

Université de Montréal

Diabète secondaire à la fibrose kystique: simplification du dépistage et impact clinique de
l'hyperglycémie

Par

Valérie Boudreau

Dirigée par Dr Rémi Rabasa-Lhoret

Département de Nutrition, Faculté de Médecine

Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de Philosophiae Doctor (Ph.D.)

en nutrition

Janvier 2021

© Valérie Boudreau, 2021

Université de Montréal

Faculté des études supérieures et postdoctorales

Cette thèse) intitulé(e)

Diabète secondaire à la fibrose kystique: simplification du dépistage et impact clinique de l'hyperglycémie

Présenté par

Valérie Boudreau

A été évalué(e) par un jury composé des personnes suivantes

Jean-Claude Lavoie

Président-rapporteur

Rémi Rabasa-Lhoret

Directeur de recherche

Jean-Marie Boutin

Membre du jury

Anne-Marie Carreau

Examineur externe

Résumé

L'espérance de vie des personnes atteintes de la fibrose kystique (FK) ne cesse d'augmenter. Cette dernière, dépassant maintenant les 50 ans au Canada, est associée à l'émergence de nouvelles complications secondaires de la maladie; la plus importante étant le diabète associé à la FK (DAFK). Près de 50% des patients adultes en sont atteints. Le DAFK a été associé à une diminution de la fonction pulmonaire, à une perte de poids et à une morbidité accrue. La maladie pulmonaire terminale est la première cause de mortalité en FK, alors que la perte de poids est associée à une diminution de la fonction pulmonaire. Ainsi, le DAFK augmente le risque de mortalité précoce. Il est avant tout causé par une diminution de la sécrétion d'insuline secondaire aux pancréatites chroniques. Toutefois, une sécrétion d'insuline minimale est maintenue, permettant généralement à la glycémie à jeun de demeurer normale longtemps. La présence ou non de résistance à l'insuline est controversée. Notre groupe de recherche a émis l'hypothèse que, dans un contexte de sécrétion d'insuline réduite, une variation dans la résistance à l'insuline (secondaire aux infections pulmonaires, à l'inflammation, à la médication, à une diète riche en gras, etc.) peut entraîner une dégradation de la tolérance au glucose. Un test de dépistage annuel est recommandé dès l'âge de 10 ans. L'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) nécessite que le patient soit à jeun, ait un accès veineux et que le test soit d'une durée de deux heures. Ce test est largement critiqué dans la littérature scientifique, puisque les seuils diagnostiques sont basés sur le risque de complications micro-vasculaires (seuils du diabète de type 2) et non sur les complications pulmonaires de la FK. Notre groupe de recherche vise donc à étudier les tests de dépistage alternatifs du DAFK. La glycémie à une heure du test d'HGPO est actuellement à l'étude en FK, puisqu'elle serait associée au déclin clinique propre à la FK. Notre groupe de recherche a émis l'hypothèse que la glycémie à 1-h de l'HGPO peut prédire l'évolution du poids et de la fonction pulmonaire sur plusieurs années. Les travaux de cette thèse se divisent en deux volets. Dans un premier temps, nous souhaitons étudier l'impact de la résistance à l'insuline sur l'évolution de la tolérance au glucose sur deux ans et l'impact des niveaux de la glycémie et de l'insuline à 1-h de l'HGPO sur les paramètres cliniques de la FK sur 4 ans. Dans un deuxième temps, une revue de la littérature sur les méthodes de dépistages actuelles et alternatives du DAFK a été

réalisée. Des études de validation de certains biomarqueurs du diabète ont également été réalisées dans notre cohorte de patients atteints de la FK (plus de 300 patients). Deux cohortes de patients atteints de la FK sont à l'étude. D'abord, la Montreal Cystic Fibrosis Cohort (MCFC) regroupe les patients adultes suivis au Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM). Établie en 2004, cette cohorte observationnelle regroupe plus de 300 patients qui font une visite d'HGPO chaque 12 à 24 mois. Ensuite, les données des patients de la cohorte MCFC ont été regroupées à celles d'une cohorte similaire établie à Lyon en France (150 patients). La nouvelle cohorte nommée GLYCONE vise à étudier l'impact des niveaux de la glycémie et de l'insuline à 1-h de l'HGPO sur l'évolution clinique (suivi prospectif de 4 ans). Les principales conclusions de cette thèse sont :

1. La résistance à l'insuline est impliquée dans le changement de tolérance au glucose sur 2 ans chez nos patients adultes;
2. Les patients de notre cohorte montréalaise ont une meilleure fonction pulmonaire et un poids plus élevé que les patients de la cohorte française. Toutefois, l'incidence de diabète et de pré-diabète est plus élevée dans la population canadienne;
3. La cohorte internationale GLYCONE montre que les niveaux de la glycémie à 1-h et à 2-h de l'HGPO n'influencent pas l'évolution clinique du poids et de la fonction pulmonaire sur 4 ans, suggérant que des mécanismes survenant plus tôt dans la vie permettent l'apparition des différences cliniques en fonction de la glycémie;
4. Une revue de la littérature scientifique montre que l'HGPO de 2-h doit demeurer le test standard de dépistage du DAFK, puisque les autres méthodes alternatives à l'étude n'ont pas démontré leur efficacité et;
5. Les biomarqueurs de dépistage alternatifs du DAFK tels que l'hémoglobine glyquée, la glycémie à jeun et les marqueurs de sensibilité à l'insuline ne permettent pas de cibler les patients diabétiques dans notre cohorte montréalaise. Toutefois, l'utilisation de ces marqueurs pourrait permettre de réduire le nombre de tests d'HGPO requis annuellement.

Mots-clés : fibrose kystique, diabète, fonction pulmonaire, poids, résistance à l'insuline, sécrétion d'insuline, hyperglycémie provoquée par voie orale et test de dépistage

Abstract

The life expectancy of people living with cystic fibrosis (CF) is increasing and is now over 50 years old in Canada. Higher life expectancy is associated with the emergence of new secondary complications of the disease; the most important being CF-related diabetes (CFRD). Almost half of adults with CF have CFRD. It has been associated with lung function decrease, weight loss and increased morbidity. End-stage lung disease is the leading cause of death in CF, while weight loss is associated with decreased lung function. Thus, CFRD increases the risk of early mortality. It is primarily caused by a decrease in insulin secretion secondary to chronic pancreatitis. However, minimal insulin secretion is maintained, usually allowing fasting blood glucose to remain normal for a long time. Whether or not there is insulin resistance is controversial. Our research group hypothesized that in a context of low insulin secretion, a change in insulin resistance (secondary to pulmonary infection, medication, a high fat diet, etc.) can lead to glucose intolerance. An annual screening test, the oral glucose tolerance test (OGTT), is recommended from the age of 10. The OGTT requires fasting, venous access, and lasts for two hours. This test is widely criticized in the scientific literature, since the diagnostic thresholds are based on the risk of microvascular complications (thresholds for type 2 diabetes) and not on pulmonary complications of CF. Our research group therefore aims to study alternative screening tests for CFRD. Glycemia at 1-hour of the OGTT is currently being investigated in CF, as it is believed to be associated with clinical decline specific to CF. Our research group hypothesized that the 1-h OGTT blood glucose can predict changes in weight and lung function over several years. The work of this thesis is divided into two sections. First, we wanted to study the impact of insulin resistance on the evolution of glucose tolerance over two years and the impact of 1-h glycemia and insulin of the OGTT on the CF clinical parameters over 4 years. Secondly, a review of the literature on current and alternative CFRD screening methods was carried out. Validation studies on diabetes biomarkers were also performed in our cohort of CF patients (over 300 patients). Two cohorts of CF patients are being studied. First, the Montreal Cystic Fibrosis Cohort (MCFC) includes patients followed at the Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM). Established in 2004, this observational cohort includes over 300 patients with an OGTT every 12 to 24 months. Then, data from the MCFC were

pooled with those of a similar cohort established in Lyon, France (150 patients). The new cohort named GLYCONE aims to study the impact of 1-h glycemia and insulin of the OGTT on the clinical course of CF patients (prospective follow-up of 4 years). The main conclusions of this thesis are:

1. Insulin resistance is implicated in the change in glucose tolerance over 2 years in our adult patients;
2. The patients of the MCFC have better lung function and a higher weight than the French patients. However, the incidence of diabetes and pre-diabetes is higher in the Canadian population;
3. The GLYCONE international cohort shows that 1-hour and 2-hour glucose levels of the OGTT do not influence the clinical course of weight and lung function over 4 years, suggesting that mechanisms occurring earlier in life allow the onset of clinical differences in blood glucose levels;
4. A scientific literature review shows that the 2-h OGTT blood glucose should remain the standard test for CFRD, since other alternatives methods have not been shown to be effective and;
5. Alternative screening biomarkers for CFRD such as glycated hemoglobin, fasting blood glucose and insulin sensitivity index do not allow us to target diabetic patients in our MCFC. However, the use of these markers could reduce the number of required annual OGTT.

Keywords: cystic fibrosis, diabetes, pulmonary function, weight, insulin resistance, insulin secretion, oral glucose tolerance test and screening test

Table des matières

Résumé.....	5
Abstract	9
Table des matières.....	11
Liste des tableaux.....	15
Liste des figures	17
Liste des sigles et abréviations	19
Remerciements.....	23
Chapitre 1 – Introduction	25
1.1 La fibrose kystique.....	25
1.2 Transmission génétique de la fibrose kystique.....	26
1.2.1 Rôles du gène CFTR.....	26
1.2.2 Classes de mutation du gène CFTR.....	28
1.2 Pathophysiologie de la fibrose kystique.....	30
1.2.1 Diagnostic de la FK.....	30
1.2.2 Manifestations pulmonaires	31
1.2.3 Manifestations digestives	33
1.2.4 Complications osseuses	34
1.2.5 Autres complications	35
1.2.6 Considérations psychologiques.....	37
1.3 Traitements de la fibroses kystiques.....	37

1.3.1 Thérapie nutritionnelle	37
1.3.2 Thérapies pulmonaires	39
1.3.3 Thérapies géniques.....	40
1.4 Diabète associé à la fibrose kystique	41
1.4.1 Prévalence du DAFK et facteurs de risque.....	41
1.4.2 Pathophysiologie du DAFK.....	44
<i>Sécrétion d'insuline et rôle du CFTR dans le DAFK</i>	44
<i>Rôle de la résistance à l'insuline</i>	46
<i>DAFK et autres diabètes</i>	47
1.4.3 Diagnostic du DAFK.....	48
1.4.4 Traitement du DAFK	51
Chapitre 2 – Objectifs et hypothèses.....	55
Volet 1 : Études concernant l'impact clinique de l'hyperglycémie et la pathophysiologie du DAFK	55
Volet 2 : Études concernant le dépistage du DAFK.....	56
Chapitre 3 – Méthodologie	57
Définition des cohortes à l'étude.....	57
Volet 1 : Études concernant l'impact clinique de l'hyperglycémie et la pathophysiologie du DAFK	59
Volet 2 : Études concernant le dépistage du DAFK.....	69
Chapitre 4 – Résultats	73
Article 1 – Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity?.....	73

Article 2 – Glucose tolerance in Canadian and French cystic fibrosis adult patients	93
Article 3- Impact of 1h oral glucose tolerance test hyperglycemia and hypoinsulinemia on the clinical status of adult cystic fibrosis patients over a 4-year period.....	116
Article 4 – Screening for Cystic Fibrosis-Related Diabetes: Matching Pathophysiology and Addressing Current Challenges.....	135
Article 5 – Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes	149
Article 6 – Sensitivity and specificity of cystic fibrosis-related diabetes screening methods: which test should be the reference method?	157
Article 7 – 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.....	165
Article 8 - What is the real usefulness of glycated hemoglobin levels for diabetes screening in patients with cystic fibrosis?	171
Chapitre 5 – Discussion	177
Sommaire des résultats.....	177
Pathophysiologie du DAFK.....	180
Présence de la résistance à l’insuline en FK	183
Contribution de la cohorte GLYCONE à l’avancée des connaissances.....	187
Dépistage du DAFK.....	190
Forces et limites des études	194
Perspectives sur la compréhension du DAFK et sur l’optimisation de son dépistage.....	196
Chapitre 6 – Conclusions	198
Références bibliographiques	199

Annexe..... 211

Annexe 1 – Autres contributions scientifiques et rayonnement..... 211

Liste des tableaux

Introduction

Tableau 1. – Grade de sévérité de la fonction pulmonaire en fonction d'un test de spirométrie (American Thoracic Society)	32
Tableau 2. – Recommandations quotidiennes américaines en vitamine liposolubles (39, 62) 38	
Tableau 3. – Classes de tolérance au glucose (104)	48

Article 1

Table 1. Physical and biochemical cohort characteristics of adult patients with CF at baseline.	88
Table 2. Parameters of glucose and insulin homeostasis of adult patients with CF at baseline..	89
Table 3. Physical and biochemical characteristics at baseline and at follow-up (mean duration of 21.2 ± 5.5 months).	90

Article 2

Table 1. Comparison of demographic characteristics and clinical data at inclusion of the Canadian and French patients.	109
Table 2. Comparison between glucose tolerance groups of the Canadian and French patients.	111

Article 3

Table 1. Patient characteristics at entry in each cohort	132
Table 2 Effect of PG60 at baseline on the change in FEV1 over time and Effect of IG60 at baseline on the change in BMI over time	132

Article 4

Table 1. Summary of screening tests for glucose abnormalities and cystic fibrosis-related diabetes 147

Article 5

Table 1. Specificity and sensitivity of theHbA1c as a screening tool for cystic fibrosis- related diabetes (n = 207 OGTTs, including 22 CFRD). 156

Article 6

Table 1 Characteristics of CF patients according to glucose tolerance groups and performance of indices to screen for CFRD vs. the OGTT..... 164

Article 7

Table 1. Characteristics of the patients in the GLYCONE database on the day of the OGTT 169

Table 2. Sensitivity and specificity of A1C levels to screen for CFRD 170

Liste des figures

Introduction

Figure 1. –	Transmission génétique de la fibrose kystique (9)	26
Figure 2. –	Classification des mutations du gène CFTR (4).....	29
Figure 3. –	Prévalence des complications de la FK selon le registre américain de la FK (Cystic Fibrosis Foundation) (57)	37
Figure 4. –	Prévalence du DAFK en fonction de l'âge des patients (78)	42
Figure 5. –	Évolution du spectre glycémique en fibrose kystique (83).....	43
Définitions de la figure 5 : Abnl CGM; abnormal continuous glucose monitoring, INDET; indeterminate glucose tolerance, IGT; impaired glucose tolerance, CFRD; cystic fibrosis-related diabetes, FH-; without fasting hyperglycemia, FH+; with fasting hyperglycemia and T1D; type 1 diabetes.....		43

Article 1

Figure 1 Transition of glucose tolerance status after two 2-hour OGTT (1.75 g/kg of glucose) in adult patients with CF (N = 152) over 21.2 ± 5.5 months. Full line, improved glucose tolerance; dotted line, stable glucose tolerance; bold line, deteriorated glucose tolerance. Abbreviations: NGT, Normal glucose tolerance; IGT, Impaired glucose tolerance; CFRD, Cystic fibrosis-related diabetes..... 91

Figure 2 Disposition index for A) stable, B) deteriorated and C) improved glucose tolerance groups. Total insulin secretion index was adjusted for insulin sensitivity index for each transition group of glucose tolerance (n = 84 patients from the stable group, n = 22 from the improved group and n = 46 from the deteriorated group). AUC₀₋₁₂₀ during OGTT reflects the total insulin secretion index, and the insulin sensitivity index represents the Stumvoll index. White diamond, Baseline; Black square, Follow-up. Arrows indicate transition from baseline to follow-up. Data are represented as \pm SEM. 92

Article 2

Figure 1. Insulin secretion ($\mu\text{U}/\text{dl}$) at start, 1-h and 2-h of the OGTT for. (a) NGT, (b) AGT and (c) CFRD patients according to their respective cohorts: black dot (•) for Canadian patients and black square (■) for French patients. Values are presented as mean \pm SEM. Abbreviations: AGT: abnormal glucose tolerance, CA: Canadian patients, CFRD: cystic fibrosis-related diabetes, FR: French patients, NGT: normal glucose tolerance. 113

Figure 2. Spearman’s correlation for (a) BMI and FEV1 in NGT patients (b) BMI and FEV1 in AGT patients and (c) BMI and FEV1 in CFRD patients (d) BMI and AUC glucose in NGT patients (e) BMI and AUC glucose in AGT patients (f) BMI and AUC glucose in CFRD patients (g) BMI and AUC insulin in NGT patients (h) BMI AUC insulin in AGT patients (i) BMI and AUC insulin in CFRD patients. Blue diamond: Canadian cohort and Red square: French cohort. 114

Figure 3. Mean FEV1 change in FEV1 according to glucose tolerance subgroup and cohort. Values are presented as mean \pm SEM. Abbreviations: AGT: abnormal glucose tolerance, CA: Canadian patients, FR: French patients, NGT: normal glucose tolerance. 115

Article 3

Figure 1. Prototypical FEV1 trajectories for Canadian and French patients according high PG60 values (≥ 11.1 mmol/l) at entry in each cohort 134

Figure 2. Prototypical BMI trajectories for Canadian and French patients according high IG60 values (≥ 24 mU/l³) at entry in each cohort 134

Liste des sigles et abréviations

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

CFTR : cystic fibrosis transmembrane conductance regulator

DAFK : diabète associé à la fibrose kystique

DMO : densité minérale osseuse

ENac : epithelial sodium channel

FK: fibrose kystique

F508del, Δ F508 ou Phe508del : délétion de la phénylalanine à la position 508 de la protéine du CFTR

GLUT4 : transporteur de glucose; glucose transporter type 4

HbA1c : hémoglobine glyquée

HGPO : hyperglycémie provoquée par voie orale

HOMA-IR : homeostatic model assessment- insulin resistance

IGT : *impaired glucose tolerance* ou intolérance au glucose

IMC : indice de masse corporel

INDET : *indetermined glucose tolerance* ou tolérance indéterminée au glucose

Kg : kilogrammes

MCFC : Montreal Cystic Fibrosis Cohort

NHANES : National Health and Nutrition Examination Survey

NGT : *normal glucose tolerance* ou tolérance normale au glucose

PA : pseudomonas aeruginosa

PP : post-prandial

RE : réticulum endoplasmique

SCG : surveillance en continu de la glycémie

UI : unités internationales

VEMS : volume expiratoire maximum en une seconde exprimé en litres

VEMS% : volume expiratoire maximum en une seconde exprimé en pourcentage

À ma famille qui m'a toujours soutenue, merci!

À Livia, mon amour,

« La seule chose qui puisse empêcher un rêve d'aboutir, c'est la peur d'échouer. »

- *Paulo Coelho*

Remerciements

Les premiers remerciements vont à ma famille qui a été d'un support incroyable depuis toujours. Maman, papa, vous m'avez toujours encouragée à poursuivre mes rêves et à aller au bout de mes ambitions. Gabriel, tu m'as toujours encouragée et motivée. Marie-Hélène, nos discussions sur les sciences de la santé m'ont aidé à murir mes idées. Un merci tout spécial à Guylain et Daniel, mes beaux-parents en or. Merci pour votre soutien. Vous m'avez toujours fait sentir aimée et valorisée.

À mes amies de toujours, Audrey et Marie-Pier, mes âmes sœurs, merci d'avoir toujours été là pour moi. Nous nous comprenons, sans même nous exprimer clairement (mention spéciale à nos bébés pour nos *mommy brain*). Aristote affirmait que l'amitié, c'est une même âme séparée dans deux corps, mais nous le corrigeons depuis l'école secondaire, puisque notre âme réside dans trois corps. Je vous aime. Katherine et Josée, nous sommes devenues collègues, puis de très proches amies pendant nos maîtrises ensemble, mais surtout pendant quelques congrès mémorables. Au fil des ans, nous sommes devenues de plus en plus soudées. Nos moments fous en congrès, nos périodes de stress avant une présentation et nos périodes de travail dans des cafés vont me manquer. Heureusement, il nous reste les 5 à 7 ! Merci pour vos encouragements et votre précieuse amitié. Julie, Valérie, Catherine et Catherine, chaque moment avec vous à l'IRCM a rendu mon cheminement plus agréable, plus facile et plus inspirant. Je suis choyée de vous avoir côtoyé pendant ma maîtrise et mon doctorat, et de pouvoir toujours compter sur votre amitié. Andréanne, j'ai eu la chance d'évoluer avec toi pendant un bon moment de mes études supérieures. Je pense que nous avons su faire ressortir le meilleur l'une de l'autre et que notre amitié en est ressortie plus forte au fil des ans. Lucas, Johann, Cindy, Élisabeth et Anne, j'ai apprécié chaque moment avec vous dans notre superbe bureau. Merci pour votre support, vos encouragements et votre amitié.

Sans l'incroyable équipe du *Rab Lab*, je n'aurais jamais pu mener à terme mes projets de recherche. Un gros merci à tous, plus spécialement à Diane pour l'aide avec tous les dosages et son expertise, à Katherine pour sa rigueur et son raisonnement scientifique et à Josée pour ses

encouragements, l'aide et pour son écoute. Un gros merci à Adèle qui m'a prise sous son aile au tout début de ma maîtrise. Tu m'as tout montré, de la prise en charge des patients, à l'analyse statistique (pas facile au début !), jusqu'à la rédaction de mon tout premier papier. Merci pour ta patience.

Merci à mon amour, Jean-Simon, pour son soutien et son support inconditionnel. Tu as su m'épauler dans les hauts comme dans les bas du long processus des études post-graduées. Tu as su me supporter pendant ma grossesse en plein examen pré-doctoral et être un papa extraordinaire pour notre Livia, lorsque j'en avais vraiment besoin. Sans toi, je n'aurais pas survécu à la rédaction de cette thèse en pleine pandémie ! Merci à Livia de m'avoir applaudi à quelques reprises du haut de ses 14 mois. Je vous aime toi et la cocotte.

Finalement, un petit mot pour Rémi, qui est devenu bien plus qu'un mentor pour moi au fil des ans. Vous êtes une personne d'une grande écoute, qui pense toujours au bien des autres avant son propre bien et l'un des meilleurs enseignant qui soit. Votre passion et votre énergie sont contagieuses. J'ai cheminé grandement pendant mes années dans votre laboratoire, tant sur le plan personnel que scientifique. Je me considère particulièrement chanceuse d'avoir eu la chance de vous côtoyer et d'apprendre de vous pendant tout ce temps. Les mots me manquent pour vous exprimer toute ma reconnaissance.

Chapitre 1 – Introduction

1.1 La fibrose kystique

La fibrose kystique (FK) est une maladie héréditaire récessive signifiant que la transmission d'un allèle muté par les deux parents est nécessaire pour la développer. Il s'agit d'une maladie rare, pour laquelle il n'existe aucun traitement curatif à ce jour. Néanmoins, l'amélioration des traitements des complications de la maladie au cours du vingtième siècle a permis une augmentation impressionnante de l'espérance de vie. Alors que l'espérance de vie des enfants atteints de la FK n'était que de quelques mois dans les années 1950, elle dépasse maintenant les 50 ans au Canada (1, 2). Au début du siècle dernier, la FK était une maladie infantile, alors qu'il est maintenant estimé que 60% des personnes atteintes de la FK au Canada sont des adultes. Les prédictions européennes sont même de 70% de patients adultes estimés pour 2025 (1, 3). La cause de décès principale est maintenant l'insuffisance respiratoire suite à une maladie pulmonaire progressive, tandis que les enfants des années 50 décédaient principalement des suites de l'iléus méconial (occlusion intestinale du nouveau-né) ou plus tard en raison de la malnutrition secondaire à la malabsorption pancréatique (diminution importante de la sécrétion d'enzymes digestives du pancréas exocrine) (4). L'augmentation importante de l'espérance de vie est principalement due au diagnostic précoce permettant la mise en place de traitements médicaux plus rapides et agressifs, en plus d'une prise en charge précoce de la malnutrition. L'efficacité croissante des traitements médicaux, incluant des agents antibiotiques (ralentir la croissance bactérienne) et mucolytiques (servant à augmenter la fluidité du mucus), a optimisé la prise en charge clinique de ces patients et l'arrivée de la greffe pulmonaire permet à plusieurs patients atteints d'une maladie pulmonaire terminale de survivre. En 2018 au Canada, 60 patients ont reçu une greffe pulmonaire à un âge médian de 30 ans (5). La moitié des patients qui reçoivent une greffe vivent plus de 10 ans (5). Aujourd'hui, les traitements thérapeutiques pouvant potentialiser l'activité du gène défectueux (*cystic fibrosis transmembrane conductance regulator*; *CFTR*) responsable de la maladie ou encore corriger son défaut génétique font leur apparition sur le marché. Bien que ces thérapies soient toujours récentes et qu'elles ne visent pas toutes les

mutations de la maladie, les données cliniques sont prometteuses, surtout concernant l'amélioration des paramètres respiratoires (6).

1.2 Transmission génétique de la fibrose kystique

1.2.1 Rôles du gène CFTR

La fibrose kystique (FK) est causée par une mutation du gène CFTR et, bien qu'elle soit une maladie rare, elle est la maladie autosomique récessive la plus fréquemment retrouvée dans la population caucasienne, affectant une naissance sur 3600 (2, 7, 8). Il s'agit donc d'une maladie touchant un peu plus de 4000 personnes au Canada. Pour en être atteint, les deux parents doivent être porteurs d'une mutation du gène CFTR. Lorsque les deux parents sont porteurs d'un allèle muté, les chances de transmission d'au moins un allèle muté à l'enfant sont de 50%, alors que les chances de transmettre les deux allèles mutés sont de 25%. Les personnes avec un seul allèle muté de la maladie ne développent pas de complications mais sont dites porteurs de la maladie. Les personnes recevant les deux allèles mutés développeront la maladie (figure 1).

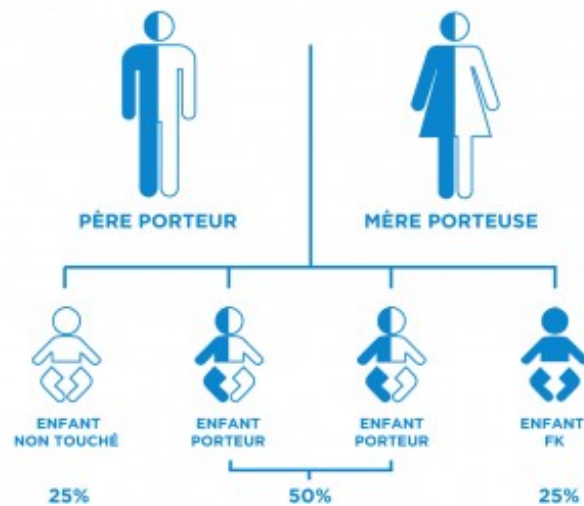


Figure 1. – Transmission génétique de la fibrose kystique (9)

Le gène CFTR a été caractérisé et cloné pour la première fois en 1989 (10, 11). Situé sur le chromosome 7 et portant ~180 000 paires de bases, il code pour une protéine du même nom. Le CFTR est un canal ionique de 1480 acides aminés membres de la famille des gènes transporteur d'adenosine triphosphate-binding cassette aussi appelée *ATPase trafic* (12). La protéine est située sur la membrane apicale des cellules épithéliales de nombreux organes dont le pancréas, le foie, le tube digestif et les voies respiratoires. Il s'agit d'une glycoprotéine régulée par la protéine kinase A adénosine monophosphate cyclique (AMPC)-dépendant. Ce canal est responsable notamment du transport des ions de chlore (Cl^-) et de bicarbonates (HCO_3^-) à travers la membrane cellulaire (13, 14). Cette protéine interagit également avec le canal sodique épithélial (ENac; epithelial sodium channel) pour réguler l'équilibre hydrique. Dans des circonstances normales, le CFTR permet la sortie des ions de chlore et des bicarbonates qui normalisent le pH. Le CFTR permet aussi la régulation de ENac et donc des échanges de sodium (15). Normalement, la sortie du chlore des cellules produisant du mucus s'accompagne d'eau, réduisant l'épaisseur du mucus à la surface des cellules épithéliales. Le CFTR régule à la baisse l'absorption du sodium. Le volume du liquide en surface des voies respiratoires dépend à la fois des canaux CFTR et ENac. En cas de dysfonction ou d'absence du CFTR, l'excrétion du chlore est diminuée, le pH diminue et une hyper-réabsorption du sodium s'installe menant à l'apparition d'un mucus déshydraté à la surface des cellules épithéliales. Les voies respiratoire se déshydratent, entraînant une clairance mucociliaire sous-optimale et un mucus qui adhère aux voies respiratoires (4). L'obstruction des voies respiratoires s'accompagne d'infiltration de neutrophiles, lesquels relâchent des cytokines pro-inflammatoires et des protéases dont des élastases contribuant ainsi à la destruction des tissus (14, 16). Au niveau pulmonaire, l'accumulation de mucus est la principale cause des difficultés respiratoires. Ce mucus permet également la colonisation chronique par des bactéries pathogènes dont *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et plusieurs autres. Un état d'hyper-inflammation chronique, de réponse immunitaire innée diminuée et des infections pulmonaires à répétitions est souvent présent (4). Ainsi, plus de 95% des personnes atteintes de FK décèdent d'une insuffisance respiratoire progressive (17).

Selon les mutations du gène CFTR menant à l'apparition de la FK, l'activité de la protéine CFTR se voit diminuée ou absente. La protéine peut être présente mais peu fonctionnelle, ou absente due

à un problème de synthèse ou encore de transport vers la membrane plasmique (18). Les différentes mutations génétiques (génotypes) confèrent des présentations cliniques différentes selon les cas (phénotype).

1.2.2 Classes de mutation du gène CFTR

La protéine CFTR est soumise à un processus de maturation qui débute dans le réticulum endoplasmique (RE) pour être ensuite transportée à la surface cellulaire épithéliale apicale. Les mutations du gène peuvent affecter la synthèse, la maturation, l'épissage, la stabilité à la surface membranaire, l'activation et la conduction de la protéine (19-21). Le CFTR peut donc être absent, réduit en quantité ou présent mais peu ou pas fonctionnel. À ce jour, plus de 2000 mutations génétiques du CFTR pouvant causer la FK ont été identifiées. Ces dernières peuvent être regroupées en classes de génotypes selon le niveau de fonction résiduelle du CFTR. Cette classification n'est pas parfaite puisque certaines mutations pourraient appartenir à plus d'une classe, mais elle permet néanmoins de mieux comprendre le phénotype des patients ainsi que les thérapies géniques émergentes (14). Il existe 6 classes de mutations (I à VI), la première incluant les mutations sans formation de protéine CFTR fonctionnelle, jusqu'à la dernière, celles codant pour une protéine fonctionnelle, mais peu stable (figure 2). La classe 1 représente les mutations de non-sens (codon d'arrêt), ce qui résulte en une absence complète de protéine CFTR. La classe 2 contient les mutations avec un défaut de traitement de la protéine (*processing defect*). La mutation la plus fréquente au Canada est la Phe508del ($\Delta F508$ ou F508del) de la classe II (délétion de la phénylalanine à la position 508 de la protéine du CFTR) : 48,6% des patients sont homozygotes pour cette mutation alors que 40,6% sont hétérozygotes, ce qui signifie que seulement 10,8% ne sont pas touchés par cette mutation (1). Cette dernière entraîne un problème de repliement de la protéine et donc une instabilité dans le RE. La protéine malformée sera donc dégradée par le protéasome (14). La classe III représente les mutations qui permettent la synthèse complète du CFTR, mais avec un problème de transport ou d'activation, résultant en une absence totale de CFTR fonctionnel. La mutation c.1652G -> A, aussi appelée G551D, de la classe III, est la mutation la plus commune de cette classe et touche de 2 à 4% des patients atteints de FK. Dans le cas de cette mutation, l'ouverture du canal est réduite d'environ 100 fois par rapport à un CFTR normal. Les patients portant cette mutation ont été parmi les premiers à

pouvoir expérimenter les nouvelles molécules pharmaceutiques géniques pouvant potentialiser l’action du CFTR en permettant une ouverture pharmacologique du canal (14). Les mutations de la classe IV résultent en un CFTR défectueux à cause d’un défaut de conductance ionique. Puisque la protéine est présente à la surface membranaire, des thérapies sont possibles pour augmenter son activité. Les mutations de la classe V sont caractérisées par la présence rare de CFTR fonctionnant normalement. Dans la classe VI, le CFTR est produit et fonctionnel, mais la stabilité de la protéine est réduite. Ainsi, il est généralement accepté que les mutations des classes I à III sont dites sévères suite à l’absence quasi complète de CFTR fonctionnel menant à un phénotype sévère de la maladie, alors que les mutations des classes IV à VI sont plus légères, puisqu’une action résiduelle du CFTR demeure présente (fonction pulmonaire moins affectée et moins de malabsorption) (14, 22).

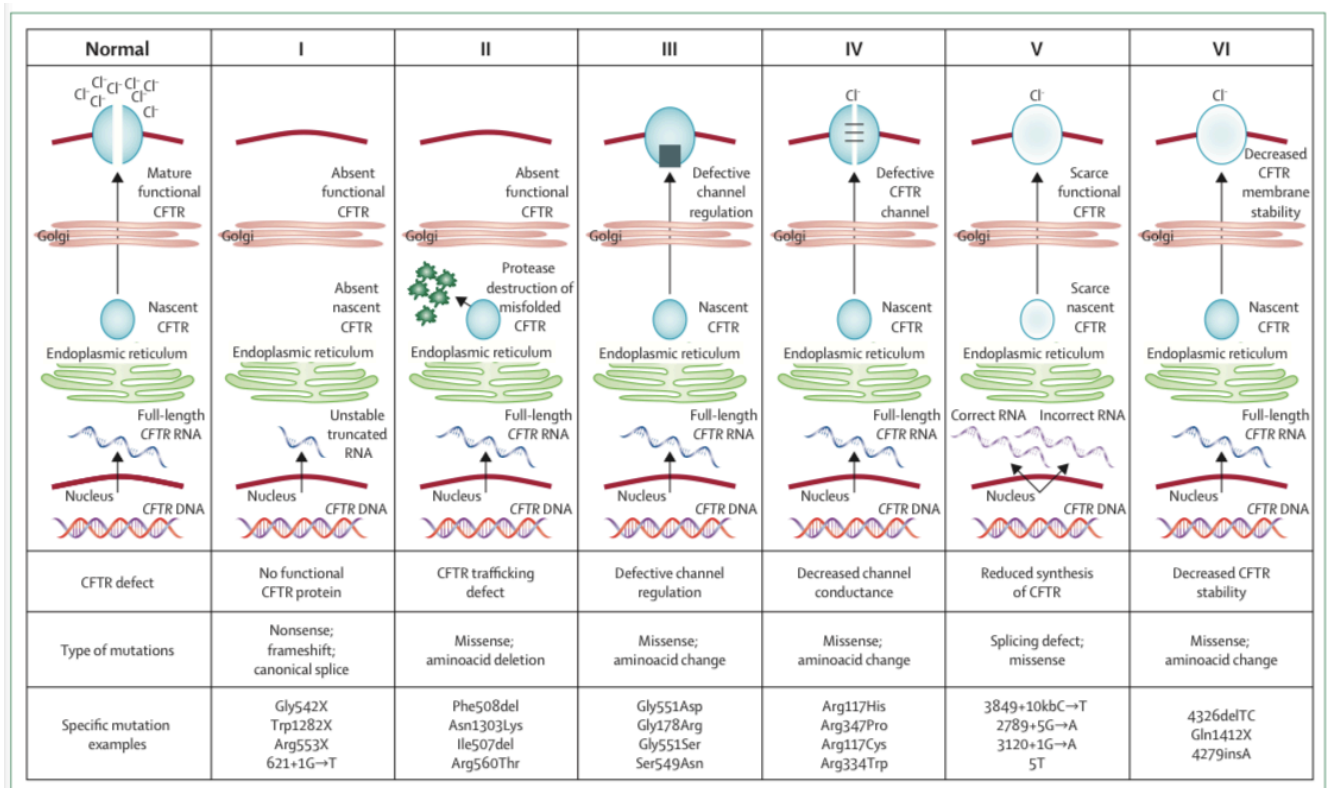


Figure 2. – Classification des mutations du gène CFTR (4)

La mutation Phe508del étant la plus répandue et jugée sévère, plusieurs études cliniques regroupent les patients en fonction de cette mutation, soit de la façon suivante : $\Delta F508$ *homozygote* lorsque les deux allèles mutés sont de cette mutation, $\Delta F508$ *hétérozygote* lorsqu'un seul des allèles présente cette mutation ou *autres* dans le cas où les deux allèles mutés résultent d'une autre mutation. Dans certaines études, on préfère regrouper les patients selon la sévérité du génotype décrite plus tôt (6 classes). Selon certains auteurs, une classification en fonction des 6 classes est plus précise que la classification en fonction de la mutation $\Delta F508$ (22). Dans ces études, dans le cas d'une mutation hétérozygote, la classe est choisie en fonction de l'allèle qui n'est pas porteur de la mutation $\Delta F508$. Par exemple, un patient avec les mutations $\Delta F508$ et $621 + 1G \rightarrow T$ aurait un phénotype sévère, puisque la dernière mutation appartient à la classe I (22).

1.2 Pathophysiologie de la fibrose kystique

1.2.1 Diagnostic de la FK

Au début du siècle dernier, la FK était caractérisée par une perte de sueur salée. Le gène responsable n'ayant été découvert qu'en 1989, le dépistage reposait uniquement sur un test de sudation. Au Canada, il a été démontré que plus le dépistage est précoce, meilleur est l'accès aux traitements et qu'un impact positif à long terme s'observe sur la santé des patients (23). À travers le monde, le dépistage néonatal est associé à une moins grande sévérité de la maladie, à une moins grande lourdeur des traitements et à une réduction des coûts de santé (4). Aujourd'hui, il existe un système de dépistage néonatal pancanadien. En 2018, le Québec est la dernière province canadienne à avoir instauré un système de dépistage néonatal systématique. Un test sanguin puis urinaire permettent de mesurer la trypsinogène immunoréactive, une enzyme impliquée dans la perméabilité membranaire. Les bébés avec un taux élevé sont alors référés pour une analyse génétique d'une mutation dans le gène CFTR. Un test de sudation est également effectué dans la confirmation du diagnostic. Ce test permet de mesurer la quantité de Cl^- dans la sueur, qu'on peut également associer à la sueur salée (23, 24).

1.2.2 Manifestations pulmonaires

Les troubles respiratoires sont présents chez la majorité des gens atteints de FK et sont la principale cause de décès dans cette population (25, 26).

Dès un très jeune âge, *l'accumulation de mucus*, la clairance mucociliaire diminuée, le milieu pro-inflammatoire et la colonisation bactérienne causent rapidement des symptômes de difficultés respiratoires et des infections pulmonaires. Il a été observé que plus du tiers des patients ont déjà au moins une *bronchiectasie* au CT-scan (computerized tomography scan) dans les premiers mois de vie (4). La bronchiectasie est le plus souvent causée par des infections respiratoires à répétition. Elle se caractérise par des lésions pulmonaires irréversibles avec une augmentation permanente et irréversible du calibre des bronches et/ou bronchioles. Ces lésions sont associées à un nombre grandissant de neutrophiles produisant des élastases, causant ainsi encore plus de dommages aux poumons. Vers trois ans, plus de 80% des patients en seraient atteints (27).

Ces conditions favorisent une colonisation bactérienne et des épisodes de surinfection. La bactérie *Staphylococcus aureus* est présente au niveau des poumons à un jeune âge. Bien que cette dernière se retrouve dans un environnement normal, la membrane épithéliale étant déjà compromise, sa croissance sera facilitée, menant à des infections pulmonaires (4, 28). Avec le temps, la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* (PA) sera responsable du plus grand nombre d'infections pulmonaires. Au Canada, 39% des patients atteints de FK sont chroniquement colonisés à PA (5). D'autres bactéries à Gram-négatif sont associées à des infections pulmonaires dont *Stenotrophomonas maltophilia*. Les bactéries colonisant les poumons développent des résistances aux antibiotiques chez la majorité des patients, menant ainsi à une colonisation dite chronique et à des traitements antibactériens intraveineux sur une base régulière. La bactérie *Burkholderia cepacia* est associée à une mortalité accrue et à une résistance aux traitements. Pour éviter la contagion d'un patient à l'autre, la plupart des centres traitant les patients à travers le monde mettent en place des procédures rigoureuses pour que les patients ne soient pas en contact les uns avec les autres. Des mesures d'hygiène et d'isolation strictes sont appliquées (29).

La fonction pulmonaire est évaluée plusieurs fois par année par un test de *spirométrie*. Ce test permet de mesurer le volume expiratoire maximum en une seconde (VEMS). Cette valeur exprimée en litre permet ensuite de prédire une fonction pulmonaire en pourcentage avec une formule mathématique en fonction de l'âge, de l'origine ethnique, de la grandeur et du sexe. Cette valeur est alors exprimée en pourcentage (VEMS%). Les valeurs prédites sont généralement basées sur le National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III) (30). Le suivi régulier des valeurs de spirométrie permet d'établir la gravité de la maladie pulmonaire et son évolution. Une fonction pulmonaire de près de 100% est associée à une excellente fonction pulmonaire, tandis qu'une fonction pulmonaire de moins de 70% correspond à une atteinte de la capacité respiratoire. Les patients avec un résultats de 30% et moins peuvent être inscrits sur une liste d'attente pour recevoir une transplantation pulmonaire (30). Le tableau 1 représente les grades de sévérité de la fonction pulmonaire établis par l'American Thoracic Society (31). Il est généralement accepté que la fonction pulmonaire diminue légèrement au fil des ans. Toutefois, les patients les plus malades verront leur fonction pulmonaire diminuer plus rapidement, pouvant mener à l'insuffisance respiratoire terminale. Après 30 ans, la diminution de la fonction pulmonaire est généralement moins prononcée. Toutefois, ces patients sont ceux ayant survécu jusqu'à un âge avancé et sont donc ceux qui étaient probablement déjà moins malades (32).

Sévérité de l'atteinte pulmonaire	Valeur prédite de VEMS (%)
Légère	> 70
Modérée	60 à 69
Modérément sévère	50 à 59
Sévère	35-49
Très sévère	< 35

Tableau 1. – Grade de sévérité de la fonction pulmonaire en fonction d'un test de spirométrie
(American Thoracic Society)

Les *surinfections pulmonaires* peuvent affecter directement la survie des patients en diminuant significativement la fonction pulmonaire par plus de 10% (33). Bien qu'il n'existe pas de consensus de diagnostic des exacerbations pulmonaires, la présence de plusieurs des symptômes suivants peut nécessiter un traitement par antibiothérapie par voie orale ou intraveineuse (34):

1. Changement dans les expectorations
2. Hémoptysie nouvelle ou accrue
3. Augmentation de la toux
4. Augmentation de la dyspnée
5. Augmentation des malaises, de la fatigue ou de la léthargie
6. Fièvre
7. Perte de poids
8. Douleur ou sensibilité sinusale
9. Changement à l'examen thoracique
10. Réduction du VEMS de 10%
11. Radiographie indiquant une infection pulmonaire

1.2.3 Manifestations digestives

Le CFTR est exprimé tout au long du tractus gastro-intestinal passant des glandes salivaires, à l'estomac, à l'intestin grêle et au colon, au foie, au pancréas et à la vésicule biliaire (35, 36). *L'insuffisance pancréatique exocrine* est une complication commune de la FK. À cause de l'accumulation de mucus obstruant les canaux pancréatiques, les enzymes digestives nécessaires à l'absorption de certains nutriments dans l'intestin demeurent dans le pancréas (37). La réduction de sécrétion des bicarbonates retarde la neutralisation de l'acidité gastrique dans le duodénum. L'hyper-acidité au niveau du pancréas exocrine favorise quant à elle une activation précoce des enzymes digestives, avant leur sécrétion dans le duodénum, menant à une destruction des cellules acini pancréatiques (38). Cette destruction s'accompagne d'inflammation, de fibrose et de kystes, d'où l'origine de l'appellation de la maladie : fibrose kystique (du pancréas) (39). La malabsorption des lipides dont les vitamines liposolubles est importante, d'où les recommandations d'une diète riche en lipides (35-40% de l'apport énergétique) et de compléter pour ces vitamines (A, D, E et K). À la naissance, de 60 à 80% des enfants sont déjà atteints d'insuffisance pancréatique exocrine (39). Cette malabsorption est donc causée en partie par l'absence de sécrétion d'enzymes pancréatique dans l'intestin, mais aussi par l'accumulation intestinale de mucus. Ce mucus affecte la formation des micelles ainsi

que leur absorption (40). Un dosage de l'élastase fécale permet de détecter la présence de lipides dans les selles, confirmant une malabsorption (41). Les patients avec une atteinte sévère de la maladie sont plus à risque de présenter une insuffisance pancréatique exocrine nécessitant une supplémentation orale en enzymes digestives. Les patients atteints de FK doivent prévenir la dénutrition causée notamment par le déficit énergétique secondaire à malabsorption, mais aussi par une dépense énergétique accrue due aux difficultés respiratoires. Ainsi, en plus d'une malabsorption marquée, les patients atteints de FK ont des besoins nutritionnels très élevés, pouvant aller jusqu'à 200% des besoins en énergie d'une personne qui n'en est pas atteinte, et ce, malgré une supplémentation orale d'enzymes digestives (42). Le maintien ou l'atteinte d'un poids adéquat en FK est essentiel puisque l'indice de masse corporelle (IMC) des patients est directement associé à de meilleurs paramètres cliniques, dont à une meilleure fonction pulmonaire (43). Malgré les thérapies nutritionnelles intensives, les carences sont fréquentes en FK (43). En plus de la malabsorption, le mucus accumulé entraîne d'autres symptômes digestifs tels que les ballonnements, la constipation et la douleur abdominale (44). L'occlusion intestinale partielle ou complète est fréquente chez les patients avec une mutation sévère de la maladie et se traite généralement par l'utilisation de laxatifs oraux (45).

Les dommages autodestructifs causés au pancréas peuvent également affecter sa fonction endocrine avec le temps, menant à l'intolérance au glucose et au diabète associé à la FK (DAFK) (38).

1.2.4 Complications osseuses

Parallèlement à l'augmentation de l'espérance de vie, les complications osseuses associées à la FK ont émergé. En plus d'avoir une masse maigre généralement plus faible que celle de la population générale, les patients FK ont également une densité minérale osseuse (DMO) plus faible. Entre 10 à 15% de tous les patients et jusqu'à 50% de ceux dans un stade avancé de la maladie auraient une faible DMO (46). Le risque d'avoir une DMO faible augmente avec l'âge, touchant jusqu'à 75% des patients adultes(47). Cette situation place les patients en situation de risque accru d'ostéopénie et de fractures(48). La prévalence de l'ostéoporose en FK varie en fonction des critères diagnostiques utilisés et des études. La prévalence moyenne serait de 24%

pour l'ostéoporose chez les adultes (défaut de solidité de l'os l'associant à un risque de fracture) et de 39% pour l'ostéopénie (déminéralisation osseuse modérée) (49). La maladie osseuse en FK est d'origine multifactorielle (50). Le risque de complications osseuses est augmenté par un faible poids, une atteinte pulmonaire sévère, des taux diminués de vitamine K et de vitamine D (malabsorption), l'utilisation de corticostéroïdes, les taux élevés de cytokines pro-inflammatoires et la résorption osseuse augmentée. La pathophysiologie de l'os est complexe en FK et l'expression du CFTR dans les cellules osseuses pourrait être impliquée (51, 52). L'absence de CFTR fonctionnel dans les ostéoblastes, cellules osseuses assurant la formation osseuse, est montrée du doigt (49). Des études animales montrent que les animaux déficients en CFTR ont une formation osseuse réduite par rapport aux animaux contrôles. Toutefois, les études n'en viennent pas toutes à la même conclusion et les mécanismes sont encore incertains (49). La déficience fréquente en vitamine D est l'un des facteurs impliqués dans la maladie osseuse. La diminution de cette vitamine et du calcium entraîne une augmentation de la production de l'hormone parathyroïdienne, qui elle augmente la résorption osseuse. Plusieurs auteurs suggèrent également que la maladie osseuse en FK est principalement attribuable à l'inflammation chronique qui augmente quant à elle la résorption osseuse au détriment de la formation osseuse. Les médicaments anti-rejets ou les corticoïdes parfois utilisés pour traiter les surinfections pulmonaires accentuent quant à eux la déminéralisation osseuse (47). Ainsi, les complications osseuses sont fréquentes en FK et sont d'origines multifactorielles.

1.2.5 Autres complications

Malgré une prise en charge de plus en plus efficace des complications pulmonaires, l'augmentation importante de l'espérance de vie est associée au développement d'autres complications secondaires telles que le diabète et les complications hépatiques.

Bien que les complications pulmonaires caractérisent la maladie, l'ensemble de l'organisme peut être affecté par la dysfonction du CFTR. Par exemple, les patients FK présentent régulièrement *des sinusites* et *des polypes sinusaux* (53). Au niveau hépatique, le CFTR est exprimé dans les cellules épithéliales du canal biliaire et permet de réguler l'acidité et le flux biliaire (53). Une obstruction du canal biliaire entraîne une *cirrhose biliaire focale* chez environ

10% des patients dans les 10 premières années de vie (54). Chez un nombre moins important de patients, la cirrhose entraîne une hypertension portale pouvant nécessiter une transplantation hépatique. Environ 5% des patients auraient besoin d'une transplantation hépatique (53). La cirrhose est la cause de décès non-pulmonaire la plus courante en FK (55).

