. *Advances in Cell Aging and Gerontology*. 2002;11: 1-22. doi: 10.1016/S1566-3124(02)11025-X.
142. Vatiér C R-LR, Capeau J, Fève B, Bastard J-P. Livre Encyclopédie Médico Chirurgicale : Endocrinologie-Nutrition. [Article 10-361-A-20] Chapitre de livre : L'exploration de la sensibilité à l'insuline chez l'homme : méthodes et indications.2019.
143. Colombo C. Liver disease in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med*. 2007;13(6):529-36. doi: 10.1097/MCP.0b013e3282f10a16. PubMed PMID: 17901760.
144. Minicucci L, Lorini R, Giannattasio A, Colombo C, Iapichino L, Reali MF, et al. Liver disease as risk factor for cystic fibrosis-related diabetes development. *Acta Paediatr*. 2007;96(5):736-9. doi: 10.1111/j.1651-2227.2007.00250.x. PubMed PMID: 17381470.
145. Debray D, Kelly D, Houwen R, Strandvik B, Colombo C. Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2011;10 Suppl 2:S29-36. doi: 10.1016/S1569-1993(11)60006-4. PubMed PMID: 21658639.
146. FDA. Guidance for Industry: Drug-Induced Liver Injury: Premarketing Clinical Evaluation. 2009.

147. Potter CJ, Fishbein M, Hammond S, McCoy K, Qualman S. Can the histologic changes of cystic fibrosis-associated hepatobiliary disease be predicted by clinical criteria? *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1997;25(1):32-6. doi: 10.1097/00005176-199707000-00005. PubMed PMID: 9226524.
148. Scheig R. Evaluation of tests used to screen patients with liver disorders. *Prim Care.* 1996;23(3):551-60. PubMed PMID: 8888344.
149. Jantzen A, Opoku-Pare M, Bieli C, Ruf K, Hebestreit H, Moeller A. Perspective on cystic fibrosis and physical activity: Is there a difference compared to healthy individuals? *Pediatr Pulmonol.* 2016;51(10):1020-30. doi: 10.1002/ppul.23532. PubMed PMID: 27459056.
150. Prasad SA, Cerny FJ. Factors that influence adherence to exercise and their effectiveness: application to cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2002;34(1):66-72. doi: 10.1002/ppul.10126. PubMed PMID: 12112800.
151. Despres JP. Is visceral obesity the cause of the metabolic syndrome? *Ann Med.* 2006;38(1):52-63. doi: 10.1080/07853890500383895. PubMed PMID: 16448989.
152. Jensen MD. Adipose tissue as an endocrine organ: implications of its distribution on free fatty acid metabolism. *European Heart Journal Supplements.* 2006;8(suppl_B):B13-B9. doi: 10.1093/eurheartj/sul003.
153. Pouliot MC, Despres JP, Nadeau A, Moorjani S, Prud'Homme D, Lupien PJ, et al. Visceral obesity in men. Associations with glucose tolerance, plasma insulin, and lipoprotein levels. *Diabetes.* 1992;41(7):826-34. doi: 10.2337/diab.41.7.826. PubMed PMID: 1612197.
154. Carpentier AC. Postprandial fatty acid metabolism in the development of lipotoxicity and type 2 diabetes. *Diabetes Metab.* 2008;34(2):97-107. doi: 10.1016/j.diabet.2007.10.009. PubMed PMID: 18353699.
155. Gastaldelli A. Insulin resistance and reduced metabolic flexibility: cause or consequence of NAFLD? *Clin Sci (Lond).* 2017;131(22):2701-4. doi: 10.1042/CS20170987. PubMed PMID: 29109303.
156. Alves Cde A, Lima DS. Cystic fibrosis-related dyslipidemia. *J Bras Pneumol.* 2008;34(10):829-37. doi: 10.1590/s1806-37132008001000012. PubMed PMID: 19009217.
157. Rhodes B, Nash EF, Tullis E, Pencharz PB, Brotherwood M, Dupuis A, et al. Prevalence of dyslipidemia in adults with cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2010;9(1):24-8. doi: 10.1016/j.jcf.2009.09.002. PubMed PMID: 19875344.

