

BRUNA MUTT DE MACEDO

SÃO PAULO

2019



TRABALHO DE CONCLUSÃO RESIDÊNCIA MEC

Trabalho de conclusão de Residência MEC apresentada à Faculdade de Medicina Veterinária e zootecnia da Universidade de São Paulo.

Residente: Bruna Mutt de Macedo

Orientadora: Professora Dra. Márcia Mery Kogika

SÃO PAULO

2019

ENCAMINHAMENTO

Encaminhamos o presente Trabalho de Conclusão de Residência MEC para que a banca de Residência tome as providências cabíveis.

Residente

Bruna Mutt de Macedo

Orientadora

Prof. Dra. Márcia Mery Kogika

SÃO PAULO

2019

ÍNDICE

1. INTRODUÇÃO	6
2. MATERIAL E MÉTODOS	7
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	7
3.1 DIABETES MELLITUS EM CÃES E GATOS	7
3.2 ORIGENS DOS ANÁLOGOS DE INSULINA	10
3.3 AÇÕES DA INSULINA	11
3.4 CLASSIFICAÇÃO DOS ANÁLOGOS DE INSULINA	14
3.5 INSULINA GLARGINA 300 U/ML	17
3.6 INSULINA GLARGINA 300 U/ML EM CÃES E GATOS	21
4. DISCUSSÃO	22
5. REFERÊNCIAS	24

MONOGRAFIA

INSULINOTERAPIA E INSULINA GLARGINA 300 U/MI EM CÃES E GATOS: REVISÃO DE LITERATURA

RESUMO

O diabetes mellitus é uma doença comum em cães e gatos, associada com hiperglicemia prolongada devido à perda ou disfunção da secreção de insulina pelas células beta-pancreáticas, diminuição da sensibilidade à insulina nos tecidos ou ambos. Os sinais clínicos clássicos da doença são poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso. Para o controle bem sucedido da doença, é necessária adequada terapia insulínica, que é a base do tratamento. Cada paciente exige uma avaliação individualizada para um plano de tratamento. Compreender a estrutura da insulina e a interação com seu receptor é importante para o desenvolvimento das diversas formulações de análogos de insulina. Existem diversas classificações e tipos de insulinas e a melhor escolha é aquela que promoverá o melhor controle da doença. A insulina glargina 300 U/mL é um análogo de insulina usado em pessoas como insulina basal. Esse concentrado de insulina possui menor variabilidade e duração de ação prolongada, comparada com a glargina 100 U/mL, além de resultar em menor volume de injeção, menor risco de hipoglicemia e hipoglicemia noturna. Em cães e gatos pouco se sabe sobre o uso dessas formulações e não há estudos do seu uso em diabetes mellitus nessas espécies.

PALAVRAS-CHAVE: diabetes mellitus, insulina, cães e gatos, glargina 300 U/mL

1. INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus é uma doença crônica sistêmica caracterizada por hiperglicemia prolongada decorrente da falta de insulina ou sua incapacidade de ação devido à perda ou disfunção de sua secreção pelas células B pancreáticas, sensibilidade à insulina diminuída nos tecidos ou ambos (2).

O diabetes mellitus dos gatos é semelhante ao tipo 2 humano que resulta da disfunção das células beta-pancreáticas e resistência à insulina. Isso acontece devido a vários fatores, incluindo a deposição de amiloide nas ilhotas, toxicidade da glicose e possivelmente danos causados por espécies reativas de oxigênio e/ou citocinas inflamatórias (3). A forma mais comum de diabetes conhecida clinicamente no cão se assemelha ao diabetes mellitus tipo 1 em humanos. São caracterizadas anormalidades histológicas que incluem redução do número e tamanho das ilhotas pancreáticas e diminuição do número de células B dentro das ilhotas e vacuolização e degeneração dessas células (6).

O seu tratamento tem como objetivo eliminar os sintomas secundários à hiperglicemia e glicosúria, atingir adequado controle glicêmico sem causar hipoglicemia e evitar as complicações da doença. Escolher a terapia ideal para o paciente ainda é um desafio. Novas formulações de análogos de insulina estão disponíveis, como a glargina 300 U/mL. O objetivo dessa revisão foi reunir os principais trabalhos referentes a essa insulina e, se possível, poder usá-la como uma das alternativas terapêuticas em cães e gatos com diabetes mellitus.

2. MATERIAL E MÉTODOS

O objetivo da presente revisão bibliográfica foi resumir sobre o diabetes mellitus em cães e gatos e com o intuito de elucidar a terapia insulínica desde sua origem, tipos, modos de ação e principalmente reunir os principais trabalhos sobre uma nova opção de terapia insulínica, a glargina 300U/mL, para o melhor entendimento de suas implicações em cães e gatos.

O levantamento bibliográfico sobre o assunto foi realizado no ano de 2019 e os bancos de dados consultados foram PUBMED, Google acadêmico, Scienci Direct e livros de referência. As principais estratégias de busca utilizadas foram: “diabetes mellitus”, “insulin therapy”, “glargine 300U/ml in dogs and cats”. Foram selecionados artigos em inglês relacionados à espécie canina e felina, mas devido à escassa literatura encontrada nessas espécies, também foram selecionados artigos de medicina humana relacionada ao tema. Foram utilizadas revisões de literatura, estudos clínicos randomizados, relatos de casos e estudos retrospectivos. Dessa forma, foram incluídos 46 artigos e 1 livro, sendo complementada com citações de artigos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. DIABETES MELLITUS EM CÃES E GATOS

O pâncreas é uma glândula considerada mista, dividido em pâncreas endócrino e exócrino. A porção endócrina é composta pelas ilhotas pancreáticas ou ilhotas de Langerhans. Elas são divididas em quatro subtipos celulares: células A, responsáveis pela síntese e secreção de glucagon, células B que produzem e secretam insulina, células D que produzem somatostatina e células PP responsáveis pela produção de polipetídeo pancreático (1). A função dessa glândula é atuar na manutenção da glicemia. A insulina é responsável pela entrada de glicose nas células e sua deficiência promove o acúmulo na circulação sanguínea.

O diabetes mellitus é uma doença crônica sistêmica que pode ser definida como uma síndrome que engloba um grupo de doenças metabólicas com diversas etiologias. Caracteriza-se por hiperglicemia prolongada decorrente da falta de insulina ou sua incapacidade de ação devido à perda ou

disfunção de sua secreção pelas células beta-pancreáticas, sensibilidade à insulina diminuída nos tecidos ou ambos (2).