Certaines études ont associé l'absence de fonction du CFTR à *un risque oncologique accru*. Selon le registre américain des patients atteints de FK, l'incidence de cancer du côlon, du petit intestin, de l'œsophage et de l'estomac est plus élevée chez cette population que dans la population générale. Après la transplantation, le risque est plus élevé en raison de la thérapie immunosuppressive (52, 56).

Le CFTR étant également exprimé au niveau des organes reproducteurs, plus de 90% des hommes atteints de la FK sont infertiles en raison d'une absence congénitale du canal déférent (57). Aujourd'hui, il existe plusieurs interventions permettant aux hommes atteints de FK d'avoir des enfants. La fertilité de la femme n'est pas nécessairement affectée par la maladie. Toutefois, une faible masse grasse peut amener une aménorrhée et la glaire cervicale plus épaisse peut rendre le passage des spermatozoïdes vers l'ovule plus difficile (58).

Globalement, la FK est une maladie multi-systémique associée à plusieurs comorbidités. En plus des complications nutritionnelles et respiratoires qui touchent la vaste majorité des patients, un grand nombre d'entre eux développeront d'autres complications secondaires. La figure suivante provenant du registre américain de la FK illustre bien plusieurs complications secondaires (59) :

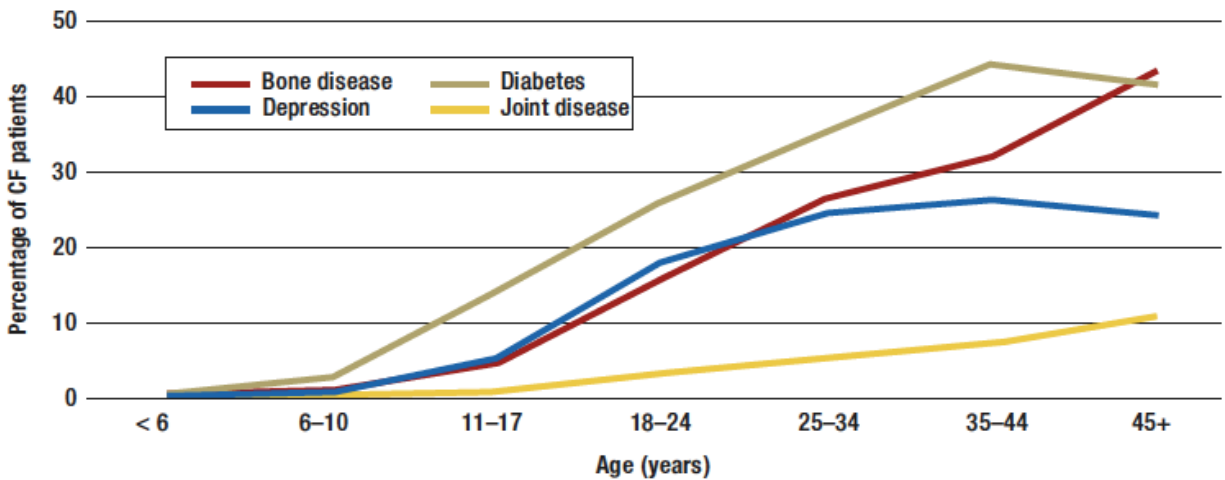


Figure 3. – Prévalence des complications de la FK selon le registre américain de la FK (Cystic Fibrosis Foundation) (59)

1.2.6 Considérations psychologiques

En plus de devoir composer avec les symptômes multiples d’une maladie systémique incurable, les patients atteints de la FK doivent consacrer de deux à trois heures par jour aux traitements des complications (60). Ainsi, bien que l’espérance de vie ne cesse d’augmenter, la lourdeur des traitements médicaux augmente au même rythme et limitent l’intégration sociale et professionnelle des patients qui vivent avec la FK. De plus en plus de symptômes de détresse psychologique sont observés chez cette population (61, 62). Les taux de dépression varieraient de 9 à 29% chez les enfants et seraient de près de 30% chez les adultes. Les taux d’anxiété seraient quant à eux de près de 40% (62). Par ailleurs, les symptômes dépressifs sont associés à une moins bonne adhérence aux traitements médicaux et à une moins bonne qualité de vie (62).

1.3 Traitements de la fibroses kystiques

1.3.1 Thérapie nutritionnelle

Les traitements de base de la FK visent à atteindre ou maintenir un *poids normal* (thérapie nutritionnelle intensive) et la prise en charge des complications pulmonaires. Au Québec, il est d’usage de suivre les recommandations nutritionnelles nord-américaines (42). La thérapie nutritionnelle intensive a permis l’augmentation importante de l’espérance de vie pendant le

siècle dernier. Le maintien d'un poids adéquat est entre autres associé à une meilleure survie, puisque la malnutrition affecte les muscles respiratoires et la réponse immunologique. Ainsi, un état nutritionnel sous-optimal est associé à une moins bonne fonction pulmonaire et à une mortalité accrue (41). La thérapie nutritionnelle vise donc à corriger les carences, permettre une croissance normale et maintenir ou atteindre un IMC normal, soit $\geq 23 \text{ kg/m}^2$ pour les hommes et $\geq 22 \text{ kg/m}^2$ pour les femmes (63). Selon les recommandations américaines, *une diète riche en énergie* correspondant à 110 à 200% des besoins en calories de la population générale est recommandée. La sévérité de la maladie et le niveau de malabsorption affectent les besoins en énergie. Par exemple, une malabsorption, les périodes de surinfection pulmonaire et le VEMS diminué peuvent tous augmenter les besoins nutritionnels. En raison de la malabsorption principalement lipidique, une diète *riche en gras* est recommandée. Les lipides devraient représenter entre 35 et 40% de l'apport énergétique total. D'autre part, les besoins protéiques (au moins 20% de l'apport énergétique total) sont également élevés en raison de l'inflammation chronique et des exacerbations pulmonaires. Puisque les besoins nutritionnels sont très élevés, il n'est pas recommandé de réduire l'apport en glucides, même en cas de diabète (41). Puisque la perte de fonction du CFTR entraîne une perte sodique, *une diète riche en sel* est recommandée pour tous les patients atteints de FK. La supplémentation en vitamines liposolubles ainsi que leur dosage régulier sont recommandés. Les recommandations américaines en *vitamines liposolubles* sont résumées dans le tableau suivant (41, 64).

	Recommandations quotidiennes
Vitamine A	10, 000 unités internationales (UI)
Vitamine D	Dose initiale : entre 800 et 2, 000 UI Maximum : 10, 000 UI jusqu'à correction de la carence
Vitamine E	200 à 400 UI
Vitamine K	0,3 à 0,5 mg

Tableau 2. – Recommandations quotidiennes américaines en vitamine liposolubles (41, 64)

Puisque la majorité des patients présentent une malabsorption, la prise d'*enzymes pancréatiques* avec les repas est recommandée. Ces enzymes contiennent des lipases, des protéases et des amylases. Toutefois, puisque la malabsorption lipidique est plus importante, le dosage s'effectue en fonction de la lipase présente dans les comprimés. Les patients doivent prendre entre 2, 000 et 10, 000 unités de lipase par kilogramme (kg) de poids corporel par jour ou entre 500 et 2, 5000 unités par kg de poids corporel par repas (41, 65).

1.3.2 Thérapies pulmonaires

Les thérapies pulmonaires visent à augmenter la clairance mucociliaire pour dégager les poumons du mucus visqueux accumulé, diminuant ainsi les infections pulmonaires et favorisant le maintien d'une fonction pulmonaire adéquate. Plusieurs thérapies sont utilisées comme les exercices respiratoires, les antibiotiques et les thérapies visant à humidifier les sécrétions. La *physiothérapie respiratoire* inclut l'enseignement de techniques respiratoires visant à extraire le mucus des voies respiratoires, une toux efficace, la mobilisation des sécrétions et l'utilisation optimale des muscles respiratoires (66). Des outils de drainage ou de percussion thoraciques sont utilisés. Des bronchodilatateurs et des molécules visant l'humification des sécrétions sont également utilisés (67). Les bronchodilatateurs du groupe des agonistes des bêta-adrénergiques sont connus pour augmenter la clairance du mucus, élargir le diamètre de la lumière des voies respiratoires et pour augmenter le transport mucociliaire (67).

L'environnement des poumons des personnes atteintes de FK est pro-inflammatoire (68). Certains ont émis l'hypothèse que la mutation du gène CFTR peut rendre la cellule épithéliale pro-inflammatoire. Pour contrer cette *inflammation*, de nombreuses thérapies anti-inflammatoires ont été proposées pour traiter les symptômes de la maladie telles que les anti-protéases, les corticostéroïdes et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens. Toutefois, ces thérapies n'ont pas eu les effets escomptés sur le traitement de la maladie (4, 68). Seules les doses élevées d'ibuprofène ont démontré des effets positifs significatifs (67). L'usage de corticostéroïdes oraux ou inhalé est déconseillé en raison des effets secondaires indésirables à long terme. Toutefois, un grand nombre de patients utiliseront tout de même des corticostéroïdes de façon ponctuelle, par exemple en raison d'un bronchospasme lors d'une surinfection, ou de façon chronique par

exemple, en cas d'hypersensibilité à l'aspergillus fumigatus (ABPA : Allergic bronchopulmonary aspergillosis) au cours de leur vie (67).

L'antibiothérapie est elle aussi utilisée soit à titre préventif, soit encore pour traiter une surinfection. Par exemple la tobramycine inhalée ou intraveineuse est utilisée notamment pour les infections à PA. Son usage chronique serait bénéfique pour la fonction pulmonaire et la qualité de vie, en plus de réduire les exacerbations pulmonaires (66). Les patients colonisés par PA reçoivent généralement de l'azithromycine pour améliorer la fonction pulmonaire et réduire les exacerbations pulmonaires (67). Lors d'exacerbations pulmonaires, les patients reçoivent normalement des traitements antibiotiques intraveineux en centre hospitalier (69).

La dornase-alpha est une pompe permettant de fluidifier le mucus, également utilisée chroniquement chez les personnes atteintes de FK. Elle permet ainsi de mieux excréter le mucus et ainsi de réduire les exacerbations pulmonaires, en plus d'améliorer la fonction pulmonaire (70).

1.3.3 Thérapies géniques

La plupart des thérapies courantes de la FK décrites ci-dessus visent à traiter les symptômes et les conséquences de la maladie plutôt que de traiter la cause (défaut génétique) de la maladie. De nombreuses thérapies ont été proposées pour traiter la cause de la FK en corrigeant le défaut génétique tel que les vecteurs viraux, la modification génétique coupant et remplaçant le gène défectueux (approche CRISPER-Cas9 : clustered regularly interspaced short palindromic repeats/Cas9 pour CRISPR associated protein 9), les vecteurs non-viraux, la thérapie médiée par l'acide ribonucléique (ARN) messenger, les cellules souches et les molécules modulant le CFTR. Toutes ces thérapies visent à acheminer de l'acide désoxyribonucléique (ADN) ou de l'ARN qui encodent la protéine CFTR dans le but de restaurer le gène. Ces thérapies sont à l'étude et ont le potentiel d'améliorer considérablement la qualité de vie des personnes atteintes de FK (14).

Dans les dernières années, les molécules modulant le CFTR développées par la compagnie *Vertex Pharmaceuticals Incorporated* ont montré un grand potentiel dans le traitement de la FK. L'Ivakaftor (molécule VX-77), commercialisé sous le nom de Kalydeco, est un potentiateur de la protéine CFTR utilisé pour les mutations de type III ou IV, alors que le Lumakaftor (VX-809) est un correcteur du CFTR utilisé pour les mutations de type II, comprenant la mutation $\Delta F508$.

L'Ivacaftor a montré une amélioration de la fonction pulmonaire de plus de 10% chez les patients atteints de la mutation G551D (71). Toutefois, ces patients ne représentent que de 2 à 4% des personnes atteintes de FK. Un médicament nommé Orkambi combine à la fois le Lumacaftor et l'Ivacaftor. Il a été approuvé par Santé Canada en janvier 2016 et peut être utilisé chez les patients homozygote pour la mutation $\Delta F508$. Toutefois, l'Orkambi chez les patients homozygotes n'a montré que des effets modestes sur la fonction pulmonaire (72). Ainsi, l'Agence canadienne des médicaments et des technologies de la santé a recommandé que l'Orkambi ne soit pas remboursé par les régimes fédéral, provinciaux et territoriaux en 2018 (73). Plus récemment, le Symdeco, combinant le Lumacaftor et le Tezacaftor (VX-661), un autre correcteur, a été étudié chez les personnes atteintes d'une mutation $\Delta F508$ et d'une mutation résiduelle du CFTR. Bien que les études cliniques soient toujours en cours, cette combinaison serait plus efficace pour améliorer la fonction pulmonaire que celle retrouvée dans l'Orkambi, en plus de pouvoir être utilisée chez un grand nombre de patients (74). Une étude clinique récente publiée en 2019 chez 403 patients âgés de plus de 12 ans combinant l'Elexacaftor (VX-445), un nouveau correcteur, ainsi que le Tezacaftor et l'Ivacaftor, chez les personnes hétérozygotes pour la mutation $\Delta F508$ montre une amélioration absolue de plus de 13% dans la fonction pulmonaire à 24 semaines (75). Il s'agit d'une amélioration beaucoup plus importante que celles observées avec les thérapies précédentes. Une étude similaire menée chez les homozygotes pour la mutation $\Delta F508$ montre une amélioration de 10% de la fonction pulmonaire à 4 semaines, confirmant l'avancée majeure que représente cette thérapie pour une grande majorité de personnes atteintes de la FK (76). Toutefois, cette nouvelle combinaison de molécules n'est toujours pas approuvée au Canada. De plus, l'effet de ces thérapies nouvelles tant sur le risque de survenue, l'évolution ou le contrôle du diabète associé à la fibrose kystique (DAFK) est encore peu connu (38).

1.4 Diabète associé à la fibrose kystique

1.4.1 Prévalence du DAFK et facteurs de risque

La complication émergente la plus fréquente de la FK est la dysglycémie, incluant un large spectre d'anomalies de la tolérance au glucose, menant ultimement au diagnostic de DAFK. La présence d'un DAFK est associée à un mauvais pronostic avec une mortalité avant 30 ans passant de 40%

chez les patients non diabétiques à 75% chez les patients atteints de DAFK (77). Il existe une relation positive entre l'âge et la prévalence du DAFK (78, 79). La figure 4 illustre l'augmentation de la prévalence du DAFK en fonction de l'âge (80).

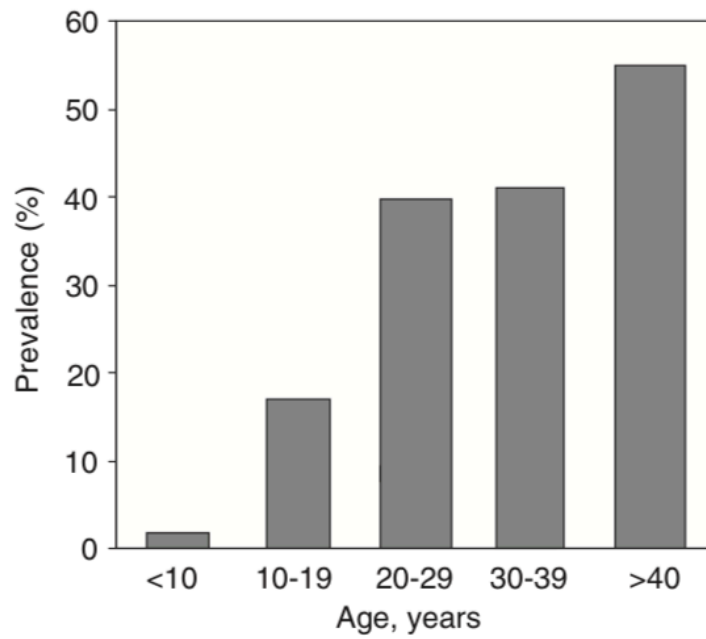


Figure 4. – Prévalence du DAFK en fonction de l'âge des patients (80)

L'augmentation du taux de survie des patients atteints de FK au cours des 15 dernières années annonce donc une augmentation majeure de la prévalence du DAFK (81, 82). Cette dernière est d'environ 10% des enfants de 10 ans et de 40 à 50% des adultes, alors qu'un autre 35% présente une intolérance au glucose (pré-diabète) (83). Cette forme spécifique de diabète (distincte des diabètes les plus fréquents de type 1 et de type 2) est principalement causée par une réduction de la sécrétion d'insuline due aux dommages du pancréas endocrine suite à la pancréatite chronique secondaire à la FK (38, 84, 85). La présence de ce diabète est associée à un déclin accéléré de la fonction pulmonaire et du poids, deux marqueurs importants de l'état clinique en FK (86, 87). La diminution du poids et de la fonction pulmonaire s'observant quatre à six ans avant un diagnostic de DAFK a d'abord été rapportée dans les années 1990 par un groupe danois (88). Les études provenant de ce groupe ont permis de mettre l'accent sur le risque clinique propre à la FK associé à l'hyperglycémie et sont toujours largement citées (88, 89). Ce déclin clinique

accéléralé dans les années entourant le diagnostic de DAFK explique l'augmentation du risque de mortalité précoce et donc des surinfections plus fréquentes ou plus importantes (90). Il est probable que la perte de poids soit secondaire à la perte de l'action anabolique de l'insuline et que la diminution de la fonction pulmonaire soit associée à l'augmentation du flux de glucose vers les poumons, favorisant ainsi la croissance bactérienne (91). Le DAFK est une maladie insidieuse puisque les symptômes s'apparentent à ceux d'une exacerbation de la maladie (fatigue, diminution de la fonction pulmonaire et du poids, etc.). Pendant la période qui précède le diagnostic du DAFK, les patients présentent un continuum d'anomalies de la tolérance au glucose (ou dysglycémies). Les différentes formes de dysglycémies (présentées dans la figure 5) sont non seulement associées à une dégradation clinique, mais aussi à un risque élevé de développer le DAFK dans le futur (92). Le diagnostic de DAFK est associé à des périodes d'infections pulmonaires plus fréquentes, à une fonction pulmonaire réduite, à un moins bon statut nutritionnel et à une mortalité accrue, principalement chez les femmes (38, 83). Les facteurs de risques principaux de développer le DAFK sont le sexe féminin, la maladie hépatobiliaire, une malabsorption pancréatique, l'initiation d'une nutrition par voie entérale, une atteinte sévère du CFTR et l'usage de corticostéroïdes (38).

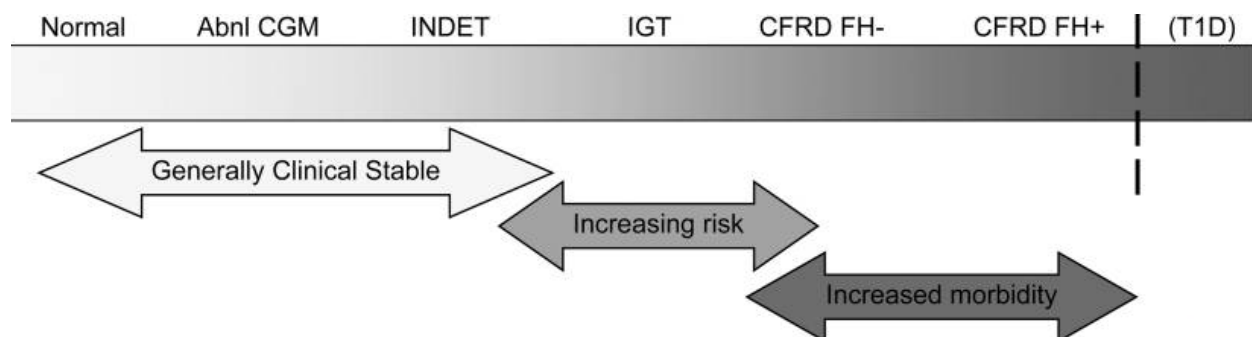


Figure 5. – Évolution du spectre glycémique en fibrose kystique (87).

Définitions de la figure 5 : Abnl CGM; abnormal continuous glucose monitoring, INDET; indeterminate glucose tolerance, IGT; impaired glucose tolerance, CFRD; cystic fibrosis-related diabetes, FH-; without fasting hyperglycemia, FH+; with fasting hyperglycemia and T1D; type 1 diabetes

1.4.2 Pathophysiologie du DAFK

Sécrétion d'insuline et rôle du CFTR dans le DAFK

Bien qu'il soit reconnu que le DAFK est principalement causé par la perte progressive de la sécrétion d'insuline des suites des dommages laissés par les pancréatites chroniques, toutes les causes sous-jacentes sont encore mal comprises (38). Par exemple, comparativement à un groupe témoin sans FK, presque tous les patients atteints de FK sécrètent peu d'insuline, peu importe leur statut de tolérance au glucose (93). D'autres part, certaines études fondamentales et animales (furet et cochon) montrent que l'altération du gène CFTR pourrait affecter la sécrétion d'insuline dès la naissance, mais que la glycémie se normaliserait par la suite pendant les premières années de vie (38). Le rôle potentiel du CFTR altéré dans le DAFK est encore controversé. Par ailleurs, contrairement au pancréas exocrine qui est très affecté par la fonction altérée du CFTR, ce canal est peu exprimé dans le pancréas endocrine. Il est certain que les patients atteints d'une mutation plus sévère telle que la $\Delta F508$ sont plus à risque de développer le diabète que ceux atteints de mutations avec une fonction résiduelle du CFTR (90). Une étude récente sur les cellules bêta du pancréas, cellules responsables de produire et de sécréter l'insuline, montre que la mutation du CFTR n'est pas responsable de la baisse de la sécrétion d'insuline dans le DAFK et que cette dernière est plutôt causée par l'inflammation et la désorganisation des îlots de Langerhans (94). Une telle désorganisation et des stigmates d'inflammation chronique sont observés sur les pancréas humains post-mortem (94). Bien que l'expression du CFTR dans les cellules α (cellules responsables de la sécrétion de glucagon) et β soit faible, l'accumulation cellulaire de CFTR malformé pourrait affecter le potentiel de la membrane cellulaire et ainsi affecter la sécrétion d'insuline, en plus d'augmenter le stress sur le RE et le stress oxydatif. Certaines études avec les thérapies corrigeant ou potentialisant le CFTR montrent une certaine amélioration de la sécrétion d'insuline (38). Il est néanmoins encore tôt pour juger de l'efficacité de ces thérapies sur la sécrétion d'insuline et sur l'amélioration des glycémies. D'autre part, certains chercheurs jugent que les dommages aux cellules β ne sont pas assez importants pour causer le DAFK, puisque des autopsies post-mortem ont montré que moins de 50% des cellules β sont perdues dans le DAFK, alors qu'il faudrait une atteinte beaucoup plus importante pour causer une perte de sécrétion d'insuline menant au diabète (38). Par ailleurs,

des études d'autopsies ont montré que le niveau de destruction des îlots pancréatiques était similaire chez les patients avec et sans DAFK (85). Finalement, un rôle direct du canal CFTR dans la baisse de la sécrétion de l'insuline est peu probable, alors qu'un effet indirect via l'inflammation et la désorganisation du tissu pancréatique pourrait être en cause.

Plusieurs groupes de recherche ont démontré que la glycémie à jeun demeure généralement normale pour une longue période et que les premières manifestations d'intolérance au glucose et même de diabète franc sont observés sur les excursions glycémiques à la suite d'un repas ou d'une charge en glucose (93, 95). Ainsi, les personnes atteintes de FK ont un problème de sécrétion d'insuline suite à l'ingestion de glucides. Chez certaines personnes, les périodes d'hyperglycémies ne se manifestent que lors de périodes d'infections aiguës, puis se normalisent. Avec la progression de la maladie, l'hyperglycémie post-prandiale (PP) est observée, puis éventuellement, une hyperglycémie à jeun peut se manifester (38, 95). Lors d'un test d'hyperglycémie provoquée par voie intraveineuse, la première phase de sécrétion d'insuline est affectée bien avant le développement du DAFK (95).

Il a été montré que les enfants de moins de 5 ans ont déjà des anomalies de la tolérance au glucose et que les taux d'insuline circulant ne sont pas associés à ces manifestations d'hyperglycémies transitoires (96). Ainsi, des facteurs autres que la perte de sécrétion d'insuline avec le temps sont probablement impliqués dans la progression vers le DAFK. La pathophysiologie demeure difficile à étudier puisque les bons modèles animaux, soient le furet et le cochon, rendent les études plus complexes méthodologiquement que celles plus répandues, chez la souris par exemple (38).

Certains gènes modificateurs en lien avec le CFTR ont été associés à une augmentation du risque de diabète dans cette population. Toutefois, les gènes modificateurs qui seraient les plus associés à un début précoce du DAFK sont ceux retrouvés dans le diabète de type 2 (*TCF7L2*) (97). Puisque le gène *TCF7L2* est impliqué dans la baisse de sécrétion de l'insuline pour les patients qui vivent avec le diabète de type 2, il est possible que la combinaison de la FK avec une susceptibilité au diabète de type 2 soit responsable d'une apparition plus précoce d'une dysglycémie. D'autres part, des phénotypes bien différents pour un même génotype suggèrent l'implication de

nombreux autres gènes dans l'apparition de complications secondaires en FK dont le DAFK. La relation entre le sexe féminin et le risque accru de DAFK n'est pas claire. Malgré le risque accru de DAFK et un risque de mortalité augmenté associé à cette complication, il a été montré que les femmes atteintes de FK sécrètent plus d'insuline que les hommes (90, 98). Certains auteurs ont émis l'hypothèse que les différences dans la maladie selon le sexe pourraient être causées notamment par les œstrogènes circulant chez la femme. Les œstrogènes pourraient faciliter la colonisation à PA et donc l'inflammation à long terme (99).

Ainsi, la diminution de la sécrétion d'insuline est la cause dominante pour l'apparition d'une dysglycémie puis d'un DAFK. Par ailleurs, d'autres facteurs sont probablement impliqués, puisque pour un niveau de destruction pancréatique et de sécrétion d'insuline similaires, deux patients peuvent avoir un profil glycémique complètement différent.

Rôle de la résistance à l'insuline

Pour les patients qui vivent avec le diabète de type 2, la forme la plus fréquente de diabète, les 2 causes principales de l'apparition d'une dysglycémie sont la combinaison d'une baisse de la sécrétion de l'insuline combinée avec une résistance à l'action de l'insuline (100, 101). Plusieurs équipes de recherche en FK ont soulevé qu'une résistance à l'insuline, qui pourrait être due à l'inflammation chronique, les exacerbations pulmonaires fréquentes, l'accumulation de graisse abdominale, certains médicaments et le mode de vie (diète très riche en gras et sédentarité) pourrait être impliquée dans le développement du DAFK (102, 103). Plusieurs groupes ont réfuté cette affirmation en montrant une résistance à l'insuline présente seulement après le début du diabète (glucotoxicité) et une absence de résistance à l'insuline avant le début du DAFK (104). Toutefois, des indices à jeun dont l'*homeostatic model assessment- insulin resistance* (HOMA-IR) ont été utilisés. Cet indice reflète la résistance à l'insuline à jeun plutôt que post-prandiale, ce qui est probablement peu représentatif des patients avec FK, qui ont une glycémie à jeun presque normale longtemps, peu importe la tolérance au glucose. Les indices de sensibilité à l'insuline tenant compte de la réponse à une surcharge glucidique ou encore lors d'un clamp Botnia (méthode de référence; hyperglycémie intraveineuse de tolérance au glucose suivie d'un clamp avec injection à la fois de glucose et d'insuline pour établir précisément la résistance et la sécrétion d'insuline de façon concomitante) seraient pertinents dans cette population pour mieux

comprendre l'implication de la résistance à l'insuline. Il est aussi possible que dans le contexte de sécrétion d'insuline très limitée qui caractérise la FK, une résistance à l'insuline même modeste puisse avoir un impact significatif sur les glycémies.

DAFK et autres diabètes

Le DAFK peut s'apparenter à la fois au diabète de type 1 et de type 2, bien qu'il soit un diabète distinct. Tout comme dans le diabète de type 1, il survient chez des sujets jeunes, minces et l'insulinothérapie est un traitement essentiel. Toutefois, à la différence du diabète de type 1, les personnes atteintes de DAFK maintiennent une certaine sécrétion d'insuline, leur permettant généralement de maintenir la glycémie à jeun normale et ces patients ne présentent pas d'anticorps, ni d'acidocétose. Tout comme dans le diabète de type 2, un dépôt de plaques d'amyloïdes est présent dans les îlots de personnes atteintes du DAFK (105). De façon similaire aux diabètes types 1 et 2, les complications micro-vasculaires sont possibles chez les patients atteints de DAFK (rétinopathie, néphropathie et neuropathie). Toutefois, alors que les complications macro-vasculaires (infarctus, accidents cérébrovasculaires et artériopathie oblitérante des membres inférieurs) sont la première cause de décès pour les patients qui vivent avec le diabète de type 1 et de type 2, elles n'ont presque jamais été rapportées pour les patients qui vivent avec la FK. Il n'est pas exclu que leur prévalence pourrait augmenter suite à l'augmentation de l'espérance de vie des personnes atteintes de FK. La première cause de mortalité associée au DAFK demeure la maladie pulmonaire terminale (95).

D'autres facteurs dont la contribution est démontrée pour les patients qui vivent avec le diabète de type 2 demeurent mal-compris en FK (106). Parmi ces facteurs, citons les niveaux des hormones incrétines (GLP-1, GIP et le DPP-4), l'altération du microbiote intestinal, l'altération des cellules α responsables de la sécrétion du glucagon, le rôle des carences nutritionnelles dont la vitamine D et la vitamine K, l'inflammation chronique, l'impact de l'atteinte hépatique et finalement, la relation entre le statut osseux et la glycémie.

Finalement, bien que la perte de sécrétion d'insuline demeure la cause primaire d'intolérance au glucose en FK, le rôle d'autres facteurs tant génétiques, environnementaux (qualité alimentaire, activité physique, etc.) que physiologiques doit être précisé.

1.4.3 Diagnostic du DAFK

Dans le but d'identifier les patients à risque et d'implanter précocement un traitement thérapeutique, un test de dépistage du DAFK est recommandé annuellement dès l'âge de 10 ans (107). L'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) est le test recommandé. Ce test d'une durée de deux heures débute lorsque le patient est à jeun et nécessite la consommation d'un liquide standardisé contenant 1,75g de glucose par kg de poids corporel (75g au maximum) en moins de 5 minutes. La réponse au glucose est mesurée par la glycémie plasmatique (accès veineux nécessaire) au début et à la fin du test (107).

	Glucose à jeun (mmol/L)	Glucose 2 heures (mmol/L)
Tolérance normale	< 7,0	<7,8
Tolérance Indéterminée (INDET) * <u>glucose 1 heure $\geq 11,1$ mmol/L</u>	< 7,0	<7,8*
Intolérance au glucose	< 7,0	7,8-11,0
Diabétique avec ou sans hyperglycémie à jeun	> 7,0	et/ou $\geq 11,1$

Tableau 3. – Classes de tolérance au glucose (107)

Pour recevoir un diagnostic de DAFK, la glycémie à jeun doit être supérieure à 7,0 mmol/L ou celle de 2 heures supérieure à 11,0 mmol/L. Les patients avec une glycémie à 2-h entre 7,8 et 11,0 mmol/L sont dits intolérants au glucose ou pré-diabétiques. Il existe un flou dans la littérature scientifique concernant les patients qui ont une hyperglycémie seulement à la première heure du test : >11,0 à 1-h, puis normalisation à 2-h. Ces patients ont une tolérance indéterminée au glucose (INDET), puisque selon les critères diagnostiques du DAFK, ils ne sont pas diabétiques, même s'ils ont atteint une glycémie correspondant au diabète pendant le test. La glycémie à 1-h de l'HGPO n'est pas mesurée dans bien des centres de FK. Elle l'est davantage dans le cadre de

recherches cliniques (101, 108). Il est important de noter que la catégorie INDET est spécifique au DAFK et n'existe pas pour les autres formes de diabète.

Bien que l'HGPO soit le test standard recommandé, il est critiqué dans la littérature scientifique pour plusieurs raisons :

- Les seuils utilisés pour le diagnostic sont basés sur le risque de rétinopathie associé à l'hyperglycémie. Bien que possibles en FK, les complications pulmonaires demeurent la préoccupation majeure. De plus, il semblerait que l'association entre la dysglycémie et les complications pulmonaires survienne à des niveaux glycémiques beaucoup plus bas que ceux bien établis pour le risque de rétinopathie (83).
- Une variabilité glycémique est observée d'un test à l'autre, limitant la validité diagnostique d'un test unique (109).
- L'hyperglycémie précoce dans la première heure du test (INDET) serait associée à un déclin clinique (poids et fonction pulmonaire) semblable à ce qui est observé dans le DAFK *de novo* (108). Il est donc possible qu'en plus des glycémies classiques à jeun et à la deuxième heure de l'HGPO, un prélèvement à 1-heure doive être ajouté.
- Ce test à jeun ne représente pas la réponse à une surcharge glucidique dans un contexte de vie réelle (110).
- Le test d'HGPO implique d'être à jeun, dure deux heures et nécessite du matériel et du personnel médical. Ainsi, il n'est généralement ni apprécié des patients, ni de l'équipe médicale (111, 112).

Le dépistage du DAFK par des technologies différentes ou par des biomarqueurs différents de la glycémie à 2-h est à l'étude afin de trouver une alternative à l'HGPO classique pouvant prédire le déclin clinique. L'hémoglobine glyquée (HbA1c) qui représente la moyenne de la glycémie des 3 derniers mois et la glycémie à jeun, couramment utilisées dans le dépistage du diabète de type 2, sont peu sensibles en FK. (93).

D'abord, la *glycémie à jeun* est généralement normale pour une très longue période en FK (93). La première phase de sécrétion d'insuline est la plus affectée en réponse à une

consommation de glucides. Malgré son retard parfois important, les personnes atteintes de FK arrivent néanmoins à sécréter de l'insuline plus tardivement (deuxième phase), ce qui permet une normalisation de la glycémie à une vitesse très variable selon les patients (une hypoglycémie peut même survenir) (113).

L'*HbA1c* représente la forme de l'hémoglobine qui est glyquée ou glycolysée, signifiant que du glucose y est fixé. Elle présente de nombreux avantages incluant le fait d'être un dosage réalisable sans besoin d'être à jeun. Dans la population générale, des seuils de ce biomarqueur sont bien établis pour diagnostiquer l'intolérance au glucose (6,0 à 6,5%) ou le diabète de type 2 (>6,5%). Il est aussi très utilisé pour établir le risque de complications et l'atteinte des cibles glycémiques, tant pour le diabète de type 1 que de type 2 (100). Cependant, en FK, la relation entre les glycémies moyennes est altérée et il est fréquemment observé qu'un patient qui a un diabète franc à l'HGPO présente une *HbA1c* normale (<6,0%) (114). Les causes de cette moindre sensibilité sont mal comprises, mais on évoque l'impact des fluctuations glycémiques (vitesse de montée mais aussi de normalisation) plus rapides que dans les autres formes de diabète et un possible renouvellement plus rapide des globules rouges secondaire aux difficultés respiratoires (114). Pour cette raison, certaines équipes proposent un seuil plus bas que celui utilisé pour le diabète de type 2 pour le diagnostic du DAFK (5,8% au lieu de 6,5%) (115). Ce seuil est cependant dérivé d'un petit groupe de patients provenant d'un seul centre.

D'autres biomarqueurs ont été proposés :

- La fructosamine (produit de la réaction irréversible du glucose avec un acide aminé contenu dans les protéines) représente les glycémies moyennes tout comme l'*HbA1c* mais sur une plus courte période de 3 semaines (116). La fructosamine est d'un intérêt grandissant, puisque les protéines glyquées (90% sont de l'albumine) seraient beaucoup moins sensibles au renouvellement rapide comme l'hémoglobine. Selon un groupe de recherche canadien situé à Edmonton, le ratio de la fructosamine sur les protéines totales corrèle très bien avec la glycémie à 2-h et pourrait être utilisé comme dépistage alternatif après validation externe sur un plus grand nombre de patients (116). Ces données obtenues dans un seul centre sur un petit nombre de patients devront être confirmées.

- Certains marqueurs inflammatoires dont le YKL-40 (Chitinase) (117), les temps intermédiaires de l'HGPO (à 30, 60 et 90 minutes), les indices de fonction de la cellule β ou de résistance à l'insuline (HOMA- β % et HOMA-IR) (118), etc.
- L'obtention d'un profil glycémique plus complet avec les valeurs d'appareils de surveillance en continu de la glycémie (SCG). Ces petits appareils indolores lisent la glycémie du liquide interstitiel en continu pendant 7 à 14 jours. Ils fournissent un nombre important de différentes données glycémiques : glycémie maximale, moyenne, médiane \pm percentiles, pourcentage de temps en hyperglycémie, hypoglycémie, glycémies incrémentales, etc. Plusieurs de ces variables ont été associées à des paramètres cliniques en FK (119-122). Plusieurs groupes ont établi des critères diagnostics « maison » du DAFK avec les valeurs de la SCG (92). Toutefois, les seuils ne sont pas validés (risque de DAFK, risque de dégradation de la fonction pulmonaire ou du poids, etc.), sont différents d'un groupe à l'autre et la concordance avec l'HGPO est souvent faible (122). Bien que les études n'incluent généralement qu'un petit nombre de patients, qu'elles soient de courte durée et que les méthodologies soient hétérogènes, la SCG est une nouvelle technologie à considérer dans le dépistage et le suivi des hyperglycémies en FK. En effet, la SCG capture les excursions glycémiques post-prandiales à 1h et à 2h, qui comme nous l'avons vu, sont des critères diagnostiques reconnus (table 3) et associés à des paramètres cliniques importants en FK (VEMS).

En attendant des études plus complètes sur les méthodes alternatives de dépistage du DAFK, les groupes d'experts s'entendent pour dire que l'HGPO de deux heures doit demeurer le test standard (107). Dans le cas de cette thèse de doctorat, une revue de la littérature sera réalisée sur le sujet.

1.4.4 Traitement du DAFK

Un contrôle glycémique optimal permet de réduire le risque de complications spécifiques au diabète (rétinopathie, néphropathie et neuropathie) et est associé à une réduction du nombre d'exacerbations pulmonaires ainsi qu'à une moindre progression de la maladie pulmonaire (95).

Le traitement recommandé est l'insulinothérapie, puisqu'il s'agit du seul traitement à avoir démontré un effet bénéfique à la fois sur les glycémies et le contrôle du poids (107). Cependant, certaines études de petite taille suggèrent que des hypoglycémifiants oraux comme le Repaglinide, une molécule qui favorise la sécrétion d'insuline par le pancréas, pourraient avoir une place pour contrôler la glycémie sans impact démontré sur le poids ou la fonction pulmonaire (123). À ce jour, il est recommandé que les personnes atteintes de DAFK soient traitées par une équipe multidisciplinaire et qu'un traitement par insuline exogène soit introduit tôt après le diagnostic, avec des objectifs de contrôle de la glycémie, mais aussi anaboliques (107). En effet, les patients sur insulinothérapie tendent à avoir une augmentation du poids, de la fonction pulmonaire et de la survie (107, 124). Plusieurs patients débiteront avec une insuline basale à action lente, puis devront progresser vers une insuline à action rapide avec calcul des glucides lors des repas (107). Bien que l'insulinothérapie soit associée à des avantages substantiels, il existe aussi des inconvénients non négligeables : c'est un traitement injectable, une auto-surveillance glycémique est indispensable, il y a un risque d'hypoglycémie et finalement, le moment optimal et les modalités (insuline basale et/ou prandiale, horaire, etc.) ne sont pas établis pour les patients avec le DAFK. Les agents oraux sont déconseillés, puisqu'ils ne montrent pas de bénéfice sur le statut nutritionnel et sur le profil métabolique (101, 107), mais peuvent être employés si les patients refusent l'insuline.

Les cibles glycémiques du DAFK sont les mêmes que celles recommandées dans les diabètes de type 1 et de type 2. Bien que l'HbA1c ne soit pas recommandée pour le dépistage du DAFK, elle l'est pour le suivi du contrôle glycémique. Une hémoglobine glyquée de moins de 7% est généralement recommandée. Cependant, tout comme nous l'avons discuté plus haut, ce seuil a été établi pour réduire le risque de complications spécifiques du diabète (rétinopathie, néphropathie et neuropathie) et le seuil pertinent pour la fonction pulmonaire n'est pas établi. De plus, comparativement à ce qui est établi dans le diabète de type 1 et de type 2, chez les patients qui vivent avec la FK, l'HbA1c tend à sous-estimer les glycémies. Il est donc possible que ce seuil ne protège pas totalement du risque de complications spécifiques du diabète. Toutefois, comme pour les autres formes de diabète, l'individualisation du traitement et des cibles est nécessaire (107). Le risque d'hypoglycémie iatrogénique ne doit pas être négligé chez

ces patients (101). Comme la fonction des cellules α est affectée dans la FK, la contre-régulation de l'hypoglycémie par le glucagon l'est également. Par ailleurs, même sans insuline, des hypoglycémies spontanées peuvent survenir, puisqu'il a été démontré que certains patients sans DAFK présentent des hypoglycémies suite à un test d'HPGO standard (101, 113).

La restriction glucidique n'est pas recommandée comme méthode de traitement du DAFK. Les besoins nutritionnels demeurent très élevés en présence du DAFK et le maintien ou l'atteinte d'un statut nutritionnel optimal est nécessaire. Toutefois, des recommandations nutritionnelles concernant la prise en charge des hypoglycémies et la consommation d'aliments à faible indice glycémique pour éviter les hyperglycémies post-prandiales peuvent être pertinentes. Dans le cas de l'instauration d'une insulinothérapie intensive, l'enseignement du calcul des glucides est nécessaire (101, 107). Il a également été montré que la pratique d'activités physiques régulière pouvait augmenter la sensibilité à l'insuline et pourrait donc aider au contrôle glycémique (107, 125).

Chapitre 2 – Objectifs et hypothèses

Volet 1 : Études concernant l'impact clinique de l'hyperglycémie et la pathophysiologie du DAFK

Pour le premier volet de ce projet, nous visons à établir les paramètres glycémiques associables au déclin clinique (poids et fonction pulmonaire) dans une population adulte atteinte de FK. Deux cohortes sont utilisées dans le cadre de cet objectif : La *Montreal Cystic Fibrosis Cohort* (MCFC), cohorte observationnelle prospective établie en 2004 et dans laquelle les patients (≥ 300 , suivi entre 1 et 10 ans) réalisent une HGPO chaque année avec les temps intermédiaires (chaque 30 minutes pendant 2 heures), dosage de l'insuline, bilan sanguin complet, mesure du poids et de la taille et mesure de la fonction pulmonaire par spirométrie et la GLYCONe database, cohorte regroupant la MCFC et une base de données similaire établie à Lyon, France (*DIAMUCO*, 150 patients, suivi sur 4 ans). **Les hypothèses** se rattachant à ce volet sont que i) la résistance à l'insuline influence la tolérance au glucose et ii) l'hyperglycémie à 1-h ou l'hypo-insulinémie à 1-h de l'HGPO sont associées à de moins bonnes valeurs de fonction pulmonaire et du poids et qu'elles prédisent leur déclin sur 4 ans.

Les **objectifs spécifiques** se rattachant à ces hypothèses sont :

1. Définir les rôles potentiels de la sécrétion d'insuline et de la résistance à l'insuline dans la dégradation de la tolérance au glucose chez les patients atteints de FK (cohorte MCFC).
2. Fusionner les données des cohorte DIAMUCO (Lyon) et de la MCFC afin de créer la base de données GLYCONe. Tous les paramètres cliniques doivent être standardisés à des fins de comparaison : valeurs de spirométrie, classification de tolérance au glucose, valeurs d'insuline plasmatique, etc.
3. Comparer les paramètres cliniques et glycémies des patients canadiens et français de la cohorte GLYCONe (volet transversal) et étudier l'évolution clinique sur 4 ans en fonction de la glycémie et de l'insuline à 1-h de l'HGPO (volet prospectif).

Volet 2 : Études concernant le dépistage du DAFK

Pour le second volet de ce projet de doctorat, nous visons à identifier les stratégies de simplification du dépistage du DAFK. Les *hypothèses* de ce second volet sont i) un ou des biomarqueurs sanguins peuvent prédire avec une sensibilité acceptable le risque de développer le DAFK, ii) même à un seuil inférieur à 6.5%, l'HbA1c n'est pas assez sensible pour dépister le DAFK et iii) des stratégies émergentes de mesure de la glycémie telles que la SCG ont le potentiel de simplifier le dépistage du DAFK.

Les *objectifs spécifiques* sont:

1. Établir les niveaux de sensibilité et de spécificité d'indices d'estimations de la glycémie tels que l'hémoglobine glyquée et des formules de résistance à l'insuline nécessaires pour cibler les patients atteints de DAFK ou à risque de le devenir.
2. Étudier l'utilisation d'un appareil de SCG pour dépister les anomalies de la tolérance au glucose cliniquement importantes en FK.

Chapitre 3 – Méthodologie

Définition des cohortes à l'étude

La cohorte MCFC est établie au CHUM (Hôtel-Dieu puis nouveau CHUM) depuis 2004. Les critères d'inclusion et d'exclusion sont les suivants :

Inclusion :

1. Diagnostic confirmé de fibrose kystique;
2. Âge : 18 ans et plus;
3. Suivi à la clinique de fibrose kystique du CHUM;
4. N'ayant pas déjà un diagnostic de diabète.

Exclusion (dans le dernier mois) :

1. Symptômes de surinfection : changement de volume, consistance ou de la couleur des expectorations, nouveaux épisodes ou augmentation d'hémoptysie, toux, augmentation de la dyspnée, fatigue ou léthargie, fièvre > 38°C, anorexie, douleur des sinus ou une chute de plus de 10 % des fonctions respiratoires (VEMS) ou enfin traitement avec des antibiotiques intraveineux;
2. Médicaments influençant le métabolisme des glucides comme les corticostéroïdes oraux, les hormones de croissance ou le Megace® (30);
3. Grossesse en cours.

Les patients qui présentent un des critères d'exclusion peuvent être recrutés ultérieurement, soit après au moins un mois suite à la fin du critère d'exclusion. Les patients se présentent idéalement tous les 12 à 24 mois, mais considérant les nombreux facteurs d'exclusion temporaires et les absences sans motif médical au test d'HGPO, les suivis peuvent parfois être espacés de plusieurs années.

La cohorte DIAMUCO établie à Lyon (France) vise également à étudier les anomalies de la tolérance au glucose chez une cohorte adulte atteinte de FK. Les critères d'inclusion et d'exclusion sont les mêmes que ceux de la cohorte MCFC, **à l'exception de** :

1. Tous les patients de la cohorte DIAMUCO présentent une insuffisance pancréatique et;
2. Les rendez-vous ont nécessairement lieu à chaque année.

Alors que certains patients de la MCFC sont suivis jusqu'à 10 ans, les patients de la cohorte française DIAMUCO ne sont suivis qu'au maximum 4 ans.

La cohorte DIAMUCO a été mise en commun avec la cohorte MCFC dans le but de créer la cohorte GLYCONE. Les patients canadiens de la MCFC qui se retrouvent dans la cohorte GLYCONE sont donc ceux présentant une insuffisance pancréatique. La glycémie et l'insuline de la cohorte MCFC sont dosées à chaque 30 minutes (0, 30, 60, 90 et 120 minutes) alors que seulement 3 temps sont mesurés dans la cohorte DIAMUCO (0, 60 et 120 minutes).

Harmonisation des données

Les architectures des deux bases n'étant pas similaires, la mise en relation des données par fusion des données a nécessité un travail de data management par l'équipe de recherche. Les différentes étapes de gestion des bases sont :

1. La sélection des paramètres et variables d'intérêt : les médecins de l'étude ont sélectionné les paramètres communs aux deux bases de données et qui seront retenus dans le cadre de l'étude;
2. L'uniformisation de variables biologiques pour lesquelles il n'y a pas de standardisation internationale telle que l'insulinémie ou encore clinique pour lesquelles il existe plusieurs formules disponibles pour les calculs comme le VEMS. L'homogénéisation des structures et des formats des deux bases de données ;
3. La fusion des deux bases de données et ;
4. Le contrôle de la base de données.