158. Rye KA, Bursill CA, Lambert G, Tabet F, Barter PJ. The metabolism and anti-atherogenic properties of HDL. *J Lipid Res.* 2009;50 Suppl:S195-200. doi: 10.1194/jlr.R800034-JLR200. PubMed PMID: 19033213; PubMed Central PMCID: PMCPMC2674714.
159. Assmann G, Schulte H, von Eckardstein A, Huang Y. High-density lipoprotein cholesterol as a predictor of coronary heart disease risk. The PROCAM experience and pathophysiological implications for reverse cholesterol transport. *Atherosclerosis.* 1996;124 Suppl:S11-20. doi: 10.1016/0021-9150(96)05852-2. PubMed PMID: 8831911.
160. Lewis GF, Rader DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circ Res.* 2005;96(12):1221-32. doi: 10.1161/01.RES.0000170946.56981.5c. PubMed PMID: 15976321.
161. Cardiometabolic Risk Working Group: Executive C, Leiter LA, Fitchett DH, Gilbert RE, Gupta M, Mancini GB, et al. Identification and management of cardiometabolic risk in Canada: a position paper by the cardiometabolic risk working group (executive summary). *Can J Cardiol.* 2011;27(2):124-31. doi: 10.1016/j.cjca.2011.01.016. PubMed PMID: 21459258.
162. Tessier-Grenier M. Comparaison des impacts des acides gras saturés de différents produits d'origine laitière sur les marqueurs de risque cardiométabolique: Université de Laval; 2017.
163. Gilmour JA, Sykes J, Etchells E, Tullis E. Cystic Fibrosis-Related Diabetes Screening in Adults: A Gap Analysis and Evaluation of Accuracy of Glycated Hemoglobin Levels. *Can J Diabetes.* 2019;43(1):13-8. doi: 10.1016/j.cjcd.2018.04.008. PubMed PMID: 30173928.
164. Sylvain C, Lamothe L, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. How patients' representations of cystic fibrosis-related diabetes inform their health behaviours. *Psychol Health.* 2016;31(10):1129-44. doi: 10.1080/08870446.2016.1183008. PubMed PMID: 27112101.
165. 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. *J Clin Epidemiol.* 1988;41(6):583-91. doi: 10.1016/0895-4356(88)90063-7. PubMed PMID: 3260274.
166. Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Van Haefen T, et al. Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care.* 2000;23(3):295-301. PubMed PMID: 10868854.
167. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia.* 1985;28(7):412-9. doi: 10.1007/bf00280883. PubMed PMID: 3899825.

168. Antuna-Puente B, Disse E, Rabasa-Lhoret R, Laville M, Capeau J, Bastard JP. How can we measure insulin sensitivity/resistance? *Diabetes Metab.* 2011;37(3):179-88. doi: 10.1016/j.diabet.2011.01.002. PubMed PMID: 21435930.
169. Stumvoll M, Van Haeften T, Fritsche A, Gerich J. Oral glucose tolerance test indexes for insulin sensitivity and secretion based on various availabilities of sampling times. *Diabetes Care.* 2001;24(4):796-7. PubMed PMID: 11315860.
170. (NIOSH) NifOSaH. SPIROMETRY: Reference value calculator 2011 [updated December 22, 2011; cited 2019]. © Hankinson Consulting, Inc., 11/25/2003; 5/1/2006:[Available from: <https://www.cdc.gov/niosh/topics/spirometry/refcalculator.html>].
171. Hankinson JL, Bang KM. Acceptability and reproducibility criteria of the American Thoracic Society as observed in a sample of the general population. *Am Rev Respir Dis.* 1991;143(3):516-21. doi: 10.1164/ajrccm/143.3.516. PubMed PMID: 2001060.
172. Jennifer Patry-Parisien MSaSB. Comparison of waist circumference using the World Health Organization and National Institutes of Health protocols. *Statistics Canada, Catalogue no 82-003-XPE • Health Reports.* September 2012;Vol. 23, no. 3.
173. National Institutes of Health. *The Practical Guide to the Identification, Evaluation and Treatment of Overweight and Obesity in Adults.* . Bethesda, Maryland: National Institutes of Health,. 2000.
174. Physiology CSfE. *The Revision of the Measurement of Waist Circumference in the CPAFLA.*
175. 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. doi: 10.1016/j.jcf.2014.01.006. PubMed PMID: 24522087.
176. Cystic fibrosis foundation. *Patient registry. Annual data report 2001.* . Cystic fibrosis Foundation 1-12 2002. .
177. Moller N, Gormsen L, Fuglsang J, Gjedsted J. Effects of ageing on insulin secretion and action. *Horm Res.* 2003;60(Suppl 1):102-4. doi: 10.1159/000071233. PubMed PMID: 12955025.
178. Barzilai N, Huffman DM, Muzumdar RH, Bartke A. The critical role of metabolic pathways in aging. *Diabetes.* 2012;61(6):1315-22. doi: 10.2337/db11-1300. PubMed PMID: 22618766; PubMed Central PMCID: PMC3357299.

