

Université de Montréal

**Physiopathologie du diabète secondaire à la fibrose
kystique.**

Études transversales et prospectives

Par

Imane HAMMANA

Département de nutrition

Faculté de médecine

Thèse présentée à la faculté des études supérieures

En vue de l'obtention du grade de Ph.D.

En Nutrition

Octobre 2009

© Imane Hammana, 2009

Université de Montréal
Faculté des études supérieures

Cette thèse intitulée :
Physiopathologie du diabète secondaire à la fibrose kystique.
Études transversales et prospectives

présentée par :
Imane HAMMANA

a été évaluée par un jury composé des personnes suivantes :

Dr Jean-Marie Ekoé, président-rapporteur

.....

Dr Rémi Rabasa-Lhoret, directeur de recherche

.....

Mme Lise Coderre, co-directrice

.....

Dr André Cantin, membre du jury

.....

Dre Hélène Perrault, examinateur externe

.....

Mme Josette Noël, représentante du doyen de la FES

Résumé

L'augmentation de l'espérance de vie chez les patients atteints de fibrose kystique (FK) entraîne une augmentation de la prévalence des anomalies de tolérance au glucose, soit l'intolérance au glucose (IGT) et le diabète (DAFK). En dépit du fait, que les anomalies de la tolérance au glucose soient associées à un mauvais pronostic, l'origine de ces troubles n'est pas encore clairement établie.

Notre objectif était d'examiner le rôle de l'insulinopénie et de la résistance à l'insuline dans la détérioration de la tolérance au glucose dans une cohorte prospective observationnelle patients FK non diabétique. Nos résultats démontrent une réduction marquée de la phase précoce de la sécrétion de l'insuline ainsi qu'une augmentation de l'aire sous la courbe de la glycémie (AUC) chez tous les groupes de patients. Nous avons aussi démontré qu'une variation de la sensibilité à l'insuline joue un rôle prépondérant dans les changements de catégorie de tolérance au glucose dans cette population. Finalement, il semblerait que l'augmentation de l'AUC du glucose et la réduction de la phase précoce de la sécrétion d'insuline sont des meilleurs prédicateurs du status clinique que les catégories de tolérance au glucose.

Il existe plusieurs indices pour évaluer la sécrétion d'insuline et pourtant aucun n'a été validé chez les patients FK. Nous avons examiné la validité des index de la sécrétion de l'insuline dérivés de l'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) ainsi que des valeurs à jeun par rapport au test de référence. Alors que la plupart des index calculés à partir de l'HGPO corrélaient significativement avec les valeurs du test de référence, cela n'est pas le cas pour les index calculés à partir des valeurs à jeun. La validation de ces index nous permet d'évaluer la sécrétion de l'insuline prospectivement dans notre cohorte de FK à partir de l'HGPO, est un test recommandé pour le dépistage du DAFK.

Les recommandations nutritionnelles suggèrent aux patients FK une diète comprenant environ 40% de lipides afin d'éviter la malnutrition. Nous avons examiné le profil lipidique des patients FK diabétiques et non diabétiques après une HGPO et un repas hyperlipidique (RT). Nos résultats démontrent que la FK est associée à des augmentations de l'excursion glycémique lors de l'HGPO ou d'un RT comparativement aux témoins. Cependant, le RT provoque 1) une plus faible excursion glycémique comparativement à l'HGPO ; 2) une meilleure suppression de la production hépatique de glucose et 3) l'excursion lipidique postprandiale des patients FK reste normale. Il est donc peu probable que les anomalies de la sécrétion de l'insuline par les cellules β soient secondaires à une lipotoxicité.

Nous avons aussi examiné les taux d'adiponectine, une hormone sécrétée par le tissu adipeux et pouvant moduler l'action de l'insuline. Les niveaux d'adiponectine corrélaient négativement avec plusieurs facteurs présents chez les patients FK incluant l'IGT, l'inflammation et une adiposité centrale en dépit d'un faible poids corporel. Les patients FK ne présentaient aucune altération des taux d'adiponectine malgré la présence d'une résistance à l'insuline, une inflammation sub-clinique et de l'IGT. La FK apparaît donc comme une condition où il existe une discordance entre les taux d'adiponectine et la résistance à l'insuline ou l'inflammation.

En conclusion la prévalence de l'IGT est élevée dans cette population caractérisée par une excursion glycémique anormalement plus élevée, due principalement à une altération de la sécrétion de l'insuline exacerbée par une résistance à l'insuline.

Mots clés : Adiponectine, Hyperglycémie par voie orale (HGPO), intolérance au glucose, fibrose kystique, diabète, résistance à l'insuline, sécrétion de l'insuline.

Abstract

Abnormal glucose tolerance is a frequent co-morbidity in cystic fibrosis patients (CF), and is associated with a worse prognosis. However, the most pertinent factors to predict the clinical status and the pathophysiology of glucose intolerance remain unclear. The aim of this study was to investigate the roles of impaired insulin secretion and insulin resistance in the progression of glucose intolerance from the normal state up to diabetes (CFRD) using an ongoing prospective observational cohort of non-diabetic CF patients. We demonstrated that CF patients displayed a reduced first phase insulin secretion across glucose tolerance categories (normal; intolerance and CFRD). Moreover, variation in insulin resistance has a significant impact on glucose tolerance in this population. Finally, early in the course of the disease, increased glucose area under the curve (AUC) and reduced first phase insulin secretion are better predictors of clinical status than conventional glucose tolerance categories.

Numerous indices to evaluate insulin secretion have been proposed, but their validity has not been explored in cystic fibrosis (CF). The aim of this study was to validate surrogate indices of insulin secretion calculated from fasting values or the oral glucose tolerance test (OGTT) in CF patients against the gold standard, the intravenous glucose tolerance test (IVGTT). This is an essential step to study the pathophysiological role of defective insulin secretion in the development of CFRD in large cohort. We showed that all insulin secretion indices correlated significantly with the IVGTT in control individuals. However, while OGTT-derived indices correlated significantly with the gold standard test in all CF groups, this was not the case for fasting-derived indices. Since the OGTT is required on a regular basis in CF patients to screen for CFRD, OGTT-derived indices should be used to evaluate insulin secretion.

Abnormal insulin secretion combined with recommended high fat intake could be associated with dysregulation of glucose and lipid metabolisms in CF patients. Thus, the second objective was to examine postprandial glucose and lipid profiles during an OGTT and a standardized high-fat test meal (TM) in CF patients. CF patients presented higher glucose excursion compared to controls after the OGTT and TM. This excursion was significantly reduced in both amplitude and length during the TM for CF patients. In addition, control and CF patients presented similar profiles for both triglycerides and fatty acids. These results exclude lipotoxicity as a major player in β cell defect for these patients. Circulating adiponectin levels are negatively associated with glucose intolerance, inflammation and central adiposity. Since these conditions are common in CF patients, we examined whether adiponectin values are altered in this population. CF patients did not show any changes in adiponectin levels despite insulin resistance, glucose intolerance and sub-clinical inflammation. Thus, CF appears to be one of the rare conditions in which discordance between adiponectin values and insulin resistance or inflammation is evident. In conclusion, CF patients are characterized by a high prevalence of glucose abnormalities due to an insulin secretion defect but also the contribution of insulin resistance.

Key words: Adiponectin, Cystic fibrosis, diabetes, glucose intolerance, Oral glucose tolerance test, insulin resistance, insulin secretion.

Table des matières

Identification du jury	ii
Résumé.....	iii
Abstract.....	v
Table des matières.....	vii
Liste des figures.....	xi
Liste des tableaux.....	xii
Liste des abréviations	xiii
Dédicace.....	xv
Remerciements.....	xvi

CHAPITRE 1 : Introduction

I. La fibrose kystique.....	2
1. Historique et définition.....	2
2. Le gène responsable de la fibrose kystique	5
3. Le lien génotype - phénotype.....	6
4. La protéine CFTR	8
5. L'espérance de vie	10
6. Physiopathologie :.....	11
A. Atteinte pulmonaire.....	11
B. Atteinte pancréatique.....	13
C. Manifestations additionnelles	16
II. La prise en charge nutritionnelle.....	17
1. Apport énergétique.....	18
2. Apport en lipides.....	19
3. Apport en hydrates de carbone.....	20
4. Apport en protéines.....	20
5. Autres considérations.....	21

III. Le diabète associé à la fibrose kystique (DAFK)	23
1. Définition du diabète.....	23
2. Le diabète de la fibrose kystique.....	26
A. Définition et classification du DAFK	26
B. Prévalence et incidence.....	27
C. Facteurs de risque.....	28
D. Présentation clinique.....	29
3. Dépistage du DAFK	29
A. La glycémie à jeun et opportuniste.....	29
B. L'hémoglobine glyquée (A1c ou HbA1c).....	30
C. Test d'hyperglycémie par voie orale (HGPO).....	30
4. Le rôle de la génétique dans la survenue du DAFK.....	32
5. L'impact du DAFK sur la santé des patients atteints de fibrose kystique.....	32
A. La réduction de la fonction pulmonaire.....	32
B. La mortalité.....	33
IV. Pathophysiologie du DAFK	33
1. La sécrétion d'insuline.....	33
2. La résistance à l'insuline.....	35
3. Adiponectine et DAFK.....	40
A. Mécanismes d'action de l'adiponectine.....	41
V. Le suivi et le traitement pharmacologique du DAFK	42
1. Le suivi des patients atteints de DAFK.....	42
2. Objectif du suivi.....	42
3. Modification du mode de vie du patient DAFK.....	43
4. Modalités du traitement du DAFK.....	43
VI. Conclusion	45
VII. Rationnel	46

CHAPITRE 2: Résultats.....	48
I. Increased glucose excursion in cystic fibrosis and its association with a worse clinical status.....	49
II. Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis patients.....	77
III. Dichotomy between postprandial glucose and lipid profiles in adults with cystic fibrosis: a pilot study	93
IV. Normal adiponectin levels despite abnormal glucose tolerance (or diabetes) and inflammation in adult patients with cystic fibrosis	116
V. No relationship between mean plasma glucose and glycated haemoglobin in patients with cystic fibrosis-related diabetes.....	142
VI. Abnormal glucose tolerance in the Montreal Cystic Fibrosis Cohort (MCFC): contribution of insulin resistance.....	163
 CHAPITRE 3 : Discussion.....	187
I. L'augmentation de l'excursion glycémique chez les patients atteints de fibrose kystique et son lien avec la dégradation de l'état clinique.....	188
II. Validation des indices de la sécrétion de l'insuline chez les patients atteints de FK.....	193
III. Dichotomie entre la glycémie postprandiale et le profil lipidique chez les patients atteints de FK	195

IV. Un taux d'adiponectine normal malgré l'intolérance au glucose et l'inflammation chez les patients adultes atteints de fibrose kystique.....	198
V. Absence de corrélation entre la valeur de la glycémie moyenne et l'hémoglobine glyquée chez les patients atteints de DAFK.....	201
VI. Tolérance au glucose chez les patients FK : la contribution de la résistance à l'insuline.....	204
VII. Conclusion	208
VIII. Perspectives.....	210
- Références bibliographiques.....	212
- Annexes.....	241
- Formulaire de consentement	

Liste des figures

- Figure 1 : Le mode de transmission autosomique récessif de la FK
- Figure 2 : Les différents organes touchés par la fibrose kystique
- Figure 3 : Les différentes classes de mutations de la protéine CFTR et leurs effets
- Figure 4 : Âge de survie chez les patients atteints de FK
- Figure 5 : Le pancréas endocrine
- Figure 6 : Estimation de la prévalence du DAFK
- Figure 7 : La première et la deuxième phase de sécrétion de l'insuline chez un sujet non-diabétique
- Figure 8 : Les mécanismes possibles liés au DAFK

Liste des tableaux

Tableau I : Les classes de mutations du CFTR et leurs effets

Tableau II : Les mutations les plus fréquentes

Tableau III : Fréquences des génotypes

Tableau IV : Résumé des lignes directrices de la Fondation de la fibrose kystique concernant la malnutrition nécessitant une intervention nutritionnelle

Tableau V : Classification étiologique du diabète sucré

Tableau VI : Comparaison du DAFK avec le diabète type 1 et de type 2

Tableau VII : Classification de la tolérance au glucose suite à une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) (75 g)

Liste des abréviations

ACD:	Association canadienne du diabète
ADA:	American Diabetes Association
Adipo R1 et 2:	Récepteurs 1 et 2 de l'adiponectine
AGL:	Acides gras libres
ARN:	ARN messenger
AUC:	Aire sous la courbe
CFTR :	Cystic fibrosis transmembrane conductance regulator
CGMS:	Enregistrement continu de la glycémie sous-cutanée
Cl ⁻ :	Ion chlore
CRP:	Protéine C réactive
DAFK:	Diabète associé à la fibrose kystique
DT1:	Diabète de type 1
DT2:	Diabète de type 2
ENac:	Epithelial Na channel
FEV ₁ :	Force expiratory volume in 1 second
FK:	Fibrose kystique
GAD:	Glutamic acid decarboxylase
GIP:	Gastric inhibitory peptide
GLP-1:	Glucagon-like peptide-1
GLUT-4:	Transporteur de glucose-4
HbA1c:	Hémoglobine glyquée
HGPO:	Hyperglycémie par voie orale

IA-2 :	Antityrosine phosphatase
IGF-1:	Insulin-like growth factor-1
IGT:	Intolérance au glucose
IL-1 et 6:	Interleukine-1 et -6
IMC:	Indice de masse corporelle
IS:	Sensibilité à l'insuline
IVGTT:	Test de tolérance au glucose par voie intraveineuse
KD:	Kilo Dalton
MCFC:	Montréal cystic fibrosis cohort
MCV:	Maladies cardiovasculaires
MODY:	Maturity diabetes of the young
NGT:	Tolérance normale au glucose
OMS:	Organisation Mondiale de la Santé
SOID:	Syndrome d'obstruction intestinale distale
TG:	Triglycérides
TNF- α :	Tumor necrosis factor-alpha
Δ F508:	Delta F508

*À ma tante **Karima***

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier le directeur de cette thèse, M. Rémi Rabasa-Lhoret pour m'avoir fait confiance malgré les embûches et pour m'avoir guidé, encouragé et conseillé...

Mes remerciements vont également à Mme Lise Coderre pour sa gentillesse ainsi que pour tous ses conseils et aussi pour m'avoir fait l'honneur de participer en tant que co-directrice de cette thèse.

Je ne sais comment exprimer ma gratitude à ces deux personnes autrement qu'en leur promettant d'agir comme eux avec des étudiants dans ma situation, si un jour l'occasion m'en est donnée.

Je remercie tous ceux sans qui cette thèse ne serait pas ce qu'elle est, aussi bien par les discussions que j'ai eu la chance d'avoir avec eux, leurs suggestions et leur soutien. Je pense ici en particulier au Dr Jean-Louis Chiasson, Mme Josée Bédard, Mme Stéphanie Potvin, Mme Annie Tardif, Mme Anne-Sophie Brazeau, Mme Sophie Ziai ainsi que toute l'équipe de la clinique de fibrose kystique du CHUM.

Mes remerciements aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur de participer à l'évaluation de cette thèse.

Un gros merci à mon conjoint qui a su être patient et compréhensif, pour ses encouragements, son amour et son assistance morale qui m'ont permis de faire cette thèse dans de bonnes conditions. Je remercie ma tante Fatma et son conjoint Bassim ainsi que mes précieux parents et mes deux frères qui ont toujours cru en moi. Mes remerciements ne sauraient être complets sans une pensée toute spéciale pour mon précieux trésor qui a su remplir ma vie de tant de bonheur, mon fils Kamil.

CHAPITRE 1

Introduction

I. La fibrose kystique

1. Historique et définition

Bien qu'elle soit connue depuis le moyen âge par les mères dont l'enfant avait un baiser salé, la fibrose kystique (FK), ou mucoviscidose, a été décrite scientifiquement comme une maladie dans les années trente. Welsh cite un vieil adage du folklore de l'Europe du Nord « Malheur à l'enfant chez qui un baiser sur le front a un goût salé. Il est ensorcelé et doit bientôt mourir » (1). Au XIX^e siècle, le médecin viennois Karel Rokitansky signale un cas fatal de péritonite méconiale chez un fœtus (40; 62), qui sera décrit par Landsteiner en 1905 comme une complication néonatale de l'iléus méconial (occlusion intestinale due à un méconium épais) présent chez certains enfants atteints de FK (172). La FK fut identifiée comme une maladie distincte en 1938 par la pédiatre américaine Dorothy Hansine Andersen du Babies' Hospital de New York, qui publia un article intitulé «fibrose kystique du pancréas et ses relations avec la maladie cœliaque» (17; 62).

Le caractère héréditaire et le mode de transmission récessif furent suggérés en 1945 par les Dr H.D. Andersen et R.C. Hodges (17) et c'est en 1953 que le Dr Paul di Sant' Agnese découvre et décrit les anomalies électrolytiques dans la sueur des malades (augmentation importante du chlorure, du sodium et celle moins marquée du potassium) (17; 70). Cette découverte a permis d'établir un diagnostic spécifique à la maladie : le test de la sueur (44; 192).

La FK est la plus fréquente des maladies génétiques héréditaires autosomiques récessives graves dans les populations d'origine européenne. Elle touche en moyenne une naissance sur 3000 avec une prévalence de 1/25 de porteur du gène (hétérozygote), soit 4% de la

population occidentale (7; 76). Au Canada, un nouveau-né sur 3 600 est victime de cette maladie. Elle est toutefois plus rare chez les Noirs (1/13 000) et les Orientaux (1/50 000). Par contre, la prévalence est similaire entre les hommes et les femmes. Chez la plupart des personnes atteintes, le diagnostic est posé avant l'adolescence (7; 76).

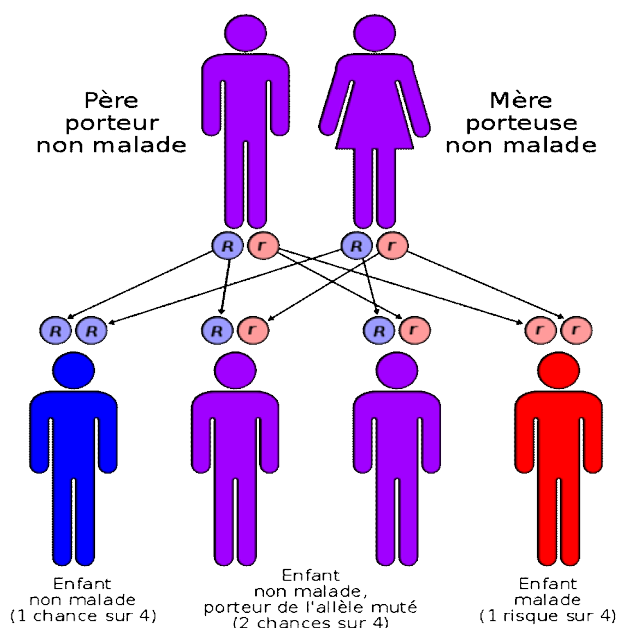


Figure 1 Le mode de transmission autosomique récessif de la fibrose kystique. Deux parents porteurs d'une mutation du gène CFTR auront à chaque grossesse, un risque de 25% d'avoir un enfant porteur du gène sain, de 50% d'avoir un enfant porteur d'un gène muté et un gène sain (enfant non-malade), et de 25% d'avoir un enfant porteur de deux gènes mutés et donc malade (11; 203).

La présentation clinique de la FK est très polymorphe (pénétrance variable), tant entre les familles qu'au sein de la même famille. La FK affecte la plupart des organes comportant

un tissu épithélial à l'origine des transports hydroélectrolytiques transépithéliaux, principalement les voies aériennes, le pancréas, les voies biliaires, les glandes sudoripares, le tractus génital, et l'intestin (48; 56; 62; 63; 177). La maladie est caractérisée par un mucus épais qui affecte la fonction des tissus cibles.

Les circonstances du diagnostic de la maladie sont variables. La FK est identifiée dès la naissance chez 10% des nouveau-nés suite à un iléus méconial. Plus tard, les symptômes touchent le pôle respiratoire et le pôle digestif entraînant des infections pulmonaires à répétition et des signes cliniques d'une malabsorption des nutriments. Cela se traduit par une malnutrition chez la majorité des patients (111; 167; 230). À l'âge adulte, l'atteinte respiratoire est liée à une obstruction des bronchioles par un mucus épais et visqueux, propice à la croissance des micro-organismes. L'atteinte respiratoire est la principale cause de morbidité et de mortalité (111; 175; 232).

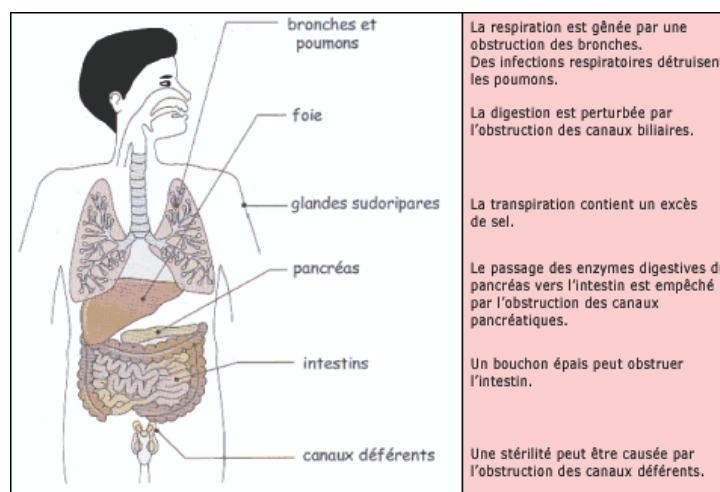


Figure 2 Les différents organes touchés par la fibrose kystique.

Approximativement 90% des patients FK présentent des atteintes pancréatiques exocrines entraînant un défaut d'absorption des acides gras essentiels, des protéines et des vitamines liposolubles (A, D, E, K) et hydrosolubles (B12). Cette malabsorption des nutriments se manifeste par un retard de croissance, un retard pubertaire, des anémies et des selles molles. La FK est aussi associée à l'apparition d'une pancréatite se traduisant par un diabète secondaire chez un adulte sur deux (94; 213; 232).

2. Le gène responsable de la fibrose kystique

Le gène responsable de la maladie a été identifié par John Riordan en 1989 et depuis, plus de 300 allèles ont été découvertes. Ceci a mené à l'identification du régulateur de la conductance transmembranaire de la fibrose kystique (*Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator* (CFTR)) (114; 181). Ce gène code pour une protéine transmembranaire de 1480 acides aminés, la protéine CFTR, dont la fonction est essentielle à l'organisme (49; 77; 138; 177).

Le gène CFTR est constitué d'environ 250 000 paires de bases réparties en 27 exons et codant pour un ARNm de 6,5 kb. Il est localisé sur le locus 7q31.2 dans la région q31.2 du bras long du chromosome 7 (49; 63; 77; 138). En 2007, on avait dénombré plus de 1500 mutations différentes du gène CFTR (5; 61; 192). Ces mutations sont regroupées en six classes en fonction des conséquences fonctionnelles qu'elles occasionnent. Certaines mutations entraînent des anomalies quantitatives et/ou qualitatives de la protéine CFTR (Tableau I) (5; 61).

La principale activité du canal CFTR est le transport de chlorure et la régulation d'autres canaux ioniques épithéliaux. Le canal CFTR est exprimé aux niveaux des glandes sudoripares, du pancréas, de l'intestin ainsi que de plusieurs autres organes (Figure 2).

Tableau I Les classes de mutations du CFTR et leurs effets (149)

Classe 1	Absence de transcription du gène CFTR
Classe 2	Absence de transfert de la protéine CFTR à la membrane apicale
Classe 3	La protéine CFTR ne peut être activée
Classe 4	Le transfert ionique de la protéine est réduit
Classe 5	La synthèse de la protéine est partiellement anormale
Classe 6	La régulation des autres canaux est défailante

3. Le lien génotype et phénotype

Le lien entre la mutation (génotype) et les manifestations cliniques (phénotype) de cette maladie varie en fonction de la mutation du gène CFTR (2; 137). Les mutations de la classe 1 à 3 se traduisent par une activité très faible ou indétectable de la protéine CFTR et sont associées à des atteintes pancréatiques exocrines sévères, alors que les classes 4 à 6 ne sont pas associées à une insuffisance pancréatique exocrine (Figure 3) (2; 177).

Des études épidémiologiques ont démontré que certaines mutations entraînent plus de troubles fonctionnels que d'autres. Ainsi, la mutation la plus fréquente consiste en la délétion d'un acide aminé (la phénylalanine) en position 508 (Delta F508 ou $\Delta F508$). Cette mutation est retrouvée chez les deux tiers des patients atteints de FK (138; 177; 181). Les patients homozygotes pour la mutation $\Delta F508/\Delta F508$ (classe 2) présentent une forme classique de la maladie caractérisée par une augmentation des électrolytes dans la sueur, une insuffisance pancréatique et une atteinte pulmonaire souvent sévère (27; 137). Seules quatre autres mutations en dehors du $\Delta F508$ représentent plus de 1% des cas. Il s'agit de G542X, G551D, N1303K et W1282X. Toutes les autres mutations sont rares, et leur diagnostic reste exceptionnel, étant retrouvé uniquement au sein d'une seule famille (27; 137). Les mutations les plus fréquentes ainsi que les génotypes des populations caucasiennes sont présentés dans les Tableaux II et III.

Tableau II Les mutations les plus fréquentes (5)

Nom de la mutation	Fréquence	Nom de la mutation	Fréquence
$\Delta F508$	66.0 %	R553X	0.7 %
G542X	2.4 %	621+1G	0.7 %
G551D	1.6 %	1717-1G	0.6 %
N1303K	1.3 %	R117H	0.3 %
W1282X	1.2 %	R1162X	0.3%

Tableau III Génotypes (77)

Paire de mutations	Fréquence
$\Delta F508$ - $\Delta F508$ (homozygote)	50%
$\Delta F508$ – Autre mutation (hétérozygote composite)	40%
Autre mutation - autre mutation	10%

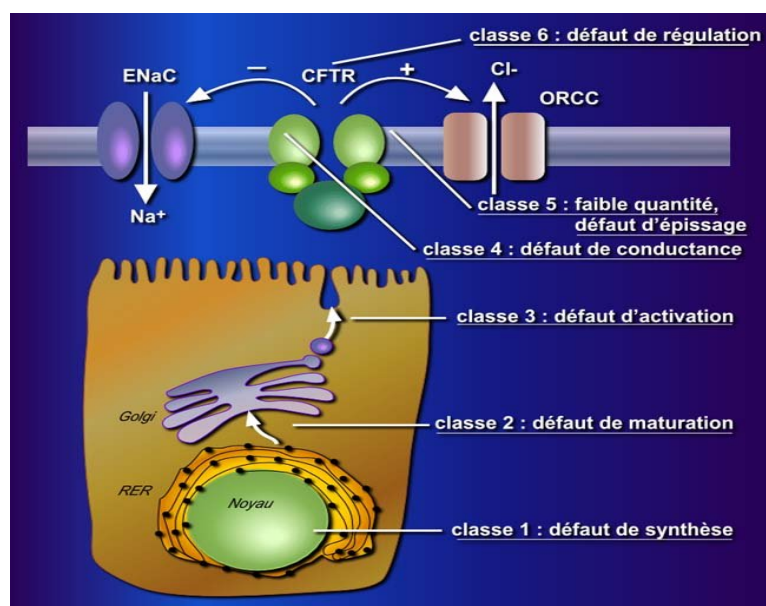


Figure 3 Les différentes classes de mutations de la protéine CFTR et leurs effets (48)

4. La protéine CFTR

Le CFTR est une protéine transmembranaire de 1480 acides aminés et de poids moléculaire de 168 KD. Sa fonction est essentielle à l'organisme (24; 49). Le CFTR appartient à la famille des protéines ABC (*ATP-binding cassette*). La protéine CFTR a plusieurs

fonctions. La plus importante est probablement celle d'un canal chlorure qui permet aux ions chlore de quitter la cellule épithéliale. Ceci s'accompagne d'une sortie d'eau. Le transport du chlorure à travers l'épithélium est en partie modulé par les variations du taux d'AMP cyclique intracellulaire (101). La liaison de l'ATP sur le CFTR entraîne un changement de la configuration de la protéine et permet l'ouverture du canal. La liaison d'une deuxième molécule d'ATP permet de prolonger le temps d'ouverture du canal qui se referme lorsque l'ATP est hydrolysé en ADP (101; 194). Ce canal étant défectueux dans la FK, la rétention des ions chlore à l'intérieur de la cellule empêche la sortie passive d'eau et entraîne une déshydratation des sécrétions et du mucus, ce dernier devenant épais et visqueux. Au niveau des glandes sudoripares, la concentration élevée d'ions chlore dans la sueur des malades est due à l'orientation inversée des flux d'ions (101; 155; 194).

La protéine CFTR régule aussi d'autres canaux comme le canal sodium épithélial (ENaC) et les canaux potassium. Elle aurait aussi un rôle dans le transport de l'ATP, la modulation des mouvements d'exocytose et d'endocytose et la régulation du pH (47; 88; 194). Le CFTR est localisé à la membrane apicale des cellules épithéliales de différentes glandes et organes.

5. Espérance de vie

En 1959, i.e. avant l'arrivée des antibiotiques, l'espérance de vie chez la majorité des enfants atteints de FK était de trois ans. De nos jours, l'âge médian de survie est de 37 ans (Figure 4) (61; 76).

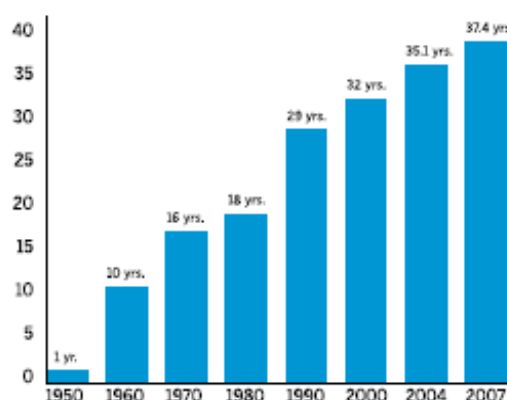


Figure 4 Âge médian de survie chez les patients atteints de FK

D'après les données du registre de la fondation de Fibrose kystique (61)

La prévalence de la FK est similaire chez les hommes et les femmes. Cependant, l'atteinte est souvent plus grave chez les femmes, avec des infections au *Pseudomonas aeruginosa* plus précoce, des atteintes pulmonaires et des troubles nutritionnels plus sévères et une espérance de vie plus courte que celle des hommes (132; 149; 203). Des études récentes ont démontré qu'in vitro, le 17 β -œstradiol contribue à la réduction de la sécrétion de chlorure des cellules épithéliales pulmonaires (132; 149; 203; 234). Les femmes pourraient donc présenter une diminution encore plus importante de la sécrétion de chlorure, ce qui pourrait favoriser des infections pulmonaires plus sévères dues à l'épaississement du mucus aux niveaux des bronches. Des études subséquentes seront nécessaires pour clarifier le rôle des œstrogènes dans la susceptibilité aux infections chez les femmes (périodicité des infections liées au cycle menstruel ainsi que les modifications hormonales à la puberté, etc.) (234).

6. Physiopathologie

A. Atteinte pulmonaire

Les échanges gazeux sont la principale fonction des poumons. Cependant, ces organes participent à d'autres fonctions telles que la régulation du métabolisme acido-basique et la filtration du sang en éliminant de petits caillots. Lors d'un effort physique, le mouvement thoracique forme des cycles respiratoires (inspiration et expiration) qui permettent à des quantités importantes d'air d'être filtrées par des alvéoles lors des échanges gazeux. Le long des voies respiratoires sont disposées des cellules sécrétant du mucus, des glandes et des cellules ciliées, ce qui permet de créer une couche de mucus tapissant les voies respiratoires permettant ainsi d'accrocher les particules nuisibles (poussière, bactéries, etc.) (227). Par la suite, et grâce aux mouvements des cils, ce mucus est déplacé vers le pharynx permettant son élimination dans le tube digestif. Ceci constitue le mécanisme le plus important de défense du poumon contre l'agression extérieure. En plus de cette barrière physique, on retrouve des cellules immunitaires telles que les macrophages, qui, par phagocytose, renforcent le système de protection des poumons (227).

Le liquide de la surface bronchique est composé d'eau et de mucus. Le canal CFTR induit une sécrétion active de chlorure vers ce liquide et interagit avec le canal sodique. Ce mouvement de chlorure entraîne un mouvement de sodium et d'eau. Cette sécrétion d'eau a pour effet d'hydrater le liquide de surface bronchique et de maintenir ses propriétés physiologiques pour une clairance muco-ciliaire efficace (60; 176; 220). L'atteinte fonctionnelle des canaux CFTR chez les patients atteints de FK entraîne un trouble d'hydratation du liquide de la surface bronchique donnant un mucus anormalement épais et

hypertonique que les cils ne peuvent plus déplacer à une vitesse convenable. Cela conduit souvent à une obstruction chronique des bronches ainsi qu'à la mauvaise évacuation des poussières et des bactéries (50; 63; 158; 169). Une autre théorie suggère que la modification de la concentration en sel (NaCl) du liquide à la surface des voies respiratoires pourrait entraîner la colonisation bactérienne et l'obstruction des voies respiratoires (197).

Cette théorie a été abandonnée suite aux travaux de Verkman et coll. qui ont démontré qu'il n'y avait pas d'augmentation des ions de sel dans le liquide de la surface des voies aériennes des patients atteints de FK (108; 118; 135; 202).

Les complications pulmonaires sont responsables de 90% des décès chez les patients atteints de FK. Elles sont donc la principale cause de la morbidité et de la mortalité chez ces patients. Il existe un cycle d'inflammation chronique des bronches accompagné d'une surinfection bactérienne pouvant causer la dégradation de l'état pulmonaire. Les principaux germes colonisant les voies aériennes sont l'*Haemophilus influenzae* et le *Staphylococcus aureus*, puis le *Pseudomonas aeruginosa* à un stade plus avancé (48; 60; 85; 232). Une fois l'atteinte respiratoire installée, les patients peuvent présenter des douleurs thoraciques, des pneumopathies récurrentes et des formes anormales d'asthme. Les lésions des poumons s'aggravent progressivement, et cela peut aboutir à une insuffisance respiratoire majeure pouvant être mortelle et nécessitant, chez la majorité des patients, une greffe des poumons (32).

B. Atteinte pancréatique

Le pancréas est situé dans la partie supérieure de l'abdomen, et comporte 4 parties. La tête et l'isthme qui s'insèrent dans le cadre du duodénum, et le corps et la queue qui se prolongent jusqu'au bord de la rate (227). Le pancréas comporte deux parties distinctes aux niveaux anatomiques et fonctionnels: une partie endocrine et une partie exocrine.

Le pancréas est généralement atteint dans ses fonctions endocrines et exocrines. Plusieurs mutations du gène CFTR, dont les classes 1-3, se traduisent par une très faible activité du CFTR et sont reliées à l'insuffisance pancréatique exocrine (53; 177). Celle-ci est observée chez 90% des patients FK (34; 195).

La fonction exocrine du pancréas

Environ 80 % de la masse glandulaire du pancréas est responsable de la sécrétion exocrine i.e. des enzymes responsables de la digestion des protéines, des triglycérides et des glucides (227). Les enzymes pancréatiques sont actives à un pH alcalin compris entre 7,5 et 8,2, ce qui permet de tamponner le chyme stomacal. Les cellules du pancréas exocrine, ou cellules acineuses, contiennent des échangeurs $\text{Cl}^-/\text{HCO}_3^-$ qui sont responsables de la sécrétion de bicarbonate, eux-mêmes dépendant du chlorure luminal. Ce chlorure est fourni par le canal à chlorure activé par l'AMP cyclique. Dans la FK, la détérioration de la sécrétion de chlorure entraîne une diminution de la production de bicarbonate, et une incapacité à hydrater et à alcaliniser adéquatement les sécrétions protéiques concentrées des cellules acineuses pancréatiques (22; 34; 35; 227). Ce matériel de nature protéique (lipase, protéase, amylase) devient épais et obstrue les canaux de sécrétion. La réduction de la

sécrétion de bicarbonate se traduit aussi par une incapacité à neutraliser l'acide duodéal (22; 34; 35; 81; 227). De plus, l'activité de la lipase est réduite. Ainsi, la biodisponibilité des enzymes s'en trouve altérée. Il en résulte une destruction des cellules acineuses, une fibrose, une diminution de la sécrétion d'enzymes pancréatiques et une malabsorption importante des nutriments (111; 162; 193). Lorsque les fonctions pancréatiques exocrines sont significativement altérées, on parle d'insuffisance pancréatique exocrine (22; 35; 81). Il s'ensuit une stéatorrhée, une diminution de l'absorption des vitamines liposolubles et des acides gras essentiels et qui affectera le statut pondéral et pubertaire des enfants (134; 167; 204; 230).

La fonction endocrine du pancréas

La partie endocrine du pancréas représente 2% du pancréas total et reçoit 10% de l'irrigation sanguine (227). Le pancréas endocrine se présente sous forme d'amas compacts et sphériques connu sous le nom d'îlots de Langerhans. La partie endocrine est responsable de la synthèse d'hormones. Celles-ci sont libérées directement dans la circulation sanguine (Figure 5) et agissent sur des tissus cibles. Les quatre produits synthétisés par le pancréas endocrine sont :

- L'insuline, sécrétée par les cellules β du pancréas (80% des cellules des îlots)
- Le glucagon, sécrété par les cellules α du pancréas (15% des cellules des îlots)
- La somatostatine, sécrétée par les cellules γ du pancréas (2% des cellules des îlots)
- Les polypeptides pancréatiques, sécrétés par les cellules PP du pancréas (1% des cellules des îlots).

Le glucagon et l'insuline sont deux hormones complémentaires nécessaires à la régulation de la glycémie.

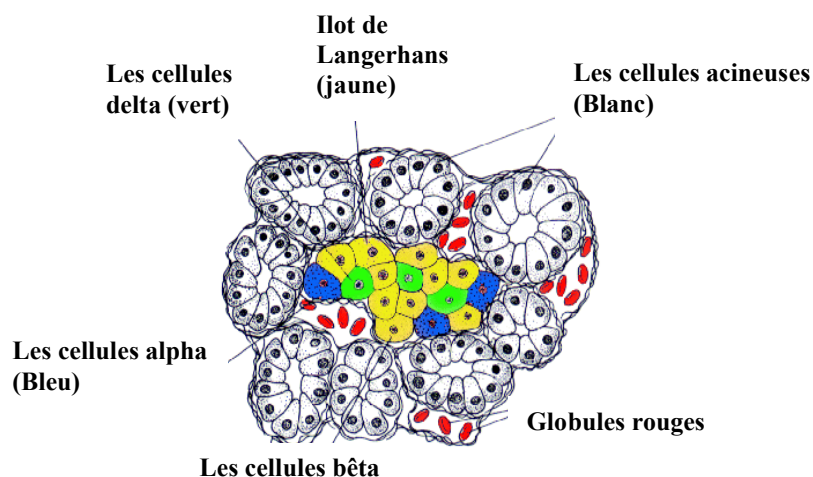


Figure 5 Le pancréas endocrine

La perte de la fonction endocrine est principalement caractérisée par la diminution de la sécrétion d'insuline par les cellules β , du glucagon par les cellules α et des polypeptides pancréatiques par les cellules PP (12; 53; 146; 210). La principale manifestation clinique de cette perte fonctionnelle est le diabète secondaire à la fibrose kystique (DAFK). Celui-ci est précédé d'une longue phase d'intolérance au glucose (pré-diabète). Les causes de la perte de la fonction endocrine du pancréas restent très controversées. Une des hypothèses est que les atteintes exocrines conduisent progressivement à la destruction des cellules β , induisant une réduction de la sécrétion de l'insuline (61; 146; 213).

C. Manifestations additionnelles

Au niveau hépatobiliaire, la viscosité de la bile augmente suite au dysfonctionnement de la protéine CFTR des cellules épithéliales biliaires. Cela cause une obstruction des canaux qui peut éventuellement conduire à une cirrhose hépatique (52; 142; 199). Le tiers des patients atteints de FK présente des atteintes au niveau du foie. Les conséquences de la cirrhose biliaire sont les mêmes que chez la population générale et incluent l'hypertension au niveau de la veine porte, l'insuffisance hépatocellulaire et les hémorragies digestives pouvant conduire à la greffe hépatique (52; 142; 199).

Le syndrome d'obstruction intestinale distale, reconnu comme l'équivalent de l'iléus méconial, est l'obstruction partielle ou complète de l'intestin due à l'accumulation de masses fécales, habituellement dans le caecum. Ce désordre se rencontre chez 15% des patients atteints de FK (17; 35; 219). Les patients se plaignent de bruits abdominaux ou de crampes, d'une diminution graduelle des selles et de constipation. Chez la plupart des patients, les masses fécales sont facilement palpables et la radiographie n'est pas toujours nécessaire. Le mécanisme lié à cette obstruction est la diminution d'eau et de bicarbonate dans l'intestin, une augmentation de la viscosité du contenu intestinal, un pH acide qui conduit à une précipitation des protéines et à un ralentissement de la motilité gastrique (35; 193; 219)

D'autres pathologies ont aussi été observées chez les patients FK. Plus de 95% des hommes atteints de FK sont stériles en raison d'une azoospermie obstructive alors que 80%

des femmes sont fertiles (81; 200) . Les patients FK présentent aussi des anomalies des glandes sudoripares conduisant à une perte de sel et qui est responsable de la déshydratation lors d'une exposition à la chaleur. Finalement, ces patients ont des affections rhinosinusiennes fréquentes. Une inflammation et une infection chronique entraînent une sinusite chronique et secondairement une polypose nasale (183; 222; 228).

II. La prise en charge nutritionnelle

La fréquence de la dénutrition chez les patients FK varie de 15 à 44% selon les études (134; 167; 230). Un déficit nutritionnel sévère est très difficile à corriger. Pour cette raison, on favorise une prise en charge précoce et individualisée de la dénutrition (134; 156; 157). La prise en charge des manifestations nutritionnelles et digestives est inséparable de la prise en charge des atteintes pulmonaires car elle influence fortement et directement le pronostique (63; 157; 167; 224). La dénutrition chronique corrèle directement avec la baisse de la fonction pulmonaire et des taux de survie (33; 63; 87; 157; 167; 224).

Dans la FK, la dénutrition est due à la fois à la réduction des ingestats (anorexie, inconfort digestif) et à l'augmentation des pertes (insuffisance pancréatique, insuffisance intestinale, métabolisme au repos élevé) (94; 111; 213). Jusqu'à ce jour, il n'existe pas d'études prospectives contrôlées importantes concernant la prise en charge nutritionnelle des patients atteints de FK. Les recommandations varient donc selon les pays (111; 149; 213). De ce fait, l'évaluation de l'état nutritionnel est essentielle dès le dépistage de la FK. L'estimation de la balance énergétique, des principaux paramètres plasmatiques et du statut minéral osseux sont généralement inclus (81; 111; 149). Les évaluations biochimiques doivent être utilisées conjointement aux mesures anthropométriques pour évaluer l'état

nutritionnel et l'état de santé global du patient. Le but est de maintenir un indice de masse corporelle $>20 \text{ kg/m}^2$ (6).

Tableau IV Résumé des lignes directrices de la Fondation de la fibrose kystique sur la malnutrition nécessitant une intervention nutritionnelle.

Age (années)	< 5	5-18	> 18
Indice poids/taille			
vs poids idéal/taille idéale	< 85%	< 85%	< 85%
Perte de poids	Pendant < 2mois ou arrêt du gain pondéral pendant 2-3 mois	Pendant <2 mois ou arrêt du gain pondéral pendant 6 mois	$\geq 5\%$ pendant > 2 mois.

*Adapté des lignes directrices consensuelles de 1990 de la Fondation de la fibrose kystique.

1. Apport énergétique

En l'absence de traitements enzymatiques, l'insuffisance pancréatique entraîne une malabsorption des nutriments et un déficit énergétique (74; 111; 134; 157; 162; 230). On encourage les patients FK présentant une insuffisance pancréatique à suivre un régime hypercalorique et riche en lipides (25-35%) et en protéines (15-20%) (6; 111; 134) avec un supplément approprié en enzymes pancréatiques et en vitamines liposolubles. Des extraits d'enzymes pancréatiques gastro-résistantes doivent être pris au début de chaque repas. La dose doit être adaptée en fonction de l'âge du patient et est définie pour chaque individu. Cependant, elle ne doit pas dépasser 100 000 UI/jour.

L'apport calorique ne devrait jamais être restreint chez les patients FK avec ou sans DAFK parce que ces patients ont une dépense énergétique au repos qui correspond à 130-150% de celle des sujets normaux ajustés en fonction de l'âge (6; 111; 134; 198). Un régime riche en énergie et en protéines est recommandé afin de corriger ou de prévenir la malnutrition, en particulier en périodes d'infections (8). Cela dit, les études comprenant des cohortes d'enfants ou d'adultes atteints de FK ont démontré qu'un apport énergétique élevé était difficile à atteindre (19; 113). Cela est particulièrement vrai pour les patients atteints de DAFK qui ont en général un apport énergétique plus faible que les patients FK non-diabétiques (145). Donc, un apport calorique satisfaisant doit être maintenu chez les patients atteints de DAFK. La prise en charge nutritionnelle est faite au cas par cas selon la sévérité et la durée de la malnutrition. De plus, l'insuffisance pancréatique, les mutations sévères ainsi que le sexe féminin sont les facteurs qui contribuent le plus à l'augmentation de la dépense énergétique au repos (15; 81; 203).

L'exercice physique est recommandé chez les patients FK afin d'améliorer la fonction pulmonaire (159; 217; 226); Par contre son rôle dans le traitement du DAFK ou de l'intolérance au glucose n'a pas été beaucoup étudié (232) .

2. Apport en lipides

Les recommandations concernant l'apport en lipides pour les patients atteints de DAFK sont de 25-35% de l'apport énergétique total journalier. La proportion des patients atteints de FK qui présentent une hyperlipidémie est faible (< 15%) (79; 91). Contrastant avec ce qui est observé dans le diabète de type 2 ou le déséquilibre glycémique est associé à une hyperlipidémie, les études disponibles ne rapportent pas d'association entre le degré d'intolérance au glucose et les niveaux de lipides plasmatiques (43; 91; 184).

3. Apports en hydrates de carbone

Un apport énergétique quotidien constitué de 45-60% d'hydrate de carbone est recommandé pour les patients atteints de DAFK. Par contre, les sucres raffinés doivent représenter seulement 10% de cet apport. Il est fortement suggéré de répartir les glucides au cours de la journée et/ou de choisir des sucres à faible indice glycémique afin de minimiser les excursions glycémiques (98; 111; 145; 167). Les apports, le type et l'heure de la consommation des hydrates de carbone sont des facteurs essentiels dans la prise en charge et le contrôle du diabète. Il est essentiel de créer un équilibre entre la quantité ingérée, l'éventuel traitement hypoglycémiant et les niveaux d'activité physique (98; 145).

4. Apports en protéines

Le métabolisme protéique est fortement affecté chez les patients atteints de DAFK. Des études démontrent que les niveaux de protéolyse sont significativement augmentés chez ces patients (61; 134; 167). Les besoins en protéines des patients atteints de FK n'ont jamais vraiment été établis. Néanmoins, il est souhaitable d'augmenter les apports en protéines pour compenser les pertes en azote dans les fèces et assurer une bonne croissance. Les recommandations actuelles suggèrent que les protéines doivent constituer de 15-20% des apports journaliers. Ces recommandations sont les mêmes pour les patients atteints de DAFK (111; 162; 167).

5. Autres considérations

Une concentration élevée d'eau et de sodium est excrétée dans la sueur des patients atteints de FK due au dysfonctionnement des canaux CFTR et ENac (Epithelial Na channel) qui régulent le passage du chlore et du sodium. Les besoins en sodium et en eau sont donc majorés suite à une sudation importante, surtout pendant les périodes chaudes, et doivent être compensés par un apport en sel de ≤ 6 g/jour (69).

Un apport complémentaire en vitamines, principalement les vitamines liposolubles comme les vitamines D, E et A, est nécessaire dès le diagnostic d'insuffisance pancréatique exocrine (134; 167; 230). Les apports se font au double de la posologie habituelle sous forme de comprimés polyvitaminiques solubles. Dans de rares cas, essentiellement durant la première année de la vie de l'enfant ou durant des périodes de traitements antibiotiques prolongés la vitamine K est prescrite (19; 74; 216).

Une assistance nutritionnelle est généralement requise en cas de dégradation de l'état nutritionnel sans que les bénéfices ne soient clairement démontrés (198; 211). Elle repose essentiellement sur des suppléments oraux qui sont largement utilisés chez les patients atteints de FK et qui ont l'avantage de remplacer les apports recommandés quotidiens. En cas d'échec, on doit envisager d'autres méthodes pour assurer un bon équilibre nutritionnel :

- La nutrition par voie entérale administrée directement dans l'estomac via une sonde naso-gastro jéjunale et/ou parentérale par voie veineuse centrale (veine jugulaire interne ou veine sous-clavière) semble d'autant plus efficace qu'elle est commencée

tôt. Cependant, le mode d'administration est souvent mal toléré ou mal accepté par le patient (14; 162; 212).

Des études ont démontré que la nutrition par voie entérale augmente de 64% le risque de développer une hyperglycémie chez les patients FK (112; 140). Celle-ci peut donc représenter un facteur de risque du DAFK. Il est donc recommandé d'effectuer une surveillance régulière des glycémies capillaires.

- L'administration des nutriments sous forme d'une solution lipidique, par voie intraveineuse (ou la nutrition parentérale) est invasive et nécessite une voie veineuse centrale pour être efficace (162; 212). Elle permet un regain de poids, mais expose le patient à des risques d'infections et son utilisation reste exceptionnelle. Les patients DAFK doivent être surveillés à toutes les heures au début du traitement. Par la suite un dosage de la glycémie plasmatique se fait à tout les 4 à 6 heures avec des ajustements des doses d'insuline.