Volet 1 : Études concernant l'impact clinique de l'hyperglycémie et la pathophysiologie du DAFK

1. Rôle de la résistance à l'insuline dans la dysglycémie

a. Population à l'étude

Les patients à l'étude sont ceux de la cohorte MCFC ayant réalisés au moins deux visites d'HGPO entre 2004 et 2016 (étude prospective). Les visites devaient être espacées d'au moins 1 an et d'au plus 4 ans. Les patients qui étaient diagnostiqués avec le diabète à la première visite étaient exclus et référés à un endocrinologue. À la première visite, les patients avaient soit une tolérance normale au glucose (NGT), indéterminée (INDET) ou étaient intolérants au glucose (IGT). La fonction pancréatique était déterminée par la prise ou non d'enzymes pancréatiques orales. Le génotype est extrait des dossiers médicaux et classé selon la sévérité du génotype (en fonction des 6 classes établies de fonction du CFTR).

b. Hypothèses

Nous avons émis l'hypothèse que, puisque les patients adultes atteints de la FK ont une sécrétion d'insuline généralement plus faible que celle de la population générale, des variations dans la résistance à l'insuline peuvent avoir des répercussions sur la tolérance au glucose. Nous croyons donc que les personnes atteintes de la FK peuvent changer de tolérance au glucose d'un test d'HGPO à un autre à cause de la résistance à l'insuline.

c. Mesures de l'étude

Cette étude prospective observationnelle visait à étudier les changements dans la sécrétion d'insuline et dans la résistance à l'insuline d'une visite à l'autre en fonction de l'évolution de la tolérance au glucose. Lors des HGPOs, les paramètres suivants ont été mesurés et utilisés : taille mesurée avec un stadiomètre, le poids à l'aide d'une balance à bio-impédance (Tanita Corporation Arlington heights, IL, USA) et la spirométrie (Volume expiratoire maximal en 1 seconde (VEMS en litres), puis ensuite avec la formule de Hankinson 1999 (NHANES III) pour les valeurs prédites en %). Le test de fonction pulmonaire est un examen de routine s'effectuant à l'aide d'un spiromètre. Le patient souffle dans un appareil buccal après plusieurs respirations

normales, alors que le nez est bloqué par un pince-nez. La spirométrie mesure différents paramètres dont le volume expiratoire maximal en une seconde (VEMS), mais aussi d'autres paramètres ne survenant pas nécessairement à 1 seconde de l'expiration (l'expiration durant environ 6 secondes), dont la capacité vitale totale et la force expiratoire forcée. La valeur maximale à 1 seconde de l'expiration mesurée directement par l'appareil (VEMS) est la valeur de référence clinique généralement utilisée en FK. La valeur obtenue en litre se convertit en pourcentage prédit (par rapport à une personne normale du même sexe, âge, poids et origine ethnique). Les tests doivent être conformes aux normes de l'American Thoracic Society (126). Ceci signifie entre autres que 3 mesures de VEMS doivent être obtenues avec une différence de moins de 150 mL entre les tests, pour un maximum de 8 essais et que l'expiration doit être un effort maximal, sans fuite d'air par la pièce buccale (incluant la toux) (126). La formule utilisée pour calculer la valeur prédite est celle de Hankinson 1999 (recommandée par l'ATS chez les adultes). Les valeurs prédites permettent de comparer les patients entre eux et à une population de référence, en plus de suivre l'évolution au fil des ans.

L'insuline a été mesurée en duplicata au centre de recherche (IRCM). L'insuline est mesurée par dosage radio-immunologique par le test EMD Millipore Human Insulin (Millipore Corporation, Billerica, MA 01821 US) utilisant de l'insuline humaine marquée à l'iode¹²⁵ et un antisérum d'insuline humaine pour déterminer le niveau d'insuline dans le sérum, le plasma ou les milieux de culture tissulaire. Une concentration fixe de l'antigène marqué avec un isotope est incubé avec une dilution d'antigène non-marqué, créant une compétition par rapport à un anticorps spécifique. Pour déterminer la concentration plasmatique d'insuline, une courbe standard est établie avec des concentrations croissantes d'antigène standard non marqué, et à partir de cette courbe, la quantité d'antigène dans des échantillons inconnus peut être calculée (127). Les aires sous la courbe de sécrétion d'insuline pendant le test ont été calculées grâce au logiciel GraphPad Prism (GraphPad Inc). L'aire sous la courbe de 0 à 30 minutes était considérée comme la première phase de *sécrétion d'insuline* alors que l'aire sous la courbe de 30 à 120 minutes correspondait à la deuxième phase de sécrétion d'insuline.

La *sensibilité à l'insuline* a été calculée avec la formule de Stumvoll (128). Cet indice a comme avantage de ne pas considérer uniquement la glycémie à jeun, mais plutôt les changements de sécrétion d'insuline et de glycémie pendant le test d'HGPO.

Par la suite, des graphiques représentant le *disposition index* ont été réalisés. Ces graphiques représentent la capacité à sécréter de l'insuline en fonction de la résistance à l'insuline. Il s'agit donc d'une représentation graphique de la capacité adaptative des cellules bêta à des variabilités dans la sensibilité à l'insuline (128, 129) .

Aux deux tests, les patients ont été regroupés selon leur tolérance au glucose (NGT, INDET, IGT et DAFK possible au dernier test), puis selon leur évolution de tolérance au glucose :

- 1) Amélioration de la tolérance au glucose : INDET ou IGT au premier test → NGT au deuxième test);
- 2) Détérioration de la tolérance au glucose : NGT au premier test → IGT, INDET ou DAFK au deuxième test; et IGT ou INDET au premier test → DAFK au deuxième test et
- 3) Tolérance au glucose stable dans le temps : même tolérance au glucose aux deux tests.

Une deuxième étude avec un patron similaire (comparaison de 2 tests consécutifs mettant en relation la tolérance au glucose avec la sensibilité et la sécrétion de l'insuline) sur une période plus longue (± 10 ans), de façon à caractériser l'évolution des patients plus âgés vivant avec la FK (plus de 35 ans) a aussi été réalisée (étude non présentée dans le cadre de cette thèse (130)).

d. Analyses statistiques

Dans toutes les études du présent protocole, un $p \leq 0,05$ a été considéré significatif et les analyses ont été réalisées avec le logiciel Statistical Package for Social Sciences 20.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL). Dans ce contexte, les tests statistiques utilisés étaient des ANOVA pour les caractéristiques à l'inclusion entre les 3 groupes et des tests de chi-deux pour les variables catégorielles (sexe, génotype et insuffisance pancréatique). Pour comparer l'évolution entre l'inclusion et le suivi dans chacun des groupes, des analyses par paires ont été réalisées (t test de Wilcoxin).

e. Forces et limites

Il s'agit de la première étude s'intéressant à la résistance à l'insuline de façon prospective. Les études transversales s'y étant intéressées comparent les niveaux de résistance à l'insuline entre les groupes de tolérance au glucose, ce qui ne permet pas d'évaluer la variabilité de cette composante importante de l'homéostasie glucidique. L'indice de sensibilité à l'insuline de Stumvoll est validé pour établir la sensibilité à l'insuline dans la population générale, chez des sujets intolérants au glucose et enfin qui vivent avec le diabète de type 2 pendant une charge de glucose (128). Il est plus précis que l'HOMA-IR qui ne considère que les valeurs à jeun d'insuline et de glycémie plasmatiques. Comme ces valeurs sont souvent normales chez les patients qui vivent avec la FK, un indice dans des conditions dynamiques est, au moins en théorie, plus pertinent pour la population que nous étudions. Toutefois, les indices de sensibilité à l'insuline ont été peu étudiés en FK, et donc, leur validité auprès de cette population n'est pas établie. Pour établir la validité des indices de sensibilité à l'insuline, une validation versus un clamp euglycémique hyperinsulinémique sur un large groupe de patients est requise. Cette validation n'est actuellement pas disponible pour les patients atteints de FK. Néanmoins, l'indice de Stumvoll a été utilisé à plusieurs reprises dans un contexte de FK pour estimer la sensibilité à l'insuline. Inversement, les indices que nous utilisons pour estimer la sécrétion d'insuline ont été validés comparativement au test de référence (hyperglycémie intraveineuse) pour les patients atteints de FK (131). Un test de Botnia-Clamp aurait été souhaitable. Toutefois, cette technique est très invasive pour les patients et comporte certains risques, notamment de malaises et d'hypoglycémie, en plus de nécessiter une demi-journée de test avec de multiples accès veineux.

Une autre limite s'applique à toutes les études de la cohorte MCFC : Il s'agit d'une base de données comportant les patients d'un seul centre hospitalier. La population est assez homogène et principalement d'origine canadienne-française. Il est donc difficile de généraliser les résultats générés à l'ensemble des personnes atteintes de FK, par exemple, parce que les autres groupes peuvent avoir un profil de mutations différent. Toutefois, avec plus de 300 patients inclus à ce jour, nous disposons de l'une des plus larges cohortes de FK au monde, ce qui nous permet d'avoir un nombre intéressant de patients dans les études, contrairement à de nombreuses études publiées avec de petits effectifs, souvent inférieurs à 50 patients. Cette cohorte est également

très bien caractérisée et le devis prospectif nous permet des analyses de comparaisons plus robustes dans le temps.

2. GLYCONE : Effet de la glycémie et insulinémie à 1-h sur les paramètres cliniques (volet transversal et prospectif)

a. Objectif initial de l'étude

L'objectif général de la cohorte GLYCONE est d'explorer la relation entre l'hyperglycémie à 1-h de l'HGPO et la valeur d'insuline à 1-h de l'HGPO avec la fonction pulmonaire et le poids dans une large population de patients atteints de la FK. Le premier objectif méthodologique consistait à fusionner les bases de données de façon rigoureuse en tenant compte des variations dans les méthodes de mesures de plusieurs paramètres cliniques.

Ce projet collaboratif a pour but d'augmenter la portée et la puissance de deux études de cohortes déjà établies dans le cadre desquelles des patients atteints de fibrose kystique sont suivis à un intervalle de 12 à 18 mois (DIAMUCO et MCFC). La mise en commun des deux bases de données permettra d'obtenir une puissance statistique suffisante pour étudier les objectifs suivants.

Objectif primaire :

Montrer que la glycémie et l'insulinémie mesurées à 60 minutes au cours de l'HGPO sont des facteurs pronostiques de la dégradation de la fonction pulmonaire et de l'état nutritionnel :

- 1) glycémie $\geq 11,1$ mmol/L (valeurs reconnues par les lignes directrices de dépistage du diabète)
- 2) insulinémie ≥ 45 mU/L (valeur médiane de la cohorte, il n'existe pas de valeur normale établie, les plages de résultats pouvant varier d'une méthode de dosage à une autre et les valeurs en FK étant généralement plus basses que celles de la population générale).

Objectifs secondaires :

Modéliser sur 4 ans l'évolution du VEMS et de l'IMC, ainsi que le risque de DAFK en fonction de la valeur de la glycémie et de l'insulinémie mesurées à T60 min au cours de l'HGPO.

Objectifs exploratoires :

- Comparer les systèmes de soins et leur impact sur la santé des patients dans ce domaine spécialisé afin de proposer différentes approches de suivi et de prise en charge : comparaison des profils cliniques (poids, VEMS, fréquence des surinfections) et des pratiques cliniques (nombre de visites, type d'intervenants, nature de traitements préventifs ou curatifs tels que traitement antibiotiques oraux ou intraveineux, etc.) entre les deux cohortes.
- Analyse des relations entre le génotype et des paramètres cliniques.

b. Hypothèses

- 1) La glycémie mesurée à 1h au cours de l'HGPO (T60 min) est un marqueur pronostique de la détérioration de l'état respiratoire et nutritionnel.
- 2) L'insulinémie mesurée à T60 min au cours de l'HGPO est un marqueur pronostique de la détérioration de l'état respiratoire et nutritionnel.
- 3) La glycémie mesurée à T60 min est un facteur prédictif de survenue du diabète.

c. Population à l'étude

La population à l'étude est celle de la cohorte GLYCONE, définie dans la section *Définition des cohortes à l'étude* de la section méthodologie du présent protocole (pages 55-56).

d. Variables à l'étude

Les variables explicatives (facteurs pronostiques)

La glycémie et l'insulinémie à 1 heure (60 minutes) mesurées au cours de chacun des tests d'HGPO réalisés au cours du suivi, et autres paramètres mesurant la tolérance glucidique : glycémie et insulinémie à 0, 60 et 120 minutes, et l'HbA1c.

Les facteurs d'ajustement

- Sexe
- Age à l'entrée dans la cohorte
- Génotype
- VEMS à l'entrée dans la cohorte
- IMC à l'entrée dans la cohorte
- Colonisation à *Pseudomonas aeruginosa*

Description des variables:

- Fonction pulmonaire : les valeurs de VEMS en litres sont mesurées par spirométrie le jour de l'HGPO. La valeur prédite en pourcentage est calculée par la formule de Hankinson 1999 (NHANES III). Cette dernière formule tient compte du sexe, de l'âge, de l'origine ethnique et de la valeur en litre du VEMS. Elle est la plus utilisée pour les populations adultes de FK.
- Génotype : Les mutations génétiques ont été relevées dans les dossiers médicaux. La base de données regroupe trois types de mutations génétiques, soient, homozygotes pour $\Delta F508$, hétérozygotes pour $\Delta F508$ ou autres.
- Colonisation bactérienne à *P. Aeruginosa*, *Staph. Aureus* et à *Aspergillus* : Valeur positive si au moins 50% des cultures dans l'année précédant l'HGPO sont positives au micro-organisme (colonisation chronique).
- Antibiotiques : nombre de jour d'antibiotiques intraveineux dans l'année précédant l'HGPO.
- Glycémie : glycémies plasmatiques à 0, 60 et 120 minutes. La glycémie pour toutes les études est mesurée par YSI (YSI 2300 STAT Plus (avant 2017) ou YSI 2500 STAT Plus 2500 (après 2017) ; YSI Incorporated, Yellow Springs, OH, United States). Une membrane enzymatique (glucose oxydase) mesure la glycémie par courant électrique en quelques secondes suite à l'oxydation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. Le flux d'électrons est linéairement

proportionnel à la concentration de peroxyde d'hydrogène et, par conséquent, à la concentration de glucose.

- Insuline : toutes les valeurs d'insuline ont été dosées par un même essai immuno-réactif (BI-INS-IRMA, Cisbio Bioassays, France)

- HbA1c : Les valeurs d'hémoglobine glyquée ont été mesurées aux laboratoires des centres hospitaliers, soit par immunoturbidimétrie (méthode généralement utilisée dans les hôpitaux), soit par chromatographie à haute performance à échange ionique, avec détecteur absorptiométrique à 415 nm sur analyseur automatisé D-100 (Bio-Rad, Hercules, CA, USA) après 2017 au nouveau-CHUM. Les valeurs mesurées sont comparables entre elles selon la méthode (132).

e. Analyses statistiques

Les analyses statistiques conduites à partir des données comprendront :

- Une étude descriptive à l'inclusion et pour chaque année de suivi, de la population de patients, de son état de santé et des prises en charges thérapeutiques.

- Une étude multivariée de l'évolution au cours du temps du VEMS et de l'IMC ajustés sur les *valeurs de glycémie* et sur les autres caractéristiques des patients.

- Une étude multivariée de l'évolution au cours du temps du VEMS et de l'IMC ajustés sur les *valeurs d'insulinémie* et sur les autres caractéristiques des patients.

Analyse descriptive

La description des caractéristiques des patients sera réalisée en vue d'étudier leurs distributions, d'identifier des observations aberrantes ou manquantes et éventuellement de mettre en évidence des caractéristiques des variables qu'il faudra prendre en compte dans l'analyse explicative (centrage ou transformation de variable, discrétisation ou découpage en classes).

Analyse multivariée

Pour tenir compte de la structure répétée et déséquilibrée des données, une approche par modèle linéaire mixte sur données longitudinales (modèle de croissance) sera utilisée pour modéliser l'évolution du VEMS et de l'IMC au cours des 4 années de suivi. Les modèles seront ensuite ajustés sur les mesures de glycémie à 1h dans un premier modèle, et d'insulinémie à 1h dans un deuxième modèle. Un ajustement sur les autres caractéristiques des patients reconnues associées au VEMS et de l'IMC sera aussi réalisé (âge, sexe, IMC à l'entrée dans la cohorte, VEMS à l'entrée dans la cohorte, mutation du gène CTFR, la colonisation par *P. aeruginosa*). Des interactions entre l'effet temps et les valeurs de glycémie et d'insulinémie notamment pourront aussi être testées. Les variables glycémie à 1h et d'insulinémie à 1h seront prises en compte comme des variables dépendantes du temps (« time-varying predictor »), c'est à dire que les valeurs de chacune de ces variables peuvent varier au cours du suivi à chaque mesure de VEMS ou de l'IMC.

f. Forces et limites

Les deux bases de données étant bien caractérisées et avec une collecte de données similaire, nous devrions être en mesure de valider avec la puissance nécessaire plusieurs observations de plusieurs études impliquant de plus petites cohortes. Il nous sera possible d'observer les différences cliniques de deux populations avec un accès comparable aux soins de santé et avec des recommandations similaires en termes de nutrition et de prise en charge clinique de la FK. Toutefois, certaines différences pourraient être dues à des facteurs non mesurés comme les différences environnementales (géographie, habitudes de vie de la population, etc.) et les différences de bagage génétique (prévalence différente de prédisposition génétique au diabète de type 2, etc.). Il serait pertinent d'effectuer une collecte de données alimentaires, d'activité physique et de supplémentation en enzymes pancréatiques (type et doses) dans les deux cohortes. Il a été montré que, malgré une même recommandation internationale de supplémentation enzymatique, les méthodes de prescriptions et l'adhérence des patients sont variables (133). Une collecte alimentaire impliquerait d'utiliser des outils validés pour chacune des populations des deux pays, avec deux bases de données alimentaires propres, mais comparables entre elles. Les comparaisons de prise alimentaire entre 2 pays se heurtent souvent

à l'absence de validation des bases de données alimentaires entre les différentes zones géographiques. Une discussion est en cours concernant cette éventuelle collecte de données.

Volet 2 : Études concernant le dépistage du DAFK

1. Revue de la littérature concernant les tests de dépistage actuels

a. Objectif initial de l'étude

Dans la foulée du nombre grandissant d'études concernant le dépistage du DAFK et les méthodes alternatives, l'objectif de ce projet était avant tout d'effectuer et de rédiger une revue de la littérature sur les études récentes sur le sujet, en plus d'évaluer si une alternative à l'HGPO présentait un niveau de preuve scientifique acceptable pour être considérée dans un contexte clinique. Le serveur *Pubmed* a été utilisé pour recenser les études récentes (2005 et plus) dont l'objectif était d'étudier une méthode de dépistage alternative à l'HGPO, soit en comparaison avec l'HGPO ou en opposition avec le déclin du statut clinique. Les méthodes n'ayant fait l'objet que d'une étude auprès d'un petit groupe n'ont pas été retenues pour la revue de la littérature (comme certains marqueurs inflammatoires). La revue publiée a été organisée de la façon suivante (91):

- 1) Introduction : problématiques entourant le dépistage du DAFK et efforts de recherche
- 2) Les méthodes de dépistages conventionnelles
 - a. L'HGPO et les critères diagnostics actuels
 - b. L'hémoglobine glyquée (HbA1c) et la glycémie à jeun
- 3) Les méthodes émergentes de dépistage
 - a. Les temps intermédiaires de l'HGPO plutôt que la glycémie à 2-h
 - b. La surveillance en continu de la glycémie (SCG)
- 4) Données concernant la perception des patients et l'adhérence au test
- 5) Conclusions tirées des études

2. Utilisation de l'hémoglobine glyquée pour dépister le DAFK

a. Population à l'étude

Il est connu depuis plusieurs années que l'HbA1c corrèle mal avec la glycémie en FK (107). Toutefois, plusieurs études récentes revisitent ce paramètre en proposant, pour le diagnostic du DAFK, un seuil plus bas que celui utilisé pour le diagnostic du diabète de type 2 (6.5%) (115). Un

article récent rapporte que l'HbA1c est sensible à 93.8% pour cibler les patients diabétiques à un seuil de 5.8% (115) et une autre étude rapporte qu'un seuil encore plus bas (5.4%), permettrait de filtrer les patients qui doivent réellement faire une HGPO et permettrait d'éviter à 30% des patients de faire une HGPO annuellement (134). Dans cette approche l'HbA1c ne remplace pas l'HGPO mais permet d'établir un sous-groupe de patients pour lesquels une HGPO n'est pas requise, car leur probabilité de développer un diabète *de novo* est très faible. Toutefois, puisque la première étude ne comportait que 16 patients diabétiques (1 seul manqué par le seuil, d'où la sensibilité de 93.8%), nous visions à reproduire cette étude avec un nombre beaucoup plus important de patients avec DAFK dans la cohorte MCFC afin de tester la validité externe. Dans le cas de l'étude pour réduire le nombre d'HGPO annuelles à l'aide de l'HbA1C, il s'agit d'une idée innovante avec le potentiel de diminuer le fardeau des patients et de l'équipe médicale. Nous visions donc, ici aussi, à tester la validité externe de cette méthode de dépistage auprès des patients de la cohorte GLYCONE.

b. Interventions de l'étude

Les données à l'inclusion ont été utilisées (1 seul test par patient) : glycémies à 0 et 120 minutes de l'HGPO et valeur d'HbA1c mesurée le même jour. Des courbes ROC (receiver operating characteristic curve) ont été générées par le logiciel GraphPad Prism et la sensibilité et spécificité des différents seuils d'HbA1c pour le DAFK ont également été calculées avec ce logiciel. Nous visions une sensibilité d'environ 90% pour définir un seuil acceptable d'HbA1c. Nous avons également évalué le pourcentage de patients DAFK qui n'auraient pas à faire de test d'HGPO si nous utilisons un seuil de 5.4% à la clinique. Un test est considéré comme intéressant dans la mesure où l'augmentation de la sensibilité ne se fait pas au détriment de la spécificité. Par exemple, si un seuil réduit d'HbA1c à 5.3% permet de dépister 90% des patients diabétiques (seulement 10% des patients avec un diabète *de novo* ne sont pas trouvés par le test, mais que la spécificité n'est que de 32% (presque toutes les personnes trouvées par le test ne sont pas réellement diabétiques), ce test serait cliniquement peu intéressant.

c. Forces et limites

Cette étude permet une validation externe sur une plus grande cohorte d'études déjà publiée sur de petites cohortes. Toutefois, le devis transversal ne permet pas d'établir la variabilité dans le temps de l'HbA1c et sa valeur prédictive du DAFK ou de déclin clinique.

3. Autres communications concernant les méthodes de dépistage du DAFK

Divers groupes de recherches publient régulièrement des données concernant la simplification du diagnostic du DAFK. De façon générale, ces études sont effectuées chez un faible nombre de participants (moins de 50). Notre base de données de près de 300 patients nous permet de reproduire certaines de ces études dans notre cohorte. Dans le contexte de cette thèse, certaines publications concernent la reproductibilité d'autres études :

1. Article 5 - *Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes*
2. Article 6 - *Sensitivity and specificity of cystic fibrosis-related diabetes screening methods: which test should be the reference method?*
3. Article 7 - *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*
4. Article 8 - *What is the real usefulness of glycated hemoglobin levels for diabetes screening in patients with cystic fibrosis?*

Toutes les études et contributions scientifiques reliées à cette thèse sont présentées en **Annexe 1 – Autres contributions scientifiques et rayonnement.**

Chapitre 4 – Résultats

Article 1 – Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity?

Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity?

Valérie Boudreau^{1,2*}, Adèle Coriati^{1,2*}, Imane Hammana^{1,2} Sophie Ziai^{1,2}, Katherine Desjardins^{1,2}, Yves Berthiaume^{1,3,4}, Rémi Rabasa-Lhoret^{1,2,3,4}

¹Institut de Recherches Cliniques de Montréal, Montréal, Québec H2W 1R7, Canada

²Department of Nutrition, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

³Cystic Fibrosis Clinic, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM)–Hôtel-Dieu, Montréal, Québec, Canada

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

* equal contribution

Corresponding author: Rémi Rabasa-Lhoret, MD, PhD.

Abstract

Background: Reduced insulin secretion is a key factor to explain high prevalence of glucose intolerance in patients with cystic fibrosis (CF). However, the role of insulin sensitivity remains unclear. The aim of this study is to investigate the association of insulin secretion and sensitivity with the evolution of glucose tolerance.

Methods: A total of 152 patients without known diabetes from the Montreal CF cohort underwent two 2-h oral glucose tolerance tests (OGTT) at baseline and again after 21.2 ± 5.5 months. Pulmonary function and anthropometric measurements were also collected at each visit. At both visits, based on their OGTT results, patients were categorized in glucose tolerance groups (normal glucose tolerance, impaired glucose tolerance or CF-related diabetes) and stratified in 3 groups according to the variation of their glucose tolerance: stable, improved or deteriorated.

Results: At baseline, patients in the deteriorated group had a better sensitivity to insulin than those in the improved group ($P = 0.029$). At follow-up glucose tolerance remained stable in 55.3%, improved in 14.5% and deteriorated in 30.3% of patients. During follow-up, insulin secretion remained stable in all 3 groups. While insulin sensitivity remained stable in patients without changes in glucose tolerance it worsened in patients who deteriorated glucose tolerance ($P < 0.001$) and improved in patients who improved their glucose tolerance ($P = 0.003$).

Conclusion: In a context of significantly reduced insulin secretion, variations of insulin sensitivity are associated with variations of glucose tolerance in adult patients with CF.

1. Introduction

Cystic fibrosis (CF) is the most common autosomal genetic disease in Caucasians. The disease leads to an accumulation of thick secretions in the lungs, pancreas and other organs [1]. Life expectancy of CF patients has increased in the past decades due to improved clinical management of the disease. Consequently, other long-term complications have emerged including CF-related diabetes (CFRD) [2]. CFRD prevalence increases with age [2] and is diagnosed in approximately 40% of CF adult patients, while another 35% have impaired glucose tolerance (IGT) [3,4]. CFRD is preceded by a long phase of glucose intolerance. During this period, patients that develop CFRD have a more pronounced decline in nutritional and pulmonary status compared to patients that do not develop CFRD [3,5,6]. The occurrence of CFRD is associated with a significantly worse prognosis including an increased risk of mortality [2,7].

CFRD is characterized by a severe but not complete insulin secretion deficiency [8]. Reduced insulin secretion is in large part secondary to pancreatic fibrosis [5]. The role of additional factors contributing to glucose intolerance is suggested by the fact that despite low insulin secretion in almost all adult patients with CF, some patients do not develop dysglycemia [4]. In addition, unexplained high variability in oral glucose tolerance has been reported in CF patients [9]. The contribution of insulin sensitivity to CFRD pathophysiology is controversial [10–14]. In CF populations, insulin sensitivity has been reported to be preserved [10,11], improved [12] or reduced [13,14]. Multiple factors including pulmonary exacerbation, variation of nutritional intake and physical activity, some treatments and chronic low-grade inflammation could impact insulin sensitivity in patients with CF [15]. In a context of significantly reduced insulin secretion, such variation in insulin sensitivity could have a significant impact on glucose tolerance [16]. The aim of this observational study was thus to investigate the association of insulin secretion and sensitivity with the evolution of glucose tolerance in adults with CF with different glucose tolerances. We hypothesized that in the context of CF-associated reduced insulin secretion, changes in insulin sensitivity will be associated with varying glucose tolerance over time.

2. Methods

2.1. Subjects

The Montreal Cystic Fibrosis Cohort (MCFC) was established in 2004 as part of an ongoing systematic screening program for glucose abnormalities, including CFRD. The main objective of this prospective observational cohort is to study mechanisms leading to glucose intolerance as well as the association of prediabetic states with CF outcomes. Inclusion and exclusion criteria of the MCFC were previously described [17]. In brief, the exclusion criteria were previous diagnosis of diabetes, pregnancy, CF 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. Patients (≥ 18 years) for which an OGTT was available at baseline and again after 18 to 24 months were included in the analysis ($n = 152$; 74 women and 78 men). Glucose tolerance status (NGT: normal glucose tolerant; IGT: impaired glucose tolerance and newly diagnosed CFRD) was examined at baseline and at follow-up. All patients included at baseline had either a NGT or IGT status. Patients diagnosed with CFRD at baseline were excluded from the follow-up and referred to an endocrinologist after confirmation of CFRD diagnosis by a second OGTT.

2.2. Anthropometric and pulmonary data

On the day of the OGTT, pulmonary function was measured by spirometry using predicted forced expiratory volume in 1 s (%FEV1: Medgraphic) as the main variable. Exocrine pancreatic insufficiency was defined by current enzyme supplementation. Genotype status was extracted from the 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 meter (kg/m^2).

2.3. Genotype classification

Genotype was categorized into five established classes reflecting CFTR expression and function [18]. Patients with two mutations of the same class were assigned that class. Heterozygotes for F508del were assigned the class of the non-F508del allele. Mutations of the “other” category are

those who have not yet been clearly established for the patient or which include two different mutation classes for the same patient (e.g. I–IV). 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 [19,20].

2.4. Oral glucose tolerance test and biochemical dosages

At each visit, all subjects underwent a 2-h OGTT. After an overnight fast, they ingested in less than 5 min a glucose solution of 1.75 g/kg of body weight to a maximum of 75 g according to the Canadian Diabetes Association guidelines [21]. Blood samples were taken at 0, 30, 60, 90 and 120 min to measure plasma glucose and insulin levels. Plasma glucose level was measured immediately in duplicate with a Glucose Analyzer (YSI 2300 STAT plus, glucose and lactate analyzing; YSI Inc.). Insulin samples were frozen at -80°C and then measured in duplicate using human insulin RIA (Linco Research, Inc.). Glycated hemoglobin (HbA1c) was measured by routine chemistry (Immunotubidimeter, ADVIA1650; Bayer Health Care diagnosis).

2.5. Patient categorization

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) or *de novo* CFRD (≥ 11.1 mmol/L). Using these classical glucose categories patients were then stratified in 3 groups according to the variation of their glucose tolerance between baseline and follow-up:

- *Stable glucose tolerance* for patients who maintained a similar glucose tolerance (NGT or IGT) at both tests.
- *Improved glucose tolerance* for patients who reverted from IGT at baseline to NGT at follow-up.
- *Deteriorated glucose tolerance* for patients who worsened their glucose tolerance over time: progressed from NGT to IGT or CFRD, as well as from IGT to CFRD.

2.6. Insulin secretion and sensitivity assessment

Insulin and glucose values during the OGTT were used to estimate insulin secretion and sensitivity using validated indices. The index proposed by Stumvoll et al. [22] was used to evaluate insulin sensitivity. Insulin area under the curve (AUC) was used to estimate 1st phase (AUC from 0 to 30 min of the OGTT) as an index of early insulin secretion and 2nd phase (AUC from 30 to 120 min of the OGTT) as an index of late phase insulin secretion [23]. The disposition index (insulin secretion adjusted for insulin sensitivity) was calculated using the Stumvoll index and the total insulin secretion index. This index is a graphical representation of the beta cell's ability to respond adequately to varying insulin sensitivity [24].

2.7. Statistical analysis

The data are expressed as the mean \pm SD or SEM for the disposition index. The AUC for both insulin and glucose were calculated using the software GraphPad Prism for Windows (GraphPadInc). Data for all three groups at baseline were analyzed by 1-factor analyses of variance (ANOVA). When significant differences were found, a Bonferroni's post hoc test was used to identify group differences. For categorical data (sex, pancreatic enzyme supplementation and genotype), difference between groups was analyzed by χ^2 logistic regression. When analyzing the evolution of parameters over time for a same group, a paired Wilcoxin t test was used. Significance was accepted when $P \leq 0.05$. The SPSS program for Windows was used for all statistical analysis (version 17.0; SPSS Inc.).

3. Results

A total of 152 adult patients with CF completed both visits with a mean of 21.2 ± 5.5 months between the two tests. At baseline, patients were on average 27.0 ± 8.73 years old with a mean BMI of 22.0 ± 3.2 kg/m² and a mean FEV1 of $74.2 \pm 20.0\%$. Pancreatic insufficiency was present in 77.1% of the patients (Table 1). At baseline, 69.1% were classified as NGT while 30.9% were IGT. Eighty-four patients (55.3%) maintained a similar glucose tolerance status at the second OGTT. The remaining patients (44.7%) had either deteriorated (N = 46; 30.3%) or improved (N = 22; 14.5%) their glucose tolerance status between the two tests (Fig. 1). At baseline, all three glucose tolerance transition groups (stable/improved/deteriorated) had comparable

characteristics for age, BMI, FEV1 and the proportion of women (Table 1). Although they shared similar profiles of specific CFTR mutations, a statistical difference was found between the 3 transition groups when CFTR mutations were categorized in two groups: classes I–III and classes IV– other ($P = 0.011$). Insulin secretion between transition groups was then compared prospectively. At baseline, patients in both the deteriorated and improved group had similar 1st phase, 2nd phase and total insulin secretion values (Table 2). However, both groups displayed reduced 1st phase insulin secretion compared to the stable group ($P = 0.001$). Patients in the deteriorated group also had reduced 2nd phase and total insulin secretion compared to the stable group. At follow-up, insulin secretion remained stable for all three groups of glucose tolerance evolution (Table 3). At baseline, insulin sensitivity differed between the improved and the deteriorated groups. Patients in the deteriorated group had a better sensitivity to insulin than those from the improved group ($P = 0.029$) (Table 2). No difference in insulin sensitivity was observed at follow-up for stable patients (Table 3). Insulin sensitivity changed over time for both varying glucose tolerance groups: while an increase in insulin sensitivity was detected for the group with an improved glucose tolerance ($P = 0.003$), a decrease in insulin sensitivity in the deteriorated group was observed ($P \leq 0.001$). Finally, we then assessed the disposition index in all three groups. We found that for both the deteriorated and improved glucose tolerance groups, for a similar insulin secretion value at baseline and follow-up, there was a change in insulin sensitivity over time: an increase for the improved group and a decrease for the deteriorated group. The disposition index was similar at baseline and follow-up for the stable group (Fig. 2). Additionally, we compared BMI and FEV1 evolution for the three groups of patients (Table 3). BMI and FEV1 were the same in the improved group. However, in the deteriorated group, a decline in FEV1 during follow-up was detected (Table 3; $P = 0.001$).

4. Discussion

We and other groups have documented a major reduction of insulin secretion in adult patients with CF [25,26]. This severe reduction in insulin secretion is a key factor explaining the high prevalence of glucose intolerance in this population [3,27]. However, this essential role of reduced insulin secretion does not preclude a potential additional role of insulin sensitivity in glucose tolerance variations. The main purpose of the present study was thus to investigate the

potential role of insulin sensitivity variations as a factor explaining glucose tolerance variations in CF population. After 21 months follow-up, the key findings of our study are as follows: 1) glucose tolerance varied in close to 50% of patients, 2) insulin secretion remained stable in the 3 groups of glucose tolerance, and 3) insulin sensitivity variations mirrored changes in glucose tolerance. Therefore, a worsening of insulin sensitivity was associated with glucose tolerance degradation while an improvement was associated with better glucose tolerance. While insulin sensitivity is not the primary factor contributing to glucose metabolism abnormalities, our study suggests that when short-term (21 months) insulin secretion remains stable, insulin sensitivity variation is associated with significant glucose tolerance change. A recent study in a CF mouse model showed that, in aging mice, insulin resistance rather than intrinsic beta-cell secretory defects was more related to the genetic defect in CF [28]. It could be hypothesized that adult CF patients that have decreased insulin secretion are frequently at their near maximal insulin secretory capacity and that the worsening of insulin sensitivity can rapidly impact glucose excursions. Patients showing deterioration in glucose tolerance over time had a reduction in their insulin sensitivity, but they also displayed lower insulin secretion compared to other groups. Since we suggest that decrease in insulin sensitivity would potentially be a factor involved in the deterioration of glucose tolerance, it would be even more true in patients with a more pronounced insulin secretion defect. Indeed, insulin sensitivity in patients with CF can widely vary as it has been reported to be normal [10,11], improved [12] or reduced [13,4]. Such insulin sensitivity variability could be related to multiple factors. For instance, there exist different methods to measure or estimate insulin sensitivity [29,30]. Moreover, CF-related factors including pulmonary exacerbation [1], variation of qualitative and quantitative nutritional intake [6], low physical activity [31,32], medication (e.g. glucocorticoids) [15], low fat mass but with a tendency for central distribution [33], chronic low-grade inflammation and increased cytokine release [26,34] might all influence insulin sensitivity. Glucose itself can also contribute to insulin sensitivity by having a deleterious effect on pancreatic β -cells frequently referred to as glucose toxicity [35]. It is possible that residual subclinical inflammation may impact insulin sensitivity. However, available inflammatory plasma biomarkers (CRP, fibrinogen and white blood cells) were similar between groups at baseline. Since all CF subjects, including those with NGT, present repeated increased postprandial

glucose excursions, these repeated glucose excursions might contribute to altered insulin sensitivity with time. In our study, we aimed to minimize potential bias related to insulin sensitivity using validated insulin secretion indices [8], and choosing a time frame long enough to observe glucose tolerance variation while minimizing the confounding factors associated with significant clinical degradation. Our observation that insulin sensitivity variations mirror glucose tolerance variations provides a potential explanation to the high variability of glucose tolerance recently reported by Scheuing et al.[9]. Our design does not establish a causal relationship between variation of insulin resistance and variations of glucose tolerance, but such a relationship is probable. If insulin sensitivity reduction indeed contributes to the deterioration of glucose tolerance over time, it is conceivable that acting on this parameter could improve glucose tolerance in CF patients. As demonstrated in the general population and in patients with type 2 diabetes, a physical activity program, nutrition and pharmacologic interventions could be considered to improve glucose tolerance in patients with CF [31,36]. Besides its multiple benefits on important CF aspects (pulmonary function, bone health, etc.) [32], physical activity would be a potential way to improve insulin sensitivity. Mutation associated with disease severity (classes I and II) is more represented in patients who changed their glucose tolerance. It was recently reported that new therapies targeting correction of the defect associated with specific classes of CFTR mutation could improve insulin secretion [37]. It would be interesting to assess the potential role of CFTR correctors on insulin sensitivity.

Our study has several limitations. First, our observations are limited to a large but mostly French-Canadian and relatively homogenous cohort. However, this cohort is well-characterized and repeated standardized glucose tolerance tests, insulin secretion and insulin sensitivity estimations have allowed robust comparisons. Moreover, we used the Stumvoll Index as a model to estimate insulin sensitivity. Though this index has been validated against gold standard methods in healthy and diabetic patients [22] and previously used for CF population [17], delayed insulin secretion found in CF may confound the interpretation of the OGTT derived index results. A longer follow-up period might be necessary to better understand the respective roles of the progressive reduction of insulin secretion and the variation of insulin sensitivity. However, a longer follow-up will likely increase the risk of additional confounding factors.

In conclusion, in the context of CF-associated reduced insulin secretion, mild variations of insulin sensitivity could have an impact on glucose tolerance in adult patients with CF.

Further investigations should focus on factors that might positively influence insulin sensitivity including nutrition, drugs and physical activity.

Funding

This study was supported by an operating grant (#2883) from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation and the J-A DeSève search chair in clinical research awarded to RRL.

Author contributions

R.R-L., V.B. and A.C. designed the study. V.B. and A.C. wrote the manuscript. V.B. formatted the manuscript for the submission. V.B. and A.C. analyzed data, conducted the literature search and drafted the manuscript. A.C., V.B., H.I. and S.Z. recruited subjects and collected data. H.I., S.Z., D.K., Y.B. 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 data, and the decision to submit and publish the manuscript.

Conflicts of interest

The authors have nothing to disclose.

Acknowledgments

We thank all nurses at the diabetes and CF clinic for their technical assistance for OGTT testing.

References

- [1] Grasemann H, Ratjen F. Early lung disease in cystic fibrosis. *Lancet Respir Med* 2013;1(2):148–57.
- [2] O'Shea D, O'Connell J. Cystic fibrosis related diabetes. *Curr Diab Rep* 2014;14(8):511.
- [3] Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, et al. Diabetes: a major comorbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 2005;31(3 Pt 1):221–32.

- [4] 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.
- [5] Della Manna T, Setian N, Rodrigues JC. Cystic fibrosis-related diabetes: a frequent comorbidity. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008;52(2):188–97.
- [6] 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.
- [7] 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.
- [8] Hammana I, Potvin S, Tardif A, Berthiaume Y, Coderre L, Rabasa-Lhoret R. Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2009;8(6):378–81.
- [9] Scheuing N, Holl RW, Dockter G, Hermann JM, Junge S, Koerner- Rettberg C, et al. High variability in oral glucose tolerance among 1128 patients with cystic fibrosis: a multicenter screening study. *PLoS One* 2014;9(11), e112578.
- [10] 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.
- [11] Mohan K, Miller H, Dyce P, Grainger R, Hughes R, Vora J, et al. Mechanisms of glucose intolerance in cystic fibrosis. *Diabet Med* 2009; 26(6):582–8.
- [12] Ahmad T, Nelson R, Taylor R. Insulin sensitivity and metabolic clearance rate of insulin in cystic fibrosis. *Metabolism* 1994;43(2):163–7.
- [13] Moran A, Pyzdrowski KL, Weinreb J, Kahn BB, Smith SA, Adams KS, et al. Insulin sensitivity in cystic fibrosis. *Diabetes* 1994;43(8):1020–6.
- [14] 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.

- [15] Kelly A, Moran A. Update on cystic fibrosis-related diabetes. *J Cyst Fibros* 2013;12(4):318–31.
- [16] Elder DA, Wooldridge JL, Dolan LM, D'Alessio DA. Glucose tolerance, insulin secretion, and insulin sensitivity in children and adolescents with cystic fibrosis and no prior history of diabetes. *J Pediatr* 2007;151(6): 653–8.
- [17] 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.
- [18] Adler AI, Shine BS, Chamnan P, Haworth CS, Bilton D. Genetic determinants and epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes: results from a British cohort of children and adults. *Diabetes Care* 2008;31(9): 1789–94.
- [19] Fraquelli M, Baccarin A, Corti F, Conti CB, Russo MC, Valle SD, et al. Bowel ultrasound imaging in patients with cystic fibrosis: relationship with clinical symptoms and CFTR genotype. *Dig Liver Dis* 2016;48(3): 271–6.
- [20] 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.
- [21] Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert C, Cheng AY. 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.
- [22] Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Van Haeften T, et al. Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 2000;23(3):295–301.
- [23] Ziai S, Belson L, Hammana I, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2011;10(2): 145.
- [24] Bergman RN, Ader M, Huecking K, Van Citters G. Accurate assessment of beta-cell function: the hyperbolic correction. *Diabetes* 2002;51(Suppl. 1): S212–20.

- [25] Coriati A, Ziai S, Azar M, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Characterization of patients with cystic fibrosis presenting an indeterminate glucose tolerance (INDET). *J Cyst Fibros* 2015.
- [26] 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. *J Cyst Fibros* 2007;6(6):376–83.
- [27] Lanng S. Glucose intolerance in cystic fibrosis patients. *Paediatr Respir Rev* 2001;2(3):253–9.
- [28] 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.
- [29] Disse E, Rabasa-Lhoret R, Laville M, Bastard JP. Is it important to consider how hyperinsulinaemic–euglycaemic clamp results are expressed? *Diabetes Metab* 2011;37(5):460–1.
- [30] 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.
- [31] Venkatasamy VV, Pericherla S, Manthuruthil S, Mishra S, Hanno R. Effect of physical activity on insulin resistance, inflammation and oxidative stress in diabetes mellitus. *J Clin Diagn Res* 2013;7(8):1764–6.
- [32] Williams CA, Saynor ZL, Tomlinson OW, Barker AR. Cystic fibrosis and physiological responses to exercise. *Expert Rev Respir Med* 2014;8(6): 751–62.
- [33] 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.
- [34] Ziai S, Coriati A, Gauthier MS, Rabasa-Lhoret R, Richter MV. Could T cells be involved in lung deterioration and hyperglycemia in cystic fibrosis? *Diabetes Res Clin Pract* 2014;105(1):22–9.
- [35] LeRoith D. Beta-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities. *Am J Med* 2002;113(Suppl. 6 A):3S–11S.

[36] 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.

[37] Bellin MD, Laguna T, Leschyshyn J, Regelman W, Dunitz J, Billings J, et al. Insulin secretion improves in cystic fibrosis following ivacaftor correction of CFTR: a small pilot study. *Pediatr Diabetes* 2013;14(6): 417–21.

Table 1. Physical and biochemical cohort characteristics of adult patients with CF at baseline.

	Total (N = 152)	Stable (N = 84)	Improved (N = 22)	Deteriorated (N = 46)	P value
Sex (% women)	48.7	51.2	36.4	50	0.454*
Age (years)	27.0 ± 8.73	26.9 ± 9.4	26.8 ± 6.8	27.3 ± 8.5	0.962
BMI (kg/m ²)	22.0 ± 3.2	22.2 ± 3.4	21.8 ± 3.2	21.6 ± 2.8	0.555
FEV1 (%)	74.2 ± 20.0	74.9 ± 20.6	69.7 ± 18.3	74.7 ± 20.1	0.544
CRP (mg/L)	6.3 ± 8.1	5.9 ± 8.8	5.2 ± 7.1	7.6 ± 7.6	0.449
Pancreatic Enzyme (% Yes)	77.1	71.4	81.8	84.4	0.237*
NGSP-HbA1c (%)	5.6 ± 0.0	5.6 ± 0.3	5.7 ± 0.4	5.6 ± 0.5	0.845
IFCC-HbA1c (mmol/mol)	38	38	39	38	
CFTR mutation class					
I (%)	19.1	20.2	22.7	15.2	.134*
II (%)	52.0	41.7	63.6	65.2	
III (%)	0.6	0	0	2.2	
IV (%)	11.8	15.5	9.1	6.5	
V (%)	6.6	10.7	0	2.2	
Other	9.9	11.9	4.6	10.9	
CFTR mutation classes I, II or III (%)	71.7	61.9	86.4	82.6	0.011
CFTR mutation classes IV, V or other (%)	28.3	30.1	13.6	17.4	

Abbreviations: FEV1, forced expiratory volume expired in 1 s; BMI, body mass index; NGSP, National Glycohemoglobin Standardization Program; IFCC, International Federation Of Chemical Chemistry. Mean and SDs are shown (±); P value was determined by 2-way ANOVA repeated. *: P value was determined by Chi². Values in bold represent significant P values. Significant difference when P ≤ 0.05.

Table 2. Parameters of glucose and insulin homeostasis of adult patients with CF at baseline.

	Total (N = 152)	Stable (N = 84)	Improved (N = 22)	Deteriorated (N = 46)	P value
1st phase insulin secretion	715.3 ± 402.0	828.4 ± 475.5a	580.5 ± 249.2b	565.6 ± 222.7b	0.001
2nd phase insulin secretion	4973.1 ± 3014.2	5589.9 ± 3588.7a	4637.4 ± 2316.6ab	4014.3 ± 1695.8b	0.017
Total insulin secretion)	5692.3 ± 3341.4	6407.9 ± 3959.2a	5191.5 ± 2557.8ab	4625.4 ± 1913.9b	0.013
Fasting plasma glucose (mmol/L)	5.2 ± 0.5	5.2 ± 0.49	5.2 ± 0.4	5.4 ± 0.64	0.264
Fasting plasma insulin (μU/mL)	10.8 ± 4.6	11.4 ± 4.4	10.0 ± 4.0	9.82 ± 4.4	0.132
1 h-OGTT plasma glucose (mmol/L)	10.4 ± 2.3	9.9 ± 2.3a	11.8 ± 1.5b	10.7 ± 2.4ab	0.001
1 h-OGTT plasma insulin (μU/mL)	57.7 ± 39.2	68.6 ± 46.6a	47.1 ± 25.2ab	44.2 ± 21.2b	0.001
2 h-OGTT plasma glucose (mmol/L)	7.0 ± 1.9	6.5 ± 1.8a	9.0 ± 0.8b	7.1 ± 1.8a	≤0.001
2 h-OGTT plasma insulin (μU/mL)	55.7 ± 10.0	58.2 ± 47.3	64.5 ± 37.6	46.0 ± 22.5	0.146
Insulin sensitivity index	0.076 ± 0.024	0.078 ± 0.027ab	0.064 ± 0.019a	0.080 ± 0.018b	0.029
Plasma glucose (area under the curve)	1038.2 ± 177.7	989.3 ± 166.1a	1177.4 ± 98.0b	1062.0 ± 193.7a	≤0.001

Abbreviations: OGTT, oral glucose tolerance test. Mean and SDs are shown (±); P value was determined by 2-way ANOVA repeated measures. Groups that do not share the same letter are statistically different from each other. Values in bold represent significant P values. Significant difference when $P \leq 0.05$.

Table 3. Physical and biochemical characteristics at baseline and at follow-up (mean duration of 21.2 ± 5.5 months).

