

Actualización en el tratamiento del insulinooma canino

Marta Morales Bracero L.V.¹, Ricardo Ruano Barneda L.V.²

¹Hospital Veterinaria IVC Evidencia.

²H.V. Mediterráneo IVC Evidencia Acred. Oncología GEVONC-AVEPA

Palabras clave: insulina, hipoglucemia, toceranib fosfato

Introducción

El insulinoma es un tumor pancreático muy raro en humanos, menos de un 5% de las neoplasias malignas pancreáticas¹,(siendo en esta especie, normalmente solitarios y benignos en un 90% de los casos) y existen muy pocos casos reportados en gatos. En los perros es poco frecuente y de mayor malignidad. Existen razas predispuestas como son el labrador retriever, golden retriever, bóxer, pastor alemán, setter irlandés, caniche o razas mestizas, aunque también puede darse en razas pequeñas con una sobreexpresión del westhilland white terrier. La edad media de presentación es en torno a los 10 años.

Recuerdo anatómico

El páncreas se divide en dos regiones anatómicas y funcionales:

1. **Los acini**, que secretan jugos digestivos en el duodeno (función exocrina).
2. **Los islotes de Langerhans**, que secretan insulina y glucagón directamente hacia la sangre (función endocrina). Estos islotes suponen solamente entre el 1 y el 2% del volumen del órgano y están formados por distintos tipos de células, siendo las más importantes:
 - Las células *alfa*, encargadas de la producción de glucagón. Suponen el 25% de los islotes, situándose en su periferia.
 - Las células *beta*, encargadas de la secreción de la insulina. Se sitúan en el centro de los islotes y suponen el 60% de sus células.
 - Las células *delta*, que producen la somatostatina. Suponen un 10% del total de células de los islotes, con múltiples funciones como son: deprimir la secreción de insulina y glucagón, disminuye la motilidad del estómago, duodeno y vesícula biliar, así como disminuir la tasa de digestión y absorción de nutrientes a nivel del intestino.
 - Células F o PP: En pequeñas cantidades, productoras del polipéptido pancreático que ayuda a la regulación del resto de sustancias.

Los insulinomas, son tumores de las células beta que tienen la característica principal de ser funcionales, es decir, producen un exceso de

insulina, lo que se traduce en sintomatología de hipoglucemia.

En cuanto a la localización en el páncreas, no hay mayor predisposición en el lóbulo derecho o izquierdo, aunque sí es menos frecuente que aparezcan en el cuerpo pancreático. Un 15% de los casos puede tener presentación múltiple.

Signos clínicos

La presentación clínica de un insulinoma está relacionada con la hipoglucemia que genera. Además, hay otras circunstancias en las que podemos encontrarnos con hipoglucemias y que debemos contemplar en el diagnóstico diferencial:

- Errores laboratoriales:
 - Frecuente cuando se procesa la muestra después de un tiempo prolongado tras la extracción, siendo la glucosa consumida por los eritrocitos. Es necesario realizar la medición en el momento de la extracción bien si disponemos de laboratorio interno en el centro o con un glucómetro.
 - Cuando se remite a un laboratorio externo en tubos no adecuados para la medición de glucosa en lugar de tubos con fluoruro de sodio agregado (previene efectivamente el metabolismo del azúcar en la sangre).
- Latrogénicas: por administración inadecuada de insulina en pacientes diabéticos o intoxicaciones que producen un aumento de liberación de insulina: Xilitol, aspirina en altas dosis y beta-bloqueantes.
- Aumento del consumo o disminución de la producción de glucosa: sepsis, shunt portosistémico, insuficiencia hepática avanzada, enfermedades del almacenamiento del glucógeno, hipoadrenocorticismos.
- Neoplasias no pancreáticas: tumores que secretan sustancias similares a la insulina (insulin-like), como pueden ser los carcinomas hepático, salivar, pulmonar o el melanoma oral entre otros. considerándose la hipoglucemia, en este caso, un síndrome paraneoplásico.

Es importante que en el momento de una hipoglucemia severa se tome una muestra para mandar a laboratorio y medir la insulina sérica.