O diabetes mellitus dos gatos é semelhante ao tipo 2 humano que resulta da disfunção das células beta-pancreáticas e resistência à insulina. Essas alterações ocorrem devido a vários fatores, incluindo a deposição de amiloide nas ilhotas, toxicidade da glicose e, possivelmente, danos causados por espécies reativas de oxigênio e/ou citocinas inflamatórias (3). Muitos fatores podem contribuir para ocorrer a resistência insulínica, a obesidade é uma das causas mais comuns; endocrinopatias concomitantes como hiperadrenocorticism e acromegalia, induzido por medicamentos, por exemplo, glicocorticóides e progestágenos e por pancreatite (3). O diabetes tipo 1 é considerado raro em gatos e os anticorpos de células B e insulina não foram encontrados em gatos diabéticos recém diagnosticados. Além disso, a infiltração linfocítica nas ilhotas foi descrita apenas em alguns gatos (4, 5).

A forma mais comum de diabetes conhecida clinicamente no cão se assemelha ao diabetes mellitus tipo 1 em humanos. São caracterizadas anormalidades histológicas que incluem redução no número e tamanho das ilhotas pancreáticas, diminuição do número de células beta dentro das ilhotas, além de vacuolização e degeneração dessas células (6). A perda da função é irreversível com consequente hipoinsulinemia e hiperglicemia. Sua etiologia é multifatorial e os fatores predisponentes são genética, componentes imunomediados, pancreatite, obesidade, endocrinopatias como hiperadrenocorticism e hipertireoidismo, fármacos como glicocorticoides, progestágenos, infecções e doenças concorrentes como doença renal, doença cardíaca e hiperlipidemia (7). Apesar da obesidade poder induzir a resistência insulina, a progressão para o diabetes tipo 2 não foi descrita em cães (8).

Diabetes gestacional pode ocorrer em cadelas mais velhas, mas não em gatas, sendo reversível e incomum. São diagnosticadas no diestro ou na gestação, quando a progesterona sérica e hormônio do crescimento estão aumentados. A progesterona estimula a secreção de hormônio do crescimento da glândula mamária e os dois causam resistência à insulina e intolerância aos carboidratos (6). O reconhecimento precoce e consequente ovário-

histerectomia nos estágios iniciais podem levar à remissão desse estado diabetogênico sem o uso contínuo de insulina.

As manifestações clínicas clássicas do diabetes, independentemente da etiologia subjacente, incluem poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso. Os sinais clínicos não se desenvolvem até que a hiperglicemia atinja concentração de glicose no sangue que passará pela filtração renal, causando glicosúria. Nos gatos esse limiar corresponde a concentração de glicose correspondente a 300mg/dL e, nos cães, de 200mg/dL (6). Complicações do diabetes são comuns e a hipoglicemia ocorre em pacientes em terapia com insulina em doses excessivas, intercorrência comum em cães e gatos.

A neuropatia diabética é uma das manifestações mais comuns que acometem os gatos e, muitas vezes, é a principal alteração observada pelos tutores nessa espécie, mas em cães raramente é observada. A catarata acomete mais frequentemente os cães, sendo rara em gatos. Durante a evolução da catarata pode ocorrer o desenvolvimento de uveíte. A cetoacidose diabética é uma das complicações mais graves do diabetes mellitus, sendo considerada uma emergência endócrina. Ela é identificada pela presença de hiperglicemia, glicosúria, cetonemia ou cetonúria com acidose metabólica, causadas pela falta absoluta ou relativa de insulina (9).

O diagnóstico do diabetes mellitus é realizado quando há presença dos sinais clínicos característicos, presença de glicosúria e hiperglicemia persistentes. Nesse caso, é necessária a realização dos exames físico e de imagem, como também laboratoriais, tais como, hemograma, bioquímico e eletrólitos, exame de urina com cultura, triglicérides e colesterol, para assim excluir outras doenças. Os achados típicos do diabetes mellitus incluem a hiperglicemia, glicosúria e leucograma de estresse, aumento de colesterol e triglicérides. Os cães podem apresentar atividades séricas aumentadas de fosfatase alcalina e ALT e os gatos podem apresentar maior variabilidade nas alterações do leucograma (leucograma de estresse) e ALT sérico aumentado (2). A hiperglicemia pode ser identificada no exame de sangue, na ausência das manifestações clínicas consistentes da doença, sendo necessário fazer o diferencial de hiperglicemia decorrente de estresse, principalmente nos gatos

ou o paciente pode ser classificado como paciente de risco para o desenvolvimento de diabetes mellitus. Para auxiliar no diagnóstico pode ser realizada a mensuração da concentração sérica de frutossamina, sendo esta influenciada pela concentração de glicose plasmática, mas sem efeito das mudanças agudas na concentração de glicose no sangue, aspecto que pode ser utilizado para diferenciar hiperglicemia de estresse em animais saudáveis de hiperglicemia no diabetes mellitus (10).

O tratamento tem como objetivos eliminar os sintomas secundários à hiperglicemia e glicosúria, atingir um adequado controle glicêmico sem causar hipoglicemia e evitar as complicações da doença. Para isso é necessária uma combinação de terapia insulínica, manejo alimentar e prática de exercícios. Os hipoglicemiantes orais são frequentemente utilizados em diabetes mellitus tipo 2 na medicina humana, mas não há nenhuma evidência para apoiar seu uso em preferência à insulino terapia em gatos (3).

3.2. ORIGENS DOS ANÁLOGOS DE INSULINA

A insulina é comumente recomendada e com frequência prescrita para o tratamento de diabetes mellitus em cães e gatos, pois é o meio mais efetivo de diminuir a glicose sanguínea, imitando a atividade fisiológica da insulina endógena. Este hormônio está envolvido na regulação da utilização de glicose no organismo e, é constituído por polipeptídeos muito importantes, pois regula o metabolismo de carboidratos. A palavra insulina é derivada da palavra latina “insula” que significa “ilha”, porque é um hormônio produzido nas ilhotas de Langerhans. Foi descoberto em 1921-1922 por Banting e Best, na Universidade de Toronto. A insulina produzida comercialmente não estava disponível nos Estados Unidos até 1923, quando a insulina regular de ação curta exigia várias injeções por dia. (11).