	Baseline	Follow-up	P value
<i>Stable (n = 84)</i>			
BMI (kg/m ²)	22.2 ± 3.4	22.6 ± 3.5	0.022
FEV1 (%)	74.9 ± 20.6	73.3 ± 22.0	0.030
Total insulin secretion	6407.9 ± 3959.2	5905.7 ± 2665.5	0.330
1st phase insulin secretion	828.4 ± 475.5	733.0 ± 450.7	0.164
2nd phase insulin secretion	5589.9 ± 3588.7	5152.7 ± 2404.9	0.316
Insulin sensitivity index	0.078 ± 0.027	0.081 ± 0.023	0.079
<i>Ameliorated (n = 22)</i>			
BMI (kg/m ²)	21.8 ± 3.2	22.0 ± 3.5	0.226
FEV1 (%)	69.7 ± 18.3	68.6 ± 18.1	0.808
Total insulin secretion	5191.5 ± 2557.8	5286.6 ± 2561.0	0.794
1st phase insulin secretion	580.5 ± 249.2	566.4 ± 200.8	0.936
2nd phase insulin secretion	4637.4 ± 2316.7	4720.1 ± 2411.5	0.765
Insulin sensitivity index	0.064 ± 0.019	0.087 ± 0.020	0.003
<i>Deteriorated (n = 46)</i>			
BMI (kg/m ²)	21.6 ± 2.8	21.7 ± 2.9	0.096
FEV1 (%)	74.7 ± 20.1	68.6 ± 23.2	0.001
Total insulin secretion	4625.4 ± 1913.9	4948.6 ± 2580.6	0.312
1st phase insulin secretion	565.6 ± 222.7	563.3 ± 281.8	0.461
2nd phase insulin secretion	4014.3 ± 1695.8	4398.2 ± 2378.2	0.289
Insulin sensitivity index	0.080 ± 0.018	0.059 ± 0.019	≤0.001

Abbreviations: FEV1, forced expiratory volume expired in 1 s; BMI, body mass index. Mean and SDs are shown (±); P value was determined by 2-way ANOVA repeated. Values in bold represent significant P values. Significant difference when P ≤ 0.05.

Figure 1 Transition of glucose tolerance status after two 2-hour OGTT (1.75 g/kg of glucose) in adult patients with CF (N = 152) over 21.2 ± 5.5 months. Full line, improved glucose tolerance; dotted line, stable glucose tolerance; bold line, deteriorated glucose tolerance. Abbreviations: NGT, Normal glucose tolerance; IGT, Impaired glucose tolerance; CFRD, Cystic fibrosis-related diabetes.

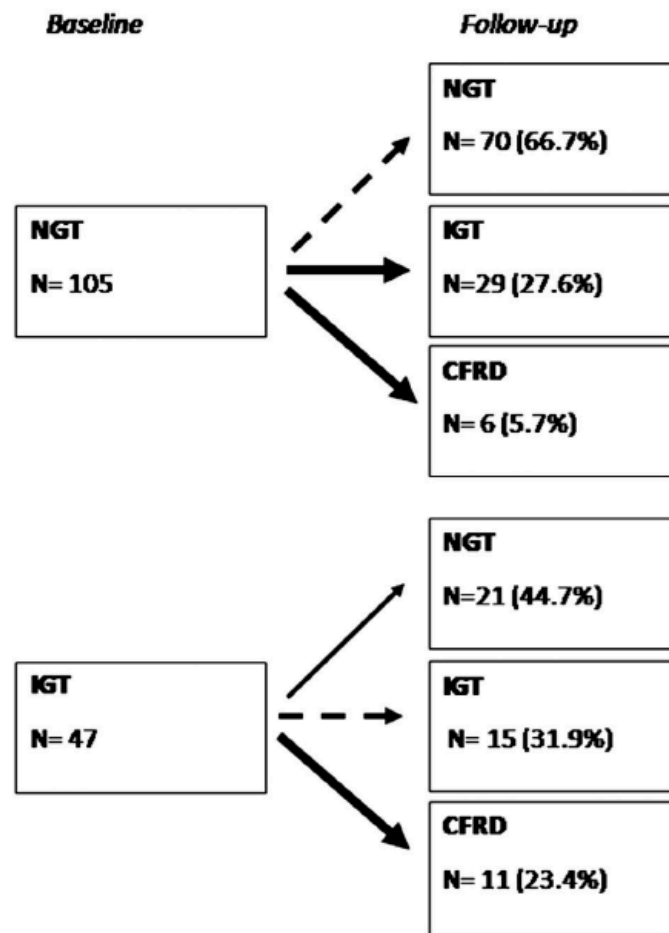
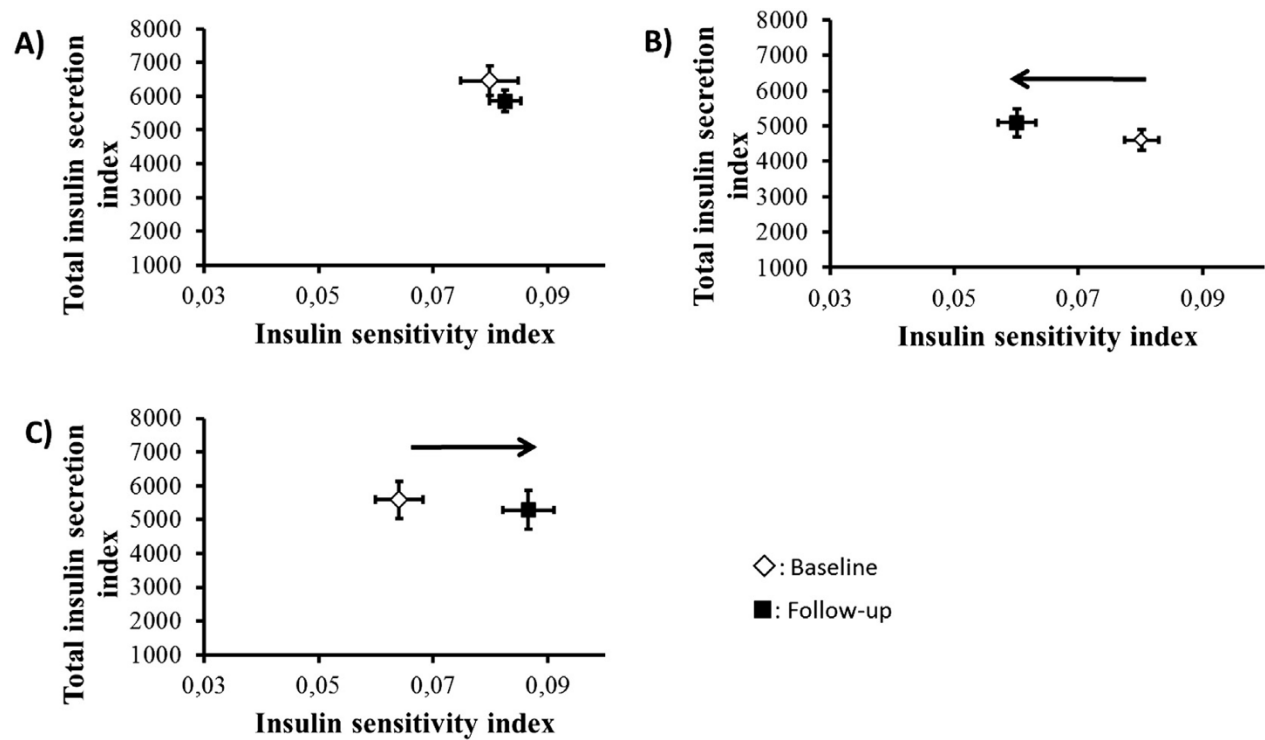


Figure 2 Disposition index for A) stable, B) deteriorated and C) improved glucose tolerance groups. Total insulin secretion index was adjusted for insulin sensitivity index for each transition group of glucose tolerance (n = 84 patients from the stable group, n = 22 from the improved group and n = 46 from the deteriorated group). AUC0-120 during OGTT reflects the total insulin secretion index, and the insulin sensitivity index represents the Stumvoll index. White diamond, Baseline; Black square, Follow-up. Arrows indicate transition from baseline to follow-up. Data are represented as \pm SEM.



Article 2 – Glucose tolerance in Canadian and French cystic fibrosis adult patients

Article publié dans Scientific Reports (2019) 9:4763

Glucose tolerance in Canadian and French cystic fibrosis adult patients

Quitterie Reynaud^{1,2*}, **Valérie Boudreau**^{3,4*}, Sandrine Touzet^{5,6}, Katherine Desjardins³,
Stéphanie Poupon Bourdy^{5,6}, Emilie Blond^{7,8}, Yves Berthiaume^{3,9}, Rémi Rabasa-Lhoret^{3,4,9},
Isabelle Durieu^{1,2,5,6}

¹Centre de référence Adulte de la Mucoviscidose, Service de médecine interne, Hospices civils de Lyon, F-69495, Pierre Bénite, France.

²Université de Lyon, Équipe d'Accueil Health Services and Performance Research (HESPER) 7425, F-69003, Lyon, France.

³Montreal Clinical Research Institute, Québec, Canada.

⁴Université de Montréal, Département de nutrition et de Médecine, Montréal, Québec, Canada.

⁵Hospices Civils de Lyon, Pôle de Santé Publique, Lyon, F-69003, France.

⁶Université de Lyon, Équipe d'Accueil Health Services and Performance Research (HESPER) 7425, Lyon, France.

⁷Service de Biochimie et Biologie Moléculaire, Hospices Civils de Lyon, F-69495, Pierre Bénite, France.

⁸Université de Lyon, INSERM U1060, Laboratoire CarMen, F-69003, Lyon, France.

⁹Cystic fibrosis clinic, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

* equal contribution

Corresponding author: Quitterie Reynaud, MD.

Abstract

Cystic fibrosis (CF)-related diabetes is associated with increased mortality. We analyzed the clinical and glycemic profiles of two cohorts of patients treated according to the same guidelines in France and Canada. To investigate incidence differences in phenotypic and glucose abnormalities and to explore the evolution over a 4-year follow-up period, two cohorts of 224 Canadian and 147 French adult CF patients (≥ 18 years) without treated CF-related diabetes (CFRD) were followed over a 4-year period. In each of these groups, we investigated the longitudinal relationship between glucose tolerance and pulmonary function. An annual 2-hour oral glucose tolerance test was performed: fasting blood glucose (G0) and 2-h blood glucose (G2) were measured. Patients were classified at inclusion according to their glucose tolerance status: Normal glucose tolerant, abnormal glucose tolerant or *de novo* CFRD. Age, sex ratio and proportion of F508del homozygous patients were not statistically different between both cohorts. Canadian patients had better pulmonary function (median %FEV1 (IQR): 71.0 (55.0–82.0) vs. 64.0 (40.0–78.0), $p < 0.001$) and greater body mass index (BMI; median BMI in kg/m²) (IQR) 21.1 (19.5–22.8) vs. 19.9 (18.4–21.4), $p < 0.001$). Glucose values: G0 (5.4 (5.0–5.9) vs. 4.8 (4.5–5.1) mmol/L, $p < 0.001$) and G2 (7.6 (5.8–9.7) vs. 6.5 (5.2–8.5) mmol/L, $p = 0.001$) were higher in the Canadian cohort translating into a higher incidence of *de novo* CFRD diagnosis (19.2 vs. 9.8%, $p = 0.003$). Decline in FEV1 over time was not different between patients according to glucose tolerance groups. Despite higher glucose levels and incidence of *de novo* CFRD, Canadian CF patients have a better lung function and a higher BMI than French patients. In spite of these differences between the cohorts, the decline in FEV1 in patients with abnormal glucose tolerance is similar between these groups.

Introduction

In the last decade, life expectancy of patients with cystic fibrosis (CF) has significantly improved. While the median life expectancy was 10 years of age in the 1960's, it is now estimated to greater than 50 years both in Canada and France (1,2). However, along with this better life expectancy, new complications have emerged. Abnormalities in glycemic status and CF-related diabetes (CFRD) have become the main complications after respiratory disease and exocrine pancreatic insufficiency (3). The prevalence of CFRD increases with age, affecting around 50% of adult CF patients. In adult patients without CFRD, the prevalence of abnormal glucose tolerance is 35% (4). A progressive loss of beta cell mass with a direct effect from CFTR-mutation and a possible contributory role of insulin resistance lead to abnormal glucose levels and development of CFRD (5–8). Because of the insidious onset of CFRD and the fact that standard simple screening tests are less reliable for CF patients (e.g. fasting glucose, glycosylated hemoglobin, etc.) (9), annual screening for CFRD is recommended starting at ten years of age, using the 2-h Oral Glucose Tolerance Test (OGTT) (10). CFRD is still associated with increased mortality despite the progressive improvement in screening and management (11). Studies have compared demographic data of European and North American CF children patients using CF registries (12,13), suggesting differences in demographic data (height and weight) between populations. No data are available regarding difference in CFRD prevalence between Europe and North America except data from annual registry reports (14). Furthermore, registry data concerning specific comorbidities like CFRD are not homogeneously collected, and most of the time registries do not collect data about other glucose metabolic abnormalities. It is thus possible that both prevalence of CFRD and its impact on clinical CF condition differ between these two populations. The consequences of different glucose tolerance profiles on respiratory function have not been evaluated in large cohorts and over long periods. Similarly, the potential role of insulin deficiency and insulin resistance have not been described and compared in large cohorts (15–17). The objective of this study was to compare the following parameters between the Canadian and French cohorts: (1) clinical characteristics, (2) glucose and insulin values as well as CFRD incidence and (3) evolution of pulmonary function over a 4-year follow-up period.

Methods

Study population. Data were obtained from the Montreal Cystic fibrosis Cohort (MCFC) for Canada and from the Lyon Cystic Fibrosis Cohort (DIAMUCO) for France. Both research cohorts are investigating mechanisms of glucose intolerance as well as associations between glucose intolerance and clinical outcomes in adult patients with CF. The Montreal Cystic Fibrosis Cohort was established in 2004 and all available data at inclusion from patients included between 2004 to 2016 were considered for this analysis. The DIAMUCO Cohort was established in 2009 and all available data at inclusion from patients included between 2009 to 2012 were considered for this analysis. All available follow-up pulmonary function data were included in both cohorts over a 4-year period. Informed consents have been obtained for all subjects included. The institutional review board of each participating hospital and research ethics board authorized the cohorts in accordance with the current ethical standards (Comité de Protection des Personnes in France, Comité d'éthique de la recherche in Canada), as well as the French data Protection Agency for DIAMUCO Cohort (Comission Nationale de l'Informatique et des Libertés CNIL). For both cohorts, all adult patients (>18 years) with CF, pancreatic insufficiency and no previous history of treated CFRD were included. Patients who received a *de novo* CFRD diagnosis during recruitment were however included. Main exclusion criteria were pancreatic sufficiency and previous pulmonary transplantation. In patients with ongoing pregnancy, pulmonary exacerbation or current treatment with medication known to interfere with glucose metabolism (e.g. high dose oral steroids and enteral tube feeding), OGTT was delayed upon resolution of this temporary exclusion factor. OGTT results were accepted in patients taking stable, long-term (≥ 1 year) low-dose oral corticosteroids (maximal dose of 10 mg prednisone per day). At the time of the OGTT, all patients were clinically stable with no recent (<1 month) pulmonary exacerbation or symptoms of acute

Clinical and biological data. In both cohorts, a harmonized data collection process was used to extract required information from medical charts at inclusion. This included age, sex, CF related genotype, chronic bacteriological colonization and number of intravenous antibiotics courses in the previous year. Chronic bacteriological colonization was defined as follow: 50% or more of samples being positive for a specific bacteria in the preceding 12 months (18). Other data such as BMI, FEV1, glycosylated hemoglobin (HbA1c) were also collected at inclusion and then between

12 and 18 months during a 4-year follow-up for FEV1. BMI was calculated using weight in kilograms divided by height in square meter (kg/m²). Pulmonary function was measured by spirometry using the forced expiratory volume in 1 second in L (FEV1) using Hankinson 1999 formula for FEV1(%) (19). HbA1c was measured using HPLC automate variant II (Biorad) in France, and immunotubidimeter (Bayer Health Care diagnosis) in Canada. Both HbA1c are aligned with international standards.

Oral glucose tolerance test (OGTT). OGTT was realized at the inclusion in both cohorts and was carried out after an overnight fast. Patients were given glucose (1.75 g per kg bodyweight, maximum 75 g) then plasma glucose was measured at start (G0), 1 hour (G1) and 2 hour (G2) (20). Patients diagnosed with *de novo* CFRD underwent within 2 months a second OGTT to confirm the diagnosis. Plasma insulin was also measured at start (I0), 1 hour (I1) and 2 hour (I2) by immunoradiometric assay (BI-INS-IRMA, Cisbio Bioassays, France) and measures were centralized in Quebec, to obtain comparable values. Depending on the results of the OGTT at inclusion, patients were classified into different subgroups of glucose tolerance according to international guidelines (10): Normal Glucose Tolerance (NGT) ($G0 \leq 7.0$ mmol/L and $G2 \leq 7.7$ mmol/L), Abnormal Glucose Tolerance (AGT) defined as having either indeterminate glucose tolerance (INDET) ($G0 \leq 7.0$ mmol/L and $G2 \leq 7.7$ mmol/L, but $G1 \geq 11.1$ mmol/L) or impaired glucose tolerance (IGT) ($G0 \leq 7.0$ mmol/L and $G2 > 7.7$ mmol/L but <11.1 mmol/L) or *de novo* CFRD ($G0 > 7.0$ mmol/L or $G2 \geq 11.1$ mmol/L).

Statistical methods. Values are expressed as median (interquartile range [IQR]) or percentage, as appropriate. Demographic and clinical data, insulin and glucose values from both cohorts were compared at inclusion of patients of each cohort, using non parametric tests (Chi² or Mann-Whitney tests, as appropriate). Subgroups analyses determined by glucose tolerance subgroup classification were then performed to compare clinical status, glucose and insulin values of both cohorts using non parametric tests (Chi² or Mann-Whitney tests, as appropriate).

Correlation analysis between BMI and pulmonary function (FEV1), AUC glycemia and AUC insulin were made with Spearman's correlation. A linear mixed regression model with random intercept and random slope was fitted to assess the effect of glucose tolerance subgroup at entry in the cohort on the mean slope of FEV1 change over 4 years. Effect of glucose tolerance subgroup was

controlled for the cohort and age. Interaction between covariates (cohort, NGT and AGT) and time were tested to characterize differences in longitudinal rates of change. The relationship between FEV1 decline and CFRD subgroup (56 patients) was not analyzed due to the small sample size and no available clinical data in the Canadian group since confirmed *de novo* CFRD patients are excluded from the cohort after diagnosis. Analyses were performed using SPSS software (version 24 by IBM, Chicago, USA) and SAS® software (version 9.4, SAS® Institute Inc., Cary, NC, USA). Area under the curve (AUC) for glucose and insulin was calculated using the software GraphPad Prism (GraphPad Software Inc; CA, USA). A probability value ≤ 0.05 was considered as statistically significant.

Results

Characteristics at baseline. Data of 224 Canadian and 147 French patients were included (See Table 1). Demographic and clinical data are detailed in Table 1. No difference of sex ratio, proportion of F508del homozygous patients and age was observed between the 2 cohorts. The clinical status of Canadian group was better with higher BMI (median in kg/m² [IQR]) 21.1 [19.5–22.8] vs. 19.9 [18.4–21.4], $p < 0.001$ and higher FEV1 (median in % [IQR]) 71.0 [55.0–82.0] vs. 64.0 [40.0–78.0], $p < 0.001$. Accordingly, a higher proportion of patients with mild to normal predicted FEV1 (>70%) was observed in Canadians cohort (51.3% vs. 38.1%, $p = 0.012$). The proportion of patients colonized with *Pseudomonas aeruginosa* (PA), *Burkholderia cepacia*, and *Aspergillus* was not statistically different between both cohorts. There was a higher proportion of patients colonized with *Staphylococcus aureus* (SA) in the French cohort (70.1% vs. 55.8%, $p < 0.006$). The number of intravenous antibiotics courses in the year preceding the OGTT was not statistically different between the 2 groups. The incidence of *de novo* CFRD diagnosis was higher in the Canadian population (19.2% vs. 9.8%, $p = 0.003$). Canadian cohort displayed a lower proportion of patients with normal glucose tolerance (36.6% vs. 53.4%, $p = 0.003$). Both fasting (G0) and 2-hours (G2) OGTT values (median in mmol/L [IQR]) were higher in the Canadian cohort: 5.4 [5.0–5.9] vs 4.8 [4.5–5.1], $p < 0.001$ for G0; 7.6 [5.8–9.7] vs. 6.5 [5.2–8.5], $p = 0.001$ for G2. The AUC OGTT curve for glucose values is higher in Canadian patients ($p < 0.001$). However, there was no statistical difference in HbA1c values between the two groups. Regarding insulin values (median $\mu\text{U/dl}$ [IQR]) in Canadian compared to French patients, fasting (I0) and I2 values were higher in

the Canadian cohort: 3.8 [2.3–5.7] vs. 3.2 [2.2–5.0], $p = 0.031$ for I0; and 27.4 [16.6–42.3] vs. 18.1 [11.0–33.0], $p < 0.001$ for I2. For the entire OGTT test area under the curve for insulin values is higher in Canadian patients ($p < 0.001$).

Clinical status comparison among the different glucose tolerance groups. Subgroup analyses determined by glucose tolerance subgroup classification were performed (Table 2). Fourteen French patients were excluded from the analyses because data for either G1 or G2 were not available and their data did not allow classification into glucose tolerance subgroups. %FEV1 (median in % [IQR]) was higher for Canadian patients for the NGT group compared to NGT French patients: 72.0 [56.0–86.0] vs. 64.0 [38.0–80.0], $p = 0.006$, while no difference was observed for %FEV1 between Canada and France for the AGT and CFRD groups. BMI (median in kg/m² [IQR]) was also significantly higher for NGT and AGT Canadian patients compared to the French patients: 20.8 [19.5–22.7] vs. 20.2 [18.4–21.4], $p = 0.010$ for NGT and 21.1 [19.5–23.1] vs. 19.8 [18.5–21.6], $p = 0.002$ for AGT.

Glucose values according to glucose tolerance group. For each glucose tolerance category (see Table 2), Canadian patients displayed higher G0 median values and higher glucose median AUC as compared to French patients: $p < 0.001$ and $p = 0.005$ in NGT group, $p < 0.001$ and $p < 0.001$ in AGT group, and $p = 0.005$ and $p = 0.006$ in CFRD group.

Insulin values according to glucose tolerance group. NGT and AGT Canadian patients displayed higher insulin median AUC than French patients ($p < 0.001$ and $p = 0.040$), but this difference no longer exists for patients with *de novo* CFRD, $p = 0.278$ (see Table 2). Insulin sensitivity (Stumvoll index) was higher for NGT French patients ($p = 0.039$) compared to Canadian NGT patients, but no difference was observed in the 2 other subgroups. Insulin resistance (HOMA-IR) was higher for Canadian NGT and AGT patients ($p = 0.004$ and $p = 0.048$) compared to French patients. Despite higher level of insulin values for Canadian patients, the trends of the curve of insulin profile is similar for both Canadian and French NGT and AGT patients. Patients of both cohorts with NGT present a plasma insulin rise during the first hour of the OGTT (Fig. 1a), followed by moderated reduction at 2-h when glucose levels are trending downward. For all AGT patients, a similar insulin profile as for NGT-patients is observed for the 1st hour of the OGTT (Fig. 1b), but then insulin levels remain high at the second hour. For CFRD patients (Fig. 1c), if insulin values are similar at the end

of the test for both cohorts, it is slightly higher in Canadian patients at 1-h. However, the 1 h insulin peak observed in NGT and AGT patients is reduced by approximately 30% for CFRD patients. Insulin values keep rising during the second hour of the test for Canadian and French CFRD patients.

Insulin sensitivity and resistance and correlation analysis between BMI and pulmonary function, and between glycemic and clinical parameters in the global cohort. We observe higher insulin sensitivity during the OGTT using the Stumvoll index (median [IQR]) in NGT patients 0.111 [0.102–0.119] vs. both AGT 0.093 [0.085–0.104] and CFRD 0.059 [0.047–0.071] groups and in AGT patients 0.093 [0.085–0.104] vs. CFRD 0.059 [0.047–0.071] ($p < 0.001$). For fasting insulin resistance (HOMA-IR, median [IQR]), it is higher in CFRD 1.15 [0.71–1.45] than in NGT 0.76 [0.47–1.16] and AGT patients 0.82 [0.51–1.22] ($p = 0.013$). After controlling for cohort, we observed a significant positive correlation (Fig. 2) between BMI and pulmonary function (FEV1) for all glucose tolerance groups (respectively $p < 0.001$, $p = 0.001$, $p < 0.001$ for NGT, AGT and CFRD). No significant correlation was observed for all subgroups between BMI and AUC glycemia. Concerning BMI and AUC insulin, a significant correlation was observed in NGT subgroup ($p = 0.004$) but not in AGT and CFRD patients. No significant correlation between pulmonary function (FEV1) and AUC glycemia were observed for all glucose tolerance groups (data not shown). FEV1 evolution during follow-up according to glucose tolerance subgroup. FEV1 measurements during the 4-year follow-up period were obtained in 301 patients (81% of overall cohort: 181 French and 120 Canadian). No interaction for glucose tolerance subgroup with time were observed, indicating that the longitudinal changes in FEV1 were not different between NGT and AGT groups (difference in mean annual FEV1 change in NGT compared to AGT group (0.4% 95% CI [-0.5–1.3], $p = 0.375$). However in all glucose tolerance subgroup a significant difference in mean change in FEV1 per year was observed when French and Canadian patients were compared with Canadian patients having a slower mean annual decline of their FEV1 (difference in mean annual FEV1 change 0.89%, 95% CI [0.0;1.77], $p = 0.049$), Fig. 3.

Discussion

To our knowledge, this is the first study that compares the incidence of glucose abnormalities in adult patients with CF, in two large cohorts and their association with clinical status. Despite

higher glucose levels and incidence of *de novo* CFRD, Canadian CF patients secrete more insulin and have a better pulmonary and nutritional status according to their FEV1 and BMI than French patients. To explore the mechanisms of these differences, we conducted correlation analyses but we observed no correlation between BMI and glycemia AUC. Canadian patients also have slower annual decrease of their FEV1 than French patients during follow-up. No significant difference was observed for pulmonary function change over time between AGT and NGT patients. These observations challenge the concept of a possible causal role of hyperglycemia and/or hypoinsulinemia favouring clinical status (BMI and/or FEV1) degradation.

In the context of a well-established limited insulin secretion in adult CF patients (21,22), three key factors could contribute to the development of hyperglycemia: progression of insulin secretory deficiency, higher insulin resistance or higher insulin requirements (22,23). In Canadian patients, we observe higher insulin secretory capacity, higher estimated insulin resistance but also higher CFRD incidence. Recently, insulin resistance variations has emerged as a possible contributor to hyperglycemia for patients with CF (8,24). Higher BMI could contribute to higher insulin resistance in Canadian patients (25,26). As insulin is an anabolic hormone, as long as a certain degree of insulin secretion is preserved, this could allow a higher BMI (27). Indeed, when insulin secretion further deteriorates leading to *de novo* CFRD, both cohorts do not present anymore differences for BMI and insulin secretion. The frequency of exacerbations which is a good marker of respiratory function stability does not seem to be implicated in observed insulin resistance differences as the number of antibiotic courses is similar in both cohorts. It is also possible that insulin secretion itself might explain clinical differences between cohorts rather than blood glucose. A higher insulin secretion level might allow to reach and/or maintain a higher weight (28). In a context of a limited insulin secretion capacity, hyperglycemia could also play a role by favoring pulmonary exacerbations (29) and promoting oxidative stress (30). Both higher insulin as well as lower glucose values can thus contribute to better lung function.

In contrast to previous reports, our results highlight that despite higher glucose values, Canadian CF patients have better pulmonary function and BMI. Despite these higher glucose values, Canadian patients also presented a slower annual FEV1 decline. When both cohorts are combined and the pulmonary evolution of patients with AGT is compared to patients with NGT, there is no

difference in annual FEV1 decline. Various factors not related to cystic fibrosis can also explain this observation. Among them, the role of genetic factors other than CFTR mutations may explain the observed differences between these two cohorts (modifier genes). In the present study, the distribution for F508del CFTR mutation proportions is similar between the two cohorts but it is now well established that other mutations are associated, for some of them, with lung disease severity and for others, with diabetes susceptibility (31,32). This emerging important factor may also have a role in observed glucose and BMI differences. For example, some mutations in genes involved in a higher risk for type 2 diabetes (e.g. TCF7L2) are also associated with a higher and earlier CFRD prevalence (32). Further investigations need to be done to compare modifier genes between the 2 cohorts. Secondly, despite comparable nutritional and clinical recommendations for CF care as well as health care systems (universal access) between the 2 cohorts, other factors can still influence glucose values as well as the nutritional status of CF-patients. For example, differences in qualitative and quantitative nutritional intake could impact both glucose tolerance and BMI. Unfortunately, nutritional intake was not assessed in the present study. If done in the future, such assessment could be limited by the precision of available tools (e.g. food journals, 24-hour dietary recall, etc.) as well as the fact that most tools are country specific thus limiting the ability to compare different populations (33). In addition, despite merging two large and well characterized cohorts, the sample size of some subgroups, such as *de novo* CFRD, remains small thus limiting our ability to explore some differences.

In order to interpret our results, the potential mechanisms of higher BMI in Canadian patients should be explored. Key factors involved in energy balance and nutritional intake, absorption and energy expenditure (physical activity, energy demand related to CF exacerbations, etc.) should be evaluated. Nutritional recommendations are similar in North America and Europe with a recommended energy intake range from 120 to 150% of energy needs for the healthy population of similar age, sex and size. Patients included in both countries are also exposed to similar pancreatic enzyme replacement therapy (PERT) protocol, starting at 500 U lipase/kg/meal to a maximal dose of 1000–2500 U lipase/kg/meal which should lead to similar nutrient absorption capacity. Thus the two cohorts should be exposed to similar quantitative nutritional intake and absorption. The frequency of exacerbations necessitating intravenous antibiotics does not seem

to play a role on BMI values as the number of antibiotics course is similar in both cohorts. International guidelines for antibiotic use in CF are worldwide applied and this may contribute to the very close use of antibiotics in Canadian and French cohorts. However, chronic higher caloric intake and/or differences in physical activity may still be important factors in explaining the differences and may play a role in the higher BMI of Canadian patients. In addition, background population differences in diabetes and obesity, which are both higher in Canada compared to France (34–37), could also explain the disparities between French and Canadians independently of CF status. As previously reported herein, there is a positive correlation between BMI and FEV1 which could explain the higher FEV1 observed in Canadian patients as well as their lower mean annual FEV1 decline.

Observed association and differences do not imply causality and despite our careful assessment of two large and well characterized cohorts important underlying mechanistic factors were not measured in that study.

In conclusion, Canadian patients present a better clinical status (higher BMI, insulin secretion and FEV1) than French patients, but unexpectedly they also present a higher incidence of glucose abnormalities. In addition, patients in the abnormal glucose tolerance group do not have worse mean FEV1 decline over observed time than patients with normal glucose tolerance. To better understand the complex interplay between glucose tolerance and clinical status (BMI and/or FEV1) of adult patients with CF, further investigations should focus on potential underlying factors that may play a role in the observed differences.

Acknowledgements

We would like to thank all CF patients for their participation as well as both CF and diabetes clinics' teams in France and Canada for their help to collect data and to perform OGTTs. This study was supported by a CF Canada operating grant (to RRL), a Vaincre la Mucoviscidose operating grant (to ID), an Université de Montreal grant for international collaboration (to RRL) and the J-A DeSève chair (to RRL). VB has a doctoral Banting and Best scholarship from the Canadian Institutes of Health Research and a scholarship from the Fonds de Recherche en Santé du Québec. We also would like to thank Angélique Denis who largely contributed to this work. This work was supported by a grant to ID from the association Vaincre la Mucoviscidose (#RC20140501069), an

operating grant to RRL from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation (#2883), and funds to RRL: the Direction des relations internationales (DRI) of the Université de Montréal and the J-A DeSève Diabetes research chair. VB was supported by the Canadian Institute of Health Research and by the Fonds de recherche du Québec – Santé scholarships.

Author Contributions

Substantial contributions to the conception or design of the work: Q.R., V.B., S.T., K.D., S.P.B., Y.B., R.R.L. and I.D. Drafting the work: Q.R., V.B., R.R.L. and I.D. Final approval of the version to be published: Q.R., V.B., S.T. and K.D., S.P.B., E.B., Y.B., R.R.L. and I.D. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved: R.R.L. and I.D.

References

- [1] Cystic Fibrosis Canada. Focus on a cure 2014–2015 Annual Report.
- [2] Registre Français de la Mucoviscidose. Bilan des données 2014. Vaincre la Mucoviscidose et Institut national d'études démographiques (Ined). Paris, mars 2016.
- [3] Costa, M. et al. Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab.* 31, 221–232 (2005).
- [4] O'Shea, D. & O'Connell, J. Cystic fibrosis related diabetes. *Curr. Diab. Rep.* 14, 511 (2014).
- [5] Ode, K. L. & Moran, A. New insights into cystic fibrosis-related diabetes in children. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 1, 52–58 (2013).
- [6] Street, M. E. et al. Insulin production and resistance in cystic fibrosis: effect of age, disease activity, and genotype. *J. Endocrinol. Invest.* 35, 246–253 (2012).
- [7] Ntimbane, T. et al. Cystic fibrosis-related diabetes: from CFTR dysfunction to oxidative stress. *Clin. Biochem. Rev.* 30, 153–177 (2009).
- [8] Boudreau, V. et al. Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity? *J. Cyst. Fibros.*, <https://doi.org/10.1016/j.jcf.2016.04.004> (2016).
- [9] Boudreau, V. et al. Screening for Cystic Fibrosis-Related Diabetes: Matching Pathophysiology and Addressing Current Challenges. *Can. J. Diabetes* 40, 466–470 (2016).

- [10] Moran, A. 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*. 33, 2697–2708 (2010).
- [11] Lewis, C. et al. Diabetes-related mortality in adults with cystic fibrosis. Role of genotype and sex. *Am. J. Respir. Crit. Care Med*. 191, 194–200 (2015).
- [12] McCormick, J. et al. Comparative analysis of Cystic Fibrosis Registry data from the UK with USA, France and Australasia. *J. Cyst. Fibros*. 4, 115–122 (2005).
- [13] McCormick, J. et al. Comparative demographics of the European cystic fibrosis population: a cross-sectional database analysis. *Lancet Lond. Engl*. 375, 1007–1013 (2010).
- [14] Salvatore, D., Buzzetti, R. & Mastella, G. Update of literature from cystic fibrosis registries 2012–2015. Part 6: Epidemiology, nutrition and complications. *Pediatr. Pulmonol.*, <https://doi.org/10.1002/ppul.23611> (2016).
- [15] Sterescu, A. E. et al. Natural history of glucose intolerance in patients with cystic fibrosis: ten-year prospective observation program. *J. Pediatr*. 156, 613–617 (2010).
- [16] Scheuing, N. et al. High variability in oral glucose tolerance among 1,128 patients with cystic fibrosis: a multicenter screening study. *PLoS One* 9, e112578 (2014).
- [17] Reynaud, Q. et al. Glucose trajectories in cystic fibrosis and their association with pulmonary function. *J. Cyst. Fibros*. 17, 400–406 (2018).
- [18] Pressler, T. et al. Chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection definition: EuroCareCF Working Group report. *J. Cyst. Fibros*. 10(Suppl 2), S75–78 (2011).
- [19] Hankinson, J. L. & Bang, K. M. Acceptability and reproducibility criteria of the American Thoracic Society as observed in a sample of the general population. *Am. Rev. Respir. Dis*. 143, 516–521 (1991).
- [20] Costa, M. et al. Increased glucose excursion in cystic fibrosis and its association with a worse clinical status. *J. Cyst. Fibros*. 6, 376–383 (2007).
- [21] Cobelli, C. & Vella, A. Exocrine and Endocrine Interactions in Cystic Fibrosis: A Potential Key to Understanding Insulin Secretion in Health and Disease? *Diabetes*. 66, 20–22 (2017).

- [22] Haupt, M. E., Kwasny, M. J., Schechter, M. S. & McColley, S. A. Pancreatic enzyme replacement therapy dosing and nutritional outcomes in children with cystic fibrosis. *J. Pediatr.* 164, 1110–1115.e1 (2014).
- [23] Chiasson, J.-L. & Rabasa-Lhoret, R. Prevention of type 2 diabetes: insulin resistance and beta-cell function. *Diabetes.* 53(Suppl 3), S34–38 (2004).
- [24] Beaudoin, N., Bouvet, G. F., Coriati, A., Rabasa-Lhoret, R. & Berthiaume, Y. Combined Exercise Training Improves Glycemic Control in Adult With Cystic Fibrosis. *Med. Sci. Sports Exerc.*, <https://doi.org/10.1249/MSS.0000000000001104> (2016).
- [25] Venkatasamy, V. V., Pericherla, S., Manthuruthil, S., Mishra, S. & Hanno, R. Effect of Physical activity on Insulin Resistance, Inflammation and Oxidative Stress in Diabetes Mellitus. *J. Clin. Diagn. Res.* 7, 1764–1766 (2013).
- [26] Williams, C. A., Saynor, Z. L., Tomlinson, O. W. & Barker, A. R. Cystic fibrosis and physiological responses to exercise. *Expert Rev. Respir. Med.* 8, 751–762 (2014).
- [27] Peterson, M. L., Jacobs, D. R. & Milla, C. E. Longitudinal changes in growth parameters are correlated with changes in pulmonary function in children with cystic fibrosis. *Pediatrics.* 112, 588–592 (2003).
- [28] 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 Diabetol.* 53, 359–66 (2016).
- [29] Brennan, A. L. et al. Airway glucose concentrations and effect on growth of respiratory pathogens in cystic fibrosis. *J. Cyst. Fibros.* 6, 101–9 (2007).
- [30] Ntimbane, T. et al. Oxidative stress and cystic fibrosis-related diabetes: a pilot study in children. *J. Cyst. Fibros.* 7, 373–84 (2008).
- [31] Guillot, L. et al. Lung disease modifier genes in cystic fibrosis. *Int. J. Biochem. Cell Biol.* 52, 83–93 (2014).
- [32] Blackman, S. M. et al. Genetic modifiers of cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes.* 62, 3627–3635 (2013).
- [33] Thompson, F. E. et al. The National Cancer Institute’s Dietary Assessment Primer: A Resource for Diet Research. *J. Acad. Nutr. Diet.* 115, 1986–1995 (2015).

[34] OECD, "Overweight and obesity among adults", in Health at a Glance 2017: OECD Indicators, OECD Publishing, Paris (2017).

[35] Public Health agency of Canada. Diabetes in Canada: Facts and figures from a public health perspective. (July 2011).

[36] Matta, J. et al. Overweight, obesity and cardiometabolic risk factors prevalence in france: the constances cohort. Bulletin Epidémiologique. Institut National de Veille Sanitaire (Invs). Santé publique France. (Octobre 2016).

[37] Mandereau-Bruno, L. et al. Prévalence du diabète traité pharmacologiquement et disparités territoriales en 2012. Bulletin Epidémiologique. 30-31, 493–99 (2012).

Table 1. Comparison of demographic characteristics and clinical data at inclusion of the Canadian and French patients.

	Canada N = 224	France N = 147	P value
Gender: woman, %	42.0	43.5	0.764*
Age in year, median (IQR)	22.0 (19.0–28.0)	22.5 (19.0–28.7)	0.831
ΔF508 homozygous, %	57.9	55.1	0.818*
%FEV1, median (IQR)	71.0 (55.0–82.0)	64.0 (40.0–78.0)	0.001
BMI in kg/m ² , median (IQR)	21.1 (19.5–22.8)	19.9 (18.4–21.4)	<0.001
Colonized with <i>P. Aeruginosa</i> , %	74.5	67.3	0.155*
Colonized with <i>B. Cepacia</i> , %	2.8	2.7	0.968*
Colonized with <i>S. Aureus</i> , %	55.8	70.1	0.006*
Colonized with <i>Aspergillus</i> , %	42.3	33.3	0.084
Patients requiring IV antibiotics in the year prior the OGTT, %	41.1	49.0	0.238*
Glycemia G0 in mmol/L, median (IQR)	5.4 (5.0–5.9)	4.8 (4.5–5.1)	<0.001
Glycemia G2 in mmol/L, median (IQR)	7.6 (5.8–9.7)	6.5 (5.2–8.5)	0.001
AUC Glycemia (G0, G1, G2), median (IQR)	1059.5 (914.9–1239.0)	913.5 (761.2–1043.2)	<0.001
NGT, %	36.6	53.4	0.003*
INDET, %	16.5	9.0	
IGT, %	27.7	27.8	
<i>De novo</i> CFRD, %	19.2	9.8	
HbA1c in %, median (IQR)	5.8 (5.5–6.1)	5.7 (5.5–6.0)	0.825
Insulin I0 in μU/dl, median (IQR)	3.8 (2.3–5.7)	3.2 (2.2–5.0)	0.031
Insulin I2 in μU/dl, median (IQR)	27.4 (16.6–42.3)	18.1 (11.0–33.0)	<0.001
AUC Insulin (I0, I1, I2), median (IQR)	2530.0 (1837.0–3649.0)	1974.0 (1302.0–2910.0)	<0.001
Stumvoll Index, median (IQR)	0.096 (0.078–0.111)	0.103 (0.088–0.116)	<0.001
HOMA-IR, median (IQR)	0.93 (0.55–1.39)	0.68 (0.47–1.07)	<0.001

Bold values represent significant differences. Abbreviations: AGT: Abnormal glucose tolerance (INDET: indeterminate glucose tolerance + IGT: impaired glucose tolerance), AUC: area under the

curve, BMI: body mass index, CFRD: cystic fibrosis-related diabetes, CRP: C reactive protein, FEV1: predicted forced expiratory volume in 1 second, G0: plasma glucose measured at start of OGTT, G2: plasma glucose measured at 2 hours of OGTT, HbA1c: glycated hemoglobin, HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance, IV antibiotics: number of days of intravenous antibiotics in the year of OGTT, NGT: normal glucose tolerance, P. Aeruginosa: *Pseudomonas aeruginosa*, S. Aureus: *Staphylococcus aureus*, *: p value was determined by χ^2 .

Table 2. Comparison between glucose tolerance groups of the Canadian and French patients.

	NGT			AGT (INDET + IGT)			<i>De novo</i> CFRD		
	Canada	France	P value	Canada	France	P value	Canada	France	P value
n	82	71		99	49		43	13	
Age in year, median (IQR)	22.0 (20.0-25.0)	24.0 (19.0-31.0)	0.063	22.0 (19.0-27.0)	22.0 (19.0-26.0)	0.591	25.0 (20.0-30.0)	27.0 (20.0-37.0)	0.736
%FEV1, median (IQR)	72.0 (56.0-86.0)	64.0 (38.0-80.0)	0.006	73.0 (54.7-82.0)	65.0 (42.5-81.5)	0.143	61.0 (51.0-79.0)	51.0 (42.5-67.0)	0.098
%FEV1 >70%, %	53.6	39.4	0.079*	56.1	42.8	0.129*	35.7	23.1	0.396*
BMI in kg/m ² , median (IQR)	20.8 (19.5-22.7)	20.2 (18.4-21.4)	0.010	21.1 (19.5-23.1)	19.8 (18.5-21.6)	0.002	21.1 (19.3-22.9)	20.2 (18.8-21.1)	0.178
HbA1c in %, median (IQR)	5.7 (5.3-5.9)	5.7 (5.5-6.0)	0.325	5.7 (5.5-6.0)	5.8 (5.5-6.0)	0.759	6.1 (5.8-6.9)	6.3 (5.6-6.7)	0.796
G0 in mmol/L, median (IQR)	5.2 (4.9-5.5)	4.7 (4.4-5.0)	<0.001	5.4 (5.0-5.8)	4.8 (4.5-5.2)	<0.001	6.3 (5.4-7.4)	5.0 (4.7-6.3)	0.005
G2 in mmol/L, median (IQR)	5.6 (4.8-6.7)	5.4 (4.6-6.5)	0.234	8.3 (6.8-9.5)	8.3 (7.6-9.2)	0.851	13.6 (11.5-16.7)	13.0 (12.3-14.2)	0.437
AUC Glycemia (G0, G1, G2), median (IQR)	881 (783-943)	834 (735-918)	0.005	1105 (1041-1212)	1026 (951-1122)	<0.001	1513 (1342-1776)	1293 (1212-1447)	0.006
AUC Insulin (I0, I1, I2), median (IQR)	2483 (1906-3768)	1866 (1257-2649)	<0.001	2652 (2022-3678)	2283 (1318-3247)	0.040	2008 (1520-3255)	1833 (1083-2856)	0.278
Stumvoll index, median (IQR)	0.110 (0.099-0.117)	0.114 (0.103-0.121)	0.039	0.093 (0.085-0.105)	0.092 (0.087-0.104)	0.735	0.060 (0.048-0.071)	0.065 (0.050-0.074)	0.432

HOMA-IR, median (IQR)	0.88 (0.53-1.40)	0.64 (0.39-1.04)	0.004	0.91 (0.54-1.32)	0.65 (0.49-1.04)	0.048	1.17 (0.69-1.49)	1.00 (0.53-1.32)	0.331
-----------------------	------------------	------------------	--------------	------------------	------------------	--------------	------------------	------------------	-------

Abbreviations: AGT: Abnormal glucose tolerance (INDET: indeterminate glucose tolerance + IGT: impaired glucose tolerance), AUC: area under the curve, BMI: body mass index, CFRD: cystic fibrosis-related diabetes, CRP: C reactive protein, FEV1: predicted forced expiratory volume in 1 second, HbA1c: glycated hemoglobin, HOMA-IR: Homeostasis model assessment of insulin resistance, NGT: normal glucose tolerance. Mann-Whitney analysis were performed except for p value with * that were determined by χ^2 .

Figure 1. Insulin secretion ($\mu\text{U}/\text{dl}$) at start, 1-h and 2-h of the OGTT for. (a) NGT, (b) AGT and (c) CFRD patients according to their respective cohorts: black dot (●) for Canadian patients and black square (■) for French patients. Values are presented as mean \pm SEM. Abbreviations: AGT: abnormal glucose tolerance, CA: Canadian patients, CFRD: cystic fibrosis-related diabetes, FR: French patients, NGT: normal glucose tolerance.

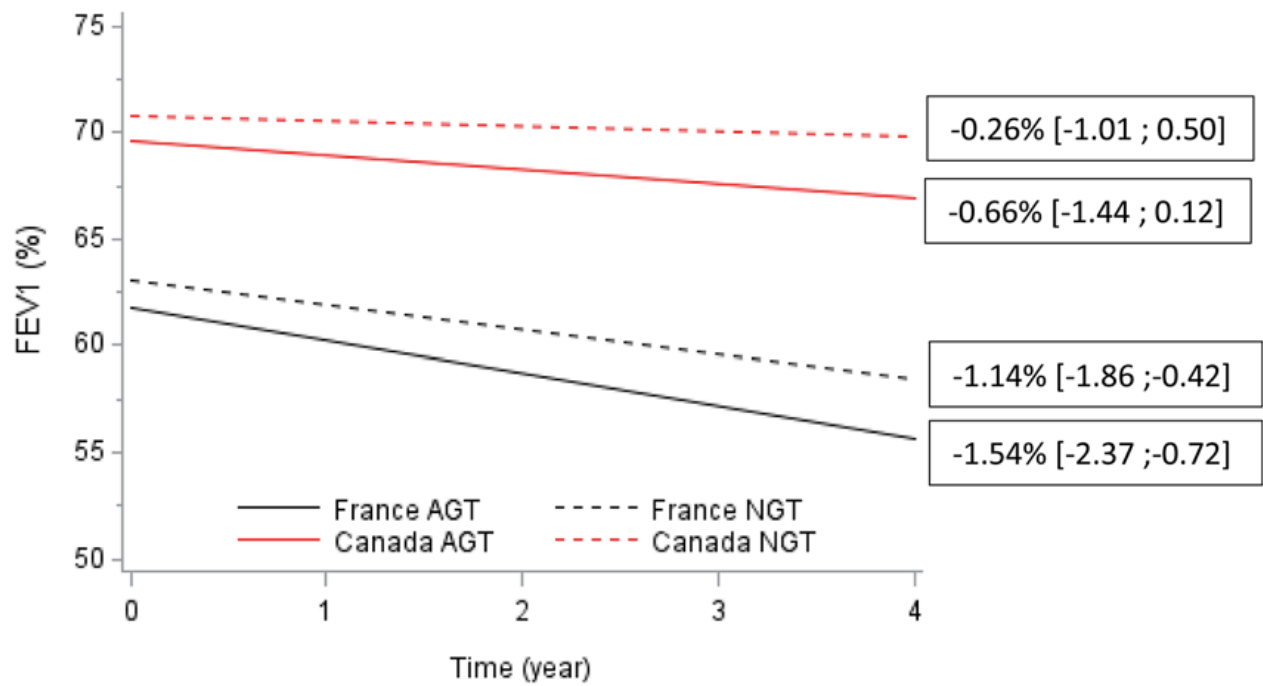


Figure 2. Spearman’s correlation for (a) BMI and FEV1in NGT patients (b) BMI and FEV1 in AGT patients and (c) BMI and FEV1 in CFRD patients (d) BMI and AUC glucose in NGT patients (e) BMI and AUC glucose in AGT patients (f) BMI and AUC glucose in CFRD patients (g) BMI and AUC insulin in NGT patients (h) BMI AUC insulin in AGT patients (i) BMI and AUC insulin in CFRD patients. Blue diamond: Canadian cohort and Red square: French cohort.