Si los niveles de esta están normales, entre un 5-25 $\mu\text{U/ml}$ (aunque estos valores varían según los rangos de referencia de cada laboratorio), o elevados, estaremos ante un diagnóstico probable de insulinoma.

Los signos clínicos son el resultado de los efectos de la hipoglucemia en el sistema nervioso, denominado neuroglucopenia, normalmente con valores de menos de 60mg/dl. En un estudio retrospectivo publicado por Goutal *et al.* en el año 2012², sobre 204 perros con insulinoma, se comprobó que prácticamente 2 tercios de los pacientes padecían convulsiones. Con menos frecuencia se encontraron otros síntomas como debilidad, colapso, claudicación del tercio posterior, ataxia, fasciculaciones musculares, letargia, alteraciones del comportamiento, polifagia, polidipsia-poliuria y ganancia de peso.

En otro estudio publicado por Ryan *et al* en el 2021³, se describen los síntomas de 116 perros con insulinoma concluyendo que estos signos son vagos e inespecíficos. La debilidad, los ataques epilépticos y los cambios en el estado mental o el comportamiento son los más comunes, existiendo en menor medida otros como los descritos anteriormente.

Es habitual que los síntomas neurológicos se incrementen tras el ejercicio y que mejoren, e incluso desaparezcan, tras la ingesta de comida. Estos signos pueden ser menos pronunciados cuando la hipoglucemia se cronifica y los pacientes pueden estar clínicamente normales incluso con hipoglucemias significativas.

Diagnóstico

El diagnóstico definitivo se apoya en distintas pruebas tanto laboratoriales, de imagen y de anatomía patológica.

Diagnóstico laboratorial

La confirmación del diagnóstico se basará en la documentación de niveles de glucosa <60mg/dl con concentraciones de insulina normales o aumentadas de forma concomitante.

En el caso de que no se haya podido realizar la toma de muestra para la medición de insulina en el momento de la hipoglucemia, se puede:

- Provocar, por medio de ayuno controlado, una hipoglucemia. Tiene el riesgo que produzca síntomas neurológicos severos.
- Por medio de la estimulación con glucagón intravenoso, se produce una alta producción de insulina para contrarrestarla. Hay que tener cuidado con que no se produzca una hipoglucemia severa.
- Con la estimulación con glucosa se produce, de manera secundaria un aumento de la producción de insulina. Esta prueba está en desuso, ya que si se hace por vía intravenosa el riesgo de hipoglucemia severa es muy alto, y si se hace por vía oral depende mucho de la absorción intestinal.

Se debe sospechar de insulinoma si el paciente tiene una glucosa inferior a 60mg/dl junto a una insulina superior a 10 mcu/ml. Hay una fórmula, que es el cociente insulina:glucosa (**I:C= Insulina sérica (mU/ml) x10/glucosa sangre (mg/dl)-30**). Si el resultado es superior a 30, se considera que hay un insulinoma. Sin embargo, no se recomienda su uso pues no aumenta la precisión diagnóstica (Goutal *et al.*, 2012²).

En cuanto al resto de valores analíticos podemos encontrar analíticas de sangre y orina normales o:

- Leve hipocalemia
- Leve aumento de FAS y GPT
- Fructosamina: baja en hipoglucemia crónicas (2 semanas de duración)

Diagnóstico por imagen

La **ecografía abdominal**, a pesar de no ser muy sensible para diagnosticar la lesión primaria, en caso de detectarse una lesión sospechosa en el páncreas, es útil para tomar una muestra con punción-aspiración con aguja fina, ecoguiada. (**Figura 1**).

El éxito de la obtención de la muestra dependerá de la habilidad del ecografista, la grasa corporal y el tamaño de las lesiones (habitualmente pequeñas).