III. Le diabète de la fibrose kystique :

1. Définition du diabète

Le diabète sucré est défini comme un trouble métabolique caractérisé par la présence d'une hyperglycémie attribuable à un défaut de la sécrétion et/ou de l'action de l'insuline. Le diabète est la première cause d'insuffisance rénale terminale (néphropathie) et d'amputation non traumatique et la deuxième cause de cécité (rétinopathie) (41; 116). C'est aussi une cause importante de neuropathie et de maladie cardiovasculaire (MCV). Les patients atteints de diabète ont cinq fois plus de risques de développer des MCV comparativement aux sujets non diabétiques. De plus, les personnes diabétiques ont un taux de risque d'épisode cardiovasculaire similaire aux patients avec des antécédents d'infarctus du myocarde (116; 236). Finalement, 65% à 75 % des patients diabétiques décèdent suite à une MCV (128).

La «dysglycémie» est un terme qualitatif servant à décrire une glycémie anormale sans en définir le seuil. L'adoption de ce terme reflète l'incertitude qui existe en ce qui constitue une gamme de glycémies optimales et le fait qu'on sait maintenant qu'une glycémie même très peu élevée est associée à un risque de MCV et de mortalité (20; 20; 116; 116).

On reconnaît deux principaux types de diabète : le diabète de type 1 et le diabète de type 2. Le diabète de type 1 se manifeste principalement pendant l'enfance, à l'adolescence et chez les jeunes adultes. Il représente 5 à 10% de tous les cas de diabète. Il se caractérise par l'absence totale de la production d'insuline suite à une atteinte auto-immune et à la

destruction subséquente des cellules β des îlots du pancréas. Il est souvent diagnostiqué lorsque l'hyperglycémie est déjà bien établie et que le nombre des cellules β atteintes dépasse 80% (3; 20).

Le diabète de type 2 se manifeste plus tardivement dans la vie. Plus de 90% des cas de diabète sont de type 2. C'est une maladie hétérogène où la génétique et le mode de vie jouent un rôle dans l'homéostasie du glucose ainsi que sur celle des lipides et des acides aminés (3; 20).

Tableau V Classification étiologique du diabète sucré (3; 20)

Classification étiologique du diabète sucré
1. Diabète sucré de type 1 a. auto-immun (destruction des cellules β) b. idiopathique (rare, sans élément pour facteur auto-immun)
2. Diabète sucré de type 2 résistance à l'insuline et défaut de sécrétion d'insuline
3. Types spécifiques de diabète a. Défaut génétique de la fonction des cellules β (Maturity Diabetes of the Young: MODY). Actuellement, cinq défauts différents sont connus pour le diabète de type MODY: MODY 1: défaut de l'hépatocyte nuclear factor 4 α (HNF-4 α) MODY 2: défaut de la glucokinase MODY 3: défaut de l'HNF-1 α MODY 4: défaut de l'IPT-1 (insulin promoter factor-1) MODY 5: défaut de l'HNF-1 α , diabète mitochondrial, autres b. Défaut génétique de l'action de l'insuline c. Maladies du pancréas exocrine (pancréatite, néoplasie, fibrose kystique, autres) d. Endocrinopathies (acromégalie, syndrome de Cushing, autres) e. Induit par les médicaments (stéroïdes, pentamidine, autres) f. Infections (rougeole congénitale, oreillons, virus Coxsackie, cytomégalovirus) g. Formes rares de diabète immunogène (syndrome de Stiff-Man, autres) h. Autres syndromes génétiques associés au diabète (trisomie 21, autres)
4. Diabète gestationnel

À ce jour, la cause réelle du diabète demeure inconnue. Nous savons toutefois que certains facteurs peuvent influencer l'apparition de celui-ci incluant l'hérédité, l'obésité, la grossesse, certains virus ou médicaments (Tableau V).

2. Le diabète de la fibrose kystique (DAFK)

Depuis les premières descriptions de la FK en 1936, l'amélioration de la survie chez ces patients ne cesse d'augmenter. Dans les années 1940, le taux de mortalité était de 80% au cours de la première année. Actuellement, la médiane de survie des patients est de 37 ans et tend à augmenter (Figure 4) (61; 76; 180). Toutefois, l'augmentation de l'espérance de vie est associée à une augmentation des anomalies de l'intolérance au glucose et de la prévalence du DAFK. Les anomalies de la tolérance au glucose pourraient avoir une influence sur la survie puisque plusieurs études ont montré que l'existence d'un diabète ou d'une intolérance au glucose était liée à une baisse accélérée du poids, de la fonction pulmonaire et à une augmentation de la mortalité (68; 148).

A. Définition et classification du DAFK

L'Association canadienne du diabète (ACD) classe le DAFK sous la rubrique « Autres types spécifiques : maladies du pancréas » (3; 20). Même si des similitudes existent entre ce diabète et le diabète de type 1 et de type 2, il doit être considéré comme une entité à part.

Les divers organismes professionnels, y compris l'ACD, font une distinction entre le DAFK avec et sans hyperglycémie à jeun (HGPO) (3; 20).

Tableau VI Comparaison du DAFK avec le diabète type 1 et celui de type 2 (53)

	DAFK	Type 1	Type 2
Âge de début	18-23	< 20ans	> 20 ans
Poids	Maigre	Normal	Obèse
Sécrétion de l'insuline	Réduite	Nulle	Réduction progressive
Sensibilité à l'insuline	Normale, élevée ou réduite	Réduite	Très réduite
Auto-immunité	Non	Oui	Rare
Amylose	Oui	Non	Oui
Acidocétose	Rare	Oui	Rare
Micro-angiopathie	Oui	Oui	Oui
Macro-angiopathie	?	Oui	Oui

B. Prévalence et incidence

À travers le monde, la prévalence du DAFK varie de 5% à 50% chez les patients atteints de FK (122; 145; 149). Ces différences sont probablement dues à l'origine ethnique, l'âge et aux méthodes de dépistage. Le rapport annuel de 2006 du registre Nord Américain des données sur les patients atteints de FK rapporte une prévalence globale du DAFK et de l'intolérance au glucose de 19.5%, et celle-ci augmente avec l'âge (6; 61). La surveillance du diabète chez les patients FK montre que l'incidence du DAFK passe de 5% avant l'âge de 10 ans à 40% chez les patients de 30 ans et plus (Figure 6) (132; 145; 149). Cela veut dire qu'entre 15 et 30 ans, environ 5% des patients développent une anomalie de la

tolérance au glucose chaque année (80). L'âge médian de la survenue du DAFK est d'environ 20 ans (80; 180; 182).

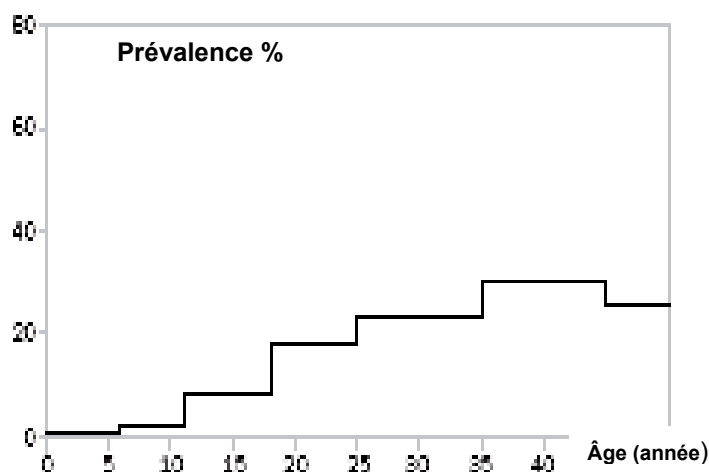


Figure 6 Estimation de la prévalence du DAFK

D'après les données du registre de la Fondation de la fibrose kystique (61).

C. Facteurs de risque

Mis à part l'insuffisance pancréatique exocrine, l'âge et le besoin de recourir à une nutrition entérale ou parentérale, il n'existe à l'heure actuelle aucun paramètre clinique ou biologique capable de prédire le développement de l'intolérance au glucose ou du DAFK (68; 99; 201). En effet, la prévalence du DAFK est plus élevée chez les patients utilisant les enzymes pancréatiques que pour ceux qui n'en prennent pas (15% versus 5.7%) (10; 130; 215). On a aussi constaté que la maladie se déclarait plus vite chez les filles que chez les garçons (17 ans *versus* 21 ans) (122). Donc, le sexe féminin pourrait conférer un risque plus élevé de diabète (46; 133).

D. Présentation clinique

Moins de la moitié des patients DAFK présente des signes classiques de diabète (soif, besoin fréquent d'uriner, fatigue). De plus, plusieurs symptômes du diabète sont similaires à ceux qui sont rencontrés au cours de la FK (46; 121; 133). Ces symptômes incluent une faible prise de poids malgré une intervention nutritionnelle agressive (149; 213), une faible croissance et un retard pubertaire (29; 149). Souvent, l'apparition des symptômes du diabète tel que la perte de poids et l'épuisement sont précipités par des facteurs aggravant l'hyperglycémie tel qu'une surinfection pulmonaire (29; 95; 149) ou une corticothérapie (73; 123). Néanmoins, le patient reste souvent asymptomatique pour une longue période de temps (149; 213).

3. Dépistage du DAFK

Compte tenu de la phase silencieuse de la maladie, un dépistage systématique est recommandé afin de minimiser les conséquences de l'hyperglycémie sur l'évolution de la maladie ainsi que le risque de complications spécifiques au diabète (ex : rétinopathie). À partir de 14 ans, un dépistage systématique annuel combiné aux valeurs de la glycémie à jeun et à celles de l'hémoglobine glyquée (HbA1c) est recommandé (149; 213).

A. La glycémie à jeun ou opportuniste

La glycémie à jeun reste longtemps dans les limites de la normale chez la plupart des patients FK. Selon la définition de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), seulement 16% des patients atteints de DAFK sont identifiés en utilisant les valeurs de la glycémie à jeun. L'utilisation de cette stratégie occasionne plus de 75% de diagnostic faussement

négatifs (150; 201; 233). Donc, bien qu'elles soient faciles à réaliser, la glycémie à jeun et la glycémie opportuniste ne sont pas des bons tests diagnostiques pour le DAFK.

B. L'hémoglobine glyquée (HbA1c ou HbA1c)

L'hémoglobine glyquée intègre les valeurs glycémiques des 8 à 12 semaines qui précèdent le prélèvement. Ce dosage est essentiel pour la surveillance du contrôle du diabète. De plus, ce test ne nécessite pas d'être à jeun. Malheureusement, l'HbA1c a une très faible sensibilité chez les patients FK (72) et elle reste dans les valeurs normales chez 16 à 70% des patients avec un DAFK confirmé (72; 143). Malgré cette sensibilité médiocre, 50% des médecins Nord Américains utilisent de ce test comme méthode de dépistage (53; 102).

C. Test d'hyperglycémie par voie orale (HGPO)

C'est le test usuel pour le diagnostic du diabète et il est considéré acceptable pour le dépistage du DAFK (94; 132; 182; 213). Ce test consiste en l'administration par voie orale d'un liquide sucré de 1.75g/kg, pour un maximum de 75 g de glucose. Le test de dépistage doit être fait chez des patients stables sans infection ni prise de stéroïdes oraux dans le mois précédant le test (150; 201). Le test doit être réalisé le matin et le patient doit être à jeun depuis au moins 12 heures. Afin d'éviter un diagnostic erroné de la tolérance au glucose (119), on doit assurer des stocks musculaires de glycogène adéquat et éviter les actions qui influencent la sensibilité à l'insuline. Pour cela le sujet ne doit pas avoir pratiqué d'exercice intense dans les 3 jours précédents. Il doit aussi avoir suivi un régime alimentaire avec un apport quotidien adéquat en glucides. À l'issue du test, les valeurs glycémiques sont utilisées pour classer la tolérance au glucose. Il existe 4 catégories de tolérance au glucose : la tolérance normale au glucose (NGT), l'intolérance au glucose (IGT) et les deux catégories de diabète i.e. avec ou sans hyperglycémie à jeun (Tableau

VII) (150; 201; 213). Une des faiblesses déjà bien connue de l'HGPO est sa faible reproductibilité (136). Cette lacune a été confirmée lors d'une comparaison «test–retest» (119; 144). De plus, si on se base uniquement sur la glycémie à la deuxième heure, qui est indispensable pour établir le diagnostic, les valeurs obtenues de l'HGPO sous-estiment l'importance des excursions glycémiques. En effet, l'aire sous la courbe (AUC) et le pic maximal de la glycémie sont beaucoup plus élevés chez les patients FK comparativement au groupe témoin, y compris chez les sujets considérés comme ayant une tolérance normale au glucose (54; 72; 83). Ces résultats ont été confirmés lors de l'utilisation de l'enregistrement continu de la glycémie sous-cutanée (CGMS) (72; 83). Malgré tout, l'HGPO demeure le test de prédilection en dépit du faible taux de dépistage du DAFK au sein de cette population (72; 83; 122; 182; 213). Il est possible qu'à l'avenir le CGMS puisse avoir sa place dans le dépistage puisqu'il permet de dépister des anomalies dans des conditions plus proches de la vraie vie.

Tableau VII Classification de la tolérance au glucose suite à une épreuve d'hyperglycémie provoquée par voie orale (HGPO) (75 g) (20)

Catégorie	Glycémie à jeun (mmol/L)	Glycémie après 2 h (mmol/L)
Tolérance normale au glucose	< 7,0	< 7,8
Intolérance au glucose	< 7,0	7,8-11,1
Diabète sans hyperglycémie à jeun	< 7,0	≥ 11,1*
Diabète avec hyperglycémie à jeun	≥ 7,0**	HGPO non nécessaire

* ou glycémie occasionnelle > 11,1 mmol/L à ≥ 2 occasions avec symptômes

** à ≥ 2 occasions, ou à 1 occasion avec glycémie occasionnelle > 11,1 mmol/L

4. Le rôle de la génétique dans la survenue du DAFK

La relation génotype - DAFK reste très controversée. Quelques études ont démontré une association entre la survenue du DAFK chez les patients souffrant d'insuffisance pancréatique et la mutation $\Delta F508$ du gène CFTR (2; 137; 201). Par contre, cette relation n'a pas été confirmée dans d'autres études (55). De plus, dans la population générale, les personnes hétérozygotes pour les mutations du gène CFTR ne semblent pas présenter un risque accru de développer un diabète de type 2 (37). Enfin, rares sont les mutations liées à un haut risque (N1030K ou W1282X) ou à l'absence de risque (A455E) de développer le DAFK (45; 132).

5. L'impact du DAFK sur la santé des patients atteints de FK

A. La réduction de la fonction pulmonaire

Le dépistage précoce du DAFK a une grande importance sur la santé des patients. Des études prospectives ont démontré qu'au cours de l'année précédant le diagnostic du DAFK, les patients qui développent une hyperglycémie présentent un déclin du statut nutritionnel et respiratoire (120; 141; 189) plus rapide que celui des sujets normotolérants au glucose. On observe une baisse de la fonction pulmonaire 2 à 4 ans avant le diagnostic du DAFK et celle-ci est directement proportionnelle au degré de sévérité de l'intolérance au glucose et de l'insulinopénie (120; 141; 189). De plus, les patients atteints de DAFK ont plus d'exacerbations pulmonaires requérant des traitements antibiotiques parentéraux comparativement aux patients FK non-diabétiques (1,55/an *versus* 0,78/an) (186).

B. La mortalité

Le DAFK est un fort indicateur de risque de mortalité, de même qu'à une survie réduite, dans les modèles épidémiologiques observationnels. Sa présence multiplie par 6 le risque de mortalité (61; 186). À l'âge de 30 ans, le taux de survie des patients diabétiques est de 25% alors qu'il est de plus de 60% chez les patients FK non diabétiques (61; 80; 237). Des études sur de petites cohortes ont rapporté des atteintes microvasculaires telles que la néphropathie et la neuropathie chez les patients DAFK (18; 214). Dans une autre étude plus importante, dont la durée moyenne du DAFK était de 4,7 ans, 19 % des patients atteints de diabète souffraient de rétinopathie, 34% souffraient de neuropathie autonome cardiaque et 17 % souffraient de neuropathie périphérique (définie par une diminution des sensations et de la vitesse de conduction nerveuse) (191). De plus, ceux qui présentaient des complications avaient un taux d'HbA1c significativement plus élevé que ceux ne développant pas de complications (7,2 % vs 5,9 %). Récemment, van den Berg et coll. (214) ont comparé les complications microvasculaires et les facteurs de risque entre le DAFK et le diabète de type 1 (DT1). Ils ont constaté que les patients atteints de DAFK avaient un taux moins élevé de rétinopathie (10 % vs 24 %) et un taux similaire de neuropathie comparativement aux patients atteints de DT1 (214).

IV. La physiopathologie du DAFK

1. La sécrétion de l'insuline

Dans les conditions physiologiques normales, la sécrétion de l'insuline se déroule en deux phases. Une sécrétion rapide d'insuline survient de 5 à 10 minutes après une charge en glucose (première phase) (65; 165). Celle-ci est suivie par une deuxième phase de

sécrétion plus lente et progressive, qui dure tant que le stimulus glycémique est maintenu (Figure 7).

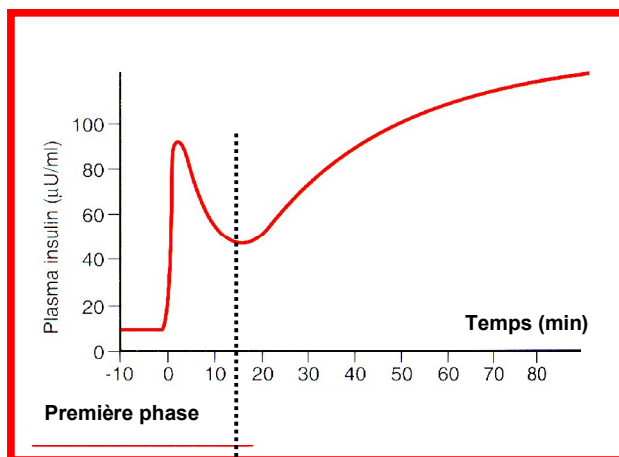


Figure 7 La première et la deuxième phase de sécrétion d'insuline chez un sujet non-diabétique (89)

Des anomalies de la sécrétion de l'insuline sont détectables chez tous les patients atteints de FK, y compris ceux qui ont une tolérance au glucose normale (53; 145; 146). Comparativement à des sujets sains, l'amplitude de la sécrétion de l'insuline (principalement la première phase) est diminuée chez tous les patients FK en plus d'être retardée, et ce quelque soit le statut glycémique du patient (53; 145; 146). Il a été démontré que le temps nécessaire pour atteindre le pic maximum de sécrétion de l'insuline était de 20-60 minutes pour le groupe témoin, de 30-120 min pour les patients FK NGT, de 60-120 min pour les patients FK IGT, alors qu'il était de 150 min pour ceux atteints de DAFK (146). La réponse aux autres stimuli, tel que l'arginine, est aussi diminuée quel que soit le

statut de tolérance au glucose (146). Il existe donc des défauts intrinsèques de la sécrétion et de la production d'insuline qui se manifestent cliniquement par une augmentation de la glycémie postprandiale. Ces anomalies qualitatives et quantitatives de la sécrétion de l'insuline jouent un rôle majeur dans l'hyperglycémie, les altérations du métabolisme lipidique et protéique.

Une diminution de la sécrétion de l'insuline affecte le profil glycémique. La réalisation systématique de l'HGPO a permis de détecter un profil spécifique d'excursions glycémiques chez les patients FK, qu'ils soient diabétiques ou non. Ce profil se caractérise par une augmentation et une normalisation rapides de la glycémie. Cela a conduit certains auteurs à suggérer que les catégories habituelles pour la tolérance au glucose reflètent de façon imparfaite le statut glycémique des patients FK (54; 72).

Indépendamment du rôle de l'insulinopénie dans l'apparition de l'hyperglycémie, il est possible que ce facteur joue un rôle précoce dans la détérioration du statut clinique. En effet, chez les patients non-diabétiques, le degré d'insulinopénie est mieux associé à la détérioration de la fonction pulmonaire que la catégorie de tolérance au glucose. De plus, le traitement à l'insuline des patients atteints de DAFK est associé à un regain rapide du poids et à une amélioration de la fonction pulmonaire (71; 151).

2. La résistance à l'insuline

La résistance à l'insuline se définit par une diminution de l'action de l'hormone. Les tissus les plus touchés sont le muscle squelettique, le tissu adipeux et le foie. Chez les personnes obèses, une diminution de l'efficacité de l'insuline se traduit par une mauvaise captation du glucose par les cellules cibles (89). Il s'ensuit une hypersécrétion de l'insuline afin de maintenir la glycémie dans les limites de la normale. À plus long terme, cela conduit à

l'épuisement des cellules pancréatiques et donc à une diminution de la capacité sécrétoire des cellules β , à une augmentation de la glycémie sanguine et à l'installation du diabète de type 2 (178).

L'importance et le rôle de la résistance à l'insuline dans le diabète de la FK restent controversés. De multiples facteurs pourraient occasionner une résistance à l'insuline chez ces sujets incluant 1) l'augmentation des marqueurs inflammatoires (cytokines: tumor necrosis factor (TNF)- α , interleukine (IL)-1 et -6, etc.) suite à de nombreux épisodes infectieux; 2) le traitement avec des corticoïdes, 3) les atteintes hépatiques; 4) l'augmentation des concentrations plasmatiques de certaines hormones contre régulatrices (catécholamines et cortisol) ainsi que 5) le degré de dénutrition (133).

La résistance à l'insuline peut aussi être due à l'altération du transporteur de glucose 4 (GLUT4). Le GLUT4 est exprimé dans les cellules du tissu musculaire et du tissu adipeux. En l'absence d'insuline, le GLUT4 est localisé dans des vésicules intracellulaires (66; 67). L'insuline augmente le transport de glucose en stimulant la translocation de ces vésicules du milieu intracellulaire vers la membrane plasmique (84). Il a été démontré l'altération de la protéine CFTR affecte la translocation du GLUT4, contribuant ainsi à la résistance à l'insuline (97).

La combinaison de tous ces facteurs devraient favoriser la résistance à l'insuline chez les patients FK. Malgré tout, la sensibilité à l'insuline a été rapportée être augmentée (13; 153), normale (21), ou diminuée (21; 103) chez les patients FK. Une étude utilisant un clamp euglycémique-hyperinsulinémique a démontré une réduction de la sensibilité périphérique à l'insuline (les tissus musculaires, le foie et le tissu adipeux) (96; 153). De plus, le degré de la résistance à l'insuline corrélait positivement avec un mauvais statut

clinique (96). Par contre, certaines études prospectives n'obtiennent pas les mêmes résultats. Une étude utilisant des indices de résistance à l'insuline dérivés de l'HGPO sur un petit groupe de patients (n= 14) suivis pendant 13 ans a rapporté une réduction de la résistance à l'insuline malgré une augmentation de la prévalence du DAFK (131). Ces résultats discordants peuvent être en partie expliqués par le petit nombre de patients inclus dans les études, les méthodes de mesure ou d'estimation de la résistance à l'insuline, le degré de sévérité de la maladie, l'interférence de la puberté ou encore des traitements utilisés tels que les stéroïdes. La contribution de la résistance à l'insuline dans la dégradation de la tolérance au glucose et/ou du statut clinique reste donc à préciser.

Les mécanismes physiopathologiques qui pourraient expliquer l'impact du DAFK sur l'histoire naturelle de la FK ne sont pas connus. Ils pourraient inclure le défaut de suppression de la protéolyse due à une insulino-pénie (221) tandis que l'hyperglycémie jouerait probablement un rôle direct sur l'augmentation de la dépense énergétique, l'augmentation des épisodes d'infection, ainsi que sur les complications vasculaires (95; 221). L'hyperglycémie pourrait aussi jouer un rôle direct sur la réduction du volume et de la capacité pulmonaire. Cela a déjà été observé chez les diabétiques de type 1 et 2 mal équilibrés (64; 188). Le rôle du DAFK dans l'évolution du statut clinique est appuyé par la réversibilité de la perte de poids, du déclin de la fonction pulmonaire ainsi qu'avec une moindre fréquence des épisodes d'infection par l'*Haemophilus influenzae* et le *Streptococcus pneumoniae* après à la mise en place d'un traitement hypoglycémiant (125; 151).

Le nombre d'îlot de Langerhans semble normal chez les patients FK qui ne sont pas atteints de DAFK. Quelques études ont rapporté que les îlots apparaissent groupés en foyers

fragmentés par la fibrose et la dégénérescence graisseuse chez les patients DAFK (10; 182). Ces anomalies se traduisent par une réduction et un retard de la sécrétion de l'insuline en réponse à l'infusion intraveineuse de glucose (90; 210; 229) et après une HGPO (53; 103). Par contre, d'autres études ont démontré que l'insulinopénie ne semble pas être associée au degré d'infiltration graisseuse (93; 107).

Certaines études ont rapporté présence d'autoanticorps, tels que la IA-2 (Antityrosine phosphatase) et le GAD (Glutamic acid decarboxylase) chez 40 - 50% des patients atteints de DAFK, respectivement (160). Ces deux autoanticorps jouent un rôle majeur dans la destruction des cellules β chez les patients atteints de DT1 (117). Leurs présences chez les patients DAFK indiquent que l'auto-immunité pourrait jouer un rôle dans la réduction de la sécrétion d'insuline. Cette possible contribution de l'immunité souligne la diversité des causes possibles à l'origine du DAFK.

Les anomalies qui entraînent le DAFK sont liées au défaut de la sécrétion d'insuline et à la résistance à l'insuline (Figure 8).

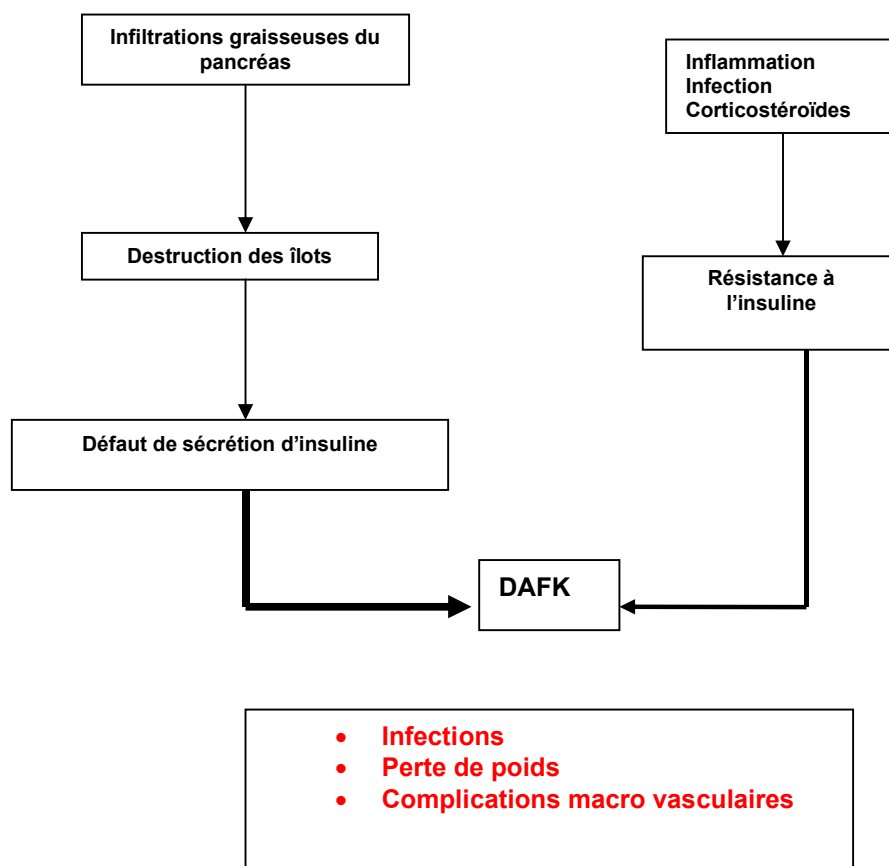


Figure 8 Les mécanismes d'action possibles associés au DAFK (53)

3. Adiponectine et DAFK

Le tissu adipeux joue un rôle majeur dans la régulation de la sensibilité à l'insuline et de la balance énergétique via ses produits de sécrétion ou adipokines. Parmi celles-ci, l'adiponectine, une hormone sécrétée par le tissu adipeux mais aussi par les ostéoblastes, joue un rôle important dans le métabolisme du glucose et des lipides (225). La synthèse d'adiponectine est régulée par plusieurs mécanismes faisant intervenir des molécules comme l'insuline et l'IGF-1 (*insulin-like growth factor-1*) qui augmente son expression, alors que les glucocorticoïdes et le TNF- α la diminue (205; 225).

Il existe une relation inverse entre les concentrations d'adiponectine et le niveau d'adiposité qui laisse supposer la présence d'une boucle rétroactive inhibitrice permettant le contrôle de l'expression et de la sécrétion d'adiponectine. Les femmes sont caractérisées par des concentrations plus élevées d'adiponectine comparativement aux hommes et ce indépendamment de la quantité de graisse corporelle (225; 235). De plus, la concentration plasmatique d'adiponectine est, comparativement aux témoins, abaissée chez les diabétiques, les obèses et les malades ayant des atteintes coronaires (205; 225; 235).

L'adiponectine se lie à deux récepteurs (AdipoR1 et AdipoR2) afin d'exercer ses effets sur les organes cibles. L'AdipoR1 est exprimé dans le muscle, alors que l'AdipoR2 est exprimé en grande quantité dans le foie. L'expression de ses deux récepteurs semble dépendre des concentrations d'insuline, car ils sont retrouvés en moindre quantité dans les modèles de souris diabétiques (110).

A. Mécanismes d'action de l'adiponectine

L'adiponectine exerce son action au niveau du foie et du muscle squelettique en augmentant la sensibilité à l'insuline de ces organes, son rôle est donc antidiabétique. Au niveau du muscle squelettique et du tissu adipeux, l'adiponectine augmente l'entrée de glucose en stimulant la translocation des transporteurs GLUT4 du cytoplasme vers la membrane plasmique (110; 139; 190). L'adiponectine stimule aussi l'oxydation des acides gras dans le muscle, et cela contribue également à l'amélioration de la sensibilité à l'insuline. Au niveau hépatique, elle contribue à diminuer la glycogénolyse (production de glucose hépatique) et à réduire le contenu en triglycérides favorisant ainsi une augmentation de la sensibilité à l'insuline (110; 139; 190).

Plusieurs études ont démontré les propriétés anti-athérogéniques et anti-inflammatoires de l'adiponectine via ses effets sur d'autres cytokines comme le TNF- α ou la protéine C réactive (CRP). L'adiponectine module soit directement ou indirectement les cascades inflammatoires en modifiant l'action et la production de cytokines inflammatoires (110).

Il existe une corrélation négative entre, d'une part, les niveaux circulants d'adiponectine et d'autre part, l'intolérance au glucose, l'inflammation et la masse grasse abdominale (82). Sachant que l'intolérance au glucose, l'inflammation et une adiposité centrale, en dépit d'un faible poids corporel, sont fréquents chez les patients atteints de FK, il serait intéressant de déterminer le rôle de l'adiponectine dans la résistance à l'insuline chez cette population.

V. Le suivi et le traitement pharmacologique du DAFK

En l'absence d'une base de données fiable, adaptée aux caractéristiques cliniques uniques de cette population, de nombreuses recommandations ont été extrapolées de la littérature de l'ADA (*American Diabetes Association*) sur le diabète de type 1 et le diabète de type 2.

1. Le suivi des patients atteint de DAFK

Il est recommandé que le patient atteint de DAFK soit pris en charge par une équipe multidisciplinaire expérimentée, incluant des médecins (pneumologue, endocrinologue, gastro-entérologue, etc.), des infirmiers/ infirmières enseignants spécialisés dans le diabète, des diététiciens et des travailleurs sociaux (143; 145; 213). Bien qu'aucune étude n'ait examiné spécifiquement le rôle de l'auto-surveillance de la glycémie capillaire dans la population atteinte de DAFK sous traitement hypoglycémiant, il est préférable qu'une glycémie soit pratiquée au moins 3 à 4 fois/jour, incluant des évaluations à jeun et en postprandiales (143; 145). Les patients devraient aussi avoir une mesure d'HbA1c trimestrielle et ce, malgré le fait qu'elle puisse représenter une sous-estimation de la glycémie moyenne chez les sujets atteints de DAFK (86; 92; 182).

2. Objectifs du suivi

Il n'existe pas d'étude épidémiologique de grande envergure identifiant une valeur glycémique cible réduisant les complications liées au DAFK. En l'absence de données spécifiques à la population atteinte de DAFK, les spécialistes ont adopté les valeurs glycémiques cibles de l'ADA pour le diabète de type 1 et de type 2. Celles-ci visent une glycémie préprandiale de 5 à 7 mmol/L, une glycémie postprandiale < 10 mmol/L et un taux d'HbA1c < 7 % (4; 20). Il faut par ailleurs veiller au maintien d'un état nutritionnel et

d'un développement staturo-pondéral et pubertaire optimaux, tout en faisant preuve de flexibilité afin d'adapter les interventions au mode de vie du patient et aux traitements déjà en place.

3. Modification du mode de vie du patient DAFK

Les recommandations nutritionnelles prodiguées aux diabétiques ne sont pas adaptées aux patients atteints de DAFK. Dès le stade d'intolérance au glucose, il est important de privilégier les glucides à index glycémique faible. Afin d'optimiser le contrôle glycémique, l'apport en glucides complexes devrait être réparti régulièrement pendant la journée (53; 156). Bien que l'exercice aérobique améliore la fonction pulmonaire (36), il n'existe aucune étude jusqu'à présent sur le rôle de l'activité physique dans la prise en charge du DAFK.

4. Modalités de traitement du DAFK

En l'absence d'études avec une répartition aléatoire et contrôlée évaluant l'efficacité et les effets indésirables de l'insuline et d'autres agents antihyperglycémiques (164) et bien que certains spécialistes de la FK utilisent les hypoglycémiantes oraux, il est recommandé d'utiliser l'insulinothérapie dans la prise en charge du diabète (149; 164; 213).

De nombreuses préoccupations limitent l'utilisation des agents oraux dans le DAFK, incluant le risque d'acidose lactique, la liaison au CFTR, le risque d'hépatotoxicité et l'aggravation de la malabsorption avec l'usage des biguanides (163; 185), des sulfonylurées (59; 163; 185), des thiazolidinediones (163) et des inhibiteurs de l'alpha-glucosidase (152; 164). Par contre, des sécrétagogues n'appartenant pas à la famille des sulfonylurées, tel

que le répaglinide, ont déjà été utilisés (152; 164). Ces derniers ont l'avantage de traiter l'hyperglycémie postprandiale.

L'utilisation de l'insuline réduit les écarts glycémiques postprandiaux et les taux d'HbA1c (152). Elle a également un effet sur le métabolisme des protéines affectant ainsi positivement l'état nutritionnel et la fonction pulmonaire (151; 152). Deux études rétrospectives longitudinales incluant 14 et 18 patients atteints de DAFK ont démontré une amélioration de l'indice de masse corporelle (IMC) avec l'insulinothérapie (99; 151). Le mécanisme biologique à la base de ces observations est vraisemblablement multifactoriel. Cependant cela suggère un effet favorable de l'insulinothérapie sur le métabolisme des protéines et sur la réduction des infections pulmonaires.

Une étude menée auprès de 28 patients DAFK a démontré une amélioration significative de la synthèse protéique 3 mois après le début de l'insulinothérapie (174). De plus, le taux d'expectorations positives pour l'*Haemophilus influenzae* et le *Streptococcus pneumoniae* a diminué chez ces patients diabétiques (125). Sur la base de ces données, certains chercheurs suggèrent que l'insulinothérapie devrait être initiée au moment du diagnostic du diabète (125; 149; 213).

Dû aux problèmes pulmonaires et gastro-intestinaux fréquents chez les FK, la prise alimentaire peut varier énormément d'un jour à l'autre. Le traitement à l'insuline doit donc être très flexible pour la plupart des patients DAFK (125; 149; 213). Cela peut être réalisé grâce à un traitement intensif combinant un analogue de l'insuline rapide avant les repas associé à un calcul des glucides (173). De plus, l'évaluation de la glycémie postprandiale (1 à 2 heures après le repas) et durant la nuit doit se faire sur une base régulière afin d'ajuster les doses d'insuline (94; 149).

VI. Conclusion :

Afin de pouvoir adapter le dépistage du DAFK ainsi que la prise en charge du patient, il semble important de mieux connaître l'évolution naturelle des troubles du métabolisme glycémique et de déterminer les facteurs prédictifs liés à celui-ci. Il serait alors possible d'établir une stratégie de dépistage et de suivi des patients atteints de FK dont l'espérance et la qualité de vie continuent de s'améliorer.

VII. Rationnel

Les anomalies de la tolérance au glucose, soit l'IGT et le DAFK, sont les premiers facteurs de co-morbidité chez les patients FK et leur prévalence tend à augmenter avec l'amélioration de la survie dans cette population. Des études épidémiologiques démontrent un important déclin du statut nutritionnel et respiratoire 2 à 4 ans précédant le dépistage du diabète. La dégradation des paramètres cliniques commencerait donc lors de l'IGT et s'accentuerait avec le développement du DAFK. La physiopathologie de l'IGT chez les patients atteints de FK n'est pas encore bien comprise. Par contre, nous savons que l'insulinopénie joue un rôle primordial dans la détérioration de la tolérance au glucose alors que la contribution de la résistance à l'insuline reste à déterminer. Un dépistage précoce des anomalies de la tolérance au glucose, de même qu'une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans ce processus, est essentiel pour assurer un meilleur traitement et potentiellement un meilleur pronostic pour les patients FK.

Le but des études était de préciser

- L'importance des mécanismes physiopathologiques tels que l'insulinopénie et la résistance à l'insuline dans la survenue des anomalies de la tolérance au glucose au sein de la population FK,
- Les anomalies pouvant expliquer l'insulinopénie et la résistance à l'insuline telles que des anomalies métaboliques (hyperlipidémie) ou hormonales (adiponectine),
- L'association de ces mécanismes avec la détérioration du statut clinique chez ces patients,

- L'identification d'outils qui permettent la simplification des études physiopathologiques permettant ainsi de cibler les individus à risque dans le but d'améliorer le pronostic clinique de ces patients.

Pour répondre à ces questions nous avons établi 3 groupes de patients atteints de FK et un groupe témoin constitué de sujets sains :

- Dans le cadre de la mise en place du dépistage systématique du DAFK à la clinique de FK du CHUM, nous avons ajouté des prélèvements additionnels permettant d'étudier les mécanismes physiopathologiques impliqués dans la survenue du DAFK. Pour réaliser ce projet, nous avons invité, à tous les 18 à 24 mois, les patients de la clinique de la FK sans diabète connu à réaliser une HGPO. Deux manuscrits rapportent les résultats de cette étude (sections I et V de la discussion). Cette cohorte porte le nom de *Montreal Cystic Fibrosis Cohort* (MCFC).
- Un sous-groupe de patients atteints de FK et de témoins appariés ont été invités à faire des tests plus complexes permettant d'étudier la sécrétion de l'insuline de façon plus fine (test de l'IVGTT) ainsi que les excursions glycémiques et lipidiques postprandiales (repas-test). Deux manuscrits rapportent ces résultats (sections II et III de la discussion).
- Enfin, nous avons étudié un groupe de patients atteints de DAFK et des diabétiques de type 1 appariés afin de valider l'HbA1c comme biomarqueur de l'équilibre glycémique chez les patients FK. J'ai eu une implication significative dans l'analyse de ces résultats.

CHAPITRE 2

Résultats

Increased Glucose excursion in Cystic fibrosis and it's association with a worse clinical status

Myriam Costa, Stéphanie Potvin, Imane Hammana, Arnaud Malet, Yves Berthiaume, Alphonse Jeanneret, Annick Lavoie, Renée Lévesque, Joëlle Perrier, Danielle Poisson, Antony D. Karelis, Jean-Louis Chiasson & Rémi Rabasa-Lhoret.

Recrutement des patients : S. Potvin, M. Costa

Suivi du patient par le médecin : Dr Y. Berthiaume, Dr A. Jeanneret, Dr A. Lavoie,
R. Rabasa-Lhoret

Infirmières de suivi : R. Lévesque, J. Perrier, D. Poisson

Collecte des échantillons : M. Costa, S. Potvin, A. Malet

Analyse statistique : M. Costa, A. D. Karelis, I. Hammana

Rédaction du manuscrit : M. Costa, I. Hammana, R. Rabasa-Lhoret

Conception du projet : Dr. R. Rabasa-Lhoret.

Relecture et correction du manuscrit : Dr. J.-L. Chiasson et Dr. R Rabasa-Lhoret

J Cyst Fibrosis, 2007, Nov 30;6(6):376-83

Increased Glucose excursion in Cystic fibrosis and it's association with a worse clinical status

Myriam Costa¹, Stéphanie Potvin¹⁻², Imane Hammana¹, Arnaud Malet¹, Yves Berthiaume², Alphonse Jeanneret², Annick Lavoie², Renée Lévesque², Joëlle Perrier², Danielle Poisson¹, Antony D. Karelis³, Jean-Louis Chiasson¹ & Rémi Rabasa-Lhoret¹⁻³.

¹Diabetes Research group, CHUM Research Center Hôtel-Dieu, Montreal QC, Canada.

²CHUM Cystic Fibrosis Clinic CHUM Hôtel-Dieu, Montreal QC, Canada.

³Metabolic Research Unit, Department of Nutrition, University of Montreal QC, Canada

Running title: Glucose tolerance in cystic fibrosis

Keywords:

Insulin sensitivity, First phase insulin secretion, diabetes, cystic fibrosis.

Word count: 3153

Number of tables: 3

Number of figures: 3

Grants related to this publication:

Dr. Rabasa-Lhoret is supported by a scholarship from the “Fonds de la Recherche en Santé du Québec” (FRSQ).

Supported by start-up funds from the Fondation du centre hospitalier de l'Université de Montréal and the Canadian Cystic Fibrosis Foundation.

Send correspondence and reprint requests to:

Rémi Rabasa-Lhoret
Division of Endocrinology
Research Center, CHUM Hôtel-Dieu
3850 Saint-Urbain St.
Montréal, Québec, Canada H2W 1T7
Tel : (514) 890-8000 Ext. 14086
Fax: (514) 412-7204

ABSTRACT

Background: Abnormal glucose tolerance is a frequent co-morbidity in cystic fibrosis patients (CF) and is associated with a worse prognosis. The objectives are to (a) To investigate the relative contribution of insulinopenia and insulin resistance (IR) for glucose tolerance. (b) the association between various glucose parameters and CF clinical status.

Methods: Oral glucose tolerance tests (OGTT) were performed in 114 consecutive CF patients not known to be diabetic as well as 14 controls similar for age and BMI.

Results: Abnormal glucose tolerance was found in 40% of patients with CF: 28% had impaired glucose tolerance (IGT) and 12% had new cystic fibrosis related diabetes (CFRD). Compared to control subjects, all CF patients were characterized by an increased glucose excursion (AUC) after the OGTT. While reduced first phase insulin release characterized CF, IGT and CFRD patients also present IR. Thus, both mechanisms significantly contribute to glucose tolerance abnormalities. Increased glucose AUC and reduced early insulin release but not glucose tolerance categories were associated with a reduced pulmonary function (FEV₁).

Conclusion: In CF, early insulin secretion defect but also IR contribute to glucose intolerance. Early in the course of the disease, increased glucose AUC and reduced early insulin secretion are more closely associated a worse clinical status than conventional glucose tolerance categories.

Word count abstract: 259

INTRODUCTION

Impaired glucose tolerance (IGT) and cystic fibrosis related-diabetes (CFRD) are the first co-morbidity in cystic fibrosis (CF) and their prevalence is increasing along with the improved survival of CF patients (1). CFRD is an important marker of a worsening prognosis with a higher mortality rate (1-3). Several studies have reported a decline in nutritional and pulmonary status 2 to 4 years before the diagnosis of CFRD (4). Based on the natural history of the disease, this could be due to the impaired glucose tolerance which precedes the development of CFRD (4).

However, the pathophysiology of glucose intolerance in CF is poorly understood. Indeed, insulin secretion deficiency is believed to be the primary cause of CFRD. However, the contribution of insulin resistance remains controversial (3;5;6). Moreover, the relative contribution of insulin secretion defect and insulin resistance to both the glucose intolerance and the clinical status is unclear.

We hypothesised that both mechanisms, impaired insulin secretion and reduced insulin sensitivity, are involved in the development of glucose intolerance and that they would be associated with the deterioration of the clinical status in CF subjects. Therefore, the purpose of this study was (a) to investigate the relative contribution of insulin secretion defect and insulin resistance in the development of glucose intolerance and (b) to identify in a large cohort of CF patients without known CFRD, factors which are the most closely associated with clinical deterioration: glucose intolerance, glucose excursion, insulin secretion defect and/or insulin resistance. .

SUBJECTS & METHODS

Subjects

As part of an ongoing systematic screening program to detect CFRD, 114 consecutive CF patients were included in the study between February 2004 and October 2005. The protocol was approved by the Institutional Review Board of Centre hospitalier de l'Université de Montréal and all subjects signed a consent form. Male or female CF patients over 18 years of age were included in the study. Exclusion criteria were presence in the previous month of (I) exacerbation defined by: change in sputum production (volume, colour, consistency), new or increased haemoptysis, increased cough, increased dyspnea, malaise, fatigue or lethargy, fever $>38^{\circ}\text{C}$, anorexia, sinus pain, a 10% decrease in FEV_1 as shown by previously recorded value (each 3 months), intravenous antibiotic treatment and changes in chest sounds; (II) medication that interferes with glucose metabolism (i.e. oral or IV steroids, growth hormone, megace, etc.); (III) known diabetes; (IV) fasting plasma glucose over 7.0 mmol/L or (V) pregnancy. Exacerbation was determined by a trained CF-pneumologist blinded to glucose values. Fourteen subjects with a normal glucose tolerance and without CF corresponding for sex, age and body mass index (BMI) were recruited as a control group.

Nutritional status

Body weight was measured using an electronic scale (Tanita Corporation Arlington Heights, Illinois) and standing height using a wall stadiometer. Thereafter, body mass index (BMI ; kg/m^2) was calculated. Biological evaluation of nutritional status included measurements of serum albumin as well as vitamin A and E using HPLC-RC reverse phase C 18.

CF status

Pulmonary function was measured using FEV₁ (L/sec) and %FEV₁ predicted (Medgraphic 1870, St-Paul, Minnesota). Genotype status was extracted from medical files. Pancreatic insufficiency was defined by current enzyme supplementation.

Fasting biochemical dosages

Inflammatory profile included complete blood count, plasma fibrinogen and C-reactive protein concentrations (Nephelometer, Beckman Cloutier Canada Inc). Glycated haemoglobin (Immunoturbidimeter, ADVIA1650, Bayer Health Care Diagnostics, Toronto, ON, Canada) was used as an index of blood glucose control in the previous months.

Oral Glucose Tolerance Test (OGTT)

All subjects underwent a 2-hour OGTT. After an overnight fast, subjects ingested in less than 5 minutes a glucose solution: 1.75 g/kg of body weight with a maximum of 75 g according to the guidelines of the American Diabetes Association (7). Blood samples were taken at 0, 30, 60, 90 and 120 minutes to measure plasma glucose and insulin concentrations. Plasma glucose level was determined immediately in duplicate with a Glucose Analyzer (Beckman, Fullerton CA, USA) (5). Insulin concentration was determined in duplicate using human specific insulin RIA (Linco Research Inc., St-Charles MO, USA). All new cases of CFRD were confirmed by a second OGTT within two months.

Insulin secretion and insulin sensitivity assessment

We used insulin and glucose values during the OGTT to evaluate insulin secretion and sensitivity. (8). From the various published indices we chose a priori Stumvoll's indices

because, to our knowledge, it's the only one that has been validated for insulin sensitivity¹ and insulin secretion (early insulin release² and late insulin release³) against golden standard methods: euglycemic hyperinsulinemic and intravenous glucose tolerance test in various populations (9;10).

Statistical analysis

The data are expressed as the mean \pm SD. A one-way ANOVA was performed to analyze mean differences among the groups. When significant differences were found, a Dunnett post hoc test was performed to identify group differences. Significance was accepted at $P < 0.05$.

¹¹ Index for insulin sensitivity : $0,156 - 0,0000459 \times \text{Ins}_{120} - 0,000321 \times \text{Ins}_0 - 0,00541 \times \text{Glucose}_{120}$

² Index for early insulin release : $1283 + 1,829 \times \text{Ins}_{30} - 138,7 \times \text{Glucose}_{30} + 3,772 \times \text{Ins}_0$

³ Index for late insulin release: $287 + 0,04164 \times \text{Ins}_{30} - 26,07 \times \text{Glucose}_{30} + 0,9226 \times \text{Ins}_0$

RESULTS

Five patients were excluded because of suspected infection and/or unconfirmed diabetes on the second OGTT and/or fasting hyperglycemia. Therefore, the results are derived from 109 patients. According to conventional criteria, patients were classified in 3 groups: normal glucose tolerance (NGT), impaired glucose tolerance (IGT) and diabetic (CFRD) (3;5). All control subjects had NGT. In the CF-population, glucose tolerance abnormalities affected 40% of the screened subjects with 28% having IGT and 12% new CFRD (Table 1). Although in the normal range value, CF patients without diabetes had a slight but significant increase of fasting plasma glucose compared to control subjects (Table 2). As previously reported, CFRD status is associated both with a high prevalence of $\Delta F508$ mutation and a constant requirement for pancreatic enzyme supplementation (Table 1) (11;12). CF was associated with systemic inflammation as shown by the significant increase of fibrinogen compared to the control group. A trend for higher CRP levels was observed in the diabetes group. Weight, BMI, sex ratio (Table 1) and biochemical markers for the nutritional status (data not shown) revealed no significant differences between the groups.

Within normal range, both CF-NGT and IGT showed a significant 0.5% higher HbA_{1c} compared to control subjects. Subjects with CFRD had a further higher HbA_{1c} (0.6%) compared to CF-IGT (Table 2). Within normal range, fasting and 2-hours plasma glucose levels in CF-subjects with NGT presented a significant increase in glucose excursion at 60 and 90 min compared to the control subjects (Figure 1). This was confirmed by a 41% increase of glucose area under the curve (AUC) compared with control subjects (Table 2). The glucose AUC further increased in IGT (73%) and CFRD (117%).