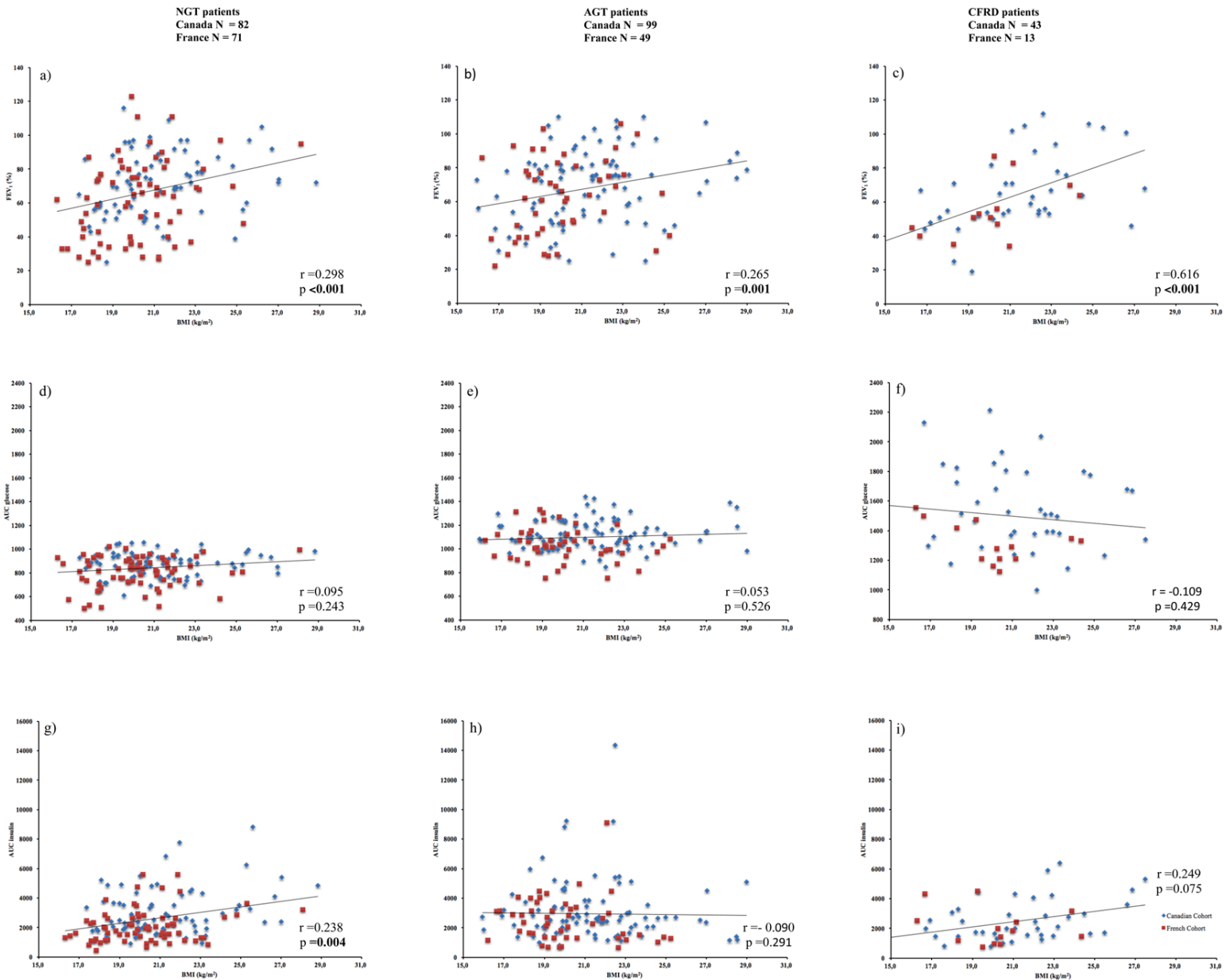
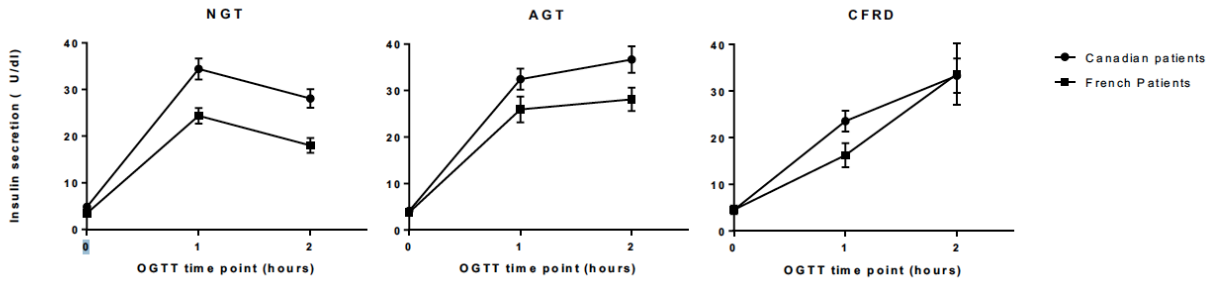


Figure 3. Mean FEV1 change in FEV1 according to glucose tolerance subgroup and cohort. Values are presented as mean \pm SEM. Abbreviations: AGT: abnormal glucose tolerance, CA: Canadian patients, FR: French patients, NGT: normal glucose tolerance.



Article 3- Impact of 1h oral glucose tolerance test hyperglycemia and hypoinsulinemia on the clinical status of adult cystic fibrosis patients over a 4-year period

Article accepté pour publication par le journal PlosOne, Janvier 2021

Impact of 1h oral glucose tolerance test hyperglycemia and hypoinsulinemia on the clinical status of adult cystic fibrosis patients over a 4-year period

Valérie Boudreau^{1,2*}, Quitterie Reynaud^{3,4*}, Angélique Denis^{3,4}, Johann Colomba^{1,2}, Sandrine Touzet^{3,4}, Katherine Desjardins¹, Stéphanie Poupon Bourdy^{3,4}, Isabelle Durieu^{3,4}, Rémi Rabasa-Lhoret^{1,2,5}

¹ Montreal Clinical Research Institute, Québec, Canada;

² Université de Montréal, Département de nutrition et de Médecine, Montréal, Québec, Canada.

³ Centre de référence Adulte de la Mucoviscidose, Service de médecine interne, Hospices civils de Lyon, F-69495 Pierre Bénite, France; Université de Lyon, Équipe d'Accueil Health Services and Performance Research (HESPER) 7425, F-69003 Lyon, France.

⁴ Hospices Civils de Lyon, Pôle de Santé Publique, Lyon, F-69003, France; Université de Lyon, Équipe d'Accueil Health Services and Performance Research (HESPER) 7425, Lyon, France.

⁵ Cystic fibrosis clinic, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada.

* equal contribution

Corresponding author: Rémi Rabasa-Lhoret, MD, PhD

Abstract

Objective: To report the clinical profile associated with G60 and I60 over a 4-year prospective observational period in 2 large cohorts of adult patients with CF.

Methods: 319 patients were included (210 Canadian and 119 French) and classified according to their inclusion G60 (\geq or $<$ 11.1 mmol/L) and the median inclusion I60 (\geq or $<$ 24 mU/l). Forced expiratory volume in 1 second (FEV1), body mass index (BMI) were collected on OGTT days. Linear mixed regression models were used to assess the effect of G60 and I60.

Results: High G60 was not associated to a lower FEV1 at inclusion and the follow-up decline was not higher in the high G60 group (Coefficient [95% CI] : -3.4 [-7.4;0.6], $p= 0.0995$). There was no significant association between BMI and G60. Patients with high I60 tended to have a higher mean BMI (+0.5 kg/m² [0.0 to 1.1], $p=0.05$) but no interaction over time was observed.

Conclusions: High G60 is not associated with a lower lung function at inclusion nor its decline over a 4-year follow-up. High I60 is slightly associated to a higher weight at inclusion, but not with BMI evolution over time in adult patients.

Key words: Cystic fibrosis, insulin secretion, oral glucose tolerance test, hyperglycemia

Introduction

Cystic fibrosis (CF) is a genetic inherited disorder affecting approximately one in 3800 people in the Caucasian population (1, 2) and leading to multiple organ damages with major damages to the lung and digestive systems (3). CF transmembrane conductance regulator (CFTR) dysfunction also plays a role in the exocrine and endocrine pancreas insufficiency resulting, in combination with other factors including inflammation and oxidative stress, in a progressive decrease in insulin secretion (4). Therefore, 20% of young adult CF patients have cystic fibrosis-related diabetes (CFRD) while the prevalence increases to almost 50% of people in their 50s. In addition, a similar proportion of patients have a glucose intolerance (5). Hyperglycemia occurrence is associated with accelerated lung function decline as well as weight loss, thereby increasing early mortality (6, 7). This association is at least partly explained by reduced insulin secretion leading to a reduced anabolic capacity (8).

Because of its frequency and possible impact on weight and lung function, it is recommended to screen annually for CFRD from the age of 10 years with a 2-hour oral glucose tolerance test (OGTT) (9). The current OGTT glucose thresholds used for CFRD diagnosis are based on fasting and 2-h glucose values (10), but these are controversial because they are based on retinopathy risk in patients with type 2 diabetes. In CF, hyperglycemia is mainly associated with altered nutritional and pulmonary status (11). Many efforts are being made to find if CF-specific glycemic thresholds could help to target patients at higher risk of clinical decline (nutritional and/or pulmonary status) before or at the time of CFRD onset. Indeed, many research groups have found that hyperglycemia at earlier OGTT time points (30, 60 or even 90 minutes) correlates better with CF clinical status decline than the standard 2-h diagnosis value. Interestingly, because most CF patients present a specific glucose excursion pattern characterized by normal fasting glucose followed by abrupt glucose excursion followed by a rapid decrease, a lot of these patients with frankly high glucose at intermediate time points are classified as having a normal glucose tolerance. In cross-sectional studies, these CF patients with a high 1h-OGTT glucose value (G60) or low plasma insulin value (I60) present reduced pulmonary function and/or weight, as observed in patients with de novo CFRD diagnosis (12-15). One longitudinal study, however, showed no relationship between 1-h glucose values and pulmonary function evolution over a three-year

follow-up period (16). Prospective studies on large cohorts are still needed to confirm the clinical relevance of early time OGTT values to predict clinical decline over time.

The objective of this study is to describe the course of BMI and lung function evolution associated with hyperglycemia and hypoinsulinemia at 60 minutes of an OGTT test over a 4-year period in one large Canadian cohort and one large French cohort of adult patients with CF.

Methods

- Study population : GLYCONE database

Data from patients were obtained from two large prospective cohorts of CF patients (Montreal, Canada 2004-2016 and Rhône-Alpes region, France 2009-2012) previously described (17). The corresponding institutional research ethics committee approved the protocol for each cohort and informed written consent has been obtained from all subjects included. The institutional review board of each participating hospital and research ethics board authorized the cohorts in accordance with the current ethical standards (Comité de Protection des Personnes in France, Comité d'éthique de la recherche in Canada), as well as the French data Protection Agency for DIAMUCO Cohort (Commission Nationale de l'Informatique et des Libertés CNIL). Additional administrative and ethical authorizations were obtained to create a common harmonized and secured database. All research was performed in accordance with relevant guidelines.

Briefly, main inclusion criteria were: patients over 18 of age with confirmed CF diagnosis, pancreatic insufficient with pancreatic enzyme supplementation, without known diabetes at inclusion, and clinically stable for at least one month before the OGTT visit. Main exclusion criteria were: previous diagnosis of diabetes, pregnancy, CF exacerbations in the past month or conditions that could interfere with glucose metabolism such as intravenous antibiotics, steroids (oral or intravenous), or growth hormone treatment. Patients diagnosed with confirmed de novo CFRD diagnosis during follow-up were excluded from further protocol visits and referred to an endocrinologist. The combined database included 371 patients; 42 were excluded due to a lack of FEV1, G60, and/or I60 data during follow-up, leaving 329 available patients: 210 Canadian patients and 119 French patients for the present analysis. The follow-up period was four years as the maximum follow-up of the French patients was 4 years.

- OGTT

Patients in both cohorts performed an annual OGTT (between 12 and 18 months between visits depending on clinical status). When not clinically stable (e.g. pulmonary infections, intravenous antibiotic, etc.), OGTT testing was postponed after 2 months of clinical stability. After an 8-hour fast, patients consumed a glucose beverage (1.75g/kg of body weight up to a maximum of 75g, 300 mL) in less than 5 minutes. Plasma glucose (glucose oxydase) and insulin (centralized dosage in Québec by BI-INS-IRMA; Cisbio Bioassays, France) values were measured before OGTT and then again at 60 (G60 for glucose & I60 for insulin) and 120 minutes. OGTTs were then performed annually for at least 4 years.

- Clinical data

On the day of the OGTT, patients performed a lung function test to assess pulmonary function by spirometry using the forced expiratory volume in 1 second in L (FEV1) and Hankinson 1999 formula for FEV1(%) [18]. Weight and height were measured. BMI was calculated using weight in kilograms divided by height in square meter (kg/m²). These values of FEV1 and BMI were then obtained annually on the day of OGTT testing. Bacterial colonization with *P. aeruginosa* and *S. aureus* in the year preceding the OGTT was also collected from medical files as well as data relating to hospitalization and intravenous antibiotic treatment.

- Statistical analysis

Descriptive statistics were used to summarize characteristics of patients at the year of entry into the cohort. Continuous data were presented as means and standard deviations; categorical data were presented as frequencies and percentage.

A linear mixed regression model with random intercept and random slope was fitted to assess the effect of G60 and I60 at inclusion in the cohort on the mean FEV1 at baseline and on the mean slope of FEV1 change over time. Baseline G60 and I60 were considered as categorical variables based on widely used threshold for G60 (\geq or $<$ 11.1 mmol/L) (10) and median value for I60 (\geq or $<$ 24 mU/L). Effects of G60 and I60 were controlled for the cohort, age, sex, *Pseudomonas aeruginosa* colonization, year of inclusion into the cohort (as medical care might have changed),

and BMI at inclusion. Interaction between covariates (cohort, G60, and I60) and time were tested to characterize differences in longitudinal rates of change. After checking for linearity assumption, continuous variables were mean-centered (25 years old for inclusion age and 21 kg/m² for BMI at inclusion). Nonsignificant covariates ($p > 0.05$) were removed by backward elimination.

A similar approach was used to assess the association between G60 and I60 at inclusion in the cohort and BMI change over time. Interaction between covariates cohort, time, and gender were tested to control for difference between males and females. Age at inclusion was included as a categorical variable (<20 yrs, 20 to 29 yrs, 30 to 34 yrs, and ≥ 35 yrs) to account for the nonlinear relationship between BMI and age.

Results were interpreted with a 5% threshold for statistical significance. Statistical analyses were performed with SAS version 9.4 software (SAS Institute Inc.).

Results

- Inclusion

A total of 329 patients were included: 210 Canadian CF patients and 119 French patients. Patients' characteristics are described in Table 1. Mean age of participants at inclusion in the cohorts was 24.7 ± 6.3 , 141 (43%) were women and 183 (56%) were F508del homozygous. At inclusion, mean FEV1% is 68.7 ± 19.9 and mean BMI was 21.0 ± 2.6 kg/m². 213 (70%) of patients had chronic colonisation with pseudomonas at inclusion in the cohort. Mean plasma glucose (G60) at inclusion was 10.9 ± 3.0 . 138 (42%) patients presented a G60 value above ≥ 11.1 mmol/L. Conversely, mean insulin (I60) at inclusion was 29.2 ± 19.3 mU/L. 160 patients (49%) had a value above the median (≥ 24 mU/L).

- Glycemia at 60 minutes (G60) and pulmonary function over time

FEV1 measurements over a 4-year follow-up period were obtained in the 329 patients, with a mean of 2.9 observations for each subject (range: 1-7), for a total of 981 observations. The overall mean decrease in FEV1 was 0.9% per year (95% CI: -1.3 to -0.4; $p < 10^{-3}$). As previously reported, mean FEV1 at inclusion was significantly higher in Canadian patients than in French patients (+5.6%, 95% CI: [1.4; 9.8]; $p < 0.001$) (17). Patients with G60 values above 11.0 mmol/L tended to

have a lower mean inclusion FEV1 than patients with G60 values below this threshold (-3.4%; 95% CI: -7.4 to 0.6; $p < 0.10$). There was no pulmonary function difference in patients with I60 values above the median (≥ 24 mU/L) when compared with patients below this threshold (-2.8%; 95% CI: -6.8 to 1.3; $p = 0.179$). The relationship between the FEV1 decline and baseline G60 for Canadian and French patients is represented graphically in Figure 1. No significant interaction involving baseline G60 and FEV1 values over time was observed regardless of the cohort, indicating that the longitudinal changes in FEV1 over follow-up were not different between cohorts and not influenced by the baseline G60. Factors significantly influencing mean FEV1 over time were age, the time since inclusion, being Canadian (higher FEV1) and BMI at baseline. Details are given in Table 2.

- Insulin at 60 minutes (I60) and BMI over time

BMI measurements over the 4-year follow-up period were obtained in 328 patients, with a mean of 2.9 observations for each subject (range: 1-7), for a total of 981 observations. As presented in Table 2, the linear mixed model depicted a significant gender difference in both the baseline mean BMI and the rate of change over the 4-year follow-up. Mean BMI was lower in females than males (-0.2 kg/m², 95% CI: 0.1 to 0.3; $p < 10^{-3}$). The average rate of increase was +0.2 kg/m²/year for males (95% CI: 0.1 to 0.3; $p < 10^{-3}$) and +0.1 kg/m²/year for females (95% CI: 0.0 to 0.2, $p = 0.203$). A cohort difference was found ($p < 10^{-3}$) and the effect was different between gender ($p = 0.018$). Canadian male patients had a significant higher mean BMI compared to French male patients (+1.7 kg/m², 95% CI: 0.9 to 2.4, $p < 10^{-3}$). For females, the mean BMI was not different between Canadian and French patients (+0.4 kg/m², 95% CI: -0.4 to 1.2, $p = 0.328$). There was no statistically significant association between BMI and G60 values at baseline above the threshold ($p = 0.782$). Patients with I60 values above 24 mU/L tended to have a higher mean BMI than patients below this threshold (+0.5 kg/m²; 95% CI: 0.0 to 1.1, $p = 0.05$). In both cohorts, no interaction between time and I60 was observed, indicating that the rate of change of BMI was similar in patients above and below the I60 threshold. The relationship between the BMI change and baseline I60 for Canadian and French patients is represented graphically in Figure 2.

Discussion

Despite a significant number of reports for significant associations between 1h-OGTT high glucose and/or low insulin values with lower pulmonary function and/or lower BMI (13-15), such relationship had not been tested prospectively. Only one longitudinal study showed there was no link between 1-h glucose values evolution over time and FEV1 evolution in adult patients over three year (16). We used two large international CF cohorts to test longitudinally this hypothesis. We observed that 1) 1-h OGTT glucose values (G60) did not appear to influence FEV1% at cohort inclusion and during follow-up and 2) 1-h OGTT insulin values (I60) tended to significantly influence BMI at inclusion but not for evolution over time. As previously described with the same database (17), these data showed that Canadian patients, of a similar age and similar genotype, had better weight and lung function at inclusion than French patients at inclusion. However, regardless of G60, lung function decreased similarly over 4 years and weight increased in a similar way irrespectively of the French or Canadian origin.

The current 2h glucose-OGTT threshold (≥ 11.1 mmol/L) to diagnose CFRD was primarily established for type 2 diabetes diagnosis based on retinopathy risk (19). Several groups have hypothesized that in patients with CF, the potential impact of hyperglycemia on lung function could occur at lower values, implying that current diagnosis may be made too late at a time at which the possible negative impact of hyperglycemia might be difficult to reverse (20, 21). Though most studies are reporting fasting and 2h OGTT glucose values, the current mandatory values to establish glucose tolerance diagnosis, a lot of attention has been recently given to OGTT glucose intermediate times. In non-CF patients, intermediate points and especially 1-h glucose values, have been associated strongly and independently of 2-h glucose values to a wide variety of adverse outcomes (22). Patients with CF present a specific post-meal or post-challenge glucose excursions characterized by frequent normal fasting glucose followed by early abrupt hyperglycemia and then rapid glucose value normalization (23, 24); indeed, a specific glucose category exists for these patients (Indeterminate glucose tolerance; INDET) (12, 13). Most studies showing that lower weight and lung function is associated with high G60 have been cross-sectional or sometimes retrospective (13-15). Follow-ups over time following clinical parameters and 1-h glycemia are rare (15). Several CGM studies exploring patients with CF have found that

G60 was a better marker of clinical deterioration than the classical 2-h value (11). Hameed et al. showed that the maximal blood glucose observed during continuous glucose monitoring (CGM) or OGTT was associated with worse weight and pulmonary function in children and adolescents, while the 2-h OGTT value was not (13). Others have also shown that the INDET status is associated with reduced lung function and weight, to a comparable level to what is observed in CFRD patients (12). The INDET status is a good illustration of some patients who can still normalize their 2-h glucose value but with early significant hyperglycemia which could affect clinical status (11, 20).

However, the current study does not agree with previous observations and does not confirm the deleterious effect of 1-h OGTT hyperglycemia ($G60 \geq 11.1$ mmol/L) in adults with CF. At least in adult patients without known CFRD, this study may lead to reconsider the usefulness of G60 to detect the risk of future FEV1 decline. Still, at baseline a trend exists between a higher G60 value and a lower FEV1. It is thus possible that at a younger age before adulthood, hyperglycemia could have a more significant impact. This hypothesis was not confirmed in the study by Reynaud et al. (16), which included children with a three-year follow-up. Although we found that lung function may be lower at baseline when G60 is high, over a 4-year period the decline is not faster than for patients with normal G60, and weight may even increase over time. Since these patients are all adults, which is different from most of the previously published studies, it is possible that the consequences of hyperglycemia are mainly important during childhood and adolescence but then have less impact in adults.

In patients with CF, lower insulin values are associated and proportional to lower weight (14, 25). This can be explained by the anabolic role of insulin (26). The progressive loss of insulin secretion can lead to muscle and fat mass loss (5, 6). Importantly, this process can be reversed by insulin therapy (7, 27). However, regardless of the I60 values, patients included in this study gained weight over a 4-year period. One possible explanation is that since all patients are adults without CFRD at inclusion, these patients could still have sufficient insulin secretion to protect against protein catabolism (28). It is possible that sicker patients in the low insulin secretion category developed CFRD before adult age and thus have not been included in this cohort.

Interestingly, both cohorts gained weight with time, a factor usually associated with better lung function (29, 30). This weight gain was observed regardless the baseline weight and insulin secretion category. This positive weight trend could be related to intensive nutritional therapy in our cohorts with high caloric intake, enzyme replacement therapy, and nutritional follow-up in the context of reduced but sufficient insulin secretion. We observed a sex dysmorphism for weight gain which, over time, was more pronounced in men than in women. Lower weight has already been reported in women living with CF, but this might not be related to insulin secretion as in a previous report from the Canadian cohort, adult women surprisingly presented higher insulin secretion than adult men, at a comparable level with what is observed in healthy individuals (31).

This study has several limitations. Inclusion criteria are strict since patients must be adults without CFRD at inclusion and without pulmonary transplantation. However, the investigated group represent a large proportion of adults followed in CF centers. Despite good phenotyping of our cohort, additional unmeasured parameters could influence FEV1 and BMI (e.g. nutritional intake, physical activity, modifier genes, etc.). Despite these limitations, both cohorts are well characterized with harmonized data allowing the prospective analysis of the impact of hyperglycemia and hypoinsulinemia on pulmonary function and weight evolution over time. Despite some baseline differences already reported, overall results are similar in the two cohorts. This analysis does not identify high values of 1h glycemia and insulinemia as markers of clinical degradation and classical 2-hour OGTT measurements remain necessary to determine glycemic profiles of CF patients and its clinical impact. It also does not preclude a positive role for early insulin therapy on BMI and/or lung function. Glycemic profile of CF patients should be interpreted with caution, taking into account its evolution over time in association with clinical parameters.

In conclusion, hyperglycemia at one hour of an oral glucose tolerance test is not associated with a significant lower lung function at inclusion or decline over the subsequent 4 years, challenging its adverse effect on lung function in adult patients with CF. Low insulin value at one hour of an oral glucose tolerance test are not associated with lower BMI at baseline, and patients increase their BMI over time regardless of their baseline insulin secretion.

Disclosure summary:

None of the authors have any relevant conflicts of interest to disclose.

Acknowledgments:

Substantial contributions to the conception or design of the work: V.B, Q.R., A.D., J.C., S.T., K.D., S.P.B., I.D. and R.R.L. Drafting the work: V.B., Q.R., I.D and R.R.L. Final approval of the version to be published: V.B, Q.R., A.D., J.C., S.T., K.D., S.P.B., I.D. and R.R.L. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved: I.D and R.R.L.

This work was supported by a grant to ID from the association Vaincre la Mucoviscidose (#RC20140501069), an operating grant to RRL from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation (#2883), and funds to RRL: the Direction des relations internationales (DRI) of the Université de Montréal and the J-A DeSève Diabetes research chair. VB was supported by the Canadian Institute of Health Research and by the Fonds de recherche du Québec – Santé scholarships.

References

- [1] Ratjen F, Doring G. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2003;361(9358):681-9.
- [2] Canada CF. Cystic Fibrosis Canada 2014-2015 Annual Report. Available at <http://www.cysticfibrosis.ca/news/publications>. 2015.
- [3] Elborn JS. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2016.
- [4] Blackman SM, Tangpricha V. Endocrine Disorders in Cystic Fibrosis. *Pediatr Clin North Am*. 2016;63(4):699-708.
- [5] 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.

- [6] Lewis C, Blackman SM, Nelson A, Oberdorfer E, Wells D, Dunitz J, Thomas W, Moran A. Diabetes-related mortality in adults with cystic fibrosis. Role of genotype and sex. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191(2):194-200.
- [7] Moran A, Pekow P, Grover P, Zorn M, Slovis B, Pilewski J, Tullis E, Liou TG, Allen H, Cystic Fibrosis Related Diabetes Therapy Study G. 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.
- [8] Lanng S. Glucose intolerance in cystic fibrosis patients. *Paediatr Respir Rev*. 2001;2(3):253-9.
- [9] Moran A, Brunzell C, Cohen RC, Katz M, Marshall BC, Onady G, Robinson KA, Sabadosa KA, Stecenko A, Slovis B, Committee CG. 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.
- [10] Moran A, Pillay K, Becker D, Granados A, Hameed S, Acerini CL. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Management of cystic fibrosis-related diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2018;19 Suppl 27:64-74.
- [11] Boudreau V, Reynaud Q, Dubois CL, Coriati A, Desjardins K, Durieu I, Rabasa-Lhoret R. Screening for Cystic Fibrosis-Related Diabetes: Matching Pathophysiology and Addressing Current Challenges. *Can J Diabetes*. 2016;40(5):466-70.
- [12] Coriati A, Ziai S, Azar M, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Characterization of patients with cystic fibrosis presenting an indeterminate glucose tolerance (INDET). *J Cyst Fibros*. 2015.
- [13] Hameed S, Morton JR, Jaffe A, Field PI, Belessis Y, Yoong T, Katz T, Verge CF. Early glucose abnormalities in cystic fibrosis are preceded by poor weight gain. *Diabetes Care*. 2010;33(2):221-6.

- [14] 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 Diabetol.* 2015.
- [15] 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.
- [16] Reynaud Q, Rabilloud M, Roche S, Poupon-Bourdy S, Iwaz J, Nove-Josserand R, Blond E, Laville M, Llerena C, Quetant S, Reix P, Touzet S, Durieu I. Glucose trajectories in cystic fibrosis and their association with pulmonary function. *J Cyst Fibros.* 2018;17(3):400-6.
- [17] Reynaud Q, Boudreau V, Touzet S, Desjardins K, Bourdy SP, Blond E, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R, Durieu I. Glucose tolerance in Canadian and French cystic fibrosis adult patients. *Sci Rep.* 2019;9(1):4763.
- [18] Hankinson JL, Stocks J, Peslin R. Reproducibility of lung volume measurements. *Eur Respir J.* 1998;11(3):787-90.
- [19] Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert C, Cheng AY. 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.
- [20] Prentice B, Hameed S, Verge CF, Ooi CY, Jaffe A, Widger J. Diagnosing cystic fibrosis-related diabetes: current methods and challenges. *Expert Rev Respir Med.* 2016;10(7):799-811.
- [21] Brennan AL, Gyi KM, Wood DM, Johnson J, Holliman R, Baines DL, Philips BJ, Geddes DM, Hodson ME, Baker EH. Airway glucose concentrations and effect on growth of respiratory pathogens in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2007;6(2):101-9.
- [22] Coriati A, Elisha B, Virassamynaik S, Phaneuf M, Ziai S, Gauthier MS, Rabasa-Lhoret R. Diagnosis of cystic fibrosis-related glucose abnormalities: Can we shorten the standard oral glucose tolerance test? *Appl Physiol Nutr Metab.* 2013;38(12):1254-9.

- [23] Costa M, Potvin S, Hammana I, Malet A, Berthiaume Y, Jeanneret A, Lavoie A, Levesque R, Perrier J, Poisson D, Karelis AD, Chiasson JL, Rabasa-Lhoret R. Increased glucose excursion in cystic fibrosis and its association with a worse clinical status. *J Cyst Fibros.* 2007;6(6):376-83.
- [24] Hammana I, Coderre L, Potvin S, Costa M, Berthiaume Y, Lavoie A, Chiasson JL, Levy E, Rabasa-Lhoret R. Dichotomy between postprandial glucose and lipid profiles in adults with cystic fibrosis: a pilot study. *J Cyst Fibros.* 2009;8(2):128-34.
- [25] Milla CE, Warwick WJ, Moran A. Trends in pulmonary function in patients with cystic fibrosis correlate with the degree of glucose intolerance at baseline. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;162(3 Pt 1):891-5.
- [26] Rome S, Clement K, Rabasa-Lhoret R, Loizon E, Poitou C, Barsh GS, Riou JP, Laville M, Vidal H. Microarray profiling of human skeletal muscle reveals that insulin regulates approximately 800 genes during a hyperinsulinemic clamp. *J Biol Chem.* 2003;278(20):18063-8.
- [27] Frost F, Dyce P, Nazareth D, Malone V, Walshaw MJ. Continuous glucose monitoring guided insulin therapy is associated with improved clinical outcomes in cystic fibrosis-related diabetes. *J Cyst Fibros.* 2018;17(6):798-803.
- [28] Colomba J, Boudreau V, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F, Rabasa-Lhoret R. 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.
- [29] Pedreira CC, Robert RG, Dalton V, Oliver MR, Carlin JB, Robinson P, Cameron FJ. Association of body composition and lung function in children with cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2005;39(3):276-80.
- [30] Stephenson AL, Mannik LA, Walsh S, Brotherwood M, Robert R, Darling PB, Nisenbaum R, Moerman J, Stanojevic S. Longitudinal trends in nutritional status and the relation between lung function and BMI in cystic fibrosis: a population-based cohort study. *Am J Clin Nutr.* 2013;97(4):872-7.

[31] Coriati A, Belson L, Ziai S, Haberer E, Gauthier MS, Mailhot G, Coderre L, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Impact of sex on insulin secretion in cystic fibrosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99(5):1767-73.

Table 1. Patient characteristics at entry in each cohort

	Total	Canada	France
Number of patients	329	210	119
Number of observations	978	572	413
Women, n(%)	141 (43)	90 (43)	51 (43)
Mean age (SD), yrs	24.7 (6.3)	24.5 (6.0)	24.9 (6.8)
F508del homozygous, n (%)	183 (56)	121 (58)	62 (52)
Colonisation with <i>P. Aeruginosa</i> , n (%)	213 (70)	152 (72)	79 (66)
Colonisation with <i>S. Aureus</i> , n (%)	199 (61)	115 (55)	84 (71)
FEV1, %, mean (SD)	68.7 (19.9)	71.4 (18.9)	63.9 (20.8)
BMI, kg/m ² , mean (SD)	21.0 (2.6)	21.4 (2.8)	20.3 (2.2)
Courses of IV antibiotic per year, mean (SD)	0.7 (1.1)	0.6 (1.1)	0.8 (1.2)
PG60 ≥ 11.1 mmol/l, n (%)	138 (42)	104 (50)	34 (29)
IG60 ≥ 24 mU/l ³ , n (%)	160 (49)	112 (64) [°]	48 (40)

Abbreviations : SD : Standard Deviation, FEV1 : Forced expiratory volume in 1 second, PG60 : OGTT 1-h glycemia value, IG60 : OGTT 1-h insulinemia value, BMI : Body Mass Index.

Table 2 Effect of PG60 at baseline on the change in FEV1 over time and Effect of IG60 at baseline on the change in BMI over time

Factor	Coefficient [95% CI]	p-value
PG60 on FEV1		
Intercept ^a	70.8 [65.9;75.7]	<.0001
Time (year)	-0.9 [-1.3;-0.4]	0.0001
Canadian	5.6 [1.4;9.8]	0.0098
Baseline PG60 ≥11.1 mmol/l	-3.4 [-7.4;0.6]	0.0995
Baseline IG60 ≥24 mU/l ³	-2.8 [-6.8;1.3]	0.1792
Baseline age (years) ^b	-1.1 [-1.5;-0.8]	<.0001
Baseline BMI (kg/m ²) ^c	2.8 [2.0;3.6]	<.0001
Colonisation with <i>P. Aeruginosa</i>	-4.1 [-8.5;0.2]	0.0643
IG60 on BMI		
Intercept ^d	20.4 [19.5;21.3]	<.0001
Time (years)	0.2 [0.1;0.3]	<.0001
Canadian	1.7 [0.9;2.4]	<.0001

Factor	Coefficient [95% CI]	p-value
PG60 on FEV1		
Women	-0.2 [-1.0;0.7]	0.0040
Women*Canadian	-1.3 [-2.3;-0.2]	0.0182
Time*Women	-0.1 [-0.3;0.0]	0.0446
Colonisation with <i>P. Aeruginosa</i>	-0.7 [-1.3;-0.1]	0.0147
Age group		
20-29 yrs	-0.4 [-1.0;0.3]	0.3009
30-34 yrs	1.9 [0.9;2.9]	0.0002
≥35 yrs	1.5 [0.5;2.5]	0.0029
Baseline PG60 ≥11.1 mmol/l	-0.1 [-0.6;0.5]	0.7824
Baseline IG60 ≥24 mU/l ³	0.5 [0.0;1.1]	0.0521

^a Mean FEV1 at entry in the cohort for a French patient aged 25 years, with BMI equals to 25 kg/m², with no colonisation with *P. Aeruginosa*, with a baseline PG60 < 11.1 mmol/l and with baseline IG60 < 24 mU/l³

^b Baseline age centered at 25 years

^c Baseline BMI centered at 21 kg/m²

^d Mean BMI at entry in the cohort for a French males aged 18 to 20 years with no colonisation with *P. Aeruginosa*, with a baseline PG60 < 11.1 mmol/l and with baseline IG60 < 24 mU/l³

Abbreviations : CI : Confidence Interval, FEV1 : Forced expiratory volume in 1 second, BMI : Body Mass Index, PG60 : OGTT 1-h glycemia value, IG60 : OGTT 1-h insulinemia value

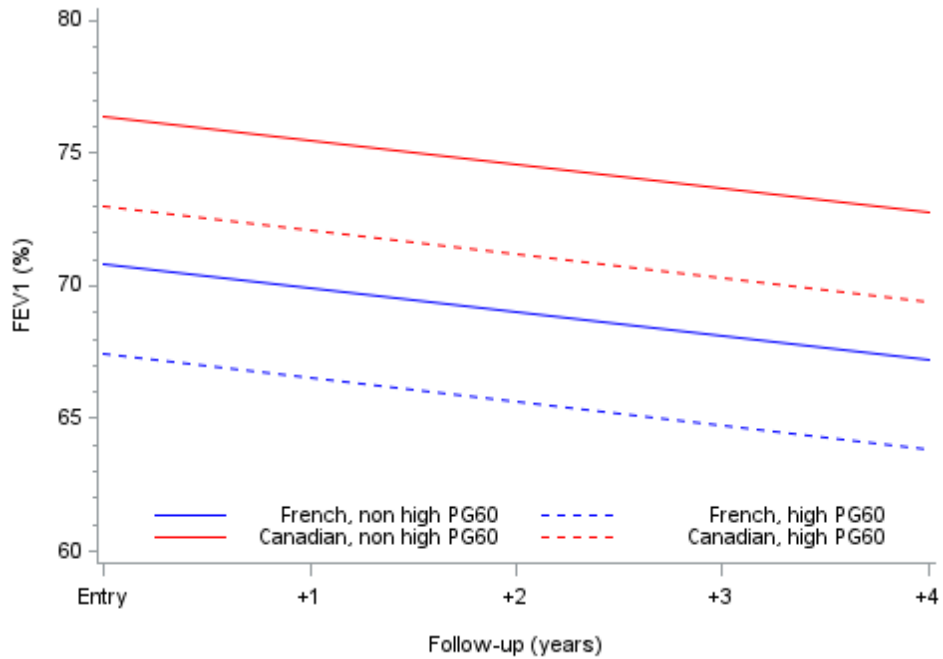


Figure 1. Prototypical FEV1 trajectories for Canadian and French patients according high PG60 values (≥ 11.1 mmol/l) at entry in each cohort

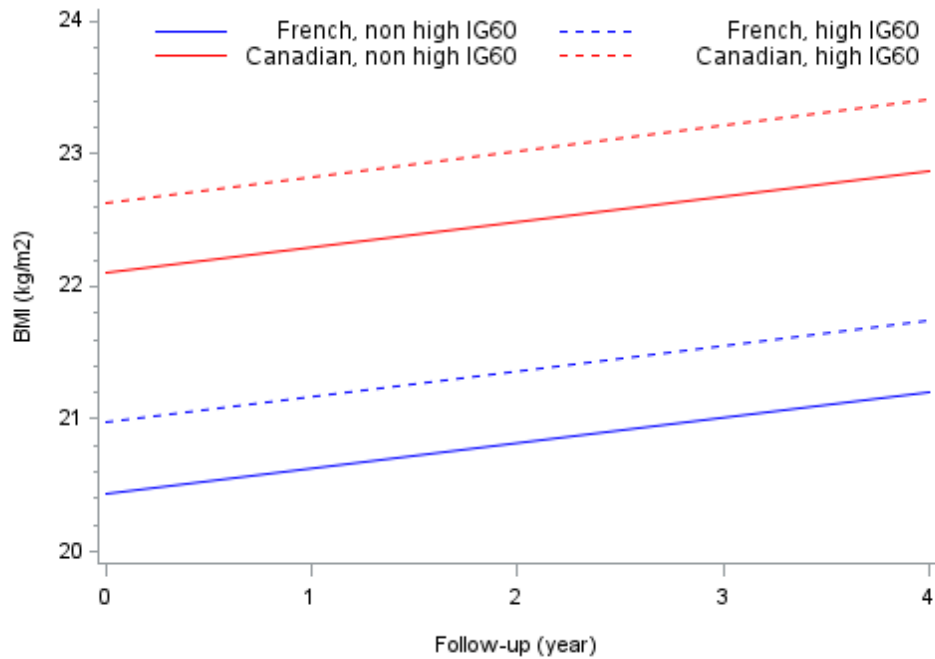


Figure 2. Prototypical BMI trajectories for Canadian and French patients according high IG60 values (≥ 24 mU/l³) at entry in each cohort

Article 4 – Screening for Cystic Fibrosis-Related Diabetes: Matching Pathophysiology and Addressing Current Challenges

Revue de la littérature publiée dans *Canadian Journal of Diabetes* (2016) 40; 466–470

Review article

Screening for Cystic Fibrosis-Related Diabetes: Matching Pathophysiology and Addressing Current Challenges

Valérie Boudreau RD, BSc ^{a,b}, Quitterie Reynaud MD ^{c,d,e}, Catherine Lehoux Dubois RD, BSc ^a, Adèle Coriati PhD ^a, Katherine Desjardins RD, MSc ^a, Isabelle Durieu MD ^{c,d}, Rémi Rabasa-Lhoret MD, PhD ^{a,b,e,f}

a Institut de Recherches Cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada

b Department of Nutrition, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

c Cystic Fibrosis Adult Referral Care Centre, Department of Internal Medicine, Hospices civils de Lyon, Pierre Bénite, France

d Department of internal medicine, Université de Lyon, Lyon, France

e Cystic Fibrosis Clinic, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM)- Hôtel-Dieu, Montréal, Québec, Canada

f Department of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Corresponding author: Rémi Rabasa-Lhoret, MD, PhD

Abstract

Nearly 50% of adult patients with cystic fibrosis (CF) have diabetes. The occurrence of CF-related diabetes (CFRD) is preceded and is associated with deterioration of lung function and nutritional status. Microvascular complications can occur, but the main cause of death is respiratory failure rather than cardiovascular causes as in type 1 or type 2 diabetes. Because other methods such as glycated hemoglobin (A1C) levels are less sensitive in patients with CF, the recommended screening test is the oral glucose tolerance test (OGTT) with a 75 g glucose dose. However, OGTT is poorly suited for patients with CF, who are already facing a high disease-care burden, and appropriate CF-glucose cut-off for diagnosis and prognosis are also questioned. Thus, alternative screening methods are compared to the classical test (2-hour OGTT), including shorter OGTTs and continuous glucose monitoring. Moreover, many challenges complicate the screening for diabetes such as the complex medical care time for a patient, which is reflected by low adherence to screening tests. The best screening test should take into account the particularities of CFRD and the complexity of the CF medical care.

Résumé

Presque 50 % des patients adultes atteints de fibrose kystique (FK) ont le diabète. La survenue du diabète associé à la fibrose kystique (DAFK) est précédée et associée à la détérioration du fonctionnement des poumons et de l'état nutritionnel. Des complications micro-vasculaires peuvent survenir, mais la cause principale de décès est l'insuffisance respiratoire plutôt que les causes cardiovasculaires comme dans le diabète de type 1 ou de type 2. Puisque les autres méthodes telles que les concentrations d'hémoglobine glyquée (A1c) montrent une moins bonne sensibilité chez les patients atteints de FK, le test de dépistage recommandé est l'épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) utilisant 75 g de glucose. Cependant, l'HGPO convient mal aux patients atteints de FK, qui font déjà face à un fardeau élevé en matière de soins liés à la maladie, et les valeurs limites de la glycémie appropriées au diagnostic et au pronostic en présence de FK sont également remises en question. Par conséquent, les autres méthodes de dépistage sont comparées à l'épreuve traditionnelle (HGPO de 2 heures), y compris les HGPO plus courtes et la surveillance de la glycémie en continu. De plus, plusieurs problèmes tels que le temps

de soins médicaux complexes d'un patient, qui se traduit par un faible respect des tests de dépistage, compliquent le dépistage du diabète. Le meilleur test de dépistage devrait tenir compte des particularités du DAFK et de la complexité des soins médicaux liés à la FK.

Introduction

Cystic fibrosis (CF) is a genetic disease affecting 1 in 3800 births in Canada (1). It is the most common lethal autosomal recessive disease in Caucasians. CF is characterized by viscous mucus accumulation in various organs, the most important being the lungs, pancreas and reproductive system (2). Due to improved care, including more intensive lung and nutrition treatments, the life expectancy of patients with the disease has increased significantly in recent decades, with a median life expectancy of more than 50 years in Canada (3). Thus, with a prevalence that increases steadily with age, CF-related diabetes (CFRD) has become the most common secondary complication. By 10 years of age, 10% of patients have already CFRD (4); in adulthood, CFRD affects 40% to 50% of patients with CF, while another 35% have abnormal glucose tolerance (5). CFRD is a particular form of diabetes, but it shares some of the characteristics of type 1 (e.g. occurrence at young age) and type 2 diabetes (e.g. preceded by a long phase of glucose intolerance). Reduced insulin secretion due to beta-cell destruction of the pancreas is a central cause of CFRD (6,7), but insulin resistance can also contribute to hyperglycemia (8). CFRD is preceded by a phase of glucose intolerance with periods of repeated postprandial hyperglycemic excursions (6,9). The occurrence of CFRD is preceded and associated with increased risks for accelerated clinical weight and lung function loss, translating into increased risks for mortality (5,10,11). These risks for accelerated clinical degradation begin 4 to 6 years before CFRD onset (12,13). To explain the clinical deterioration, it is proposed that hyperglycemia can promote lung bacterial growth, inflammation and oxidative stress, while chronic low insulin values could favour a catabolic state (14–16). Because CFRD most often appears insidiously, and the symptoms (fatigue, loss of lung function, etc.) may be easily confused with those of a CF pulmonary exacerbation, annual screening is recommended to start at 10 years of age (17).

Because of its common occurrence and its association with increased risks for weight and lung function decline, it is necessary to identify screening methods that can detect glucose

tolerance abnormalities easily. Screening methods and thresholds should, ideally, provide some CF-outcome prognosis values by identifying patients at higher risk for accelerated weight and lung function loss. The aim of this review is to identify challenges related to CFRD testing and to compare current and emerging screening methods with the currently recommended 2-hour oral glucose tolerance test (OGTT).

Conventional Screening Methods

CFRD diagnostic criteria

For patients with CF, the standard test used to diagnose CFRD remains the OGTT (12) using traditional thresholds (e.g. 2-hour OGTT value >11 mmol/L). Alternative methods validated in the general population (fasting blood glucose levels >7.0 mmol/L, random blood glucose values >11 mmol/L or glycated hemoglobin (A1C) values >6.5% (47.5 mmol/mol) are not appropriate for diagnosis in patients with CF but can still be used to monitor established CFRD. Conventional and emerging screening methods in a CF context are shown in the Table 1.

Glycated hemoglobin and fasting blood glucose do not have appropriate sensitivity

Both A1C and fasting blood glucose levels are frequently used screening tools to diagnose diabetes in the general population. However, in patients with CF, these methods are not sensitive enough (18). In fact, most patients with CF have normal fasting blood glucose levels, even when they have pronounced postprandial hyperglycemia (9), whereas A1C values underestimate the degree of hyperglycemia (19). In fact, 70% of patients with CFRD have normal A1C values (<6.0%) (17), so it is common to observe normal A1C levels in patients with CFRD diagnoses confirmed by OGTTs. Underlying reasons for this lower glycation of hemoglobin have not been established, but increased red blood cell turnover as well as the reduced impact of repeated but usually short periods of hyperglycemia have been suggested (18). Therefore, it is not recommended to use these methods to screen for CFRD. To overcome A1C underestimation of mean blood glucose values, some studies have proposed that a lower A1C threshold (>5.8%; 39.9 mmol/mol) would be more relevant to the diagnosis of CFRD (20). However, a recent study performed with 207 adult patients with CF challenged this threshold because it showed a weak association between

A1C levels and new CFRD diagnoses, with a sensitivity and specificity of 68.2% and 60.5%, respectively, when compared to the standard 2-hour OGTT (21). In other words, this lower A1C threshold did not identify accurately 31.8% of patients with CFRD, an unacceptable false-negative rate. On the other hand, an A1C value above 6.5% (47.5 mmol/mol) is strongly associated with the presence of CFRD.

Keeping in mind that it could underestimate mean blood glucose levels, A1C remains a widely used tool to monitor the evolution of glycemic control in patients with confirmed CFRD diagnoses (18).

The OGTT is the standard recommended test

The 2-hour OGTT with 75 g of glucose intake after overnight fasting is the recommended annual screening test (22). However, this test is widely criticized for several reasons. It is an extra burden for patients who already require multiple medical interventions (23,24). It is, thus, hard to integrate OGTT into the treatment plans and the patients' as well as the healthcare teams' adherence to annual screening, which is low (25). An American study recently highlighted that during a period of 12 months, of the patients who were scheduled for OGTTs, only 21.5% actually underwent the test (25). Patients with CF, with or without dysglycemia, seem to consider themselves at risk for eventually developing diabetes, but they associate it with dramatic consequences, which explains the lack of interest in receiving information and undergoing screening tests (26).

Originally, OGTT criteria for the diagnosis of diabetes were based on thresholds that corresponded to the risk for retinopathy (22). However, though such a complication should be prevented, only a minority of patients with CFRD develop microvascular complications (11). Conversely, reduced pulmonary function and nutrition status are common problems associated with increased risk for mortality (17). As for patients with CF, altered glucose levels are associated with increased risks for accelerated weight loss and reduced lung function, and diagnostic criteria based on these clinical factors might be more relevant for patients with CF. When blood glucose is greater than 8.0 mmol/L, glucose can be detected in the airway of the lung, which promotes proliferation of known microorganisms in the lung secretions (27). Moreover, hyperglycemia is

associated with inflammation and oxidative stress, both factors that can promote the clinical deterioration observed in CF (28). The lung is the primary organ affected in CFRD, so proposing a threshold for treatment related to risk for lower pulmonary function, rather than microvascular complications, could be more relevant. A recent review suggested a threshold for CFRD diagnosis based on the presence of damaged tissues in the lungs, also called pulmonopathy (24).

In addition, a high variability in the evolution of glucose tolerance is observed in patients with CF. For example, between 2 consecutive tests performed 1 year apart, more than 25% of patients' glucose tolerance categories changed, including a quarter of the patients who had CFRD diagnoses at baseline but returned to normal glucose tolerance values at follow-up (29). A recent study involving 152 adult patients without known diabetes from the Montreal CF cohort showed that the glucose tolerance statuses of 44.7% of patients changed after a 21.2-month follow-up. It has been proposed that in the context of significantly reduced insulin secretion, variation in insulin sensitivity (e.g. related to variable degrees of lung bacterial colonization) could explain these variations (8).