Según un estudio publicado por Cordner *et al* en el año 2015⁴, la eficacia diagnóstica de la citología de páncreas es del 73% y presentaron

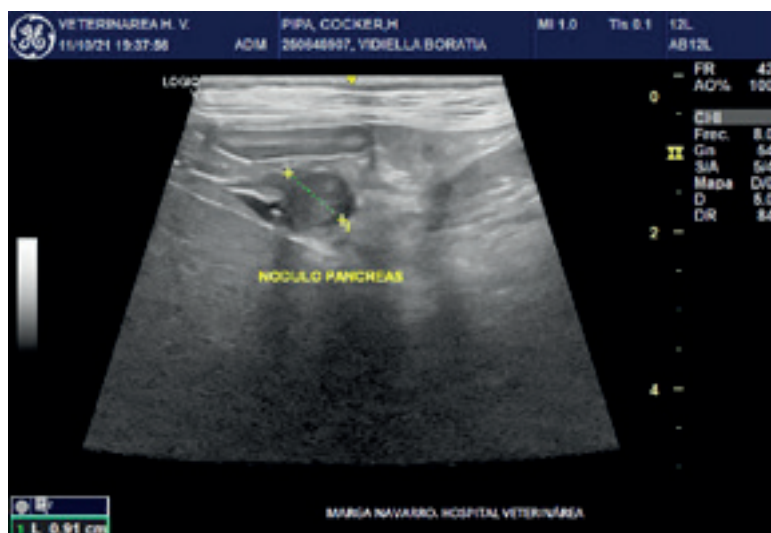


Figura 1. Imagen ecográfica de un Insulinoma.

una baja tasa de complicaciones. Para minimizar esas complicaciones y la posible hemodilución, se debe tomar la muestra con el animal sedado y no realizar aspiración ni movimientos laterales de la aguja. En medicina humana, se considera que menos de un 1% de las punciones de páncreas producen pancreatitis.

La **ecografía** también es muy útil en la búsqueda de lesiones metastáticas. A diferencia de lo que ocurre en los insulinomas que se desarrollan en la especie humana, en los perros tienen un comportamiento maligno, presentando enfermedad diseminada en un 50% de las ocasiones, normalmente en hígado o en ganglios esplénicos y hepáticos.

La realización de **una tomografía computarizada (TC) (Figura 2)** sería el siguiente paso para la confirmación del diagnóstico y el estadiaje del tumor⁵, o cuando la ecografía no sea diagnóstica, pero se tengan sospechas debido al cuadro clínico. Esta técnica también tiene sus limitaciones, ya que, aunque aumenta la sensibilidad, los insulinomas captan contraste de manera pobre en la fase venosa, siendo mucho mejor la fase arterial. Además, puede haber falsos positivos en cuanto a la detección de metástasis.

Las metástasis pulmonares son raras, pero, aun así, como en cualquier proceso oncológico, se debe realizar un **estudio radiográfico en tres proyecciones de la cavidad torácica** para detección de posibles lesiones metastáticas, y además como parte del procedimiento preoperatorio.

Diagnóstico citológico

El **diagnóstico citológico** nos mostrará una citología típica de un tumor neuroendocrino, con grupos celulares con apariencia de núcleos desnudos sobre un fondo basófilo. Si se ve alguna célula intacta, presenta límites poco definidos núcleo excéntrico y microvacuolas, y nucléolos muy definidos. (Figuras 3 y 4).

El estudio de Cordner *et al.*⁴ en 92 perros a los que se realizó una punción aspiración con aguja fina del páncreas, concluyó en que ésta generaría un 73.5% de eficiencia diagnóstica con efectos adversos muy poco frecuentes.

Estadio clínico

En cuanto al estadio clínico podemos tener en cuenta las recomendaciones de la OMS.

Estadio clínico de Insulinomas (OMS)	
Estadio 1	Afectación exclusiva del Páncreas
Estadio 2	Metástasis en los ganglios regionales
Estadio 3	Metástasis a distancia