O primeiro isolamento bem sucedido de insulina do pâncreas de cães foi realizado em 1921. Dois anos depois, a insulina animal purificada foi produzida em larga escala pela empresa *Eli Lilly* (12). Pela baixa pureza desses extratos obtidos do pâncreas animal, as pesquisas começaram a focar na cristalização do componente funcional e, a insulina cristalina foi obtida com sucesso em

1926, o que promoveu o reconhecimento da insulina como proteína (13). Muitos estudos foram conduzidos para aperfeiçoar a purificação do processo de insulina do pâncreas animal durante as primeiras seis décadas após sua descoberta. Em 1995, a primeira estrutura de insulina, contendo duas cadeias ligadas por dissulfetos, foi determinada pelo rápido desenvolvimento da química das proteínas e a sequência de aminoácidos da proteína foram descobertas (14). Como resultado das variações na estrutura primária das insulinas naturais, foi observada a neutralização do medicamento causada pela imunogenicidade em pacientes administrados com insulina de origem animal (15).

Métodos para converter a insulina suína em equivalente da insulina humana foram desenvolvidos nas décadas de 1970 e 1980 (16). Em 1967 foi descrito o mecanismo de produção de insulina pelas células beta-pancreáticas (17). Na década de 1970, a tecnologia baseada em DNA recombinante foi aplicada pela primeira vez para a biossíntese da insulina humana em *Escherichia coli*. A insulina recombinante humana foi usada pela primeira vez para fins de indicações clínicas em 1981 (18). Em seguida, foi desenvolvido um sistema de reação de fonte única no qual a *E.coli* ou levedura produzia uma pro-insulina ou um mini precursor de pro-insulina contendo um peptídeo de conexão curto e a conexão enzimática foi aplicada para produzir insulina (19). Em 1988, a estrutura da insulina, incluindo suas formas de monômeros, dímeros e hexâmeros, foi elucidada em mais detalhes (20).

Com o desenvolvimento da engenharia genética e da biotecnologia moderna, os esforços foram direcionados para a produção de insulina por meio de tecnologias de DNA recombinantes. A insulina humana foi uma das primeiras proteínas farmacêuticas fabricadas por meio da tecnologia de DNA recombinante no final dos anos 70, comercializada desde 1982. Desde a década de 1980, insulinas recombinantes de bactérias e leveduras têm sido a principal fonte de insulina comercial (21), que tem ajudado a atender a grande demanda desse produto farmacêutico.

3.3. AÇÕES DA INSULINA

A insulina é um hormônio sintetizado pelas células beta do pâncreas, através de um processo de várias etapas que pode durar aproximadamente 30 a 150 minutos (22). Dentre os fatores que controlam esse processo, o metabolismo da glicose desempenha um papel crítico, pois pode estimular a transcrição do gene da insulina e a tradução do RNA. Durante a tradução da insulina na fração citosólica, a pré-pró-insulina, uma molécula de cadeia única contendo 110 resíduos, é sintetizada primeiro (23). Sequencialmente, a pré-pró-insulina é composta por uma cadeia de três peptídeos, cadeia A, cadeia B e cadeia C. A pré-pró-insulina se liga à membrana do retículo endoplasmático e devido à condição oxidante, formam-se ligações dissulfeto da pró-insulina (24). A pró-insulina deixa o retículo endoplasmático e migra ao complexo de golgi na forma de vesículas secretoras. Em vesículas para armazenamento e/ou secreção, a pró-insulina começa a formar dímeros contendo zinco e hexâmeros, que podem ser um mecanismo de proteção (25). A pró-insulina é convertida em insulina madura depois de removido o peptídeo C central pela ação de enzimas proteolíticas conhecidas como pró-hormônios convertases PC1/PC3 e PC2. A insulina madura consiste em cadeia B (com 30 aminoácidos) e cadeia A (com 21 aminoácidos), ligadas por duas intercadeias e uma intracadeia de ponte dissulfeto (26).

Após sua síntese nas células B, a insulina fica armazenada em grânulos, sob controle de secreção mediado pelos níveis sanguíneos de glicose e também aos aminoácidos, ácidos graxos e corpos cetônicos. Na presença de altas concentrações de glicose plasmática, a insulina é liberada das células beta-pancreáticas por fusão de membrana entre as vesículas de armazenamento e a membrana celular. Durante o processo de liberação, o hexâmero de insulina cristalizado dissolve, resultando na formação do monômero biologicamente ativo (24). Através da veia porta, a insulina alcança o fígado e apenas 20-50% é distribuída para o organismo / corpo (27).

Para que ocorra a ação da insulina, é necessária a atividade de um receptor. O receptor de insulina é uma tirosina quinase capaz de autofosforilação e ativação contra substratos externos. A sinalização da insulina é regulada pela autofosforilação do receptor de tirosina quinase e pela

concentração desse receptor nos endossomos (28). O receptor da insulina é um homodímero, amarrado por ligações dissulfeto, composto por duas subunidades “a” e duas subunidades “b”. A subunidade “a” é inteiramente extracelular e contém o sítio de ligação da insulina, a subunidade “b” é uma proteína transmembrana responsável pela transmissão do sinal e possui sua atividade tirosina quinase e a subunidade “a” inibe a atividade da subunidade “b” (29). Cada receptor contém um ectodomínio, um único segmento transmembranar e um segmento endocelular de tirosina quinase. Os receptores não são componentes fixos, podendo variar o número para cada tipo celular, variando o grau de resposta. Após a ligação da insulina com o receptor, na subunidade “a”, a subunidade “b” é ativada, transmitindo um sinal para a fosforilação de vários substratos proteicos em resíduos tirosina, que são moléculas essenciais para o transporte de glicose dentro das células. Os transportadores de glicose são denominados de GLUTs, que promovem a difusão facilitada de glicose, por gradiente de concentração, através da membrana plasmática das células. Dentre esses transportadores, o GLUT4 é chamado de insulino dependente, necessitando da ação do hormônio para manter sua ação fisiológica nos tecidos onde são expressos.