Thus, the OGTT remains the only recommended screening test, but simpler alternative methods for CF are being explored. In addition, currently used thresholds are challenged, but there are no available data to validate cut-off values related to pertinent CF outcomes.

Emerging Screening Methods in a CF Context

Intermediate time points during OGTTs

A growing body of evidence suggests that patients with CF present specific postprandial or post challenge glucose excursion patterns characterized by more rapid glucose rises followed by fast normalization when compared to the general population or to patients with type 2 diabetes (19). With such patterns, patients with CF can have normal fasting and 2-hour OGTT values but present with increased blood glucose levels higher than 11.0 mmol/L at 1-hour OGTTs. This particular glycemic profile led to the proposal of a new CF-specific glucose tolerance category called indeterminate glucose tolerance (INDET) (normal fasting glucose and 2-hour OGTT values with a 1-hour value >11.0 mmol/L). Glucose profiles in the INDET group are associated with marked reduction in lung function at the level usually observed in patients with newly diagnosed CFRD

(30,31). In addition, 1 study identified 1-hour OGTT low plasma insulin values as a marker for both reduced lung function and lower body mass index (31). Moreover, 1-hour OGTT values may be effective in detecting abnormal glucose tolerance requiring treatment in patients with CF (31,32). However, prospective data confirming these cross-sectional observations is missing and, more important, no studies have been published concerning the relevance of initiating a treatment based on elevated 1-hour time points if the 2-hour blood glucose values remain normal (24). There is, thus, a parallel between some available data in patients with CF and what is observed in gestational diabetes (33), but evidence-based data to prove the benefits of focusing on the OGTT 1-hour time point are lacking in patients with CF.

Because the OGTT is perceived as a complex test, and OGTT intermediate time points could provide pertinent information for both future CFRD risk as well as the risk for lower weight or lung function, some authors have proposed reducing the length of OGTTs in patients with CF. For example, the 90-minute OGTT time point has been proposed as an alternative for diagnosing impaired glucose tolerance (thresholds ≥ 9.3 mmol/L) and CFRD (≥ 11.5 mmol/L) (23). Others have proposed that increased glucose values at earlier time points such as 30 minutes could identify both glycemic abnormalities and higher probabilities of low insulin secretion, thus potentially providing better assessments of risks for accelerated weight and lung function loss (34).

Thus, 30-, 60- or 90-minute blood glucose values during OGTTs are potential clinical tools that could identify, at the same time, patients who are at risk for CFRD as well as being at increased risk for complications associated with CFRD, while allowing shortening of the screening test, thus providing some relief to patients and care teams. However, it remains to be established whether these observations are also seen in prospective studies and whether a simpler test would increase adherence to testing.

Continuous glucose monitoring

Continuous glucose monitoring (CGM) is provided by a small device that is worn for 6 to 15 days and measures subcutaneous interstitial glucose values every 5 to 10 minutes, thus allowing the obtainment of detailed glycemic profiles over consecutive days. CGM profiles could potentially replace OGTTs for several reasons:

1) Detailed glycemic profiles could help to diagnose CFRD, which is associated with the risk for rapid clinical deterioration (35).

2) The decreasing cost of glucose sensors and receivers and the short time required for their installation by a healthcare professional might reach the point at which this option could become less expensive than OGTTs.

3) Healthcare professionals can easily set up CGM sensors during consultations. The new generation of sensors no longer requires capillary blood glucose calibrations, and patients can easily remove the device on their own, so technical progress has tremendously simplified this technology.

4) The resulting profiles reflect real-life physiologic glucose fluctuations, whereas the OGTTs are standardized tests, but they use pure glucose, which poorly reflects the impact of glucose when ingested with other nutrients (36).

A number of factors still limit the use of CGMs as diagnostic tools.

1) They provide multiple parameters (average blood glucose, time in hypoglycemia, fluctuation indices, etc.), but these parameters are not validated in CFRD and do not establish risk factors for future lung function and weight deterioration. For example, how many episodes of high glycemic excursions should patients experience for the detection and diagnoses of CFRD? What are the most pertinent thresholds? Should these excursions last a specific period of time? Such validation will require prospective studies in large and diverse populations in which patients should undergo both OGTTs and CGMs.

2) The most effective model of the organization care team for accessing and implementing CGMs as screening tools has not yet been established. Although CGMs are more and more easily affordable, they are not fully covered by insurance, whereas OGTTs are fully covered. Care teams will also have to convince patients to wear the device and to be educated about how to analyze CGM curves.

Nonetheless, CGM is currently used by some CF teams to consolidate diagnoses or to target suspected glucose excursions that cannot be identified by OGTTs.

Low Adherence to CFRD Screening Tests

In addition to the variability in glucose tolerance in patients with CF and the lack of a screening test that can identify higher risk for clinical deterioration, several testing centers have observed low adherence by patients to OGTTs. In the Montreal cohort of adult patients with CF, we analyzed adherence to OGTTs between May 2015 and May 2016 in 108 adult patients. Of these patients, 51 (47.2%) came to the scheduled test, 20 (18.5%) called to cancel or reschedule the test before their appointments, and the remaining 37 (34.3%) did not keep their appointments, without cancelling their appointments (unpublished data). Various reasons can explain this lack of adherence to the screening test:

1) This 2-hour test has to be taken after an overnight fast, which could discourage some patients, considering the significant number of calories they have to consume daily to maintain or achieve a normal weight.

2) The OGTT is an additional medical burden. Patients with CF already have major medical treatments and screening tests (lung function, bacterial colonization, liver damage, impairment of exocrine pancreas, nutritional support, etc.) (37). The time required for the treatments is typically 2 to 3 hours per day, which incur significant burdens (38).

3) The only currently recommended treatment is insulin, and some patients prefer not to know whether they have diabetes so as to avoid an additional therapy that is perceived as invasive and complex (26). A study conducted in the Children's Hospital of Michigan analyzing compliance with OGTTs showed that several reminders of the screening test increased compliance from 21% to 72%. Educating patients or parents (in the case of children) seems to be an effective method for significantly increasing adherence to OGTTs (25).

Conclusions

CFRD is a separate entity that differs significantly from type 1 and type 2 diabetes. The occurrence of glucose tolerance abnormalities is not only predictive of increased risks for future CFRD but also is associated with increased risks for accelerated weight and lung function loss. CFRD is common, but it cannot be easily diagnosed. CFRD is associated with significant health risks, so regular screening is mandatory.

The recommended screening test is the 2-hour OGTT, with diagnostic criteria based on threshold for fasting and the 2-hour blood glucose test used in type 2 diabetes. This method is associated with additional medical burdens for patients for whom medical care is already complex. It is, therefore, important to educate patients and care teams about the importance of screening and to find a more simple test that would ideally capture, at the same time, both future risks for CFRD as well as increased risks for clinical deterioration. Current research teams investigate whether OGTT intermediate time points or CGM can fulfill these important objectives. We believe that a blood glucose value ≥ 11.1 mmol/L at any intermediate time point of the OGTT should be investigated as an abnormal glucose tolerance in CF. Thus, clinical teams involved in CF should collect 30-minute blood samples during the OGTT. In addition, recent evidence suggests that the test may be reduced by at least 30 minutes because the 2-hour value is less sensitive to CF complications related to hyperglycemia, and that could be more beneficial for patients (39). However, in both cases, we are still missing prospective data to validate these interesting but hypothesis-generating, rather than evidence-based, data. There is also a need for updated guidelines to confirm that the community endorses these findings.

The standard test to screen for CFRD remains the classic OGTT (12,40). Considering the numerous published studies that challenge this test, recommendations for CFRD screening methods and diagnostic criteria should be further investigated by research groups so as to better guide professionals involved in the screening process for CFRD. New recommendations should take into account the clinical deterioration associated with hyperglycemia in patients with CF, in addition to the testing burden, and, therefore, ideally enhance patients' adherence.

Acknowledgments

This work was supported by an operating grant to RRL from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation (#2883), by a grant to ID from the Association Vaincre la Mucoviscidose (#RC20140501069) and by a fund to RRL from the Direction des relations internationales (DRI) of the Université de Montréal. VB was supported by the Canadian Institutes of Health Research and by the Fonds de Recherche du Québec - Santé. AC was supported by the Cystic Fibrosis Canada Postdoctoral Fellow.

Author Contributions

All authors read and approved the manuscript; VB wrote the manuscript and revision prior to submission; AC and RRL edited the manuscript; AC, QR, CLD, KD and ID contributed to manuscript revision prior to submission; RRL contributed to study hypothesis and design as well as to manuscript revision prior to submission.

References

- [1] Coriati A, Belson L, Ziai S, et al. Impact of sex on insulin secretion in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2014;995:1767–73.
- [2] Grasemann H, Ratjen F. Early lung disease in cystic fibrosis. *Lancet Respir Med* 2013;12:148–57.
- [3] Cystic Fibrosis Canada. Focus on a cure 2014–2015 Annual Report. <http://www.cysticfibrosis.ca/news/publications>. Accessed 2015–04.
- [4] Moran A, Dunitz J, Nathan B, et al. Cystic fibrosis-related diabetes: Current trends in prevalence, incidence, and mortality. *Diabetes Care* 2009;329:1626–31.
- [5] O’Shea D, O’Connell J. Cystic fibrosis-related diabetes. *Curr Diab Rep* 2014;148:511.
- [6] Della Manna T, Setian N, Rodrigues JC. Cystic fibrosis-related diabetes: A frequent co-morbidity. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 2008;522:188–97.
- [7] Hammana I, Potvin S, Tardif A, et al. Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2009;86:378–81.
- [8] Boudreau V, Coriati A, Hammana I, et al. Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity? *J Cyst Fibros* 2016;doi:10.1016/j.jcf.2016.04.004.
- [9] Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, et al. Diabetes: A major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 2005;313(Pt 1):221–32.
- [10] Hameed S, Morton JR, Jaffe A, et al. Early glucose abnormalities in cystic fibrosis are preceded by poor weight gain. *Diabetes Care* 2010;332:221–6.

Table 1. Summary of screening tests for glucose abnormalities and cystic fibrosis-related diabetes

Table 1
Summary of screening tests for glucose abnormalities and cystic fibrosis-related diabetes

Test	Advantages	Disadvantages
2-hour oral glucose tolerance test	<ul style="list-style-type: none"> • Recommended standard screening test • Target postprandial hyperglycemia, more prevalent than fasting hyperglycemia • More sensitive than other conventional methods (A1C and fasting glucose) 	<ul style="list-style-type: none"> • Low adherence of patients to the test • Additional annual burden (care and cost) • Does not consider clinical deterioration associated with CFRD: weight and lung function loss • High variability in results
Fasting blood glucose	<ul style="list-style-type: none"> • Simple 	<ul style="list-style-type: none"> • Does not detect postprandial hyperglycemia, more frequent than fasting hyperglycemia • Lack of sensitivity; a normal/low value does not eliminate a CFRD diagnosis
A1C	<ul style="list-style-type: none"> • Simple 	<ul style="list-style-type: none"> • Underestimates average glucose levels in patients with CF • Lack of sensitivity; a normal value does not eliminate a CFRD diagnosis
OGTT-intermediate times (30, 60 or 90 minutes)	<ul style="list-style-type: none"> • Target glycemic excursions, common in CF • Associated with poor lung function and decreased weight • Could reduce the OGTT duration 	<ul style="list-style-type: none"> • Validation studies, consensus on time and glycemic values are needed
CGM	<ul style="list-style-type: none"> • Detailed glycemic profile • Associated with poorer lung function and decreased weight • Lowering cost • Easy to install and use 	<ul style="list-style-type: none"> • Needs a consensus on screening thresholds (number of glucose elevations, duration, etc.) • Needs validation studies • Actual cost

A1C, glycated hemoglobin levels; CF, cystic fibrosis; CFRD, cystic fibrosis-related diabetes; CGM, continuous glucose monitoring; OGTT, oral glucose tolerance test.

Article 5 – Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes

Short report

Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes

Valérie Boudreau ^{a,b,1}, Adèle Coriati ^{a,b,1}, Katherine Desjardins ^{a,b}, Rémi Rabasa-Lhoret ^{a,b,c,d,*}

a Institut de Recherches Cliniques de Montréal, Montréal, Québec, H2W 1R7, Canada

b Department of Nutrition, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

c Cystic Fibrosis Clinic, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM)–Hôtel-Dieu, Montréal, Québec, Canada

d Department of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

¹ Equal contribution

* **Corresponding author:** Rémi Rabasa-Lhoret, MD, PhD

Abstract

With improved life expectancy of cystic fibrosis (CF) patients, CF-related diabetes (CFRD) has become a major complication. The oral glucose tolerance test (OGTT) is the standard test to detect it. However, the use of OGTT is controversial, in addition to being a burden for patients and the treatment team. Research to find alternative ways of testing is ongoing. While some propose that glycated hemoglobin (HbA1c) may be an effective alternative, our past results suggest otherwise. A new analysis involving the OGTT and HbA1c values of 207 patients, between 2004 and 2015, proposes that the threshold of a lower value of HbA1c of $\geq 5.8\%$ (39.9 mmol/mol) gives a sensitivity of 68.2% and a specificity of 60.5%. With such sensitivity to identify patients in need of an OGTT, 31.8% of CFRD diagnosis would be missed if the suggested HbA1c value of $\geq 5.8\%$ was used as a screening tool to identify patients in need of OGTTs. Considering our results, we believe the HbA1c does not possess the characteristics of a suitable screening test for CFRD.

1. Short report

With improved life expectancy, Cystic Fibrosis Related Diabetes (CFRD) has emerged as a major CF comorbidity. Screening for CFRD using an Oral Glucose Tolerance testing (OGTT) is mandatory after the age of 10, but associated with an important burden for patients and health care team [1]. OGTT requires organization, additional visits, blood testing over 2 h and is thus associated with important costs. As CFRD onset can be associated with accelerated weight and lung function decline and can also be associated with important nutritional, glucose monitoring and pharmacologic measures, regular CFRD screening is an important component of patient care.

Research efforts to reduce OGTT burden or to use alternative CFRD screening methods are ongoing [2]. For type 2 diabetes, a simple non-fasting blood sample for glycated hemoglobin (HbA1c) measurement, if above 6.5% (47.5 mmol/mol), constitutes a simple and validated diagnosis method [1]. However, for patients with CF, HbA1c validity is questioned, as it shown that it underestimates mean blood glucose, as compared to what is observed in other more frequent forms of diabetes [3]. Recently, Burgess et al. [4] proposed that a lower HbA1c threshold ($\geq 5.8\%$; 39.9 mmol/mol) would efficiently (sensitivity of 93.8% and a specificity of 53%) detect patients in need of conducting OGTTs. However, this report is in contrast to one of our previous publications suggesting that, to identify patients with CFRD, a cut-off value of $\geq 5.9\%$ had a sensitivity of 68.2% and a specificity of 81.2%, considered as unacceptable as compared to classical (120 min) or shortened (90 min) OGTT testing [2].

Based on the report of Burgess et al., we revisited the value of HbA1c as a tool to identify patients at risk of CFRD in the large ongoing Montreal Cystic Fibrosis Cohort, a prospective observational cohort investigating association between abnormal glucose tolerance and CF health [5,6]. Between 2004 and 2015, 207 patients underwent an OGTT for which an HbA1c value was also available. Our cohort (48.3% women) had an average age of 25.6 ± 8.0 years, a BMI of 21.9 ± 2.9 kg/m² and a FEV1 of $74.0 \pm 21.1\%$. All patients with CFRD included in the analysis underwent a repeated OGTT. The repeated OGTT results were 100% concordant with the first OGTT for CFRD diagnosis. Of the 207 patients with CF, 22 are identified as having *de novo* CFRD based on results from the OGTT. More importantly, 31.8% of CFRD diagnosis would be missed if

the suggested HbA1c value of $\geq 5.8\%$ was used as the screening tool. In our cohort, the sensitivity and specificity of the $\geq 5.8\%$ threshold are respectively 68.2% and 60.5%, thus far lower than observed values in Burgess et al. publication [4]. To have an acceptable sensitivity of around 95%, the HbA1c threshold would have to be reduced to 5.5% (Table 1). The use of an HbA1c threshold this low for CFRD screening may not have any practical advantage as very few individuals may be spared the need for an OGTT. Overall, in our hands, such an HbA1C low threshold would also be associated with additional medical burden, but of low yield.

We thus consider that it is premature to state, as proposed by Burgess & al, that HbA1c using a 5.8% threshold could accurately identify patients at risk of CFRD [4]. We suggest that OGTT must currently remain the screening tool, as suggested in clinical practice guideline [1]. In addition, emerging data suggest that the 1 h OGTT intermediate time point (especially glucose and/or insulin values) could be an important biomarker of a decline in lung function and weight, respectively, in adult CF patients [7–9]. Thus, though the value of these associations still needs to be confirmed prospectively, they suggest that OGTT intermediate time points could, at the time of screening for abnormal glucose tolerance, provide important additional value for two therapeutic objectives in CF: preserving lung function and weight. Indeed, to reflect this potential, a new CF-specific glucose tolerance group called INDET for indeterminate was proposed [10]. These patients are characterized by 1 h OGTT values above 11.1 mmol/L and we recently confirmed that they indeed present lower lung function compared to the level observed in patients with recently diagnosed CFRD [8]. Discordant results between our study and the one by Burgess et al. can be explained by several potential reasons mainly related to differences between the two studied populations including 1) a larger proportion of patients with newly diagnosed CFRD in our study (10.6% versus 4.8%, respectively), 2) a better lung function in our population (FEV1 of 74.0% vs. 67.4%, respectively) and 3) possible different genetic background (both CF mutation and modifier genes) [11]. In addition, well-described important variability of glucose tolerance [12] and the use of different assay to measure blood glucose markers (e.g. HbA1c assay) could be additional potential reasons.

Overall, we do not confirm that a lower HbA1c threshold is a valid method to screen for CFRD in adult patients with CF, and we cannot agree that a lower HbA1C threshold reduces the

need for OGTT. Research efforts should aim to simplify CFRD screening. The ideal method should provide indication on both glucose tolerance and on the well described risk of accelerated lung and weight function loss, which starts in the pre-diabetic states [13]. It is possible that the combination of HbA1c with another method such as continuous glucose monitoring could, in the future, reduce OGTT-associated burden.

Until such data becomes available, OGTT should remain the CFRD screening test.

Funding

This study was supported by an operating grant (#2883) from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation and the J-A DeSève search chair in clinical research awarded to RRL.

Conflicts of interest

The authors have nothing to disclose.

Acknowledgements

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

References

- [1] Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert C, AY Cheng. 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.
- [2] Coriati A, Elisha B, Virassamynaik S, Phaneuf M, Ziai S, Gauthier MS, et al. Diagnosis of cystic fibrosis-related glucose abnormalities: can we shorten the standard oral glucose tolerance test? *Appl Physiol Nutr Metab* 2013;38(12):1254–9.
- [3] 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.

- [4] Burgess JC, Bridges N, Banya W, Gyi KM, Hodson ME, Bilton D, et al. HbA1c as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes. *J Cyst Fibros* 2015.
- [5] 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.
- [6] 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. *J Cyst Fibros* 2007;6(6):376–83.
- [7] 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 Diabetol* 2015.
- [8] Coriati A, Ziai S, Azar M, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Characterization of patients with cystic fibrosis presenting an indeterminate glucose tolerance (INDET). *J Cyst Fibros* 2015.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] Blackman SM, Hsu S, Vanscoy LL, Collaco JM, Ritter SE, Naughton K, et al. Genetic modifiers play a substantial role in diabetes complicating cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94(4):1302–9.
- [12] Scheuing N, Holl RW, Dockter G, Hermann JM, Junge S, Koerner- Rettberg C, et al. High variability in oral glucose tolerance among 1,128 patients with cystic fibrosis: a multicenter screening study. *PLoS One* 2014;9(11), e112578.

[13] Lanng S, Hansen A, Thorsteinsson B, Nerup J, Koch C. Glucose tolerance in patients with cystic fibrosis: five year prospective study. *BMJ* 1995; 311(7006):655–9.

Table 1. Specificity and sensitivity of theHbA1c as a screening tool for cystic fibrosis- related diabetes (n = 207 OGTTs, including 22 CFRD).

HbA1c	Sensitivity (%)	Specificity (%)	Missed CFRD diagnosis (%)
5.1	100	5.9	0
5.2	100	10.3	0
5.3	100	15.7	0
5.4	100	25.4	0
5.5	95.5	31.4	4.5
5.6	86.4	42.2	13.6
5.7	72.7	50.8	27.3
5.8	68.2	60.5	31.8
5.9	59.1	73.0	40.9
6.0	50.0	81.1	50.0
6.1	27.3	90.3	72.7
6.2	13.6	95.1	86.4

Article 6 – Sensitivity and specificity of cystic fibrosis-related diabetes screening methods: which test should be the reference method?

Lettre à l'Éditeur publiée dans Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism 2017; 30(8):

885–887

Letter to the Editor

Sensitivity and specificity of cystic fibrosis-related diabetes screening methods: which test should be the reference method?

Valérie Boudreau, Catherine Lehoux Dubois, Katherine Desjardins, Marjolaine Mailhot, François Tremblay, Rémi Rabasa-Lhoret*

Valérie Boudreau and Catherine Lehoux Dubois: Montreal Clinical Research Institute, Montréal, Québec, Canada. <http://orcid.org/0000-0003-1198-3287> (V. Boudreau); and Department of Nutrition, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Katherine Desjardins: Montreal Clinical Research Institute, Montréal, Québec, Canada

Marjolaine Mailhot and François Tremblay: Cystic Fibrosis Clinic, Université de Montréal Hospital center (CHUM) – Hôtel-Dieu, Montréal, Québec, Canada

***Corresponding author: Rémi Rabasa-Lhoret**, Montreal Clinical Research Institute, 110 avenue des Pins Ouest, Montréal, QC, Canada, H2W 1R7, E-mail: remi.rabasa-lhoret@ircm.qc.ca; Department of Nutrition, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada; Cystic Fibrosis Clinic, Université de Montréal Hospital center (CHUM) – Hôtel- Dieu, Montréal, Québec, Canada; and Montreal Diabetes Research

To the Editor,

We have read with interest the original article by Mainguy et al. [1] on the evaluation of the sensitivity and specificity of some methods to screen for diabetes in a cystic fibrosis (CF) population. This work evaluates the efficacy of the oral glucose tolerance test (OGTT with 1-h and 2-h glucose values), intravenous glucose tolerance test (IGTT), glycated hemoglobin (HbA1c), an index of insulin resistance (HOMA-IR) and an index of pancreatic β cell function (HOMA-% β) to screen for CF-related diabetes (CFRD) in comparison with a continuous glucose monitoring system (CGM) worn for 3 days in 29 patients with CF aged 13.1 ± 2.2 years. They conclude that the OGTT is not sensitive enough to identify CFRD and propose a two-step approach using the HOMA-% β to identify patients who need to be screened by OGTT. Although we found it very interesting to investigate simpler tools to screen for CFRD, we have concerns with the use of CGM as the reference screening method because there is no consensus on how to diagnose CFRD with this system [2]. We believe that it is not possible to affirm that the OGTT is not sensitive enough, based on glycemic excursions measured with CGM in the absence of CGM-based criteria known to be clinically relevant for CF patients.

CFRD is the second most common complication after pulmonary complications, and the prevalence increases with age, reaching up to 50% of adults with CF. CFRD is mainly caused by a reduced insulin secretion secondary to CF-associated chronic pancreatitis. This highly frequent complication is associated with an increased risk of clinical decline including accelerated weight loss, reduced lung function as well as early mortality. An annual OGTT for CFRD screening is thus recommended from the age of 10. Patients drink a glucose solution of 1.5 g per kg of body weight up to a maximum of 75 g after an 8-h fasting. Diagnosis is made either by fasting glucose ≥ 7.0 mmol/L (which is rare in CF) or a 2-h glucose value ≥ 11.1 mmol/L [2]. However, many CF clinical teams have criticized this standard screening method for several reasons: it is perceived as invasive and inconvenient, which translates into a low adherence rate (between 25% and 50% of patients actually take the test annually) [1, 3] and thresholds used to diagnose CFRD are those used in patients with type 2 diabetes validated based on the risk of retinopathy, which could be different than the ones capturing the increased risk of accelerated CF clinical decline. Indeed,

rather than fasting and 2-h glucose values, a high 1-h OGTT value is more strongly associated with early clinical deterioration [4]. Moreover, simple alternative methods validated for type 2 diabetes (e.g. fasting blood glucose or HbA1c) have a low sensitivity in CF and, thus, cannot be used [3, 4].

Thus, as mentioned by Mainguy et al. there is an important need to find an alternative screening method that would not only identify *de novo* CRFD but also the risk of accelerated weight loss and pulmonary function deterioration, while being more acceptable for patients and CF teams. Such alternative screening methods should be validated prospectively against current clinical standard (OGTT) as well as clinical outcomes relevant to CF.

CGM is more and more accessible, painless, does not require fasting and allows a detailed glucose profile in real life conditions, which cannot be observed during the OGTT and might, thus, be used as a screening test in populations at high risk for diabetes [4]. However, unlike the well-accepted criteria to evaluate glucose control in patients with established diabetes, there is no consensus on diagnosis criteria for diabetes using CGM [2].

For patients with CF, several research groups have compared the CGM glucose profile with glucose excursion during a standard OGTT [5]. These studies conducted on small groups of patients reported that one-third of the patients with normal OGTT present CGM glucose excursions above the usual threshold used to diagnose diabetes (≥ 11.1 mmol/L), a threshold that can be associated with reduced pulmonary function [6]. Prospective studies are needed to confirm the association between glycemic excursions on CGM and clinical deterioration. It is now well described that even CF patients with normal glucose tolerance experience early glucose excursions followed by rapid glucose normalization. Thus, a single or even a few CGM-glucose values ≥ 11.1 mmol/L does not necessarily represent a diabetes diagnosis, but probably better reflect the importance of a high glycemic excursion which is present in most CF patients. As such, glucose excursions are more frequent in adult patients [6], and the reported OGTT sensitivity by Mainguy et al. could have been even lower in older patients.

It was, thus, expected that fasting and 2 h-OGTT values would have less sensitivity when compared to values of CGM as reported by Mainguy et al. a conclusion that is, however, not based

on validated thresholds to diagnose diabetes with CGMS. Establishing the most accurate CGM based criteria to diagnose CFRD and/or the risk of accelerated clinical deterioration will require large cohorts with prospective follow-up assessing clinically relevant outcomes. These studies will have to answer numerous questions, including CF-specific glucose criteria (thresholds, number and length of episodes), how long CGM testing should last (most published data used 3 days but current devices offer up to 2 weeks of values with a single sensor), specific CGM accuracy, screening for aberrant values and minimal requirement for CGM calibration as well as for carbohydrate intake. CGM represents a promising way to simplify CFRD screening both from a clinical and a practical point of view, but it is too early to recommend its use for CFRD screening. Although the standard OGTT has significant shortcomings, it remains the recommended standard test [2].

Furthermore, we found it very interesting that Mainguy et al. investigated other simpler methods to screen for CFRD including HbA1c, IGTT, homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and HOMA-% β . These are simple formulas as only fasting insulin and glucose values are needed. We have already shown that even if decreased insulin secretion remains the first cause of CFRD, variations in insulin resistance (probably caused by exacerbations of the disease) may influence glucose tolerance in CF patients. When comparing these indices to CGM, Mainguy et al. obtained a sensitivity of 91% to identify *de novo* diabetic patients with a reduced HOMA-% β index (using 100% to define a normal β cell function). Thus, if confirmed in larger cohorts, it could be possible to reduce OGTT-associated burden for several patients by identifying patients at risk. We investigated the accuracy of this measure in the Montreal CF adult cohort in which an OGTT with plasma glucose and insulin values are measured (every 30 min). Values are available in 261 adult patients (Table 1). All analyses were made by analysis of variance (ANOVA) except for sex difference (χ^2 -analysis for categorical variables) and were all performed using SPSS Software v24 for Windows (IBM, Chicago, IL, USA). Using the same criteria as Mainguy et al. to define a normal β cell function, we observed a 69% sensitivity of the HOMA-% β index to identify patients at risk of *de novo* CFRD. This sensitivity is far less than the one reported by Mainguy et al. but also far higher than the one observed using an HbA1c threshold $\geq 6.5\%$ (39%). For HOMA-IR, representing insulin resistance, we did not use the value of 1 to estimate insulin-

resistant patients as proposed by Mainguy et al. because 96% of adult patients of the Montreal CF cohort have a value ≥ 1 . As some authors recommended using a value ≥ 2.5 for insulin resistance, we lowered this value because our patients frequently present a value ≥ 2.5 even with a normal glucose tolerance and, thus, the sensitivity would be very low. We, thus, used a lower threshold of 2.0, which provided a sensitivity of 75%. However, the specificity was 32%, which was expected by reducing the threshold to have a better sensitivity. This is an interesting sensitivity (75%), but by using this approach, we would still miss one-quarter of CFRD patients, which, in association with the low specificity, probably make this approach unacceptable in clinical practice. In addition, the absence of standardization of plasma insulin dosage will prevent establishing a threshold with external validity. However, it could be very interesting to elaborate a tool using different parameters and clinical values to screen for patients at risk of CFRD and target patients who need to do the OGTT.

Although it is important to screen for CFRD, many scientists and clinical teams criticized the current OGTT screening test. We agree that more simple and convenient screening methods should be investigated. CGM is one promising emerging method. However, we believe that with current evidence, CGM may help in the early diagnosis of CFRD when considered with the OGTT but should not be used as a substitute. Another option could be to combine indices from fasting values and clinical data (inexplicable weight or pulmonary function loss) to create a sensitive and easy-to-use screening tool.

Finding the optimal way to diagnose CFRD based on criteria more relevant for the CF population (e.g. risk of lung function decline) rather than diabetes-specific complications (e.g. retinopathy) is an important goal for the CF population.

Acknowledgments

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

Author contributions

All the authors have accepted responsibility for the entire content of this submitted manuscript and approved submission.

Research funding: This study was supported by an operating grant (#2883) from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation and the J-A DeSève search chair in clinical research awarded to RRL.

Employment or leadership: None declared.

References

[1] Mainguy C, Bellon G, Delaup V, Ginoux T, Kassai-Koupai B, et al. Sensitivity and specificity of different methods for cystic fibrosis related diabetes screening: is the oral glucose tolerance test still the standard? *J Pediatr Endocrinol Metab* 2017;30:27–35.

[2] Moran A, Brunzell C, Cohen RC, Katz M, Marshall BC, 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;33:2697–708.

[3] Boudreau V, Coriati A, Desjardins K, Rabasa-Lhoret R. Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes. *J Cyst Fibros* 2016;15:258–60.

[4] Boudreau V, Reynaud Q, Dubois CL, Coriati A, Desjardins K, et al. Screening for cystic fibrosis-related diabetes: matching pathophysiology and addressing current challenges. *Can J Diabetes* 2016;40:466–70.

[5] Taylor-Cousar JL, Janssen JS, Wilson A, Clair CG, Pickard KM, et al. Glucose >200 mg/dL during continuous glucose monitoring identifies adult patients at risk for development of cystic fibrosis related diabetes. *J Diabetes Res* 2016;2016:1527932.

[6] Coriati A, Ziai S, Azar M, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Characterization of patients with cystic fibrosis presenting an indeterminate glucose tolerance (INDET). *J Cyst Fibros* 2016;15:127–32.

Table 1 Characteristics of CF patients according to glucose tolerance groups and performance of indices to screen for CFRD vs. the OGTT.

	NGT	IGT	<i>De novo</i> CFRD	p-value	Sensitivity for CFRD, %	Specificity for CFRD, %	PPV, %	NPV, %
n (%)	148 (56.7)	75 (28.7)	38 (14.6)	-	-	-	-	-
Sex, % women	41.9	55.7	38.5	0.087a	-	-	-	-
Age, years	25.5 ± 8.2	25.4 ± 7.4	26.5 ± 7.1	0.741	-	-	-	-
FEV1, %	73.9 ± 21.0	74.2 ± 22.1	68.1 ± 24.4	0.307	-	-	-	-
BMI, kg/m ²	21.8 ± 2.8	21.8 ± 3.1	21.4 ± 3.1	0.687	-	-	-	-
HOMA-%β	130 ± 86	131 ± 109	105 ± 90	0.332	69	57	22	91
HOMA-IR	2.5 ± 1.3	2.4 ± 1.0	3.07 ± 1.6	0.040	75	32	16	88
HbA1c, %	5.6 ± 0.4	5.7 ± 0.5	6.3 ± 0.8	<0.001	39	98	75	90

NGT, normal glucose tolerance (fasting glucose value <7.0 mmol/L and 2-h glucose value <7.8 mmol/L); IGT, impaired glucose tolerance (2-h glucose value ≥7.8 mmol/L but <11.1); CFRD, cystic fibrosis-related diabetes (fasting glucose value ≥7.0 mmol/L or 2-h glucose value ≥11.1 mmol/L); PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value. χ^2 -analysis. Bold values represent significant p-values.

Article 7 – 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

Lettre à l'Éditeur publiée dans Canadian Journal of Diabetes (2019) 43; 13-18

Letter to the Editor

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

Valérie Boudreau, RD, MSc¹, Quitterie Reynaud, MD², Anne Bonhoure, BSc³, Isabelle Durieu MD⁴, Rémi Rabasa-Lhoret, MD, PhD⁵

1. Institut de Recherches Cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Université de Montréal, Département de nutrition, Faculté de Médecine, Montréal, Québec, Canada

2. Centre de référence Adulte de la Mucoviscidose, Service de médecine interne, Hospices civils de Lyon, F-69495 Pierre Bénite, France Université de Lyon, Équipe d'Accueil Health Services and Performance Research (HESPER) 7425, F-69003 Lyon, France

3. Institut de Recherches Cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada

McGill University, Department of Experimental Medicine, Faculty of Medicine, Montréal, Québec, Canada

4. Centre de référence Adulte de la Mucoviscidose, Service de médecine interne, Hospices civils de Lyon, Pierre Bénite, France

Université de Lyon, Équipe d'Accueil Health Services and Performance Research Lyon, France

5. Institut de Recherches Cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Université de Montréal, Départements de nutrition, Faculté de Médecine, Montréal, Québec, Canada

Cystic Fibrosis Clinic, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

To the Editor:

We read with great interest the recent article by Gilmour et al that proposed a stepwise approach to simplifying cystic fibrosis (CF)-related diabetes (CFRD) screening (1). Because of the very high frequency of CFRD (prevalence increases from 10% in childhood to nearly 50% in adulthood), its association with adverse clinical outcomes (weight and/or lung function loss as well as early mortality) and the low sensitivity of simple screening methods (e.g. glycated hemoglobin [A1C] levels), annual oral glucose tolerance tests (OGTTs) are recommended (2,3). However, OGTTs add to the already high CF care burden and are criticized by both patients and health-care teams as unpleasant and inconvenient tests. Indeed, screening rates remain below 50% in most centers (4,5). To reduce the number of required tests, Gilmour et al proposed undertaking OGTT screening only in patients with A1C levels above 5.4%. According to Gilmour et al., in 295 patients with CF, using A1C levels as the first step would reduce the number of required OGTTs by 36.7%, and this strategy would still find 91.8% of patients with *de novo* CFRD. An essential step to validate this elegant strategy is external validation.

We undertook a similar analysis in the GLYCONe database, regrouping the OGTTs of 345 patients with CF and their concomitant A1C values from Lyon, France and Montreal, Canada. The GLYCONe database includes patients from the Mucodata Cohort (Lyon, France) and from the Montreal CF Cohort (Montreal, Canada). In both centers, all adult patients without diabetes (18 years of age or older) participate in annual OGTTs upon arrival at the adult clinic. On the day of the OGTT, clinical data, including pulmonary function, body mass index and A1C values, are measured (clinical parameters are shown in Table 1). When diabetes is diagnosed, patients are excluded from further annual CFRD screening programs and are referred to endocrinologists for monitoring and treatment of the glycemc excursions. In both databases, patients have similar genotype severity, sex ratio and age. All patients must be clinically stable for at least 1 month prior to and at the time of the OGTTs. Otherwise, the test is postponed. We used the OGTT as the standard screening method to evaluate A1C sensitivity and specificity at various thresholds and calculated 95% confidence intervals using the Clopper- Pearson method (Table 2). In this dataset, using the proposed 5.5% A1C threshold provides a sensitivity of 90.9% and a specificity of 29.7% to identify patients with *de novo* CFRD, reducing the number of required OGTTs by 23.5%.

Importantly, using this A1C threshold, 9.1% of patients with *de novo* CFRD would be missed (Table 2). A lower threshold ($\geq 5.4\%$) would allow finding 94.5% of patients with *de novo* CFRD but would reduce required OGTTs by only 18.6% (Table 1).

Although our results do not allow such a large OGTT testing reduction as that suggested by Gilmour et al (23.5% vs. 36.7%), our analysis reinforces the evidence that a stepwise approach probably significantly reduces the number of required OGTTs. Similar to the observations of Gilmour et al observed in Toronto, 47.2% of patients in Montreal attended their annual OGTTs in 2016 (48.5% in Toronto). Of the absent patients, 35.1% called to cancel or reschedule their tests, and 64.9% did not appear for their appointments (data not available for French patients) (4). These particularly low participation rates reinforce our research objective of finding ways of reducing this burden on patients. In addition, because patients with CF perform several routine blood tests every year, it would be possible to undertake A1C testing twice a year and send the patients for OGTTs as soon as their A1C values rise above 5.4%. Such a strategy would probably allow for diagnosing the few missed patients with *de novo* CFRD in a reasonable time frame and with minimal risk that such patients would be exposed to unacceptable risks.

The proposed stepwise approach of scheduling OGTTs if the A1C values are $\geq 5.5\%$, with a reduction in the number of required OGTTs, is now validated in 2 different datasets, providing substantial evidence that it is valid. Awaiting evidence-based data about numerous issues related to CFRD screening (e.g. usefulness of continuous glucose monitoring, possible CF-specific diagnosis thresholds, etc.), this new approach should translate into a simplification of CF management and cost reductions.

Author Disclosures

Dr. Rabasa-Lhoret reports a grant from Cystic Fibrosis Circle of Care (Vertex). No other authors have any conflicts of interest to disclose. This study was supported by a grant from Cystic Fibrosis Canada.

References

- [1] 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* 2018. In press, <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2018.04.008>.
- [2] Boudreau V, Coriati A, Desjardins K, Rabasa-Lhoret R. Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes. *J Cyst Fibros* 2016;15:258–60.
- [3] Moran A, Brunzell C, Cohen RC, 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;33:2697–708.
- [4] Boudreau V, Reynaud Q, Dubois CL, et al. Screening for cystic fibrosis-related diabetes: Matching pathophysiology and addressing current challenges. *Can J Diabetes* 2016;40:466–70.
- [5] Kern AS, Prestridge AL. Improving screening for cystic fibrosis-related diabetes at a pediatric cystic fibrosis program. *Pediatrics* 2013;132:e512–8.

Table 1. Characteristics of the patients in the GLYCONE database on the day of the OGTT

	GLYCONE cohort (N= 345)
Age (years)	24.6 ± 6.5
Sex (% of women)	42.6
Genotype (%)	
Homozygous dF508	56.3
Heterozygous dF508	35.9
Other	7.3
Pulmonary function (FEV1%)	66.2 ± 21.6
Body mass index (kg/m ²)	20.9 ± 2.6
Incidence of CFRD (%)	15.9
A1C (%)	5.8 ± 0.5

Abbreviations: A1C, glycated hemoglobin; CFRD, cystic fibrosis-related diabetes; FEV1, forced expiratory volume in 1 s (predicted value in %); OGTT, oral glucose tolerance test. Note: Variables are expressed as mean \pm standard error, except for categorical variables, which are expressed as percentages (%).

Table 2. Sensitivity and specificity of A1C levels to screen for CFRD

A1C	No. true-positive	No. true-negative	No. false-positive	No. false-negative	Sensitivity (%)	Specificity (%)
5.5	50	76	214	5	90.9 (95% CI: 79.3–96.6)	26.2 (95% CI: 21.3–31.7)
5.6	48	101	189	7	87.3 (95% CI: 74.9–94.3)	34.8 (95% CI: 29.4–40.6)
5.7	44	122	168	11	80.0 (95% CI: 66.6–89.1)	42.1 (95% CI: 36.4–48.0)
5.8	42	153	137	13	76.4 (95% CI: 62.7–86.3)	52.8 (95% CI: 46.8–58.6)
5.9	40	189	101	15	72.7 (95% CI: 58.8–83.5)	65.2 (95% CI: 59.3–70.6)

Abbreviations: A1C, glycated hemoglobin; CFRD, cystic fibrosis-related diabetes. Notes: Number of results obtained to screen for CFRD in 345 adult patients with cystic fibrosis according to differing A1C thresholds. Sensitivity and specificity are presented as percentages (%), and 95% confidence intervals were calculated using the Clopper-Pearson method.

Article 8 - What is the real usefulness of glycated hemoglobin levels for diabetes screening in patients with cystic fibrosis?

Éditorial publié dans Canadian Journal of Diabetes (2019) 43; 1-2

Editorial

What is the real usefulness of glycated hemoglobin levels for diabetes screening in patients with cystic fibrosis?

Valérie Boudreau RD, MSc¹, Quitterie Reynaud, MD², Rémi Rabasa-Lhoret, MD, PhD³

1. Institut de Recherches Cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Université de Montréal, Département de nutrition, Faculté de Médecine, Montréal, Québec, Canada

2. Centre de référence Adulte de la Mucoviscidose, Service de médecine interne, Hospices civils de Lyon, Pierre Bénite, France

Université de Lyon, Équipe d'Accueil Health Services and Performance Research, Lyon, France

3. Cystic Fibrosis Clinic, Centre Hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Institut de Recherches Cliniques de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Université de Montréal, Départements de nutrition, Faculté de Médecine, Montréal, Québec, Canada

Editorial

Cystic fibrosis (CF) is the most common lethal autosomal recessive disease in Caucasians (1 in 3,800 births). CF is characterized by viscous mucus accumulation in various organs. The most important are the lungs, but it also occurs in multiple other organs, including the pancreas, which leads to both exocrine and endocrine deficiencies (1). Because of improved care, the life expectancy of patients with CF has increased significantly; they have a median life expectancy of more than 50 years in Canada (2). Accordingly, CF-related diabetes (CFRD), for which the main risk factor is age, has become the most common secondary complication of CF. By 10 years of age, 10% of patients already have CFRD; in adulthood, CFRD affects 40% to 50% of patients with CF, and another 35% have abnormal glucose tolerance (1). CFRD is a specific form of diabetes, but it shares some of the characteristics of type 1 (e.g. it occurs at a young age in mostly slim patients and includes a very significant, but not total, insulin-secretion deficit) and of type 2 diabetes (e.g. a long phase of postprandial glucose intolerance preceding diabetes onset). CFRD is associated with significant complications, including the classic microvascular complications of diabetes. CFRD is also associated with a higher risk for accelerated weight loss and reduced lung function, both translating into an increased risk for early mortality. In addition, symptoms associated with diabetes onset (e.g. fatigue, weight loss) can easily be confounded with symptoms of CF. In order to prevent the major complications associated with CFRD, annual screening is recommended (1). Classic methods for diagnosis, such as fasting blood glucose and glycated hemoglobin (A1C) levels, may be less sensitive in patients with CF than in the general population. For this reason, the recommended screening test for CFRD remains an annual oral glucose tolerance test (OGTT) starting at 10 years of age. However, OGTTs add to the burdens for both patients and CF health-care teams (OGTT duration, required materials, etc.) in an already extremely complex disease-management program. These barriers are reflected by low adherence to OGTT screening; an attendance rate of approximately 50% for planned OGTTs, even in large and experienced centers (2,3). Several factors may explain such low participation rates for this test, including postponement due to the presence of pulmonary exacerbation or to medications' interfering with glucose tolerance (e.g. steroids); the lack of interest in or aversion to the test; and the fear of a diagnosis of diabetes.

The OGTT has been identified as an important barrier, so active research is ongoing to replace or simplify the OGTT. Because A1C is convenient (nonfasting, single blood draw that is easy to combine with other laboratory tests required for CF monitoring), most teams have tried to compensate for the lower sensitivity by proposing a lower CF-specific A1C threshold for the diagnosis of CFRD. Indeed, rather than the 6.5% threshold used to diagnose for type 2 diabetes, an A1C threshold reduced to 5.8% for patients with CF has shown a sensitivity between 68.2% and 90.0% for CFRD diagnosis which, in our opinion, is an unreliable strategy for replacing the OGTT (2,4). However, rather than the low correlation observed between capillary blood glucose and A1C levels for patients with CF, a recently published study using continuous glucose monitoring reported a strong correlation between A1C and mean blood glucose levels as well as the percentage of time above 11.1 mmol/L compared with previous reports, suggesting that A1C levels could possibly capture dysglycemia, even for patients with CF (5). Still, for patients with CF, a clear CFRD diagnosis during an OGTT can contrast with a very low value for A1C levels, leaving clinical teams with an important diagnostic dilemma. A possible explanation is that OGTT and A1C levels are 2 very different markers of glucose intolerance: 1 shows glucose tolerance over a single glucose challenge, and the other shows the average blood glucose over the past 3 months. Thus, A1C levels are an appealing and practical measure, but they still lack sufficient sensitivity to replace OGTT for patients with CF.

In this issue of the Canadian Journal of Diabetes, Gilmour et al (3) have approached the use of A1C levels to diagnose CFRD from a different and elegant angle. They propose a stepwise approach, using A1C levels to reduce the number of required OGTTs. In 295 adult patients with CF for whom 717 concomitant OGTTs and A1C tests were available, using an A1C threshold of 5.5%, the research team observed that 91.8% of patients with CFRD were, indeed, found to have a specificity of 34.1%. They concluded that by not referring patients for OGTTs if they have A1C levels lower than 5.5%, it is possible to reduce the number of OGTTs by 36.7%. Therefore, using biannual A1C measurements and referring patients for OGTTs if their A1C levels are above 5.5% and/or if clinical evolution is suggestive of CFRD (e.g. unexplained weight and/or lung function) could be a practical approach to screening for CFRD and should minimize the risk for missed diagnoses.

Reducing the number of OGTTs performed annually has important implications for both patients and health-care teams by reducing, for example, burdens on the patients, required time, human resources and possible risk for bacterial contamination between patients. This approach will also allow refocusing available resources so as to increase actual screening rates and allow patients to have a better understanding of the importance and implications of CFRD.

Gilmour et al are proposing an easy way to simplify CFRD screening for patients and health-care teams. They have refocused the debate using A1C levels as a way to reduce the number of required OGTTs, rather than the ongoing debate opposing these 2 different measures of glucose tolerance. Although their findings are interesting and may provide a practical approach to CFRD screening, external validation of this approach is essential before this stepwise strategy can be recommended.

Author Disclosures

Conflicts of interest: None.

References

- [1] Moheet A, Moran A. CF-related diabetes: Containing the metabolic miscreant of cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2017;52:S37–43.
- [2] Boudreau V, Reynaud Q, Dubois CL, et al. Screening for cystic fibrosis-related diabetes: Matching pathophysiology and addressing current challenges. *Can J Diabetes* 2016;40:466–70.
- [3] 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;43:13–8.
- [4] Boudreau V, Coriati A, Desjardins K, Rabasa-Lhoret R. Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis-related diabetes. *J Cyst Fibros* 2016;15:258–60.

[5] Chan CL, Hope E, Thurston J, et al. Hemoglobin A1c accurately predicts continuous glucose monitoring-derived average glucose in youth and young adults with cystic fibrosis. *Diabetes Care* 2018;E-pub ahead of print.

Chapitre 5 – Discussion

Sommaire des résultats

Dans la population sans FK, le traitement du diabète vise principalement à réduire le risque de complications micro et macro-vasculaires. Ainsi, les seuils diagnostiques des tests de dépistage sont établis en fonction du risque de complications micro-vasculaires (100). Pour les patients atteints de FK, il est connu que l'hyperglycémie est associée à un risque plus important de moins bonne fonction pulmonaire, de perte de poids et de mortalité précoce (83). Par ailleurs, la pathophysiologie de la survenue du DAFK, mais aussi des complications associées aux anomalies de la glycémie en FK ne sont pas bien connues (38). Les objectifs principaux des travaux présentés dans cette thèse de doctorat sont de: 1) Mieux comprendre la pathophysiologie du DAFK; 2) Mieux comprendre son impact clinique; pour 3) Optimiser le dépistage en fonction des hyperglycémies cliniquement significatives.

Les travaux du premier volet concernent l'étude des causes des hyperglycémies qui sont associées à un impact clinique négatif en FK, soit sur le poids ou l'IMC et la fonction pulmonaire. Les études de ce premier volet visent à mieux comprendre la pathophysiologie du DAFK, notamment en établissant le rôle de la résistance à l'insuline comme cause possible de la survenue du diabète. Bien qu'il soit bien établi que la cause principale de ce diabète soit une baisse marquée de la sécrétion de l'insuline, le rôle additionnel de la résistance à l'insuline n'a pas été bien exploré (38). Dans un contexte de sécrétion d'insuline très limité, il est possible qu'une variation même modeste de la résistance à l'insuline se traduise par une variation importante de la tolérance au glucose. De plus, les patients atteints de FK ont de multiples causes possibles de résistance à l'insuline dont les surinfections (103).