There was no statically difference for insulin AUC during the OGTT between CF-patients groups as well as between CF-patients and controls subjects (Table 2). However, insulin secretion is a dynamic process in which early insulin secretion plays a major role to control postprandial glucose excursion (6;13;14). When insulin secretion was analyzed with the Stumvoll indices as early and late insulin secretion (9), it is obvious that CF-status was characterized by a major early insulin secretion defect with a further deterioration between CF-NGT and CFRD patients (Figure 2 and Table 2). The insulin sensitivity index (10) was similar in the control subjects and CF- patients with NGT but was significantly lower in those with IGT and CFRD (Table 2).

We also determined the disposition index, which reflects the ability of β cells to compensate for insulin resistance (15). As shown in Figure 3, CF was associated with a major defect in early insulin secretion. Furthermore, reduced insulin sensitivity also contributed to glucose intolerance in CF-patients. Indeed, between CF-NGT and CFRD both early insulin secretion and insulin sensitivity were reduced by approximately 50% (Figure 3 and Table 2).

Based on the glucose tolerance categories, using the conventional criteria, there was no difference in clinical parameters (pulmonary function, weight, etc.) between CF-patients groups as well as between CF-patients and controls subjects (Table 1). However, it was postulated that the higher glucose AUC, early insulin secretion defect and insulin resistance observed in the CF-population, could be better associated to clinical status than the conventional glucose tolerance classification based on OGTT. To test this hypothesis, the CF-population was divided into quartiles based on either glucose AUC, early insulin secretion or insulin sensitivity indices. The higher glucose AUC quartile was associated with lower FEV₁ (-18.2%; P<0.05), a higher fibrinogen level (P<0.05) and a tendency for

higher CRP (Table 3). While the lower insulin secretion quartile was associated with a significant FEV₁ reduction (-15.3%; P<0.05) (Table 3). On the other hand, when CF-subjects were divided into quartiles based on their insulin sensitivity indices, there was no difference in pulmonary function between the first and the fourth quartiles even if the latter had a higher CRP levels (Table 3). In all cases, significant difference was only reached for the comparison between extreme quartiles.

The breakout into quartiles demonstrated that the first quartile with the lower glucose AUC and the higher insulin sensitivity identify CF-patients with NGT (100 and 96% respectively). On the other hand, the fourth quartile with the highest glucose AUC and the lowest insulin sensitivity identified mostly CF-patients with glucose intolerance (IGT or CFRD; 86 and 92% respectively). However, 43% of patients included in the highest quartile of glucose AUC were not identified as CFRD patients, indicating that CF patients can have a large glucose excursion with a normal fasting and 2-hours plasma glucose (Table 3). The breakout into quartiles based on insulin secretion was less discriminatory, with 38.5% of NGT-CF patients in the lowest quartile, due to the fact that in CF-patients, early insulin secretion was already blunted (Table 3).

DISCUSSION

This is a cross-sectional observational study on all eligible patients not known to be diabetic attending the CF-clinic over an 18-months period. Our results demonstrate numerous new findings potentially relevant for clinical practice. We confirm that the adult CF population is at very high risk for glucose intolerance and diabetes (16). The study also shows that CF-patients with normal glucose tolerance have an abnormally high glucose excursion in response to 75g glucose challenge (Figure 1 & Table 2). This could be due to the major first phase insulin secretion defect observed in CF patients. Furthermore, this higher concentration in post-load plasma glucose is significantly associated with worse pulmonary function (Table 3). This suggests that abnormally high glucose excursion stimulates inflammation, which could be involved in the progression of glucose intolerance, and the deterioration of pulmonary function (Table 3).

Overall, 40% of the CF-patients tested had an abnormal glucose tolerance; of these, 31 (70%) had IGT and 13 (30%) had diabetes. These values underestimate the true prevalence since known diabetic and infected patients were not tested but are consistent with published data (17). Such high prevalence of abnormal glucose tolerance in this CF-population overemphasizes the importance of screening for glucose intolerance (5) using the OGTT since most patients had fasting plasma glucose below 6.1 mmol/L (18-20). The use of the OGTT is further justified by the observation that even patients with normal glucose tolerance already showed an abnormally high glucose excursion in response to the 75 g glucose challenge (Figure 1 & Table 2). This would be totally missed if we had used only the 2-hours time points as recommended. By including the 30, 60, and 90 minute time-points, we were able to calculate glucose AUC. In CF-NGT patients with a mean 2-hours

plasma glucose of 5.8 ± 1.1 mmol/L, the glucose AUC was 954.3 compared to 677.0 in the control group, a 41% increase ($P < 0.0001$). Abnormality in glucose homeostasis was also suggested by higher fasting plasma glucose compared to control subjects (5.3 ± 0.5 versus 5.0 ± 0.6 ; $P < 0.05$) and higher HbA_{1c} (0.054 ± 0.004 versus 0.049 ± 0.003 ; $P < 0.05$) (Table 2).

These observations strongly suggest that the current definition of diabetes based on the 2-hours plasma glucose post 75g glucose may not be the most accurate method for early detection of glucose tolerance abnormalities in CF. This has already been recently suggested by Dobson *et al.* (21) using continuous glucose monitoring. Results of that study suggest that abnormal glucose homeostasis is an early feature of CF. In line with these findings, we propose that in CF patients, screening of glucose intolerance should be performed using five time-points during an OGTT. This recommendation could have an impact on prognosis and treatment if further research demonstrates that an earlier treatment is associated with a better clinical outcome (i.e. better preservation of pulmonary function). However this will have to be balanced against increased complexity and higher costs.

The most likely explanation for this excessive glucose excursion appears to be a major early insulin secretion defect already present in the CF-NGT group compared to control subjects (Figure 2 and Table 2). This observation confirms earlier reports in smaller groups of CF-patients using either the intravenous glucose tolerance test (IVGTT) or the hyperglycemic clamp (14;22). However, most of the previous publications in this field did not include a control group.

It is well established that β cells defect is involved in the development of CFRD; however, the role of insulin resistance remains controversial. In fact, a number of studies using different methodologies have measured insulin sensitivity in patients with CF and have

reported it to be either normal (23;24), reduced (22;25-28) or increased (29;30). In the present study, there was a significant reduction in insulin sensitivity in the CF-patients with IGT and diabetes, but not in subjects with NGT compared to control individuals (Figure 3 & Table 2). To better understand the role of insulin resistance in the deterioration of glucose tolerance in patients with CF, we plotted insulin sensitivity against early insulin secretion in Figure 3. To maintain normal glucose tolerance there is a well described hyperbolic sensitivity-secretion relationship (15). That is, a reduction in insulin sensitivity is associated with an increase insulin secretion.

The disposition index is a graphical representation of this concept to evaluate the ability of the β -cells to respond adequately to any degree of insulin resistance. This study demonstrates that while patients with NGT have similar insulin sensitivity than the control group, their early insulin secretion is lower ($P < 0.05$) (Table 2 and Figure 3). In patients with IGT, however, there was a reduction in insulin sensitivity ($P < 0.05$ compared to Controls and CF-NGT), in the absence of any additional change in the early insulin secretion (Table 2 and Figure 3). Finally, in patients with CFRD, there is a further reduction in both insulin sensitivity ($P < 0.05$), insulin secretion ($P < 0.05$) (Table 2 and Figure 3). It can therefore be proposed that the first defect initiating deterioration in glucose homeostasis is a reduction in the early insulin secretion. This lower first phase will result in abnormally high glucose excursion despite a normal OGTT based on the 2-hours time points. The abnormally elevated glucose excursion could induce glucose toxicity (31) resulting in a reduction in insulin sensitivity and later a further impairment of insulin secretion leading to diabetes. In this paradigm, both insulin secretion defect and reduced insulin sensitivity contribute to glucose intolerance.

Based on the standard OGTT using the 2-hours time points, despite a trend, there was no significant difference in pulmonary function between the patients with NGT, those with IGT and newly diagnosed CFRD (Table 1). These observations are somewhat different than those in the literature where diabetes was predictive of a worse pulmonary function degradation and an increased mortality rate (32). It was also shown that the treatment of diabetes in these patients was associated with an improvement in the clinical status (33-35). It is possible that this strong association is due to the fact that these studies included long standing CFRD, frequently presenting confounding factors such as malnutrition and infection (16;32;36;37). In the present study, only those patients who were not known to be diabetic were included. Therefore, the lack of association between the three glucose tolerance categories and pulmonary function could be due to the small number of patients with new CFRD (n = 13) or to the fact that other parameters are more relevant at these earlier stage of the disease. Data for pulmonary function in the previous years were unfortunately only available for a sub-fraction of the cohort. For this reason, we could not evaluate if CFRD patients have a more pronounced decline of pulmonary function than other categories of subjects during years preceding the diagnosis.

When the glucose excursion and the early insulin secretion were divided in quartiles, significant differences could be found between extreme quartiles. The quartile with the highest glucose excursion and the lower insulin secretion were significantly associated with a worse pulmonary function (Table 3). On the other hand, there was no relationship between insulin sensitivity and pulmonary function. The significant relationship between glucose excursion and decreased FEV₁ could imply that glucose toxicity plays a major role in the deterioration of both glucose tolerance and pulmonary function. It is tempting to propose that glucose excursion stimulates sub-clinical inflammation, which could

accelerate the deterioration in glucose tolerance and pulmonary function. In fact, both in type 1 and type 2 diabetes, a negative correlation has already been reported between a higher HbA_{1c} and more rapid FEV₁ deterioration (1). Elevated glucose could affect lung function through various mechanisms such as promotion of bacterial growth, impairing host immune function and/or up-regulating the inflammatory response to pulmonary infection. Finally, in the later stages, when insulin secretion defect reach a certain threshold, this could contribute to protein wasting (38-40) and thus to weight reduction described in long standing CFRD (16;32;36;37). The relationship between genotype and CFRD is controversial. In the present study we report that subjects homozygous for Δ F508 mutation are over-represented in the CFRD category ([Table 1](#)) which have already been reported by some investigators [\[11\]](#) and [\[20\]](#) but not by others [\[43\]](#) and [\[44\]](#). This relationship might be related to a more severe early insulin secretion defect since subjects homozygous for Δ F508 mutation are also over-represented in the quartile with the lower insulin secretion ([Table 3](#)).

Our study has limitations: a cross sectional design, which precludes from definitive conclusion about causal and effect relationships. Insulin secretion and sensitivity were not directly measured from intravenous glucose tolerance test or hyperglycaemic clamp and euglycemic hyperinsulinemic clamp, but were evaluated from OGTT using validated indices (9;10). On the other hand, the OGTT allows us to evaluate in the same test four parameters: glucose tolerance status, glucose AUC as well as insulin sensitivity and secretion. The fact that we excluded known diabetics from the present work preclude the calculation of the true prevalence of glucose tolerance abnormalities but was important to avoid confounding factors to investigate the interrelationship between glucose tolerance abnormalities and clinical status. Finally, for the analysis based on quartiles, the significant

level was reached only for the comparison between the first and the fourth quartiles. The absence of statistical dose-response effect increases the risk that confounding factors explain this relationship or that there is a threshold beyond which the relationship does not exist.

The present study confirms the high prevalence of abnormal glucose tolerance in patients with CF. Even subjects with normal glucose tolerance already have a high glucose excursion and a blunted first phase insulin secretion in response to an OGTT. Furthermore, this increased glucose excursion is significantly associated with worse pulmonary function. We propose that this could be due to sub-clinical inflammation triggered by repeated glucose excursion. These and other observations support the current recommendations for yearly OGTT-screening of the CF-population without fasting hyperglycaemia. The present study, however, would suggest that a 5 time-point OGTT should be performed and that the diagnostic criteria might be revised. This strategy might improve our ability to detect high-risk patients and understand the underlying pathophysiology involved in the development of glucose intolerance. The early association of glucose tolerance abnormalities with a worse clinical status suggest that there is a therapeutic window to prevent CFRD as well as clinical deterioration associated with its occurrence. However, this should be confirmed in prospective observational cohorts and early intervention trials.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Annie Tardif for her technical assistance as well as Lise Coderre for helpful comments on this manuscript. Dr. Rabasa-Lhoret is supported by a scholarship from the “Fonds de la Recherche en Santé du Québec” (FRSQ). This study was supported by start-up funds from Fondation du centre hospitalier de l’Université de Montréal and by funds from Canadian Cystic Fibrosis Foundation.

REFERENCES

1. **Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, Levesque R, Chiasson J, Rabasa-Lhoret R** 2005 Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 31:221-232
2. **Finkelstein SM, Wielinski CL, Elliott GR, Warwick WJ, Barbosa J, Wu SC, Klein DJ** 1988 Diabetes mellitus associated with cystic fibrosis. *J Pediatr* 112:373-377
3. UK cystic fibrosis trust diabetes working group. Management of cystic fibrosis related diabetes. Cystic fibrosis trust, editor. 2004. Bromley, Kent UK, Cystic fibrosis trust.
4. **Schaedel C, de M, I, Hjelte L, Johannesson M, Kornfalt R, Lindblad A, Strandvik B, Wahlgren L, Holmberg L** 2002 Predictors of deterioration of lung function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 33:483-491
5. **Moran A, Hardin D, Rodman D, Allen HF, Beall RJ, Borowitz D, Brunzell C, Campbell PW, III, 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, .** 1999 Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus: a consensus conference report. *Diabetes Res Clin Pract* 45:61-73
6. **Lombardo F, De Luca F, Rosano M, Sferlazzas C, Lucanto C, Arrigo T, Messina MF, Crisafulli G, Wasniewska M, Valenzise M, Cucinotta D** 2003 Natural history of glucose tolerance, beta-cell function and peripheral insulin sensitivity in cystic fibrosis patients with fasting euglycemia. *Eur J Endocrinol* 149:53-59
7. Diagnosis and classification of diabetes mellitus 2005 *Diabetes Care* 28 Suppl 1:S37-S42
8. **Costa M, Potvin S, Beauregard G, Rabasa-Lhoret R** 2004 Mesurer l'insulinorésistance en pratique quotidienne et en recherche. *Sang Thrombose Vaisseaux* 9:455-460
9. **Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Van Haefen T, Renn W, Gerich J** 2000 Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 23:295-301
10. **Stumvoll M, Van Haefen T, Fritsche A, Gerich J** 2001 Oral glucose tolerance test indexes for insulin sensitivity and secretion based on various availabilities of sampling times. *Diabetes Care* 24:796-797
11. **Cucinotta D, De Luca F, Scoglio R, Lombardo F, Sferlazzas C, Di Benedetto A, Magazzu G, Raimondo G, Arrigo T** 1999 Factors affecting diabetes mellitus onset in cystic fibrosis: evidence from a 10-year follow-up study. *Acta Paediatr* 88:389-393

12. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium 1993 *N Engl J Med* 329:1308-1313
13. **Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT** 2004 Understanding cystic-fibrosis-related diabetes: best thought of as insulin deficiency? *J R Soc Med* 97 Suppl 44:26-35
14. **Tofe S, Moreno JC, Maiz L, Alonso M, Escobar H, Barrio R** 2005 Insulin-secretion abnormalities and clinical deterioration related to impaired glucose tolerance in cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol* 152:241-247
15. **Bergman RN, Ader M, Huecking K, Van Citters G** 2002 Accurate assessment of beta-cell function: the hyperbolic correction. *Diabetes* 51 Suppl 1:S212-S220
16. **Moran A, Doherty L, Wang X, Thomas W** 1998 Abnormal glucose metabolism in cystic fibrosis. *J Pediatr* 133:10-17
17. **Moran A, Diem P, Klein DJ, Levitt MD, Robertson RP** 1991 Pancreatic endocrine function in cystic fibrosis. *J Pediatr* 118:715-723
18. **Lanng S, Hansen A, Thorsteinsson B, Nerup J, Koch C** 1995 Glucose tolerance in patients with cystic fibrosis: five year prospective study. *BMJ* 311:655-659
19. **Solomon MP, Wilson DC, Corey M, Kalnins D, Zielenski J, Tsui LC, Pencharz P, Durie P, Swezey NB** 2003 Glucose intolerance in children with cystic fibrosis. *J Pediatr* 142:128-132
20. **Moran A, Milla C** 2003 Abnormal glucose tolerance in cystic fibrosis: why should patients be screened? *J Pediatr* 142:97-99
21. **Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT** 2004 Conventional measures underestimate glycaemia in cystic fibrosis patients. *Diabet Med* 21:691-696
22. **Austin A, Kalhan SC, Orenstein D, Nixon P, Arslanian S** 1994 Roles of insulin resistance and beta-cell dysfunction in the pathogenesis of glucose intolerance in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 79:80-85
23. **Lanng S, Thorsteinsson B, Roder ME, Nerup J, Koch C** 1994 Insulin sensitivity and insulin clearance in cystic fibrosis patients with normal and diabetic glucose tolerance. *Clin Endocrinol (Oxf)* 41:217-223
24. **Cucinotta D, De Luca F, Gigante A, Arrigo T, Di Benedetto A, Tedeschi A, Lombardo F, Romano G, Sferlazzas C** 1994 No changes of insulin sensitivity in cystic fibrosis patients with different degrees of glucose tolerance: an epidemiological and longitudinal study. *Eur J Endocrinol* 130:253-258
25. **Holl RW, Heinze E, Wolf A, Rank M, Teller WM** 1995 Reduced pancreatic insulin release and reduced peripheral insulin sensitivity contribute to hyperglycaemia in cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 154:356-361

26. **Hardin DS, LeBlanc A, Lukenbough S, Seilheimer DK** 1997 Insulin resistance is associated with decreased clinical status in cystic fibrosis. *J Pediatr* 130:948-956
27. **Hardin DS, LeBlanc A, Para L, Seilheimer DK** 1999 Hepatic insulin resistance and defects in substrate utilization in cystic fibrosis. *Diabetes* 48:1082-1087
28. **Hardin DS, LeBlanc A, Marshall G, Seilheimer DK** 2001 Mechanisms of insulin resistance in cystic fibrosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281:E1022-E1028
29. **Moran A, Pyzdrowski KL, Weinreb J, Kahn BB, Smith SA, Adams KS, Seaquist ER** 1994 Insulin sensitivity in cystic fibrosis. *Diabetes* 43:1020-1026
30. **Ahmad T, Nelson R, Taylor R** 1994 Insulin sensitivity and metabolic clearance rate of insulin in cystic fibrosis. *Metabolism* 43:163-167
31. **Brindisi MC, Rabasa-Lhoret R, Chiasson JL** 2006 Postprandial hyperglycemia: to treat or not to treat? *Diabetes Metab* 32:105-111
32. **Milla CE, Warwick WJ, Moran A** 2000 Trends in pulmonary function in patients with cystic fibrosis correlate with the degree of glucose intolerance at baseline. *Am J Respir Crit Care Med* 162:891-895
33. **Lanng S, Thorsteinsson B, Nerup J, Koch C** 1994 Diabetes mellitus in cystic fibrosis: effect of insulin therapy on lung function and infections. *Acta Paediatr* 83:849-853
34. **Reisman J, Corey M, Canny G, Levison H** 1990 Diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis: effect on survival. *Pediatrics* 86:374-377
35. **Rolon MA, Benali K, Munck A, Navarro J, Clement A, Tubiana-Rufi N, Czernichow P, Polak M** 2001 Cystic fibrosis-related diabetes mellitus: clinical impact of prediabetes and effects of insulin therapy. *Acta Paediatr* 90:860-867
36. **Lanng S, Thorsteinsson B, Nerup J, Koch C** 1992 Influence of the development of diabetes mellitus on clinical status in patients with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 151:684-687
37. **Koch C, Rainisio M, Madessani U, Harms HK, Hodson ME, Mastella G, McKenzie SG, Navarro J, Strandvik B** 2001 Presence of cystic fibrosis-related diabetes mellitus is tightly linked to poor lung function in patients with cystic fibrosis: data from the European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 32:343-350
38. **Moran A, Milla C, Ducret R, Nair KS** 2001 Protein metabolism in clinically stable adult cystic fibrosis patients with abnormal glucose tolerance. *Diabetes* 50:1336-1343

39. **Kien CL, Zipf WB, Horswill CA, Denne SC, McCoy KS, O'Dorisio TM** 1996 Effects of feeding on protein turnover in healthy children and in children with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr* 64:608-614
40. **Chevalier S, Gougeon R, Kreisman SH, Cassis C, Morais JA** 2004 The hyperinsulinemic amino acid clamp increases whole-body protein synthesis in young subjects. *Metabolism* 53:388-396

Table 1 Physical and biochemical characteristics of CF-patients and control subjects

	Controls	CF-patients		
		NGT	IGT	CFRD
Prevalence	---	60%	28%	12%
Sex M / F (n)	8 / 6	37 / 28	15 / 16	7 / 6
Age (years)	24.5± 3.8	27.2 ± 7.8	27.9 ± 8.3	28.5 ± 8.0
Weight (kg)	67.7 ± 9.6	60.2 ± 10.3	60.7 ± 11.6	59.2 ± 12.1
BMI (kg/m ²)	22.7 ± 1.6	21.6 ± 2.9	21.5 ± 3.5	22.1 ± 3.7
Pancreatic enzyme ^Δ	0.00%	80.00%	83.87%	100.00%
FEV ₁ (L/sec)	---	2.57 ± 0.79	2.64 ± 0.92	1.88 ± 0.76
% FEV ₁	---	72.06 ± 20.97	76.14 ± 22.33	54.62 ± 17.95
ΔF508 homozygous ^Δ	---	48%	43.5%	80%
ΔF508 heterozygous ^Δ	---	40%	43.5%	20%
Other genotype/unknown ^Δ	---	12%	13%	0%
CRP (mg/L)	1.88 ± 0.82	5.50 ± 5.23*	5.68 ± 6.25	8.79 ± 8.19*
Fibrinogen (g/L)	2.42 ± 0.50	3.03 ± 0.63*	3.03 ± 0.61*	3.17 ± 0.58*

*: P< 0.05 versus Controls

Δ: % patients

Table 2 Parameters of glucose homeostasis in CF-patients and controls subjects

	Controls		CF-patients					
			NGT		IGT		CFRD	
Fasting plasma glucose (mmol/L)	5.0	± 0.6	5.3	± 0.5*	5.3	± 0.5*	6.1	± 0.5*†‡
HbA _{1c}	0.049	± 0.003	0.056	± 0.004*	0.057	± 0.005*	0.063	± 0.006†
2h post OGTT plasma glucose (mmol/L)	4.7	± 1.1	5.8	± 1.1*	9.3	± 0.8*†	13.9	± 1.6*†‡
2h Glucose AUC	677.0	± 136.5	954.3	± 142.9**	1169.0	± 111.1**∇	1480.0	± 193.2**∇#
2h Insulin AUC	6496.93	± 2818.87	5240.90	± 3184.05	5445.77	± 5142.76	3951.86	± 1697.49
1 st phase insulin secretion index	1466.76	± 541.70	645.30	± 354.83*	576.90	± 343.56*	307.28	± 239.19*†‡
2 nd phase insulin secretion index	197.47	± 63.6	149.54	± 71.32*	181.02	± 79.01†	124.05	± 47.90*‡
Insulin sensitivity index	0.093	± 0.020	0.094	± 0.014	0.071	± 0.015*†	0.047	± 0.013*†‡

*P< 0.05 versus Controls

**P< 0.0001 versus Controls

†P< 0.05 versus CF-NGT

∇P< 0.0001 versus CF-NGT

‡P< 0.05 versus CF-IGT

#P< 0.0001 versus CF-IGT

Table 3 Differences between 1st and 4th quartiles for glucose AUC, first phase insulin secretion and insulin sensitivity indices

	2h glucose AUC		First phase insulin secretion index		Insulin sensitivity index	
	Q1	Q4	Q1	Q4	Q1	Q4
	823.38	1464.11	990.16	142.39	0.106	0.047
Prevalence (%)						
NGT/IGT/CFRD	100 / 0 / 0	14 / 29 / 57	74 / 22 / 4	38.5 / 19 / 42.5	96 / 4 / 0	8 / 38 / 54
Weight (kg)	58.4	61.3	63.3	58.7	60.1	61.0
FEV₁ (%)	77.25	59.04*	78.12	62.85*	71.92	66.33
CRP (mg/L)	4.15	7.96	6.82	7.23	3.78	8.60*
Fibrinogen (g/L)	2.8	3.3*	3.1	3.2	2.9	3.2

* : P< 0.05 versus Q1

FIGURE LEGENDS

Figure 1: Plasma glucose values following a 1.75g/kg 2h-OGTT

-◆- : Control subjects; -✱- :CF normal glucose tolerance patients (CF-NGT);
 -■- :CF impaired glucose tolerance patients (CF-IGT); -▲- :Cystic fibrosis related diabetes (CFRD)

*: P< 0.05 versus Controls

†: P< 0.05 versus CF-NGT

‡: P< 0.05 versus CF-IGT

Figure 2: Plasma insulin values following a 1.75g/kg 2h-OGTT

-◆- : Control subjects; -✱- :CF normal glucose tolerance patients (CF-NGT); -■- :CF impaired glucose tolerance patients (CF-IGT); -▲- :Cystic fibrosis related diabetes (CFRD)

*: P< 0.05 versus Controls

†: P< 0.05 versus CF-NGT

Figure 3: Disposition index: Values for first phase insulin secretion index are adjusted for insulin sensitivity index

◆ : Control subjects; ✱ : CF normal glucose tolerance patients (CF-NGT); ■ : CF impaired glucose tolerance patients (CF-IGT); ▲ : Cystic fibrosis related diabetes CFRD)

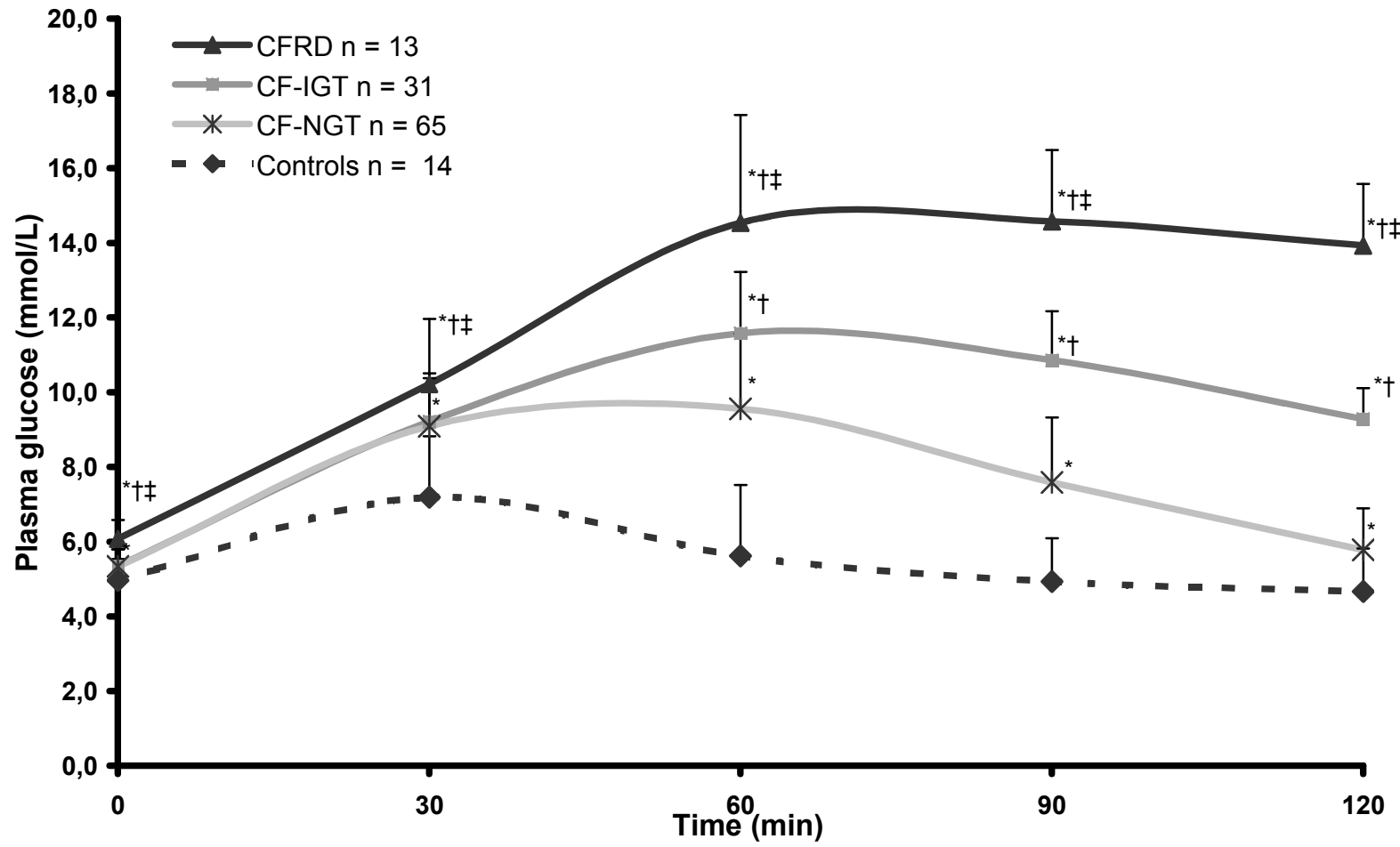


Figure 1

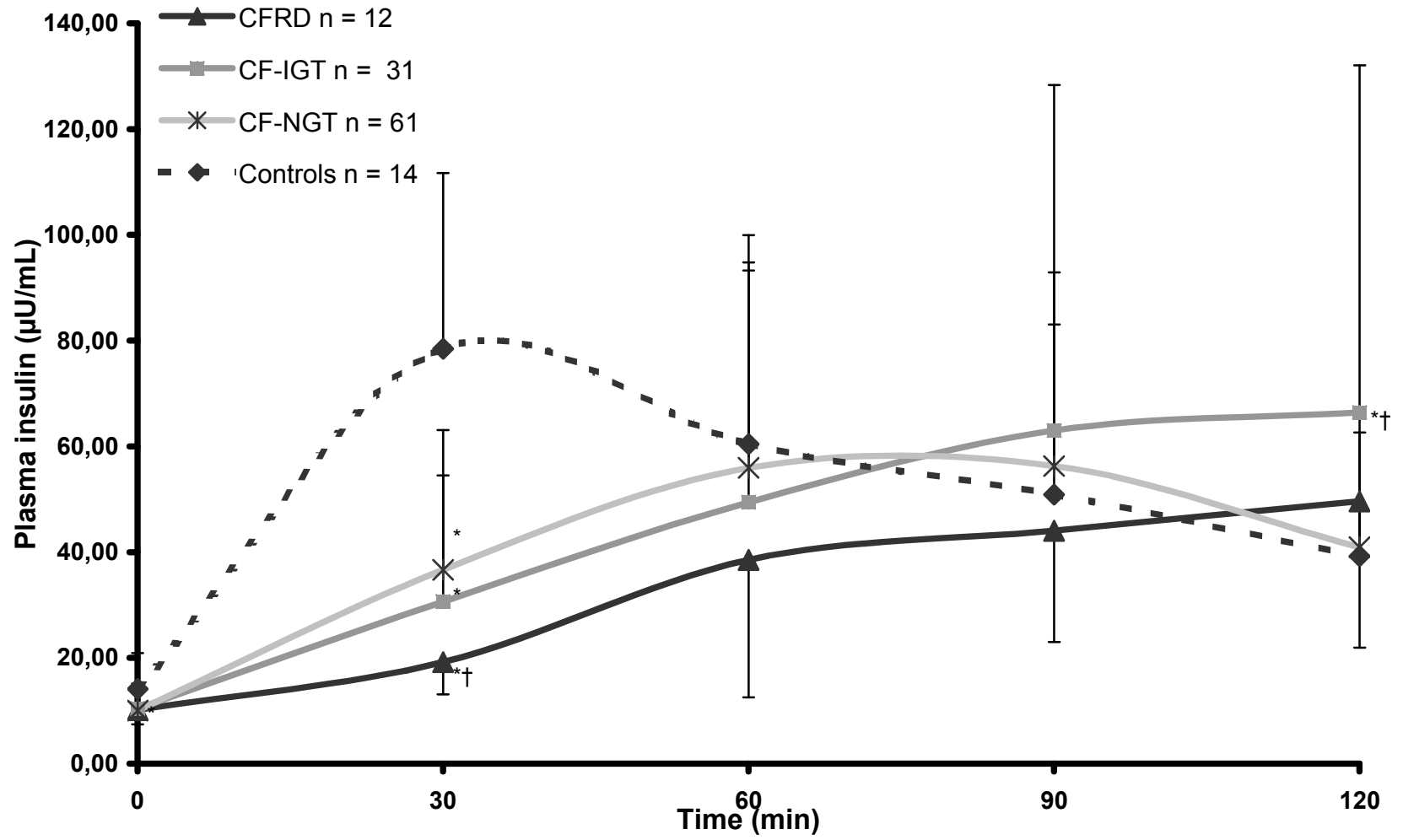


Figure 2

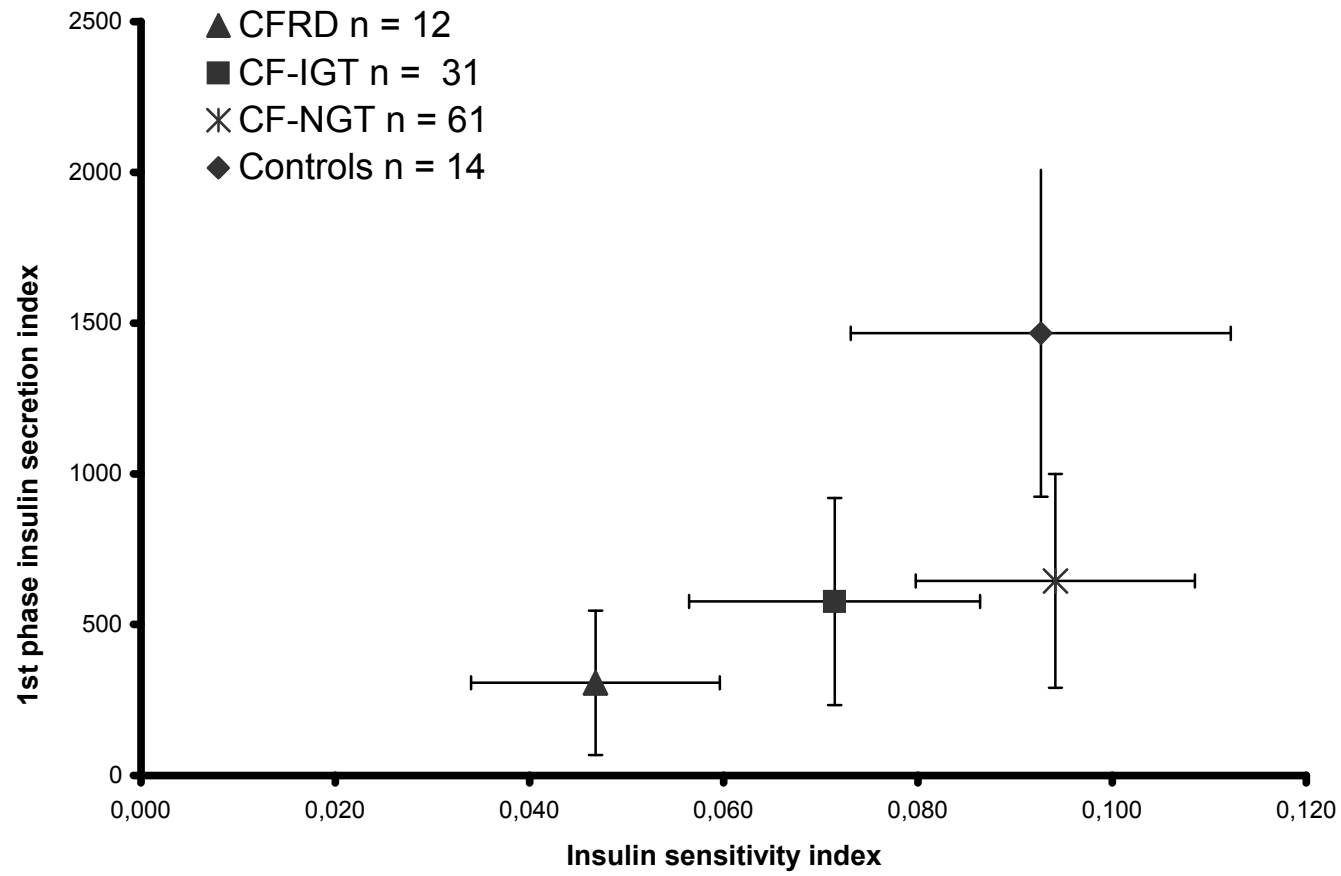


Figure 3

Validation of insulin secretion indices in Cystic Fibrosis patients

I. Hammana, S. Potvin, Tardif A, Y. Berthiaume, L. Coderre and
R. Rabasa-Lhoret.

Recrutement des patients : I. Hammana, S. Potvin

Suivi du patient par le médecin : Dr Y. Berthiaume, Dr R. Rabasa-Lhoret

Collecte des échantillons : I. Hammana, A.Tardif

Analyse biochimique des échantillons : I. Hammana

Analyse statistique : I. Hammana, Dr L. Coderre

Rédaction du manuscrit : I. Hammana

Conception du projet : Dr R. Rabasa-Lhoret.

Relecture et correction du manuscrit : Dr L. Coderre, R. Rabasa-Lhoret

Journal of Cystic Fibrosis, 2009 Dec;8 (6):378-81.

Validation of insulin secretion indices in Cystic Fibrosis patients

I. Hammana^{1,2}, S. Potvin^{1,3}, Tardif A¹, Y. Berthiaume³⁻⁵, L. Coderre^{1,4} and
R. Rabasa-Lhoret^{1-3,5}

¹Institut de recherches cliniques de Montréal, Platform for Research on Obesity, Metabolism and Diabetes (PRO MD), Montréal, Québec, 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

⁵Research Centre, Centre hospitalier de l'Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Running title: Insulin secretion indices in cystic fibrosis

Send correspondence and reprint requests to:

Rémi Rabasa-Lhoret
Institut de recherches cliniques de Montréal,
110 avenue des Pins Ouest,
Montréal, Qc,
Canada, H2W 1R7

ABSTRACT

Background and aims: Impaired insulin secretion plays a key role in the development of cystic fibrosis-related diabetes (CFDR). Numerous indices to evaluate insulin secretion have been proposed, but their validity has not been explored in cystic fibrosis (CF). The aim of the present study was to validate surrogate indices of insulin secretion in CF patients against the gold standard, the intravenous glucose tolerance test (IVGTT). This is an essential step to study the physiopathological role of insulin secretion defect in the development of CFDR in large cohort.

Methods: 32 subjects were enrolled: 16 controls, 10 cystic fibrosis-normal glucose tolerant (CF-NGT) and 6 CFRD patients. All subjects underwent a 2-h oral glucose tolerance test (OGTT) and an IVGTT. Insulin secretion was estimated using three indices: the HOMA- β cell, the Stumvoll's early insulin secretion, and the insulin secretion rate (ISR).

Results: In control subjects, all insulin secretion indices correlated significantly with the IVGTT. In CF-NGT patients, the HOMA- β cell correlated significantly with the IVGTT at shorter time points but not over longer time-period. On the other hand, both OGTT-derived indices (Stumvoll and IRS) correlated significantly with the IVGTT for the CF-NGT and CFRD groups.

Conclusion: Since the OGTT is required on a regular basis in CF patients to screen for CFRD, OGTT-derived indices appear to be suitable for evaluating insulin secretion.

Keywords: Insulin secretion; Homeostasis Model Assessment (HOMA); Intravenous glucose tolerance test (IGVTT); Oral glucose tolerance test (OGTT)

INTRODUCTION

Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive disease characterized by chronic lung infection as well as chronic malabsorption secondary to pancreatic insufficiency (1). With increased life expectancy, glucose tolerance abnormalities are now highly prevalent, with up to 40% of adults diagnosed with CF-related diabetes (CFRD) and 35% with impaired glucose tolerance (IGT) (2-5). Diabetes occurrence is associated with increased mortality and morbidity (5-7). Insulin deficiency can be detected in the vast majority of patients including patients with normal glucose tolerance (NGT) or IGT (8;9). Deterioration of insulin secretion is believed to be the primary cause of CFRD (4;8;10)

Numerous indices derived from fasting or oral glucose tolerance test (OGTT) values have been proposed to evaluate insulin secretion (11-13). However, the etiology of CFRD is different from that of type 1 and type 2 diabetes (14;15). Therefore, it is important to validate insulin secretion indices in this population. Thus, the aim of the present study was to validate insulin secretion indices against the intravenous glucose tolerance test (IVGTT), the gold standard to measure insulin secretion (16), in a control population and in CF patients, including subjects with CFRD. We selected three indices, a fasting-derived index: the homeostasis model assessment (HOMA) - β cell (17), and two OGTT-derived indices: the Stumvoll and the insulin secretion rate (ISR) (11;18). Since glucose metabolism in CF is mainly characterized by postprandial abnormalities (3;19), we hypothesized that OGTT-derived indices would be more accurate than fasting based indices.

METHODS

Subjects

Sixteen adult (>18 years of age) CF patients and 16 controls with NGT matched for age and sex participated in this study. The protocol was approved by the Research Ethics Committee of the Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), and all subjects signed a written consent form. The CF patients included in the study had either normal glucose tolerance (CF-NGT) or CFRD based on the OGTT. Diagnosis of CFRD was based either on two consecutive abnormal OGTT values (fasting values >7.0 mmol/L or 2 h >11.0 mmol/L) or if they were on antidiabetic medication. To reduce the confounding effect of treatment, CFRD patients were included only if they were controlled by diet alone or if they could discontinue oral hypoglycemic agents for at least 24 h without significant impairment in diabetes control, (fasting glycemia < 7 mmol/L).

The exclusion criteria were respiratory exacerbation in the previous month, according to criteria published by the 1994 Cystic Fibrosis Foundation Microbiology and Infectious Disease Consensus Conference (20). Exacerbation was identified by a trained CF pneumologist on the day of the study.

CF status

Pulmonary function was measured by spirometry on the day of the OGTT, using force expiratory volume (FEV)₁ (L/sec) and predicted %FEV₁ (Medgraphic 1870, St-Paul, MN, USA) as variables. Genotype status was extracted from the medical files. Pancreatic insufficiency was defined by current enzyme supplementation.

Oral glucose tolerance test

After an overnight fast, all subjects ingested, in less than 5 min, a glucose solution: 1.75 g/kg of body weight to a maximum of 75 g according to American Diabetes Association guidelines (21). Blood samples were taken at time 0, 30, 60, 90 and 120 min to measure plasma glucose and insulin concentrations.

Intravenous glucose tolerance test

The study began at 7:30 AM after overnight fasting. An intravenous bolus of 20% glucose (0.3 g/kg of body weight) was infused at time 0 over 2 min. Blood samples for the measurement of plasma glucose and insulin were obtained at -10, 0, 2, 4, 6, 8, 10, 20, 30, 40, 50 and 60 min to calculate insulin secretion indices (16). The IVGTT was done on a separate day then the OGTT.

Evaluation of insulin secretion

The following insulin secretion indices were evaluated: a fasting-derived index: the HOMA- β cell, calculated according to the formula described by Matthews et al. (17) and two OGTT-derived indices: the Stumvoll's early insulin secretion and the ISR (11;18). These indices were compared to dynamic measures of insulin secretion as determined with IVGTT values and calculated as described in Table 1.

Biochemical dosages

Glucose and insulin levels were measured in duplicate. Plasma glucose was determined at the time of sampling with a Glucose Analyser (Beckman, Fullerton, CA, USA). Insulin levels were measured by radioimmunoassay (Linco Research Inc, St-Charles, MO, USA).

Statistical analysis

The data are presented as means \pm SE. Correlations were calculated by Pearson's test. One-way ANOVA was performed to analyze mean differences between the groups. When significant differences were found, a Tukey post hoc test was used to identify group differences. Significance was accepted at $P < 0.05$.

Results

Characteristics of CF patients

This study included 16 CF patients: 10 CF-NGT and 6 CFRD with a mean diabetes duration 1-3 years as well as 16 healthy controls matched for age and sex (59% male, 41% female). As shown in Table 2, all control subjects were NGT. CFRD, but not CF-NGT patients, had lower body weight and body mass index (BMI) compared to controls ($P < 0.05$). CFRD patients presented higher fasting and postprandial plasma glucose levels compared to controls ($P < 0.05$) and CF-NGT ($P < 0.05$). On the other hand, we observed no significant differences between the three groups for insulin levels in both the fasting state and 2 h after the OGTT.

Comparison of early phase insulin secretion indices with dynamic insulin secretion measurements by the IVGTT

There is no consensus on the best indices to examine early insulin secretion (11;22). Therefore, we tested different formulas to calculate early insulin secretion from the IVGTT technique (Table 1). Values obtained from the IVGTT were correlated with indices derived from fasting (HOMA- β cell) or OGTT values (Stumvoll and ISR). In control subjects, all surrogate indices of insulin secretion correlated significantly with IVGTT values (Table 3). In CF-NGT patients, the HOMA- β cell correlated significantly with the IVGTT at shorter time points (0-4 min) but not when insulin secretion was examined over longer time-period. On the other hand, both OGTT-derived indices correlated significantly with the IVGTT for CF patients, including NGT and CFRD groups (Table 3).

Discussion

We, and others, have shown that CF is associated with glucose abnormality including higher glucose excursion during the OGTT even in CF-NGT subjects and that it is paralleled by reduced early insulin secretion (3;23-25). Furthermore, progression toward diabetes was associated with further reduction in insulin secretion (4;24;25). Thus, measurement of insulin secretion is essential to enhance our understanding of the pathogenesis and progression of CFRD. Because CFRD presents an etiology distinct from either type 1 or type 2 diabetes, it is important to validate insulin secretion indices in this population. Simple methods to assess insulin secretion are important to evaluate the natural history and to dissect pathophysiological mechanisms involved in CF occurrence. Values from fasting or OGTT, which are required on a regular basis in CF patients to screen for diabetes, are available and can be used to evaluate insulin secretion in larger cohorts. The objective of this study was to establish the validity of surrogate indices for the evaluation of insulin secretion in CF patients.

Our study demonstrated that most surrogate indices of insulin secretion correlated significantly with dynamic measurements calculated from the IVGTT. It should be noted, however, that for CF-NGT patients, the HOMA- β cell did not perform as well as other indices when insulin secretion was calculated over a longer time-period (see Table 3). Because the HOMA- β cell index relies on fasting insulin values, while CF patients mostly present stimulated insulin secretion abnormalities, a fasting-based index may not accurately estimate the reduced early insulin secretion observed in CF subjects. It has been shown that HOMA β cell underestimate pancreatic dysfunction in subjects with IGT and early-stage, asymptomatic type 2 diabetic patients (26). Adult studies show that the first measure to

become abnormal and/or deficient is first-phase insulin secretion, followed by second-phase insulin secretion, then by fasting insulin (27). Therefore, surrogate estimates of β -cell function may not be robust in situations with impaired β -cell function, such as CF patients. In contrast to the HOMA- β cell, both OGTT-derived indices included early insulin secretion time points and correlated significantly with the IVGTT. Thus, in CF patients, indices derived from the OGTT may better reflect insulin secretion dynamics than indices derived from fasting values. Since the CF population requires an OGTT at regular intervals to screen for CFRD (1;2), insulin secretion could be easily added at this time.

However, we investigated a relatively small number of newly diagnosed CFRD subjects. Accordingly, whether the results are applicable to the whole spectrum of CF diabetic patients remains to be investigated.

In summary, we present data demonstrating that early insulin secretion indices derived from the OGTT are acceptable surrogates to evaluate first phase insulin secretion measured by IVGTT and thus are appropriate for epidemiological and physiological studies in the CF population.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Isabelle Vignault, Danielle Poisson and Renée Lévesque for their technical assistance. R.R-L. is a scholar from “Fonds de la recherche en Santé du Québec” (FRSQ) and holds the J-A DeSève research chair in clinical research. This study was supported by a start-up grant from the Fondation du CHUM and by an operating grant from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation.

REFERENCES

- (1) Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH, Rodman D. Cystic fibrosis adult care: consensus conference report. *Chest* 2004 Jan;125(1 Suppl):1S-39S.
- (2) Moran A, Hardin D, Rodman D, Allen HF, Beall RJ, Borowitz D, et al. Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus: a consensus conference report. *Diabetes Res Clin Pract* 1999 Aug;45(1):61-73.
- (3) 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 Apr 2;6(6):376-83.
- (4) Lombardo F, De Luca F, Rosano M, Sferlazzas C, Lucanto C, Arrigo T, et al. Natural history of glucose tolerance, beta-cell function and peripheral insulin sensitivity in cystic fibrosis patients with fasting euglycemia. *Eur J Endocrinol* 2003 Jul;149(1):53-9.
- (5) Lanng S, Thorsteinsson B, Lund-Andersen C, Nerup J, Schiøtz PO, Koch C. Diabetes mellitus in Danish cystic fibrosis patients: prevalence and late diabetic complications. *Acta Paediatr* 1994 Jan;83(1):72-7.
- (6) Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, et al. Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 2005 Jun;31(3 Pt 1):221-32.
- (7) Schaedel C, de M, I, Hjelte L, Johannesson M, Kornfalt R, Lindblad A, et al. Predictors of deterioration of lung function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 2002 Jun;33(6):483-91.
- (8) Holl RW, Heinze E, Wolf A, Rank M, Teller WM. Reduced pancreatic insulin release and reduced peripheral insulin sensitivity contribute to hyperglycaemia in cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 1995 May;154(5):356-61.
- (9) Lanng S, Thorsteinsson B, Roder ME, Orskov C, Holst JJ, Nerup J, et al. Pancreas and gut hormone responses to oral glucose and intravenous glucagon in cystic fibrosis patients with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Acta Endocrinol (Copenh)* 1993 Mar;128(3):207-14.
- (10) Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT. Understanding cystic-fibrosis-related diabetes: best thought of as insulin deficiency? *J R Soc Med* 2004;97 Suppl 44:26-35.
- (11) Scheen AJ, Paquot N, Letiexhe MR, Castillo MJ, Lefebvre PJ. [How should insulin secretion be evaluated in practice?]. *Diabetes Metab* 1995 Dec;21(6):458-64.
- (12) Magni P, Sparacino G, Bellazzi R, Toffolo GM, Cobelli C. Insulin minimal model indexes and secretion: proper handling of uncertainty by a Bayesian approach. *Ann Biomed Eng* 2004 Jul;32(7):1027-37.
- (13) Ferrannini E, Gastaldelli A, Miyazaki Y, Matsuda M, Mari A, DeFronzo RA. beta-Cell function in subjects spanning the range from normal glucose tolerance to overt diabetes: a new analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2005 Jan;90(1):493-500.