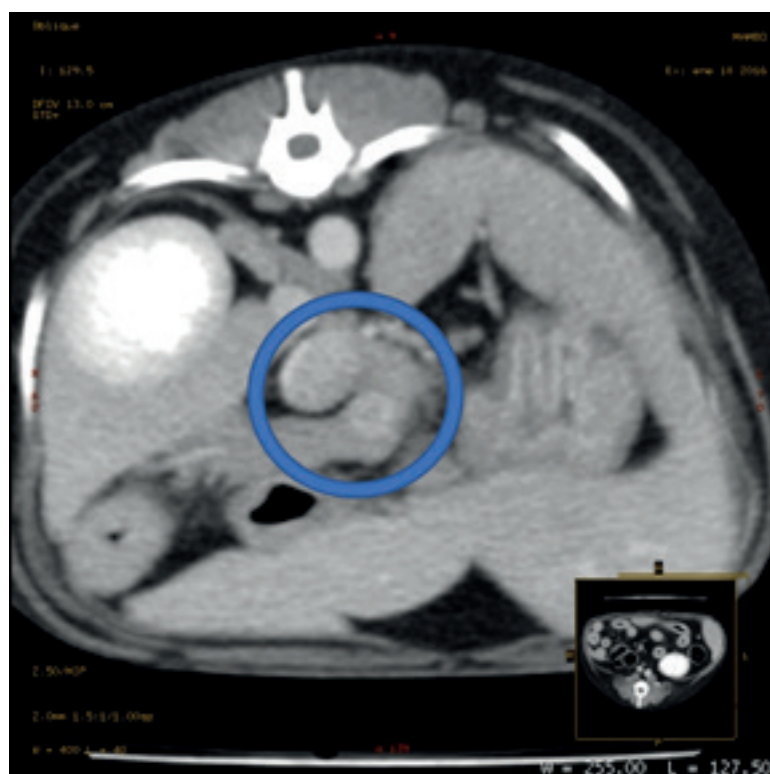


Figura 2. Imagen de un insulinoide en una TC.

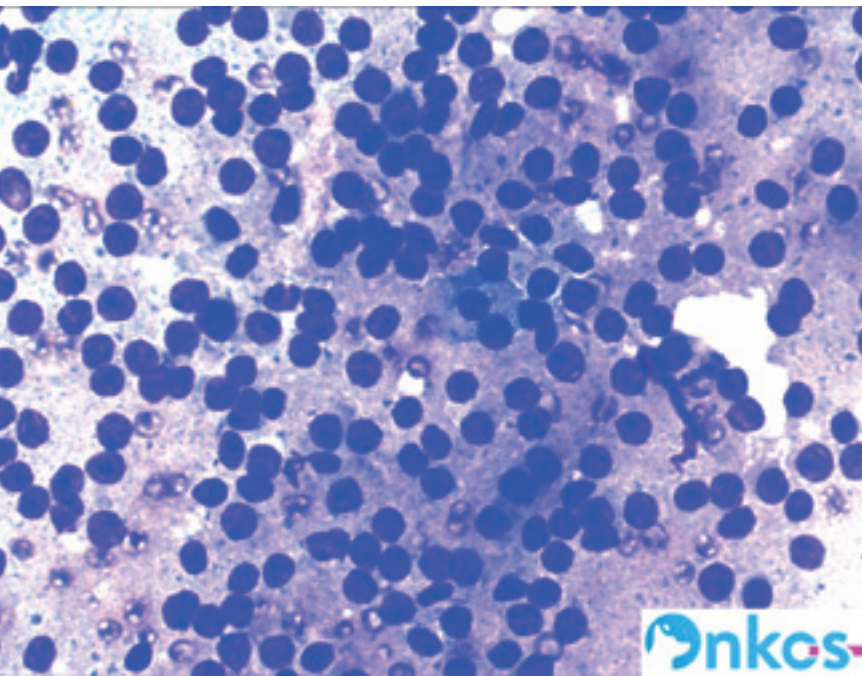


Figura 3. Citología de un insulinoma (Gentileza Onkos).