A insulina ativa várias vias metabólicas como a glicólise, lipogênese e a glicogênese e outras vias são inibidas como a lipólise e a glicogenólise. Ela mantém a concentração de glicose sanguínea ajudando no transporte da glicose nas células do corpo, onde a glicose é metabolizada para produzir energia. Quando ocorre um aumento de glicose sanguínea, a concentração de insulina aumenta e há aumento da captação de glicose pelas células musculares, hepáticas e de gordura. O excesso de glicose é convertido em glicogênio por esses tecidos. Quando a concentração de glicose é reduzida no sangue, o glicogênio é convertido de volta em glicose e liberado na circulação sanguínea. A insulina está envolvida na regulação da captação de aminoácidos, aumentando a replicação do DNA e síntese de proteínas. Ela também facilita a síntese de ácidos graxos através da captação de lipídeos do sangue pelos adipócitos e diminui a proteólise, lipólise e gliconeogênese (25). No geral, a ação resultante de todos os efeitos da insulina é a redução da

concentração de glicose sanguínea, sendo considerado um hormônio hipoglicemiante.

Em condições saudáveis, humanos, cães e gatos produzem insulina em concentração basal. Sua secreção gera um pico 1 hora após a alimentação e retorna à concentração normal após 2 horas. Normalmente, quando a insulina é injetada no corpo, suas moléculas formam hexâmeros que, para se difundir no fluido intersticial, penetrar na parede dos capilares e entrar na corrente sanguínea, precisam se dissociar em dímeros e monômeros (30). Há diferentes formulações de insulina, com início de ação e efeitos máximo e durações diferentes. Essas formulações mudam a taxa de dissociação do hexâmetro em dímeros e monômeros e o movimento de moléculas livres de insulina na corrente sanguínea.

3.4. CLASSIFICAÇÃO DOS ANÁLOGOS DE INSULINA

Os análogos de insulina oferecem uma estratégia de reposição de insulina que tem como objetivo mimetizar a secreção fisiológica de insulina, com secreção basal e secreção pós prandial. A formulação mais comum de insulina é U-100, ou seja, 100U/mL. De acordo com a taxa de dissolução, os tipos de insulina variam em início, tempo de pico e duração. Elas também podem ser classificadas de acordo com sua ação em rápida, curta, intermediária, lenta ou ultra-lenta. Também podem ter perfil análogo à insulina basal ou à insulina prandial, serem mistas, concentradas ou insulina inalada.

As insulinas de ação rápida têm início de ação mais rápido (15 a 30 minutos) e menor duração de atividade (4 ou 5 horas). Seu pico de ação varia de 30 a 90 minutos após a injeção. Por uma única ou duas alterações de aminoácidos na molécula de insulina a capacidade de se associar a hexâmeros é reduzida, de modo que sejam prontamente absorvidos, no entanto, essas modificações não alteram as propriedades biológicas desses análogos (31). Esses análogos de ação rápida podem ser usados na hora das refeições para atingir a concentração ideal de insulina para utilização da glicose liberada após ingestão de alimento.

Insulinas de ação curta têm início de ação em torno de 0,5 a 1,0 hora, pico de ação de 2 a 4 horas e duração de atividade de 6 a 8 horas. Esses análogos de insulina devem ser injetados no corpo 20 a 30 minutos antes da refeição para obter a atividade ideal da insulina para o metabolismo dos carboidratos (25).

Insulinas de ação intermediária têm início de ação em torno de 1 a 2 horas, pico de ação em 6 a 10 horas e duração de atividade em 10 a 16 horas. Exemplo de insulina de ação intermediária inclui a NPH. Sua taxa de absorção é reduzida pela adição de protamina à preparação da insulina (25).

Insulinas de longa ação tem ação inicial em torno de 2 horas, pico de ação de 6 a 20 horas e duração de atividade de até 36 horas. Uma maneira de prolongar a atividade da insulina é projetar análogos com aminoácidos com carga mais positiva, de modo a elevar o ponto isoelétrico da insulina para um pH quase neutro (32). Isso auxilia na redução da solubilidade da insulina em pH neutro após injeção no organismo e a absorção na corrente sanguínea será adiada. Algumas das preparações da insulina de ação prolongada também contêm protamina ou zinco para aumentar o tempo de absorção.

Insulinas de ação basal são formulações em que a manipulação de várias cadeias laterais e/ou moléculas de aminoácidos permitiu a disponibilidade de insulina de ação prolongada (Ex. detemir, glargina e degludec), permitindo absorção mais lenta, concentrações sem pico e longa duração de ação. Isso imita melhor a secreção basal normal ou a secreção constante de insulina, proporcionando concentrações relativamente constantes de insulina diária. A insulina basal diminui a produção hepática de glicose e é necessária em jejum para manter a homeostase da glicose e fornece concentração mais consistente de insulina. Em geral, são administradas uma vez ao dia, a cada 24 horas. Importante notar que a insulina basal quase sempre deve ser administrada independentemente da ingestão de alimentos, pois serve como insulina constante, normalmente secretada pelo pâncreas para manter as concentrações normais de glicose, independente da ingestão de alimento (33).

Insulinas chamadas de bolus ou prandial são aquelas em que o início e ação de pico representam mais de perto a secreção endógena pós prandial de insulina em resposta a alimentação. Devido seu rápido início, pode ser administrada imediatamente antes, durante ou após as refeições. Esses produtos diferem das preparações humanas por pequenas substituições nas cadeias de aminoácidos, que, por sua vez, impedem a formação de polímeros ou hexâmeros que atrasam a absorção e o início da ação (33).

Insulinas misturadas combinam insulina de ação curta/rápida e intermediária/longa em uma proporção fixa. Isso oferece conveniência, pois não é necessária mais de duas injeções por dia, mas por outro lado não permite flexibilidade na hora das refeições ou alterações na proporção de doses (33). Insulinas concentradas são de duas a cinco vezes mais concentradas que as comumente usadas U-100 (100UI/mL), podendo ser administradas em pacientes com alta resistência à insulina ou para aqueles que estão sob terapia com esteróides em doses altas (34). Essas formulações permitem administração subcutânea de grandes doses em menor volume. As insulinas inaladas são uma preparação de insulina humana em pó para inalação, para ser administrada no início de uma refeição. É importante que a função pulmonar seja avaliada antes do início, como também após 6 meses e anualmente a partir do início da terapia, sendo que é contraindicado em pacientes com doenças pulmonares crônicas e tem sido associada ao desenvolvimento de broncoespasmo agudo em pacientes com asma e doença pulmonar obstrutiva crônica (35).