179. Chaves CR, Cunha AL, Costa AC, Costa Rde S, Lacerda SV. Nutritional status and body fat distribution in children and adolescents with Cystic Fibrosis. *Cien Saude Colet*. 2015;20(11):3319-28. doi: 10.1590/1413-812320152011.03242015. PubMed PMID: 26602710.
180. Finkelstein SM, Wielinski CL, Elliott GR, Warwick WJ, Barbosa J, Wu SC, et al. Diabetes mellitus associated with cystic fibrosis. *J Pediatr*. 1988;112(3):373-7. PubMed PMID: 3346774.
181. Boudreau V, Coriati A, Hammana I, Ziai S, Desjardins K, Berthiaume Y, et al. Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity? *Journal of Cystic Fibrosis*. 2016;15(6):839-45. doi: 10.1016/j.jcf.2016.04.004.
182. Lavie M, Fisher D, Vilozni D, Forschmidt R, Sarouk I, Kanety H, et al. Glucose intolerance in cystic fibrosis as a determinant of pulmonary function and clinical status. *Diabetes Res Clin Pract*. 2015;110(3):276-84. doi: 10.1016/j.diabres.2015.10.007. PubMed PMID: 26508676.
183. Tofe S, Moreno JC, Maiz L, Alonso M, Escobar H, Barrio R. Insulin-secretion abnormalities and clinical deterioration related to impaired glucose tolerance in cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol*. 2005;152(2):241-7. doi: 10.1530/eje.1.01836. PubMed PMID: 15745932.
184. 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. doi: 10.2337/dc09-0585. PubMed PMID: 19592632; PubMed Central PMCID: PMC2752940.
185. Terliesner N, Vogel M, Steighardt A, Gausche R, Henn C, Hentschel J, et al. Cystic-fibrosis related-diabetes (CFRD) is preceded by and associated with growth failure and deteriorating lung function. *Journal of pediatric endocrinology & metabolism : JPEM*. 2017;30(8):815-21. doi: 10.1515/jpem-2017-0005. PubMed PMID: 28245190.
186. Moran A, Doherty L, Wang X, Thomas W. Abnormal glucose metabolism in cystic fibrosis. *J Pediatr*. 1998;133(1):10-7. PubMed PMID: 9672504.
187. Dequeker E, Stuhmann M, Morris MA, Casals T, Castellani C, Claustres M, et al. Best practice guidelines for molecular genetic diagnosis of cystic fibrosis and CFTR-related disorders--updated European recommendations. *Eur J Hum Genet*. 2009;17(1):51-65. doi: 10.1038/ejhg.2008.136. PubMed PMID: 18685558; PubMed Central PMCID: PMC2985951.
188. Ziai S, Belson L, Hammana I, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European*