- (14) Mackie AD, Thornton SJ, Edenborough FP. Cystic fibrosis-related diabetes. *Diabet Med* 2003 Jun;20(6):425-36.
- (15) 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 Mar;19(3):221-6.
- (16) Bingley PJ, Colman P, Eisenbarth GS, Jackson RA, McCulloch DK, Riley WJ, et al. Standardization of IVGTT to predict IDDM. *Diabetes Care* 1992 Oct;15(10):1313-6.
- (17) Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC. Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985 Jul;28(7):412-9.
- (18) 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 Mar;23(3):295-301.
- (19) Hammana I, Coderre L, Potvin S, Costa M, Berthiaume Y, Lavoie A, et al. Dichotomy between postprandial glucose and lipid profiles in adults with cystic fibrosis: a pilot study. *J Cyst Fibros* 2009 Mar;8(2):128-34.
- (20) Cystic Fibrosis Foundation. *Microbiology and infectious disease in cystic fibrosis*. Cystic Fibrosis Foundation ed. Bethesda: 1994. p. 1-26.
- (21) Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2005 Jan;28 Suppl 1:S37-S42.
- (22) Marcelli-Tourvieille S, Hubert T, Pattou F, Vantyghem MC. Acute insulin response (AIR): review of protocols and clinical interest in islet transplantation. *Diabetes Metab* 2006 Sep;32(4):295-303.
- (23) Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT. Conventional measures underestimate glycaemia in cystic fibrosis patients. *Diabet Med* 2004 Jul;21(7):691-6.
- (24) Moran A, Doherty L, Wang X, Thomas W. Abnormal glucose metabolism in cystic fibrosis. *J Pediatr* 1998 Jul;133(1):10-7.
- (25) Tofe S, Moreno JC, Maiz L, Alonso M, Escobar H, Barrio R. Insulin-secretion abnormalities and clinical deterioration related to impaired glucose tolerance in cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol* 2005 Feb;152(2):241-7.
- (26) Festa A, Williams K, Hanley AJ, Haffner SM. Beta-cell dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and early type 2 diabetes: comparison of surrogate markers with first-phase insulin secretion from an intravenous glucose tolerance test. *Diabetes* 2008 Jun;57(6):1638-44.
- (27) Festa A, Williams K, Hanley AJ, Haffner SM. Beta-cell dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and early type 2 diabetes: comparison of surrogate markers with first-phase insulin secretion from an intravenous glucose tolerance test. *Diabetes* 2008 Jun;57(6):1638-44.

Table 1: Insulin secretion formulae's

Indices	Formulas
IVGTT	
First-phase insulin response	Sum of insulin values at 0+4 min or at (2+4) min or at (0+4+6) min or at (2+4+6) min
Insulin Area Under the Curve (AUC)	0-4 min 0-10 min
Acute Insulin Response (AIR)	Mean Ins at times (2, 4, 6 min) or (0, 4, 6 min) - fasting Ins
Fasting based index	
HOMA-β Cell	$(20 \times \text{Ins}_0 \text{ (mU/L)}) / (\text{Glyc}_0 \text{ (mmol/L)} - 3.5)$
OGTT derived indices	
Insulin Secretion Rate (ISR)	$(\text{Ins}_{30} - \text{Ins}_0) \text{ (mU/L)} / (\text{Gly}_{30} - \text{Gly}_0) \text{ (mg/dl)}$
Stumvoll's early insulin secretion	$1.283 + 1.829 \times \text{Ins}_{30} \text{ (pmol/L)} - 138.7 \times \text{Glyc}_{30} \text{ (mmol/L)} + 3.772 \times \text{Ins}_0 \text{ (pmol/L)}$

Ins: insulin; Glyc: glycemia

Table 2: Physical characteristics of control and CF subjects

	Control N= 16	CF-NGT N= 10	CFRD N= 6
Age (years)	24.8 ± 4.2	28.5 ± 10.5	27.0 ± 8.6
Sex ratio (M/F)	9/7	6/4	4/2
Weight (Kg)	66.78 ± 9.10	64.63 ± 11.66	56.80 ± 10.67*
Body mass index	22.4 ± 1.6	23.5 ± 2.2	20.7 ± 3.5*
Fasting glucose (mmol/L)	5.00 ± 0.53	5.31 ± 0.37	6.16 ± 0.94* [¥]
Fasting insulin (µU/ml)	13.35 ± 6.65	10.27 ± 4.34	9.45 ± 3.77
2-h OGTT glucose (mmol/L)	4.76 ± 1.15	5.76 ± 0.88	12.40 ± 1.84* [¥]
2h OGTT insulin (µU/ml)	39.85 ± 22.01	47.94 ± 48.59	45.29 ± 15.12

OGTT: oral glucose tolerance test; CF-NGT: Cystic fibrosis-normal glucose tolerance;
CFDR: cystic fibrosis related diabetes.

*P < 0.05 CFRD versus Controls

[¥]P < 0.05 CFRD versus CF-NGT

Table 3: Correlation between fasting and OGTT-derived early insulin secretion indices and first-phase insulin secretion measured with the IVGTT

Indices	Groups	IVGTT indices			
		0-4 min	0-4-6 min	AUC 0-10 min	Air 0, 4, 6 min
HOMA-β cell (fasting)	Controls	r=0.64*	r=0.68*	r=0.69*	r=0.64*
	CF total	r=0.76**	r=0.67**	r=0.65**	r=0.51
	CF-NGT	r=0.70*	r=0.34	r=0.51	r=0.43
	CFRD	r=0.89*	r=0.88*	r=0.87*	r=0.86*
ISR (OGTT)	Controls	r=0.49*	r=0.52*	r=0.60*	r=0.59*
	CF total	r=0.77**	r=0.89**	r=0.89**	r=0.89**
	CF-NGT	r=0.80*	r=0.88*	r=0.91**	r=0.90**
	CFRD	r=0.86*	r=0.87*	r=0.86*	r=0.88*
Stumvoll (OGTT)	Controls	r=0.62*	r=0.67*	r=0.72*	r=0.72*
	CF total	r=0.67**	r=0.78**	r=0.78**	r=0.77**
	CF-NGT	r=0.63; P=0.06	r=0.71*	r=0.72*	r=0.70*
	CFRD	r=0.9*	r=0.87*	r=0.88*	r=0.81*

OGTT: oral glucose tolerance test; CF-NGT: Cystic fibrosis normal glucose tolerance; CFDR: cystic fibrosis related diabetes, ISR; Insulin secretion rate; IVGTT: intravenous glucose tolerance test.

*P < 0.05

**P < 0.01

**DICHOTOMY BETWEEN POSTPRANDIAL GLUCOSE AND LIPID PROFILES IN
ADULTS WITH CYSTIC FIBROSIS**

I. Hammana, L. Coderre, S. Potvin, M. Costa, Y. Berthiaume, A Lavoie, J-L. Chiasson, E
Levy, and R. Rabasa-Lhoret

Recrutement des patients : I. Hammana, S. Potvin

Suivi du patient par le médecin : Dr Y. Berthiaume, Dr A. Lavoie, Dr Rémi Rabasa-Lhoret

Collecte des échantillons : I. Hammana

Analyse biochimique des échantillons : I. Hammana

Analyse statistique : I. Hammana

Rédaction du manuscrit : I. Hammana, Dr L. Coderre

Conception du projet : Dr R. Rabasa-Lhoret.

Relecture et correction du manuscrit : Dr J-L. Chiasson, Dr R. Rabasa-Lhoret

Collaborateur : Dr E. Levy

J Cyst Fibrosis 2009, Mar;8(2):128-34

**DICHOTOMY BETWEEN POSTPRANDIAL GLUCOSE AND LIPID PROFILES IN
ADULTS WITH CYSTIC FIBROSIS**

I. Hammana^{1,3,5}, L. Coderre^{1,3,5}, S. Potvin^{1,2}, M. Costa¹, Y. Berthiaume^{2,4}, A Lavoie^{2,4},
J-L. Chiasson^{1,4,5}, E Levy^{5,7}, and R. Rabasa-Lhoret^{1-4,6,7}

¹Diabetes & Metabolic Disease Research Group, Research Center ; ²Cystic Fibrosis Clinic, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM)-Hôtel-Dieu, ³Metabolic Research Unit, Department of Nutrition; ⁴Department of Medicine, Université de Montréal, ⁵Centre de recherche CHU-Sainte-Justine, ⁶Montreal Diabetes Research Center, ⁷Department of Nutrition, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Running title: Triglyceride and Free Fatty Acid levels in cystic fibrosis

Send correspondence and reprint requests to:

Rémi Rabasa-Lhoret
Division of Endocrinology
Research Centre, CHUM Hôtel-Dieu
3850 Saint Urbain St.
Montréal, Québec, Canada, H2W 1T7
Tel: (514) 890-8000 ext. 14086
Fax: (514) 412-7204

ABSTRACT:

Background Cystic Fibrosis (CF) patients have a high incidence of glucose tolerance abnormalities. Abnormal insulin secretion combined with recommended high fat intake could be associated with dysregulation of glucose and lipid metabolism. The objective is to examine postprandial glucose and lipid profile during an oral glucose tolerance test (OGTT) and a standardized high-fat test meal (TM) in CF patients.

Methods: Sixteen CF-patients with normal glucose tolerance (NGT) or diabetes (CFRD) and 16 controls underwent 4-h OGTT and a TM and plasma glucose, insulin, free fatty acids (FFA) and triglyceride (TG) concentrations were measured.

Results: CF patients presented higher glucose excursion compared to controls after the OGTT and TM. This excursion was significantly reduced in both amplitude and length during the TM for CF patients. The TM provoked a comparable increase in TG levels in all groups while they remained stable during the OGTT. FFA was suppressed similarly in all groups after both challenges.

Conclusion: CF is associated with abnormal glucose excursion after both tests but does not present abnormal lipid excursion. The rapid normalization of glucose values after a mixed meal should be further explored and, if confirmed, might have important implications if casual glucose is used to screen for CFRD.

INTRODUCTION

The Cystic Fibrosis (CF) adult population is characterized by a very high incidence of glucose intolerance states (1). Previous studies by our group and others have documented decreased insulin secretion with a possible contribution by altered insulin sensitivity as the cause of glucose tolerance abnormalities in CF patients (2;3). Insulin plays an important role in lipid metabolism, tightly regulating plasma free fatty acid (FFA) levels by reducing their adipose tissue mobilization and enhancing their clearance (4). Thus, abnormal insulin secretion in CF patients could be associated with both abnormal postprandial glucose and lipid excursion. At least in predisposed individuals, abnormal combined glucose and lipid excursions is thought to play a role in the occurrence of type 2 diabetes (5;6).

CF is characterized by exocrine pancreatic insufficiency, which leads to intestinal fat malabsorption (7;8). To prevent malnutrition, current guidelines recommend that CF patients have a higher energy diet and fat intake (40% of total calories as fat) than their healthy peers (7;9), along with appropriate pancreatic enzyme supplementation. Despite these recommendations, there are currently few available data about the postprandial metabolic profile of CF patients, and most of the glucose data are derived from the oral glucose tolerance test (OGTT) rather than post-meal, while, to our knowledge, there is few available data about lipid excursions.

Because of reduced insulin secretion in CF patients along with the recommended high-fat dietary intake it is not known (i) whether the observed high-glucose excursion after an OGTT correctly represent the one observed after a test meal, and (ii) whether CF patients present abnormal lipid excursion (i.e. inability to suppress FFA) is unclear at present. The aim of our study was to examine the postprandial glucose and lipid profile during an OGTT

and a standardized high-fat TM in CF patients with or without Cystic Fibrosis related diabetes (CFRD) compared to paired control group.

METHODS

Subjects

Sixteen adult CF patients (>18 years of age) and 16 controls with normal glucose tolerance (NGT) matched for age and sex participated in this study. The protocol was approved by the Research Ethics Committee of the Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), and all subjects signed a written consent form. CF patients had either normal glucose tolerance (CF-NGT) or CFRD. Diagnosis of CFRD was based either on two consecutive abnormal OGTT values (fasting values >7.0 mmol/L or 2 h >11.0 mmol/L) or if patients were already receiving pharmacological treatment to control their diabetes. To reduce the confounding effect of pharmacological treatment and uncontrolled diabetes, CFRD patients were included only if they were controlled by diet alone or if they could discontinue hypoglycemic agents for at least 24 h without significant impact on diabetes control (fasting glycemia <8.0 mmol/L).

Subjects were enrolled in the study if they met the following criteria: 1) no antibiotic treatment in the previous 8 weeks, 2) no weight fluctuation in the past 2 months (± 2 kg), 3) no medications or conditions that could affect glucose metabolism such as oral or intravenous steroids, growth hormone, megace, or pregnancy, 4) no clinical signs of dyspepsia or medication known to alter gastric motility, 5) absence of liver disease, and 6) appropriate enzyme and vitamin supplementation. The exclusion criteria were respiratory exacerbation in the previous month, according to criteria published by the 1994 Cystic Fibrosis Foundation Microbiology and Infectious Disease Consensus Conference (10). Exacerbation was identified by a trained CF pneumologist on the day of the study. The

protocol was approved by the Research Ethics Committee of the Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), and all subjects signed a written consent form.

Oral Glucose Tolerance Test (OGTT)

All subjects underwent a 4-h OGTT. After a >10 h fast, they ingested, a glucose solution in less than 5 min: 1.75 g/kg of body weight to a maximum of 75 g according to American Diabetes Association guidelines (11).

High Fat-test-meal

A standardized high-fat TM was given after a >10 h fast. The objective was to obtain a high-fat mixed meal with a comparable carbohydrate amount as provided by the OGTT. Subjects ingested a high-fat meal consisting of a 500 ml milk shake (whole milk, ice cream and egg), 50g cheddar cheese and a slice of bread in 10 min. The energy density of the meal was 940 Kcal and comprised 40 g proteins (17% of energy), 71 g carbohydrates (30%) and 55 g lipids (53%).

Biochemical dosages

Blood samples were taken at time 0, 60, 120, 180 and 240 min of the OGTT and TM to measure plasma glucose, insulin, FFA and triglyceride (TG) concentrations while additional glucose and lipid variable were measured only at T0 minutes. Glucose and insulin levels were measured in duplicate. Plasma glucose was determined at the time of sampling with a Glucose Analyser (Beckman, Fullerton, CA). Insulin levels were measured by radio-immunoassay (Linco Research Inc, St-Charles, MO) while glycated hemoglobin (A_{1c}), an index of blood glucose control in previous month, was assessed by immunoturbidimetric assay with ADVIA1650 (Bayer Health Care Diagnostics, Toronto,

ON, Canada). Fatty acids levels were measured in duplicate by the HR Series NEFA-HR Microtiter Procedure, an enzyme colorimetric method (Wako Chemical, USA, Inc). Plasma total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol (HDL-C), triglyceride and glucose were analyzed on the COBAS INTEGRA 400 (Roche Diagnostic, Montreal, QC, Canada). Low density lipoprotein cholesterol (LDL-C) was calculated according to the Friedwald equation.

Statistical analysis:

The data are presented as means \pm SE. The plasma glucose and insulin area under the curve (AUC) were calculated by the trapezoidal method. Correlations were calculated by Pearson's analysis. One-way ANOVA was performed to analyze mean differences between the groups. When significant differences were found, Fisher's post hoc test was used to identify group differences. Significance was accepted at $P < 0.05$.

RESULTS

Subject characteristics

Sixteen normal control subjects were compared to 16 CF patients, 10 CF-NGT and 6 CFRD (diabetes duration 1-3 years) paired for age and sex. As shown in Table 1, all control subjects were NGT. CFRD patients presented higher A_{1c} and lower body weight as well as body mass index compared to the controls (P<0.05) and CF-NGT (P<0.05).

Plasma glucose level during test meal and the OGTT

As reported in Table 1, CFRD patients presented significantly higher fasting plasma glucose levels compared to the controls and CF-NGT (P<0.05). Irrespective of their glucose tolerance status, both groups of CF patients showed a significantly higher glucose excursion compared to control subjects (Figure 1 A, B). Glucose excursion had a similar profile in all groups of CF patients both after the OGTT and the TM. However, despite similar glucose intake, the magnitude of this excursion was reduced during the TM both for the peak values (p<0.05) and the glucose AUC (Fig 1 A, B & 5). Furthermore, CFRD patients normalized more rapidly their glucose value after the test meal (T120min) than after the OGTT (T180min) (Figure 1). At T120 min, the post-challenge time determining glucose tolerance status, there was a striking difference between mean OGTT (12.40 ± 1.85 mmol/L) and TM values (6.83 ± 1.89 mmol/L; P<0.0001).

Insulin profile in response to the TM and OGTT

There was no significant difference for fasting insulin levels between the three groups studied (Table 1) and between testing days (data not shown). As shown in Figure 2, administration of the OGTT or ingestion of a high fat meal induced a time dependent

increase in plasma insulin levels, which followed a similar profile for both tests in all groups of patients. Similar to the glucose values, the insulin excursion peak (Figure 2 A, B) and AUC (Table 1) tended to be lower during the test meal than during the OGTT in all groups.

Triglycerides levels in response to the TM and OGTT

In the fasting state, TG concentrations were similar between all groups on the two tests (Figure 3A, B & Table 1). The standardized high-fat TM provoked a progressive and comparable increase in TG levels in all groups resulting in significantly higher levels at 4 h compared to fasting values (controls 1.91 ± 0.65 mmol/L; CF-NGT 1.94 ± 0.74 mmol/L; CFRD 1.91 ± 0.89 mmol/L; $P < 0.001$). On the other hand, and as shown in Figure 1B, TG levels were not significantly modified during the OGTT in any of the group studied.

FFA levels in response to the TM and OGTT

Fasting plasma FFA concentrations were not significantly different between control subjects and either CF-NGT or CFRD patients, whether they were measured on the day of the TM or OGTT (fig 4 A & B).

Both the OGTT and ingestion of a high fat TM provoked a time-dependent decrease in plasma FFA levels, which followed a similar pattern in 3 groups. This reduction was followed by a normalization of the FFA levels by the end of the 4-h TM. However, differences were noted in the FFA profile between the two tests. The maximum reduction of FFA levels was reached at 60 min during the TM while it occurred between 120 min and 180 min during the OGTT.

DISCUSSION

Because of reduced insulin secretion in CF patients combined with the recommended high fat dietary intake, we explored postprandial glucose and lipid profiles after a glucose load or a test meal in CF patients with and without diabetes compared to paired controls. Our results indicate that CF patients present an exaggerated glucose excursion both after a TM and a glucose load. Despite comparable glucose intake during both challenge the glucose excursion was, however, significantly reduced after the TM. Surprisingly, we were not able to document any abnormalities in FFA and TG responses between CF patients and the controls even after a high-fat TM.

Excessive postprandial glucose excursion in CF patients is well documented (1;3). The main reason is believed to be the significant reduction of early insulin secretion already apparent in CF-NGT patients (3). Interestingly, despite similar glucose loading during both challenges, CF patients presented both decreased glucose and insulin excursion (peak and AUC) after the TM suggesting a better suppression of hepatic glucose production after the fat meal than after the isolated glucose challenge (Figure 1, 2, 5 and Table 1). The main factors involved in suppression of postprandial hepatic glucose production are early insulin secretion and glucagon suppression (12). Since, the TM insulin secretion was reduced to a similar extent in all groups compared to the OGTT, it is possible that the meal induced better suppression of glucagon secretion. This suppression could be related to the potent stimulatory effects of nutrients on glucagon-like peptide-1 (GLP-1) a major inhibitor of glucagon's secretion (12). Further studies are required to explore postprandial glucose homeostasis in CF patients.

The fact that mean 2-h plasma glucose in CFRD patients was in the normal range after the TM (6.9 ± 1.7 mmol/L; Figure 2A) could be a major limitation to the use of random plasma glucose as an initial screening step for diabetes in the CF population (13). We (3) and others (14) have previously described the specific OGTT post-challenge glucose profile in CF patients, characterized by an abrupt rise in plasma glucose and followed by a rapid return to normal. The present study extends this observation to a mixed meal, with a significant amount of glucose, and probably explains the very low sensitivity of casual blood glucose to detect new cases of CFRD since it is usually done 2 or more hours after the last meal (15). This reinforces the previous suggestion that regular OGTT should be maintained as the key test to detect new cases of CFRD (1;3).

Despite these differences in glucose and insulin profiles between the OGTT and the TM, it should be noted that the overall profiles were comparable (Figure 1A, B and Figure 2 A, B) and thus the mechanisms involved in the development of CFRD could probably be explored appropriately by regular OGTT screening. Furthermore, previous attempts to use a more physiological mixed meal glucose challenge to diagnose glucose abnormalities have not translated to clinical practice despite interesting preliminary results (16). Thus, the OGTT remains the only standardized diagnosis test which could also be used for physiological evaluation.

Despite high fat intake and reduced insulin secretion, CF patients did not present abnormal TG and FFA levels had a similar profile then control group after the high fat TM suggesting that insulin levels remain sufficient to inhibit lipolysis and stimulate lipogenesis (Figure 4A, B). Our results are consistent with previous data showing that abnormal fasting lipid levels are rare in CF (17). The normal postprandial lipid profile also suggests that in contrast to type 2 diabetes, in which lipotoxicity is evidently involved in both β -cell

failure and insulin resistance (18), there is a low probability that such phenomenon is implicated in the development of CFRD. However, our results do not preclude more subtle abnormalities that could still have significant implications (19).

We investigated stable patients to avoid various confounding factors, however, it remains possible that, in sicker patients, the observed results of the present work could be different. Moreover, insulin is also the main regulator of protein metabolism, controlling both anabolic and catabolic pathways. Thus, the reduced insulin secretion observed in CF patients might have its most clinically significant impact on fat free mass maintenance (19;20).

In conclusion, the present study indicates that CF patients present abnormal glucose (but not lipid) excursion after a TM. Despite the overall similarity of blood glucose and insulin profiles after the OGTT and a TM, we noted intriguing differences, with a better profile after the mixed meal, suggesting better suppression of hepatic glucose production after the meal challenge. Postprandial glucose homeostasis should be further characterized in CF patients.

Acknowledgements:

We thank Annie Tardif for her technical assistance. Dr. Rabasa-Lhoret is supported by a scholarship from the “Fonds de la Recherche en Santé du Québec” (FRSQ). This study was supported by start-up funds from the Fondation du Centre Hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM) and the Canadian Cystic Fibrosis Foundation. The editorial assistance of Ovid DaSilva, Research Support Office, Research Center, CHUM, is appreciated.

REFERENCES

- (1) Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A et al. Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 2005; 31(3 Pt 1):221-232.
- (2) Hardin DS, Moran A. Diabetes mellitus in cystic fibrosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 1999; 28(4):787-800, ix.
- (3) 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): 376-383.
- (4) Carpentier AC, Frisch F, Brassard P, Lavoie F, Bourbonnais A, Cyr D et al. Mechanism of insulin-stimulated clearance of plasma nonesterified fatty acids in humans. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; 292(3):E693-E701.
- (5) Prentki M, Segall L, Roche E, Thumelin S, Brun T, McGarry JD et al. [Glucolipotoxicity and gene expression in the pancreatic beta cell]. *Journ Annu Diabetol Hotel Dieu* 1998;17-27.Review. French.
- (6) El Assaad W, Buteau J, Peyot ML, Nolan C, Roduit R, Hardy S et al. Saturated fatty acids synergize with elevated glucose to cause pancreatic beta-cell death. *Endocrinology* 2003; 144(9):4154-4163.
- (7) Pencharz PB, Durie PR. Nutritional management of cystic fibrosis. *Annu Rev Nutr* 1993; 13:111-136.
- (8) Roy CC, Weber AM, Morin CL, Combes JC, Nussle D, Megevand A et al. Abnormal biliary lipid composition in cystic fibrosis. Effect of pancreatic enzymes. *N Engl J Med* 1977; 297(24):1301-1305.
- (9) Littlewood JM, MacDonald A. Rationale of modern dietary recommendations in cystic fibrosis. *J R Soc Med* 1987; 80 Suppl 15:16-24.
- (10) Cystic Fibrosis Foundation. *Microbiology and infectious disease in cystic fibrosis*. Bethesda: 1994: 1-26.
- (11) Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2005; 28 Suppl 1:S37-S42.
- (12) Dunning BE, Gerich JE. The role of alpha-cell dysregulation in fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2007; 28(3):253-283.
- (13) Moran A. Diagnosis, screening, and management of cystic fibrosis-related diabetes. *Curr Diab Rep* 2002; 2(2):111-115.

- (14) Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT. Conventional measures underestimate glycaemia in cystic fibrosis patients. *Diabet Med* 2004; 21(7):691-696.
- (15) Solomon MP, Wilson DC, Corey M, Kalnins D, Zielenski J, Tsui LC et al. Glucose intolerance in children with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2003; 142(2):128-132.
- (16) Wolever TM, Chiasson JL, Csima A, Hunt JA, Palmason C, Ross SA et al. Variation of postprandial plasma glucose, palatability, and symptoms associated with a standardized mixed test meal versus 75 g oral glucose. *Diabetes Care* 1998; 21(3):336-340.
- (17) Figueroa V, Milla C, Parks EJ, Schwarzenberg SJ, Moran A. Abnormal lipid concentrations in cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr* 2002; 75(6):1005-1011.
- (18) Robertson RP, Harmon J, Tran PO, Poitout V. Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes* 2004; 53 Suppl 1:S119-S124.
- (19) Moran A, Basu R, Milla C, Jensen MD. Insulin regulation of free fatty acid kinetics in adult cystic fibrosis patients with impaired glucose tolerance. *Metabolism* 2004; 53(11):1467-1472.
- (20) Rafii M, Chapman K, Stewart C, Kelly E, Hanna A, Wilson DC et al. Changes in response to insulin and the effects of varying glucose tolerance on whole-body protein metabolism in patients with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr* 2005; 81(2):421-426.

Table 1 Physical characteristics of CF patients and control subjects

	Controls N = 16	CF-NGT N = 10	CFRD N = 6
Age (years)	24.8 ± 4.2	28.5 ± 10.5	27.0 ± 8.6
Sex ratio (M/F)	9/7	6/4	4/2
Weight (kg)	66.7 ± 9.1	64.6 ± 11.6	56.8 ± 10.6*
BMI (kg/m²)	22.4 ± 1.6	23.5 ± 2.2	20.7 ± 3.5*
Pancreatic enzyme supplementation	0%	50%	100%
A_{1c}	0.050 ± 0.002	0.052 ± 0.005	0.066 ± 0.007 ^{††}
Fasting glucose (TM) (mmol/L)	5.0 ± 0.3	5.3 ± 0.4	6.4 ± 0.8 ^{††}
Fasting glucose (OGTT) (mmol/L)	5.0 ± 0.5	5.3 ± 0.3	6.1 ± 0.9 ^{*†}
Insulin AUC 120 min (TM) (μU/ml)	4,804 ± 2,229	4,351 ± 2,314	3,731 ± 1,824
Insulin AUC 120 min (OGTT) (μU/ml)	6,632 ± 2,766	5,379 ± 2,346	4,142 ± 2,412*
Total cholesterol (mmol/L)	3.84 ± 0.46	3.78 ± 1.13	3.74 ± 0.09
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.35 ± 0.38	1.20 ± 0.22	1.41 ± 0.48
LDL-cholesterol (mmol/L)	2.13 ± 0.37	2.12 ± 0.82	1.74 ± 0.51
Fasting TG (mg/dl)	0.98 ± 0.34	1.05 ± 0.46	1.15 ± 0.41
Fasting FFA (mEq/L)	0.35 ± 0.12	0.32 ± 0.16	0.46 ± 0.22

CF-NGT: cystic fibrosis patients with normal glucose tolerance, CFRD: cystic fibrosis-related diabetes, BMI: body mass index, A_{1c}: glycated hemoglobin, OGTT: oral glucose tolerance test, TM: test meal, AUC: area under the curve; HDL: high-density lipoprotein, LDL: low-density lipoprotein, TG: triglyceride, FFA: free fatty acids.

[†]P < 0.001 CFRD vs. CF-NGT; ^{††}P < 0.001 CFRD vs. Controls; *P < 0.05 CFRD vs. Controls

FIGURES LEGENDS:**Figure 1 Plasma glucose level during TM and the OGTT****A: 4h-TM; B: 4h- OGTT**

◆: Control subjects; ■: CF normal glucose tolerance patients (CF-NGT); ▲: Cystic fibrosis related diabetes (CFRD).

* =P<0.05 CFRD vs. Controls

Δ =P<0.05 CFRD vs. NGT

Ψ= P<0.05 NGT vs. Controls

Figure 2 Insulin profile in response to the TM and OGTT**A: 4h-TM; B: 4h- OGTT**

◆: Control subjects; ■: CF normal glucose tolerance patients (CF-NGT); ▲: Cystic fibrosis related diabetes (CFRD).

Figure 3 A, B: Plasma TG level in response to the TM and OGTT**A: 4h-TM; B: 4h -OGTT**

◆: control subjects; ■: CF normal glucose tolerance patients (CF-NGT); ▲: cystic fibrosis related diabetes (CFRD).

Figure 4 A; B: Plasma Free fatty acids levels in response to the test meal and the OGTT**A: 4h-TM; B: 4h- OGTT**

◆: control subjects; ■: CF normal glucose tolerance patients (CF-NGT); ▲: cystic fibrosis related diabetes (CFRD).

Figure 5: Glucose area under the curve (AUC) 120min of OGTT and test meal

* = P<0.005 TM vs. OGTT

Δ = P<0.0001 NGT vs. Controls for MT and OGTT

€ = P<0.0001 CFRD vs. Controls for MT and OGTT

¥ = P<0.0001 CFRD vs. NGT for MT and OGTT

Fig 1-A

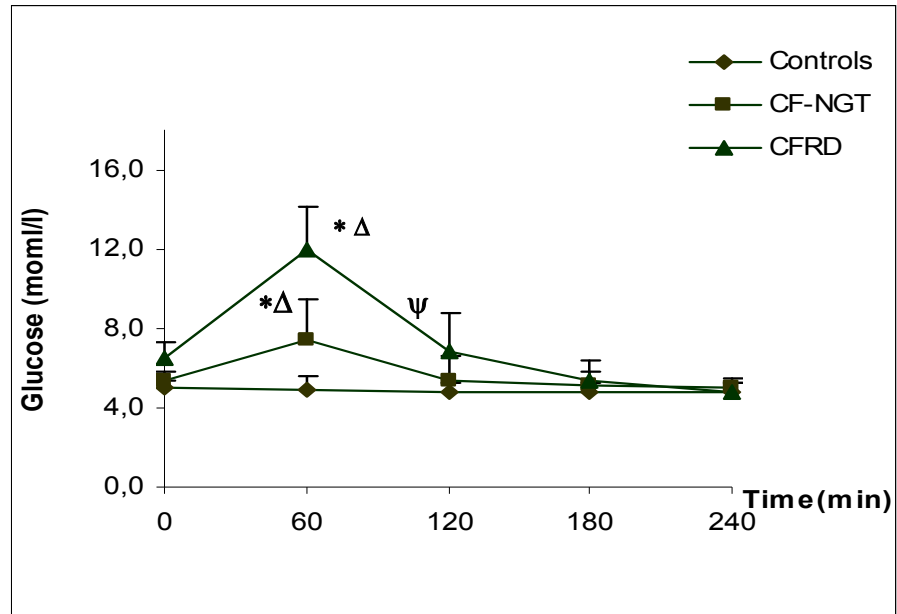


Fig1-B

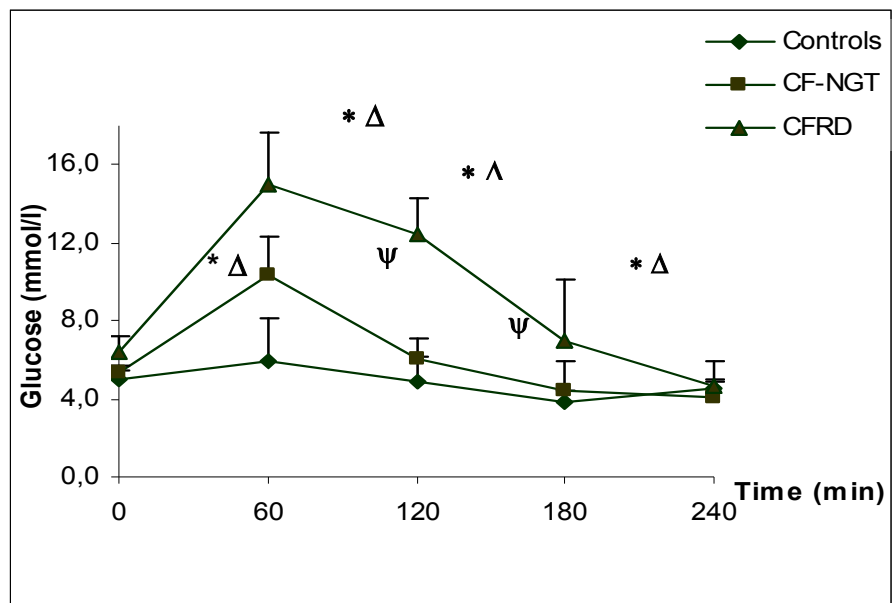


Fig2- A

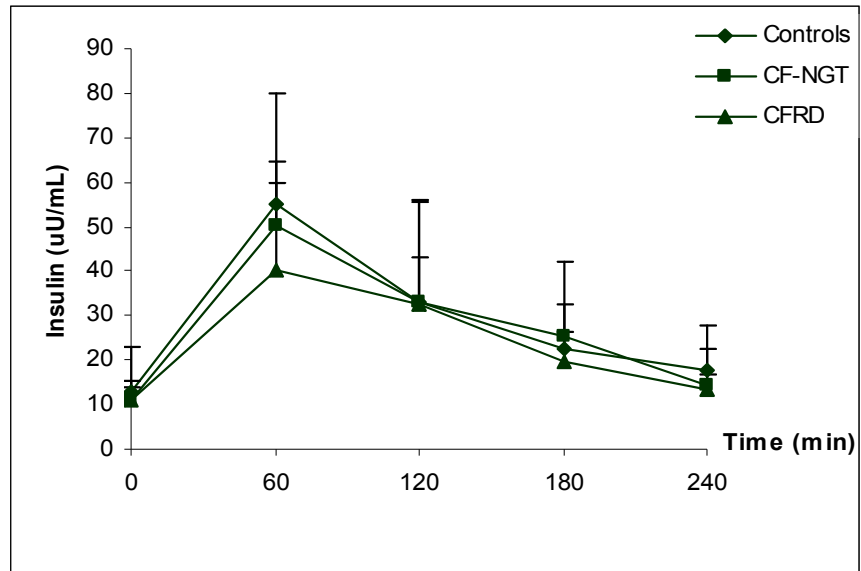


Fig 2-B

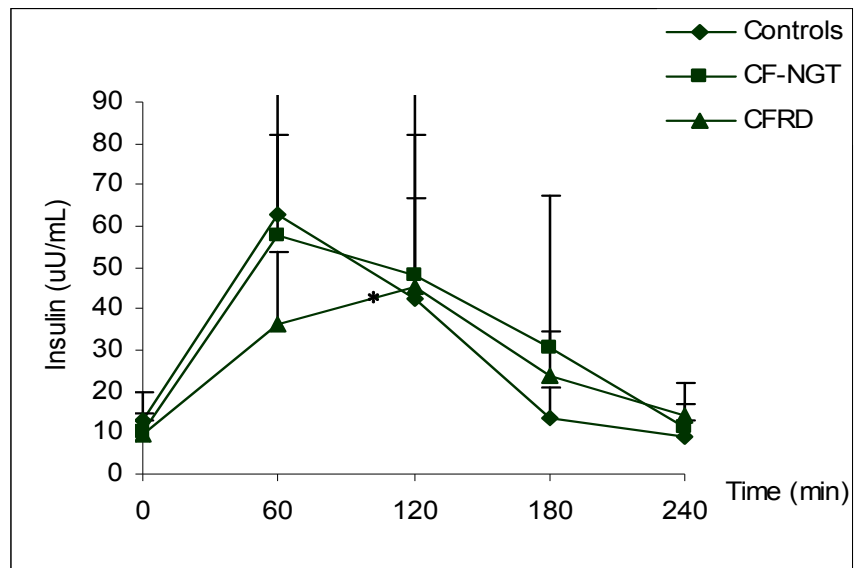


Fig3-A

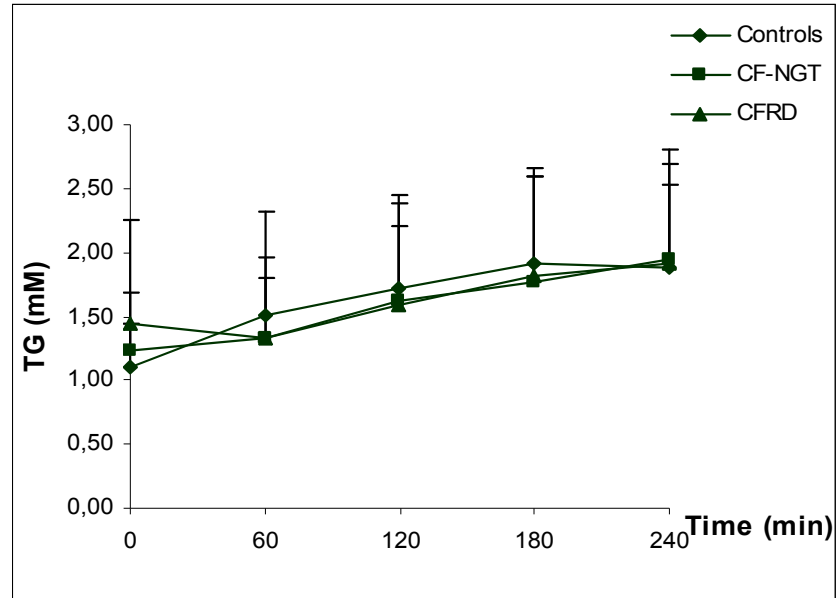


Fig3-B

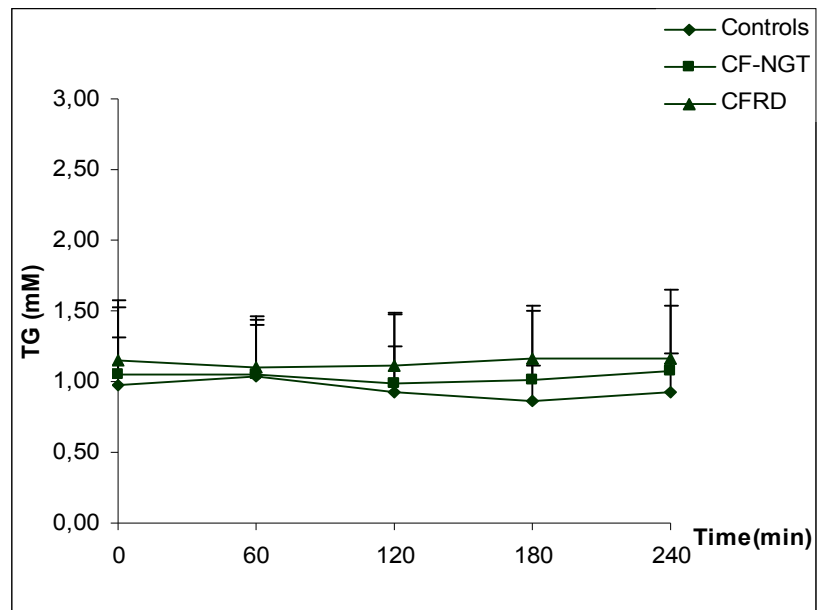


Fig4-A

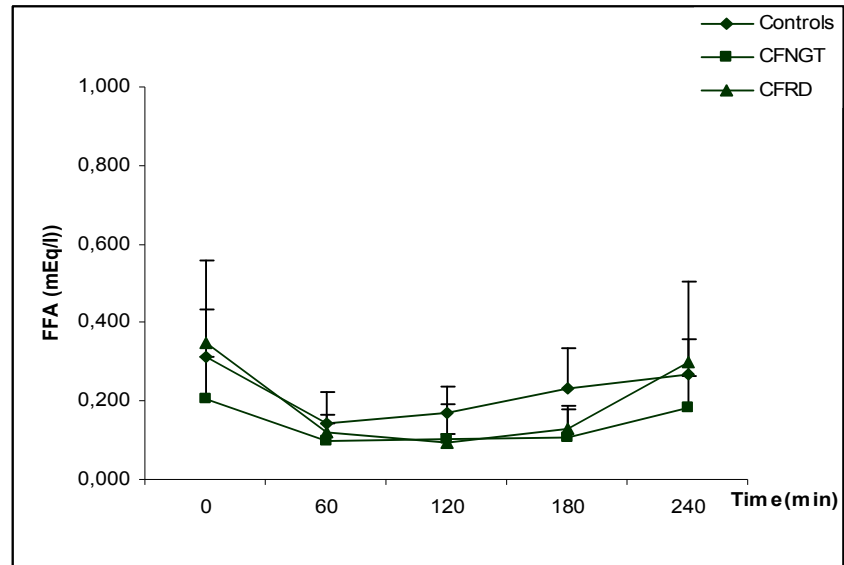


Fig 4-B

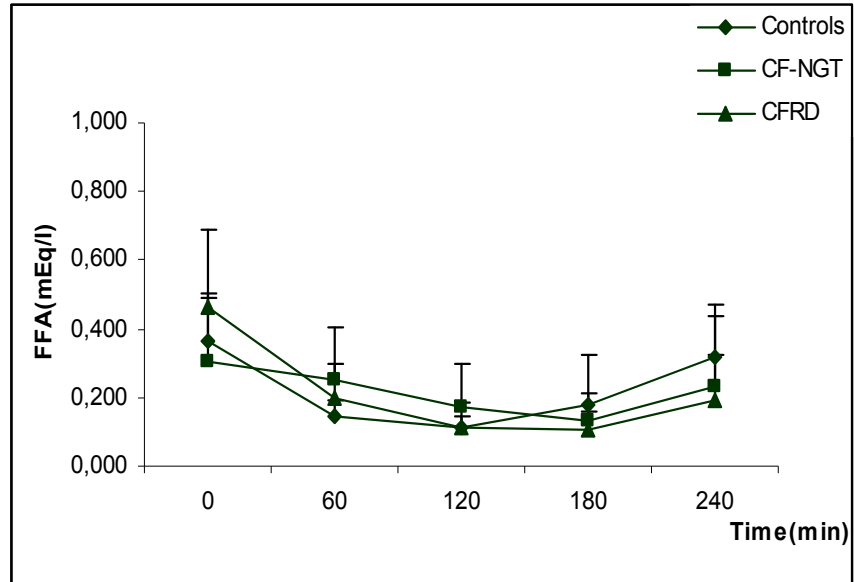
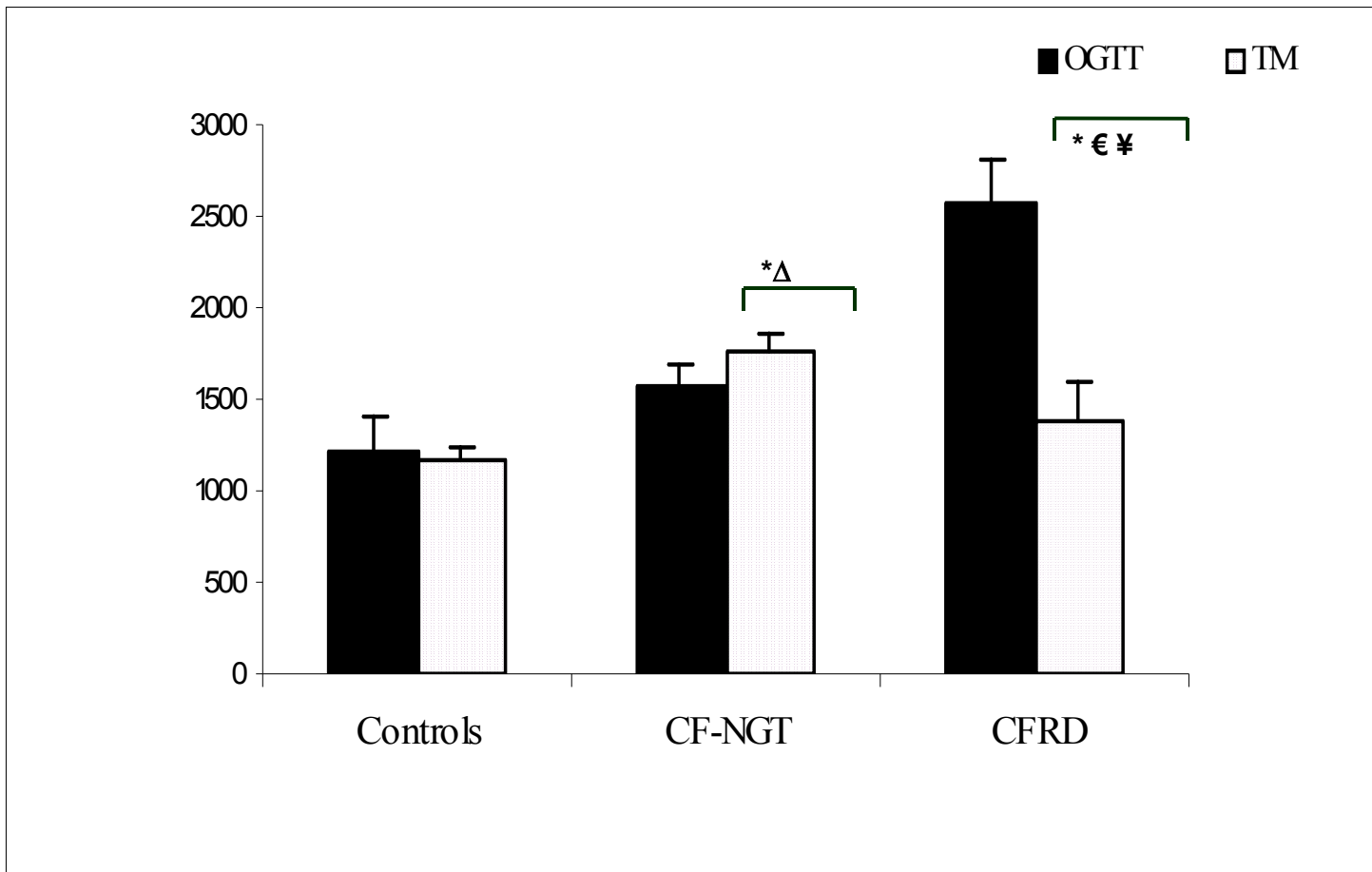


Fig 5:



**NORMAL ADIPONECTIN LEVELS DESPITE ABNORMAL
GLUCOSE TOLERANCE (OR DIABETES) AND INFLAMMATION IN
ADULT PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS**

I Hammana, A Malet, M Costa, E Brochiero, Y Berthiaume, S Potvin, J-L Chiasson,
L Coderre and R Rabasa-Lhoret.

Recrutement des patients : I Hammana, S Potvin

Suivi du patient par le médecin : Y Berthiaume, R Rabasa-Lhoret

Collecte des échantillons : A Malet, I Hammana

Analyse biochimique des échantillons : A Malet, I Hammana

Analyse statistique : I Hammana

Rédaction du manuscrit : I Hammana

Conception du projet : R Rabasa-Lhoret.

Relecture et correction du manuscrit : L Coderre, J-L Chiasson, R. Rabasa-Lhoret, E
Brochiero

Diabetes Metab. 2007 Jun;33(3):213-9.

**NORMAL ADIPONECTIN LEVELS DESPITE ABNORMAL
GLUCOSE TOLERANCE (OR DIABETES) AND INFLAMMATION IN
ADULT PATIENTS WITH CYSTIC FIBROSIS**

I Hammana^{1,3}, A Malet¹, M Costa¹, E Brochiero⁴, Y Berthiaume^{2,4}, S Potvin^{1,2}, J-L
Chiasson^{1,4}, L Coderre^{1,3,4} and R Rabasa-Lhoret¹⁻³.

¹Diabetes Research Group, Research Center and ²Cystic Fibrosis Clinic, Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM)-Hôtel-Dieu, Montréal, Québec, Canada
³Metabolic Research Unit, Department of Nutrition and ⁴Department of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Running title: Adiponectin levels in cystic fibrosis

Send correspondence and reprint requests to:

Rémi Rabasa-Lhoret
Division of Endocrinology
Research Center, CHUM Hôtel-Dieu
3850 Saint-Urbain St.
Montréal, Québec, Canada H2W 1T7
Tel: (514) 890-8000 / Ext. 14086
Fax: (514) 412-7204

ABSTRACT

Rationale: Circulating adiponectin levels are negatively associated with glucose intolerance, inflammation and central adiposity. Since these conditions are common in cystic fibrosis (CF), we examined whether adiponectin values are altered in these patients.

Aim: To determine if CF patients have altered adiponectin levels and if these levels correlate with glucose tolerance categories (normal, impaired glucose tolerance (IGT) and CF-related diabetes (CFRD)), insulin resistance or inflammatory markers such as fibrinogen and C-reactive protein (CRP).

Methods: Oral glucose tolerance tests were performed and adiponectin levels were measured in 90 CF patients not known to be diabetic and 15 healthy controls matched for age, sex and body mass index. Inflammatory markers, serum albumin concentrations and the clinical status of CF patients (i.e. pulmonary function) were also examined.

Results: CF pathology was characterized by a high prevalence (43.5%) of glucose tolerance abnormalities: 26.5% of IGT and 17.0% of newly diagnosed CFRD. CF patients also presented systemic inflammation as revealed by a significant increase of fibrinogen ($P=0.029$) in all patients and higher CRP levels in CFRD patients compared to the controls ($P<0.05$). On the other hand, CF and control subjects had similar albumin serum concentration. While CF patients and controls had similar serum adiponectin values, women had significantly higher hormone levels than men ($P<0.001$). Adiponectin levels did not correlate with glucose tolerance, inflammatory markers or insulin resistance. On the other hand, they correlated positively with both total and HDL-cholesterol ($P<0.001$).

Conclusion: CF patients did not show any alterations in adiponectin levels despite insulin resistance, glucose intolerance and sub clinical chronic inflammation. Thus, CF appears to be one of the rare conditions in which discordance between adiponectin values and insulin resistance or inflammation is evident.