Dans un premier temps, nous montrons qu'une proportion très importante des patients de notre cohorte (près de la moitié) changent de catégorie de tolérance au glucose sur 2 ans (135). De façon surprenante, la sécrétion d'insuline est basse mais demeure inchangée, alors que nous observons une variation dans la résistance à l'insuline qui est associée tant à une amélioration de la tolérance au glucose (réduction de la résistance), qu'à une dégradation de la

tolérance au glucose (aggravation de la résistance). Ainsi, la résistance à l'insuline pourrait être présente avant la survenue du DAFK et avoir un impact significatif sur la tolérance au glucose. Cette observation ouvre la porte à l'utilisation de molécules visant à améliorer la résistance à l'insuline dans les choix thérapeutiques pour contrôler l'hyperglycémie.

Dans un deuxième temps, une première étude portant sur la cohorte canado-française GLYCONe, établie dans le but d'étudier l'impact clinique de l'hyperglycémie à 1-h de l'HGPO, a été publiée (136). En effet, plusieurs études transversales ont montré que les patients avec une glycémie élevée à 1-h de l'HGPO ont une moins bonne fonction pulmonaire et que les patients qui ont une insulïnémie plus faible au même temps ont un poids plus faible (108). Notre étude montre que les patients canadiens ont une meilleure fonction pulmonaire, une meilleure sécrétion d'insuline et un poids plus élevé, même si la prévalence de diabète et de pré-diabète est beaucoup plus grande que celle de la population française. Ainsi, malgré un statut clinique plus favorable, les patients canadiens ne semblent pas protégés de la survenue du DAFK. De façon intéressante, le déclin de la fonction pulmonaire sur 4 ans entre les groupes de tolérance au glucose (glycémie à 1-h \geq ou $<$ 11,1 mmol/L) et entre les cohortes (France vs Canada) n'est pas différent. Une étude subséquente (données non publiées) sur cette même cohorte canado-française montre que la glycémie élevée à 1-h de l'HGPO n'est pas associée à la fonction pulmonaire sur 4 ans et qu'une sécrétion d'insuline plus faible à ce même temps de l'HGPO ne permet pas d'observer une perte de poids sur les 4 années suivantes non plus. Au contraire, les patients des deux cohortes tendent à gagner du poids avec les années, peu importe leur sécrétion d'insuline.

En résumé, ces travaux confirment que :

- 1) La résistance à l'insuline pourrait avoir un impact dans l'évolution de la tolérance au glucose en FK (135),
- 2) La glycémie à 1-h ne semble pas associée à l'évolution du statut clinique de nos patients adultes sur 4 ans (136). Toutefois, puisque la glycémie à 1-h est associée à une fonction pulmonaire plus basse à l'inclusion, un impact plus tôt dans la vie des patients n'est pas exclu.

- 3) Les taux beaucoup plus élevés de DAFK dans la population canadienne malgré un statut clinique plus favorable que dans la population française va à l'encontre de l'idée généralement acceptée qu'un poids et une fonction pulmonaire plus élevés protègent du DAFK (136).
- 4) L'insulinémie à 1-h de l'HGPO ne corrèle pas non plus avec l'évolution de la fonction pulmonaire, ni avec celle du poids (manuscrit soumis).

Les travaux du deuxième volet concernent les méthodes de dépistage du DAFK. Une revue de la littérature confirme que, dans l'état actuel des connaissances, le test de dépistage standard doit demeurer l'HGPO malgré certaines problématiques qui y sont associées (91). Les autres mesures et les seuils diagnostiques utilisés pour les autres formes de diabète tels que l'HbA1c ou la glycémie à jeun manquent de sensibilité lorsqu'elles sont utilisées dans une population atteinte de FK. Enfin, d'autres marqueurs prometteurs tels que les temps intermédiaires de l'HGPO ou l'hyperglycémie lors d'une surveillance en continu de la glycémie (SCG) n'ont pas encore fait leurs preuves. Un test idéal devrait être simple, peu coûteux et capturer à la fois le risque ultérieur ou le diagnostic de DAFK, mais aussi identifier les patients plus à risque de déclin accéléré de la fonction pulmonaire et du poids (91).

Pour le diagnostic du DAFK, certaines équipes ont proposé qu'une mesure simple, comme l'HbA1c, pourrait être utilisée avec un seuil plus bas spécifiquement pour la population atteinte de FK. Ainsi, une étude récente suggère que l'HbA1c $\geq 5.8\%$ permet d'identifier les patients diabétiques avec une sensibilité de plus de 90% (115). Une étude similaire dans notre cohorte montre que cette sensibilité chute à 68,2% lorsqu'un nombre plus important de patients diabétiques est inclus, confirmant la faible sensibilité de l'HbA1c pour cibler les patients atteints de DAFK (137).

Un autre article revient sur une étude concluant que l'HGPO n'est pas assez sensible pour trouver les excursions glycémiques observées lors de la SCG et que l'indice à jeun de la fonction de la cellule β (HOMA- $\beta\%$) permet de trouver avec une sensibilité de plus de 90% les patients diabétiques (138). Un indice simple pourrait permettre de réduire le nombre total de tests de

dépistage requis annuellement. Toutefois, nous croyons que les excursions glycémiques trouvées à la SCG ne constituent pas un diagnostic de DAFK et ne peuvent être le test standard à utiliser comme comparatif dans les études. D'autre part, dans notre cohorte montréalaise, l'HOMA-IR nous permet de trouver les patients diabétiques avec plus de sensibilité (plus de 90%) que l'HOMA- β % (139).

Finalement, notre éditorial revient sur le besoin de simplifier le test de dépistage du DAFK et d'en réduire le nombre requis annuellement. Pour se faire, des indices plus simples tels que l'HOMA- β %, l'HOMA-IR et l'HbA1c réduits peuvent être intéressants pour construire un arbre décisionnel de dépistage qui cible uniquement les sujets les plus à risque (140). La SCG est intéressante, car parmi les multiples nouveaux paramètres glycémiques que ce test permet d'établir, certains pourraient permettre le diagnostic du DAFK, alors que d'autres pourraient être associés au statut clinique en FK et donc identifier les sujets à risque de déclin pulmonaire et/ou pondéral défavorable. Toutefois, des études robustes (prospectives observationnelles sur de grands groupes) sont requises. Entre-temps, nous suggérons que l'HGPO demeure le test standard chez les adultes atteints de FK (91, 137-140). De plus, les données obtenues dans les articles présentés dans le premier volet de cette thèse incitent à moduler le message simpliste qui identifie la présence d'une dysglycémie à un risque systématiquement accru d'évolution défavorable du poids et/ou de la fonction pulmonaire (136, 141).

Pathophysiologie du DAFK

Il est généralement accepté que la première cause du DAFK est une réduction très importante et progressive de sécrétion d'insuline suite aux dommages du pancréas exocrine, puis endocrine (95). Toutefois, les facteurs qui mènent à la perte de sécrétion d'insuline ne sont pas tous connus, d'autant plus que la plupart des patients ont une réduction marquée de la sécrétion d'insuline, sans pour autant tous devenir diabétiques (38). Il a été montré que, même chez les patients atteints de FK qui ont une tolérance normale au glucose, la sécrétion d'insuline est plus faible que celle de la population générale (93). Les résultats de ces travaux démontrent que la sécrétion d'insuline à elle-seule ne peut expliquer le développement du DAFK. D'abord, certains patients qui maintiennent une même sécrétion d'insuline sur près de deux ans changent de tolérance au

glucose sur cette même période de temps. Ensuite, les patients canadiens sont plus nombreux à être pré-diabétiques ou diabétiques, même si leur sécrétion d'insuline est plus favorable que celle des patients français. Par ailleurs, les patients qui ont une mutation sévère du CFTR sont plus susceptibles de changer de tolérance au glucose dans le temps. Ainsi, le gène CFTR pourrait être impliqué dans la tolérance au glucose. À ce jour, il a été montré que le canal CFTR est peu exprimé dans les cellules α et β . Ainsi, il est difficile d'établir un lien de causalité direct entre l'altération du CFTR et le risque de développer le DAFK. Ce risque pourrait être indirect, puisque les patients avec les formes les plus sévères de mutation du gène CFTR sont beaucoup plus à risque d'insuffisance pancréatique exocrine et que les patients qui ont une insuffisance pancréatique exocrine sont beaucoup plus à risque de développer le DAFK. Cette théorie a été rapportée dans la littérature sous forme de l'*hypothèse des dommages collatéraux (collateral damage hypothesis ou bystander hypothesis)* (38, 95). À la fin de la première année de vie, 85% des patients atteints de la FK ont une insuffisance pancréatique exocrine (142). De façon générale, ces patients ont deux mutations sévères du CFTR. Ces patients sont aussi ceux qui risquent le plus de développer le DAFK avec le temps. Toutefois, la survenue du DAFK dans le temps est difficile à prévoir, même pour les patients les plus sévèrement atteints de la maladie. Environ 20% des patients atteints de la FK développent le DAFK entre 10 et 20 ans, et la moitié le développe avant 50 ans. Toutefois, lorsque les patients sont stratifiés selon la sévérité du génotype chez plus de 660 patients américains, il est possible d'observer que 80% des patients avec une mutation modérée n'ont toujours pas développé le diabète à 50 ans, alors que cette proportion chute à 20% des hommes avec une mutation sévère et entre 10 à 15% des femmes avec une mutation sévère (80, 90). Toujours selon cette classification en fonction de la sévérité du génotype, environ 50% des patients atteints sévèrement auront développé le DAFK à 30 ans. Ainsi, bien que la sévérité du génotype soit le facteur le plus important dans le développement du DAFK, le moment de son apparition demeure difficile à prévoir. Ceci signifie que d'autres facteurs peuvent influencer la survenue du DAFK. Parmi ces facteurs, la résistance à l'insuline, le sexe féminin, certains gènes modificateurs associés soit à la fonction du gène CFTR ou au diabète de type 2 (TCF7L2, CDKN2A/B, CDKAL1 et IGF2BP2) et un statut clinique défavorable (poids et fonction pulmonaire) ont été rapportés dans la littérature scientifique (38, 96, 97).

D'autres auteurs suggèrent que, malgré une atteinte importante du pancréas endocrine avec le temps, plusieurs patients ont des mécanismes compensatoires qui permettent d'éviter ou de retarder l'apparition du DAFK. Ainsi, bien que 85% des patients aient une insuffisance pancréatique à 1 an de vie, certains mécanismes retarderaient l'apparition du DAFK. Les mécanismes compensatoires de la cellule β pourraient expliquer le fait que certains patients atteints d'une mutation sévère ne développeront jamais le DAFK et que, pour un niveau de destruction pancréatique similaire, certains patients ont le DAFK (38, 142). Toutefois, les dépôts de plaques amyloïdes semblables à celles observées dans le diabète de type 2 corrént avec la présence de DAFK (38, 90). Dans nos études, tous les patients sont des adultes atteints de FK qui n'ont toujours pas développé le DAFK à l'inclusion. Plus de la moitié de ces patients ont un génotype dit sévère de la maladie. Ainsi, ces patients sont possiblement ceux qui ont su faire preuve de mécanismes de compensation pour retarder ou éviter la survenue du DAFK. Les patients inclus dans notre cohorte sont aussi généralement en relativement bonne santé (FEV1 médian de plus 70% dans la population canadienne et IMC de 21 kg/m²). Les patients de ces études sont donc des patients *survivants*, dans le sens où ils entrent à l'âge adulte sans avoir une atteinte respiratoire majeure et sans la présence de DAFK. Cette population est donc particulièrement utile pour étudier les mécanismes pouvant mener à la survenue du DAFK à l'âge adulte. Par ailleurs, puisque les patients de la première étude changent de tolérance au glucose dans le temps sans que leur sécrétion d'insuline ne soit affectée, il nous apparait évident que certaines autres composantes dont la résistance à l'insuline sont impliquées également. Une étude de Scheuing et al. (109) parue en 2014 montrait déjà une variabilité importante dans la tolérance au glucose chez plus de 1000 personnes atteintes de la FK. La variabilité glycémique à l'HGPO était de 1,5 à 1,8 fois plus grande que celle de la population générale. Des 41,2% des patients identifiés comme étant diabétiques, 21,7% revenaient à une tolérance normale à un test subséquent. Selon ces auteurs, certains patients peuvent ne pas être cliniquement stables au moment du test et un ajustement dans la prise d'enzymes pancréatiques entre les deux tests par certains pourrait expliquer cette grande variabilité (109). Dans notre étude chez 152 patients adultes, nous observons que les patients qui changeront de tolérance au glucose dans le temps, tant positivement que négativement, sont ceux qui avaient déjà une première phase de sécrétion

d'insuline plus faible à l'inclusion. Ainsi, l'une des hypothèses principales qui ressort de nos travaux est que les personnes de notre cohorte ont atteint une sécrétion d'insuline quasi-maximale, et que dans ce contexte, une variabilité de la résistance à l'insuline a le potentiel de changer significativement la réponse à l'hyperglycémie. Certains auteurs ont également émis l'hypothèse que cette variabilité pouvant entraîner des hyperglycémies plus ou moins fréquentes pouvait amener, en présence d'une résistance à l'insuline, à une glucotoxicité qui peut aggraver la sécrétion de l'insuline et ainsi l'apparition du DAFK avec le temps. Cette glucotoxicité pourrait aussi avoir un impact direct sur la fonction pulmonaire, mais aussi possiblement sur la résistance à l'insuline (38, 143).

Présence de la résistance à l'insuline en FK

La première étude de cette thèse montre que la sécrétion d'insuline est maintenue sur plus de 2 ans chez notre population adulte. Toutefois, une modification de la sensibilité à l'insuline peut influencer la tolérance au glucose.

D'autre part, bien qu'il soit généralement accepté qu'un poids et une fonction pulmonaire plus faibles corrélerent avec un risque de DAFK plus grand (144), ceci ne semble pas s'appliquer à nos cohortes, puisque les patients canadiens sont plus souvent diabétiques malgré un meilleur statut clinique que les patients français (136). Ainsi, les patients de la cohorte canadienne sont plus résistants à l'insuline que les patients français, ce qui pourrait expliquer la détérioration de leur tolérance au glucose. Outre les hyperglycémies répétées pouvant affecter à la fois la fonction de la cellule β et la sensibilité à l'insuline, l'effet toxique de l'hyperglycémie pourrait favoriser la colonisation bactérienne pulmonaire et ainsi le nombre, l'importance ou la durée des périodes de surinfections, pouvant à leur tour contribuer à la résistance à l'insuline (38, 144). Certains médicaments dont les corticostéroïdes utilisés de façon aiguë ou chronique peuvent également amener une résistance à l'insuline importante (145, 146).

Une étude récente effectuée sur la fraction des patients les plus âgés (plus de 35 ans) de la cohorte MCFC, suivis pendant plus de 10 ans, montre que ces derniers tendent à gagner du poids de façon importante avec les années, tout en maintenant leur sécrétion d'insuline au même niveau pour toute cette période (130). Cependant, les excursions glycémiques d'un nombre

important de patients augmentent avec le temps. Pour expliquer ces hyperglycémies plus élevées, un besoin en insuline plus grand dû à un poids plus élevé ou à une résistance à l'insuline peuvent être en cause. Cette étude conforte notre hypothèse voulant que les patients atteints de FK sont le plus souvent au niveau maximal de leur sécrétion d'insuline, qui est très altérée comparativement aux personnes sans FK, et que dans ce contexte, une majoration même modeste de la résistance à l'insuline (surinfection, sédentarité, stéroïdes, etc.) peut se traduire par un impact significatif sur les glycémies. Toujours dans la cohorte MCFC (étude de *Bonhoure A et Boudreau V et al.* non-présentée dans le cadre de cette thèse), nous observons qu'avec le temps, le surpoids, l'obésité et l'obésité abdominale, même en contexte de poids normal, sont de plus en plus prévalant chez les patients atteints de FK (147). Par exemple, 12,1% des patients de la cohorte sont en surpoids ou obèses ($IMC > 27 \text{ kg/m}^2$) alors que 6,9% ont un IMC inférieur à $18,5 \text{ kg/m}^2$. Dès l'enfance, les recommandations nutritionnelles soutiennent une thérapie nutritionnelle intensive pour augmenter l'apport en énergie et surtout en lipides, qui sont combinés lorsque nécessaire à la prise d'enzymes pancréatiques. Le soutien nutritionnel par voie de nutrition entérale chez les enfants et les suppléments nutritionnels chez l'adultes sont fréquemment utilisés (41). Tel que mentionné plus tôt, les patients de la cohorte MCFC sont adultes, sans transplantation pulmonaire et sans DAFK à l'inclusion. Il s'agit donc de patients généralement en assez bonne santé, pour qui les recommandations nutritionnelles demeurent les mêmes que pour les patients beaucoup plus malades. Ainsi, l'alimentation riches en lipides, combinée à un mode de vie généralement sédentaire, pourraient avoir un impact en majorant la résistance à l'insuline (148, 149). Il est possible de croire que nos patients qui gagnent ou maintiennent un poids élevé tout au long de leur vie n'ont pas la capacité de majorer leur sécrétion d'insuline pour répondre à un besoin plus élevé en insuline, en raison de la résistance à l'insuline associée à la prise de poids. L'étude de notre groupe sur les patients en surpoids et obèses montre qu'on retrouve une meilleure fonction pulmonaire chez les patients avec un meilleur poids, mais avec un plateau lorsque l'IMC dépasser 27 kg/m^2 , suggérant que les bénéfices de la prise pondérale pour la fonction pulmonaire plafonnent lorsque les patients atteignent le surpoids (147). De plus, dans cette même étude, une prise pondérale de 10% ou plus est associée

à une majoration de la résistance à l'insuline et à une tendance défavorable de facteurs de risque cardiométaboliques tels que la pression artérielle ou les triglycérides plasmatiques (147).

Une modalité importante pour réduire la résistance à l'insuline est l'activité physique régulière. La sédentarité des patients FK peut s'expliquer en partie par la charge médicale importante associée à la maladie et par les difficultés respiratoires. Toutefois, il a été démontré que, pour les patients qui vivent avec la FK, la pratique d'activité physique régulière contribue à augmenter la sensibilité à l'insuline, de façon similaire à ce qui est établi dans la population générale (125). De plus dans cette étude, l'amélioration de la résistance à l'insuline est associée à une réduction des excursions glycémiques après une charge en glucose. Parmi les autres perspectives pour réduire la résistance à l'insuline, nous pouvons citer : l'amélioration de la qualité nutritionnelle, par exemple en réduisant les apports en acides gras saturés, la réduction des hyperglycémies postprandiales répétées qui peuvent induire la glucotoxicité (Notre équipe a testé dans une étude non publiée l'impact d'un supplément de fibres soluble sans succès et teste actuellement l'impact d'une collation pré-repas, couplée ou non à de la marche en période postprandiale.) et des interventions pharmacologiques, parmi lesquelles la Metformine pourrait être la molécule à tester, car sa prise ne s'accompagne pas de perte de poids importante.

L'inflammation joue un rôle prédominant dans la progression de la maladie respiratoire en FK et entraîne des dommages structuraux irréversibles aux poumons. Les voies respiratoires des patients FK contiennent des neutrophiles et des médiateurs pro-inflammatoires qui peuvent également être associés à la résistance à l'insuline tels que : TNF- α , IL-1 β et IL-6 (150). L'inflammation aigüe puis chronique causée par les infections bactériennes à répétitions entraîne une activation du stress oxydatif, pouvant lui aussi mener à la résistance à l'insuline. Il a été montré que le stress oxydatif présent au niveau pulmonaire peut affecter d'autres organes, puisque certains marqueurs dont les produits de la peroxydation lipidique sont présents dans la circulation sanguine périphérique et même dans l'urine des patients FK (151, 152). L'hyperglycémie elle-même peut mener à une augmentation du stress oxydatif (153). L'augmentation du stress oxydatif pourrait affecter le RE et ainsi mener à une mort cellulaire. Avec un taux de synthèse protéique élevé, les cellules β sont particulièrement sensibles à ce stress (152, 154). Les protéines malformées de CFTR peuvent également s'accumuler au RE et accentuer

le stress oxydatif (155). Ainsi, l'inflammation et le stress oxydatif pourraient affecter tant la fonction de la cellule β que la résistance à l'insuline. Par ailleurs, l'inflammation chronique peut diminuer le cycle de vie des globules rouges et ainsi fausser l'interprétation de l'HbA1c, puisque certains patients auront une valeur faussement normale. Cette cascade d'inflammation et de stress oxydatif entraîne également la diminution des récepteurs de glucose à la surface des cellules (GLUT4) suite à une sécrétion d'insuline. Il a même été observé que la translocation du GLUT4 à la surface cellulaire est généralement réduite chez les personnes atteintes de FK par rapport à celle de la population générale (152). Ainsi, ces patients seraient particulièrement à risque de développer une résistance à l'insuline. Des interventions portant sur certaines voies inflammatoires et/ou le stress oxydant ont donc le potentiel de réduire la résistance à l'insuline. Le choix des molécules à tester devra être réalisé avec soin, puisque par exemple, les stéroïdes sont des anti-inflammatoires puissants qui occasionnent une résistance à l'insuline. De plus en plus de médicaments disponibles ciblent avec beaucoup plus de spécificité certaines voies de l'inflammation, mais aucune n'a encore montré son efficacité en FK (67).

L'une des limites majeures des études de notre cohorte portant sur la résistance à l'insuline est que cette dernière n'est pas directement mesurée. Elle est plutôt estimée par une formule mathématique impliquant la glycémie et la concentration plasmatique d'insuline des différents temps de l'HGPO. Bien qu'elle ait l'avantage de ne pas être uniquement calculée à jeun, elle ne permet pas de mesurer directement la réponse à la sécrétion d'insuline comme le ferait un clamp euglycémique-hyperinsulinémique (Botnia), la méthode de référence. Dans ce contexte, il ne nous est pas possible de savoir si la clairance de l'insuline par le foie (représentant 80% de la clairance) est modifiée en FK. Peu d'études récentes se sont penchées sur le sujet. Une étude de 20 patients ayant fait un clamp Botnia dans les années 1990 suggérait que les patients atteints de FK avaient une clairance de l'insuline plus élevée que celle de patients contrôles, diminuant ainsi la demi-vie de l'insuline active. Toutefois, il n'y avait pas de différence entre les patients diabétiques (n =10) et les patients avec une tolérance normale au glucose (n =10). Une étude similaire de la même année obtient les mêmes résultats et montre que la sensibilité à l'insuline est augmentée en FK pour contrebalancée la clairance augmentée (156, 157). Dans un contexte de clairance de l'insuline similaire selon le statut de tolérance au glucose en FK, il est probable

que la résistance à l'insuline calculée chez certains patients de nos études soit représentative de la réalité. Un clamp de type Botnia serait pertinent pour confirmer nos observations, mais ce test est limité par la lourdeur des procédures et l'étude de la résistance à l'insuline nécessite généralement de grands groupes de patients.

Contribution de la cohorte GLYCONE à l'avancée des connaissances

La cohorte canado-française GLYCONE a pour but d'étudier les mécanismes menant au DAFK et l'évolution clinique associée à la glycémie dans deux larges cohortes établies à Montréal (MCFC) et à Lyon (DIAMUCO). Dans cette cohorte, nous nous intéressons particulièrement à l'impact de la glycémie à 1-h de l'HGPO sur l'évolution des patients, puisque différents groupes de recherche dont les nôtres ont démontré par le passé que la glycémie à 1-h permet d'identifier des hyperglycémies précoces associables au déclin clinique (108, 144, 158, 159). Plusieurs équipes ont suggéré que les temps intermédiaires de l'HGPO (30, 60 et 90 minutes) sont plus spécifiques aux complications de la FK que la glycémie à 2-h classiquement utilisée (risque de rétinopathie)(144, 158, 160). Ainsi, la cohorte GLYCONE regroupe plus de 300 patients suivis sur plus de 4 ans, ceci en faisant la plus large cohorte au monde permettant d'étudier l'impact de l'hyperglycémie sur le statut clinique. Cette cohorte comble en partie les lacunes associées aux études sur les registres de patients FK : pas de collectes standardisées des données cliniques, peu de données glycémiques et manque de données concernant la sécrétion d'insuline et la sensibilité à cette dernière. Un travail minutieux de standardisation des données a été effectué afin de s'assurer de la comparabilité des données. Par exemple, tous les échantillons d'insuline des patients canadiens ont été mesurés à nouveau avec la même trousse que celle utilisée dans la cohorte française et toutes les valeurs de spirométrie prédites ont été recalculées selon la formule de Hankinson 1999 (FEV1%).

Les résultats sont particulièrement intéressants puisque qu'ils ne vont pas dans le sens du constat généralement accepté voulant que l'hyperglycémie soit fortement associée à un poids et à une fonction pulmonaire plus faible. La prévalence de diabète est plus de deux fois plus élevée dans la cohorte canadienne, malgré un IMC et une fonction pulmonaire plus élevés. À peine plus du tiers des patients canadiens (36,4%) ont une tolérance normale au glucose, tandis que plus de

la moitié des patients français (53,4%) sont dits NGT, malgré un âge et une sévérité génotypique similaires (136). D'autres part, autant dans une cohorte que dans l'autre, la glycémie exprimée par l'aire sous la courbe pendant l'HGPO complète n'est pas associée à la fonction pulmonaire, ni à son déclin sur 4 ans. Ainsi, contrairement à ce qui a été émis comme hypothèse, dans une population adulte, l'hyperglycémie ne semble pas avoir d'impact cliniquement significatif sur le statut clinique. Ce constat est peut-être toujours vrai chez les patients plus jeunes et plus malades. Nos patients étant plus âgés que ceux retrouvés dans la majorité des études, un effet de survivance est peut-être observé. Ceci concorde avec les conclusions du premier article de cette thèse et d'un autre article de *Colomba J et Boudreau V et al.* (étude non-présentée dans cette thèse) suggérant un mécanisme d'apparition du diabète différent chez une population adulte et en santé : la résistance à l'insuline (161).

Les patients de la cohorte canadienne sécrètent plus d'insuline, et ce, tout groupes de tolérance au glucose confondus. Ces derniers ont une meilleure sécrétion d'insuline, un poids plus élevé et une fonction pulmonaire plus élevée, suggérant que la sécrétion d'insuline élevée protège d'une perte de poids et permet de préserver la fonction pulmonaire, mais pourrait engendrer une résistance à l'insuline avec le temps, qui elle peut mener à la dégradation de la tolérance au glucose. Il a déjà été démontré qu'une sécrétion d'insuline élevée protège du catabolisme protéique et permet de préserver la fonction pulmonaire (86). La nutrition et la fonction pulmonaire sont inter-reliées. Un bon état nutritionnel augmente la capacité à réparer les lésions pulmonaires et à lutter contre les infections, alors que des infections multiples amènent une suppression de l'appétit et une augmentation des besoins énergétiques (162, 163). Il est possible de penser que, chez les patients de la cohorte canadienne, une diète riche en énergie et en lipides, combinée à un protocole intensif de supplémentation orale en enzymes digestives, peut engendrer une résistance à l'insuline avec le temps, expliquant ainsi une prévalence beaucoup plus élevée de DAFK, malgré une sécrétion d'insuline plus élevée que celle de la population française. Toutefois, des questionnements persistent, puisque les recommandations en termes de diète et de supplémentation d'enzymes pancréatiques sont similaires dans les deux pays. Nous avons donc émis l'hypothèse que la quantité d'enzymes pancréatiques prise par les patients de la population canadienne est plus grande (près des valeurs

maximales recommandées) et que la nutrition clinique intensive effectuée par les nutritionnistes-diététistes au Québec visant à augmenter ou à maintenir une diète très élevée en énergie et en lipides ont un impact clinique significatif. Il n'est pas possible d'évaluer cette hypothèse actuellement, mais une future collecte de données alimentaires et de prise d'enzymes devrait nous permettre de le faire (discussions et demandes de financements en cours).

Alors que le premier article de la cohorte GLYCONE visait avant tout à caractériser les patients et la relation entre l'hyperglycémie et le statut clinique, le deuxième article visait plutôt à étudier l'impact de la glycémie et de l'insulinémie à 1-h de l'HGPO sur l'évolution du statut clinique sur 4 ans. Dans cette étude, nous observons que 42% des patients ont une hyperglycémie diabétique à 1-h de l'HGPO. Toutefois, cette hyperglycémie n'est pas associée à la fonction pulmonaire, ni même à son déclin sur 4 ans, alors que de nombreuses études transversales ont observé ce phénomène. Dans une étude de *Hameed et al.*, l'hyperglycémie maximale observée pendant l'HGPO corrèle bien avec la fonction pulmonaire chez les enfants et les adolescents atteints de FK. Les patients adultes de notre étude semblent avoir une fonction pulmonaire plus faible à l'inclusion lorsque la glycémie à 1-h de l'HGPO est élevée (non significatif), suggérant que l'effet direct de la glycémie sur la fonction pulmonaire s'observe plus tôt dans la vie. Il est possible que certains patients confirmant cette théorie aient été exclus plus tôt dans leur vie, soit parce qu'ils ont développé le DAFK ou une insuffisance pulmonaire nécessitant une transplantation. Dans un deuxième temps, les patients ont été stratifiés en fonction de la médiane de sécrétion d'insuline, toujours à 1-h de l'HGPO. Bien qu'une sécrétion d'insuline plus grande fût associée à un poids plus élevé à l'inclusion, il n'y avait pas d'effet à long terme sur ce dernier. De façon surprenante, les patients des deux cohortes tendent à gagner du poids avec les années, peu importe la classification de sécrétion d'insuline. Nous avons donc à faire à une population de FK particulière, dans le sens où les patients peuvent gagner du poids tout en détériorant leur tolérance au glucose. Il est possible que le paradigme de la perte de poids quelques années avant la survenue du DAFK ne s'applique pas à une population adulte relativement en santé. Nous croyons donc que les patients adultes de ces cohortes maintiennent une sécrétion d'insuline suffisamment importante pour se protéger d'un catabolisme protéique. Ainsi, la détérioration du poids et de la fonction pulmonaire classiquement associée au DAFK n'est pas aussi évidente chez

les adultes que chez les enfants. Ceci explique en partie le statut clinique plus favorable des canadiens malgré une tolérance au glucose plus faible, mettant en évidence le rôle de la résistance à l'insuline avec le temps une fois de plus.

Dépistage du DAFK

Le test de dépistage actuel est l'HGPO de deux heures avec 1,75g de glucose par kg de poids corporel pour un maximum de 75g. Il s'agit du test utilisé dans le dépistage du diabète de type 2 également. Il a été démontré que ce test permet d'identifier les excursions glycémiques augmentant les risques de complications micro-vasculaires, principalement la rétinopathie (100). Il a également été démontré qu'un dépistage et un traitement rapide du DAFK a un impact positif sur les paramètres cliniques de la FK (107). Ainsi, il est pertinent de recommander un test annuel dès l'âge de 10 ans. Toutefois, la littérature scientifique et notre revue de la littérature scientifique relatent certaines problématiques entourant ce test dépistage (91, 110).

D'abord, bien que ce test soit basé sur le risque de complications micro-vasculaires associées au diabète de type 2 (100, 101), les patients qui ont le DAFK n'ont généralement aucune complication micro-vasculaire, tant et aussi longtemps que la glycémie à jeun demeure normale. Chez les personnes avec DAFK et une hyperglycémie à jeun, 55% auraient une neuropathie, 50% une gastropathie, 16% une rétinopathie et 14% une microalbuminurie (80, 164). Toutefois, il est rare de trouver une hyperglycémie à jeun chez les patients avec un diabète *de novo*. Ainsi, le test classique de dépistage ne cible probablement pas les bonnes complications reliées à la FK.

Dans ce contexte, les hyperglycémies aux temps intermédiaires de l'HGPO ont été suggérées pour un dépistage tenant mieux compte du profile glycémique lors de l'HGPO et des complications propres à la FK (144, 158, 160). De nombreux groupes de recherche dont le nôtre ont montré qu'une hyperglycémie aux temps intermédiaires de l'HGPO est mieux associée au risque de risque de déclin du poids et de la fonction pulmonaire que les glycémies à la deuxième heure de l'HGPO (108, 144, 158, 160). Par ailleurs, ces hyperglycémies dites précoces peuvent survenir bien avant la survenue du DAFK. Il est donc possible de croire que la glycémie à 2-h de l'HGPO cible les patients diabétiques qui ont un problème de tolérance au glucose depuis un bon moment déjà. L'une des problématiques associées à un dépistage du DAFK via les hyperglycémies

transitoires lors de l'HGPO ou de la SCG est qu'une majorité de patients présente ce type d'hyperglycémie. Par exemple, une étude révèle que 50% des enfants de moins de 6 ans avec FK présentent déjà des anomalies de la tolérance au glucose pendant l'HGPO (80). Chez la population adulte, cette proportion est encore plus importante. Presque tous les patients adultes ont des anomalies de la tolérance au glucose à la SCG (122). Implanter un diagnostic précoce avec les hyperglycémies transitoires résulterait nécessairement en un nombre beaucoup plus important de cas de diabète, sans donner d'indication sur les patients pour lesquels un traitement pourrait être utile. Il importe donc de trouver les seuils qui sont associés au déclin clinique et le traitement pertinent de ses hyperglycémies, sans augmenter la lourdeur des traitements et des tests en FK. Une étude non publiée chez 15 patients atteints de la FK de notre cohorte montréalaise montre que 3 patients NGT à l'HGPO sur 5 présentent des valeurs $\geq 11,1$ mmol/L lors d'une période de SCG de 7 jours. Trois patients INDET sur 5 rencontraient également des valeurs associées au diabète (glycémie $> 11,1$ mmol/L), alors que tous les patients IGT ($n=3$) et avec DAFK *de novo* ($n=2$) avaient des hyperglycémies importantes pendant cette période. Dans ce contexte, seulement 4 patients de notre étude sur 15 ne rencontraient pas d'hyperglycémie associée au diabète pendant une période de 7 jours. Ces résultats préliminaires nous portent à croire qu'un seuil diagnostique établi à 11,1 mmol/L à la SCG amènerait le nombre de diagnostics de patients avec un diabète *de novo* à augmenter considérablement. D'autre part, certaines études ont rapporté que l'association de l'hyperglycémie avec la fonction pulmonaire survient bien avant le seuil critique de 11,1 mmol/L. Ce serait même à partir d'un seuil de 7,8 à 8,0 mmol/L que du glucose s'infiltrerait vers les poumons pour ainsi augmenter la colonisation bactérienne et les surinfections (144, 165). Une étude estime que le risque augmente lorsque les patients passent plus de 5% du temps à une glycémie $\geq 8,0$ mmol/L (144). Dans ce contexte, seulement 2 patients de notre étude préliminaire de la SCG ne seraient pas à risque de déclin clinique. Ainsi, nous pouvons estimer que d'abaisser le seuil diagnostique si bas aurait comme premier impact de trouver un diabète chez presque tous les patients adultes.

De nombreux patients refusent de se faire tester par peur du diagnostic de diabète, de l'HGPO ou tentent ainsi de retarder les multiples contraintes associées au diabète incluant l'auto-surveillance des glycémies et l'instauration d'un traitement à l'insuline. Une étude américaine

rapporte même un taux de présence de seulement 21% au test de dépistage annuel (166). L'alternative au test de dépistage doit donc tenir compte des craintes des patients et de la lourdeur des traitements médicaux. Une étude montréalaise qualitative publiée en 2016 fait état des préoccupations de certains patients par rapport à l'HGPO (111). Des patients rapportent ne pas vouloir être à jeun sur une longue période, ne pas apprécier la longueur du test, que ce test s'ajoute à d'autres tests à passer dans une même journée, ne pas aimer le goût du jus sucré (nausées et vomissements rapportés) ou ne pas se sentir particulièrement à risque d'avoir le diabète (111, 167). Plusieurs patients de l'étude rapportent également ne pas croire que le diabète est sérieux ou ne pas vouloir faire de modification à leurs traitements ou habitudes tant qu'ils ne ressentent pas de symptômes. L'étude américaine rapportant des taux de dépistage de 21% a mis en place un processus d'éducation et de sensibilisation à l'importance du dépistage du DAFK pour ensuite voir ses taux de dépistage augmenter à 71% (166). Il semble donc primordial de sensibiliser les patients aux impacts possibles du DAFK et à l'importance du test de dépistage.

L'une des autres problématiques de l'HGPO est la variabilité importante de l'excursion glycémique observée d'un test à l'autre pour un même patient, même si ces tests sont réalisés sur une courte période de temps, et ce, y compris pour la population générale. Une étude présentée dans cette thèse en fait part, en plus de plusieurs autres déjà publiées (109, 135). Par rapport à la population générale, la variabilité glycémique en FK serait jusqu'à 1,8 fois plus élevée (109). Les causes de cette variabilité sont mal-connues et peuvent être multiples. Par exemple, la vidange gastrique face à une solution très sucrée pourrait être variable (168). Dans le cadre de cette thèse, nous montrons qu'une variabilité dans la résistance à l'insuline peut avoir un impact significatif sur la tolérance au glucose (141). En FK, il est possible que d'autres facteurs puissent influencer la tolérance au glucose d'un test à l'autre tels que les habitudes de vie, les périodes de surinfections, le degré de malabsorption, etc. Parmi les nombreuses critiques de l'HGPO, notons que cette grande quantité de glucose consommée rapidement et à jeun n'est pas représentative des conditions physiologiques réelles, la durée de 2 heures n'est pas négligeable tant pour les patients que pour l'équipe traitante, ce test implique des coûts, elle ne capture pas toutes les hyperglycémies, ni les hyperglycémies chroniques comme l'HbA1c le fait, et que la variabilité est

importante pour plusieurs raisons (vidange gastrique, stress, activité physique, infections, etc.) (169, 170).

D'autres biomarqueurs ont été proposés pour dépister les patients atteints de DAFK ou pour tenter de diminuer le nombre d'HGPO requis annuellement. L'HbA1c est un marqueur sanguin facilement mesurable (pas besoin d'être à jeun) et peu coûteux. Elle est utile dans le dépistage et le suivi des diabètes les plus fréquents (types 1 et 2). Si son utilisation pour évaluer le contrôle du DAFK est possible, nos études et celles d'autres groupes montrent qu'elle est peu sensible pour dépister les DAFK *de novo* (91, 110, 137-139, 171). En abaissant le seuil normalement reconnu de dépistage du diabète, un nombre plus élevé de patient avec un DAFK *de novo* est trouvé. Toutefois, comme le test devient moins contraignant, la spécificité se voit affectée. Par exemple, dans notre cohorte, un seuil de 5,5% permet de trouver plus de 90% des patients diabétiques, mais la spécificité n'est que de 26,2 %. Ainsi, cette mesure pourrait permettre de sélectionner les participants qui doivent passer un test d'HGPO et diminuer le fardeau médical des patients qui pourraient repousser leur HGPO. En fonction des études, entre le quart et le tiers des patients pourraient ainsi repousser leur HGPO annuelle (134, 138). Puisque l'HbA1c se mesure facilement et que les personnes atteintes de DAFK passent des prises de sang régulièrement, il serait simple de suivre l'évolution de ce marqueur et de prescrire une HGPO de routine en cas d'augmentation de l'HbA1c. La fructosamine, qui serait moins sensible au renouvellement rapide de l'hémoglobine en FK comme l'HbA1c, a aussi été rapportée comme étant un marqueur corrélant très bien avec la glycémie chez une vingtaine de participants canadiens (116). Une étude préliminaire (non-publiée) incluant tous les patients de la cohorte montréalaise rapporte une corrélation très faible entre la glycémie et la fructosamine, sauf lorsque la glycémie à 2-h de l'HGPO se situe entre 15 et 20 mmol/L. Dans ce sens, tout comme l'HbA1c, la fructosamine semble s'élevée seulement lorsque l'hyperglycémie devient très importante. Une vaste étude pancanadienne incluant notre cohorte est en cours afin de déterminer l'utilité réelle de la fructosamine pour dépister le DAFK.

Cependant, que ce soit pour l'HbA1c ou encore la fructosamine, il est important de garder en tête leurs limitations, que ce soit de façon générale ou plus spécifiquement dans le contexte de la FK. De façon générale, le diabète est défini selon une hyperglycémie et non selon le niveau

de glycation protéique, qui peut être variable d'une personne à l'autre. Ces protéines capturent mal certaines anomalies physiologiques importantes dans la physiopathologie du diabète telles que les hyperglycémies postprandiales. Ces protéines sont moins bien associées au risque de complication cardiovasculaires que la glycémie à 2-h de l'HGPO. De plus, il existe des maladies (hémoglobinopathies pour l'HbA1c, certaines maladies hépatiques pour la fructosamine) et des situations (transfusion récente, anémie importante, etc.) dans lesquelles ces biomarqueurs ne sont pas fiables (169). Plusieurs de ces situations (hyperglycémies postprandiales, anémie, etc.) touchent particulièrement les patients atteints de FK et, comme nous l'avons mentionné plus haut, leur utilité et les seuils à utiliser en FK restent à établir.

Ainsi, bien que le test de dépistage actuel ne soit pas optimal pour plusieurs raisons, il n'est pas évident de trouver une alternative qui soit à la fois simple, peu coûteuse, qui capture les excursions glycémiques pertinentes associées à la FK et qui tient compte des variabilités glycémiques en FK. Idéalement, au-delà du diagnostic de diabète, ce test devrait trouver les patients à risque de déclin pulmonaire et/ou de poids qui sont les 2 éléments primordiaux associés à la survie. Des études prospectives sur un nombre important de patients sont nécessaires.

L'utilisation de la SCG et/ou des temps intermédiaires de l'HGPO pour trouver les patients diabétiques sont les options les plus étudiées actuellement. Toutefois, puisque chaque groupe de recherche utilise ses propres seuils et que les cohortes sont généralement petites, il n'existe aucun consensus concernant leur utilisation. Par ailleurs, les coûts et l'acceptabilité de la SCG par les patients demeurent à être évalués (91, 101). Développer un test qui permette de simplifier le diagnostic et de mieux identifier les patients à risque de complications spécifiques de la FK (perte de fonction pulmonaire et/ou de poids) devrait être une priorité, compte tenu des implications majeures que cela représente pour la prise en charge.

Forces et limites des études

L'une des principales forces de ces études repose sur le nombre important de patients inclus. La cohorte MCFC compte plus de 300 patients à ce jour, alors que la cohorte française en compte plus de 150. La FK étant une maladie rare, il est généralement difficile de recruter un grand

nombre de participants dans les études. L'autre particularité de ces cohortes est que tous les participants sont des adultes de plus de 18 ans. Ces patients sont généralement moins étudiés que les enfants et les adolescents atteints de la FK. Avec l'espérance de vie dépassant maintenant les 50 ans au Canada, ces patients adultes sont de plus en plus représentés dans les cliniques de FK. Notre groupe est parmi les premiers à s'intéresser à la relation entre les paramètres cliniques et la tolérance au glucose chez les patients plus âgés. D'autre part, notre cohorte observationnelle prospective permet de suivre les patients sur de nombreuses années (parfois plus de 10 ans). Il s'agit d'une cohorte très bien caractérisée et étudiée depuis de nombreuses années. La cohorte GLYCONE apporte un avantage particulier, puisqu'elle permet de valider des observations dans une autre large cohorte de patients adultes. Les patients français sont traités en fonction de lignes directrices en nutrition, prise en charge des complications de la maladie et de la fonction pulmonaire et du diabète très similaires. Ainsi, nous pouvons croire que les patients sont comparables entre eux et que la cohorte GLYCONE peut être étudiée comme un tout.

Toutefois, nos études comportent plusieurs limites. Tout d'abord, certaines études sont transversales, ce qui limite l'interprétation. Bien que plusieurs études soient prospectives, elles sont observationnelles et ne peuvent donc pas établir une relation de cause à effet. Les travaux de cette thèse ne comprennent pas d'études interventionnelles ou mécanistiques. Le type de population étudiée est aussi important. Bien que le nombre de patients adultes soit élevé, les observations ne sont probablement pas applicables aux patients plus jeunes ou très malades. Un effet de population *survivante* est possible, dans le sens où nos patients sont peut-être ceux qui n'ont jamais été les plus malades. Les patients qui ont eu une greffe pulmonaire, un diabète précoce ou qui sont décédés avant leur majorité, ne sont pas inclus dans ces études. Finalement, bien que les traitements et les systèmes de santé soient similaires entre la France et le Canada, les patients adultes ont des caractéristiques bien différentes à l'inclusion. Ainsi, il est possible que d'autres aspects soient à tenir en compte dans l'interprétation des paramètres cliniques tels que la génétique et les habitudes de vie différentes entre ces deux pays.

Perspectives sur la compréhension du DAFK et sur l'optimisation de son dépistage

La pathophysiologie du DAFK est encore mal-comprise. S'il est bien connu que la perte progressive de sécrétion d'insuline demeure la première cause de l'intolérance au glucose, le rôle de la résistance à l'insuline est controversé. Les travaux de notre groupe montrent que chez l'adulte, une résistance à l'insuline, même modeste, peut être responsable d'une modification significative de la tolérance au glucose. Dans ce contexte, des interventions basées sur la diète et l'activité physique pourraient avoir un impact positif sur la tolérance au glucose. Bien que la diète riche en gras soit souvent nécessaire en FK, la qualité des gras alimentaires pourrait être améliorée auprès des patients. D'autre part, une diète riche en fibres est connue pour aider à diminuer les excursions glycémiques. Cependant, une étude complétée mais non publiée par notre groupe n'a pas trouvé d'impact d'une intervention aigüe avec 2 doses de fibres sur l'excursion glycémique après le déjeuner. Au niveau de l'activité physique, il a été démontré que sa pratique régulière peut aider à augmenter la sensibilité à l'insuline tant chez les personnes diabétiques que chez les personnes atteintes de FK (125). La présence d'une résistance à l'insuline probablement variable et multifactorielle en FK pourrait également justifier l'instauration de traitement pouvant augmenter la sensibilité à l'insuline et l'évitement de médicaments associés à une résistance à l'insuline. Ces travaux ont le potentiel de susciter un engouement clinique et scientifique en lien avec la résistance à l'insuline, du moins chez les patients adultes atteints de FK.

La relation proportionnelle entre la détérioration de la glycémie et le statut clinique a été démontrée à de multiples occasions en FK (95, 108, 110, 144). La plupart de ces études ont eu lieu chez les enfants ou adolescents, et bon nombre d'entre elles datent d'il y a plusieurs années, la plus couramment citée datant même du début des années 1990 (88). Ainsi, il nous importait de revisiter ce dogme chez les patients adultes, dans un contexte de traitements nutritionnels et de prévention des exacerbations pulmonaires modernes. Les études de cette thèse ne confirment pas ces observations chez une population adulte. Notre groupe de recherche et d'autres ouvrent la voie à l'étude des patients adultes plus âgés, avec un statut nutritionnel adéquat, mais qui développent d'autres complications telles que le diabète, l'hypertension et les complications

hépatiques. Ainsi, la qualité nutritionnelle peut être importante chez ce groupe de patients. Une étude de notre cohorte montre également qu'un sous-groupe de patient gagne du poids au fil des ans (147). Ces patients qui prennent du poids ont également une fonction pulmonaire plus favorable et stable, par rapport aux adultes du groupe qui ne prennent pas de poids et de celui qui en perd. Toutefois, ces patients ont des augmentations de certains paramètres lipidiques, glycémiques et de la tension artérielle avec les années. Il est donc possible que le dogme des patients typiquement dénutris malgré une diète riche en énergie et en lipides soit révolu chez une partie de nos patients plus âgés. Chez ces patients, il n'est pas clair que la dysglycémie soit associée à une perte de poids ou à une perte de fonction pulmonaire. Cette observation permet également de se questionner quant à la pertinence, telle que suggéré dans les recommandations, d'instaurer systématiquement un traitement à l'insuline dans cette population (101).

Quelles que soient les causes et les conséquences du DAFK, sa prévalence est très élevée, d'autant plus qu'elle augmente avec l'espérance de vie qui augmente elle aussi. Le test de dépistage de DAFK est donc primordial. Les études de cette thèse suggèrent que le nombre de tests d'HGPO pourraient être réduit pour certains patients, notamment en utilisant l'HbA1c comme méthode d'évaluation du risque glycémique. Cette mesure pour individualiser le besoin d'HGPO chez les patients adultes a le potentiel de réduire le fardeau médical pour les patients, mais aussi pour l'équipe traitante. Par ailleurs, quel que soit le test de dépistage utilisé, une sensibilisation à l'importance de dépister et de traiter le DAFK semble être requise dans cette population.