- Cystic Fibrosis Society. 2011;10(2):145. doi: 10.1016/j.jcf.2010.11.004. PubMed PMID: 21195037.
189. Service NH. [https://www.nhs.uk/conditions/cystic-fibrosis/ - complications-of-cystic-fibrosis](https://www.nhs.uk/conditions/cystic-fibrosis/-complications-of-cystic-fibrosis). 2018.
190. Foundation CF. CYSTIC FIBROSIS FOUNDATION PATIENT REGISTRY HIGHLIGHTS. Bethesda, Maryland. 2016.
191. Merjaneh L, He Q, Long Q, Phillips LS, Stecenko AA. Disposition index identifies defective beta-cell function in cystic fibrosis subjects with normal glucose tolerance. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2015;14(1):135-41. doi: 10.1016/j.jcf.2014.06.004.
192. Fontes G, Ghislain J, Benterki I, Zarrouki B, Trudel D, Berthiaume Y, et al. The DeltaF508 Mutation in the Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator Is Associated With Progressive Insulin Resistance and Decreased Functional beta-Cell Mass in Mice. *Diabetes*. 2015;64(12):4112-22. doi: 10.2337/db14-0810. PubMed PMID: 26283735; PubMed Central PMCID: PMC4876763.
193. Kessler L, Abely M. [Pancreatic infringement exocrine and endocrine in cystic fibrosis]. *Arch Pediatr*. 2016;23(12S):12S21-12S32. doi: 10.1016/S0929-693X(17)30059-3. PubMed PMID: 28231890.
194. Lopez-Moreno J, Garcia-Carpintero S, Jimenez-Lucena R, Haro C, Rangel-Zuniga OA, Blanco-Rojo R, et al. Effect of Dietary Lipids on Endotoxemia Influences Postprandial Inflammatory Response. *J Agric Food Chem*. 2017;65(35):7756-63. doi: 10.1021/acs.jafc.7b01909. PubMed PMID: 28793772.
195. Machado FVC, Pitta F, Hernandez NA, Bertolini GL. Physiopathological relationship between chronic obstructive pulmonary disease and insulin resistance. *Endocrine*. 2018. doi: 10.1007/s12020-018-1554-z. PubMed PMID: 29512058.
196. Sone H, Kagawa Y. Pancreatic beta cell senescence contributes to the pathogenesis of type 2 diabetes in high-fat diet-induced diabetic mice. *Diabetologia*. 2005;48(1):58-67. doi: 10.1007/s00125-004-1605-2. PubMed PMID: 15624098.
197. Huang TT, Qiu XS, Du ML, Shen ZY, Ke ZY, Lai F. [Expression of tumor necrosis factor alpha mRNA in adipose cell of intrauterine growth retarded rats and its relation to insulin resistance]. *Zhonghua Er Ke Za Zhi*. 2005;43(1):39-43. PubMed PMID: 15796807.
198. 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. PubMed PMID: 1396931.

199. Nousia-Arvanitakis S, Galli-Tsinopoulou A, Karamouzis M. Insulin improves clinical status of patients with cystic-fibrosis-related diabetes mellitus. *Acta Paediatr.* 2001;90(5):515-9. PubMed PMID: 11430710.
200. Mohan K, Israel KL, Miller H, Grainger R, Ledson MJ, Walshaw MJ. Long-term effect of insulin treatment in cystic fibrosis-related diabetes. *Respiration.* 2008;76(2):181-6. doi: 10.1159/000110206. PubMed PMID: 17960051.
201. Lanng S, Thorsteinsson B, Nerup J, Koch C. Diabetes mellitus in cystic fibrosis: effect of insulin therapy on lung function and infections. *Acta Paediatr.* 1994;83(8):849-53. PubMed PMID: 7981562.
202. Rafii M, Chapman K, Stewart C, Kelly E, Hanna A, Wilson DC, et al. Changes in response to insulin and the effects of varying glucose tolerance on whole-body protein metabolism in patients with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr.* 2005;81(2):421-6. doi: 10.1093/ajcn.81.2.421. PubMed PMID: 15699230.
203. American Diabetes A. Standards of medical care in diabetes--2009. *Diabetes Care.* 2009;32 Suppl 1:S13-61. doi: 10.2337/dc09-S013. PubMed PMID: 19118286; PubMed Central PMCID: PMC2613589.
204. Onady GM, Langdon LJ. Insulin versus oral agents in the management of Cystic Fibrosis Related Diabetes: a case based study. *BMC Endocr Disord.* 2006;6:4. doi: 10.1186/1472-6823-6-4. PubMed PMID: 16790062; PubMed Central PMCID: PMC2613589.
205. van den Berg JM, Heijerman HG. Proof of principle. Treatment of cystic fibrosis-related diabetes: a possible role for complementary metformin? *Journal of Cystic Fibrosis.* 2009;8:S82. doi: [https://doi.org/10.1016/S1569-1993\(09\)60321-0](https://doi.org/10.1016/S1569-1993(09)60321-0).
206. Bril F, Cusi K. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: The New Complication of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocrinol Metab Clin North Am.* 2016;45(4):765-81. Epub 2016/11/09. doi: 10.1016/j.ecl.2016.06.005. PubMed PMID: 27823604.
207. Mantovani A, Byrne CD, Bonora E, Targher G. Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Risk of Incident Type 2 Diabetes: A Meta-analysis. *Diabetes Care.* 2018;41(2):372-82. Epub 2018/01/24. doi: 10.2337/dc17-1902. PubMed PMID: 29358469.
208. Chen Z, Yu R, Xiong Y, Du F, Zhu S. A vicious circle between insulin resistance and inflammation in nonalcoholic fatty liver disease. *Lipids Health Dis.* 2017;16(1):203. Epub 2017/10/19. doi: 10.1186/s12944-017-0572-9. PubMed PMID: 29037210; PubMed Central PMCID: PMC5644081.