Keywords: Insulin sensitivity, Adiponectin, Diabetes, Inflammation, Cystic fibrosis

INTRODUCTION

Adiponectin, one of the physiologically-active polypeptides secreted by adipose tissue, is involved in a number of metabolic processes, including glucose and fatty acid metabolism [1]. Adiponectin increases insulin sensitivity by stimulating fatty acid oxidation and decreasing triglyceride accumulation in skeletal muscles [2;3]. It can also suppress glucose production by the liver [4]. Serum adiponectin levels are reduced in conditions associated with increased risk of cardiovascular disease, such as diabetes and central fat accumulation. Circulating adiponectin is negatively associated with insulin resistance, and decreased levels of the hormone have been found in humans and animal models of obesity and type 2 diabetes [5]. Furthermore, low adiponectin levels have been shown to be a good predictor of diabetes development [6]. Adiponectin concentration is also influenced by energy balance, and a negative correlation between hormone levels and energy intake has been reported in both severely malnourished patients [7] and young healthy subjects [8].

Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive disease characterized by chronic lung infection as well as chronic malabsorption secondary to pancreatic insufficiency. The disease is associated with weight loss, but coexists with preferential central fat accumulation, chronic low grade inflammation, insulin deficiency, increased energy expenditure and frequent glucose tolerance abnormalities [9]. Furthermore, diabetes is diagnosed in 40% of adult CF patients, while another 35% have impaired glucose tolerance (IGT). Thus, the CF population represents a group of patients with multiple conditions usually associated with altered adiponectin concentration. Therefore, we evaluated serum adiponectin levels in CF patients and healthy controls matched for age, sex and body mass

index (BMI), and characterized for glucose tolerance, insulin resistance and nutritional as well as inflammatory markers.

SUBJECTS & METHODS

Subjects

Ninety CF patients and 15 controls with normal glucose tolerance (NGT) and matched for age, sex and BMI (kg/m^2) participated in this study. The protocol was approved by the Research Ethics Committee of the Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), and all subjects received a signed copy of the written consent form. Male and female CF patients over 18 years of age were included in the study. The exclusion criteria were the presence of exacerbation in the previous month defined by: changes in sputum production (volume, color, consistency), new or increased hemoptysis, cough, increased dyspnea, fatigue or lethargy, fever $>38^\circ\text{C}$, anorexia, sinus pain, a 10% decrease in pulmonary function determined by forced expiratory volume in one second (FEV₁) from previously recorded values (done every 3 months), intravenous antibiotic treatment, medication or conditions that interfere with glucose metabolism, steroids (oral or intravenous), growth hormone, megace, or pregnancy. Exacerbation was identified on the same day by a trained CF-pneumologist blinded to the metabolic parameters.

CF status

Pulmonary function was measured by spirometry on the day of the oral glucose tolerance test (OGTT) using FEV₁ (L/sec) and predicted %FEV₁ (Medgraphic 1870, St-Paul, MN, USA) as variables. Genotype status was extracted from the medical files. Pancreatic insufficiency was defined by current enzyme supplementation.

OGTT

All subjects underwent a 2-h OGTT. After an overnight fast, they ingested, in less than 5 min, a glucose solution: 1.75 g/kg of body weight to a maximum of 75 g according to American Diabetes Association guidelines [10]. Blood samples were taken at 0, 30, 60, 90 and 120 min to measure plasma glucose and insulin concentrations. Plasma glucose was determined immediately in duplicate with a Glucose Analyzer (Beckman, Fullerton, CA, USA). All new cases of diabetes were confirmed by a second OGTT within 2 months.

Insulin sensitivity assessment

Insulin sensitivity was evaluated on the basis of insulin and glucose values of the OGTT. We chose the Stumvoll's index because it has been validated for insulin sensitivity against the golden standard method: euglycaemic hyperinsulinemic clamp [12] and since used in various populations. Moreover, our unpublished data suggest that evaluation of insulin sensitivity using the Stumvoll index, unlike other fasting or post-challenge indices, is well correlated with direct measurement using the euglycaemic hyperinsulinemic clamp in the CF population.

Biochemical dosages

Insulin levels were measured in duplicate by a radio immunoassay (Linco Research Inc. St-Charles, MO, USA). Total adiponectin levels were also evaluated using a commercial radio immunoassay from Linco Research Inc. (St-Charles, MO, USA) since at the time of the study no commercial kit was available to evaluate the multiple forms of adiponectin. The inflammatory profile included plasma fibrinogen and C-reactive protein (CRP) concentrations and was determined by nephelometric assay using Beckman (Beckman Coulter Canada, Inc, Mississauga, ON, Canada). Glycated haemoglobin, an

index of blood glucose control in previous month, was quantified by immunoturbidimetric assay using the ADVIA1650 (Bayer Health Care Diagnostics, Toronto, ON, Canada). Total cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol were measured by enzymatic reaction (ADVIA1650, Bayer Health Care Diagnostics). Biochemical evaluation included albumin, total blood count and routine chemistry.

Statistical analysis

The data are expressed as means \pm SD. One-way ANOVA was performed to analyse mean differences among the groups. When significant differences were found, a Tukey post hoc test was used to identify group differences. Significance was accepted at $P < 0.05$.

RESULTS

Characteristics of CF patients

The results are presented for 90 CF patients and 15 healthy controls similar for age and BMI. The characteristics of the CF patients and control subjects are reported in Tables 1 and 2. All control subjects had NGT.

Our cohort of stable CF patients showed a moderate decrease in FEV₁, which was more pronounced in CF related diabetes (CFRD) subjects, and a high prevalence of pancreatic insufficiency (Tables 1 and 2). According to conventional criteria, CF patients were classified into 3 groups based on their glucose tolerance during the OGTT. As described previously [9], even in a group of CF patients not known to be diabetic, the prevalence of glucose tolerance abnormalities was high (43,5%) [11;13]. Thus, in this cohort, 26.5% of CF patients had IGT while 17.0% presented newly diagnosed CFRD. Compared to the controls, in CF patients, deterioration of glucose tolerance (from NGT to CFRD) was associated with a significant and progressive increase of glycosylated haemoglobin (HbA1c) and fasting glucose levels, a reduction of fasting insulin concentrations and a degradation of insulin sensitivity (Table 2).

CF was also associated with systemic inflammation, as shown by a significant increase of fibrinogen levels in all CF-groups compared to the controls (P=0.029). We also observed higher CRP in the NGT and CFRD group (P<0.05) and a tendency toward increased CRP in the IGT group (P=0.07) versus control subjects. On the other hand, there was no difference in serum albumin concentrations between the controls and CF patients or within patients across glucose tolerance categories (Table 2).

As shown in Table 2, no difference in total cholesterol, triglycerides and HDL-cholesterol was found among glucose tolerance categories of CF patients, or between CF subjects and the controls.

Adiponectin levels in CF patients

Adiponectin concentrations were similar in CF patients and controls (Table 2; Figure 1), and eliminating one outlier with high adiponectin value in the diabetes group did not alter the results. However, there was a strong gender effect with significantly higher adiponectin levels in women compared to men ($P < 0.001$; Figure 1). Previous studies have shown that type 2 diabetes is associated with lower adiponectin levels [5]. However, and as shown in Figure 1, adiponectin values were similar among different glucose tolerance categories as well as between the controls and CF patients. Adiponectin concentration has also been reported to be inversely correlated with markers of chronic subclinical inflammation and insulin resistance [14]. However, we did not observe any correlation between adiponectin and either CRP or fibrinogen levels, or insulin sensitivity (Figure 2). Furthermore, in CF patients, adiponectin values were not associated with markers of nutritional status, such as serum albumin concentration, BMI or body weight, nor with pulmonary function (FEV_1) (data not shown).

Liver disease, a frequent complication of CF [9], could contribute to elevated adiponectin levels as shown by studies in patients with advanced cirrhosis [16]. The conventional markers associated with hepatocellular injury and biliary tract disorders include aminotransferases (AST, ALT) and GGT (gamma-glutamyltransferase) [17]. As shown in Table 2, the ALT, AST and GGT of CF patients were in the normal clinical range. On the other hand, all CF groups had an increased ALT concentration compared to control

($P < 0.05$), while the AST concentration was increased only in CFRD group compared to control ($p < 0.05$) (Table 2). Furthermore, we did not observe any correlation between adiponectin and AST, ALT or GGT levels (data not shown). On the other hand, and as reported previously in other populations [15], there was a positive correlation between adiponectin levels and both HDL and total serum cholesterol concentrations (Figure 3).

DISCUSSION

CF patients present numerous conditions that could affect and/or be associated with lower adiponectin concentrations, such as chronic inflammation, central fat distribution and insulin resistance. Because of adiponectin's role in glucose metabolism [18], alteration of the hormone's levels could contribute to the glucose abnormalities reported in the CF population. We investigated whether CF status modulated adiponectin levels in a cohort of patients characterized for glucose tolerance, insulin sensitivity and inflammatory profile. The present results demonstrated that there was no significant difference in serum adiponectin concentrations in a stable adult CF population compared to healthy controls. Furthermore, in this cohort, adiponectin levels did not correlate with glucose intolerance, insulin resistance, inflammatory markers such as CRP and fibrinogen, or pulmonary function (FEV₁). On the other hand, and as established [6], adiponectin levels were significantly higher in women compared to men (Figure 1) and correlated positively with total and HDL-cholesterol (Figure 2).

The present work highlighted the already reported high prevalence of glucose intolerance in the CF population (Table 1) [11]. A number of studies have described either normal [19;20], reduced [21-25] or increased [26;27] insulin sensitivity in CF patients. The differences between these various studies may be due to the methodologies used to evaluate insulin sensitivity and the frequent absence of a control group. Using validated indices derived from the OGTT in a large group of patients, we were able to document insulin resistance in IGT and CFRD but not in NGT subjects (Table 2). Thus, besides the well-documented insulin deficiency in CF patients [28], insulin resistance could play a role in the degradation of glucose tolerance.

Circulating adiponectin levels are reduced in humans with insulin resistance and type 2 diabetes [29]. Furthermore, low serum adiponectin concentration has been shown to be predictive of diabetes development [5]. Because the CF population presented both a high prevalence of glucose tolerance abnormalities and insulin resistance (Tables 1 and 2), we expected to observe decreased serum adiponectin concentrations, at least in IGT and CFRD subjects. However, despite a wide spectrum of glucose and insulin sensitivity abnormalities, we did not find any association between adiponectin concentrations and glucose tolerance categories or insulin sensitivity in CF patients (Figure 2). Discrepancy between insulin sensitivity and adiponectin levels has been observed before. In fact, insulin sensitivity improvement in non diabetic insulin resistant, or in IGT obese subjects during caloric restriction was not associated with increased adiponectin concentrations [30;31]. Using the HOMA (Homeostasis Model Assessment) fasting-based index to quantify insulin sensitivity, Moriconi *et al.* [32] did not observe the presence of insulin resistance in CF patients, nor did they find any correlation between adiponectin levels and insulin sensitivity. Thus, we extend previous findings by demonstrating that neither glucose tolerance status, nor insulin sensitivity can predict circulating adiponectin levels in CF patients. Unlike type 2 diabetes, for which low adiponectin levels have been shown to be an independent predictor of diabetes development in prospective studies [33;34], the predictive value of low adiponectin concentration for the risk of future diabetes probably does not apply to CFRD.

CF patients frequently present inflammation, even without proven pulmonary exacerbation, and there is a well-described inverse correlation between adiponectin concentration and inflammatory markers [35]. Despite higher serum CRP and fibrinogen

concentrations in CF patients, we did not observe any association between these inflammatory markers and adiponectin levels in our cohort (Figure 2). Together, these data suggest that adiponectin levels are not reduced in stable CF patients presenting low-grade inflammation. Thus, as described recently for type 1 diabetic patients with nephropathy [36], CF appears to be one of the rare situations in which there is discordance between adiponectin concentration and insulin resistance, elevated glucose and inflammation.

Significant variations in adiponectin levels have been reported for patients with energy deficits due to eating disorders, such as anorexia nervosa and bulimia nervosa [29;35], with a gradual rise in adiponectin related to the magnitude of caloric deficiency [7;37]. This negative relationship between energy intake and adiponectin concentrations has been recently extended to an apparently healthy young population [8]. Chronic energy deficiency is often prevalent in CF patients [38] and could thus contribute to increased and/or preserved adiponectin concentrations. Recently, Moriconi *et al*, reported a negative correlation between serum albumin and adiponectin concentrations in CF patients, suggesting that the relationship between denutrition and adiponectin concentration is preserved in CF [32]. In contrast, we did not observe any correlation between serum albumin and adiponectin concentrations. The discrepancy between these 2 studies could be related to the fact that our cohort might have represented an earlier stage of the disease than the one included in the Moriconi study, based on better mean pulmonary function (FEV₁) as well as higher albumin concentrations (Tables 1 and 2). It is tempting to speculate that in CF patients, adiponectin concentration is modulated by various stimuli acting in opposite directions. While chronic inflammation, glucose tolerance abnormalities such as diabetes and insulin resistance may favor its reduction even a moderate energy deficit could

counterbalance this effect. In severely affected CF patients, the energy deficit stimulus may predominate resulting in elevated adiponectin levels. The increase in adiponectin concentrations may be a protective mechanism to prevent further deterioration of insulin resistance and protein catabolism in already malnourished patients. Further prospective studies using more accurate measure of energy balance and malnutrition may be able to determine whether deterioration of the nutritional status of CF patients is associated with increased circulating adiponectin levels.

Some limitations of our study should be taken into consideration when analysing the data. We did not evaluate factors that have been reported to modulate adiponectin levels, such as physical activity, energy expenditure or body composition. Lower physical activity [39] and preferential central fat mass accumulation, despite low body weight [32], have been documented in the CF population. However, this should further contribute to reduced adiponectin levels and thus reinforce our observation of preserved adiponectin concentration in CF patients.

In conclusion, our large cohort of CF patients did not show any alterations in adiponectin levels despite insulin resistance, a high prevalence of glucose intolerance and subclinical chronic inflammation. CF appears to be one of the rare conditions in which there is discordance between insulin resistance or inflammation and adiponectin levels. The mechanisms and physiological relevance of these higher than predicted adiponectin levels deserve further investigation.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Annie Tardif, Isabelle Vignault, Danielle Poisson and Renée Lévesque for their technical assistance and Ovid Da Silva, Research Support Office, Research Centre, CHUM, for editing this manuscript. R.R-L. is a scholar from “Fonds de la Recherche en Santé du Québec” (FRSQ). This study was supported by a start-up grant from the Fondation du CHUM and by an operating grant from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation.

REFERENCES

1. Kadowaki T, Yamauchi T. Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 2005; 26:439-451.
2. Fruebis J, Tsao TS, Javorschi S, et al. Proteolytic cleavage product of 30-kDa adipocyte complement-related protein increases fatty acid oxidation in muscle and causes weight loss in mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2001; 98:2005-2010.
3. Yamauchi T, Kamon J, Minokoshi Y, et al. Adiponectin stimulates glucose utilization and fatty-acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase. *Nat Med* 2002; 8:1288-1295.
4. Combs TP, Berg AH, Obici S, et al. Endogenous glucose production is inhibited by the adipose-derived protein Acrp30. *J Clin Invest* 2001; 108:1875-1881.
5. Lacquemant C, Vasseur F, Lepretre F, et al. [Adipocytokins, obesity and development of type 2 diabetes]. *Med Sci (Paris)* 2005; 21 Spec No:10-18.
6. Haluzik M, Parizkova J, Haluzik MM. Adiponectin and its role in the obesity-induced insulin resistance and related complications. *Physiol Res* 2004; 53:123-129.
7. Brichard SM, Delporte ML, Lambert M. Adipocytokines in anorexia nervosa: a review focusing on leptin and adiponectin. *Horm Metab Res* 2003; 35:337-342.
8. St Pierre DH, Faraj M, Karelis AD, et al. Lifestyle behaviours and components of energy balance as independent predictors of ghrelin and adiponectin in young non-obese women. *Diabetes Metab* 2006; 32:131-139.
9. Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, et al. Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 2005; 31:221-232.
10. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 2005; 28 Suppl 1:S37-S42.
11. Moran A, Hardin D, Rodman D, et al. Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus: a consensus conference report. *Diabetes Res Clin Pract* 1999; 45:61-73.
12. Costa M, Potvin S, Beauregard G, et al. Mesurer l'insulinorésistance en pratique quotidienne et en recherche. *Sang Thrombose Vaisseaux* 2004; 9:455-460.
13. UK cystic fibrosis trust diabetes working group. Management of cystic fibrosis related diabetes. Cystic fibrosis trust, editor. 2004. Bromley, Kent UK, Cystic fibrosis trust.
14. Kopp HP, Krzyzanowska K, Mohlig M, et al G. Effects of marked weight loss on plasma levels of adiponectin, markers of chronic subclinical inflammation and insulin resistance in morbidly obese women. *Int J Obes (Lond)* 2005; 29:766-771.

15. Zietz B, Herfarth H, Paul G, et al. Adiponectin represents an independent cardiovascular risk factor predicting serum HDL-cholesterol levels in type 2 diabetes. *FEBS Lett* 2003; 545:103-104.
16. Tacke F, Wustefeld T, Horn R, et al. High adiponectin in chronic liver disease and cholestasis suggests biliary route of adiponectin excretion in vivo. *J Hepatol* 2005; 42:666-673.
17. Sidlova K, Skalicka V, Kotaska K, et al. Serum alpha-glutathione S-transferase as a sensitive marker of hepatocellular damage in patients with cystic fibrosis. *Physiol Res* 2003; 52:361-365.
18. Scherer PE. Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes* 2006; 55:1537-1545.
19. Lannig S, Thorsteinsson B, Roder ME, et al. Insulin sensitivity and insulin clearance in cystic fibrosis patients with normal and diabetic glucose tolerance. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1994; 41:217-223.
20. Cucinotta D, De Luca F, Gigante A, et al. No changes of insulin sensitivity in cystic fibrosis patients with different degrees of glucose tolerance: an epidemiological and longitudinal study. *Eur J Endocrinol* 1994; 130:253-258.
21. Holl RW, Heinze E, Wolf A, et al. Reduced pancreatic insulin release and reduced peripheral insulin sensitivity contribute to hyperglycaemia in cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 1995; 154:356-361.
22. Hardin DS, LeBlanc A, Lukenbough S, et al. Insulin resistance is associated with decreased clinical status in cystic fibrosis. *J Pediatr* 1997; 130:948-956.
23. Hardin DS, LeBlanc A, Para L, et al. Hepatic insulin resistance and defects in substrate utilization in cystic fibrosis. *Diabetes* 1999; 48:1082-1087.
24. Austin A, Kalhan SC, Orenstein D, et al. Roles of insulin resistance and beta-cell dysfunction in the pathogenesis of glucose intolerance in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 1994; 79:80-85.
25. Hardin DS, LeBlanc A, Marshall G, et al. Mechanisms of insulin resistance in cystic fibrosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; 281:E1022-E1028.
26. Moran A, Pyzdrowski KL, Weinreb J, et al. Insulin sensitivity in cystic fibrosis. *Diabetes* 1994; 43:1020-1026.
27. Ahmad T, Nelson R, Taylor R. Insulin sensitivity and metabolic clearance rate of insulin in cystic fibrosis. *Metabolism* 1994; 43:163-167.
28. Tofe S, Moreno JC, Maiz L, et al. Insulin-secretion abnormalities and clinical deterioration related to impaired glucose tolerance in cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol* 2005; 152:241-247.

29. Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, et al. Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86:1930-1935.
30. Kim MJ, Maachi M, Debard C, et al. Increased adiponectin receptor-1 expression in adipose tissue of impaired glucose-tolerant obese subjects during weight loss. *Eur J Endocrinol* 2006; 155:161-165.
31. Abbasi F, Chang SA, Chu JW, et al. Improvements in insulin resistance with weight loss, in contrast to rosiglitazone, are not associated with changes in plasma adiponectin or adiponectin multimeric complexes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 2006; 290:R139-R144.
32. Moriconi N, Kraenzlin M, Muller B, et al. Body composition and adiponectin serum concentrations in adult patients with cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:1586-1590.
33. Pellme F, Smith U, Funahashi T, et al. Circulating adiponectin levels are reduced in nonobese but insulin-resistant first-degree relatives of type 2 diabetic patients. *Diabetes* 2003; 52:1182-1186.
34. Cruz M, Garcia-Macedo R, Garcia-Valerio Y, et al. Low adiponectin levels predict type 2 diabetes in Mexican children. *Diabetes Care* 2004; 27:1451-1453.
35. Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, et al. Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw* 2006; 17:4-12.
36. Frystyk J, Tarnow L, Hansen TK, et al. Increased serum adiponectin levels in type 1 diabetic patients with microvascular complications. *Diabetologia* 2005; 48:1911-1918.
37. Housova J, Anderlova K, Krizova J, et al. Serum adiponectin and resistin concentrations in patients with restrictive and binge/purge form of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 2005; 90:1366-1370.
38. Wilson DC, Pencharz PB. Nutrition and cystic fibrosis. *Nutrition* 1998; 14:792-795.
39. Orenstein DM, Hovell MF, Mulvihill M, et al. Strength vs aerobic training in children with cystic fibrosis: a randomized controlled trial. *Chest* 2004; 126:1204-1214.

Table 1 Physical characteristics of CF patients and control subjects

	Controls N=15	CF patients		
		NGT N=51 (56.5%)	IGT N=24 (26.5%)	CFRD N=15 (17%)
Sex M/F (n)	8/7	31/20	11/13	8/7
Age (years)	24.3± 4.3	27.5± 8.2	29.1 ± 9.2	28.8 ± 8.5
Weight (kg)	69.4 ± 9.8	60.7 ± 10.5	61.5 ± 11.3	60.4 ± 12.6
BMI (kg/m ²)	22.8 ± 1.8	21.5 ± 2.9	22 ± 3.4	20.4 ± 5.3
Pancreatic enzyme supplementation	0%	80%	82%	100%
%FEV ₁	---	69.8 ± 21.1	78.8 ± 21.1	61.0 ± 11.1

Data are presented as means ± SD.

NGT: normal glucose tolerance; IGT: impaired glucose tolerance; CFRD: cystic fibrosis-related diabetes; FEV₁: forced expiratory volume in 1 sec.

Table 2: Metabolic and inflammation parameters of CF patients and controls subjects

	Controls			CF patients								
				NGT		IGT		New CFRD				
Adiponectin (µg/ml)	10.46	±	4.71	11.67	±	4.83	10.76	±	4.58	12.78	±	4.15
Fasting plasma glucose (mmol/L)	5.08	±	0.36	5.39	±	0.42*	5.47	±	0.41*	5.98	±	0.47** ^{∇‡}
Fasting plasma insulin (pmol/L)	14.16	±	6.74	10.22	±	4.84*	10.90	±	3.31*	9.83	±	3.31*
HbA_{1c}	0.050	±	0.003	0.056	±	0.004**	0.057	±	0.005**	0.062	±	0.062** ^{∇‡}
Insulin Sensitivity Index Stumvoll	0.091	±	0.020	0.094	±	0.014	0.067	±	0.025* [†]	0.044	±	0.019* ^{†‡}
CRP (mg/L)	1.88	±	0.82	4.79	±	3.85*	4.48	±	4.15	5.76	±	3.74*
Fibrinogen (g/L)	2.41	±	0.50	2.93	±	0.57*	2.90	±	0.52*	3.18	±	0.77*
Albumin (g/L)	42.80	±	2.65	41.78	±	1.90	41.91	±	2.27	42.25	±	2.76
Cholesterol (mmol/L)	3.95	±	0.43	3.59	±	0.95	3.74	±	1.10	3.77	±	0.85
HDL-cholesterol (mmol/L)	1.31	±	0.32	1.10	±	0.25	1.21	±	0.37	1.19	±	0.30
Triglycerides (mmol/L)	0.93	±	0.32	1.02	±	0.51	1.12	±	0.47	1.11	±	0.47
AST (U/L)	20.68	±	3.94	25.15	±	11.60	26.70	±	13.11	30.33	±	14.96*
ALT (U/L)	16.75	±	6.42	26.60	±	14.67**	24.95	±	8.83*	28.73	±	9.05*
GGT (U/L)				17.54	±	13.54	17.91	±	13.58	28.8	±	26.44

Data are presented as means ± SD

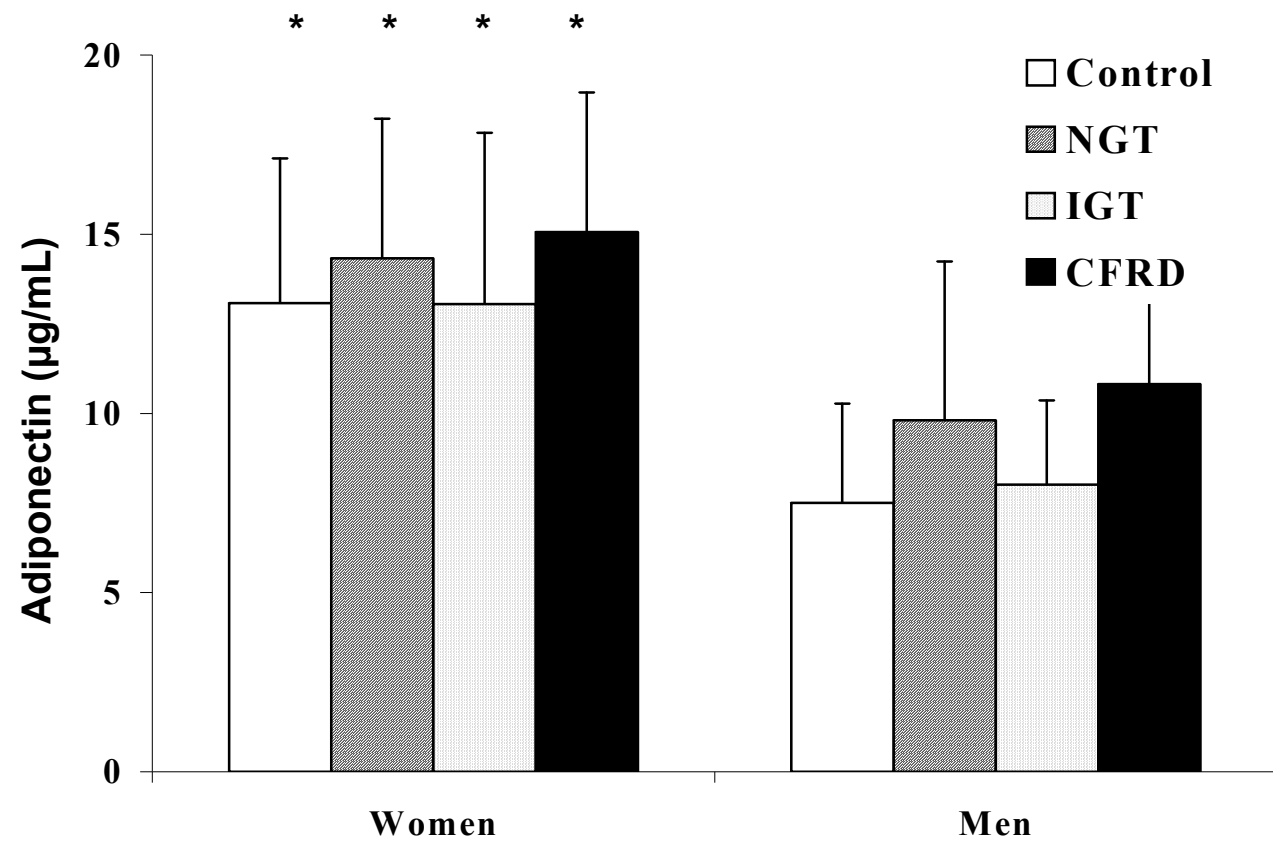
NGT: normal glucose tolerance; IGT: impaired glucose tolerance; CFRD: cystic fibrosis-related diabetes; CRP: C-reactive protein.

*P < 0.05 versus controls; **P < 0.001 versus controls; [†]P < 0.05 versus CF-NGT; [∇]P < 0.001 versus CF-NGT; [‡]P < 0.05 versus CF-IGT.

FIGURE LEGENDS

- Figure 1** Adiponectin concentration according to glucose category and sex in CF patients and control subjects. NGT: normal glucose tolerance; IGT: impaired glucose tolerance; CFRD: cystic fibrosis-related diabetes. *P<0.001 between male and female subjects.
- Figure 2** Correlation between serum adiponectin concentrations and CRP (**A**) $R^2 = 0.003$; fibrinogen (**B**) $R^2 = 0.004$; and insulin sensitivity as determined with the Stumvoll's index (**C**) $R^2 = 0.015$.
- Figure 3** Correlation between serum adiponectin concentration and lipid profile. Total cholesterol (**A**) $R^2 = 0.061$, $P = 0.014$; HDL-cholesterol (**B**) $R^2 = 0.094$, $P = 0.023$, and (**C**) triglycerides $R^2 = 0.02$.

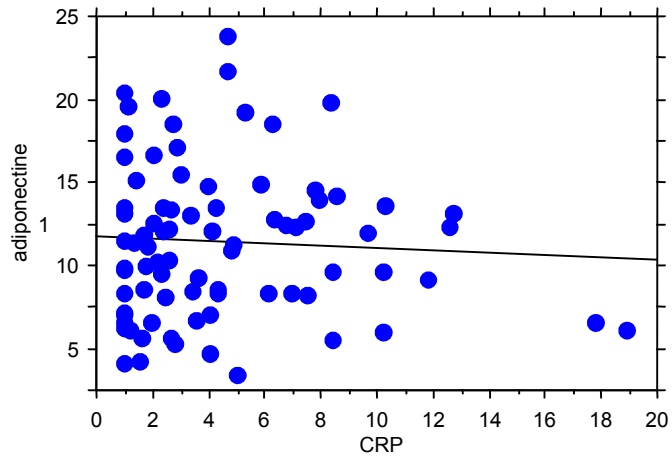
Figure 1



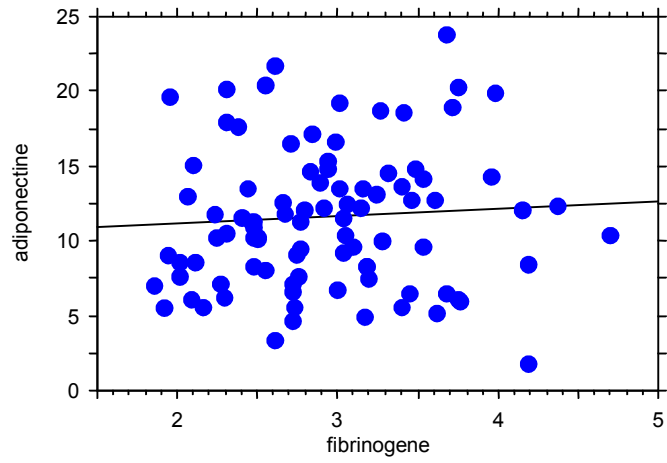
*P<0.001

Figure 2

A



B



C

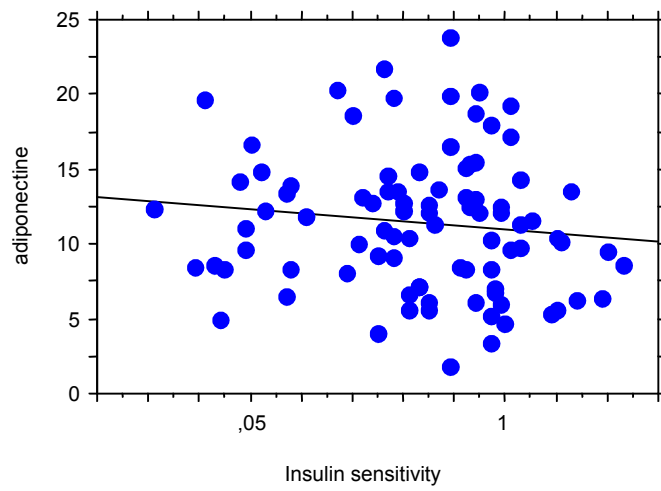
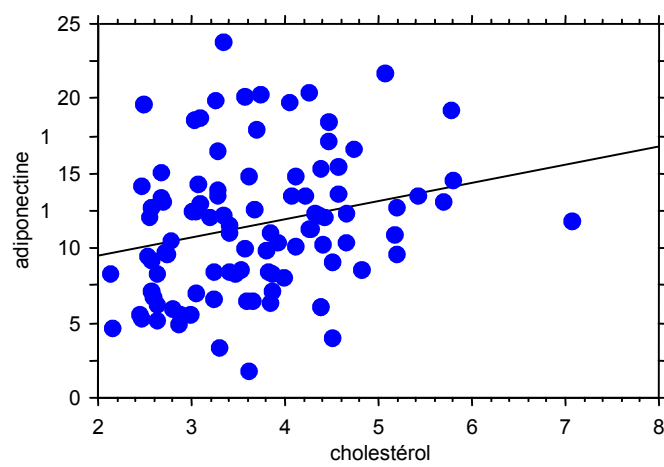
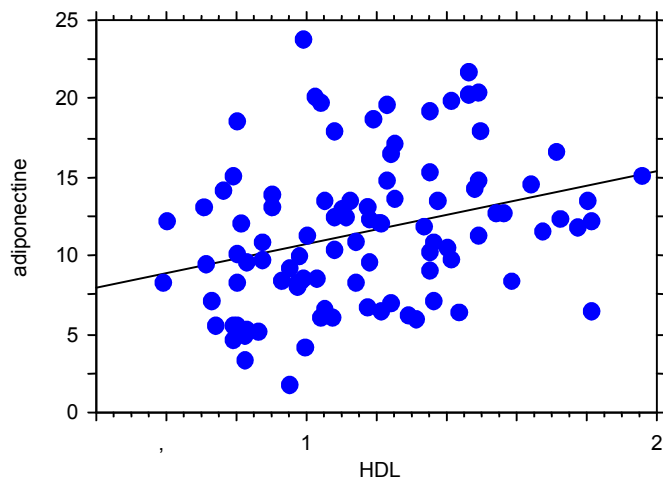


Figure 3

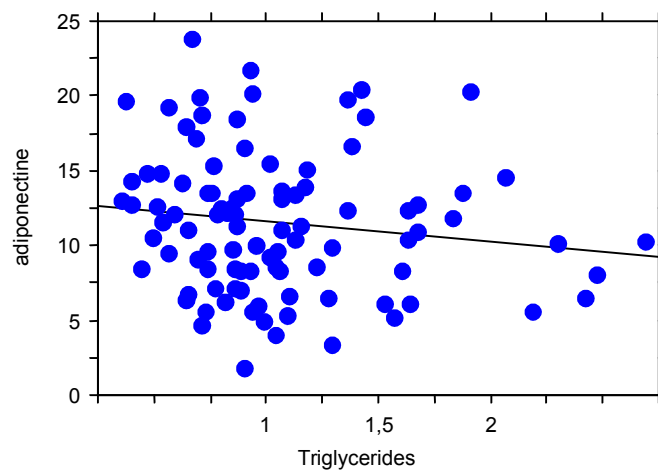
A



B



C



No relationship between mean plasma glucose concentration and glycated haemoglobin in patients with cystic fibrosis-related diabetes

A. Godbout, I. Hammana, S. Potvin, D. Mainville, A. Rakel, Y. Berthiaume,
J.-L. Chiasson, L. Coderre, R. Rabasa-Lhoret

Recrutement des patients : D. Mainville, I. Hammana

Suivi du patient par le médecin : Drs Y. Berthiaume, R. Rabasa-Lhoret

Collecte des échantillons : A. Godbout, I. Hammana, D. Mainville

Analyse biochimique des échantillons : A. Godbout

Analyse statistique : A. Godbout, A. Rakel

Rédaction du manuscrit : A. Godbout

Conception du projet : Dr. R. Rabasa-Lhoret, S. Potvin

Relecture et correction du manuscrit : Drs L. Coderre, J-L. Chiasson, R. Rabasa-Lhoret

Diabetes Metab. 2008 Dec;34(6 Pt 1):568-73.

No relationship between mean plasma glucose concentration and glycated haemoglobin in patients with cystic fibrosis-related diabetes

A. Godbout^a, I. Hammana^{b-c}, S. Potvin^c, D. Mainville^c, A. Rakef^{a-c}, Y. Berthiaume^{a,c-d},
J.-L. Chiasson^{a,c,e}, L. Coderre^{a-c,f}, R. Rabasa-Lhoret^{a-e}

^aEndocrinology Division, Department of Medicine,

^bDepartment of Nutrition, University of Montreal, Montreal, Quebec, Canada;

^cCentre de Recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CR-CHUM),
Montreal, Quebec, Canada;

^dCystic Fibrosis Clinic, Pneumology Division, CHUM, Montreal, Quebec Canada

^eMontreal Diabetes Research Center (MDRC), Montreal, Quebec, Canada;

^fDepartment of Medicine, University of Montreal

Short title: Glycated Haemoglobin in cystic fibrosis

Corresponding author :

Rémi Rabasa-Lhoret

Centre de Recherche du Centre hospitalier de l'Université de Montréal

Pavillon Masson

Hôpital Hôtel-Dieu

3850 St-Urbain

Postal code : H2W 1T7

Montreal, Quebec, Canada

Tel: 514-890-8000 # 14086

Fax: 514-412-7204

ABSTRACT

Aim: Cystic fibrosis-related diabetes (CFRD) prevalence has increased dramatically with improvement of life expectancy of patients with cystic fibrosis (CF). Glycated haemoglobin (HbA_{1c}) is a major tool to monitor blood glucose control. Unlike in type 1 and type 2 diabetes, correlation between HbA_{1c}, fructosamine and mean plasma glucose have not been well established in CF. The goal of this study was to examine the relationship between mean plasma glucose and HbA_{1c} or fructosamine in stable patients with CFRD.

Methods: Fifteen type 1 diabetes and 13 CFRD patients matched for age and body mass index were selected (HbA_{1c} < 9.0%, no anaemia). Each patient provided 72 capillary blood glucose profile taken 3 days/month over a 3 months period. At the end of the trimester, measurements of HbA_{1c} and fructosamine were performed. Mean plasma glucose was estimated using Diabetes Complication and Control Trial conversion formula and linear regressions were performed to establish its relationship to HbA_{1c} or fructosamine.

Results: In type one diabetes patients, mean plasma glucose correlates significantly with HbA_{1c} ($r = 0.68$; $P=0.005$). In CFRD patients, no correlation was found between mean plasma glucose and HbA_{1c} ($r = 0.24$; $P=0.460$). No relation could be made between mean plasma glucose representing the month before the blood sample and fructosamine in neither group.

Conclusion: Unlike in type 1 diabetes, HbA_{1c} did not correlate with mean plasma glucose in CFRD subjects. Thus, normal HbA_{1c} might not be sufficient to indicate a low risk for diabetes specific complications in CFRD. Further studies are required to explain such discrepancy.

Keywords: Cystic fibrosis, glycated haemoglobin, diabetes

Absence de corrélation entre la valeur de la glycémie moyenne et l'hémoglobine glyquée chez les patients atteints de diabète secondaire à la mucoviscidose

But : La prévalence du diabète associé à la mucoviscidose (DbMV) a augmenté avec l'amélioration de la survie des patients atteints de mucoviscidose. Contrairement aux atteints de diabète type 1 ou 2, les corrélations entre l'hémoglobine glyquée (HbA_{1c}), la fructosamine et la glycémie moyenne ne sont pas bien caractérisées chez les sujets avec DbMV. Cette étude décrit la relation entre la glycémie moyenne et l' HbA_{1c} ou la fructosamine chez un groupe de DbMV stable sur le plan médical.

Méthode : Quinze diabétiques type 1 (DT1) et 13 sujets avec DbMV ont été recrutés. Chaque patient a fourni 72 glycémies capillaires recueillies sur 3 jours/mois durant 3 mois. À la fin du trimestre, des prélèvements pour l' HbA_{1c} et la fructosamine ont été faits. La glycémie moyenne fut estimée à partir de la formule de conversion du Diabetes Complication and Control Trial. Les relations entre la glycémie moyenne et l' HbA_{1c} ou la fructosamine ont été établies par régression linéaire.

Résultats : Pour les DT1, la glycémie moyenne corrèle de façon significative avec l' HbA_{1c} ($r = 0.68$; $P=0.005$). Pour les patients DbMV, aucune corrélation entre la glycémie moyenne et l' HbA_{1c} n'a été démontrée ($r = 0.24$; $P=0.460$). Pour les 2 groupes, aucune relation n'a pu être établie entre la glycémie moyenne du mois précédent le prélèvement et la fructosamine.

Conclusion : Contrairement aux patients DT1, l' HbA_{1c} n'est pas un bon reflet de la glycémie moyenne chez les sujets avec DbMV. Une valeur normale d' HbA_{1c} pourrait être insuffisante comme indicateur d'un faible risque de complications. Des études sont nécessaires pour caractériser cette discordance.

Mots-clés : Mucoviscidose, diabète, fibrose kystique

INTRODUCTION

Progresses in nutritional and medical care during the past few decades have largely improved life expectancy of cystic fibrosis (CF) patients [1]. Along with the increased survival, cystic fibrosis related diabetes (CFRD) has become the major co-morbidity in this population [2-4], occurring in $\approx 13\%$ of all patients with CF and more than 30% for patients over 30 years [1,5]. CFRD patients are also at risk of developing diabetic specific complications, making the early recognition and treatment of this condition of crucial importance [5-7].

For both for type 1 and type 2 diabetes, large studies such as the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) and the U.K. Prospective Diabetes Study (UKPDS) have clearly established that lowering plasma glucose was a major therapeutic goal to prevent diabetes specific complication such as retinopathy, neuropathy and nephropathy [8-9]. The DCCT data have also established the relationship between glycated haemoglobin (HbA_{1c}) and mean plasma glucose and thus identified HbA_{1c} as the tool to monitor average blood glucose control [10]. HbA_{1c} value less than 7percentage is the widely accepted target to insure good control and guide treatment choices to reduce the risk for diabetes specific complications [11].

In CF patients, the relationship between HbA_{1c} and mean plasma glucose has not been clearly established and may be modified by numerous factors including altered red cells turnover and/or different glycation processing, reflected the specific glucose excursion pattern in this population. Specifically, glycaemic variations in CF patients are characterized by an abrupt postprandial increase followed by rapid normalisation of plasma glucose [12].

The relationship between mean plasma glucose and HbA_{1c} in CF patients has been recently explored in a pilot study [14]. This study suggested that the relationship between mean plasma glucose and HbA_{1c} in CF patients was similar to that previously described for type 1 diabetic subjects in the DCCT [10]. However, that study included a high proportion of normal glucose tolerant CF subjects and did not include a control group.

In addition, the relationship between fructosamine and mean plasma glucose has not been well explored in CFRD patients. It is generally accepted that fructosamine is a protein reflecting a 3-weeks period of glycaemic control compare to approximately 8 weeks for HbA_{1c}. Thus, it is postulated that fructosamine may be another tool to assess glycaemic control in CFRD population that often experiences changing medical condition and different glycation processing.

The aim of our study was to describe the relationship between mean plasma glucose and HbA_{1c} in patients with CFRD compared with type 1 diabetic patients matched for body mass index (BMI) and age, but without CF. We also assessed the relationship for fructosamine, in these two patients groups.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

Subjects

Fifteen type 1 diabetic patients and 13 matched patients with CFRD were recruited from the endocrinology and the cystic fibrosis clinic, respectively, of the Hotel-Dieu de Montreal, part of the Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM). CFRD diagnosis was based on either ongoing pharmacological treatment or two consecutive abnormal values during oral glucose tolerance test undertaken during a stable period as previously described [12]. To be included, all participants needed to be medically stable. Exclusion criteria included hospitalisation, add or change corticosteroids therapy, anemia, pregnancy or unstable pulmonary condition diagnosed by a trained CF pneumologist in the 6 weeks prior to, as well as during the study. The study was approved by the CHUM research ethics committee. All subjects gave written informed consent to participate.

Measurement of anthropometrics values

At both the beginning and the end of the study, anthropometrics measures plus a review of the overall health condition and medication were taken for each participant. Each CF patients also underwent a complete pulmonary function test.

Measurements of capillary blood glucose and mean plasma glucose determination

For each subject, capillary blood glucose was determined and self monitored using One-touch Ultra® Blood Glucose Meter, specifically provided for the study by LifeScan. Each subject kept a glycaemic journal including readings of premeal, postmeal (1 to 2 hours), bedtime and overnight glucose values taken 3 days per month (including 2 week days and 1 week-end day and if possible during the last week of each month) over a period of 3 months following entry in the study. Mean daily capillary blood glucose was obtained

for each participant from area under the curve calculation using Tai's model [13]. Mean plasma glucose was determined by multiplying the mean AUC over 24 hours by a factor of 1.1 according to the DCCT formula [10,15]. This transformation takes in account differences between capillary and venous blood glucose values.

Measurement of HbA_{1c} and fructosamine values

At the end of the three-month period, venous sample was drawn from each patient and measurements of HbA_{1c} and fructosamine levels were performed using immunochemistry assays (Immunoturbidimeter, ADVIA1650, Bayer health care diagnostics/ Toronto, Ontario, Canada). HbA_{1c} dosage is a DCCT aligned method with a normal range of 4.8 to 6.0%. HbA_{1c} values were compared to mean plasma glucose collected through the 3 months (72 capillary blood glucose readings). Only the last month mean plasma glucose values (24 capillary blood glucose readings) were used for fructosamine (normal value: 200 to 270 $\mu\text{mol/L}$).

Statistical analysis

Data are presented as proportions and means \pm SD. Unpaired student t-test was used for comparison of the baseline continuous characteristics between the 2 groups (CFRD and type 1 diabetes). Given the small sample size, Spearman correlation coefficients were used to look at the association between mean plasma glucose and HbA_{1c} or fructosamine for each group. Regression equations were obtained with simple linear regression. Statistical significance was defined as P-values $<0,05$. Statistical analysis was performed using SAS software (version 9.1).

SUBJECTS

Fifteen participants with type 1 diabetes (5 women, 10 men) and 13 subjects with CFRD (7 women, 6 man) were recruited. These two groups were similar in term of demographic characteristics and biochemical parameters such as complete blood count profile with no anemia or low mean corpuscular volume values suggestive of iron deficiency (Table 1). However, patients with type 1 diabetes presented significantly higher values of HbA_{1c} and fructosamine than CFRD patients. All patients were established on intensive insulin therapy before entering into the study except for 2 CFRD patients who were controlled by an oral hypoglycaemic agent and by diet alone, respectively. CF patients had mean forced expiratory volume (FEV1) of 2.20 ± 0.61 L corresponding to an average of 69% of the predicted values, remaining constant through the study (P=0.336).

RELATION BETWEEN MEAN PLASMA GLUCOSE AND HbA_{1c}

The mean number of capillary blood glucose values available to calculate mean plasma glucose was similar for both group with 68.7 capillary blood glucose/patients for type 1 diabetes versus 68.6 capillary blood glucose/CFRD subjects. Averages of mean plasma glucose were similar between the two groups, although mean plasma glucose tended to be lower in CFRD subjects.

The relationships between HbA_{1c} and mean plasma glucose in each patient group are shown in Figure 1. For patients with type 1 diabetes, mean plasma glucose correlated significantly with HbA_{1c} ($r=0.68$, $P=0.005$) and the derived regression equation is: Mean plasma glucose^{Type1Db} = $(1.42 \times \text{HbA}_{1c}) + 1.39$. In the CFRD patients, no significant correlation was found between HbA_{1c} and mean plasma glucose ($r=0.24$; $P=0.460$).

As the range of values was wider for type 1 than for CFRD patients, we reanalyzed the data using only HbA_{1c} values below 8%. The relationship remained significant for type 1 diabetic patients and non significant for CFRD patients (data not shown).

RELATION BETWEEN MEAN PLASMA GLUCOSE AND FRUCTOSAMINE

As shown in Figure 2, no significant correlation was found in either group between mean plasma glucose values from the last month of observation and fructosamine. The correlation coefficients between mean plasma glucose and fructosamine were $r=0.43$ ($P=0.108$) in type 1 diabetes patients and $r=0.50$ ($P=0.095$) in CFRD patients.

DISCUSSION

Our results suggest that, unlike in type 1 diabetic subjects, there is no relationship between mean plasma glucose and HbA_{1c} in stable CFRD patients. Also, no correlation was found in either group between mean plasma glucose and fructosamine.

The difficulty in assessing glucose control in CF population has already been reported. In fact, patients with established CFRD and high glucose readings can present normal HbA_{1c} values [12,16,17], thereby explaining the poor sensitivity of HbA_{1c} in the detection of CFRD [12,18]. When CF patients with or without normal glucose tolerance are compared to healthy control groups, significant differences are noted in glycaemic kinetic of CF patients such as abrupt postprandial peak followed by rapid normalization of these glucose excursions [12,16]. Overall, these results suggest that conventional measures of glucose control (capillary blood glucose and HbA_{1c}) do not properly estimate and -and may even underestimate - mean glucose values in CF patients. This situation is similar to that seen in some type 1 diabetics who present HbA_{1c} values within the treatment target in spite of wide glucose variability [19].

There may be different explanations for the discrepancy between mean plasma glucose and HbA_{1c} in the CF population. It may be speculated that the specific pattern of postprandial glucose excursion seen in CF subjects [12,16] has an effect on the glycation process of HbA_{1c}, which might require longer glycaemic excursion than the one typically present in CF patients to correctly represent mean plasma glucose [20]. A shortened red blood cell life span may also be involved, although direct evidence of such process in CF is scarce [21]. Anaemia and iron deficiency are frequently seen in CF [22,23] and may affect the validity of HbA_{1c} dosage by increasing HbA_{1c} values [20], as demonstrated in type 1 diabetic patients [24]. Having only included patients with normal haemoglobin and mean

corpuscular volume values, we did not measure markers of iron stores. However, the two groups had comparable and within normal range values of reticulocytes, a marker of haemoglobin regeneration, suggesting absence of major red cells turnover in the group of CF patients (Table 1). Thus, further investigation are required to establish whether or not treatment of iron deficiency modifies HbA_{1c} values as it has been previously suggested for type 1 diabetic patients [24].

In addition, high dose of vitamins C and E may well have inhibited haemoglobin glycation leading to falsely lowered HbA_{1c} values [25-27]. All CFRD patients took supplements of vitamins C and E compared to only three type 1 diabetic patients. However, the findings of a randomized controlled trial do not support a significant impact of vitamin supplementation on HbA_{1c} validity [28].