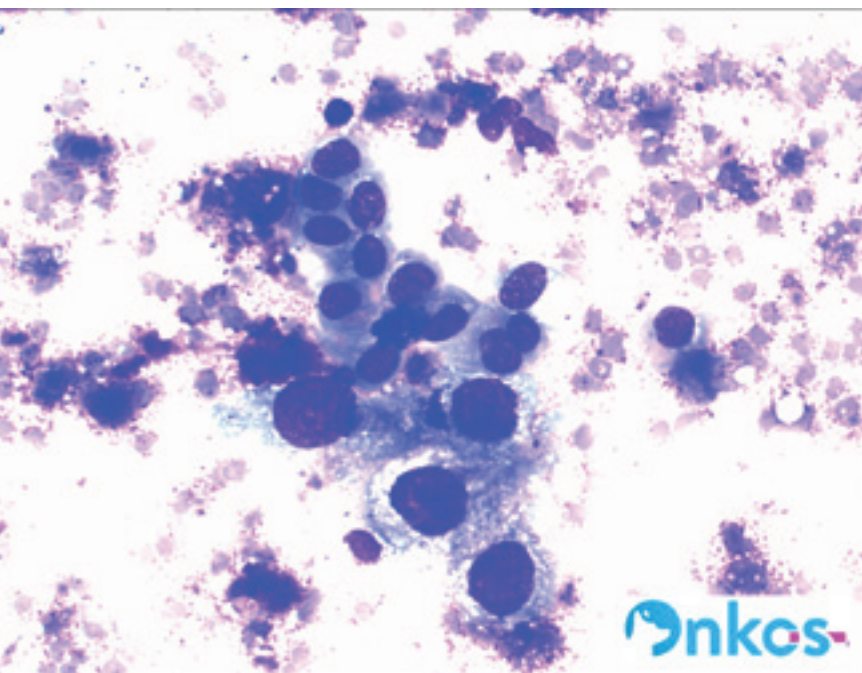


Figura 4. Citología de un Insulinoma (Gentileza Onkos).

Manejo clínico

El tratamiento tiene tres componentes: **médico, dietético y quirúrgico.**

Tratamiento médico de la hipoglucemia

Si el paciente se presenta de urgencia con hipoglucemia, lo primero que hay que hacer es corregirla. Si es posible, y la urgencia lo permite, se debe guardar un muestra de sangre para la obtención de suero y remitir a nuestro laboratorio de referencia para evaluar la insulina sérica. Para ello se usan bolos intravenosos de glucosa. Hay que tener en cuenta que el aumento de glucosa en sangre produce un aumento de la insulina, por lo que habrá una hipoglucemia posterior. Por eso, los bolos deben ir seguidos de una infusión continua de dextrosa al 5%.

También está indicado el glucagón para el control de las hipoglucemias en caso de que no se logren controlar. En un estudio retrospectivo de Datte *et al.* del año 2016⁶, se comprobó que unos bolos de 50 ng/kg de glucagón, seguidos de una infusión de 15 ng/kg/min, consiguen normalizar la glucemia en pacientes hipoglucémicos de manera segura.

Para el manejo a medio plazo de la hipoglucemia se utiliza:

- Prednisona a una dosis entre 0,5 a 4mg/k, en dosis ascendente según sea necesario, una o dos veces al día. Se ha de utilizar la dosis mínima eficaz.
- Diazóxido: Es un fármaco que inhibe la producción de insulina, estimula la gluconeogénesis y la glucogenólisis. La dosis inicial es de 5mg/kg/12h, y se puede incrementar hasta 40mg/Kg/12h. Según Goutal *et al.*, 2012², la tasa de respuesta es del 70%. El inconveniente es que es un fármaco de un alto costo y las dosis alcanzan habitualmente cantidades muy elevadas, lo que condiciona mucho su utilización junto a su no comercialización en España.
- Octreótido: Es un análogo sintético de la somatostatina que inhibe la producción de hormona del crecimiento y de la insulina. La dosificación es de 20 a 40 ug/kg SC 2 o 3 veces al día. La tasa de respuesta es del 50%.

Tratamiento dietético

La **terapia dietética** pre y post cirugía, es un pilar importante para el control de la glucemia dentro del tratamiento de los insulinomas, y requiere un grado de compromiso por parte del propietario ya que hay que dar tomas de comida pequeñas y frecuentes, rica en proteínas y en hidratos de carbono de absorción lenta. Además, hay que evitar ejercicios intensos y situaciones estresantes. En caso de síntomas de hipoglucemia el propietario puede usar miel, sirope o similares.