Chapitre 6 – Conclusions

Le DAFK est une complication majeure de la FK pouvant affecter le statut clinique et la mortalité. Cependant, la population adulte change rapidement avec l'apparition de nouveaux traitements et une survie qui a beaucoup augmentée depuis 30 ans. Ainsi les patients actuellement suivis diffèrent largement de ceux qui ont permis d'établir une association entre l'hyperglycémie et une évolution clinique rapidement défavorable. Nos études chez une population adulte en relativement bonne santé montrent que le déclin clinique associable à l'hyperglycémie est moins simple chez les patients adultes que ce qui avait été antérieurement rapporté. Par ailleurs, il est possible que les patients vieillissants présentent plus de caractéristiques se rapprochant du diabète de type 2 avec, par exemple, un rôle de la résistance à l'insuline comme cause des hyperglycémies. Dans un contexte de sécrétion d'insuline faible en FK, des variations dans la résistance à l'insuline peuvent modifier de façon significative la tolérance au glucose. Nous soulignons l'importance du dépistage du DAFK par l'HGPO annuelle, malgré les limites associées à ce test (variabilité importante, faible taux de présence et seuils diagnostiques qui ne tiennent pas compte des complications de la FK). En attendant des études robustes portant sur l'évolution clinique à long terme en lien avec la glycémie, l'HGPO est le test à maintenir. Pour réduire le fardeau clinique, des mesures peuvent être mise en place pour sélectionner les patients les plus à risque de DAFK et qui devraient passer un test de dépistage. À plus long-terme, développer un test plus simple qui capturerait à la fois le risque de diabète mais aussi de déclin clinique (poids et/ou fonction pulmonaire) aurait un impact très significatif sur la prise en charge de ces patients.

Références bibliographiques

1. Cystic Fibrosis Canada 2015-2016 Annual Report <http://www.cysticfibrosis.ca/news/publications> Cystic Fibrosis Canada; 2017 [
2. Davis PB. Cystic fibrosis since 1938. *Am J Respir Crit Care Med.* 2006;173(5):475-82.
3. Burgel PR, Bellis G, Olesen HV, Viviani L, Zolin A, Blasi F, Elborn JS, Europe EETFoPoCfAwCFi. Future trends in cystic fibrosis demography in 34 European countries. *Eur Respir J.* 2015;46(1):133-41.
4. Elborn JS. Cystic fibrosis. *Lancet.* 2016.
5. Canada FK. Registre canadien de la fibrose kystique - Rapport de données annuelles 2018. 2019.
6. Burgener EB, Moss RB. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator modulators: precision medicine in cystic fibrosis. *Curr Opin Pediatr.* 2018;30(3):372-7.
7. Rommens JM, Iannuzzi MC, Kerem B, Drumm ML, Melmer G, Dean M, Rozmahel R, Cole JL, Kennedy D, Hidaka N, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: chromosome walking and jumping. *Science.* 1989;245(4922):1059-65.
8. The Canadian Cystic Fibrosis Registry - 2012 Annual Report. In: Cystic Fibrosis Canada, editor. 2012.
9. Cystic Fibrosis Canada [Available from: <http://www.fibrosekystique.ca/about-cf>.
10. Tsui LC, Dorfman R. The cystic fibrosis gene: a molecular genetic perspective. *Cold Spring Harb Perspect Med.* 2013;3(2):a009472.
11. Tsui LC. The cystic fibrosis transmembrane conductance regulator gene. *Am J Respir Crit Care Med.* 1995;151(3 Pt 2):S47-53.
12. Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL, et al. Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science.* 1989;245(4922):1066-73.
13. Borowitz D. CFTR, bicarbonate, and the pathophysiology of cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol.* 2015;50 Suppl 40:S24-S30.
14. Pranke I, Golec A, Hinzpeter A, Edelman A, Sermet-Gaudelus I. Emerging Therapeutic Approaches for Cystic Fibrosis. From Gene Editing to Personalized Medicine. *Front Pharmacol.* 2019;10:121.
15. Goralski JL, Boucher RC, Button B. Osmolytes and ion transport modulators: new strategies for airway surface rehydration. *Curr Opin Pharmacol.* 2010;10(3):294-9.
16. Griese M, Kappler M, Gaggar A, Hartl D. Inhibition of airway proteases in cystic fibrosis lung disease. *Eur Respir J.* 2008;32(3):783-95.
17. Stoltz DA, Meyerholz DK, Welsh MJ. Origins of cystic fibrosis lung disease. *N Engl J Med.* 2015;372(4):351-62.
18. Rowe SM, Miller S, Sorscher EJ. Cystic fibrosis. *N Engl J Med.* 2005;352(19):1992-2001.
19. Liou TG, Elkin EP, Pasta DJ, Jacobs JR, Konstan MW, Morgan WJ, Wagener JS. Year-to-year changes in lung function in individuals with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros.* 2010;9(4):250-6.
20. Boyle MP, De Boeck K. A new era in the treatment of cystic fibrosis: correction of the underlying CFTR defect. *Lancet Respir Med.* 2013;1(2):158-63.

21. Zielenski J. Genotype and phenotype in cystic fibrosis. *Respiration*. 2000;67(2):117-33.
22. Dequeker E, Stuhrmann M, Morris MA, Casals T, Castellani C, Claustres M, Cuppens H, des Georges M, Ferec C, Macek M, Pignatti PF, Scheffer H, Schwartz M, Witt M, Schwarz M, Girodon E. 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.
23. Mak DY, Sykes J, Stephenson AL, Lands LC. The benefits of newborn screening for cystic fibrosis: The Canadian experience. *J Cyst Fibros*. 2016;15(3):302-8.
24. Castellani C, Southern KW, Brownlee K, Dankert Roelse J, Duff A, Farrell M, Mehta A, Munck A, Pollitt R, Sermet-Gaudelus I, Wilcken B, Ballmann M, Corbetta C, de Monestrol I, Farrell P, Feilcke M, Ferec C, Gartner S, Gaskin K, Hammermann J, Kashirskaya N, Loeber G, Macek M, Jr., Mehta G, Reiman A, Rizzotti P, Sammon A, Sands D, Smyth A, Sommerburg O, Torresani T, Travert G, Vernooij A, Elborn S. European best practice guidelines for cystic fibrosis neonatal screening. *J Cyst Fibros*. 2009;8(3):153-73.
25. Quinton PM. Cystic fibrosis: lessons from the sweat gland. *Physiology*. 2007;22:212-25.
26. Moyer K, Balistreri W. Hepatobiliary disease in patients with cystic fibrosis. *Current opinion in gastroenterology*. 2009;25(3):272-8.
27. Sly PD, Gangell CL, Chen L, Ware RS, Ranganathan S, Mott LS, Murray CP, Stick SM, Investigators AC. Risk factors for bronchiectasis in children with cystic fibrosis. *N Engl J Med*. 2013;368(21):1963-70.
28. Parkins MD, Floto RA. Emerging bacterial pathogens and changing concepts of bacterial pathogenesis in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2015;14(3):293-304.
29. Schaffer K. Epidemiology of infection and current guidelines for infection prevention in cystic fibrosis patients. *J Hosp Infect*. 2015;89(4):309-13.
30. Johnson JD, Theurer WM. A stepwise approach to the interpretation of pulmonary function tests. *Am Fam Physician*. 2014;89(5):359-66.
31. Pellegrino R, Viegi G, Brusasco V, Crapo RO, Burgos F, Casaburi R, Coates A, van der Grinten CP, Gustafsson P, Hankinson J, Jensen R, Johnson DC, MacIntyre N, McKay R, Miller MR, Navajas D, Pedersen OF, Wanger J. Interpretative strategies for lung function tests. *Eur Respir J*. 2005;26(5):948-68.
32. Foundation CF. Patient Registry 2014 Annual Data Report to the Center Directors. 2015.
33. Liou TG, Adler FR, Fitzsimmons SC, Cahill BC, Hibbs JR, Marshall BC. Predictive 5-year survivorship model of cystic fibrosis. *Am J Epidemiol*. 2001;153(4):345-52.
34. Fuchs HJ, Borowitz DS, Christiansen DH, Morris EM, Nash ML, Ramsey BW, Rosenstein BJ, Smith AL, Wohl ME. Effect of aerosolized recombinant human DNase on exacerbations of respiratory symptoms and on pulmonary function in patients with cystic fibrosis. The Pulmozyme Study Group. *N Engl J Med*. 1994;331(10):637-42.
35. Zinn VZ, Khatri A, Mednieks MI, Hand AR. Localization of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator signaling complexes in human salivary gland striated duct cells. *Eur J Oral Sci*. 2015;123(3):140-8.
36. Strong TV, Boehm K, Collins FS. Localization of cystic fibrosis transmembrane conductance regulator mRNA in the human gastrointestinal tract by in situ hybridization. *J Clin Invest*. 1994;93(1):347-54.

37. Wilschanski M, Novak I. The cystic fibrosis of exocrine pancreas. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*. 2013;3(5):a009746.
38. Yoon JC. Evolving Mechanistic Views and Emerging Therapeutic Strategies for Cystic Fibrosis-Related Diabetes. *J Endocr Soc*. 2017;1(11):1386-400.
39. Cipolli M, Castellani C, Wilcken B, Massie J, McKay K, Gruca M, Tamanini A, Assael MB, Gaskin K. Pancreatic phenotype in infants with cystic fibrosis identified by mutation screening. *Arch Dis Child*. 2007;92(10):842-6.
40. O'Brien S, Mulcahy H, Fenlon H, O'Broin A, Casey M, Burke A, FitzGerald MX, Hegarty JE. Intestinal bile acid malabsorption in cystic fibrosis. *Gut*. 1993;34(8):1137-41.
41. Turck D, Braegger CP, Colombo C, Declercq D, Morton A, Pancheva R, Robberecht E, Stern M, Strandvik B, Wolfe S, Schneider SM, Wilschanski M. ESPEN-ESPGHAN-ECFS guidelines on nutrition care for infants, children, and adults with cystic fibrosis. *Clin Nutr*. 2016;35(3):557-77.
42. 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.
43. O'Sullivan BP, Freedman SD. Cystic fibrosis. *Lancet*. 2009;373(9678):1891-904.
44. Ratchford TL, Teckman JH, Patel DR. Gastrointestinal pathophysiology and nutrition in cystic fibrosis. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol*. 2018;12(9):853-62.
45. van der Doef HP, Kokke FT, van der Ent CK, Houwen RH. Intestinal obstruction syndromes in cystic fibrosis: meconium ileus, distal intestinal obstruction syndrome, and constipation. *Curr Gastroenterol Rep*. 2011;13(3):265-70.
46. Sermet-Gaudelus I, Bianchi ML, Garabedian M, Aris RM, Morton A, Hardin DS, Elkin SL, Compston JE, Conway SP, Castanet M, Wolfe S, Haworth CS. European cystic fibrosis bone mineralisation guidelines. *J Cyst Fibros*. 2011;10 Suppl 2:S16-23.
47. Aris RM, Merkel PA, Bachrach LK, Borowitz DS, Boyle MP, Elkin SL, Guise TA, Hardin DS, Haworth CS, Holick MF, Joseph PM, O'Brien K, Tullis E, Watts NB, White TB. Guide to bone health and disease in cystic fibrosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2005;90(3):1888-96.
48. Calella P, Valerio G, Brodlie M, Donini LM, Siervo M. Cystic fibrosis, body composition, and health outcomes: a systematic review. *Nutrition*. 2018;55-56:131-9.
49. Braun C, Bacchetta J, Reix P. [Insights into cystic fibrosis-related bone disease]. *Arch Pediatr*. 2016;23(8):857-66.
50. Stalvey MS, Clines GA. Cystic fibrosis-related bone disease: insights into a growing problem. *Current opinion in endocrinology, diabetes, and obesity*. 2013;20(6):547-52.
51. Shead EF, Haworth CS, Condliffe AM, McKeon DJ, Scott MA, Compston JE. Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) is expressed in human bone. *Thorax*. 2007;62(7):650-1.
52. Castellani C, Assael BM. Cystic fibrosis: a clinical view. *Cell Mol Life Sci*. 2017;74(1):129-40.
53. Flass T, Narkewicz MR. Cirrhosis and other liver disease in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2013;12(2):116-24.
54. Ledder O, Haller W, Couper RT, Lewindon P, Oliver M. Cystic fibrosis: an update for clinicians. Part 2: hepatobiliary and pancreatic manifestations. *J Gastroenterol Hepatol*. 2014;29(12):1954-62.

55. Debray D, Kelly D, Houwen R, Strandvik B, Colombo C. Best practice guidance for the diagnosis and management of cystic fibrosis-associated liver disease. *J Cyst Fibros.* 2011;10 Suppl 2:S29-36.
56. Maisonneuve P, Marshall BC, Knapp EA, Lowenfels AB. Cancer risk in cystic fibrosis: a 20-year nationwide study from the United States. *J Natl Cancer Inst.* 2013;105(2):122-9.
57. Yu J, Chen Z, Ni Y, Li Z. CFTR mutations in men with congenital bilateral absence of the vas deferens (CBAVD): a systemic review and meta-analysis. *Hum Reprod.* 2012;27(1):25-35.
58. Ahmad A, Ahmed A, Patrizio P. Cystic fibrosis and fertility. *Curr Opin Obstet Gynecol.* 2013;25(3):167-72.
59. Conway S, Balfour-Lynn IM, De Rijcke K, Drevinek P, Foweraker J, Havermans T, Heijerman H, Lannefors L, Lindblad A, Macek M, Madge S, Moran M, Morrison L, Morton A, Noordhoek J, Sands D, Vertommen A, Peckham D. European Cystic Fibrosis Society Standards of Care: Framework for the Cystic Fibrosis Centre. *J Cyst Fibros.* 2014;13 Suppl 1:S3-22.
60. Sawicki GS, Ren CL, Konstan MW, Millar SJ, Pasta DJ, Quittner AL, Investigators, Coordinators of the Epidemiologic Study of Cystic F. Treatment complexity in cystic fibrosis: trends over time and associations with site-specific outcomes. *J Cyst Fibros.* 2013;12(5):461-7.
61. Sawicki GS, Sellers DE, Robinson WM. Self-reported physical and psychological symptom burden in adults with cystic fibrosis. *J Pain Symptom Manage.* 2008;35(4):372-80.
62. Quittner AL, Saez-Flores E, Barton JD. The psychological burden of cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med.* 2016;22(2):187-91.
63. Stallings VA, Stark LJ, Robinson KA, Feranchak AP, Quinton H, Clinical Practice Guidelines on G, Nutrition S, Ad Hoc Working G. 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.
64. Tangpricha V, Kelly A, Stephenson A, Maguiness K, Enders J, Robinson KA, Marshall BC, Borowitz D, Cystic Fibrosis Foundation Vitamin DE-BRC. An update on the screening, diagnosis, management, and treatment of vitamin D deficiency in individuals with cystic fibrosis: evidence-based recommendations from the Cystic Fibrosis Foundation. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism.* 2012;97(4):1082-93.
65. Solomon M, Bozic M, Mascarenhas MR. Nutritional Issues in Cystic Fibrosis. *Clin Chest Med.* 2016;37(1):97-107.
66. Mogayzel PJ, Jr., Naureckas ET, Robinson KA, Mueller G, Hadjiliadis D, Hoag JB, Lubsch L, Hazle L, Sadosky K, Marshall B, Pulmonary Clinical Practice Guidelines C. Cystic fibrosis pulmonary guidelines. Chronic medications for maintenance of lung health. *Am J Respir Crit Care Med.* 2013;187(7):680-9.
67. Antunovic SS, Lukac M, Vujovic D. Longitudinal cystic fibrosis care. *Clin Pharmacol Ther.* 2013;93(1):86-97.
68. Cohen-Cymbberknoh M, Kerem E, Ferkol T, Elizur A. Airway inflammation in cystic fibrosis: molecular mechanisms and clinical implications. *Thorax.* 2013;68(12):1157-62.
69. Kapnadak SG, Dimango E, Hadjiliadis D, Hempstead SE, Tallarico E, Pilewski JM, Faro A, Albright J, Benden C, Blair S, Dellon EP, Gochenour D, Michelson P, Moshiree B, Neuringer I, Riedy C, Schindler T, Singer LG, Young D, Vignola L, Zukosky J, Simon RH. Cystic Fibrosis

- Foundation consensus guidelines for the care of individuals with advanced cystic fibrosis lung disease. *J Cyst Fibros*. 2020.
70. Yang C, Montgomery M. Dornase alfa for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;9:CD001127.
 71. Kapoor H, Koolwal A, Singh A. Ivacaftor: a novel mutation modulating drug. *J Clin Diagn Res*. 2014;8(11):SE01-5.
 72. Deeks ED. Lumacaftor/Ivacaftor: A Review in Cystic Fibrosis. *Drugs*. 2016;76(12):1191-201.
 73. Fibrose Kystique Canada - Orkambi Consulté le 11 février 2020 [Available from: <http://www.fibrosekystique.ca/nos-programmes/advocacy/acces-aux-medicaments/orkambi>].
 74. Sala MA, Jain M. Tezacaftor for the treatment of cystic fibrosis. *Expert Rev Respir Med*. 2018;12(9):725-32.
 75. Middleton PG, Mall MA, Drevinek P, Lands LC, McKone EF, Polineni D, Ramsey BW, Taylor-Cousar JL, Tullis E, Vermeulen F, Marigowda G, McKee CM, Moskowitz SM, Nair N, Savage J, Simard C, Tian S, Waltz D, Xuan F, Rowe SM, Jain R, Group VXS. Elexacaftor-Tezacaftor-Ivacaftor for Cystic Fibrosis with a Single Phe508del Allele. *N Engl J Med*. 2019;381(19):1809-19.
 76. Heijerman HGM, McKone EF, Downey DG, Van Braeckel E, Rowe SM, Tullis E, Mall MA, Welter JJ, Ramsey BW, McKee CM, Marigowda G, Moskowitz SM, Waltz D, Sosnay PR, Simard C, Ahluwalia N, Xuan F, Zhang Y, Taylor-Cousar JL, McCoy KS, Group VXT. Efficacy and safety of the elexacaftor plus tezacaftor plus ivacaftor combination regimen in people with cystic fibrosis homozygous for the F508del mutation: a double-blind, randomised, phase 3 trial. *Lancet*. 2019;394(10212):1940-8.
 77. Finkelstein SM, Wielinski CL, Elliott GR, Warwick WJ, Barbosa J, Wu SC, Klein DJ. Diabetes mellitus associated with cystic fibrosis. *The Journal of pediatrics*. 1988;112(3):373-7.
 78. Hardin DS, Moran A. Diabetes mellitus in cystic fibrosis. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*. 1999;28(4):787-800, ix.
 79. Moran A. Endocrine complications of cystic fibrosis. *Adolescent medicine*. 2002;13(1):145-59, vii-viii.
 80. Moheet A, Moran A. CF-related diabetes: Containing the metabolic miscreant of cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol*. 2017;52(S48):S37-S43.
 81. Milla CE, Billings J, Moran A. Diabetes is associated with dramatically decreased survival in female but not male subjects with cystic fibrosis. *Diabetes care*. 2005;28(9):2141-4.
 82. Marshall BC. Cystic fibrosis. *Current opinion in pulmonary medicine*. 2003;9(6):484-5.
 83. 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.
 84. Moran A, Diem P, Klein DJ, Levitt MD, Robertson RP. Pancreatic endocrine function in cystic fibrosis. *J Pediatr*. 1991;118(5):715-23.
 85. Moran A, Doherty L, Wang X, Thomas W. Abnormal glucose metabolism in cystic fibrosis. *J Pediatr*. 1998;133(1):10-7.
 86. Milla CE, Warwick WJ, Moran A. Trends in pulmonary function in patients with cystic fibrosis correlate with the degree of glucose intolerance at baseline. *Am J Respir Crit Care Med*. 2000;162(3 Pt 1):891-5.

87. Moran A, Becker D, Casella SJ, Gottlieb PA, Kirkman MS, Marshall BC, Slovis B, Committee CCC. Epidemiology, pathophysiology, and prognostic implications of cystic fibrosis-related diabetes: a technical review. *Diabetes Care*. 2010;33(12):2677-83.
88. Lanng S, Thorsteinsson B, Nerup J, Koch C. Influence of the development of diabetes mellitus on clinical status in patients with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr*. 1992;151(9):684-7.
89. Lanng S, Hansen A, Thorsteinsson B, Nerup J, Koch C. Glucose tolerance in patients with cystic fibrosis: five year prospective study. *BMJ*. 1995;311(7006):655-9.
90. Lewis C, Blackman SM, Nelson A, Oberdorfer E, Wells D, Dunitz J, Thomas W, Moran A. Diabetes-related mortality in adults with cystic fibrosis. Role of genotype and sex. *Am J Respir Crit Care Med*. 2015;191(2):194-200.
91. Boudreau V, Reynaud Q, Dubois CL, Coriati A, Desjardins K, Durieu I, Rabasa-Lhoret R. Screening for Cystic Fibrosis-Related Diabetes: Matching Pathophysiology and Addressing Current Challenges. *Can J Diabetes*. 2016;40(5):466-70.
92. Prentice B, Hameed S, Verge CF, Ooi CY, Jaffe A, Widger J. Diagnosing cystic fibrosis-related diabetes: current methods and challenges. *Expert Rev Respir Med*. 2016;10(7):799-811.
93. Costa M, Potvin S, Hammana I, Malet A, Berthiaume Y, Jeanneret A, Lavoie A, Levesque R, Perrier J, Poisson D, Karelis AD, Chiasson JL, Rabasa-Lhoret R. Increased glucose excursion in cystic fibrosis and its association with a worse clinical status. *J Cyst Fibros*. 2007;6(6):376-83.
94. Hart NJ, Aramandla R, Poffenberger G, Fayolle C, Thames AH, Bautista A, Spigelman AF, Babon JAB, DeNicola ME, Dadi PK, Bush WS, Balamurugan AN, Brissova M, Dai C, Prasad N, Bottino R, Jacobson DA, Drumm ML, Kent SC, MacDonald PE, Powers AC. Cystic fibrosis-related diabetes is caused by islet loss and inflammation. *JCI Insight*. 2018;3(8).
95. Kelly A, Moran A. Update on cystic fibrosis-related diabetes. *J Cyst Fibros*. 2013;12(4):318-31.
96. Yi Y, Norris AW, Wang K, Sun X, Uc A, Moran A, Engelhardt JF, Ode KL. Abnormal Glucose Tolerance in Infants and Young Children with Cystic Fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194(8):974-80.
97. Blackman SM, Hsu S, Vanscoy LL, Collaco JM, Ritter SE, Naughton K, Cutting GR. Genetic modifiers play a substantial role in diabetes complicating cystic fibrosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2009;94(4):1302-9.
98. Coriati A, Belson L, Ziai S, Haberer E, Gauthier MS, Mailhot G, Coderre L, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Impact of sex on insulin secretion in cystic fibrosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2014;99(5):1767-73.
99. Saint-Criq V, Harvey BJ. Estrogen and the cystic fibrosis gender gap. *Steroids*. 2014;81:4-8.
100. Canadian Diabetes Association Clinical Practice Guidelines Expert C, Cheng AY. 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.
101. Moran A, Pillay K, Becker D, Granados A, Hameed S, Acerini CL. ISPAD Clinical Practice Consensus Guidelines 2018: Management of cystic fibrosis-related diabetes in children and adolescents. *Pediatr Diabetes*. 2018;19 Suppl 27:64-74.
102. Fontes G, Ghislain J, Benterki I, Zarrouki B, Trudel D, Berthiaume Y, Poitout V. 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.
103. 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.
 104. 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.
 105. Couce M, O'Brien TD, Moran A, Roche PC, Butler PC. Diabetes mellitus in cystic fibrosis is characterized by islet amyloidosis. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 1996;81(3):1267-72.
 106. DeFronzo RA, Ferrannini E, Groop L, Henry RR, Herman WH, Holst JJ, Hu FB, Kahn CR, Raz I, Shulman GI, Simonson DC, Testa MA, Weiss R. Type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Dis Primers*. 2015;1:15019.
 107. Moran A, Brunzell C, Cohen RC, Katz M, Marshall BC, Onady G, Robinson KA, Sabadosa KA, Stecenko A, Slovis B, Committee CG. 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.
 108. Coriati A, Ziai S, Azar M, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Characterization of patients with cystic fibrosis presenting an indeterminate glucose tolerance (INDET). *J Cyst Fibros*. 2015.
 109. Scheuing N, Holl RW, Dockter G, Hermann JM, Junge S, Koerner-Rettberg C, Naehrlich L, Smaczny C, Staab D, Thalhammer G, van Koningsbruggen-Rietschel S, Ballmann M. High variability in oral glucose tolerance among 1,128 patients with cystic fibrosis: a multicenter screening study. *PLoS One*. 2014;9(11):e112578.
 110. Hameed S, Jaffe A, Verge CF. Advances in the detection and management of cystic fibrosis related diabetes. *Curr Opin Pediatr*. 2015;27(4):525-33.
 111. Sylvain C, Lamothe L, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. How patients' representations of cystic fibrosis-related diabetes inform their health behaviours. *Psychol Health*. 2016:1-16.
 112. Walshaw M. Routine OGTT screening for CFRD - no thanks. *J R Soc Med*. 2009;102 Suppl 1:40-4.
 113. Mannik LA, Chang KA, Annoh PQQ, Sykes J, Gilmour J, Robert R, Stephenson AL. Prevalence of hypoglycemia during oral glucose tolerance testing in adults with cystic fibrosis and risk of developing cystic fibrosis-related diabetes. *J Cyst Fibros*. 2018;17(4):536-41.
 114. Godbout A, Hammana I, Potvin S, Mainville D, Rakel A, Berthiaume Y, Chiasson JL, Coderre L, Rabasa-Lhoret R. 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.
 115. Burgess JC, Bridges N, Banya W, Gyi KM, Hodson ME, Bilton D, Simmonds NJ. HbA1c as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes. *J Cyst Fibros*. 2015.
 116. Lam GY, Doll-Shankaruk M, Dayton J, Rodriguez-Capote K, Higgins TN, Thomas D, Mulchey K, Smith MP, Brown NE, Leung WM, Estey MP. The use of fructosamine in cystic fibrosis-related diabetes (CFRD) screening. *J Cyst Fibros*. 2018;17(1):121-4.

117. Bouvet GF, Maignan M, Arslanian E, Coriati A, Rabasa-Lhoret R, Berthiaume Y. Association between serum YKL-40 level and dysglycemia in cystic fibrosis. *Cytokine*. 2015;71(2):296-301.
118. Mainguy C, Bellon G, Delaup V, Ginoux T, Kassai-Koupai B, Mazur S, Rabilloud M, Remontet L, Reix P. Sensitivity and specificity of different methods for cystic fibrosis-related diabetes screening: is the oral glucose tolerance test still the standard? *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017;30(1):27-35.
119. Leclercq A, Gauthier B, Rosner V, Weiss L, Moreau F, Constantinescu AA, Kessler R, Kessler L. Early assessment of glucose abnormalities during continuous glucose monitoring associated with lung function impairment in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros*. 2014;13(4):478-84.
120. Chan CL, Hope E, Thurston J, Vigers T, Pyle L, Zeitler PS, Nadeau KJ. Hemoglobin A1c Accurately Predicts Continuous Glucose Monitoring-Derived Average Glucose in Youth and Young Adults With Cystic Fibrosis. *Diabetes Care*. 2018.
121. O'Riordan SM, Hindmarsh P, Hill NR, Matthews DR, George S, Greally P, Canny G, Slattery D, Murphy N, Roche E, Costigan C, Hoey H. Validation of continuous glucose monitoring in children and adolescents with cystic fibrosis: a prospective cohort study. *Diabetes Care*. 2009;32(6):1020-2.
122. Taylor-Cousar JL, Janssen JS, Wilson A, Clair CG, Pickard KM, Jones MC, Brayshaw SJ, Chacon CS, Barboa CM, Sontag MK, Accurso FJ, Nichols DP, Saavedra MT, Nick JA. Glucose >200 mg/dL during Continuous Glucose Monitoring Identifies Adult Patients at Risk for Development of Cystic Fibrosis Related Diabetes. *J Diabetes Res*. 2016;2016:1527932.
123. Ballmann M, Hubert D, Assael BM, Staab D, Hebestreit A, Naehrlich L, Nickolay T, Prinz N, Holl RW, Group CS. Repaglinide versus insulin for newly diagnosed diabetes in patients with cystic fibrosis: a multicentre, open-label, randomised trial. *The lancet Diabetes & endocrinology*. 2018;6(2):114-21.
124. Moran A, Pekow P, Grover P, Zorn M, Slovis B, Pilewski J, Tullis E, Liou TG, Allen H, Cystic Fibrosis Related Diabetes Therapy Study G. 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.
125. 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.
126. Graham BL, Steenbruggen I, Miller MR, Barjaktarevic IZ, Cooper BG, Hall GL, Hallstrand TS, Kaminsky DA, McCarthy K, McCormack MC, Oropez CE, Rosenfeld M, Stanojevic S, Swanney MP, Thompson BR. Standardization of Spirometry 2019 Update. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(8):e70-e88.
127. Morgan CR, Lazarow A. Immunoassay of insulin using a two-antibody system. *Proc Soc Exp Biol Med*. 1962;110:29-32.
128. Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Van Haeften T, Renn W, Gerich J. Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care*. 2000;23(3):295-301.

129. Utzschneider KM, Prigeon RL, Faulenbach MV, Tong J, Carr DB, Boyko EJ, Leonetti DL, McNeely MJ, Fujimoto WY, Kahn SE. Oral disposition index predicts the development of future diabetes above and beyond fasting and 2-h glucose levels. *Diabetes Care*. 2009;32(2):335-41.
130. Colomba J, Boudreau V, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F, Rabasa-Lhoret R. 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.
131. Ziai S, Belson L, Hammana I, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2011;10(2):145.
132. Szymanowicz A, Bernay A, Lornage C, Neyron MJ. Étude comparative du dosage de l'hémoglobine glyquée par trois méthodes : HPLC sur G7® (Tosoh Bioscience) et D10® (Biorad), et immunoturbidimétrie sur Intégra 800® (Roche). *Immuno-analyse et biologie spécialisée*. 2009;24: 272—80.
133. Calvo-Lerma J, Martinez-Barona S, Masip E, Fornes V, Ribes-Koninckx C. Pancreatic enzyme replacement therapy in cystic fibrosis: dose, variability and coefficient of fat absorption. *Rev Esp Enferm Dig*. 2017;109(10):684-9.
134. 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.
135. Boudreau V, Coriati A, Hammana I, Ziai S, Desjardins K, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: What is the potential contribution of insulin sensitivity? *J Cyst Fibros*. 2016.
136. Reynaud Q, Boudreau V, Touzet S, Desjardins K, Bourdy SP, Blond E, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R, Durieu I. Glucose tolerance in Canadian and French cystic fibrosis adult patients. *Sci Rep*. 2019;9(1):4763.
137. Boudreau V, Coriati A, Desjardins K, Rabasa-Lhoret R. Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis related diabetes. *J Cyst Fibros*. 2016;15(2):258-60.
138. 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.
139. Boudreau V, Lehoux Dubois C, Desjardins K, Mailhot M, Tremblay F, Rabasa-Lhoret R. Sensitivity and specificity of cystic fibrosis-related diabetes screening methods: which test should be the reference method? *J Pediatr Endocrinol Metab*. 2017;30(8):885-7.
140. Boudreau V, Reynaud Q, Rabasa-Lhoret R. What is the Real Usefulness of Glycated Hemoglobin Levels for Diabetes Screening in Patients With Cystic Fibrosis? *Can J Diabetes*. 2019;43(1):1-2.
141. Boudreau V, Coriati A, Hammana I, Ziai S, Desjardins K, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R. 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.
142. Blackman SM, Tangpricha V. Endocrine Disorders in Cystic Fibrosis. *Pediatr Clin North Am*. 2016;63(4):699-708.

143. LeRoith D. Beta-cell dysfunction and insulin resistance in type 2 diabetes: role of metabolic and genetic abnormalities. *Am J Med.* 2002;113 Suppl 6A:3S-11S.
144. Hameed S, Morton JR, Jaffe A, Field PI, Belessis Y, Yoong T, Katz T, Verge CF. Early glucose abnormalities in cystic fibrosis are preceded by poor weight gain. *Diabetes Care.* 2010;33(2):221-6.
145. Konrad K, Thon A, Fritsch M, Frohlich-Reiterer E, Lilienthal E, Wudy SA, Holl RW, German/Austrian Diabetes Prospective Documentation I. Comparison of cystic fibrosis-related diabetes with type 1 diabetes based on a German/Austrian Pediatric Diabetes Registry. *Diabetes Care.* 2013;36(4):879-86.
146. Moran A, Pyzdrowski KL, Weinreb J, Kahn BB, Smith SA, Adams KS, Seaquist ER. Insulin sensitivity in cystic fibrosis. *Diabetes.* 1994;43(8):1020-6.
147. Bonhoure A, Boudreau V, Litvin M, Colomba J, Bergeron C, Mailhot M, Tremblay F, Lavoie A, Rabasa-Lhoret R. Overweight, obesity and significant weight gain in adult patients with cystic fibrosis association with lung function and cardiometabolic risk factors. *Clin Nutr.* 2020.
148. 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.* 2020;19(1):139-45.
149. Sears B, Perry M. The role of fatty acids in insulin resistance. *Lipids Health Dis.* 2015;14:121.
150. Roesch EA, Nichols DP, Chmiel JF. Inflammation in cystic fibrosis: An update. *Pediatr Pulmonol.* 2018;53(S3):S30-S50.
151. Starosta V, Rietschel E, Paul K, Baumann U, Griese M. Oxidative changes of bronchoalveolar proteins in cystic fibrosis. *Chest.* 2006;129(2):431-7.
152. Ntimbane T, Krishnamoorthy P, Huot C, Legault L, Jacob SV, Brunet S, Levy E, Gueraud F, Lands LC, Comte B. Oxidative stress and cystic fibrosis-related diabetes: a pilot study in children. *J Cyst Fibros.* 2008;7(5):373-84.
153. Inoguchi T, Li P, Umeda F, Yu HY, Kakimoto M, Imamura M, Aoki T, Etoh T, Hashimoto T, Naruse M, Sano H, Utsumi H, Nawata H. High glucose level and free fatty acid stimulate reactive oxygen species production through protein kinase C--dependent activation of NAD(P)H oxidase in cultured vascular cells. *Diabetes.* 2000;49(11):1939-45.
154. Harding HP, Zeng H, Zhang Y, Jungries R, Chung P, Plesken H, Sabatini DD, Ron D. Diabetes mellitus and exocrine pancreatic dysfunction in *perk-/-* mice reveals a role for translational control in secretory cell survival. *Mol Cell.* 2001;7(6):1153-63.
155. Araki E, Oyadomari S, Mori M. Impact of endoplasmic reticulum stress pathway on pancreatic beta-cells and diabetes mellitus. *Exp Biol Med (Maywood).* 2003;228(10):1213-7.
156. Ahmad T, Nelson R, Taylor R. Insulin sensitivity and metabolic clearance rate of insulin in cystic fibrosis. *Metabolism.* 1994;43(2):163-7.
157. Lannig S, Thorsteinsson B, Roder ME, Nerup J, Koch C. Insulin sensitivity and insulin clearance in cystic fibrosis patients with normal and diabetic glucose tolerance. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1994;41(2):217-23.
158. 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 Diabetol.* 2015.

159. Reynaud Q, Rabilloud M, Roche S, Poupon-Bourdy S, Iwaz J, Nove-Josserand R, Blond E, Laville M, Llerena C, Quetant S, Reix P, Touzet S, Durieu I. Glucose trajectories in cystic fibrosis and their association with pulmonary function. *J Cyst Fibros*. 2018;17(3):400-6.
160. Coriati A, Elisha B, Virassamynaik S, Phaneuf M, Ziai S, Gauthier MS, Rabasa-Lhoret R. Diagnosis of cystic fibrosis-related glucose abnormalities: Can we shorten the standard oral glucose tolerance test? *Appl Physiol Nutr Metab*. 2013;38(12):1254-9.
161. Colomba J, Boudreau V, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F, Rabasa-Lhoret R. 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.
162. Mauch RM, Kmit AH, Marson FA, Levy CE, Barros-Filho AA, Ribeiro JD. Association of growth and nutritional parameters with pulmonary function in cystic fibrosis: a literature review. *Rev Paul Pediatr*. 2016;34(4):503-9.
163. Amin R, Ratjen F. Cystic fibrosis: a review of pulmonary and nutritional therapies. *Adv Pediatr*. 2008;55:99-121.
164. Schwarzenberg SJ, Thomas W, Olsen TW, Grover T, Walk D, Milla C, Moran A. Microvascular complications in cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30(5):1056-61.
165. Brennan AL, Gyi KM, Wood DM, Johnson J, Holliman R, Baines DL, Philips BJ, Geddes DM, Hodson ME, Baker EH. Airway glucose concentrations and effect on growth of respiratory pathogens in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*. 2007;6(2):101-9.
166. Abdulhamid I, Guglani L, Bouren J, Moltz KC. Improving screening for diabetes in cystic fibrosis. *Int J Health Care Qual Assur*. 2015;28(5):441-51.
167. Liou TG, Jensen JL, Allen SE, Brayshaw SJ, Brown MA, Chatfield B, Koenig J, McDonald C, Packer KA, Peet K, Radford P, Reineke LM, Otsuka K, Wagener JS, Young D, Marshall BC. Improving performance in the detection and management of cystic fibrosis-related diabetes in the Mountain West Cystic Fibrosis Consortium. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2016;4(1):e000183.
168. Selvin E, Crainiceanu CM, Brancati FL, Coresh J. Short-term variability in measures of glycemia and implications for the classification of diabetes. *Arch Intern Med*. 2007;167(14):1545-51.
169. Bonora E, Tuomilehto J. The pros and cons of diagnosing diabetes with A1C. *Diabetes Care*. 2011;34 Suppl 2:S184-90.
170. Davidson MB. Counterpoint: the oral glucose tolerance test is superfluous. *Diabetes Care*. 2002;25(10):1883-5.
171. Moran A, Hardin D, Rodman D, Allen HF, Beall RJ, Borowitz D, Brunzell C, Campbell PW, 3rd, Chesrown SE, Duchow C, Fink RJ, Fitzsimmons SC, Hamilton N, Hirsch I, Howenstine MS, Klein DJ, Madhun Z, Pencharz PB, Quittner AL, Robbins MK, Schindler T, Schissel K, Schwarzenberg SJ, Stallings VA, Zipf WB, 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.

Annexe

Annexe 1 – Autres contributions scientifiques et rayonnement

PUBLICATIONS RÉVISÉES PAR UN COMITÉ DE PAIRS

1. **Boudreau V***, Reynaud Q*, Denis A, Colomba J, Touzet S, Desjardins K, Poupon-Bourdy S, Durieu I et Rabasa-Lhoret R. *Impact of early hyperglycemia and hypoinsulinemia on the clinical status of adult cystic fibrosis patients over a 4-year period*, article accepté pour publication dans le journal PLOS One, janvier 2021 *Contribution égale
2. Bonhoure A, Potter KJ, Colomba J, **Boudreau V**, Bergeron C, Desjardins K, Carricart M, Tremblay F, Lavoie A et Rabasa-Lhoret R. *Peak Glucose During an Oral Glucose Tolerance Test is Associated with Future Diabetes Risk in Adult Patients with Cystic Fibrosis*, article en revision dans Diabetologia, juillet 2020
3. **Boudreau V**, Bergeron C et Nguyen E. *Les maladies cardiométaboliques à l'ère de la révolution numérique; compte rendu de la réunion scientifique annuelle conjointe de la SQLNM, du CMDO et de COLosSUS*. Revue Nutrition science en évolution, Vol. 18 No 1, pages 39 à 40, printemps 2020
4. **Boudreau V** et Lehoux-Dubois C. *Traitement du diabète associé à la fibrose kystique et de ses répercussions nutritionnelles*. Revue Vivre avec la Fibrose Kystique, pages 15 à 17, hiver 2020
5. Bonhoure A*, **Boudreau V***, Litvin M, Colomba J, Bergeron C, Mailhot M, Tremblay F, Lavoie A et Rabasa-Lhoret R. *Overweight, obesity and significant weight gain in adult patients with cystic fibrosis: Association with lung function and cardiometabolic risk factors*. Clinical Nutrition, accepté le 8 janvier 2020 *Contribution égale
6. Lehoux Dubois C, Labrèche E, **Boudreau V**, Colomba J, Mailhot M, Lavoie A, Rabasa-Lhoret R et Coriati A. *Extra-skeletal impact of vitamin D supplementation protocol in an adult population with cystic fibrosis*. Clinical Nutrition, août 2019
7. Colomba J, Netedu SR, Lehoux-Dubois C, Coriati A, **Boudreau V**, Tremblay F, Cusi K, Rabasa-Lhoret R et Leey JA. *Hepatic enzyme ALT as a marker of glucose abnormality in men with cystic fibrosis*. PLoS One, juillet 2019
8. Colomba J*, **Boudreau V***, Lehoux-Dubois C, Desjardins K, Coriati A, Tremblay F et Rabasa-Lhoret R. *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, juillet 2019 *Contribution égale
9. **Boudreau V**, Reynaud Q, Bonhoure A, Durieu I et 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*. Canadian Journal of Diabetes, avril 2019

10. **Boudreau V**, Reynaud Q, et Rabasa-Lhoret R. *What is the real usefulness of glycated hemoglobin levels for diabetes screening in patients with cystic fibrosis?* Canadian Journal of Diabetes, février 2019
11. **Boudreau V et** Lehoux-Dubois C. *Traitement du diabète associé à la fibrose kystique et de ses répercussions nutritionnelles.* Revue Nutrition science en évolution, vol 16, N°1, pages 17 à 21, printemps 2018
12. Reynaud Q*, **Boudreau V***, Touzet S, Desjardins K, Bourdy SP, Blond E, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R et Durieu I. *Glucose tolerance in Canadian and French cystic fibrosis adult patients.* Scientific Report, mars 2018 *Contribution égale
13. **Boudreau V**, Lehoux Dubois C, Desjardins K, Mailhot M, Tremblay F et Rabasa-Lhoret R. *Sensitivity and specificity of cystic fibrosis-related diabetes screening methods: which test should be the reference method?* Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism, août 2017
14. Lehoux Dubois C, **Boudreau V**, Tremblay F, Lavoie A, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R et Coriati A. *Association between glucose intolerance and bacterial colonisation in an adult population with cystic fibrosis, emergence of Stenotrophomonas maltophilia.* Journal of Cystic Fibrosis, mai 2017
15. Fortin A, **Boudreau V**, Rabasa-Lhoret R et Gingras V. *Diabète de type 1 et surplus de poids : Au-delà des glucides.* Revue Médecine des maladies Métaboliques, février 2017
16. **Boudreau V**, Reynaud Q, Lehoux-Dubois C, Coriati A, Desjardins K, Durieu I et Rabasa-Lhoret R. *Screening for cystic fibrosis-related diabetes: Matching pathophysiology and addressing current challenges.* Canadian Journal of Diabetes, août 2016
17. **Boudreau V**, Coriati A, Hammana I, Ziai S, Desjardins K, Berthiaume Y et Rabasa-Lhoret R. *Variation of glucose tolerance in adult patients with cystic fibrosis: what is the contribution of insulin sensitivity?* Journal of Cystic Fibrosis, avril 2016
18. **Boudreau V**, Coriati A, Desjardins A et Rabasa-Lhoret R. *Glycated hemoglobin cannot yet be proposed as a screening tool for cystic fibrosis-related diabetes.* Journal of Cystic Fibrosis, février 2016
19. **Boudreau V**, Coriati A, Lehoux-Dubois C, Desjardins K et Rabasa-Lhoret R. *Le dépistage du diabète secondaire à la mucoviscidose.* Revue Médecine des maladies Métaboliques, janvier 2016

PRÉSENTATIONS ORALES

1. European Cystic Fibrosis Symposium, Lyon, France, (ANNULÉ) juin 2020
2. Journée de la recherche du Département de nutrition de l'Université de Montréal, avril 2016 et (ANNULÉE) 2020
3. European Cystic Fibrosis Symposium, Belgrade, Serbie, juin 2018
4. Symposium québécois des chercheurs et cliniciens FK, Fibrose kystique Canada, Québec, mai 2018
5. Congrès du Club de recherches cliniques du Québec, septembre 2015

6. Colloque scientifique de Fibrose Kystique Canada, mai 2015

PRÉSENTATIONS PAR AFFICHE

1. European Cystic Fibrosis Symposium, Lyon, France, (ANNULÉ) juin 2020
2. Société québécoise de lipidologie, de nutrition et de métabolisme, Magog, février 2018 et 2019
3. North American Cystic Fibrosis Conference, Indianapolis, États-Unis, octobre 2017
4. Journée de la recherche du Département de nutrition de l'Université de Montréal, avril 2015 et 2017
5. Retraite annuelle du Centre de recherche sur le Diabète de Montréal, février 2016, 2017 et 2018
6. Congrès de la Société Francophone de Diabète, Lyon, France, mars 2016
7. Congrès scientifique du Conseil Professionnel de Diabète Québec, novembre 2015
8. Journée de la recherche de l'Institut de recherches cliniques de Montréal, mai 2015
9. Journée de la recherche du Département de nutrition de l'Université de Montréal, avril 2015

PRIX ET DISTINCTIONS

- **Fondation du Grand défi Pierre Lavoie**
Bourse d'études doctorales, septembre 2017
- **Bourses de maîtrise et de doctorat des Instituts de recherche en santé du Canada (IRSC)**
Bourse Frederick Banting and Charles Best Canada Graduate Scholarships, mai 2016 (maîtrise) et mai 2017 (doctorat)
- **Bourses du Fonds de recherche du Québec – Santé (FRQS)**
Bourse pour détenteur d'un diplôme professionnel, mai 2016 (maîtrise) et mai 2017 (doctorat)
- **Centre de recherche sur le diabète de Montréal (CRDM)**
Prix de la meilleure présentation à la retraite annuelle, février 2017
- **Prix pour une présentation au Département de nutrition de l'Université de Montréal**
Prix pour une présentation orale, avril 2016 et prix pour une présentation par affiche, avril 2015
- **Bourses de la Faculté des études supérieures et postdoctorales de l'Université de Montréal et du Fonds Jean-Paul-Houle du Département de nutrition**
Bourses d'études de maîtrise et de congrès, novembre 2015 et avril 2016
- **Bourses d'été de Diabète Québec**
Bourses d'été pour étudiants à la maîtrise, été 2015 et 2016
- **Bourse d'études supérieures de la Corporation de recherche et d'action sur les maladies héréditaires**
Bourse de maîtrise, mai 2015

AUTRES ACTIVITÉS DE RAYONNEMENT

Clinique de l'IRCM

- Nutritionniste clinique aux cliniques de lipides, hypertension et diabète, à temps partiel, depuis 2018

Département de nutrition de l'Université de Montréal

- **Cours NUT2054 (Nutrition clinique : endocrinologie)** : Enseignement du cours "*Traitement nutritionnel du diabète associé à la fibrose kystique*", décembre 2019
- **Cours NUT6613 (Recherche clinique : aspects pratiques)** : Visite des installations de l'IRCM et enseignement du cours "*Mesure des apports alimentaires dans un contexte de recherche*", novembre 2017, 2018 et 2019
- **Cours NUT2038 (État nutritionnel : cas particuliers) et NUT2048 (Mesures de l'état nutritionnel)** : Auxiliaire d'enseignement, automne-hiver 2016 et 2017
- **Cours NUT6027 (Obésité et métabolisme)** : Enseignement du cours "*Les autres diabètes (Diabète de type 1, diabète post-greffe, diabète gestationnel et diabète associé à la fibrose kystique)*", hiver 2017
- **Cours NUT1035 (Nutrition et alimentation)** : Auxiliaire d'enseignement, automne 2017
- Évaluatrice et animatrice des sessions de présentations orales de la journée de la recherche des étudiants du 1er cycle du Département de nutrition, mai 2016 et 2017

LEAD-Meeting (Cystic fibrosis related-diabetes : Needs in clinical trials)

- Participation à un colloque portant sur les enjeux de la recherche clinique du diabète associé à la fibrose kystique, Strasbourg, France, février 2019

Camp d'hiver du Réseau de recherche en santé cardiométabolique, diabète et obésité (CMDO)

- Sélection de 20 candidats canadiens et français au doctorat pour participer à un camp de formation intensive (1 semaine) sur la recherche clinique portant sur la santé cardiométabolique, le diabète et l'obésité, Magog, février 2018

Symposium québécois des chercheurs et cliniciens FK

- Membre du comité organisateur et conférencière, mai 2018

Expériences d'encadrement

- Encadrement d'une stagiaire de recherche (3 mois), février à avril 2019
- Encadrement d'une stagiaire de recherche (5 mois avec crédits) du programme de Sciences biomédicales de l'Université de Montréal, septembre 2017 à février 2018

- Participation à la formation et à la supervision d'une étudiante en stage de recherche puis en maîtrise

Apprentissages principaux lors des stages : Initiation à la recherche clinique. Suivis de patients participant aux projets de recherche en fibrose kystique (rencontres cliniques, collecte de données, etc.), analyse de données, apprentissage de diverses techniques de dosages en laboratoire et participation à

Évaluation d'articles scientifiques pour une revue scientifique (comité de pairs)

- Journal *Diabetes & Nutrition*, mai 2020
- Journal *Appetite*, mars 2019
- Journal *Diabetes Care*, octobre 2017
- *Journal of Endocrine Society*, septembre 2017
- Journal *BMC Pulmonary Medicine*, juin 2017
- *Journal of Cystic Fibrosis*, septembre 2016