Other established causes of inappropriately low HbA_{1c} values are related to rapid red cell turnover as seen in cases of haemolysis and patients treated for folate or vitamin B12 deficiency [29-30]. It should be noted that two different groups have reported unreliable low value of HbA_{1c} in large cohorts of HIV patients and suggested that subclinical haemolysis related to antiretroviral treatment could be an explanation [31]. If confirmed in a larger cohort, the absence and/or diminished validity for HbA_{1c} to estimate glucose control in CFRD patients will have major implications. Further studies would then be necessary to appropriately establish the tools and target to monitor and achieve the necessary blood glucose control for preventing diabetes complications in CF patients.

The fact that fructosamine also appears to be an inappropriate marker of glucose control in both type 1 diabetics and CFRD patients is intriguing and suggests that fructosamine is not as reliable as HbA_{1c} for estimating glucose control of diabetic patients as previously reported [20,32].

Our observation differs from previously published data suggesting that the relationship between mean plasma glucose and HbA_{1c} in CF patients was comparable to the correlation reported in the DCCT [14]. However, this earlier study included CF patients with a high proportion of normal glucose tolerant patients, no control group and mean plasma glucose was assessed by a continuous glucose monitoring system (CGMS) over a period of 48 hours. Even though CGMS have been validated for CF patients [33] and provide a much more detailed glucose profile during the observational period than does capillary blood glucose, two days might be too short to correlate with HbA_{1c}, which reflect mean glucose values of the preceding 2 to 3 months especially for CF subjects who often present wide day to day variability. Nevertheless, it is possible that a single capillary blood glucose taken between 1 and 2 hours after meal, as in the present study, will also not reflect true glucose profile in these patients thereby explaining our negative results. This mean that, as previously suggested, earlier and more frequent postprandial blood glucose reading or longer CGMS monitoring may be more appropriate for the evaluation of glucose control in CF patients [16].

There are a number of available methods for HbA_{1c} that assess different glycosylated components of haemoglobin [20]. Although we used a method aligned with the DCCT golden standard reference, it is nevertheless possible that it introduced a bias, considering the small number of subjects in each of our study groups. This mean that a larger study using various methods to evaluate mean plasma glucose such as multiple capillary blood glucose, CGMS on a longer period and HbA_{1c} assessed by various methods could be more sensitive to elucidate the relationship between HbA_{1c} and mean plasma glucose in CFRD.

In contrast to a recent study [14], we could find no significant relationship between mean plasma glucose and HbA_{1c} in CF patients. Thus, further investigation into the validity

of HbA_{1c} as a tool for monitoring average glucose control in larger populations is an essential step for establishing treatment targets to prevent diabetic specific complications in CF patients.

ACKNOWLEDGMENTS

This study was supported by Montreal University Hospital foundation (Fondation du CHUM) start-up funds. Dr Rabasa-Lhoret is supported by the Fonds de Recherche en Santé du Québec (FRSQ). We thank Life Scan Canada for providing capillary blood glucose meters and strips for this study.

Figure 1: Relationship between mean plasma glucose assessed by multiple capillary blood glucose over 3 months and HbA_{1c} in type 1 and cystic fibrosis related diabetic patients in correlation with the relationship described by the DCCT

- ◆ **— Solid line. Mean plasma glucose^{Type1Db} = (1.42 x HbA_{1c}) + 1.39 (r=0.68; P=0.005)**
- **---- Dotted line (large dots). CFRD (r=0.24; P=0.46)**
- Dotted line (small dots). Mean plasma glucose^{DCCT} = (1.98 x HbA_{1c}) - 4.29**

Figure 2: Relationship between mean plasma glucose assessed by multiple capillary blood glucose over 1 month and fructosamine in type 1 and cystic fibrosis related diabetic patients

- ◆ **— Solid line. Type 1 diabetes (r=0.43; P=0.108)**
- **---- Dotted line (large dots). CFRD (r=0.50; P=0.095)**

Table 1: Demographic and clinical characteristics of type 1 and cystic fibrosis-related diabetic (CFRD) patients

	Type 1 Diabetes (n=15)		CFRD (n=13)		P value
	Mean \pm SD	Value min-max	Mean \pm SD	Value min-max	
Age (yr)	36.5 \pm 7.8	19-47	35.3 \pm 8.3	20-44	0.707
Sex (F/M)	5F / 10M	-	7F / 6M	-	-
BMI (kg/m²)	23.7 \pm 1.9	19.8-26.0	23.0 \pm 4.2	17.6-31.0	0.613
Hb (g/L) N= 120-160	146.5 \pm 10.2	127-169	143.6 \pm 10.9	129-165	0.4995
MCV (fL) N= 80-100	90.4 \pm 3.9	83.4-95.9	88.1 \pm 4.8	80.8-96.9	0.195
Reticulocytes (%) N= 0.005-0.020	0.009 \pm 0.003	0.004-0.015	0.009 \pm 0.004	0.002-0.015	0.944
MPG (mmol/L)	9.02 \pm 1.55	7.00-12.11	7.95 \pm 1.26	6.37-9.57	0.072
HbA_{1c} (%) N= 4.8-6.0	7.4 \pm 0.8	6.3-8.8	6.4 \pm 0.6	5.5-7.3	0.001
Fructo (umol/L) N= 200-270	328.2 \pm 45.6	249-409	271.2 \pm 35.3	219-346	0.001

BMI: Body mass index; Hb: Haemoglobin; MCV: Mean Corpuscular Volume; N: Normal values; MPG: Mean plasma glucose; HbA_{1c}: glycated haemoglobin; Fructo: fructosamine

Figure 1

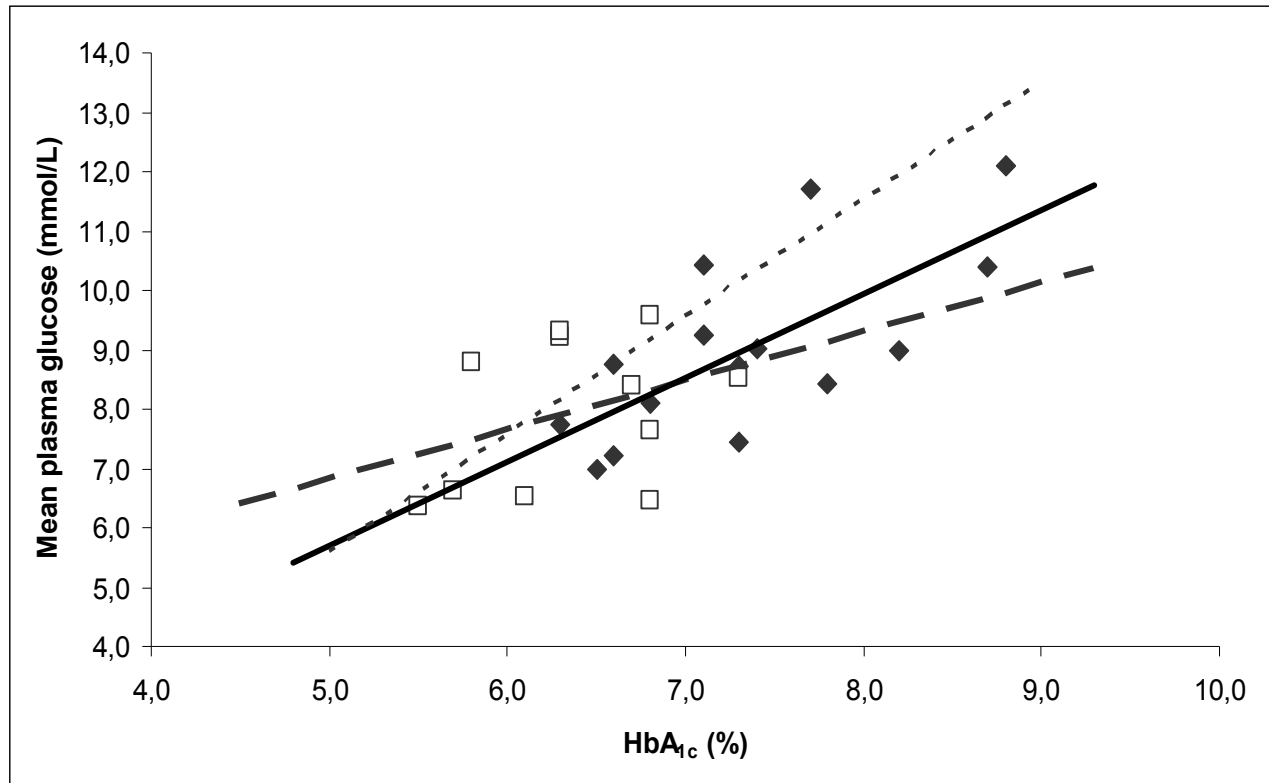
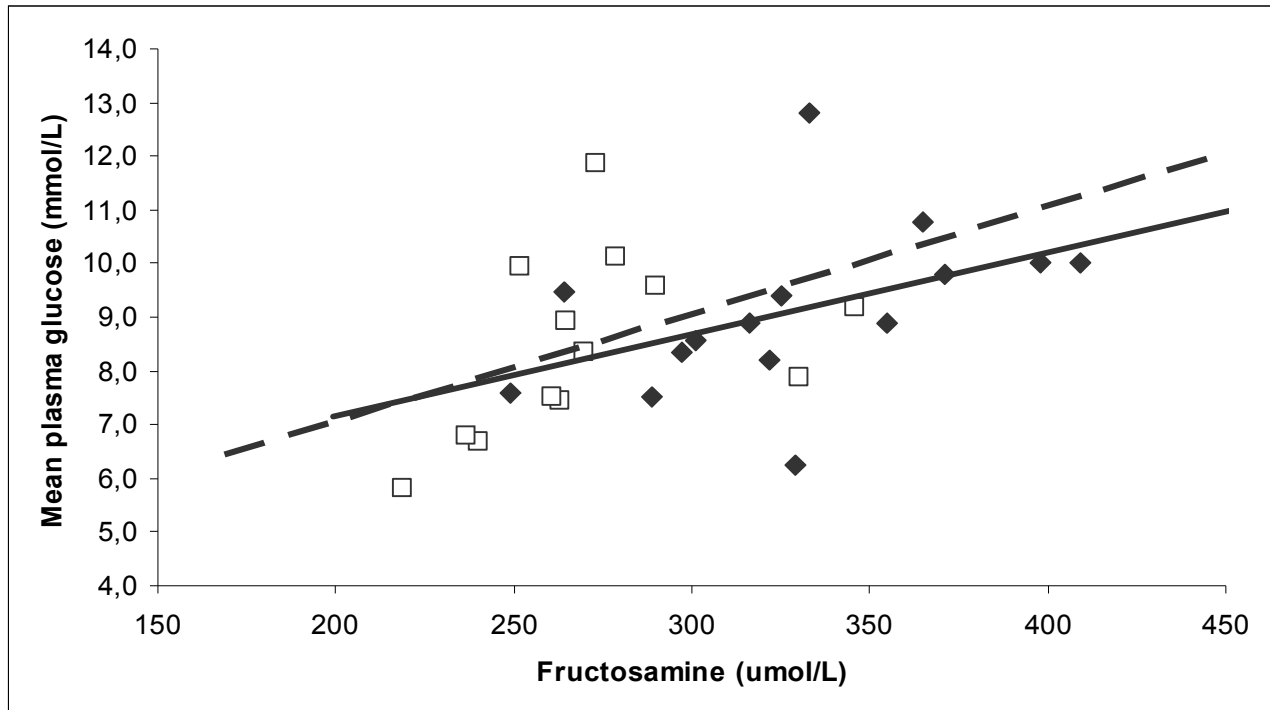


Figure 2



REFERENCES

- [1] FitzSimmons SC. The changing epidemiology of cystic fibrosis. *J Pediatr* 1993;122:1–9.
- [2] Lannig S, Thorsteinsson B, Lund-Andersen C, Nerup J, Schiøtz PO, Koch C. Diabetes mellitus in Danish cystic fibrosis patients: prevalence and late diabetic complications. *Acta Paediatr* 1994;83:72–7.
- [3] Rodman HM, Doershuk CF, Roland JM. The interaction of 2 diseases: diabetes mellitus and cystic fibrosis. *Medicine* 1986;65:389–97.
- [4] Allen HF, Gay EC, Klingensmith GJ, Hamman RF. Identification and treatment of cystic fibrosis-related diabetes. A survey of current medical practice in the U.S. *Diabetes Care* 1998;21:943–8.
- [5] Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, et al. Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 2005;31:221–32.
- [6] Schwarzenberg SJ, Thomas W, Olsen TW, Grover T, Walk D, Milla C, et al. Microvascular complications in cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Care* 2007;30:1056–61.
- [7] Andersen HU, Lannig S, Pressler T, Laugesen CS, Mathiesen ER. Cystic fibrosis-related diabetes: the presence of microvascular diabetes complications. *Diabetes Care* 2006;29:2660–3.
- [8] The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long term complications in the diabetes control in insulin dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 1993;329:977–86.
- [9] UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet* 1998;352:837–53.
- [10] Rohlfing CL, Wiedmeyer HS, Little RR, England JD, Tennil A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and HbA1c. *Diabetes Care* 2002;25:275–8.
- [11] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes (Position Statement). *Diabetes Care* 2004;27(suppl 1):S15–35.
- [12] 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;6:376–83.
- [13] Tai MM. A mathematical model for the determination of total area under glucose tolerance and other metabolic curves. *Diabetes Care* 1994;17:152–4.
- [14] Brennan AL, Gyi KM, Wood DM, Hodson ME, Geddes DM, Baker EH. Relationship between glycated haemoglobin and mean plasma glucose concentration in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 2006;5:27–31.
- [15] Fogh-Andersen N, D'Orazio P. Proposal for standardizing direct-reading biosensors for blood glucose. *Clin Chem* 1998;44:655–9.
- [16] Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT. Conventional measures underestimate glycaemia in cystic fibrosis patients. *Diabet Med* 2004;21:691–6.
- [17] Jefferies C, Solomon M, Perlman K, Sweezey N, Daneman D. Continuous glucose monitoring in adolescents with cystic fibrosis. *J Pediatr* 2005;147:396–8.

- [18] Lanng S, Thorsteinsson B, Erichsen G, Nerup J, Koch C. Glucose tolerance in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 1991;66:612-6.
- [19] Levetan C, Want LL, Weyer C, Strobel SA, Crean J, Wang Y, et al. Impact of pramlintide on glucose fluctuations and postprandial glucose, glucagon, and triglyceride excursions among patients with type 1 diabetes intensively treated with insulin pumps. *Diabetes Care* 2003;26:1-8.
- [20] American Diabetes Association. Tests of Glycemia in Diabetes, position statement. *Diabetes Care* 2002;25 (suppl):S97-9.
- [21] Wagener JS, McNeill GC, Taussig LM, Corrigan JJ, Lemen R. Ferrokinetic and hematologic studies in cystic fibrosis patients. *Am J Pediatr Hematol Oncol* 1983;5:153-60.
- [22] Pond MN, Morton AM, Conway SP. Functional iron deficiency in adults with cystic fibrosis. *Respir Med* 1996;90:409-13.
- [23] Reid DW, Withers NJ, Francis L, Wilson JW, Kotsimbos TC. Iron deficiency in cystic fibrosis: relationship to lung disease severity and chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Chest* 2002;121:48-54.
- [24] Tarim O, Kucukerdogan A, Gunay U, Eralp O, Ercan I. Effects of iron deficiency anemia on hemoglobin A1c in type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Int* 1999;41:357-62.
- [25] Goldstein DE, Little RR, Lorenz RA, Malone JJ, Nathan D, Peterson CM, et al. Tests of Glycemia in Diabetes. *Diabetes Care* 2004;27:1761-73.
- [26] Davie SJ, Gould BJ, Yudkin JS. Effect of vitamin C on glycosylation of proteins. *Diabetes* 1992;41:167-73.
- [27] Ceriello A, Giugliano D, Quatraro A, Donzella C, Dipalo G, Lefebvre PJ. Vitamin E reduction of protein glycosylation in diabetes: new prospect for prevention of diabetic complications? *Diabetes Care* 1991;14:68-72.
- [28] Gaede P, Poulsen HE, Parving HH, Pedersen O. Double-blind, randomised study of the effect of combined treatment with vitamin C and E on albuminuria in Type 2 diabetic patients. *Diabet Med* 2001;18:756-60.
- [29] Panzer S, Kronik G, Lechner K, Bettelheim P, Neumann E, Dudczak R. glycated hemoglobins (GHb): An index of red cell survival. *Blood* 1982;59:1348-50.
- [30] Polgreen PM, Putz D, Stapleton JT. Inaccurate glycated hemoglobin A1c measurements in human immunodeficiency virus-positive patients with diabetes mellitus. *Clin Infect Dis* 2003;37:E53.
- [31] Diop M-E, Bastard J-P, Meunier N, Thénevet S, Maachi M, Capeau J, et al. Inappropriately Low Glycated Hemoglobin Values and Hemolysis in HIV-Infected Patients. *Aids Research and Human Retroviruses* 2006;22:1242-47.
- [32] Lindsey CC, Carter AW, Mangum S, Greene D, Richardson A, Brown SJ, et al. A prospective, randomized, multicentered controlled trial to compare the annual glycemic and quality outcomes of patients with diabetes mellitus monitored with weekly fructosamine testing versus usual care. *Diabetes Technol Ther* 2004;6:370-7.
- [33] Dobson L, Sheldon CD, Hattersley AT. Validation of interstitial fluid continuous glucose monitoring in cystic fibrosis. *Diabetes Care* 2003;26:1940-1.

**ABNORMAL GLUCOSE TOLERANCE IN THE MONTREAL CYSTIC FIBROSIS
COHORT (MCFC): CONTRIBUTION OF INSULIN RESISTANCE**

Imane Hammana, Sophie Ziai, Stéphanie Potvin, Yves Berthiaume, Lise Coderre, Rémi
Rabasa-Lhoret

Recrutement des patients: I. Hammana, S. Ziai

Suivi du patient par le médecin : Dr. Y Berthiaume, R. Rabasa-Lhoret

Collecte des échantillons : I. Hammana

Analyse biochimique des échantillons : I. Hammana

Analyse statistique : I. Hammana

Rédaction du manuscrit : I. Hammana, L. Coderre

Conception du projet : Dr. R Rabasa-Lhoret, S Potvin

Relecture et correction du manuscrit : Dr. L Coderre, Dr. R. Rabasa-Lhoret

**ABNORMAL GLUCOSE TOLERANCE IN THE MONTREAL CYSTIC FIBROSIS
COHORT (MCFC): CONTRIBUTION OF INSULIN RESISTANCE**

Imane Hammana^{1,2}, Sophie Ziai^{1,2}, Stéphanie Potvin¹, Yves Berthiaume^{3,5}, Lise Coderre^{1,5},
Rémi Rabasa-Lhoret¹⁻⁴

¹Institut de recherches cliniques de Montréal, Platform for Research on Obesity, Metabolism, and Diabetes (PROMD), Montréal, Québec, 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

⁴Montreal Diabetes Research Center (MDRC) and CHUM Research Center, CHUM, Montréal, Québec, Canada

⁵Department of Medicine, Université de Montréal, Montréal, Québec, Canada

Running title:

Send correspondence and reprint requests to

Rémi Rabasa-Lhoret

Institut de recherches cliniques de Montréal,

110 avenue des Pins Ouest,

Montréal, QC,

Canada, H2W 1R7

ABSTRACT

Background and aims: The precise pathophysiological mechanisms leading to glucose intolerance in CF are still controversial. Insulin secretion defect plays a key role in the incidence of cystic fibrosis related diabetes (CFRD). The aim of this study was to investigate the respective roles of impaired insulin secretion and insulin resistance in the progression of glucose intolerance from the normal state up to CFRD diagnosis using an ongoing prospective observational cohort of non-diabetic CF patients.

Methods: The glucose tolerance status (NGT: normal glucose tolerant; IGT: impaired glucose tolerance or CFRD) was examined twice: once at baseline and once after 21.8 ± 8.3 months (follow up). Ninety-three CF patients without known diabetes were enrolled. All subjects underwent a 2-h oral glucose tolerance test (OGTT) at baseline and at follow up. Subjects were then stratified based on their glucose tolerance: 1) **stables** patients that maintained their status (NGT or IGT) at both testing; 2) patients that deteriorate their glucose tolerance from NGT to IGT or from IGT to CFRD, and 3) patients that improved their glucose tolerance: i.e. that revert from IGT at baseline to NGT at follow-up. Insulin secretion and insulin resistance were evaluated using the Stumvoll indices.

Results: At baseline, CF-NGT represented 59% and CF-IGT 41% of the total cohort, respectively. At follow up, 59% (n=55) of the patients kept a similar glucose tolerance (stables patients), 23.4% (n=23) deteriorate their glucose tolerance while 16% (n=15) improved it. During that period, both 1st and 2nd phase insulin secretion indices remained stable in all groups. Insulin resistance paralleled the glucose tolerance. Thus, it remained similar between the two testing in stable patients, deteriorated by 24.1% in subject that degraded their glucose tolerance while it improved by 32.3% in subject that reverted to NGT.

Conclusion: CF patients present a major insulin secretion defect. In that context, variations of insulin resistance may have a significant impact the glucose tolerance status in this population.

INTRODUCTION

The life expectancy of cystic fibrosis (CF) patients has increased over the past decades due to improved clinical management of the disease. Consequently, other long-term complications have emerged including cystic fibrosis related diabetes (CFRD). CFRD is diagnosed in approximately 40% of CF adult patients while another 35% have impaired glucose tolerance (IGT) and their prevalence increases with age (9; 27). CFRD is usually preceded by a long phase of glucose intolerance, a period during which a decline in nutritional and pulmonary status has been reported (9; 13; 24).

Despite the importance of glucose abnormalities in CF prognostic, the precise pathophysiological mechanisms leading to CFDR are still controversial. The principal cause of CFRD is the loss of β cells secondary to pancreatic fibrosis leading to the progressive destruction of pancreatic islet architecture and insulin secretion (13). In contrast, the role of insulin resistance remains unclear with several studies yielding inconsistent findings. CF is associated with frequent infections, chronic low-grade inflammation, and preferential central fat accumulation (29), which could favor the development of insulin resistance (5).

The aim of this study was to investigate the respective roles of impaired insulin secretion and insulin resistance in the progression of glucose intolerance from the normal state up to CFRD diagnosis using an ongoing prospective observational cohort of non-diabetic CF patients. We hypothesized that in a situation of established and significant reduced insulin secretion, mild changes in insulin sensitivity would be an important factor associated with alteration of glucose intolerance in non-diabetic CF patients.

METHODS

Subjects

The Montreal Cystic Fibrosis Cohort (MCFC) was established in 2004 as part of an ongoing systematic screening program to detect CRFD using the oral glucose tolerance test (OGTT). The main objective of this prospective observational cohort was to study mechanisms leading to glucose intolerance as well as the association of prediabetic states with CF outcomes. The glucose tolerance status (NGT: normal glucose tolerant; IGT and CFRD) was examined at baseline and a second time after 18-24 months (mean interval of follow up: 21.8 ± 8.3 months). At the time of interim analysis, 147 CF patients without known diabetes were enrolled. Of these, 21 patients were excluded because of a diagnosis of diabetes at baseline, three of various causes including death, moving or transplantation while an additional 30 CF patients did not yet complete their testing at follow up. Thus, the data are derived from 93 CF patients. In addition, we also recruited 14 controls corresponding for sex, age, and body mass index (BMI). These controls were all NGT. The protocol was approved by the Research Ethics Committee of the Centre hospitalier de l'Université de Montréal (CHUM), and all subjects signed a written consent form.

All control and CF subjects were over 18 years of age. The exclusion criteria have previously been reported (10). In brief, they were diagnosis of diabetes, pregnancy, CF exacerbation in the past month according to consensus criteria and diagnosed by a trained pneumologist (11), or conditions that interfere with glucose metabolism such as megace, intravenous antibiotic treatment, steroids (oral or intravenous) or growth hormone used within the previous month. If a patient had any exclusion criteria, the test was rescheduled with the next 3 to 6 months at the time of the next medical appointment.

CF status and anthropometric data

Pulmonary function was measured by spirometry on the day of the OGTT using forced expiratory volume (FEV)₁ (L/sec) and predicted %FEV₁ (Medgraphic 1870, St-Paul, MN, USA) as variables. Pancreatic insufficiency was defined by current enzyme supplementation. Genotype status was extracted from the medical files.

Body weight was measured using an electronic scale (Tanita Corporation, Arlington Heights, IL, USA) and standing height by a wall stadiometer. BMI was calculated using weight in kilograms divided by height in meter (kg/m²).

Oral Glucose Tolerance Test (OGTT)

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 Canadian Diabetes Association guidelines (4). Blood samples were taken at 0, 30, 60, 90, and 120 min to measure plasma glucose and insulin levels. Plasma glucose level was determined immediately in duplicate with a Glucose Analyzer 2 (Beckman, Fullerton CA, USA). Insulin level was determined in duplicate using human insulin RIA (Linco Research, Inc., St-Charles, MO, USA).

Based on their glucose tolerance status, the patients were classified in 3 groups: 1) stable patients that maintained their status (NGT or IGT) at the two screenings; 2) patients that deteriorate their glucose tolerance i.e. that went from NGT to IGT or from IGT to CFRD, and 3) patients that improved their glucose tolerance: i.e. that revert from IGT at baseline to NGT at follow-up. CF patients diagnosed with CFRD underwent a second OGTT to confirmed diagnosis and were excluded from further follow-up.

Insulin secretion and insulin sensitivity assessment

Insulin and glucose values during the OGTT were used to evaluate insulin secretion and sensitivity using indices proposed by Stumvoll and al (32; 33). These indices have been validated for insulin secretion (first phase¹ and second phase²) as well as insulin sensitivity³ (15; 32; 33)

Laboratory tests

The inflammatory profile including plasma fibrinogen and C-reactive protein (CRP) concentrations was determined by nephelometric assay using Beckman (Beckman Coulter Canada, Inc, Mississauga, ON, Canada). Biochemical evaluation of nutritional status included measurements of serum albumin, total blood count, and routine chemistry.

Statistical analysis:

The data are expressed as the mean \pm SD. The area under the curve (AUC) for both insulin and glucose were calculated by the trapezoidal method. Data were analyzed by unpaired t-test and analyses of variance (ANOVA) as appropriate. When significant differences were found, a Fisher's post hoc test was used to identify group differences. Significance was accepted at $P < 0.05$.

¹Index for first phase insulin secretion : $1283 + 1,829 \times \text{Ins}_{30} - 138,7 \times \text{Glucose}_{30} + 3,772 \times \text{Ins}_0$

² Index for second phase insulin secretion: $287 + 0,04164 \times \text{Ins}_{30} - 26,07 \times \text{Glucose}_{30} + 0,9226 \times \text{Ins}_0$

³ Index for insulin sensitivity : $0,156 - 0,0000459 \times \text{Ins}_{120} - 0,000321 \times \text{Ins}_0 - 0,00541 \times \text{Glucose}_{120}$

RESULTS

The characteristics of control and CF subjects are reported in Table 1 and 2. Control and CF subjects had similar age and BMI. Furthermore, at baseline, the three groups of CF subjects presented similar pancreatic enzyme intake, levels of inflammatory markers (fibrinogen and CRP) and nutritional status (albumin) (data not shown). At baseline, CF-NGT represented 59% (n=55) and CF-IGT 41% (n=38) of the total cohort, respectively.

CF patients were classified in three groups based on the evolution of their glucose tolerance over time: stable, deteriorate, or improved glucose tolerance. As shown in Table 2, 59% (n=55) of the patients kept a similar glucose tolerance status (stable patients) while a substantial number changed their glucose tolerance (45%). Of these, 23.4% (n=23) deteriorate their glucose tolerance status while 16% (n=15) improved their glucose tolerance (Table 1). These changes in the glucose tolerance status were paralleled by alteration in plasma glucose during the OGTT. As shown in Figure 1, subjects who deteriorated their glucose tolerance presented an increase in plasma glucose at time 60, 90 and 120 min (all $p < 0.05$) of the OGTT at follow up compared to baseline. Conversely, subjects who improved their glucose tolerance had decreased plasma glucose at time 90 and 120 of the OGTT at follow up compared to baseline (all $p < 0.05$).

At baseline, CF subjects who deteriorate their glucose tolerance had statistically higher FEV1 values compared to the other groups. This group showed a significant reduction of pulmonary function at follow up contrasting with the other two groups, which remained stable during this period. However, because patients that deteriorate their glucose tolerance started from a numerically higher FEV value, this change in pulmonary function might

represent a regression toward the mean. Furthermore, changes in glucose tolerance were not associated with alteration of inflammatory nutritional markers (data not shown).

As shown in Table 1, the prevalence of the $\Delta F508$ homozygote mutations was higher in patients who deteriorate their glucose tolerance (68.2%) compared to either stables (46%) or patients who improved their glucose tolerance (40%). Furthermore, women were overrepresented (65%) in the group that deteriorates their glucose tolerance compared to either stable subjects or subjects that improved their glucose tolerance (Table 1).

At baseline, all three CF groups showed reduced 1st and 2nd phase insulin secretion indices compared to controls (Table 2). There was no significant change in insulin secretion profile between baseline and follow up among glucose tolerance group (Figure 2). Furthermore, both indices remained stable over time in all CF groups except for the 2nd phase insulin secretion index which, slightly but significantly, increased in stable patients (Table 2, Figure 2).

In contrast, the changes in insulin resistance indices mirrored the evolution of glucose tolerance. Thus, insulin resistance remained similar in stable patients, further deteriorated by 24.1% in the patients who progressed toward a worse glucose tolerance and improved by 32.3% in the patients improving it (Table 2). As shown in Figure 3, this paralleled the changes in the disposition index, which reflects the ability of β -cells, assed by 1st phase insulin secretion, to compensate for insulin resistance (6).

DISCUSSION

The MCFC was established as part of an ongoing systematic screening program to detect CRFD and to investigate pathophysiological mechanisms involved in glucose intolerance in CF patients. Over a mean observation period of 21.8 months the study's key findings are that 1) over this period, a substantial number of patients (39.4%) changed their glucose tolerance status 2) these changes in glucose tolerance mirrored those in insulin resistance and 3) the deterioration of glucose tolerance occurs more frequently in women and carriers of homozygote $\Delta F508$ mutation.

Our study underlines the important contribution of both gender and genotype in the deterioration of the glucose tolerance status (24; 26). We observed that women constituted more than 65% of the subjects who deteriorate their glucose tolerance while subject who ameliorate their glucose tolerance were primarily men (67%). The explanation for this sex differences remain unknown. Recent studies have shown CFDR occurs earlier in women (median 19.5 years) then men (median 27.5 years)(36). Furthermore, estrogens have been shown to affect (CFTR) function (38). Further studies should examine the effect of estrogens on the deterioration of glucose tolerance in CF patients. Similar to other groups, we also found that the homozygote $\Delta F508$ mutation was associated with a higher likelihood of developing glucose tolerance abnormalities (2; 30) . Thus, patients carrying homozygote $\Delta F508$ mutation should probably be screened more frequently for CFRD than patients without this mutation.

We, and other, have documented a major reduction of insulin secretion in CF patients, even in those with NGT (10) At baseline, compared to controls subjects, CF patients presented a 60-65% decrease in 1st phase insulin secretion as well as a delayed 2nd phase insulin

secretion irrespectively of their glucose tolerance status. This severe reduction in insulin secretion is obviously a key factor in the frequent occurrence of glucose intolerance in this population (9; 10; 22). However, despite the high number of patients who changed their glucose tolerance status (39.4%) at follow up, this was not paralleled by any significant alteration in insulin secretion profile or insulin secretion indices. It is possible that a longer follow-up period is required to observe the deterioration of insulin secretion associated with CFRD. This suggests that in CF patients, additional factors may contribute to the variation of glucose tolerance (23).

While insulin resistance is not the primary factor yielding to glucose metabolism abnormalities, our data demonstrated that alteration in insulin resistance mirrored those of the glucose tolerance status. CF subjects present major alteration in β -cell mass and function (25; 37). In this context, even mild variations of insulin sensitivity may have a major impact on glucose tolerance. The relationship between insulin resistance and insulin secretion is highlighted by the disposition index. This index is a graphical representation of the β cell's ability to respond adequately to insulin resistance. Using this index, we observed that variation of insulin resistance plays a primarily role in the changes of glucose tolerance status in CF. We have previously reported that, compared to controls, CF subjects present mild but detectable level of insulin resistance (10). On the other hand, other studies have yield inconsistence results and both reduced (17; 18) as well as no change in insulin sensitivity has been reported for this population (3; 28). Recently, Hardin et al (16) have documented an increased in hepatic glucose production in CF subjects du to lower insulin-mediated suppression of gluconeogenesis, especially in those with abnormal

glucose tolerance (16). This suggests that liver's insulin resistance may contribute to abnormal glucose tolerance in this population.

CF patients present factors that have been associated with the occurrence of insulin resistance including subclinical inflammation (12; 31). However, while some cross sectional data have associated plasma inflammatory markers with glucose tolerance (7; 8; 20) we did not observe any associated between these two parameters in this cohort. Similarly, we have previously shown that insulin-mediated suppression of free fatty acids is comparable in control and CF patients (14) suggesting that there is a low probability that insulin resistance is due to lipotoxicity. On the other hand, fat distribution and physical inactivity are important risk factors for insulin resistance in diabetic subjects (1; 19). While CF subjects usually have low BMI and low total fat mass (12; 35), they tend to show preferential central fat distribution (29). Studies have highlighted the important contribution of visceral fat to insulin resistance and to the increased risk of type 2 diabetes (1; 34). Further studies should examine the contribution of these factors to the development of insulin resistance and the progression toward CFRD. Finally, glucose itself can contribute to insulin resistance (i.e. glucotoxicity) (21). Since all CF subjects, including those with NGT, present increased postprandial glucose excursions, these repeated glucose excursion might contribute to insulin resistance.

In conclusion, our study demonstrated that CF patients present a major insulin secretion defect. In that context, variations of insulin resistance may have a significant impact on the development of glucose intolerance. Further investigation should focus on factors that might positively influence insulin resistance including nutrition and physical activity.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Isabelle Vignault (RN), Danielle Poisson (RN), Shirley Ferguson (RN) and Renée Lévesque (RN) for their technical assistance. R.R-L. is a scholar from “Fonds de la recherche en santé du Québec” (FRSQ) and holds the J-A DeSève research chair in clinical research. S.Z holds a studentship from Canadian Institute for health Research (CIHR). This study was supported by a start-up grant from the “Fondation du CHUM” and by an operating grant from the Canadian Cystic Fibrosis Foundation.

REFERENCES

1. **Abate N.** Insulin resistance and obesity. The role of fat distribution pattern. *Diabetes Care* 19: 292-294, 1996.
2. **Adler AI, Shine BS, Chamnan P, Haworth CS and Bilton D.** Genetic determinants and epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes: results from a British cohort of children and adults. *Diabetes Care* 31: 1789-1794, 2008.
3. **Ahmad T, Nelson R and Taylor R.** Insulin sensitivity and metabolic clearance rate of insulin in cystic fibrosis. *Metabolism* 43: 163-167, 1994.
4. Association Canadienne du Diabète. Lignes directrices de pratique clinique pour la prévention et le traitement du diabète au Canada. 2008.
5. **Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J and Feve B.** Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw* 17: 4-12, 2006.
6. **Bergman RN, Ader M, Huecking K and Van CG.** Accurate assessment of beta-cell function: the hyperbolic correction. *Diabetes* 51 Suppl 1: S212-S220, 2002.
7. **Bismuth E, Laborde K, Taupin P, Velho G, Ribault V, Jennane F, Grasset E, Sermet I, de BJ, Lenoir G and Robert JJ.** Glucose tolerance and insulin secretion, morbidity, and death in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 152: 540-5, 545, 2008.
8. **Cawood TJ, McKenna MJ, Gallagher CG, Smith D, Chung WY, Gibney J and O'Shea D.** Cystic fibrosis-related diabetes in adults. *Ir Med J* 99: 83-86, 2006.
9. **Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, Levesque R, Chiasson J and Rabasa-Lhoret R.** Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 31: 221-232, 2005.
10. **Costa M, Potvin S, Hammana I, Malet A, Berthiaume Y, Jeanneret A, Lavoie A, Levesque R, Perrier J, Poisson D, Karelis AD, Chiasson JL and Rabasa-Lhoret R.** Increased glucose excursion in cystic fibrosis and its association with a worse clinical status. *J Cyst Fibros* 6: 376-383, 2007.
11. **Cystic Fibrosis Foundation.** *Microbiology and infectious disease in cystic fibrosis.* Bethesda: 1994, p. 1-26.
12. Cystic Fibrosis Foundation. Cystic Fibrosis Foundation Patients Registry 2005 Annual Data Report. 1-12. 2006.

13. **Della MT, Setian N and Rodrigues JC.** Cystic fibrosis-related diabetes: a frequent co-morbidity. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 52: 188-197, 2008.
14. **Hammana I, Coderre L, Potvin S, Costa M, Berthiaume Y, Lavoie A, Chiasson JL, Levy E and Rabasa-Lhoret R.** Dichotomy between postprandial glucose and lipid profiles in adults with cystic fibrosis: a pilot study. *J Cyst Fibros* 8: 128-134, 2009.
15. **Hammana I, Potvin S, Tardif A, Berthiaume Y, Coderre L and Rabasa-Lhoret R.** Validation of insulin secretion indices in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros* 2009.
16. **Hardin DS, Ahn C, Rice J, Rice M and Rosenblatt R.** Elevated gluconeogenesis and lack of suppression by insulin contribute to cystic fibrosis-related diabetes. *J Investig Med* 56: 567-573, 2008.
17. **Hardin DS, LeBlanc A, Marshall G and Seilheimer DK.** Mechanisms of insulin resistance in cystic fibrosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E1022-E1028, 2001.
18. **Holl RW, Heinze E, Wolf A, Rank M and Teller WM.** Reduced pancreatic insulin release and reduced peripheral insulin sensitivity contribute to hyperglycaemia in cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 154: 356-361, 1995.
19. **Ingelsson E, Arnlov J, Sundstrom J, Riserus U, Michaelsson K and Byberg L.** Relative importance and conjoint effects of obesity and physical inactivity for the development of insulin resistance. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 16: 28-33, 2009.
20. **Lanng S.** Glucose intolerance in cystic fibrosis patients. *Paediatr Respir Rev* 2: 253-259, 2001.
21. **Kaiser N, Leibowitz G and Nesher R.** Glucotoxicity and beta-cell failure in type 2 diabetes mellitus. *J Pediatr Endocrinol Metab* 16: 5-22, 2003
22. **Lanng S, Hansen A, Thorsteinsson B, Nerup J and Koch C.** Glucose tolerance in patients with cystic fibrosis: five year prospective study. *BMJ* 311: 655-659, 1995.
23. **Lombardo F, De Luca F, Rosano M, Sferlazzas C, Lucanto C, Arrigo T, Messina MF, Crisafulli G, Wasniewska M, Valenzise M and Cucinotta D.** Natural history of glucose tolerance, beta-cell function and peripheral insulin sensitivity in cystic fibrosis patients with fasting euglycemia. *Eur J Endocrinol* 149: 53-59, 2003.

24. **Mackie AD, Thornton SJ and Edenborough FP.** Cystic fibrosis-related diabetes. *Diabet Med* 20: 425-436, 2003.
25. **Moran A, Diem P, Klein DJ, Levitt MD and Robertson RP.** Pancreatic endocrine function in cystic fibrosis. *J Pediatr* 118: 715-723, 1991.
26. **Moran A, Dunitz J, Nathan B, Saeed A, Holme B and Thomas W.** Cystic fibrosis-related diabetes: current trends in prevalence, incidence, and mortality. *Diabetes Care* 32: 1626-1631, 2009.
27. **Moran A, Hardin D, Rodman D, Allen HF, Beall RJ, Borowitz D, Brunzell C, Campbell PW, III, 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 and .** Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus: a consensus conference report. *Diabetes Res Clin Pract* 45: 61-73, 1999.
28. **Moran A, Pyzdrowski KL, Weinreb J, Kahn BB, Smith SA, Adams KS and Seaquist ER.** Insulin sensitivity in cystic fibrosis. *Diabetes* 43: 1020-1026, 1994.
29. **Moriconi N, Kraenzlin M, Muller B, Keller U, Nusbaumer CP, Stohr S, Tamm M and Puder JJ.** Body composition and adiponectin serum concentrations in adult patients with cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 91: 1586-1590, 2006.
30. **Preumont V, Hermans MP, Lebecque P and Buyschaert M.** Glucose homeostasis and genotype-phenotype interplay in cystic fibrosis patients with CFTR gene deltaF508 mutation. *Diabetes Care* 30: 1187-1192, 2007.
31. **Robinson P.** Cystic fibrosis. *Thorax* 56: 237-241, 2001.
32. **Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Van Haeften T, Renn W and Gerich J.** Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 23: 295-301, 2000.
33. **Stumvoll M, Van HT, Fritsche A and Gerich J.** Oral glucose tolerance test indexes for insulin sensitivity and secretion based on various availabilities of sampling times. *Diabetes Care* 24: 796-797, 2001.
34. **Tousignant B, Faraj M, Conus F, Garrel D, Brochu M, Rabasa-Lhoret R and Coderre L.** Body fat distribution modulates insulin sensitivity in post-menopausal

- overweight and obese women: a MONET study. *Int J Obes (Lond)* 32: 1626-1632, 2008.
35. **Turck D and Michaud L.** Cystic fibrosis: nutritional consequences and management. *Baillieres Clin Gastroenterol* 12: 805-822, 1998.
 36. **van den Berg JM, Kouwenberg JM and Heijerman HG.** Demographics of glucose metabolism in cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 8: 276-279, 2009.
 37. **van Haren EH, Hopman WP, Rosenbusch G, Jansen JB and van Herwaarden CL.** Pancreatic morphology and function in adult patients with cystic fibrosis. *Scand J Gastroenterol* 27: 695-698, 1992.
 38. **Zeitlin PL.** Cystic fibrosis and estrogens: a perfect storm. *J Clin Invest* 118: 3841-3844, 2008.

Table 1: Physical characteristics of CF-patients

	Controls	CF-patients		
		Stables	Progressing	Regressing
Sex M / F (n)	8/6	29/26	8/15	10/5
Prevalence	----	60.6%	23.4%	16.0%
Age (years)	24.5 ± 3.8	26.3 ± 7.6	26.6 ± 87.8	25.3± 7.3
Pancreatic enzyme	0.00%	73.5%	76.5%	66.6%
ΔF508 homozygous	----	46%	68.2% [¥]	40.0% ^ϕ
Δ F508 heterozygous	----	38.6%	27.3%	6.7%
genotype/unknown	----	12.4%	4.5%	53.3%

* =P<0.05 Controls versus CF at base line

¥ = P<0.05 Progressing VS stables for □F508 homozygous

ϕ= P<0.05 Regressing VS Progressing for □F508 homozygous

Table 2 Parameters of biochemical and glucose homeostasis characteristics in CF-patients

	Baseline				18 month follow up		
	Controls	Stables	Progressing	Regressing	Stables	Progressing	Regressing
BMI (kg/m²)	22.7±1.6	21.8±3.2	21.5±2.8	22.4±3.8	22.6± 3.0	21.6 ± 2.8	22.9 ±4.3
FEV₁ (L/sec)	----	2.6±0.7	3.01±1.0 [♯]	2.5 ±0.7	2.5±0.7	2.72±0.8**	2.5 ±0.8
% FEV₁	----	72.5±18.8	84.7±18.0 [♯]	70.2±22.2	72.0±20.1	81.1±17.7* [♯]	69.7±19.6
1st phase insulin secretion index	1466.8 ± 541.7	585.8 ±194.8 [♯]	538.6± 255.1 [♯]	589.1±310.1 [♯]	578.8 ±226.7	447.5 ±324.5	633.5± 332.7
2nd phase insulin secretion index	197.47 ± 63.6	166.4 ± 92.5 [♯]	153.0 ± 49.8 [♯]	171.6±47.4 [♯]	199.1±102.4 [¥]	160.2±72.92 [♯]	184.9±77.8
Insulin sensitivity index	0.093 ± 0.020	0.086 ± 0.022 [♯]	0.087 ± 0.017 [♯]	0.068 ± 0.013 ^{♯♯}	0.088 ± 0.20	0.066 ± 0.016 ^{¥♯}	0.090 ± 0.017 [¥]

♯ = P<0.0001 Controls versus base line

* =P<0.05 base line versus follow up

** =P<0.005 base line versus follow up

¥ =P<0.0001 base line versus follow up

♯ = P<0.05 versus Stables

Stables= NGT1/GT2 and IGT1/IGT2

Progressing= NGT1/IGT2 and IGT1/ CFRD2

Regressing= IGT1/NGT2

FIGURES LEGENDS

Figure 1 Plasma glucose level during the OGTT

- A ◆: CF stables base line; ■: CF stables follow up; ▲: Controls.
 B ◆: CF progressing base line; ■: CF progressing follow up; ▲: Controls.
 C ◆: CF regressing base line; ■: CF regressing follow up; ▲: Controls.
 * = $P < 0.005$ base line versus follow up

Figure 2 Plasma insulin level during the OGTT

- A ◆: CF stables base line; ■: CF stables follow up; ▲: Controls.
 B ◆: CF progressing base line; ■: CF progressing follow up; ▲: Controls.
 C ◆: CF regressing base line; ■: CF regressing follow up; ▲: Controls.

Figure 3 Disposition index: Values for first phase insulin secretion index are adjusted for insulin sensitivity index.

- A CF stables base line; ▲: CF stables follow up; ◆ Controls
 B CF progressing base line; ●: CF progressing follow up; ▲ Controls
 C CF regressing base line; ■: CF regressing follow up; ▲ Controls

Fig1-A

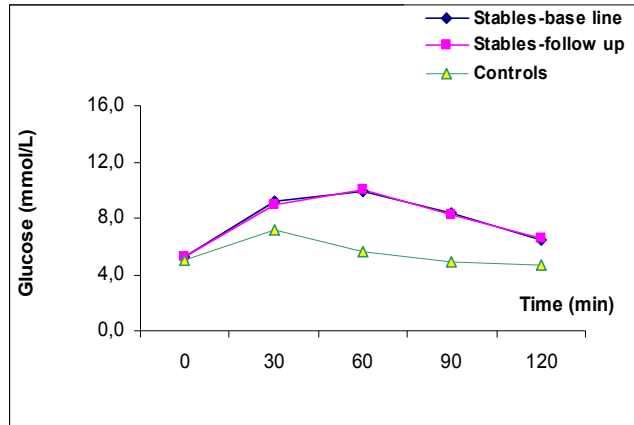


Fig1-B

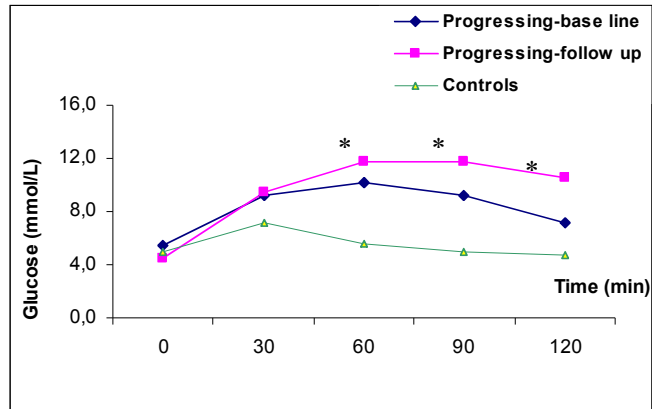


Fig 1-C

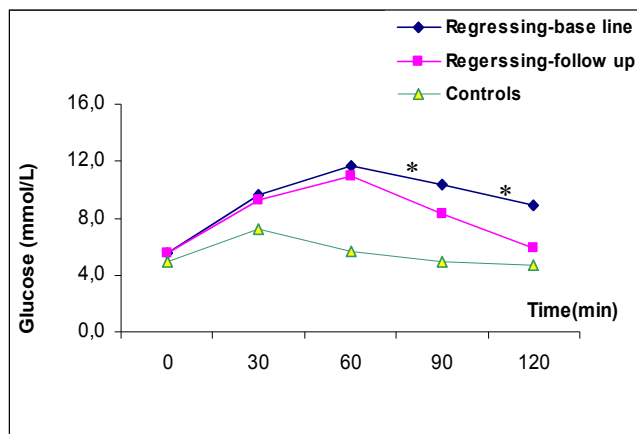


Fig2-A

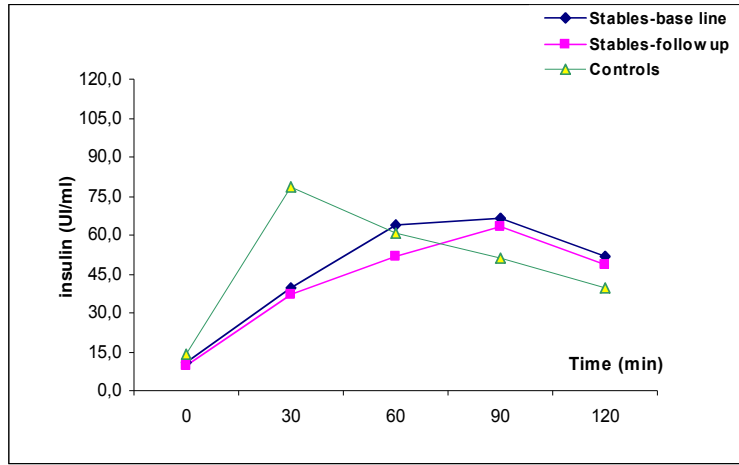


Fig2-B

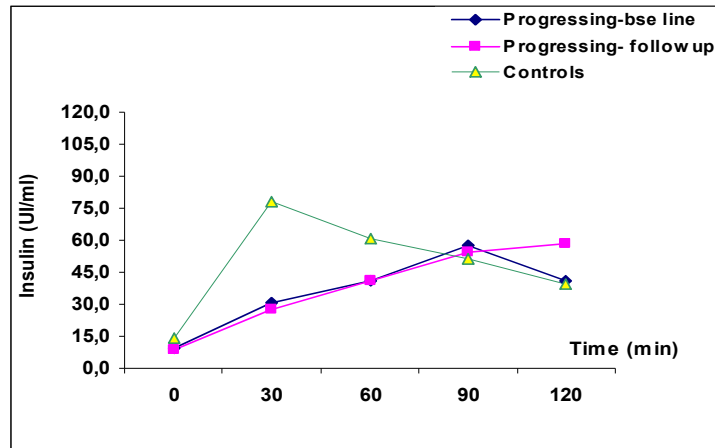


Fig2-C

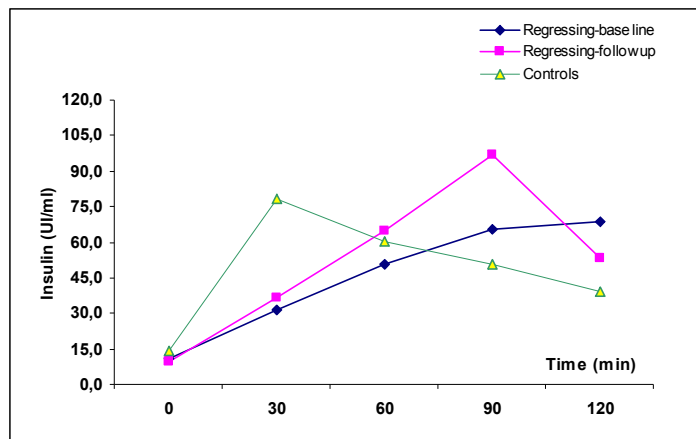


Fig3-A

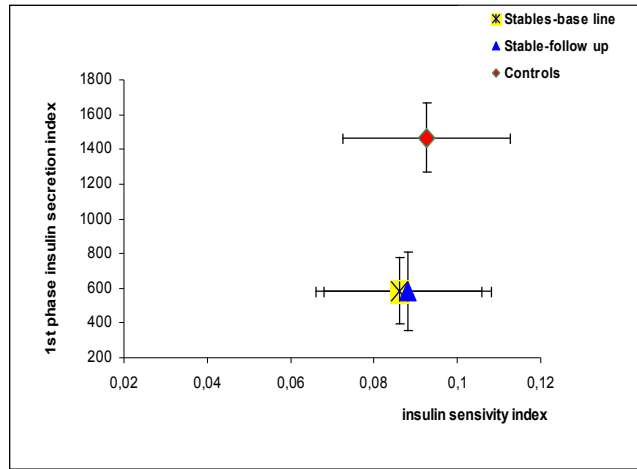


Fig3-B

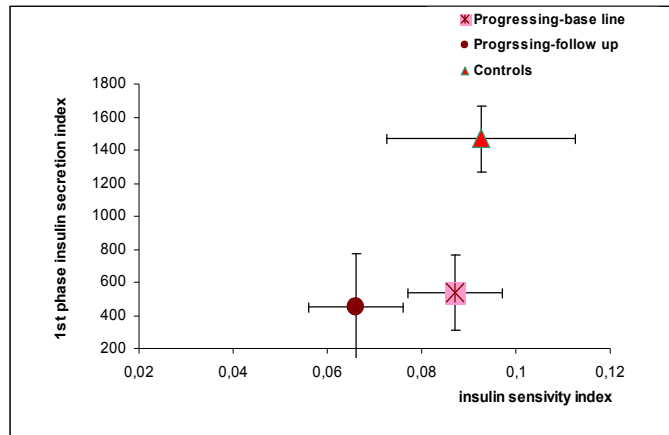
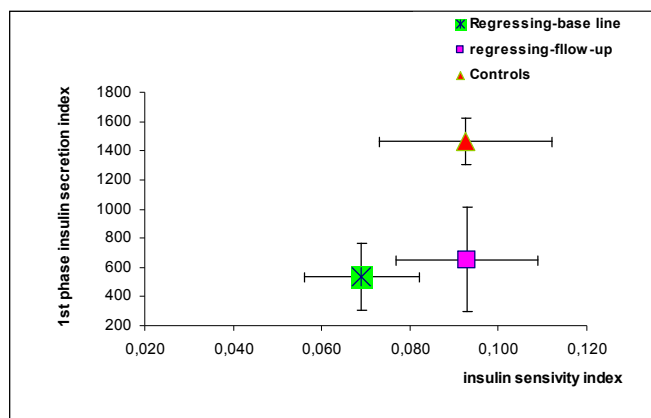


Fig3-C



CHAPITRE 3

Discussion

I. L'augmentation de l'excursion glycémique chez les patients atteints de fibrose kystique et son lien avec la dégradation de l'état clinique.