Tratamiento quirúrgico

El tratamiento idóneo del tumor, como suele ocurrir en la mayoría de los casos en los que nos encontramos con tumores sólidos, es la **extirpación quirúrgica** del mismo y está indicado en perros con hipoglucemia y concentraciones de insulina elevadas independientemente de los resultados de las pruebas de imagen, ya que en algunos casos las lesiones son muy pequeñas y difíciles de detectar y así se reduciría la producción de insulina.

Es importante el control del dolor durante la cirugía y los días posteriores por lo que es recomendable contar con anestesista con experiencia en la aplicación de fármacos epidurales.

Se explorará detenidamente el páncreas en busca de lesiones nodulares discretas, en algunos casos, solo detectables por palpación. Es imprescindible también revisar el resto del abdomen en busca de lesiones diseminadas ya que es frecuente (50% de las ocasiones) que no se hayan diagnosticado previamente. (**Figura 5**).

Debido al riesgo de producirse una hipoglucemia antes o en el momento de la extirpación del tumor, es imprescindible que no se realice un ayuno prolongado antes de la cirugía dejando, como mucho, 2 o 3 horas de suspensión de alimento con administración de dextrosa al 5% previa y durante la cirugía. Durante la misma, se realizarán mediciones de glucosa ya que puede que al retirar el tumor se produzca una hiperglucemia debiendo cambiar los fluidos a una solución clorurada simple.

De forma convencional, se realiza una pancreatometomía parcial de la zona afectada incluyendo



Figura 5. Nódulo en páncreas.

parte del tejido sano o, en caso de no detectar lesiones, se realiza en uno de los lóbulos pancreáticos con el fin de mantener la funcionalidad y evitar la insuficiencia pancreática tanto endocrina como exocrina⁷. La cirugía puede realizarse mediante disección intracapsular y ligadura o usando un dispositivo de sellado de vasos. Sobre la retirada de las lesiones metastásicas, se debe intentar extirpar tanta enfermedad metastásica como sea posible, aunque esto puede aumentar las complicaciones postoperatorias.

Dentro de los cuidados postoperatorios es necesario el uso de antieméticos (metoclopramida, maropitant, ondansetrón), para evitar vómitos secundarios a la pancreatitis que se le ha producido y es imprescindible tener un adecuado control de la glucemia realizándose mediciones cada hora durante las seis primeras horas y posteriormente cada 2 o 4 horas en función del estado del paciente.

Lo más frecuente es que aparezca una hiperglucemia postquirúrgica transitoria que suele controlarse con fluidos sin glucosa, pero si los niveles

de glucosa son superiores a 360 mg/dl y no se controlan con los fluidos, se deberá utilizar insulina de acción lenta a una dosificación de 0,25 UI/kg/cada 12 o 24 horas. Esto se produce porque las células beta del páncreas se encuentran con su funcionalidad disminuida a causa del insulinoma y todavía no han recuperado su actividad normal. En algunos casos, este proceso es irreversible ya sea por esa atrofia, o bien secundario al desarrollo de una pancreatitis postoperatoria, provocándose una diabetes mellitus secundaria.

Es probable que si existen lesiones metastásicas secundarias, que no han sido extirpadas, se mantenga la hipoglucemia teniendo un peor pronóstico y habiendo de mantener el tratamiento dietético y la administración de corticoides de forma crónica con un tiempo de supervivencia inferior.

Otras complicaciones postquirúrgicas que pueden aparecer son trastornos de coagulación, arritmias ventriculares, sepsis, leucopenias o síncope⁸.

Tratamiento médico postquirúrgico

Es recomendado, por tratarse de una patología con una alta tasa de metástasis, tanto en paciente no operados, como en los que se ha realizado la resección de las lesiones.

La terapia se basa principalmente en el **manejo de la hipoglucemia**, como hemos descrito anteriormente y en combatir el avance del tumor.