Há vários fatores que potencializam erros de manejo de um diabético. Um deles é o tipo de seringa usada para determinar as doses de insulina. As seringas de insulina têm marcações para indicar unidades que se correlacionam com a insulina U-100, algumas são marcadas em 1 unidade e outras em 2 unidades. Dispositivos de insulina de caneta são prontamente disponíveis para marcação de doses correspondendo ao tipo e concentração de insulina que elimina erros associados com tamanhos de seringa. Também há vários produtos e concentrações de insulinas, sendo muito importante ter a

certeza do tipo correto e a concentração específica de insulina a ser administrada sem erros.

Um dos fatores mais críticos para o não controle ideal do diabetes com a insulinoterapia é a variação da ação de cada insulina, que contribui para o risco de hipoglicemia e mau controle glicêmico. Essa variação pode ser aumentada com alguns erros de manejo como imprecisão da dose e variação na técnica de injeção, porém também a taxa de absorção no depósito subcutâneo contribui significativamente para a variação entre os dias nas suspensões de insulina. Nas formulações de insulina, tradicionalmente usadas, o depósito subcutâneo é relativamente irregular, resultando em imprevisibilidade, no entanto é difícil atingir uma completa congruência entre a ação exógena e endógena da insulina.

No geral, todas as insulinas disponíveis são opções de terapias efetivas para o tratamento do diabetes mellitus tipos 1 e 2, pois a insulina promove ações importantes no metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas, como pela captação de glicose no músculo e tecido adiposo. No entanto, cada tipo de insulina varia em início, pico e duração, com base na taxa de dissolução, dissociação e difusão nos tecidos.

Várias formulações de insulinas têm sido desenvolvidas, com base no modo de ação, com diferentes ações, picos e duração de ação, de acordo com o que cada paciente necessita. Mais recentemente, insulinas concentradas, ou insulinas de ação ultralonga tornaram-se disponíveis para uso clínico. Essas formulações foram desenvolvidas para superar algumas limitações de outras formulações de insulinas e fornecem perfis farmacocinéticos mais precisos e previsíveis, como insulina basal, para reduzir a variabilidade diária e de um indivíduo e melhorar os resultados de segurança, como por exemplo, a hipoglicemia e hipoglicemia noturna. O tipo e as dosagens diárias de cada insulina dependem de muitas variáveis sendo uma terapia individualizada e a melhor escolha é sempre a que promove controle metabólico sem desencadear episódios de hipoglicemia, melhora dos sinais clínicos e que promova menor variabilidade.

A hipoglicemia é um desafio, principalmente em pacientes com diabetes tipo 1, impedindo um bom controle glicêmico, portanto há uma busca de análogos de insulina basal de ação prolongada com perfis estáveis para baixar a glicemia, com menor variabilidade.

3.5. INSULINA GLARGINA 300U/mL

A insulina glargina foi a primeira insulina basal de longa ação a ser aprovada para uso na prática clínica e tem registro bem estabelecido de eficácia e segurança. Atualmente dois tipos de insulina glargina estão disponíveis, a glargina 100U/mL (U-100) como a Lantus e Basaglar que possuem propriedades farmacológicas semelhantes e a glargina 300U/mL (U-300), conhecida comercialmente como Toujeo. Na glargina U-100 há 100 unidades de insulina em cada 1 mL de solução e a glargina U-300 há 300 unidades de insulina em cada 1 mL de solução. A insulina metabolicamente ativa é idêntica entre as duas formulações, mas a farmacologia é diferente.

A insulina glargina U-300 foi aprovada pela *Food and Drug Administration* (FDA- agência do governo dos Estados Unidos responsável pela regulação de alimentos, medicamentos, cosméticos, aparatos médicos, produtos biológicos e derivados sanguíneos), em fevereiro de 2015 como uma insulina basal para o tratamento do diabetes mellitus. Essa aprovação foi baseada a partir de um estudo clínico em que os autores compararam a glargina U-300 com a glargina U-100 em eficácia e segurança em 3500 pacientes humanos com diabetes mellitus tipo 1 e 2. Esses ensaios foram estudos paralelos randomizados, abertos, com duração de 26 semanas e dois estudos foram estendidos para um período de 6 meses adicional (36).

A insulina glargina é um produto recombinante a partir de estirpes não patogênicas de *Escherichia coli*. A glargina U-300 é uma insulina análoga sintética recombinante de longa ação, na qual sua molécula é diferente da insulina humana na posição A21, em que a asparaginina é substituída por glicina e dois resíduos de arginina são adicionados no terminal B (37). Esses resíduos são clivados a dois produtos metabólicos, o primeiro é insulina humana 21a- glicina (M1) e o segundo metabólito é uma insulina treonina 21a-

glicina-des-30b (M2), sendo o M1 o metabólito predominante. Ambos os metabólitos M1 e M2 têm menor afinidade ao receptor de fator de crescimento “*insulin-like*” em comparação com a insulina humana (38).

A concentração da glargina U-300 é 1800 nmol/ml, três vezes mais concentrada que a glargina U-100, possuindo um volume de injeção três vezes menor e uma farmacocinética e farmacodinâmica mais uniforme e prolongada. A potência dessa insulina é expressa em unidades, que são exclusivas e diferentes das unidades internacionais usadas em outros análogos de insulina, sendo necessário ajuste da dose quando os pacientes passam de outros análogos de insulina para a glargina U-300 e vice e versa (39). Sua biotransformação é realizada pelo fígado e sua excreção pelos rins.

Sua molécula sintética é solúvel em água e em pH 4, mas em pH fisiológico, como o tecido subcutâneo, forma precipitados. Então, após a administração subcutânea, normalmente precipita e agrega levando à formação de um depósito subcutâneo a partir do qual a insulina é liberada. O tamanho do precipitado do depósito depende da concentração da solução injetada, enquanto a quantidade unitária permanece a mesma, de modo que a glargina U-300 forma um precipitado menor que a glargina U-100 (40). Como a liberação de moléculas do depósito é proporcional à área da superfície, o menor precipitado formado com a glargina U-300 leva à liberação de menor volume ao longo do tempo, por um período mais longo que o precipitado maior formado com a glargina U-100. Consequentemente, ela fornece concentrações de glicose mais estáveis ao longo do dia, com baixa flutuação diurna, baixa variabilidade e alto nível de reprodutibilidade entre os dias, em comparação com a glargina U-100. Devido ao pico de ação menos pronunciado, teoricamente poderia resultar em redução gradual da glicemia e assim, diminuir o risco de hipoglicemia, ao mesmo tempo em que se obtém controle glicêmico (39).