L'origine des troubles du métabolisme glucidique chez les patients FK n'est pas encore clairement établie. Il va sans dire que le DAFK est, en premier lieu, causé par une insulinopénie (71). Il a été rapporté que les troubles du métabolisme glucidique sont directement reliés à une réduction et à un retard de la sécrétion de l'insuline chez les patients FK, et ce quel que soit leur statut glycémique (123; 147). De plus, cette diminution est encore plus marquée chez les DAFK (143; 210).

Il n'existe aucun marqueur permettant d'identifier les patients à risque de développer le DAFK. Notre première étude portait donc sur l'identification des mécanismes physiopathologiques tels que l'insulinopénie et la résistance à l'insuline dans la survenue des anomalies de la tolérance au glucose, ainsi que leurs rôles dans la détérioration du statut clinique chez ces patients. Nous avons investigué ces deux paramètres lors d'une étude transversale observationnelle. Cette étude a démontré que 1) les adultes FK présentent un risque élevé de développer de l'IGT et du diabète ; et 2) même les sujets NGT présentent une excursion glycémique élevée durant l'HGPO. Ces changements pourraient être la conséquence directe de la réduction de la première phase de la sécrétion de l'insuline observée chez tous les groupes de patients FK.

Notre étude a aussi démontré que la glycémie à jeun n'est pas informative pour le diagnostic des anomalies de la tolérance au glucose et du diabète et suggère que l'HGPO, malgré sa faible reproductibilité, demeure le test de dépistage privilégié du diabète dans

cette population. De plus, une prévalence aussi élevée souligne l'importance d'un dépistage régulier du DAFK au moyen d'une HGPO.

Le test d'HGPO utilisé incluait des valeurs glycémiques prises à 30 minutes d'intervalle, pendant 2 heures. Cela nous a permis de calculer les aires sous la courbe (AUC) de la glycémie. Nous avons observé une augmentation significative des AUC de la glycémie chez tous les groupes FK, y compris les sujets NGT. Cette excursion anormalement élevée n'aurait pas été découverte si l'on avait inclus uniquement les valeurs classiques du test, soit les valeurs de glycémie à jeun et à 2 heures. De plus, nous avons démontré une corrélation significative entre l'AUC de la glycémie et la réduction de la fonction pulmonaire. Nous pensons que la classification basée sur les catégories classiques du diabète pourrait ne pas être pertinente chez les patients FK. Cette hypothèse avait déjà été émise par Dobson *et coll.* (72) qui, en utilisant le test d'enregistrement de la glycémie en continu (CGMS; *Continuous Glycemic Monitoring System*), a démontré que les troubles du métabolisme du glucose étaient une des caractéristiques précoces des patients atteints de FK. Notre étude suggère donc qu'il serait probablement pertinent d'inclure un test d'HGPO avec 5 temps afin de détecter les excursions glycémiques anormalement élevées chez certains patients. Il reste néanmoins à établir si

- 1) les excursions glycémiques à la suite d'une charge en glucose sont représentatives des excursions à la suite d'un repas usuel (nous avons étudié cette représentativité dans un autre manuscrit voir section V) et
- 2) si elles sont associées à un risque plus élevé de développer le DAFK ou de présenter un déclin clinique plus rapide ou précoce, dans ce cas, cela permettrait de prendre en

charge le patient au stade du pré-diabète dans le but de réduire les risques liés à cette pathologie.

L'excursion glycémique anormalement élevée observée chez les patients FK-NGT est due principalement à la déficience de la phase précoce de sécrétion de l'insuline. Nos observations concordent avec des résultats déjà obtenus dans des cohortes plus petites en utilisant le test de glycémie par voie intraveineuse (IVGTT) et le clamp hyperglycémique (21; 210). Cela dit, ces études n'incluaient pas de groupe témoins. L'inclusion de ce groupe lors de notre étude s'est avérée importante car c'est en comparant les résultats obtenues chez les patients FK à celui-ci que l'on a pu observer l'altération majeure de la phase précoce de sécrétion de l'insuline chez tous les sujets FK, et ce quel que soit leur statut glycémique.

Notre étude démontre aussi que la sensibilité à l'insuline était significativement réduite chez les patients FK-IGT et DAFK mais pas chez les patients NGT. Dans la relation hyperbolique (26) entre la première phase de sécrétion de l'insuline et la résistance à l'insuline, il apparaît clairement que les patients avec des troubles du métabolisme glycémique doivent augmenter leur sécrétion de l'insuline afin de palier à la résistance à l'insuline. Chez les patients IGT, la réduction de la sensibilité à l'insuline est compensée par une augmentation de la deuxième phase de sécrétion de l'insuline en l'absence de changement au niveau de la première phase de sécrétion. Par contre, les patients DAFK présentent une réduction simultanée de la première et de la deuxième phase de sécrétion de l'insuline suggérant que le pancréas ne peut plus compenser la perte de sensibilité à l'insuline.

Nos résultats démontrent qu'il n'existe pas d'association entre la glycémie obtenue à la 2^e heure de l'HGPO et la fonction pulmonaire, et ce pour les trois groupes de patients FK (NGT, IGT & DAFK). Ces résultats sont différents de ceux retrouvés dans la littérature où le diabète est fortement lié à une augmentation de la mortalité et à une réduction dramatique de la fonction pulmonaire (141). Ces différences pourraient être dues au fait que les patients diabétiques de notre cohorte étaient nouvellement diagnostiqués et que nous avons réalisé les tests en dehors des épisodes d'infections et de dénutrition (124; 141; 147). Il se pourrait aussi que les paramètres de dénutrition et de la perte de la fonction pulmonaire ne soient pas révélateurs de l'IGT au stade précoce. Par ailleurs, nous avons constaté des différences significatives dans la fonction pulmonaire après avoir séparé les groupes en quartiles de la première phase de sécrétion de l'insuline et de la glycémie. Nos résultats démontrent les quartiles les plus hauts de l'AUC du glucose ainsi que les quartiles les plus faibles de la sécrétion de l'insuline étaient significativement associés à une baisse de la fonction pulmonaire. Cette relation suggère un lien entre l'excursion glycémique, les concentrations d'insuline et la fonction pulmonaire et suggère que la glucotoxicité et/ou l'insulinopénie pourraient avoir un effet majeur sur le métabolisme glucidique ainsi que sur la fonction pulmonaire.

L'insuline joue un rôle important sur la synthèse protéique. En effet, l'insuline augmente le transport actif des acides aminés permettant la synthèse des protéines musculaires, du collagène et du cartilage. Cette hormone inhibe aussi la protéolyse. Donc, une insulinopénie prolongée pourrait avoir un effet sur le catabolisme des protéines et donc la dénutrition et la perte de poids souvent observée chez les patients atteints de DAFK (120; 124; 141; 147).

Lors de notre étude, les patients FK affichant le quartile de l'AUC du glucose le plus haut présentaient des taux sériques de fibrinogène significativement plus élevés ainsi que des taux de CRP plus élevés. Il est bien connu que les patients FK présentent une inflammation sub-clinique et cela même en dehors des épisodes d'infection (31; 105; 207). Il est possible que la sensibilité à l'insuline soit affectée suite à une exposition chronique aux facteurs inflammatoires comme le TNF- α . Hotamisligil et coll. (105) ont rapporté une augmentation des concentrations du TNF- α chez les patients résistants à l'insuline, alors qu'Ofei et coll. (161) ont démontré une amélioration de la sensibilité à l'insuline suite à une injection d'anticorps anti-TNF- α chez des patients atteints de diabète de type 2. Cela suggère que les facteurs inflammatoires pourraient influencer la sensibilité à l'insuline chez les patients FK.

Nos résultats démontrent une prévalence élevée de l'intolérance au glucose dans la population FK. De plus, les patients NGT présentent une excursion glycémique anormalement élevée. Il est possible que la classification conventionnelle de l'intolérance au glucose soit inappropriée pour cette population. Cela s'appuie sur le fait que l'AUC de la glycémie reste fortement associée à une moins bonne fonction pulmonaire.

II Validation des indices de la sécrétion de l'insuline chez les patients atteints de FK

Notre étude précédente démontrait que la FK est une maladie liée aux troubles du métabolisme glucidique et caractérisée par une excursion glycémique élevée combinée à une altération de la phase précoce de la sécrétion de l'insuline (28; 91). De plus, des études subséquentes ont démontré que la progression vers le DAFK était associée à une réduction de la quantité totale d'insuline secrétée (54; 206). Donc, une méthode d'évaluation précise de la sécrétion de l'insuline est cruciale afin de mieux comprendre les mécanismes physiologiques impliqués dans la progression du DAFK. Les méthodes de référence comme l'IVGTT ou le clamp hyperglycémique s'avèrent très invasives et ne peuvent être utilisées comme test de routine pour quantifier la sécrétion de l'insuline dans une population. Plusieurs indices à jeun ou dérivés de l'HGPO ont été validés pour les sujets NGT, les sujets IGT et les patients diabétiques de type 2. Cependant, comme le DAFK a une étiologie distincte, il est important de valider ces indices chez les patients atteints de FK. L'objectif de notre étude était donc de valider des indices dérivés des valeurs à jeun (HOMA- β cell) ou provenant de l'HGPO (Stumvoll; insulin secretion rate) avec le test de référence : l'IVGTT.

Notre étude démontre que la plupart des indices dérivés de l'HGPO corrélaient significativement avec les valeurs de l'IVGTT. Par contre, le HOMA- β cell, un indice calculé à partir des valeurs à jeun, corréla moins bien avec les valeurs de l'IVGTT dans le groupe de patients FK-NGT. Les patients FK présentent rarement une hyperglycémie à jeun. De plus, leur sécrétion d'insuline est retardée. Donc, les indices basés sur des valeurs

à jeun ne sont peut-être pas adaptés pour le calcul de la sécrétion de l'insuline chez cette population. En effet, il a déjà été démontré que le HOMA- β cell sous-estime les dysfonctionnements pancréatiques chez les sujets atteints d'IGT ainsi que chez des patients au stade précoce de diabète de type 2 (78). Contrairement au HOMA- β cell, les deux indices dérivés de l'HGPO incluaient les valeurs de la première phase de sécrétion de l'insuline et corrélaient significativement avec l'IVGTT. Donc, les indices calculés à partir de l'HGPO seraient logiquement meilleur pour estimer la sécrétion de l'insuline chez la population FK comparativement aux indices à jeun. Comme l'HGPO est un test de routine annuel recommandé pour le dépistage du diabète chez les patients FK, l'ajout de différents temps et le calcul des valeurs de la sécrétion de l'insuline à partir de ce test est parfaitement faisable (4; 232). Par contre, le degré de sensibilité des indices dérivés de l'HGPO comme moyen de suivie de l'amélioration ou de la détérioration de la sécrétion de l'insuline devrait être plus amplement étudié.

Afin d'étudier de façon plus complète la physiopathologie du DAFK, il faudra aussi valider des indices de sensibilité à l'insuline. Nous avons déjà des résultats préliminaires chez 16 sujets FK et 16 témoins appariés qui indiquent qu'un nombre beaucoup plus important de sujets devra être étudié afin de sélectionner l'indice le plus approprié à la population FK.

Nos résultats suggèrent donc que les indices dérivés de l'HGPO pourraient servir à étudier l'insulinopénie. Cela ouvre la porte à l'étude de grosses cohortes de patients en se servant du dépistage systématique pour étudier la physiopathologie du DAFK.

III Dichotomie entre la glycémie postprandiale et le profil lipidique chez les patients atteints de FK

Une des caractéristiques de la FK est l'insuffisance pancréatique exocrine, ce qui entraîne une malabsorption des lipides (167; 187). Afin de prévenir la malnutrition, le guide de nutrition actuel recommande des apports énergétiques élevés, comprenant 40% de lipides. Cela accompagne d'un supplément adéquat en enzymes pancréatiques pour les patients FK atteints d'insuffisance pancréatique (129; 167). Malgré ces recommandations, il existe peu de résultats sur le profil lipidique postprandial chez les patients FK. Le but de notre étude était de comparer le profil postprandial du métabolisme glycémique et lipidique après un test d'HGPO et d'un repas test. Le repas test comportait une charge en glucose similaire à celle de l'HGPO associée à une prise de lipides et de protéines qui mimait le repas caricatural d'un patient FK.

Nos résultats démontrent que les patients FK présentaient une excursion glycémique exagérée suite au repas test ainsi qu'à l'HGPO. Par contre, le pic maximum de l'excursion glycémique ainsi que l'AUC de la glycémie étaient réduits durant le repas test comparativement à l'HGPO. Cette excursion plus faible lors du repas test semble être observée plus rarement dans le diabète de type 2 (231).

Un repas hyperlipidique entraîne un ralentissement de la vidange gastrique ce qui pourrait se traduire par une excursion glycémique moins élevée durant le repas test comparativement à l'HGPO (104). Ce point est très important quand on sait que la vidange gastrique de certains patients FK sévèrement atteints est particulièrement lente (25; 30) contrairement aux patients FK les moins atteints (51). D'autres paramètres pourraient aussi

influencer ces résultats, tels que les niveaux d'incrétines. En effet, les incrétines jouent un rôle important dans la régulation du métabolisme des glucides et plus particulièrement durant la phase postprandiale. Contrairement à l'HGPO, le repas stimule fortement la sécrétion d'incrétines, en particulier le GIP (gastric inhibitory peptide) et le GLP (glucagons-like peptide)-1 (218). Ces hormones ont de multiples fonctions parmi lesquelles un ralentissement de la vidange gastrique et une potentialisation de la sécrétion de l'insuline (127).

La réduction de l'excursion glycémique après le repas test pourrait aussi être due à une meilleure suppression de la production hépatique de glucose. Ce paramètre est un facteur déterminant du métabolisme glycémique car il est principalement régulé par les niveaux de la première phase de sécrétion de l'insuline ainsi que de l'inhibition de la sécrétion du glucagon (39; 75). L'inhibition de la sécrétion du glucagon peut aussi être régulée par les niveaux de GLP-1 suite à un repas (75).

Une fois le diagnostic établi, il est aussi conseillé de mesurer cette glycémie afin d'obtenir un contrôle glycémique optimal (20). Nos résultats suggèrent que les valeurs de la glycémie en phase postprandiale pourraient être très peu sensibles pour dépister le DAFK (201). La glycémie opportuniste reste néanmoins la première étape recommandée pour dépister la DAFK en Amérique du Nord (20). Nos résultats suggèrent que de nombreux patients pourraient ne pas être diagnostiqués avec cette méthode de dépistage. Cela est d'autant plus vrai que de nombreux médecins se fient sur ces valeurs de glycémie combinés avec une valeur d'HbA1c comme méthode de dépistage du DAFK. Or certains de nos résultats (voir section V) indiquent que l'HbA1c sous-estime aussi le niveau des glycémies chez les patients atteints de FK. Le test d'enregistrement de la glycémie en continu

(CGMS) a révélé un profil glycémique pathologique chez les patients FK, y compris ceux qui sont NGT (154). Puisque les patients FK présentent une excursion glycémique très différente entre le test d'HGPO et le repas test, le CGMS pourrai devenir un test de dépistage des anomalies de la tolérance au glucose dans des conditions usuelles de vie pour ces patients. Il reste néanmoins à établir des seuils pertinents au cours du CGMS ce qui fera l'objet d'un des projets de recherche du laboratoire. Pour l'instant, l'HGPO reste le principal test pour diagnostiquer les nouveaux cas de diabète dans cette population (53) mais il convient de garder en tête que ce test pourrait exagérer les excursions présentées par les patients.

Malgré une insulino-pénie marquée, les taux sériques d'acides gras libres (AGL) et de triglycérides (TG) étaient similaires entre les deux groupes de patients FK de même qu'avec notre groupe témoins, et cela en dépit d'un repas très riche en lipides (53%). De plus, la suppression des AGL était comparable chez les FK et les témoins à la suite du repas-test et de l'HGPO. Nos résultats concordent avec une publication antérieure qui avait rapportée des niveaux d'AGL à jeun normaux chez patients FK (79).

L'insuline joue un rôle clef dans la régulation de la lipidémie postprandiale grâce à ses actions lipogéniques et anti-lipolytiques. Nos résultats démontrent une discordance entre le profil glycémique et le profil lipidique chez les patients FK. Ces résultats vont à l'encontre de ce qui a été démontré chez les patients diabétiques de type 2 qui présentaient une réduction de la suppression des AGL par l'insuline lors de l'HGPO (42). De plus, et contrairement au profil glycémique, il n'y avait aucune différence au niveau des taux sériques en AGL entre le groupe FK-NGT et les DAFK. Cela est surprenant, car on sait les niveaux d'AGL dépendent des taux d'insuline et que les patients FK, et plus

particulièrement les patients DAFK, présentent une réduction de la sécrétion d'insuline. Il semble donc que les taux d'insuline secrétés sont suffisamment importants pour inhiber la lipolyse et stimuler la lipogénèse chez cette population. Cela suggère aussi que contrairement aux patients diabétiques de type 2, le rôle de la lipotoxicité dans la destruction de la cellule β du pancréas et dans la résistance à l'insuline est peu probable (43; 184).

Nos résultats suggèrent donc que les patients atteints de FK présentent principalement des anomalies postprandiales du métabolisme des glucides alors que celui des lipides est préservé même dans un contexte d'apports lipidiques importants. De plus, l'excursion glycémique est réduite dans un contexte de repas mixte comparativement à une charge en glucose (HGPO). Les causes et les conséquences de cette dissociation restent à établir.

IV Un taux d'adiponectine normal en dépit de l'IGT et de l'inflammation chez les patients atteints de FK.

L'adiponectine fait partie des nombreuses hormones secrétées par le tissu adipeux. Elle se distingue par de nombreuses caractéristiques, parmi lesquelles la plus importante est l'association entre des taux plus élevés et une meilleure tolérance au glucose (205; 225). A l'opposé, il existe une corrélation négative entre, d'une part, les concentrations plasmatiques d'adiponectine et d'autre part, l'intolérance au glucose, l'inflammation et la masse grasse abdominale (205). Les sujets FK présentent souvent une inflammation chronique (205), une résistance à l'insuline ainsi qu'une répartition préférentielle de leur adiposité au niveau du tronc. Cela pourrait donc favoriser une réduction des concentrations

d'adiponectine chez les patients atteints de FK. Le but de cette étude était donc d'examiner les niveaux de cette hormone chez nos patients FK.

Contrairement à notre hypothèse, notre étude a démontré qu'il n'y avait pas de différence significative des concentrations d'adiponectine entre les patients FK et le groupe témoin. De plus, il n'avait pas de corrélation entre les niveaux sériques d'adiponectine et l'intolérance au glucose, les marqueurs de l'inflammation ou la fonction pulmonaire (FEV₁). Cependant, et comme il a déjà été démontré (208), les concentrations d'adiponectine étaient plus élevées chez les femmes comparativement aux hommes et celles-ci étaient corrélées positivement avec les concentrations d'HDL-cholestérol.

Une absence de corrélation entre l'adiponectine et la résistance à l'insuline a déjà été observée dans certaines populations. En effet, l'amélioration de la sensibilité à l'insuline chez des sujets résistants mais non-diabétiques, ainsi que chez les patients obèses IGT suite à une perte de poids, n'est pas associée à une augmentation des taux sériques d'adiponectine (9; 115). Une autre étude a démontré que la relation entre la résistance à l'insuline et les niveaux d'adiponectine reste controversée chez les patients atteints de diabète de type 1 (168). Contrairement aux diabétiques de type 2, chez lesquels un taux réduit d'adiponectine est associé au développement du diabète (57; 166), les concentrations d'adiponectine ne sont pas réduites chez les patients DAFK.

Le déficit calorique suite à des troubles alimentaires tels que l'anorexie nerveuse (23; 223), est associé à des niveaux d'adiponectine plus élevés lors d'épisodes de restrictions caloriques (38; 106). La difficulté à maintenir un bilan énergétique équilibré est bien documentée chez les patients FK (221) et pourrait contribuer à maintenir les concentrations normales d'adiponectine chez ses patients. Nous ne disposons pas de mesure précise de la

balance énergétique chez ces patients, mais nous avons mesuré l'albumine qui est un biomarqueur de la dénutrition sévère. Par contre, nous n'avons observé aucune corrélation entre les taux d'albumine et l'adiponectine. Cette différence peut être dû au fait que nos patients DAFK sont nouvellement diagnostiqués et régulièrement suivis au sein d'une clinique multidisciplinaire et donc ne présentent pas de signes grave de dénutrition.

En se basant sur ces résultats, nous avons émis l'hypothèse que chez les patients FK, les taux d'adiponectine sont modulés par différents stimuli. Alors que l'inflammation chronique et les anomalies de la tolérance au glucose pourraient favoriser une baisse des taux d'adiponectine, une déficience énergétique pourrait contrebalancer ces effets. Il se pourrait aussi qu'un taux élevé d'adiponectine est en fait un mécanisme protecteur chez cette population afin d'éviter de plus amples dégradations de la sensibilité à l'insuline. D'autres études mesurant les sous fractions actives de l'adiponectine ainsi que sa relation avec la balance énergétique et la dénutrition seraient plus aptes à déterminer le rôle réel joué par l'adiponectine chez cette population. La FK est une des rares pathologies où il existe une discordance entre les taux d'adiponectine et la résistance à l'insuline, l'inflammation et l'intolérance au glucose.

Nos résultats suggèrent qu'une baisse des concentrations plasmatiques de l'adiponectine n'est probablement pas en cause dans la survenue du DAFK. D'autres études seront nécessaires pour comprendre les causes et les conséquences de la préservation des taux d'adiponectine dans la population FK.

V Absence de corrélation entre la valeur de la glycémie moyenne et l'hémoglobine glyquée chez les patients atteints de DAFK.

L'hémoglobine glyquée intègre les valeurs glycémiques des 8 à 12 semaines précédant le prélèvement. En effet, une partie du glucose contenu dans le sang peut se lier à l'hémoglobine A1 pour donner naissance à une fraction appelée l'HbA1c. Cette liaison est stable pendant 4 à 8 semaines. Le dosage de l'HbA1c est essentiel pour la surveillance du contrôle du diabète. Les cibles pour déterminer si le traitement du diabète est optimal se basent sur l'HbA1c (<7%) et plus récemment l'Association américaine du diabète a même proposé de se baser sur ce biomarqueur pour le diagnostic du diabète (HbA1c > 6.5%) et l'identification des sujets à risque (HbA1c entre 6.0 à 6.5%) (20). La fructosamine, une protéine d'origine hépatique, est un autre biomarqueur qui reflète l'équilibre glycémique mais sur une plus courte période (3 semaines). Elle est utilisée en clinique lorsque qu'on doit évaluer le contrôle glycémique récent, par exemple dans le suivi de grossesse de patientes diabétiques.

Contrairement aux patients atteints de diabète type 1 ou de type 2, les corrélations entre HbA1c, la fructosamine et la glycémie moyenne ne sont pas bien caractérisées chez les patients atteints de DAFK. Nous avons donc décidé d'évaluer si l'HbA1c ou la fructosamine sont de bons marqueurs de la glycémie moyenne dans un groupe de patients DAFK stable. Compte tenu des avantages et des limites de l'HGPO rapportés dans les sections précédentes, l'HbA1c pourrait constituer une alternative simple et séduisante. Néanmoins, nous avons émis l'hypothèse que l'HbA1c constituerait un reflet imparfait de l'excursion glycémique en partie parce que ce biomarqueur est peu sensible aux variations glycémiques de courte durée, telles que présentées par les patients atteints de FK, et que de

nombreux patients diagnostiqués avec un DAFK de novo présentent une HbA1c normale. Nous pensions donc que l'HbA1c sous-estimerait le niveau moyen des glycémies chez les patients atteints de FK.

Nos résultats démontrent que, contrairement aux diabétiques de type 1, il y a une corrélation plus faible (discordance) entre la moyenne des glycémies et l'HbA1c chez les patients DAFK stables. De plus, il n'y a aucune corrélation entre la moyenne des glycémies et la fructosamine chez aucun des deux groupes. Donc, notre étude démontre qu'un contrôle des glycémies basé uniquement sur les valeurs de l'HbA1c n'est pas approprié pour les patients atteints de FK car il sous-estime les moyennes de la glycémie dans cette population. La faible sensibilité des valeurs de l'HbA1c pour le dépistage du diabète a déjà été rapportée chez les patients atteints de FK (54; 72; 109; 121). Nos résultats étendent cette notion à la surveillance de l'équilibre glycémique chez les patients avec un diabète connu.

La dissociation entre la moyenne des glycémies et les valeurs d'HbA1c peut-être expliquée par le fait que le profil de l'excursion glycémique des patients FK est très différent de celui des patients diabétiques de type 1 ou de type 2. En effet, les patients atteints de FK présentent une excursion glycémique postprandiale importante mais de courte durée. Cela pourrait avoir des effets sur le processus de la glycation de l'hémoglobine (54; 72; 109; 121). Nos résultats démontrent que les deux groupes de patients (FK et diabétiques de type 1) avaient des valeurs de réticulocytes (nouveaux globules rouges) comparables, rendant peu probable l'hypothèse d'un renouvellement plus élevé des globules rouges chez les patients FK.

Le fer joue un rôle primordial sur les taux d'hémoglobine circulant et une carence en fer peut diminuer la quantité d'hémoglobine. L'anémie et la déficience en fer sont souvent présentes chez les patients FK (170; 179) et cela pourrait influencer les valeurs de l'HbA1c chez cette population, comme cela a été démontré chez les patients atteints de diabète de type 1 (209). Nous n'avons pas évalué les concentrations en fer chez ces patients. Une étude complémentaire évaluant les taux de fer ainsi que l'effet d'une supplémentation en fer chez ces patients pourrait peut-être avoir un effet sur l'HbA1c comme chez les patients atteints de diabète de type 1 (209).

Il existe différentes méthodes d'évaluation de la partie glyquée de l'hémoglobine (16). Il est possible, même en utilisant la méthode de référence, que l'on ait introduit un biais dû au petit nombre de patients dans chaque groupe. De plus, on ne peut exclure le fait que la demi-vie des globules rouges soit plus courte dans le cas de patients atteints de FK. Une étude faite sur un groupe plus important de patients avec différents temps de la glycémie capillaire ou un enregistrement de la glycémie en continu sur une période de 3 mois pourrait nous renseigner sur la relation entre l'HbA1c et la glycémie moyenne chez les sujets FK, et nous permettre de déterminer l'efficacité de l'HbA1c comme outil dans le contrôle des complications spécifiques au diabète de la FK.

Une prise des valeurs à jeun ainsi que des lectures de glycémie postprandiale plus fréquentes ou une évaluation au moyen d'enregistrement de la glycémie en continu sur de longues périodes seraient probablement plus appropriés dans l'évaluation du contrôle de la glycémie chez les patients FK. La sous-estimation par l'HbA1c de l'équilibre glycémique suggère aussi qu'afin de prévenir les complications spécifiques du diabète

(rétinopathie, néphropathie ou neuropathie) la cible d'HbA1c optimale pourrait être plus basse que dans le diabète de type 1 ou de type 2.

VI Tolérance au glucose chez les patients FK : contribution de la résistance à l'insuline

Les mécanismes physiopathologiques impliqués dans l'histoire naturelle des anomalies de la tolérance au glucose chez les patients FK restent controversés, et cela même s'il est admis que l'insulinopénie est un facteur causal dans l'apparition du DAFK. Lors du premier suivi de notre cohorte prospective observationnelle (MCFC), nous avons voulu déterminer la contribution de la résistance à l'insuline dans les changements de tolérance au glucose chez nos patients FK. Notre principale hypothèse était que dans un contexte d'insulinopénie sévère, une variation, même modeste, de la sensibilité à l'insuline serait associée à une variation significative de la tolérance au glucose. Pour ce faire, nous avons étudié 93 patients atteints de FK et sans diabète connu à 21.8 mois d'intervalle

Un de nos principaux résultats est la fréquence élevée de changement de catégorie de la tolérance au glucose (49.4%) au sein de cette population sur une période de temps relativement courte. De plus, ce changement (amélioration ou détérioration) était associé aux variations de la résistance à l'insuline.

En premier lieu, notre étude démontre qu'il semble y avoir un biais important du sexe sur les changements de la tolérance au glucose. En effet, chez le groupe des patients détériorant leur tolérance au glucose, 65% étaient des femmes tandis que 67% des patients ayant améliorés leur tolérance au glucose (régresseurs) étaient des hommes. Ces résultats

concordent avec plusieurs études qui ont observé une augmentation de la prévalence du DAFK chez les femmes comparativement aux hommes (2; 58; 196). Les changements hormonaux associés à la puberté précoce des jeunes filles comparativement aux garçons pourraient favoriser la résistance à l'insuline (58; 196). De plus, une étude récente a suggéré que les hormones féminines, et plus spécifiquement la 17 β œstrogène, pourraient jouer un rôle en raison de leurs effets directs sur le CFTR (234).

Nos résultats démontrent aussi que le pourcentage de la mutation Δ F508 était fortement lié à la dégradation de la tolérance au glucose au sein de notre cohorte. Nous avons observé que les patients homozygotes pour la mutation Δ F508 étaient à haut risque de progresser soit vers l'intolérance au glucose soit vers le diabète. Preumont et coll. ont déjà rapporté le même phénomène chez des patients FK d'âge pédiatrique (171). Il n'en reste pas moins que la relation entre le génotype et le DAFK reste controversée. Quelques études ont rapporté que le développement du DAFK était lié à l'insuffisance pancréatique, elle-même liée à la mutation du gène CFTR, et plus spécifiquement à la mutation Δ F508 (2; 58; 201), alors que pour d'autres, cette relation n'était pas claire (55; 126). Récemment, il a été rapporté que l'altération de la fonction et de la morphologie du pancréas exocrine se manifeste chez 40% des patients atteints de diabète de type 1 et de diabète de type 2 (100). Cela suggère que chez les patients atteints de FK, l'atteinte pancréatique exocrine, caractérisée par une réduction ou une absence de sécrétion d'enzymes digestives dues aux dépôts d'amyloïdes, aurait un rôle dans la survenue du diabète chez cette population.

L'histoire naturelle des anomalies du métabolisme glycémique chez les patients FK est caractérisée par une augmentation de l'excursion du glucose lors de l'HGPO chez tous les groupes de FK incluant les patients NGT (54). Celle-ci est secondaire à une réduction

significative de la première phase de sécrétion d'insuline. Néanmoins, nous ne retrouvons pas de réduction additionnelle de la sécrétion de l'insuline entre les deux tests. Il est donc probable que la dégradation de la sécrétion de l'insuline progresse sur une plus longue période.

Notre étude a démontré que sur une période d'un peu moins de 2 ans, le changement de la sensibilité à l'insuline est le facteur qui est le mieux associé au changement de catégorie de la tolérance au glucose au sein de la population atteinte de FK. Nous avons observé une réduction de 24,1% de la sensibilité à l'insuline au sein du groupe de patients FK qui ont détérioré leur tolérance au glucose (NGT vers IGT ou IGT vers DAFK) alors que le groupe patients qui ont amélioré leur tolérance (IGT vers NGT) a affiché une augmentation de 32.3% de la sensibilité à l'insuline. De plus, le « disposition index », qui représente la capacité d'ajustement de la sécrétion de l'insuline (phase précoce) pour un degré donné de résistance à l'insuline, démontre clairement que les patients qui détériorent leur tolérance au glucose sont ceux qui sont incapables d'améliorer leur sécrétion de l'insuline dans un contexte de résistance à l'insuline accrue. Inversement, ceux qui ont amélioré leur sensibilité ont aussi amélioré leur tolérance au glucose. Cette observation suggère que les patients atteints de FK ne disposent pas de réserve de sécrétion de l'insuline (Table 2; Figure 3) pour pallier au développement de la résistance à l'insuline. Dans un contexte où la sécrétion de l'insuline est limitée, il est clair qu'un léger changement de la sensibilité à l'insuline a un effet majeur sur les changements de catégories de la tolérance au glucose dans cette population.

Ces données ouvrent de nouvelles perspectives dans un contexte de prévention et de prise en charge du diabète chez les patients atteints de FK. En effet, si la cible principale est la

préservation et le maintien de la fonction des cellules β , une action complémentaire sur la résistance pourrait apporter un bénéfice significatif.

Conclusion

Il est clair que la prévalence de l'intolérance au glucose est très élevée chez les patients atteints de FK. De plus, même les patients atteints de FK avec une tolérance au glucose normale selon le test de l'HGPO présentent une excursion glycémique anormalement élevée comparativement aux sujets sains. Cette anomalie du métabolisme glycémique résulte principalement d'une altération de la sécrétion de l'insuline (phase précoce).

Dans une étude transversale, une excursion glycémique élevée (AUC) reste fortement associée à une moins bonne fonction pulmonaire. Cela pourrait être lié à une inflammation sub-clinique déclenchée par des excursions glycémiques élevées et à répétition ou encore être secondaire à l'insulinopénie via l'action de l'insuline sur le métabolisme des protéines.

Le choix d'un test de dépistage du DAFK efficace et peu invasif est très important. En raison de l'absence de corrélation entre la valeur de la glycémie moyenne et l'HbA1c dans cette population, ainsi que les valeurs normales de la glycémie à jeun, il est probable que le test le plus efficace pour le dépistage du DAFK s'avère être l'HGPO. Dans un contexte de recherche clinique, celui-ci devrait inclure des temps intermédiaires pour permettre d'évaluer les excursions glycémiques, la sensibilité et la sécrétion d'insuline. Cela pourrait permettre de détecter les patients prédiabétiques avec un risque élevé de développer le DAFK et/ou les paramètres du métabolisme glycémique les plus sensibles pour identifier les patients à risque de dégradation clinique précoce ou significative. Néanmoins, dans la mesure où certaines de nos données indiquent que l'excursion glycémique pourrait être plus faible à la suite d'un repas mixte que lors de l'HGPO, il faudra déterminer si la surveillance en continue de la glycémie sur quelques jours ne constitue pas le compromis permettant d'obtenir les informations les plus pertinentes.

Bien que la sécrétion de l'insuline soit diminuée chez tous les patients FK, il semblerait qu'elle soit, malgré tout, suffisamment importante pour éviter une excursion lipidique élevée après un repas riche en lipides. Cela exclurait l'hypothèse de la lipotoxicité sur les cellules β du pancréas comme facteur favorisant la survenue fréquente du DAFK chez ces patients.

Nous avons confirmé que la détérioration de la première phase de la sécrétion de l'insuline dans la survenue du DAFK joue un rôle important. Cependant, elle n'expliquerait pas à elle seule les changements de catégorie de tolérance au glucose chez nos patients. Nos résultats démontrent que, dans ce contexte d'insulinopénie marquée qui caractérise les patients atteints de FK, un changement modeste de la résistance à l'insuline joue probablement un rôle important dans les changements de catégorie du statut glycémique chez ces patients. La résistance à l'insuline serait donc un cofacteur important dans les changements de catégorie de la tolérance au glucose.

Dans ce contexte, le rôle de la résistance à l'insuline reste trop souvent négligé comme cause et cible thérapeutique du diabète dans cette population. En préservant à la fois la sécrétion de l'insuline et en améliorant la sensibilité à l'insuline, on pourrait probablement prévenir le DAFK ainsi que la détérioration clinique qui y est associée. En précisant les éléments importants dans la pathophysiologie du DAFK, il sera possible de proposer des interventions ciblant les éléments clefs.

Perspectives

Grâce aux résultats obtenus, nous pouvons imaginer de nombreuses perspectives de recherche.

a. Suivi de la cohorte

Les résultats obtenus nous laissent croire que l'utilisation du CGMS serait un atout majeur afin d'évaluer le profil de l'excursion glycémique chez les patients atteints de FK sur plusieurs jours. Étant donné que la reproductibilité du test de l'HGPO est relativement faible combinée aux défis que représente la nutrition chez les patients atteints de FK, le CGMS nous permettra d'évaluer les fluctuations réelles de la glycémie dans la vie de tous les jours et de les comparer avec les résultats obtenus lors du test de l'HGPO. Cela nous permettra de voir l'impact des changements journaliers de la glycémie dans la prise en charge du patient et son rôle sur la fonction pulmonaire. Cette comparaison est en cours dans le laboratoire. Par la suite, il serait intéressant de voir à long terme le rôle du diabète dans la survenue des complications macro et micro vasculaires chez les patients FK, dont l'espérance de vie ne cesse d'augmenter et qui risquent de développer les complications spécifiques au diabète comme c'est le cas chez les patients atteints de diabète de type 1 et de diabète de type 2.

b. Tests de dépistages

Les résultats obtenus suggèrent que le changement de la sensibilité à l'insuline est un facteur non négligeable. Il serait donc intéressant de valider les indices de sensibilité à l'insuline avec les tests de référence chez cette population. Le but est de pouvoir calculer, à partir de formules simples suite au test de routine qui est l'HGPO, les variations de la

résistance à l'insuline. Cela nous permettrait d'évaluer son rôle dans l'évolution de la maladie ainsi que dans les changements de catégorie de la tolérance au glucose. Cela nous permettrait de cibler les meilleurs traitements pour la résistance à l'insuline et ainsi favoriser une meilleure prise en charge des patients FK. Un meilleur contrôle du diabète permettra éventuellement d'éviter les complications propres au DAFK ainsi que celles connues du diabète.

c. Autres facteurs

Enfin, et connaissant le rôle des adipokines (adiponectine, leptine, etc.) dans le métabolisme du glucose et après avoir démontré que les niveaux d'adiponectine ne sont pas altérés chez les patients FK, il serait intéressant d'examiner les sous-fractions de l'adiponectine (actives et non actives) afin de déterminer leurs rôles respectifs dans le DAFK.

De plus il serait intéressant de voir quel est le rôle des génotypes les plus fréquents dans la résistance à l'insuline ainsi que sur la sévérité des manifestations pulmonaires.

De plus, une étude sur l'action du glucagon et du rôle des incrétines dans la régulation du métabolisme des glucides serait pertinente chez cette population.

Dans la mesure où tant le diabète sucré que la FK sont des maladies associées à un stress oxydant, il sera important d'établir si les fluctuations glycémiques qui précèdent l'apparition du DAFK majorent le stress oxydant des patients atteints de FK. Cette majoration du stress oxydant pourrait précipiter l'apparition du diabète en favorisant l'apoptose des cellules β pancréatiques, très sensibles à celui-ci. Le stress oxydant pourrait aussi influencer d'autres processus comme la susceptibilité aux infections via son action sur les lymphocytes. Le laboratoire examine actuellement cette hypothèse.

Bibliographie

1. The child will soon die whose brows tastes salty when kissed. Almanac of Children's Songs and Games from Switzerland. 1857.
2. Correlation between genotype and phenotype in patients with cystic fibrosis. The Cystic Fibrosis Genotype-Phenotype Consortium. *N Engl J Med* 329: 1308-1313, 1993.
3. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 26 Suppl 1: S5-20, 2003.
4. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 28 Suppl 1: S37-S42, 2005.
5. Cystic Fibrosis Mutation DataBase Statistics. 2009.
6. Fondation canadienne de la fibrose kystique. 2009.
7. Les Cahiers d'Orphanet - Prévalence des maladies rares : Données bibliographiques. 2009.
8. Manuel De Nutrition Clinique. 2010.
9. **Abbasi F, Chang SA, Chu JW, Ciaraldi TP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM and Reaven PD.** Improvements in insulin resistance with weight loss, in contrast to rosiglitazone, are not associated with changes in plasma adiponectin or adiponectin multimeric complexes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* 290: R139-R144, 2006.
10. **Abdul-Karim FW, Dahms BB, Velasco ME and Rodman HM.** Islets of Langerhans in adolescents and adults with cystic fibrosis. A quantitative study. *Arch Pathol Lab Med* 110: 602-606, 1986.

11. **Adler AI, Shine BS, Chamnan P, Haworth CS and Bilton D.** Genetic determinants and epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes: results from a British cohort of children and adults. *Diabetes Care* 31: 1789-1794, 2008.
12. **Adrian TE, McKiernan J, Johnstone DI, Hiller EJ, Vyas H, Sarson DL and Bloom SR.** Hormonal abnormalities of the pancreas and gut in cystic fibrosis. *Gastroenterology* 79: 460-465, 1980.
13. **Ahmad T, Nelson R and Taylor R.** Insulin sensitivity and metabolic clearance rate of insulin in cystic fibrosis. *Metabolism* 43: 163-167, 1994.
14. **Allen ED, Mick AB, Nicol J and McCoy KS.** Prolonged parenteral nutrition for cystic fibrosis patients. *Nutr Clin Pract* 10: 73-79, 1995.
15. **Allen JM, Penketh AR, Adrian TE, Lee YC, Sarson DL, Hodson ME, Batten JC and Bloom SR.** Adult cystic fibrosis: postprandial response of gut regulatory peptides. *Gastroenterology* 85: 1379-1383, 1983.
16. American Diabetes Association. Tests of glycemia in diabetes, position statement. *Diabetes Care* , S97-S99. 2002.
17. Andersen, D. H. Celiac syndrome. Genetics of cystic fibrosis of the pancreas with a consideration of etiology. *Am J Dis Child* , 62-80. 1946.
18. **Andersen HU, Lannig S, Pressler T, Laugesen CS and Mathiesen ER.** Cystic fibrosis-related diabetes: the presence of microvascular diabetes complications. *Diabetes Care* 29: 2660-2663, 2006.
19. **Anton DT, Moraru D, Cirdei E and Bozomitu L.** Malnutrition and complex nutritional therapy in cystic fibrosis. *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi* 110: 801-806, 2006.

20. Association canadienne du diabète. Lignes directrices de pratique clinique pour la prévention et le traitement du diabète au Canada. 2008.
21. **Austin A, Kalhan SC, Orenstein D, Nixon P and Arslanian S.** Roles of insulin resistance and beta-cell dysfunction in the pathogenesis of glucose intolerance in cystic fibrosis. *J Clin Endocrinol Metab* 79: 80-85, 1994.
22. **Baker SS, Borowitz D and Baker RD.** Pancreatic exocrine function in patients with cystic fibrosis. *Curr Gastroenterol Rep* 7: 227-233, 2005.
23. **Bastard JP, Maachi M, Lagathu C, Kim MJ, Caron M, Vidal H, Capeau J and Feve B.** Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. *Eur Cytokine Netw* 17: 4-12, 2006.
24. **Bear CE, Li CH, Kartner N, Bridges RJ, Jensen TJ, Ramjeesingh M and Riordan JR.** Purification and functional reconstitution of the cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR). *Cell* 68: 809-818, 1992.
25. **Bentur L, Hino B, Shamir R, Elias N, Hartman C, Eshach-Adiv O and Berkowitz D.** Impaired gastric myoelectrical activity in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros* 5: 187-191, 2006.
26. **Bergman RN, Ader M, Huecking K and Van CG.** Accurate assessment of beta-cell function: the hyperbolic correction. *Diabetes* 51 Suppl 1: S212-S220, 2002.
27. **Bienvenu.T.** La mucoviscidose : les relations entre le génotype et le phénotype. *archives de pediatrie* 2, S318-S324. 2002.

28. **Bingley PJ, Colman P, Eisenbarth GS, Jackson RA, McCulloch DK, Riley WJ and Gale EA.** Standardization of IVGTT to predict IDDM. *Diabetes Care* 15: 1313-1316, 1992.
29. **Bismuth E, Laborde K, Taupin P, Velho G, Ribault V, Jennane F, Grasset E, Sermet I, de BJ, Lenoir G and Robert JJ.** Glucose tolerance and insulin secretion, morbidity, and death in patients with cystic fibrosis. *J Pediatr* 152: 540-5, 545, 2008.
30. **Bodet-Milin C, Querellou S, Oudoux A, Haloun A, Horeau-Llanglard D, Carlier T, Bizais Y and Couturier O.** Delayed gastric emptying scintigraphy in cystic fibrosis patients before and after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant* 25: 1077-1083, 2006.
31. **Bonfield TL, Panuska JR, Konstan MW, Hilliard KA, Hilliard JB, Ghnaim H and Berger M.** Inflammatory cytokines in cystic fibrosis lungs. *Am J Respir Crit Care Med* 152: 2111-2118, 1995.
32. **Bonnette P.** Lung transplantation. *Rev Pneumol Clin* 60: 79-88, 2004.
33. **Borowitz D.** The interrelationship of nutrition and pulmonary function in patients with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 2: 457-461, 1996.
34. **Borowitz D.** Update on the evaluation of pancreatic exocrine status in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 11: 524-527, 2005.
35. **Borowitz D, Durie PR, Clarke LL, Werlin SL, Taylor CJ, Semler J, De Lisle RC, Lewindon P, Lichtman SM, Sinaasappel M, Baker RD, Baker SS, Verkade HJ, Lowe ME, Stallings VA, Janghorbani M, Butler R and Heubi J.** Gastrointestinal outcomes and confounders in cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 41: 273-285, 2005.

36. **Bradley J and Moran F.** Physical training for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* CD002768, 2002.
37. **Braun J, Arnemann J, Lohrey M, Donner H, Siegmund T, Usadel KH and Badenhoop K.** No association between the deltaF508 cystic fibrosis mutation and type 2 diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 107: 568-569, 1999.
38. **Brichard SM, Delporte ML and Lambert M.** Adipocytokines in anorexia nervosa: a review focusing on leptin and adiponectin. *Horm Metab Res* 35: 337-342, 2003.
39. **Brindisi MC, Rabasa-Lhoret R and Chiasson JL.** Postprandial hyperglycaemia: to treat or not to treat? *Diabetes Metab* 32: 105-111, 2006.
40. **Busch R.** On the history of cystic fibrosis. *Acta Univ Carol Med (Praha)* 36: 13-15, 1990.
41. **Caputo GM, Cavanagh PR, Ulbrecht JS, Gibbons GW and Karchmer AW.** Assessment and management of foot disease in patients with diabetes. *N Engl J Med* 331: 854-860, 1994.
42. **Carlson OD, David JD, Schrieder JM, Muller DC, Jang HJ, Kim BJ and Egan JM.** Contribution of nonesterified fatty acids to insulin resistance in the elderly with normal fasting but diabetic 2-hour postchallenge plasma glucose levels: the Baltimore Longitudinal Study of Aging. *Metabolism* 56: 1444-1451, 2007.
43. **Carpentier AC.** Postprandial fatty acid metabolism in the development of lipotoxicity and type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 34: 97-107, 2008.
44. **Carter EP, Barrett AD, Heeley AF and Kuzemko JA.** Improved sweat test method for the diagnosis of cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 59: 919-922, 1984.