209. Cusi K. Nonalcoholic steatohepatitis in nonobese patients: Not so different after all. *Hepatology*. 2017;65(1):4-7. doi: 10.1002/hep.28839. PubMed PMID: 27650699.
210. Vozarova B, Stefan N, Lindsay RS, Saremi A, Pratley RE, Bogardus C, et al. High alanine aminotransferase is associated with decreased hepatic insulin sensitivity and predicts the development of type 2 diabetes. *Diabetes*. 2002;51(6):1889-95. Epub 2002/05/29. PubMed PMID: 12031978.
211. Lorenzo C, Hanley AJ, Rewers MJ, Haffner SM. Discriminatory value of alanine aminotransferase for diabetes prediction: the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabet Med*. 2016;33(3):348-55. Epub 2015/06/23. doi: 10.1111/dme.12835. PubMed PMID: 26094705; PubMed Central PMCID: PMC5075526.
212. Portillo-Sanchez P, Bril F, Maximos M, Lomonaco R, Biernacki D, Orsak B, et al. High Prevalence of Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Patients With Type 2 Diabetes Mellitus and Normal Plasma Aminotransferase Levels. *J Clin Endocrinol Metab*. 2015;100(6):2231-8. Epub 2015/04/18. doi: 10.1210/jc.2015-1966. PubMed PMID: 25885947.
213. Grasemann H, Ratjen F. Early lung disease in cystic fibrosis. *Lancet Respir Med*. 2013;1(2):148-57. Epub 2014/01/17. doi: 10.1016/S2213-2600(13)70026-2. PubMed PMID: 24429095.
214. Brennan AL, Geddes DM, Gyi KM, Baker EH. Clinical importance of cystic fibrosis-related diabetes. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2004;3(4):209-22. Epub 2005/02/09. doi: 10.1016/j.jcf.2004.08.001. PubMed PMID: 15698938.
215. Kelly A, Moran A. Update on cystic fibrosis-related diabetes. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2013;12(4):318-31. Epub 2013/04/09. doi: 10.1016/j.jcf.2013.02.008. PubMed PMID: 23562217.
216. O'Riordan SM, Robinson PD, Donaghue KC, Moran A, Consensus ICP. Management of cystic fibrosis-related diabetes. *Pediatr Diabetes*. 2008;9(4 Pt 1):338-44. Epub 2008/09/05. doi: 10.1111/j.1399-5448.2008.00437.x. PubMed PMID: 18768038.
217. Colomba J, Boudreau V, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F, et al. The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity. *J Cyst Fibros*. 2019. Epub 2019/02/04. doi: 10.1016/j.jcf.2019.01.009. PubMed PMID: 30711385.

218. Leung DH, Narkewicz MR. Cystic Fibrosis-related cirrhosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2017;16 Suppl 2:S50-S61. Epub 2017/10/08. doi: 10.1016/j.jcf.2017.07.002. PubMed PMID: 28986027.
219. Flass T, Narkewicz MR. Cirrhosis and other liver disease in cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2013;12(2):116-24. Epub 2012/12/26. doi: 10.1016/j.jcf.2012.11.010. PubMed PMID: 23266093; PubMed Central PMCID: PMC3883947.
220. Ayoub F, Trillo-Alvarez C, Morelli G, Lascano J. Risk factors for hepatic steatosis in adults with cystic fibrosis: Similarities to non-alcoholic fatty liver disease. *World J Hepatol*. 2018;10(1):34-40. doi: 10.4254/wjh.v10.i1.34. PubMed PMID: 29399276; PubMed Central PMCID: PMC5787682.
221. Boudreau V, Coriati A, Desjardins K, Rabasa-Lhoret R. Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2016;15(2):258-60. doi: 10.1016/j.jcf.2016.02.005. PubMed PMID: 26905501.
222. Muniyappa R, Lee S, Chen H, Quon MJ. Current approaches for assessing insulin sensitivity and resistance in vivo: advantages, limitations, and appropriate usage. *Am J Physiol Endocrinol Metab*. 2008;294(1):E15-26. doi: 10.1152/ajpendo.00645.2007. PubMed PMID: 17957034.
223. Maximos M, Bril F, Portillo Sanchez P, Lomonaco R, Orsak B, Biernacki D, et al. The role of liver fat and insulin resistance as determinants of plasma aminotransferase elevation in nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 2015;61(1):153-60. Epub 2014/08/26. doi: 10.1002/hep.27395. PubMed PMID: 25145475.
224. Asrih M, Jornayvaz FR. Metabolic syndrome and nonalcoholic fatty liver disease: Is insulin resistance the link? *Mol Cell Endocrinol*. 2015;418 Pt 1:55-65. Epub 2015/03/01. doi: 10.1016/j.mce.2015.02.018. PubMed PMID: 25724480.
225. Moriconi N, Kraenzlin M, Muller B, Keller U, Nusbaumer CP, Stohr S, et al. Body composition and adiponectin serum concentrations in adult patients with cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(4):1586-90. doi: 10.1210/jc.2005-2135. PubMed PMID: 16464949.
226. Boudreau V, Reynaud Q, Dubois CL, Coriati A, Desjardins K, Durieu I, et al. Screening for Cystic Fibrosis-Related Diabetes: Matching Pathophysiology and Addressing Current Challenges. *Can J Diabetes*. 2016;40(5):466-70. doi: 10.1016/j.cjcd.2016.08.221. PubMed PMID: 27737759.