A insulina glargina U-300 está associada a ação mais prolongada nos tecidos subcutâneos após injeção e menor variabilidade na absorção, resultando em meia vida prolongada de 17 a 19 horas, quando usada em humanos (41). Seu início de ação é de aproximadamente 6 horas e em

peessoas com diabetes mellitus tipos 1 e 2 , proporcionando melhor controle glicêmico, com concentrações de glicose mais estáveis durante mais de 24 horas, menor frequência de hipoglicemia e menor ganho de peso em relação ao uso da glargina U-100 (42). Seu efeito mais prolongado e sua flexibilidade permitem ao paciente um horário de aplicação mais abrangente, diferente da glargina U-100 que requer uma aplicação na mesma hora diariamente (43). Ela é administrada com o uso de aplicador em forma de caneta, indicada para administração subcutânea no mesmo horário ou em qualquer horário do dia, mas quando necessária, pode ser administrada 3 horas antes ou depois do horário usual de administração (44).

Em humanos, a sua administração é realizada em quatro regiões diferentes do corpo; abdômen, coxas, nádegas e porção superior do braço, intercalando as aplicações, para reduzir o risco de lipodistrofia. Na medicina veterinária não há uma recomendação específica, podendo ser realizado em qualquer região do corpo do animal. O tempo de administração em humanos pode variar em mais ou menos 3 horas sem comprometer o controle glicêmico em pacientes com diabetes tipos 1 e 2 (36). Ainda em humanos, a dose inicial recomendada da glargina U-300 em pacientes com diabetes tipo 1 é de aproximadamente 33-50% do total da necessidade diária de insulina, já em pacientes com diabetes tipo 2 é de 0,2UI/kg uma vez ao dia (45). Em pacientes que já fazem uso de insulina de ação intermediária ou longa, a mudança para a glargina U-300 deve ser feita de unidade a unidade, mas aqueles que mudam da glargina U-100, podem exigir uma dose diária mais alta de insulina glargina U-300 para alcançar o controle glicêmico (45). Ao alternar da insulina NPH duas vezes ao dia, a dose inicial de insulina glargina U-300 recomendada é de 80% da dose diária total de insulina (45). A dose da insulina glargina U-300 pode ser ajustada de acordo com a necessidade individual de cada paciente, a dose varia entre 1 a 80 unidades por injeção (45).

Muitas pessoas com diabetes tipo 1 ou 2 podem se beneficiar do uso da glargina U-300, como pessoas com alto risco de hipoglicemia ou com altas taxas de eventos hipoglicêmicos, indivíduos que requerem mais de uma dose

diária de insulina basal ou pessoas que precisam de flexibilidade no momento da administração da insulina (39).

A principal função da insulina glargina, como outras insulinas, é a regulação do metabolismo da glicose, ela também melhora a síntese de proteínas e inibe a lipólise e a proteólise (25). O efeito da insulina glargina U-300 em sua absorção, distribuição, metabolismo e excreção, de acordo com a idade, raça e sexo não foram avaliados. Se houver algum efeito, na obesidade, ou pacientes com insuficiência renal ou hepática, as propriedades farmacocinéticas dessa insulina não foram avaliadas, porém pacientes com essas comorbidades que recebem a glargina U-300 podem exigir monitoramento frequente da glicose e ajuste da dose (45). Também não há estudos, até o momento, sobre a segurança em pacientes gestantes, em lactação ou população pediátrica (40).

Como todos os produtos de insulina, há drogas que causam interações com seu uso simultâneo, como agentes que podem aumentar o risco de hipoglicemia (ex. agentes antidiabéticos e antibióticos sulfonamidas), agentes que podem causar hiperglicemia, diminuindo os efeitos da insulina (ex. corticosteróides), agentes que podem diminuir ou aumentar os efeitos da insulina ou aqueles que mascaram sintomas de hipoglicemia (ex. beta bloqueadores) (46).

3.6. INSULINA GLARGINA 300 U/mL EM CÃES E GATOS

A glargina U-300 é usada em pessoas, mas existem poucos dados sobre seu uso em cães e gatos. Não foram encontrados, até o presente momento, estudos sobre o uso da insulina glargina U-300 em cães em gatos com diabetes mellitus. Também não há relatos, até o momento, de uso de formulações de insulina como substituto de insulina basal em cães diabéticos.

Foi realizado um estudo para comparar a farmacocinética e farmacodinâmica das insulinas glargina U-300 e Detemir em cães saudáveis, levantando a hipótese de que após a administração subcutânea de doses molares equivalentes, a insulina glargina U-300 teria maior duração de ação e perfil de ação inicial comparado com a insulina detemir, tornando-a mais

adequada como uso diário em cães diabéticos. Como resultado, a insulina detemir proporcionou um perfil de tempo de ação mais previsível e maior ação e concentração total de insulina ao longo do tempo, comparada com a glargina U-300, administradas na mesma dosagem molar. A insulina glargina parecia ter um tempo de ação menos variável e levou mais tempo para iniciar a ação, comparada com a detemir. Ambas foram bem toleradas e não associadas com nenhuma reação adversa durante o estudo. A glargina U-300 foi detectada na maioria dos cães durante um período de 24 horas de estudo e levou à supressão de insulina endógena por até 16 horas. A concentração média total de insulina detemir foi significativamente maior que a glargina e isso sugere que a dose relativa necessária para obter efeito metabólico semelhante é maior para a insulina glargina comparada com a detemir. A farmacocinética e farmacodinâmica da glargina U-300, nesse estudo, sugere seu uso a cada 24 horas (uma vez ao dia) em cães. A dose dessa insulina usada nesse estudo foi de 0,4U/kg, e não houve mudanças na glicose sanguínea e com base nesses resultados uma dose maior deveria ser investigada para o tratamento de cães diabéticos. Esse estudo concluiu que a insulina detemir apresentou menor variabilidade inter-paciente que a insulina glargina U-300, administrada na mesma dosagem. A insulina glargina U-300 pode ser mais adequada do que a insulina detemir como insulina uma vez ao dia em alguns cães, com base em sua longa duração de ação e perfil farmacocinético. Porém, esse estudo possui limitações que incluem o número pequeno de amostra e o uso de cães saudáveis para a avaliação da eficácia da insulina para uso em cães com diabetes mellitus (37).