45. **Castellani C, Quinzii C, Altieri S, Mastella G and Assael BM.** A pilot survey of cystic fibrosis clinical manifestations in CFTR mutation heterozygotes. *Genet Test* 5: 249-254, 2001.
46. **Cawood TJ, McKenna MJ, Gallagher CG, Smith D, Chung WY, Gibney J and O'Shea D.** Cystic fibrosis-related diabetes in adults. *Ir Med J* 99: 83-86, 2006.
47. **Chan LN, Wang XF, Tsang LL, Liu CQ and Chan HC.** Suppression of CFTR-mediated Cl(-) secretion by enhanced expression of epithelial Na(+) channels in mouse endometrial epithelium. *Biochem Biophys Res Commun* 276: 40-44, 2000.
48. **Chappe V.** la mucoviscidose. Biologie et recherche. 2009.
49. **Chinet T and Blouquit S.** Genetics and cellular biology of cystic fibrosis. *Rev Prat* 53: 130-134, 2003.
50. **Cole AM, Dewan P and Ganz T.** Innate antimicrobial activity of nasal secretions. *Infect Immun* 67: 3267-3275, 1999.
51. **Collins CE, Francis JL, Thomas P, Henry RL and O'Loughlin EV.** Gastric emptying time is faster in cystic fibrosis. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 25: 492-498, 1997.
52. **Colombo C.** Liver disease in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 13: 529-536, 2007.
53. **Costa M, Potvin S, Berthiaume Y, Gauthier L, Jeanneret A, Lavoie A, Levesque R, Chiasson J and Rabasa-Lhoret R.** Diabetes: a major co-morbidity of cystic fibrosis. *Diabetes Metab* 31: 221-232, 2005.

54. **Costa M, Potvin S, Hammana I, Malet A, Berthiaume Y, Jeanneret A, Lavoie A, Levesque R, Perrier J, Poisson D, Karelis AD, Chiasson JL and Rabasa-Lhoret R.** Increased glucose excursion in cystic fibrosis and its association with a worse clinical status. *J Cyst Fibros* 6: 376-383, 2007.
55. **Cotellessa M, Minicucci L, Diana MC, Prigione F, Di FL, Gagliardini R, Manca A, Battistini F, Taccetti G, Magazzu G, Padoan R, Pizzamiglio G, Raia V, Iapichino L, Cardella F, Grinzich G, Lucidi V, Tuccio G, Bignamini E, Salvatore D and Lorini R.** Phenotype/genotype correlation and cystic fibrosis related diabetes mellitus (Italian Multicenter Study). *J Pediatr Endocrinol Metab* 13: 1087-1093, 2000.
56. **Crozier DN.** Cystic fibrosis: a not-so-fatal disease. *Pediatr Clin North Am* 21: 935-950, 1974.
57. **Cruz M, Garcia-Macedo R, Garcia-Valerio Y, Gutierrez M, Medina-Navarro R, Duran G, Wachter N and Kumate J.** Low adiponectin levels predict type 2 diabetes in Mexican children. *Diabetes Care* 27: 1451-1453, 2004.
58. **Cucinotta D, De Luca F, Scoglio R, Lombardo F, Sferlazzas C, Di Benedetto A, Magazzu G, Raimondo G and Arrigo T.** Factors affecting diabetes mellitus onset in cystic fibrosis: evidence from a 10-year follow-up study. *Acta Paediatr* 88: 389-393, 1999.
59. **Culler FL, McKean LP, Buchanan CN, Caplan DB and Meacham LR.** Glipizide treatment of patients with cystic fibrosis and impaired glucose tolerance. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 18: 375-378, 1994.
60. **Cystic Fibrosis Foundation.** Microbiology and infectious disease in cystic fibrosis. Bethesda: 1994, p. 1-26.

61. Cystic Fibrosis Foundation. Cystic Fibrosis Foundation Patients Registry 2008 Annual Data Report. 1-12. 2009.
62. **Davis PB.** Cystic fibrosis since 1938. *Am J Respir Crit Care Med* 173: 475-482, 2006.
63. **Davis PB, Drumm M and Konstan MW.** Cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 1229-1256, 1996.
64. **Davis WA, Knuiman M, Kendall P, Grange V and Davis TM.** Glycemic exposure is associated with reduced pulmonary function in type 2 diabetes: the Fremantle Diabetes Study. *Diabetes Care* 27: 752-757, 2004.
65. **DeFronzo RA.** Pharmacologic therapy for type 2 diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 133: 73-74, 2000.
66. **DeFronzo RA, Jacot E, Jequier E, Maeder E, Wahren J and Felber JP.** The effect of insulin on the disposal of intravenous glucose. Results from indirect calorimetry and hepatic and femoral venous catheterization. *Diabetes* 30: 1000-1007, 1981.
67. **DeFronzo RA, Tobin JD and Andres R.** Glucose clamp technique: a method for quantifying insulin secretion and resistance. *Am J Physiol* 237: E214-E223, 1979.
68. **Della MT, Setian N and Rodrigues JC.** Cystic fibrosis-related diabetes: a frequent co-morbidity. *Arq Bras Endocrinol Metabol* 52: 188-197, 2008.
69. **Desmazes-Dufeu N, Hubert D, Burgel PR, Kanaan R, Velea V and Dusser D.** Severe dehydration and August 2003 heat wave in a cohort of adults with cystic fibrosis. *Presse Med* 34: 647-648, 2005.

70. **Di Sant' Agnese PAaRCaPGA.** Abnormal electrolyte composition of sweat in cystic fibrosis of the pancreas: clinical implications and relationship to the disease. *Pediatrics* 12: 549-563, 1953.
71. **Dobson L, Hattersley AT, Tiley S, Elworthy S, Oades PJ and Sheldon CD.** Clinical improvement in cystic fibrosis with early insulin treatment. *Arch Dis Child* 87: 430-431, 2002.
72. **Dobson L, Sheldon CD and Hattersley AT.** Conventional measures underestimate glycaemia in cystic fibrosis patients. *Diabet Med* 21: 691-696, 2004.
73. **Dodge JA and Morrison G.** Diabetes mellitus in cystic fibrosis: a review. *J R Soc Med* 85 Suppl 19: 25-28, 1992.
74. **Dray X, Kanaan R, Bienvenu T, Desmazes-Dufeu N, Dusser D, Marteau P and Hubert D.** Malnutrition in adults with cystic fibrosis. *Eur J Clin Nutr* 59: 152-154, 2005.
75. **Dunning BE and Gerich JE.** The role of alpha-cell dysregulation in fasting and postprandial hyperglycemia in type 2 diabetes and therapeutic implications. *Endocr Rev* 28: 253-283, 2007.
76. **Elborn JS, Shale DJ and Britton JR.** Cystic fibrosis: current survival and population estimates to the year 2000. *Thorax* 46: 881-885, 1991.
77. **Fanen P and HA.** *Mucoviscidose et Gène CFTR*. 2001.
78. **Festa A, Williams K, Hanley AJ and Haffner SM.** Beta-cell dysfunction in subjects with impaired glucose tolerance and early type 2 diabetes: comparison of surrogate markers with first-phase insulin secretion from an intravenous glucose tolerance test. *Diabetes* 57: 1638-1644, 2008.

79. **Figueroa V, Milla C, Parks EJ, Schwarzenberg SJ and Moran A.** Abnormal lipid concentrations in cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr* 75: 1005-1011, 2002.
80. **Finkelstein SM, Wielinski CL, Elliott GR, Warwick WJ, Barbosa J, Wu SC and Klein DJ.** Diabetes mellitus associated with cystic fibrosis. *J Pediatr* 112: 373-377, 1988.
81. **Fitzsimmons SC.** The changing epidemiology of cystic fibrosis. *J Pediatr* 122: 1-9, 1993.
82. **Fonseca V, Desouza C, Asnani S and Jialal I.** Nontraditional risk factors for cardiovascular disease in diabetes. *Endocr Rev* 25: 153-175, 2004.
83. **Franzese A, Valerio G, Buono P, Spagnuolo MI, Sepe A, Mozzillo E, De S, I and Raia V.** Continuous glucose monitoring system in the screening of early glucose derangements in children and adolescents with cystic fibrosis. *J Pediatr Endocrinol Metab* 21: 109-116, 2008.
84. **Garvey WT, Maianu L, Zhu JH, Brechtel-Hook G, Wallace P and Baron AD.** Evidence for defects in the trafficking and translocation of GLUT4 glucose transporters in skeletal muscle as a cause of human insulin resistance. *J Clin Invest* 101: 2377-2386, 1998.
85. **Gauthier L.** La fibrose kystique chez l'adulte: l'atteinte pulmonaire. *Québec Pharmacie* 47: 839-849, 2000.
86. **Godbout A, Hammana I, Potvin S, Mainville D, Rakel A, Berthiaume Y, Chiasson JL, Coderre L and Rabasa-Lhoret R.** No relationship between mean plasma glucose and glycated haemoglobin in patients with cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Metab* 34: 568-573, 2008.

87. **Gozdziak J, Cofta S, Piorunek T, Batura-Gabryel H and Kosicki J.** Relationship between nutritional status and pulmonary function in adult cystic fibrosis patients. *J Physiol Pharmacol* 59 Suppl 6: 253-260, 2008.
88. **Greger R.** Role of CFTR in the colon. *Annu Rev Physiol* 62: 467-491, 2000.
89. **Guyton AC and Hall JE.** Insulin, glucagon, and diabetes mellitus. 2000, p. 884-898.
90. **Hamdi I, Green M, Shneerson JM, Palmer CR and Hales CN.** Proinsulin, proinsulin intermediate and insulin in cystic fibrosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 39: 21-26, 1993.
91. **Hammana I, Coderre L, Potvin S, Costa M, Berthiaume Y, Lavoie A, Chiasson JL, Levy E and Rabasa-Lhoret R.** Dichotomy between postprandial glucose and lipid profiles in adults with cystic fibrosis: a pilot study. *J Cyst Fibros* 8: 128-134, 2009.
92. **Hanley AJ, Williams K, Gonzalez C, D'Agostino RB, Jr., Wagenknecht LE, Stern MP and Haffner SM.** Prediction of type 2 diabetes using simple measures of insulin resistance: combined results from the San Antonio Heart Study, the Mexico City Diabetes Study, and the Insulin Resistance Atherosclerosis Study. *Diabetes* 52: 463-469, 2003.
93. **Hanna A.** Le diabète associé à la fibrose kystique. *Endocrinologie - Conférences scientifiques* 3: 1-6, 2003.
94. **Hardin D.** The Diagnosis and Management of Cystic fibrosis Related Diabetes. *Endocrinologist* 8: 265-272, 1998.

95. **Hardin DS, LeBlanc A, Lukenbaugh S, Para L and Seilheimer DK.** Proteolysis associated with insulin resistance in cystic fibrosis. *Pediatrics* 101: 433-437, 1998.
96. **Hardin DS, LeBlanc A, Lukenbough S and Seilheimer DK.** Insulin resistance is associated with decreased clinical status in cystic fibrosis. *J Pediatr* 130: 948-956, 1997.
97. **Hardin DS, LeBlanc A, Marshall G and Seilheimer DK.** Mechanisms of insulin resistance in cystic fibrosis. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 281: E1022-E1028, 2001.
98. **Hardin DS, LeBlanc A, Para L and Seilheimer DK.** Hepatic insulin resistance and defects in substrate utilization in cystic fibrosis. *Diabetes* 48: 1082-1087, 1999.
99. **Hardin DS and Moran A.** Diabetes mellitus in cystic fibrosis. *Endocrinol Metab Clin North Am* 28: 787-800, ix, 1999.
100. **Hardt PD, Krauss A, Bretz L, Porsch-Ozcurumez M, Schnell-Kretschmer H, Maser E, Bretzel RG, Zekhorn T and Klor HU.** Pancreatic exocrine function in patients with type 1 and type 2 diabetes mellitus. *Acta Diabetol* 37: 105-110, 2000.
101. **Heming TA, Copello J and Reuss L.** Regulation of cAMP-activated apical membrane chloride conductance in gallbladder epithelium. *J Gen Physiol* 103: 1-18, 1994.
102. **Holl RW, Buck C, Babka C, Wolf A and Thon A.** HbA1c is not recommended as a screening test for diabetes in cystic fibrosis. *Diabetes Care* 23: 126, 2000.

103. **Holl RW, Heinze E, Wolf A, Rank M and Teller WM.** Reduced pancreatic insulin release and reduced peripheral insulin sensitivity contribute to hyperglycaemia in cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 154: 356-361, 1995.
104. **Horowitz M, Harding PE, Maddox AF, Wishart JM, Akkermans LM, Chatterton BE and Shearman DJ.** Gastric and oesophageal emptying in patients with type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 32: 151-159, 1989.
105. **Hotamisligil GS, Budavari A, Murray D and Spiegelman BM.** Reduced tyrosine kinase activity of the insulin receptor in obesity-diabetes. Central role of tumor necrosis factor-alpha. *J Clin Invest* 94: 1543-1549, 1994.
106. **Housova J, Anderlova K, Krizova J, Haluzikova D, Kremen J, Kumstyrova T, Papezova H and Haluzik M.** Serum adiponectin and resistin concentrations in patients with restrictive and binge/purge form of anorexia nervosa and bulimia nervosa. *J Clin Endocrinol Metab* 90: 1366-1370, 2005.
107. **Iannucci A, Mukai K, Johnson D and Burke B.** Endocrine pancreas in cystic fibrosis: an immunohistochemical study. *Hum Pathol* 15: 278-284, 1984.
108. **Jayaraman S, Song Y, Vetrivel L, Shankar L and Verkman AS.** Noninvasive in vivo fluorescence measurement of airway-surface liquid depth, salt concentration, and pH. *J Clin Invest* 107: 317-324, 2001.
109. **Jefferies C, Solomon M, Perlman K, Sweezey N and Daneman D.** Continuous glucose monitoring in adolescents with cystic fibrosis. *J Pediatr* 147: 396-398, 2005.
110. **Kadowaki T and Yamauchi T.** Adiponectin and adiponectin receptors. *Endocr Rev* 26: 439-451, 2005.

111. **Kalnins D, Durie PR and Pencharz P.** Nutritional management of cystic fibrosis patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 10: 348-354, 2007.
112. **Kane RE and Black P.** Glucose intolerance with low-, medium-, and high-carbohydrate formulas during nighttime enteral feedings in cystic fibrosis patients. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 8: 321-326, 1989.
113. **Kawchak DA, Zhao H, Scanlin TF, Tomezsko JL, Cnaan A and Stallings VA.** Longitudinal, prospective analysis of dietary intake in children with cystic fibrosis. *J Pediatr* 129: 119-129, 1996.
114. **Kerem B, Rommens JM, Buchanan JA, Markiewicz D, Cox TK, Chakravarti A, Buchwald M and Tsui LC.** Identification of the cystic fibrosis gene: genetic analysis. *Science* 245: 1073-1080, 1989.
115. **Kim MJ, Maachi M, Debard C, Loizon E, Clement K, Bruckert E, Hainque B, Capeau J, Vidal H and Bastard JP.** Increased adiponectin receptor-1 expression in adipose tissue of impaired glucose-tolerant obese subjects during weight loss. *Eur J Endocrinol* 155: 161-165, 2006.
116. **Klein R, Klein BE and Moss SE.** Relation of glycemic control to diabetic microvascular complications in diabetes mellitus. *Ann Intern Med* 124: 90-96, 1996. *Autoimmun Rev* 7: 550-557, 2008.
118. **Knowles MR, Robinson JM, Wood RE, Pue CA, Mentz WM, Wager GC, Gatzky JT and Boucher RC.** Ion composition of airway surface liquid of patients with cystic fibrosis as compared with normal and disease-control subjects. *J Clin Invest* 100: 2588-2595, 1997.
119. **Ko GT, Chan JC, Woo J, Lau E, Yeung VT, Chow CC and Cockram CS.** The reproducibility and usefulness of the oral glucose tolerance test in screening

for diabetes and other cardiovascular risk factors. *Ann Clin Biochem* 35 (Pt 1): 62-67, 1998.

120. **Koch C, Rainisio M, Madessani U, Harms HK, Hodson ME, Mastella G, McKenzie SG, Navarro J and Strandvik B.** Presence of cystic fibrosis-related diabetes mellitus is tightly linked to poor lung function in patients with cystic fibrosis: data from the European Epidemiologic Registry of Cystic Fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 32: 343-350, 2001.
121. **Lanng S.** Glucose intolerance in cystic fibrosis patients. *Paediatr Respir Rev* 2: 253-259, 2001.
122. **Lanng S, Hansen A, Thorsteinsson B, Nerup J and Koch C.** Glucose tolerance in patients with cystic fibrosis: five year prospective study. *BMJ* 311: 655-659, 1995.
123. **Lanng S, Thorsteinsson B, Lund-Andersen C, Nerup J, Schiøtz PO and Koch C.** Diabetes mellitus in Danish cystic fibrosis patients: prevalence and late diabetic complications. *Acta Paediatr* 83: 72-77, 1994.
124. **Lanng S, Thorsteinsson B, Nerup J and Koch C.** Influence of the development of diabetes mellitus on clinical status in patients with cystic fibrosis. *Eur J Pediatr* 151: 684-687, 1992.
125. **Lanng S, Thorsteinsson B, Nerup J and Koch C.** Diabetes mellitus in cystic fibrosis: effect of insulin therapy on lung function and infections. *Acta Paediatr* 83: 849-853, 1994.
126. **Lanng S, Thorsteinsson B, Pociot F, Marshall MO, Madsen HO, Schwartz M, Nerup J and Koch C.** Diabetes mellitus in cystic fibrosis: genetic and immunological markers. *Acta Paediatr* 82: 150-154, 1993.

127. **Langg S, Thorsteinsson B, Roder ME, Orskov C, Holst JJ, Nerup J and Koch C.** Pancreas and gut hormone responses to oral glucose and intravenous glucagon in cystic fibrosis patients with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Acta Endocrinol (Copenh)* 128: 207-214, 1993.
128. **Libby P, Nathan DM, Abraham K, Brunzell JD, Fradkin JE, Haffner SM, Hsueh W, Rewers M, Roberts BT, Savage PJ, Skarlatos S, Wassef M and Rabadan-Diehl C.** Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute-National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases Working Group on Cardiovascular Complications of Type 1 Diabetes Mellitus. *Circulation* 111: 3489-3493, 2005.
129. **Littlewood JM and MacDonald A.** Rationale of modern dietary recommendations in cystic fibrosis. *J R Soc Med* 80 Suppl 15: 16-24, 1987.
130. **Lohr M, Goertchen P, Nizze H, Gould NS, Gould VE, Oberholzer M, Heitz PU and Kloppel G.** Cystic fibrosis associated islet changes may provide a basis for diabetes. An immunocytochemical and morphometrical study. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 414: 179-185, 1989.
131. **Lombardo F, De Luca F, Rosano M, Sferlazzas C, Lucanto C, Arrigo T, Messina MF, Crisafulli G, Wasniewska M, Valenzise M and Cucinotta D.** Natural history of glucose tolerance, beta-cell function and peripheral insulin sensitivity in cystic fibrosis patients with fasting euglycemia. *Eur J Endocrinol* 149: 53-59, 2003.
132. **Mackie AD, Thornton SJ and Edenborough FP.** Cystic fibrosis-related diabetes. *Diabet Med* 20: 425-436, 2003.

133. **Marshall BC, Butler SM, Stoddard M, Moran AM, Liou TG and Morgan WJ.** Epidemiology of cystic fibrosis-related diabetes. *J Pediatr* 146: 681-687, 2005.
134. **Matel JL and Milla CE.** Nutrition in cystic fibrosis. *Semin Respir Crit Care Med* 30: 579-586, 2009.
135. **Matsui H, Grubb BR, Tarran R, Randell SH, Gatzky JT, Davis CW and Boucher RC.** Evidence for periciliary liquid layer depletion, not abnormal ion composition, in the pathogenesis of cystic fibrosis airways disease. *Cell* 95: 1005-1015, 1998.
136. **McDonald GW, Fisher GF and BURNHAM C.** REPRODUCIBILITY OF THE ORAL GLUCOSE TOLERANCE TEST. *Diabetes* 14: 473-480, 1965.
137. **McKone EF, Emerson SS, Edwards KL and Aitken ML.** Effect of genotype on phenotype and mortality in cystic fibrosis: a retrospective cohort study. *Lancet* 361: 1671-1676, 2003.
138. **McKone EF, Goss CH and Aitken ML.** CFTR genotype as a predictor of prognosis in cystic fibrosis. *Chest* 130: 1441-1447, 2006.
139. **McPherson R and Jones PH.** The metabolic syndrome and type 2 diabetes: role of the adipocyte. *Curr Opin Lipidol* 14: 549-553, 2003.
140. **Milla C, Doherty L, Raatz S, Schwarzenberg SJ, Regelman W and Moran A.** Glycemic response to dietary supplements in cystic fibrosis is dependent on the carbohydrate content of the formula. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 20: 182-186, 1996.

141. **Milla CE, Warwick WJ and 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* 162: 891-895, 2000.
142. **Minicucci L, Lorini R, Giannattasio A, Colombo C, Iapichino L, Reali MF, Padoan R, Calevo MG, Casciaro R, De AA and Haupt R.** Liver disease as risk factor for cystic fibrosis-related diabetes development. *Acta Paediatr* 96: 736-739, 2007.
143. **Mohan K, Miller H, Burhan H, Ledson MJ and Walshaw MJ.** Management of cystic fibrosis related diabetes: a survey of UK cystic fibrosis centers. *Pediatr Pulmonol* 43: 642-647, 2008.
144. **Mooy JM, Grootenhuis PA, de VH, Kostense PJ, Popp-Snijders C, Bouter LM and Heine RJ.** Intra-individual variation of glucose, specific insulin and proinsulin concentrations measured by two oral glucose tolerance tests in a general Caucasian population: the Hoorn Study. *Diabetologia* 39: 298-305, 1996.
145. **Moran A.** Diagnosis, screening, and management of cystic fibrosis-related diabetes. *Curr Diab Rep* 2: 111-115, 2002.
146. **Moran A, Diem P, Klein DJ, Levitt MD and Robertson RP.** Pancreatic endocrine function in cystic fibrosis. *J Pediatr* 118: 715-723, 1991.
147. **Moran A, Doherty L, Wang X and Thomas W.** Abnormal glucose metabolism in cystic fibrosis. *J Pediatr* 133: 10-17, 1998.
148. **Moran A, Dunitz J, Nathan B, Saeed A, Holme B and Thomas W.** Cystic fibrosis-related diabetes: current trends in prevalence, incidence, and mortality. *Diabetes Care* 32: 1626-1631, 2009.

149. **Moran A, Hardin D, Rodman D, Allen HF, Beall RJ, Borowitz D, Brunzell C, Campbell PW, III, 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 and .** Diagnosis, screening and management of cystic fibrosis related diabetes mellitus: a consensus conference report. *Diabetes Res Clin Pract* 45: 61-73, 1999.
150. **Moran A and Milla C.** Abnormal glucose tolerance in cystic fibrosis: why should patients be screened? *J Pediatr* 142: 97-99, 2003.
151. **Moran A, Pekow P, Grover P, Zorn M, Slovis B, Pilewski J, Tullis E, Liou TG and Allen H.** Insulin therapy to improve BMI in cystic fibrosis-related diabetes without fasting hyperglycemia: results of the cystic fibrosis related diabetes therapy trial. *Diabetes Care* 32: 1783-1788, 2009.
152. **Moran A, Phillips J and Milla C.** Insulin and glucose excursion following premeal insulin lispro or repaglinide in cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Care* 24: 1706-1710, 2001.
153. **Moran A, Pyzdrowski KL, Weinreb J, Kahn BB, Smith SA, Adams KS and Seaquist ER.** Insulin sensitivity in cystic fibrosis. *Diabetes* 43: 1020-1026, 1994.
154. **Moreau F, Weiller MA, Rosner V, Weiss L, Hasselmann M, Pinget M, Kessler R and Kessler L.** Continuous glucose monitoring in cystic fibrosis patients according to the glucose tolerance. *Horm Metab Res* 40: 502-506, 2008.
155. **Morris AP and Frizzell RA.** Vesicle targeting and ion secretion in epithelial cells: implications for cystic fibrosis.

117. **Knip M and Siljander H.** Autoimmune mechanisms in type 1 diabetes. *Annu Rev Physiol* 56: 371-397, 1994.
156. **Mulesa L and Brown NE.** Le traitement nutritionnel de la fibrose kystique. *Nutrition clinique* 3: 1-6, 2003.
157. **Munck A.** Digestive symptoms in cystic fibrosis. *Arch Pediatr* 10 Suppl 2: 333s-337s, 2003.
158. **Munck A and Bingen E.** Bronchopulmonary infection in cystic fibrosis. *Rev Prat* 53: 145-150, 2003.
159. **Nixon PA, Orenstein DM, Kelsey SF and Doershuk CF.** The prognostic value of exercise testing in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 327: 1785-1788, 1992.
160. **Nousia-Arvanitakis S, Galli-Tsinopoulou A, Dracoulacos D, Karamouzis M and Demitriadou A.** Islet autoantibodies and insulin dependent diabetes mellitus in cystic fibrosis. *J Pediatr Endocrinol Metab* 13: 319-324, 2000.
161. **Ofei F, Hurel S, Newkirk J, Sopwith M and Taylor R.** Effects of an engineered human anti-TNF-alpha antibody (CDP571) on insulin sensitivity and glycemic control in patients with NIDDM. *Diabetes* 45: 881-885, 1996.
162. **Olson DL and Schwenk WF.** Nutrition for patients with cystic fibrosis. *Nutr Clin Pract* 19: 575-580, 2004.
163. **Onady GM and Langdon LJ.** Insulin versus oral agents in the management of Cystic Fibrosis Related Diabetes: a case based study. *BMC Endocr Disord* 6: 4, 2006.
164. **Onady GM and Stolfi A.** Insulin and oral agents for managing cystic fibrosis-related diabetes. *Cochrane Database Syst Rev* CD004730, 2005.

165. **Palitzsch K-D.** Pathophysiologie des Diabetes mellitus Typ 2. *Diabetologie* S31-S48, 2000.
166. **Pellme F, Smith U, Funahashi T, Matsuzawa Y, Brekke H, Wiklund O, Taskinen MR and Jansson PA.** Circulating adiponectin levels are reduced in nonobese but insulin-resistant first-degree relatives of type 2 diabetic patients. *Diabetes* 52: 1182-1186, 2003.
167. **Pencharz PB and Durie PR.** Nutritional management of cystic fibrosis. *Annu Rev Nutr* 13: 111-136, 1993.
168. **Perseghin G, Lattuada G, Danna M, Sereni LP, Maffi P, De CF, Battezzati A, Secchi A, Del MA and Luzi L.** Insulin resistance, intramyocellular lipid content, and plasma adiponectin in patients with type 1 diabetes. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 285: E1174-E1181, 2003.
169. **Pilewski JM and Frizzell RA.** Role of CFTR in airway disease. *Physiol Rev* 79: S215-S255, 1999.
170. **Pond MN, Morton AM and Conway SP.** Functional iron deficiency in adults with cystic fibrosis. *Respir Med* 90: 409-413, 1996.
171. **Preumont V, Hermans MP, Lebecque P and Buyschaert M.** Glucose homeostasis and genotype-phenotype interplay in cystic fibrosis patients with CFTR gene deltaF508 mutation. *Diabetes Care* 30: 1187-1192, 2007.
172. **Quinton PM.** Physiological basis of cystic fibrosis: a historical perspective. *Physiol Rev* 79: S3-S22, 1999.
173. **Rabasa-Lhoret R, Garon J, Langelier H, Poisson D and Chiasson JL.** Effects of meal carbohydrate content on insulin requirements in type 1 diabetic patients

treated intensively with the basal-bolus (ultralente-regular) insulin regimen. *Diabetes Care* 22: 667-673, 1999.

174. **Rafii M, Chapman K, Stewart C, Kelly E, Hanna A, Wilson DC, Tullis E and Pencharz PB.** Changes in response to insulin and the effects of varying glucose tolerance on whole-body protein metabolism in patients with cystic fibrosis. *Am J Clin Nutr* 81: 421-426, 2005.
175. **Ramsey BW.** Management of pulmonary disease in patients with cystic fibrosis. *N Engl J Med* 335: 179-188, 1996.
176. **Ramsey BW.** What is the role of upper airway bacterial cultures in patients with cystic fibrosis? *Pediatr Pulmonol* 21: 265-266, 1996.
177. **Ratjen F and Doring G.** Cystic fibrosis. *Lancet* 361: 681-689, 2003.
178. **Reaven GM.** Insulin resistance/compensatory hyperinsulinemia, essential hypertension, and cardiovascular disease. *J Clin Endocrinol Metab* 88: 2399-2403, 2003.
179. **Reid DW, Withers NJ, Francis L, Wilson JW and Kotsimbos TC.** Iron deficiency in cystic fibrosis: relationship to lung disease severity and chronic *Pseudomonas aeruginosa* infection. *Chest* 121: 48-54, 2002.
180. **Riggs AC, Seaquist ER and Moran A.** Guidelines for the diagnosis and therapy of diabetes mellitus in cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 5: 378-382, 1999.
181. **Riordan JR, Rommens JM, Kerem B, Alon N, Rozmahel R, Grzelczak Z, Zielenski J, Lok S, Plavsic N, Chou JL and .** Identification of the cystic fibrosis gene: cloning and characterization of complementary DNA. *Science* 245: 1066-1073, 1989.

182. **Robert JJ and Mosnier-Pudar H.** Diagnosis and treatment of diabetes in adult patients with cystic fibrosis. *Rev Mal Respir* 17: 798-801, 2000.
183. **Robertson JM, Friedman EM and Rubin BK.** Nasal and sinus disease in cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 9: 213-219, 2008.
184. **Robertson RP, Harmon J, Tran PO and Poitout V.** Beta-cell glucose toxicity, lipotoxicity, and chronic oxidative stress in type 2 diabetes. *Diabetes* 53 Suppl 1: S119-S124, 2004.
185. **Rosenecker J, Eichler I, Barmeier H and von der HH.** Diabetes mellitus and cystic fibrosis: comparison of clinical parameters in patients treated with insulin versus oral glucose-lowering agents. *Pediatr Pulmonol* 32: 351-355, 2001.
186. **Rosenecker J, Hofler R, Steinkamp G, Eichler I, Smaczny C, Ballmann M, Posselt HG, Bargon J and von der HH.** Diabetes mellitus in patients with cystic fibrosis: the impact of diabetes mellitus on pulmonary function and clinical outcome. *Eur J Med Res* 6: 345-350, 2001.
187. **Roy CC, Weber AM, Morin CL, Combes JC, Nussle D, Megevand A and Lasalle R.** Abnormal biliary lipid composition in cystic fibrosis. Effect of pancreatic enzymes. *N Engl J Med* 297: 1301-1305, 1977.
188. **Sandler M.** Is the lung a 'target organ' in diabetes mellitus? *Arch Intern Med* 150: 1385-1388, 1990.
189. **Schaedel C, de M, I, Hjelte L, Johannesson M, Kornfalt R, Lindblad A, Strandvik B, Wahlgren L and Holmberg L.** Predictors of deterioration of lung function in cystic fibrosis. *Pediatr Pulmonol* 33: 483-491, 2002.
190. **Scherer PE.** Adipose tissue: from lipid storage compartment to endocrine organ. *Diabetes* 55: 1537-1545, 2006.

191. **Schwarzenberg SJ, Thomas W, Olsen TW, Grover T, Walk D, Milla C and Moran A.** Microvascular complications in cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Care* 30: 1056-1061, 2007.
192. **Schwiebert EM, Benos DJ and Fuller CM.** Cystic fibrosis: a multiple exocrinopathy caused by dysfunctions in a multifunctional transport protein. *Am J Med* 104: 576-590, 1998.
193. **Shalon LB and Adelson JW.** Cystic fibrosis. Gastrointestinal complications and gene therapy. *Pediatr Clin North Am* 43: 157-196, 1996.
194. **Sheppard DN and Welsh MJ.** Structure and function of the CFTR chloride channel. *Physiol Rev* 79: S23-S45, 1999.
195. **SHWACHMAN H, PATTERSON P and FARBER S.** Significance of altered viscosity of duodenal content in pancreatic fibrosis (mucoviscidosis). *AMA Am J Dis Child* 80: 864-865, 1950.
196. **Sims EJ, Green MW and Mehta A.** Decreased lung function in female but not male subjects with established cystic fibrosis-related diabetes. *Diabetes Care* 28: 1581-1587, 2005.
197. **Smith JJ, Travis SM, Greenberg EP and Welsh MJ.** Cystic fibrosis airway epithelia fail to kill bacteria because of abnormal airway surface fluid. *Cell* 85: 229-236, 1996.
198. **Smyth R and Walters S.** Oral calorie supplements for cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev* CD000406, 2007.
199. **Sokol RJ and Durie PR.** Recommendations for management of liver and biliary tract disease in cystic fibrosis. Cystic Fibrosis Foundation Hepatobiliary Disease Consensus Group. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 28 Suppl 1: S1-13, 1999.

200. **Sokol RZ.** Infertility in men with cystic fibrosis. *Curr Opin Pulm Med* 7: 421-426, 2001.
201. **Solomon MP, Wilson DC, Corey M, Kalnins D, Zielenski J, Tsui LC, Pencharz P, Durie P and Sweezey NB.** Glucose intolerance in children with cystic fibrosis. *J Pediatr* 142: 128-132, 2003.
202. **Song Y, Thiagarajah J and Verkman AS.** Sodium and chloride concentrations, pH, and depth of airway surface liquid in distal airways. *J Gen Physiol* 122: 511-519, 2003.
203. **Stallings VA.** Gender, death and cystic fibrosis: is energy expenditure a component? *J Pediatr* 142: 4-6, 2003.
204. **Stallings VA, Stark LJ, Robinson KA, Feranchak AP and Quinton H.** 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* 108: 832-839, 2008.
205. **Stefan N and Stumvoll M.** Adiponectin--its role in metabolism and beyond. *Horm Metab Res* 34: 469-474, 2002.
206. **Stumvoll M, Mitrakou A, Pimenta W, Jenssen T, Yki-Jarvinen H, Van Haefen T, Renn W and Gerich J.** Use of the oral glucose tolerance test to assess insulin release and insulin sensitivity. *Diabetes Care* 23: 295-301, 2000.
207. **Suter S, Schaad UB, Roux-Lombard P, Girardin E, Grau G and Dayer JM.** Relation between tumor necrosis factor-alpha and granulocyte elastase-alpha 1-proteinase inhibitor complexes in the plasma of patients with cystic fibrosis. *Am Rev Respir Dis* 140: 1640-1644, 1989.

208. **Tacke F, Wustefeld T, Horn R, Luedde T, Srinivas RA, Manns MP, Trautwein C and Brabant G.** High adiponectin in chronic liver disease and cholestasis suggests biliary route of adiponectin excretion in vivo. *J Hepatol* 42: 666-673, 2005.
209. **Tarim O, Kucukerdogan A, Gunay U, Eralp O and Ercan I.** Effects of iron deficiency anemia on hemoglobin A1c in type 1 diabetes mellitus. *Pediatr Int* 41: 357-362, 1999.
210. **Tofe S, Moreno JC, Maiz L, Alonso M, Escobar H and Barrio R.** Insulin-secretion abnormalities and clinical deterioration related to impaired glucose tolerance in cystic fibrosis. *Eur J Endocrinol* 152: 241-247, 2005.
211. **Turck D and Michaud L.** Cystic fibrosis: nutritional consequences and management. *Baillieres Clin Gastroenterol* 12: 805-822, 1998.
212. **Turck D, Michaud L and Wizla-Derambure N.** Digestive diseases and nutrition in cystic fibrosis. *Rev Prat* 53: 151-157, 2003.
213. UK cystic fibrosis trust diabetes working group. Management of cystic fibrosis related diabetes. Cystic fibrosis trust. 2004. Bromley, Kent UK, Cystic fibrosis trust.
214. **van den Berg JM, Morton AM, Kok SW, Pijl H, Conway SP and Heijerman HG.** Microvascular complications in patients with cystic fibrosis-related diabetes (CFRD). *J Cyst Fibros* 7: 515-519, 2008.
215. **van Haren EH, Hopman WP, Rosenbusch G, Jansen JB and van Herwaarden CL.** Pancreatic morphology and function in adult patients with cystic fibrosis. *Scand J Gastroenterol* 27: 695-698, 1992.

216. **van Hoorn JH, Hendriks JJ, Vermeer C and Forget PP.** Vitamin K supplementation in cystic fibrosis. *Arch Dis Child* 88: 974-975, 2003.
217. **van DN.** Exercise programs for children with cystic fibrosis: A systematic review of randomized controlled trials. *Disabil Rehabil* 32: 41-49, 2010.
218. **Vollmer K, Holst JJ, Baller B, Ellrichmann M, Nauck MA, Schmidt WE and Meier JJ.** Predictors of incretin concentrations in subjects with normal, impaired, and diabetic glucose tolerance. *Diabetes* 57: 678-687, 2008.
219. **Wagner U, Eichler I and Gotz M.** Gastrointestinal complications in cystic fibrosis: meconium ileus equivalent. *Pediatr Padol* 21: 127-134, 1986.
220. **Wanner A, Salathe M and O'Riordan TG.** Mucociliary clearance in the airways. *Am J Respir Crit Care Med* 154: 1868-1902, 1996.
221. **Ward SA, Tomezsko JL, Holsclaw DS and Paolone AM.** Energy expenditure and substrate utilization in adults with cystic fibrosis and diabetes mellitus. *Am J Clin Nutr* 69: 913-919, 1999.
222. **Watelet JB, Van CP and Bachert C.** Rhinological aspects of cystic fibrosis. *Monaldi Arch Chest Dis* 55: 475-477, 2000.
223. **Weyer C, Funahashi T, Tanaka S, Hotta K, Matsuzawa Y, Pratley RE and Tataranni PA.** Hypoadiponectinemia in obesity and type 2 diabetes: close association with insulin resistance and hyperinsulinemia. *J Clin Endocrinol Metab* 86: 1930-1935, 2001.
224. **White H, Morton AM, Peckham DG and Conway SP.** Dietary intakes in adult patients with cystic fibrosis--do they achieve guidelines? *J Cyst Fibros* 3: 1-7, 2004.

225. **Whitehead JP, Richards AA, Hickman IJ, Macdonald GA and Prins JB.** Adiponectin--a key adipokine in the metabolic syndrome. *Diabetes Obes Metab* 8: 264-280, 2006.
226. **Wilkes DL, Schneiderman JE, Nguyen T, Heale L, Moola F, Ratjen F, Coates AL and Wells GD.** Exercise and physical activity in children with cystic fibrosis. *Paediatr Respir Rev* 10: 105-109, 2009.
227. **William Ganong MJ.** *Physiologie médicale.* 2005.
228. **Wilmott RW.** Making the diagnosis of cystic fibrosis. *J Pediatr* 132: 563-565, 1998.
229. **Wilmshurst EG, Soeldner JS, Holsclaw DS, Kaufmann RL, SHWACHMAN H, Aoki TT and Gleason RE.** Endogenous and exogenous insulin responses in patients with cystic fibrosis. *Pediatrics* 55: 75-82, 1975.
230. **Wilson DC and Pencharz PB.** Nutrition and cystic fibrosis. *Nutrition* 14: 792-795, 1998.
231. **Wolever TM, Chiasson JL, Csima A, Hunt JA, Palmason C, Ross SA and Ryan EA.** Variation of postprandial plasma glucose, palatability, and symptoms associated with a standardized mixed test meal versus 75 g oral glucose. *Diabetes Care* 21: 336-340, 1998.
232. **Yankaskas JR, Marshall BC, Sufian B, Simon RH and Rodman D.** Cystic fibrosis adult care: consensus conference report. *Chest* 125: 1S-39S, 2004.
233. **Yung B, Kemp M, Hooper J and Hodson ME.** Diagnosis of cystic fibrosis related diabetes: a selective approach in performing the oral glucose tolerance test based on a combination of clinical and biochemical criteria. *Thorax* 54: 40-43, 1999.

234. **Zeitlin PL.** Cystic fibrosis and estrogens: a perfect storm. *J Clin Invest* 118: 3841-3844, 2008.
235. **Zietz B, Herfarth H, Paul G, Ehling A, Muller-Ladner U, Scholmerich J and Schaffler A.** Adiponectin represents an independent cardiovascular risk factor predicting serum HDL-cholesterol levels in type 2 diabetes. *FEBS Lett* 545: 103-104, 2003.
236. **Zimmet P, Alberti KG and Shaw J.** Global and societal implications of the diabetes epidemic. *Nature* 414: 782-787, 2001.
237. **Zirbes J and Milla CE.** Cystic fibrosis related diabetes. *Paediatr Respir Rev* 10: 118-123, 2009.

Annexes

Formulaire de consentement

Formulaire d'information et de consentement

Titre : Dépistage des anomalies de la tolérance au glucose secondaires à la fibrose kystique
(Phase 1)

Chercheur principal :

Dr Rémi Rabasa-Lhoret MD, Ph.D.

Collaborateurs :

**Dr A. Jeanneret, Dr A. Lavoie, Dr Y.
Berthiaume, Dr M. Carricart**

Pneumologues
Dr H. Mircescu

Endocrinologue

Lieu où s'effectuera la recherche : Unité d'investigation endocrinienne CHUM Hôtel-Dieu

Commanditaire : Chaire d'excellence en recherche J-A DeSève attribué au Dr R Rabasa-Lhoret et fonds de recherche d'équipe (Team Grant) de la fondation canadienne de la fibrose kystique attribué aux Dr Y Berthiaume et au Dr R Rabasa-Lhoret

Préambule

Votre participation à un projet de recherche sur le dépistage des anomalies de la tolérance au glucose secondaires à la fibrose kystique est sollicitée. Avant de participer à ce projet, veuillez prendre le temps de lire et de comprendre les renseignements qui suivent. Le présent document peut contenir des termes que vous ne comprenez pas. Nous vous invitons à poser toutes les questions que vous jugez utiles aux chercheurs et à leurs assistants.

Introduction et objectif de l'étude

Le diabète secondaire à la fibrose kystique est une complication courante et sa fréquence augmente avec l'âge des patients. Le diabète correspond à un taux de sucre élevé dans le sang. Ce diabète a un début insidieux et est caractérisé par un état pré-diabétique, l'intolérance au glucose, qui correspond à un taux élevé de sucre dans le sang uniquement après les repas. Dans la suite du document, le terme anomalie de la tolérance au glucose correspond soit à l'intolérance au glucose, soit au diabète.

Il est très probable que le traitement des anomalies de la tolérance au glucose secondaires à la fibrose kystique améliore le pronostic de la fibrose kystique elle-même, d'où l'intérêt d'en faire le dépistage précoce. Le but de cette étude est d'identifier ces anomalies en procédant à un test de tolérance au glucose, l'HGPO (hyperglycémie provoquée par voie orale). L'HGPO provoque une hyperglycémie (augmentation du taux de sucre dans le sang) par l'administration d'une boisson sucrée et mesure l'évolution de la glycémie durant une période de deux heures. La fondation Canadienne de la fibrose kystique recommande d'effectuer ce test sur tous les 12 à 24 mois. Nous voulons profiter de ce dépistage pour étudier les mécanismes impliqués dans la survenue des anomalies de la tolérance au glucose.

Les résultats obtenus depuis la mise en place en 2004 (170 patients) ont mis en évidence :

- 17% de nouveaux cas de diabète secondaire à la fibrose kystique
- 26% de nouveaux cas de pré-diabète
- 57% de patients avec une tolérance normale au glucose

Nous avons aussi pu observer comment le statut de la tolérance au glucose évolue dans le temps. De plus, cette étude a permis la mise en place d'un suivi clinique systématique des anomalies de la tolérance au glucose chez la clientèle fibreuse kystique.

Déroulement de l'étude

Au cours de cette étude, vous aurez un test d'HGPO lors de trois bilans annuels consécutifs. À ce moment-ci, il se peut que vous ayez déjà passé un ou deux de ces HGPO. Pour chacun de ces tests, vous devrez être à jeun depuis 12h et vous devrez boire un liquide sucré contenant 75g de glucose (sucre). Nous vous ferons des prélèvements (prise de sang) aux temps 0, 30, 60, 90 et 120 minutes. Pour ce faire, un cathéter sera installé, ce qui évite d'avoir à vous piquer à chaque fois. Les échantillons obtenus permettront de déterminer s'il y a une anomalie de la tolérance au glucose et de doser l'insuline (l'hormone qui permet de contrôler le taux de sucre). Des tubes de sang supplémentaires seront prélevés dans le but de doser certaines substances du système immunitaire (cytokines), ainsi que les acides gras libres (graisse du sang) ayant potentiellement un rôle dans la survenue du diabète.

Aussi, lors de votre visite, vous aurez à subir un test d'impédancemétrie. L'impédancemètre est un pèse-personne où il faut monter pieds nus et qui est relié à une petite console. Ceci permet d'évaluer certains paramètres comme l'indice de masse corporelle (IMC) et le pourcentage de graisse corporelle. Ces informations sont utiles pour évaluer votre état nutritionnel.

Pour étudier les anomalies de la tolérance au glucose, nous utilisons le test recommandé par la fondation de la fibrose kystique. Ainsi, le temps de la visite n'est pas augmenté par la prise d'échantillons supplémentaires qui correspondent à un volume additionnel maximal de 44 ml (3 ½ cuillères à table) pour la première HGPO et de 36 ml (2 cuillères à table) pour les 2^e et 3^e HGPO. Dès le test complété, le reste du bilan annuel de la fibrose kystique aura lieu comme à l'habitude.

Critères d'inclusion

Les volontaires doivent :

- être atteints de la fibrose kystique et être âgés de plus de 18 ans

Critères d'exclusion

Les volontaires ne doivent pas :

- Avoir eu d'infection pulmonaire dans le mois précédant l'HGPO
- Avoir reçu de traitement aux stéroïdes (cortisone sous forme de comprimés ou par voie veineuse, le Cortef[®] par voie orale est accepté) dans le mois précédant l'HGPO
- Être déjà traité pour le diabète

Risques

Votre participation à cette étude comporte peu de risques. La prise du liquide sucré pour le test de tolérance au glucose peut occasionner des nausées ou des maux d'estomac temporaires. L'insertion du cathéter pour les prélèvements pourrait causer un léger inconfort. Des ecchymoses (bleus) ou plus rarement des étourdissements (malaise vagal) peuvent survenir.

Retrait de l'étude

Vous participez volontairement à cette étude. Le fait de ne pas participer à l'étude n'entraînera aucun inconvénient pour vous et vous continuerez de bénéficier des services et soins de santé dont vous bénéficiez auparavant. Dans le cas où vous décideriez de vous retirer de l'étude, vous devrez aviser le chercheur (D^r Rabasa-Lhoret) ou les pneumologues afin que nous organisions le dépistage du diabète tel que recommandé sans les prélèvements servant à la recherche

Bénéfices

En participant à cette étude, vous contribuerez à mieux faire connaître les anomalies de la tolérance au glucose secondaire à la fibrose kystique. Ce projet de recherche sera bénéfique pour vous, mais également pour toutes les personnes atteintes de fibrose kystique. Si vous présentez un diabète ou une intolérance au glucose, nous vous proposerons une prise en charge à la clinique de fibrose kystique.

Confidentialité

Les sujets participant à cette étude seront identifiés par un code numérique, seul votre dossier médical contiendra vos coordonnées complètes ainsi que le résultat du test : tolérance normale au glucose, intolérance ou diabète. En aucun cas votre nom ne sera divulgué. Lors de présentations des résultats à des réunions scientifiques ou de publications, vous serez identifié uniquement par votre code numérique connu de l'équipe de recherche seulement. Cependant, il est possible qu'un délégué du comité d'éthique de la recherche consulte votre dossier médical de même que votre formulaire de consentement signé afin de s'assurer que l'étude est faite selon le protocole et qu'elle respecte les règles d'éthique.

Aspects financiers

Vous ne recevrez pas d'indemnisation suite à votre participation à cette étude.

Renseignements

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

- Le D^r Rémi Rabasa-Lhoret au (514) 987-5666. Vous pouvez obtenir de l'aide médicale 24 heures/24 en téléphonant au service de messages aux médecins du CHUM au (514) 890-8100. Le service des messages peut joindre le D^r Rabasa-Lhoret en tout temps.
- Ou ses assistantes de recherche au (514) 890-8000 poste 12906 ou au (514) 987-5668.
- Ou les infirmières de la clinique de fibrose kystique ((514) 890-8000 poste 14432.

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

Pour de plus amples informations au sujet de vos droits, vous pouvez communiquer avec M^{me} Rita Crisante, commissaire local à la qualité des services à l'Hôtel-Dieu du CHUM (514 890-8000 poste 12761)

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

Consentement

Je déclare avoir pris connaissance du présent formulaire de consentement. Je reconnais que la nature et le déroulement du projet de recherche m'ont été expliqués, qu'on a répondu à toutes mes questions et qu'on m'a laissé le temps voulu pour prendre une décision. Je comprends en quoi consiste ma participation à cette étude et j'accepte volontairement et librement d'y participer. En signant le présent formulaire, je ne renonce à aucun de mes droits légaux ni ne libère le chercheur, l'hôpital ou le commanditaire de leur responsabilité civile et professionnelle.

Une copie originale signée de ce formulaire de consentement fera partie de mon dossier médical, une copie originale signée fera partie du dossier du chercheur, et une copie originale signée me sera transmise.

Nom du participant	
Signature du participant	
Date	

Déclaration du témoin

J'ai été témoin de la signature de ce consentement par le participant. J'ai été assuré que le participant a signé de façon libre et volontaire.

Nom du témoin	
Signature du témoin	
Date	

Déclaration du chercheur

J'ai expliqué la nature, le but, les procédures, les avantages et les risques de la présente étude. J'ai répondu à toutes les questions qui m'ont été posées. Je crois que le sujet comprend pleinement mes explications et que son consentement a été donné librement.

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

Distribution du formulaire de consentement

- Remettre une copie originale au patient.
- Placer une copie dans le dossier médical du patient.

Garder une copie originale aux dossiers du chercheur.