227. Di Bonito P, Sanguigno E, Di Fraia T, Forziato C, Boccia G, Saitta F, et al. Association of elevated serum alanine aminotransferase with metabolic factors in obese children: sex-related analysis. *Metabolism*. 2009;58(3):368-72. doi: 10.1016/j.metabol.2008.10.010. PubMed PMID: 19217453.
228. Poustchi H, George J, Esmaili S, Esna-Ashari F, Ardalan G, Sepanlou SG, et al. Gender differences in healthy ranges for serum alanine aminotransferase levels in adolescence. *PLoS One*. 2011;6(6):e21178. doi: 10.1371/journal.pone.0021178. PubMed PMID: 21738618; PubMed Central PMCID: PMC3124486.
229. Mauvais-Jarvis F, Le May C, Tiano JP, Liu S, Kilic-Berkmen G, Kim JH. The Role of Estrogens in Pancreatic Islet Physiopathology. *Adv Exp Med Biol*. 2017;1043:385-99. doi: 10.1007/978-3-319-70178-3_18. PubMed PMID: 29224104.
230. Kautzky-Willer A, Harreiter J, Pacini G. Sex and Gender Differences in Risk, Pathophysiology and Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. *Endocr Rev*. 2016;37(3):278-316. doi: 10.1210/er.2015-1137. PubMed PMID: 27159875; PubMed Central PMCID: PMC4890267.
231. Colomba J, Boudreau V, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F, et al. The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity. *Journal of Cystic Fibrosis*. 2019. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2019.01.009>.
232. Quon BS, Sykes J, Stanojevic S, Marshall BC, Petren K, Ostrenga J, et al. Clinical characteristics of cystic fibrosis patients prior to lung transplantation: An international comparison between Canada and the United States. *Clin Transplant*. 2018;32(3):e13188. doi: 10.1111/ctr.13188. PubMed PMID: 29292522; PubMed Central PMCID: PMC6120341.
233. Colomba J, Boudreau V, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F, et al. The main mechanism associated with progression of glucose intolerance in older patients with cystic fibrosis is insulin resistance and not reduced insulin secretion capacity. *J Cyst Fibros*. 2019;18(4):551-6. Epub 2019/02/04. doi: 10.1016/j.jcf.2019.01.009. PubMed PMID: 30711385.
234. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal*. 2019. doi: 10.1093/eurheartj/ehz455.