La **quimioterapia** está basada en agentes citotóxicos para destruir las células beta del páncreas destacando entre ellos la estreptozocina. Se trata de una nitrosourea que tiene efecto citotóxico específico sobre las células beta, lo que puede inducir una diabetes secundaria. Al ser un fármaco nefrotóxico, requiere de una fluidoterapia intensa con solución salina isotónica y, según un estudio de Northup *et al.*, publicado en 2013⁹, son frecuentes los efectos secundarios digestivos, sobre todo la emesis.

Como **terapia dirigida** la utilización del Toceranib fosfato, un inhibidor de la tirosina quinasa, está demostrando respuesta en el tratamiento de los tumores neuroendocrinos, entre ellos en el insulinoma, como ha sido reportado en De la Riba *et al.*, 2016¹⁰, Sheppard-Olivares *et al.*, 2019¹¹, Flesner *et al.*, 2019¹² y Alonso de Miguel *et al.*, 2021¹³).

Se ha demostrado que los tumores neuroendocrinos expresan objetivos del fosfato de toceranib como el receptor de factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) y el receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF).

La secreción anormal de insulina está asociada a los defectos en la estructura de la vasculatura de los islotes pancreáticos, modificados a través de la señalización del VEGF-A. El aumento transitorio de la producción de VEGF-A por parte de las células beta da lugar a un aumento de las células endoteliales intrainsulares y a una reducción del número de células beta. En estos islotes, la eliminación del estímulo del VEGF-A da lugar a la normalización de la masa, la función y la estructura de las células beta. Es posible que el toceranib también produzca una normalización de la función de las células beta en el insulinoma; sin embargo, se desconoce el mecanismo exacto.¹¹

Los beneficios clínicos de la inhibición de la tirosina quinasa en los tumores neuroendocrinos se vieron demostrados en un ensayo de fase 3 aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo de sunitinib, el fármaco análogo de toceranib, en pacientes humanos con tumores neuroendocrinos de páncreas avanzados. Se observó un aumento significativo de la supervivencia sin progresión, de la tasa de respuesta del tumor y una menor tasa de riesgo de muerte¹¹.

Basándose en estos datos y en el origen neuroendocrino del insulinoma, se teorizó que el fosfato de toceranib sería un tratamiento eficaz para el insulinoma canino.

Tanto en el estudio realizado por Sabina Sheppard-Olivares¹¹, como en los casos reportados por De la Riva¹⁰, se observa un aumento en el tiempo de supervivencia y calidad de vida de los animales tratados con toceranib fosfato. Estos resultados podrían deberse al efecto antiangiogénico del fármaco, aunque faltan estudios estandarizados con un mayor número de casos para tener resultados concluyentes.

Pronóstico

Lo que podemos esperar en la evolución de un paciente con insulinoma, es un buen pronóstico a corto plazo, pero entre reservado a malo a largo plazo. Esto estará en función del estadio en que hayamos encontrado el caso y la posibilidad de haber realizado el tratamiento quirúrgico.

Los perros sometidos a cirugía tuvieron una mayor supervivencia global en comparación con los casos tratados médicamente, y los perros con metástasis tuvieron una menor supervivencia global independientemente de la modalidad de tratamiento.²

En cuanto al estadio, Caywood *et al.* publicaron en 1988¹⁴, un estudio en el que obtuvieron un tiempo libre de enfermedad de 14 meses en los pacientes de estadio 1 con cirugía, mientras que solo un 20% de los pacientes de estadios II y III alcanzaban esa cifra.

Por otro lado, Polton *et al.* publicaron un estudio en el año 2007¹⁵ en el que los pacientes que solamente recibieron prednisona o prednisona y diazóxido alcanzaron un tiempo de supervivencia de 196 días, frente a los que fueron sometidos a pancreatectomía parcial que alcanzaron una supervivencia media de 785 días. Además, si recibían cirugía y tratamiento médico, se alcanzó un tiempo de supervivencia de 1316 días. Los perros en estadio III tienen un tiempo de supervivencia significativamente más corto no superando el 50% de ellos, los seis meses.

Por tanto, la terapia médica resulta fundamental en pacientes con insulinoma sobre todo cuando los signos clínicos persisten o reaparecen tras la cirugía.