Outro estudo foi realizado para comparar a farmacocinética e farmacodinâmica das insulinas degludec e glargina U-300 em gatos saudáveis. O objetivo principal do estudo foi avaliar se a degludec teria um tempo de ação mais prolongado e sem variação, quando comparada com a glargina U-300. Esse foi o primeiro trabalho publicado em gatos com uso da glargina U-300 e sua comparação com a degludec. Os autores não observaram diferenças entre as duas insulinas em relação ao início de ação, pico de ação e efeito metabólico total, mas o tempo de pico de ação, tempo final de ação e duração de ação da insulina glargina U-300 foi maior. Esse estudo sugeriu que a

glargina U-300 não apresenta pico evidente e assim observa-se maior tempo de ação e menor variabilidade interindividual. Não foram observados efeitos adversos ou reações no local da injeção de ambas as formulações de insulina usadas. Como limitações, o estudo inclui reduzido número de animais avaliados e apenas gatos machos com excesso de peso foram incluídos. Outra limitação potencial foi o uso de dexmedetomidina, um agonista alfa 2, utilizado para sedar os gatos antes de cada experimento, e este fármaco pode alterar o metabolismo da glicose (47).

4. DISCUSSÃO

O suprimento exógeno de insulina é necessário constantemente para o tratamento do diabetes em cães e gatos. Há grandes variações de tipos de insulina disponíveis, mas é importante entender as diferenças entre as preparações e seu uso para minimizar erros. A glargina U-300 é uma opção viável de insulina basal para o tratamento de pacientes com diabetes mellitus, pois resulta em menor volume por injeção e segundo os estudos, menor frequência de episódios de hipoglicemia e um pouco menos de ganho de peso foram observados quando comparado ao tratamento com a glargina U-100. A glargina U-300 oferece perfis farmacocinéticos e farmacodinâmicos mais previsíveis que poderiam oferecer benefícios terapêuticos significativos em pacientes de difícil controle com diabetes mellitus, principalmente para pacientes que tem dificuldade em administrar a insulina basal no mesmo horário todos os dias. São necessários mais estudos para avaliar completamente os efeitos em longo prazo e o perfil de segurança da glargina U-300, no entanto, parece ser uma opção segura e eficaz para os produtos de insulina basal.

Há grande quantidade de estudos na literatura médica e médica veterinária referente ao diabetes mellitus e terapia insulínica, porém ainda há poucos trabalhos sobre o análogo de insulina basal glargina U-300 e nenhum referente ao uso dessa formulação para cães e gatos com diabetes. Em pequenos animais foram encontrados, até o momento, apenas 2 trabalhos referentes ao uso dessa nova formulação de insulina. Ambos os estudos avaliaram um numero pequeno de animais e que não eram diagnosticados com

diabetes mellitus, e sim eram animais saudáveis. Portanto, mais estudos são necessários para determinar uma dose clinicamente relevante e a possibilidade de usá-lo como insulina uma vez ao dia.

5. REFERÊNCIAS

- 1- SIMÕES, D.M.N. Diabetes Mellitus em Gatos. In: JERICÓ, M.M.; A. NETO, J.P.; KOGIKA, M.M. Tratado de Medicina Interna de Cães e Gatos. Rio de Janeiro: Roca, 2015. Cap. 192. P. 1736-1746.
- 2- BEHREND, E. et al. 2018 AAHA Management Guidelines for Dogs and Cats. Journal of the American Animal Hospital Association 2018 54: 1-21.
- 3- SPARKES, A.H. et al. ISFM Consensus Guidelines on the Practical Management of Diabetes Mellitus in Cats. Journal of Feline Medicine and Surgery, 2015. 17, 235-250.
- 4- HOENIG, M; REUSCH, C; PETERSON, M.E. B cell and insulin antibodies in treated and untreated diabetic cats. Veterinary Immunology and Immunopathology, 2000. 32, 195-203.
- 5- HALL, D.G; KELLEY, L.C; GRAY, M.L; GLAUS, T.M. Lymphocytic inflammation of pancreatic islets in a diabetic cat, 1997. Journal of Veterinary Diagnostic Investigation, 9. 98-100.
- 6- NELSON, R.W; REUSCH, C. Classification and etiology of diabetes in dogs and cats. Journal of Endocrinology 2014. 222, T1-T9.
- 7- RAND, J.S; FLEEMAN, L.M; FARROW, H.A; APPLETON, D.J; LEDERER, R. Canine and Feline diabetes mellitus: nature or nurture?. J Nutr. 2004; 134:2072S-80S.
- 8- VERKEST, K.R; RAND, J.S; FLEEMAN, L.M; MORTON, J.M. Spontaneously obese dogs exhibit greater postprandial glucose, triglyceride, and insulin

concentrations than lean dogs, 2012. Domestic animal endocrinology, v42, p. 103-112.

9- KOENIG, A. Endocrine Emergencies in dogs and Cats. Vet Clin Small Anim 2013. 43: 869-897.

10- GILOR, V; GRAVES, T.K; LASCELLES, B.D.X; THOMSON, A.E; SIMPSON, W. The effects of body weight, body conditions score, sex and age on serum fructosamine concentrations in clinically healthy cats. Vet Clin Pathl. 2010; 39(3): 332-8.

11- WHITE, J.R. A brief history of the development of diabetes medications, 2014. Diabetes Spectrum, 27(2), 82-86.

12- MADISON, J.H. Manufacturing pharmaceuticals: Eli Lilly and Company. 1989. Bus Econ Hist 18: 72-78.

13- JENSEN, H; WINTERSTEINER, O; DU VIGNEAUD, V. Studies on crystalline insulin IV, the isolation of arginine, histidine, and leucine. 1928. J. Pharmacol Exp Ther 32(5): 387-396

14- NICOL, D.S; SMITH, L.F. Amino-acid sequence of human insulin. 1960. Nature 187: 483-485.

15- GRODSKY, G.M; FORSHAM, P.H. Insulin and the pancreas. 1966. Annu Rev Physiol. 28: 347-380.

16- MARKUSSEN, J. The advent of human insulin in diabetes therapy. Medicografica 1982; 4(1): 39-44.

17- STEINER, D.F. Evidence for a precursor in the biosynthesis of insulin. 1967. Trans N Y Acad Sci 30(1): 60-68.