235. Hermans MP, Valensi P. Elevated triglycerides and low high-density lipoprotein cholesterol level as marker of very high risk in type 2 diabetes. *Curr Opin Endocrinol Diabetes Obes.* 2018;25(2):118-29. doi: 10.1097/MED.0000000000000398. PubMed PMID: 29493554.
236. Cardiometabolic Risk Working Group: Executive C, Leiter LA, Fitchett DH, Gilbert RE, Gupta M, Mancini GB, et al. Cardiometabolic risk in Canada: a detailed analysis and position paper by the cardiometabolic risk working group. *Can J Cardiol.* 2011;27(2):e1-e33. doi: 10.1016/j.cjca.2010.12.054. PubMed PMID: 21459257.
237. Harindhanavudhi T, Wang Q, Dunitz J, Moran A, Moheet A. Prevalence and factors associated with overweight and obesity in adults with cystic fibrosis: A single-center analysis. *J Cyst Fibros.* 2019. Epub 2019/11/16. doi: 10.1016/j.jcf.2019.10.004. PubMed PMID: 31727452.
238. Slesinski MJ, Gloninger MF, Costantino JP, Orenstein DM. Lipid levels in adults with cystic fibrosis. *J Am Diet Assoc.* 1994;94(4):402-8. doi: 10.1016/0002-8223(94)90095-7. PubMed PMID: 8144807.
239. Figueroa V, Milla C, Parks EJ, Schwarzenberg SJ, Moran A. Abnormal lipid concentrations in cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr.* 2002;75(6):1005-11. doi: 10.1093/ajcn/75.6.1005. PubMed PMID: 12036806.
240. Woestenenk JW, Schulkes DA, Schipper HS, van der Ent CK, Houwen RHJ. Dietary intake and lipid profile in children and adolescents with cystic fibrosis. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2017;16(3):410-7. doi: 10.1016/j.jcf.2017.02.010. PubMed PMID: 28283399.
241. Georgiopoulou VV, Denker A, Bishop KL, Brown JM, Hirsh B, Wolfenden L, et al. Metabolic abnormalities in adults with cystic fibrosis. *Respirology.* 2010;15(5):823-9. doi: 10.1111/j.1440-1843.2010.01771.x. PubMed PMID: 20497385.
242. Nowak JK, Szczepanik M, Wojsyk-Banaszak I, Madry E, Wykretowicz A, Krzyzanowska-Jankowska P, et al. Cystic fibrosis dyslipidaemia: A cross-sectional study. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society.* 2019;18(4):566-71. doi: 10.1016/j.jcf.2019.04.001. PubMed PMID: 30979683.
243. Levy E, Gurbindo C, Lacaille F, Paradis K, Thibault L, Seidman E. Circulating tumor necrosis factor-alpha levels and lipid abnormalities in patients with cystic fibrosis. *Pediatr Res.* 1993;34(2):162-6. doi: 10.1203/00006450-199308000-00011. PubMed PMID: 8233719.
244. Grundy SM, Stone NJ, Bailey AL, Beam C, Birtcher KK, Blumenthal RS, et al. 2018 AHA/ACC/AACVPR/AAPA/ABC/ACPM/ADA/AGS/APhA/ASPC/NLA/PCNA Guideline on the Management of Blood Cholesterol: Executive Summary: A Report of the American College

of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines. *J Am Coll Cardiol*. 2019;73(24):3168-209. Epub 2018/11/14. doi: 10.1016/j.jacc.2018.11.002. PubMed PMID: 30423391.

245. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18(6):499-502. PubMed PMID: 4337382.

246. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation*. 2009;120(16):1640-5. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644. PubMed PMID: 19805654.

247. Krauss RM, Siri PW. Dyslipidemia in type 2 diabetes. *Med Clin North Am*. 2004;88(4):897-909, x. doi: 10.1016/j.mcna.2004.04.004. PubMed PMID: 15308384.

248. Coderre L, Fadainia C, Belson L, Belisle V, Ziai S, Maillhot G, et al. LDL-cholesterol and insulin are independently associated with body mass index in adult cystic fibrosis patients. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2012;11(5):393-7. doi: 10.1016/j.jcf.2012.03.006. PubMed PMID: 22503692.

249. Peretti N, Roy CC, Drouin E, Seidman E, Brochu P, Casimir G, et al. Abnormal intracellular lipid processing contributes to fat malabsorption in cystic fibrosis patients. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2006;290(4):G609-15. doi: 10.1152/ajpgi.00332.2005. PubMed PMID: 16223944.

250. Ishimo MC, Belson L, Ziai S, Levy E, Berthiaume Y, Coderre L, et al. Hypertriglyceridemia is associated with insulin levels in adult cystic fibrosis patients. *Journal of cystic fibrosis : official journal of the European Cystic Fibrosis Society*. 2013;12(3):271-6. doi: 10.1016/j.jcf.2012.08.012. PubMed PMID: 23017500.

251. Simental-Mendia LE, Rodriguez-Moran M, Simental-Saucedo L, Guerrero-Romero F. Insulin secretion is increased in non-diabetic subjects with fasting hypertriglyceridaemia. *Diabetes Metab Res Rev*. 2013;29(3):214-9. Epub 2012/12/12. doi: 10.1002/dmrr.2379. PubMed PMID: 23225554.