Bibliografía

1. Batcher, E., Madaj, P., & Gianoukakis, A. G. (2011). Pancreatic neuroendocrine tumors. *Endocrine research*, 36(1), 35-43.
2. Goutal, C. M., Brugmann, B. L., & Ryan, K. A. (2012). Insulinoma in dogs: a review. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 48(3), 151-163.
3. Ryan, D., Pérez-Accino, J., Gonçalves, R., Czopowicz, M., Bertolani, C., Tabar, M. D., ... & Suñol, A. (2021). Clinical findings, neurological manifestations and survival of dogs with insulinoma: 116 cases (2009-2020). *Journal of Small Animal Practice*, 62(7), 531-539.
4. Cordner, A. P., Sharkey, L. C., Armstrong, P. J., & McAteer, K. D. (2015). Cytologic findings and diagnostic yield in 92 dogs undergoing fine-needle aspiration of the pancreas. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, 27(2), 236-240.
5. Buishand, F. O., Vilaplana Grosso, F. R., Kirpensteijn, J., & van Nimwegen, S. A. (2018). Utility of contrast-enhanced computed tomography in the evaluation of canine insulinoma location. *Veterinary quarterly*, 38(1), 53-62.
6. Datte, K., Guillaumin, J., Barrett, S., Monnig, A., & Cooper, E. (2016). Retrospective evaluation of the use of glucagon infusion as adjunctive therapy for hypoglycemia in dogs: 9 cases (2005–2014). *Journal of Veterinary Emergency and Critical Care*, 26(6), 775-781.
7. Parra-Membrives, P., Martínez-Baena, D., Lorente-Herce, J., Jiménez-Riera, G., Sánchez-Gálvez, M. Á., Martín-Balbuena, R., & García-Vico, A. Diagnóstico y tratamiento de las complicaciones y secuelas de la cirugía pancreática. Evidencias y desavenencias. *Cirugía Andaluza* 30(2).
8. Del Busto, I., German, A. J., Treggiari, E., Romanelli, G., O'Connell, E. M., Batchelor, D. J., ... & Murtagh, K. (2020). Incidence of postoperative complications and outcome of 48 dogs undergoing surgical management of insulinoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 34(3), 1135-1143.
9. Northrup, N., Rassnick, K. M., Gieger, T. L., Kosarek, C. E., McFadden, C. W., & Rosenberg, M. P. (2013). Prospective evaluation of biweekly streptozotocin in 19 dogs with insulinoma. *Journal of veterinary internal medicine*, 27(3), 483-490.
10. De la Riva, C., Del Portillo, I., Rollón E., Pérez Alenza, M.D., Arconada, L. & Del Castillo, N. (2016). Tratamiento con Toceranib fostato de tres casos de insulinoma. *Argos Num* 180.
11. Sheppard-Olivares, S., Bello, N. M., Johannes, C. M., Hocker, S. E., Biller, B., Husbands, B., ... & Wouda, R. M. (2022). Toceranib phosphate in the management of canine insulinoma: A retrospective multicentre study of 30 cases (2009–2019). *Veterinary record open*, 9(1), e27.
12. Flesner, B. K., Fletcher, J. M., Smithee, T., & Boudreaux, B. (2019). Long-term survival and glycemic control with toceranib phosphate and prednisone for a metastatic canine insulinoma. *Journal of the American Animal Hospital Association*, 55(1).
13. Alonso-Miguel, D., García-San José, P., González Sanz, S., Clarés Moral, I., & Pérez-Alenza, M. D. (2021). Evaluation of palliative therapy, alone or in combination with toceranib phosphate, in dogs diagnosed with metastatic or recurrent beta-cell neoplasia. *New Zealand Veterinary Journal*, 69(4), 234-239.
14. Caywood, D. D. (1988). Pancreatic insulin-secreting neoplasms: clinical, diagnostic, prognostic features in 73 dogs. *J. Am. Anim. Hosp. Assoc.*, 24, 577-584.
15. Polton, G., White, R. N., Brearley, M. J., & Eastwood, J. M. (2007). Improved survival in a retrospective cohort of 28 dogs with insulinoma. *Journal of Small Animal Practice*, 48(3), 151-156.