18- CHANCE, R.E; KROEFF, E.P; HOFFMANN, J.A; FRANK, B.H. Chemical, physical, and biologic properties of biosynthetic human insulin. 1981. Diabetes care 4(2): 147-154.

19- KJELDSEN, T. Yeast secretory expression of insulin precursors. 2000. Appl Microbiol Biotechnol 54(3): 277-286.

- 20- BAKER, E.N; BLUNDELL, T.L; CUTFIELD, J.F; CUTFIELD, S.M; DODSON, E.J; DODSON, G.G; HODGKIN, D.M; HUBBARD, R.E; ISAACS, N.W; REYNALDS; C.D; SAKABE, K; SAKABE, N; VIJAIAN, N.M. The structure of 2Zn pig insulin crystals at 1.5 Å resolution. 1988. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 319 (1195):369-456.
- 21- MARKUSSEN, J; HAVELUND, S; KURTZHALS, P, et al. Soluble, fatty acid acylated insulins bind to albumin and show protracted action in pigs. *Diabetologia* 1996; 39(3): 281-288.
- 22- DODSON, G; STEINER, D. The role of assembly in insulin's biosynthesis. *Curr Opin Struct Biol*. 1998. 8(2): 189-194.
- 23- GUO,H; XIONG, Y; WITKOWSKI, P; CUI, J; WANG, L.J; SUN, J; LARALEMUS, R; HAATAJA, K; HUTCHISON, K; SHAN, S.O; ARVAN, P; LIU, M. Inefficient translocation of preproinsulin contributes to pancreatic beta cell failure and late-onset diabetes. 2014. *J Biol Chem* 289(23): 16290-16302.
- 24- LIU, M; RAMOS-CASTANEDA, J; ARVAN, P. Role of the connecting peptide in insulin biosynthesis. 2003. *J Biol Chem* 278(17): 14798-14805.
- 25- DUNN, C.J; PLOSKER, G.L; KEATING, G.M, et al. Insulin glargine: an update review of its use in the management of diabetes mellitus. *Drugs* 2003; 63(16): 1743-78.
- 26- AHMAD, K. Insulin sources and types: a review of insulin in terms of its mode on diabetes mellitus. *Journal of Traditional Chinese Medicine* 2014 15; 34(2): 234-237.
- 27- GEHO, W.B. The importance of the liver in insulin replacement therapy in insulin-deficient diabetes. 2014. *Diabetes* 63(5): 1445-1447.
- 28- POSNER, B.I. Insulin signaling: the inside story. *Canadian journal of diabetes*, 2017. 41: 108-113.
- 29- SALTIEL, A.R; KAHN, C.R. Insulin signaling and the regulation of glucose and lipid metabolism. 2001. *Nature* 414(6865): 799-806.

- 30- GUERCI, B; SAUVANET, J.P. Subcutaneous insulin: pharmacokinetic variability and glycemic variability. *Diabetes Metab* 2005; 31: 4S7-4S24.
- 31- MUDALIAR, S.R; LINDBERG, F.A; JOYCE, M. Insulin aspart (B28 asp-insulin): a rapidly absorbed analogue of human insulin. *Diabetes* 1994; 43 (3): 396-402.
- 32- ROSSKAMP, R.H; PARK, G. Long-acting insulin analogs. *Diabetes care* 1999.; 22 Suppl 2: B109-B113.
- 33- FREELAND, B; FARBER, M.S. A review of insulin for the treatment of diabetes mellitus. *Home healthcare now*, 2016. 34(8): 416-423.
- 34- ELLIOT, J; REECE, S. Insulin therapy; New options. *Practical Diabetology*, 2015. 34(4), 15-17.
- 35- AFREZZA [Package Insert]. (2015). Bridgewater, NJ: Sanofi-Aventis, LLC.
- 36- MUSSO, C; CAPURRO, L; MINGOTE, E; FORTI, L; GUAITA, M.S. Nueva generación de insulinas : Glargina U300. *Resumen de evidencia clinica. Medicina*, 2019. V 79 (4): 241-250.
- 37- FINK, H; HERBERT, C; GILOR, C. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of insulin detemir and insulin glargine 300U/ml in health dogs. *Domestic Animal Endocrinology* 64 (2018), 17-30.
- 38- KUERZEL, G.U; SHUKLA, U; SCHOLTZ, H.E, et al. Biotransformation of insulin glargine after subcutaneous injection in healthy subjects. *Curr Med Res Opin.* 2003; 19:34-40.
- 39- URICOECHIA, H.V. Efficacy and safety of insulin glargine 300U/ml versus 100 U/ml in diabetes mellitus: A comprehensive review of the literature. *Journal of diabetes research*, 2018.
- 40- CLEMENTS, J.N; THREATT, T; WARD , E; SHEALY, K.M. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of insulin glargine 300U/ml. *Clinical Pharmacokinetics*, vol 56. No 5, pp 449-458, 2016.

41- BECKER, R.H; NOWOTNY, I; TEICHERT, L; BERGMANN, K; KAPITZA, C. Low within-and between-day variability in exposure to new insulin glargine 300U/ml. *Diabetes Obes Metab* 2015; 17: 261-7.

42- HEISE, T; NORSKOV, M; NOSEK, L; KAPLAN, K; FAMULLA, S; HAAHR, H.L. Insulin degludec: lower day-to-day and within-day variability in pharmacodynamics response compared with insulin glargine 300U/ml in type 1 diabetes. *Diabetes Obes Metab* 2015; 17:859-67.

43- ELIASCHEWTIZ, F.G; BARRETO, T. Concepts and clinical use of ultra-long basal insulin. *Diabetol Metabol Syndr* 2016; 8:2.

44- European Medicines Agency. Toujeo (insulin glargine U300): summary of product characteristics. 2015.

45- Sanofi-Aventis US LLC. Prescribing information for Toujeo (insulin glargine injection)U-300. 2015.

46- Toujeo (insulin glargine) [prescribing information]. Bridgewater: Sanofi-Aventis; 2015.

47- GILOR, C; CULP, W; GHANDI, S; SILVA, J.A.C.E; LADHAR, A; HULSEBOSCH, S. Comparison of pharmacodynamics and pharmacokinetics of insulin degludec and insulin glargine 300U/ml in healthy cats. *Domestic Animal Endocrinology* 69 (2019) 19-29.