252. Agardh CD, Nilsson-Ehle P, Schersten B. Improvement of the plasma lipoprotein pattern after institution of insulin treatment in diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 1982;5(3):322-5. doi: 10.2337/diacare.5.3.322. PubMed PMID: 6756840.

253. Szalat A, Durst R, Leitersdorf E. Managing dyslipidaemia in type 2 diabetes mellitus. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2016;30(3):431-44. Epub 2016/07/20. doi: 10.1016/j.beem.2016.05.004. PubMed PMID: 27432076.
254. Hidayat K, Du X, Wu MJ, Shi BM. The use of metformin, insulin, sulphonylureas, and thiazolidinediones and the risk of fracture: Systematic review and meta-analysis of observational studies. *Obes Rev.* 2019;20(10):1494-503. doi: 10.1111/obr.12885. PubMed PMID: 31250977.
255. Sridharan K, Sivaramakrishnan G, Sequeira RP, Elamin A. Pharmacological interventions for non-alcoholic fatty liver disease: a systematic review and network meta-analysis. *Postgrad Med J.* 2018;94(1116):556-65. doi: 10.1136/postgradmedj-2018-135967. PubMed PMID: 30341231.
256. Li X, Qie S, Wang X, Zheng Y, Liu Y, Liu G. The safety and efficacy of once-weekly glucagon-like peptide-1 receptor agonist semaglutide in patients with type 2 diabetes mellitus: a systemic review and meta-analysis. *Endocrine.* 2018;62(3):535-45. doi: 10.1007/s12020-018-1708-z. PubMed PMID: 30101378.
257. Boudreau V, Reynaud Q, Bonhoure A, Durieu I, Rabasa-Lhoret R. Validation of a Stepwise Approach Using Glycated Hemoglobin Levels to Reduce the Number of Required Oral Glucose Tolerance Tests to Screen for Cystic Fibrosis-Related Diabetes in Adults. *Can J Diabetes.* 2019;43(3):161-2. doi: 10.1016/j.jcjd.2018.11.005. PubMed PMID: 30713090.
258. Hanna RM, Weiner DJ. Overweight and obesity in patients with cystic fibrosis: a center-based analysis. *Pediatr Pulmonol.* 2015;50(1):35-41. doi: 10.1002/ppul.23033. PubMed PMID: 24757043.
259. Woldeamlak B, Yirdaw K, Biadgo B. Role of Gut Microbiota in Type 2 Diabetes Mellitus and Its Complications: Novel Insights and Potential Intervention Strategies. *Korean J Gastroenterol.* 2019;74(6):314-20. doi: 10.4166/kjg.2019.74.6.314. PubMed PMID: 31870137.
260. Reynaud Q, Boudreau V, Touzet S, Desjardins K, Bourdy SP, Blond E, et al. Glucose tolerance in Canadian and French cystic fibrosis adult patients. *Sci Rep.* 2019;9(1):4763. doi: 10.1038/s41598-019-40592-9. PubMed PMID: 30894563; PubMed Central PMCID: PMC6427035.
261. Balzer BW, Graham CL, Craig ME, Selvadurai H, Donaghue KC, Brand-Miller JC, et al. Low glycaemic index dietary interventions in youth with cystic fibrosis: a systematic review and discussion of the clinical implications. *Nutrients.* 2012;4(4):286-96. doi: 10.3390/nu4040286. PubMed PMID: 22606371; PubMed Central PMCID: PMC3347009.

262. Yatsunenko T, Rey FE, Manary MJ, Trehan I, Dominguez-Bello MG, Contreras M, et al. Human gut microbiome viewed across age and geography. *Nature*. 2012;486(7402):222-7. doi: 10.1038/nature11053. PubMed PMID: 22699611; PubMed Central PMCID: PMC3376388.
263. Schnorr SL, Candela M, Rampelli S, Centanni M, Consolandi C, Basaglia G, et al. Gut microbiome of the Hadza hunter-gatherers. *Nat Commun*. 2014;5:3654. doi: 10.1038/ncomms4654. PubMed PMID: 24736369; PubMed Central PMCID: PMC3996546.
264. Ostlund RE, Jr. Cholesterol absorption. *Curr Opin Gastroenterol*. 2002;18(2):254-8. doi: 10.1097/00001574-200203000-00017. PubMed PMID: 17033296.