Nitrógeno urinario de perros adultos alimentados con una dieta sin nitrógeno y con diversas ingestas de calorías [1]

RICARDO BRESSANI[2], ROBERTO A. GÓMEZ BRENES[3] y LUIZ G. ELIAS[3]
Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP), Guatemala, C. A.

RESUMEN

Se llevó a cabo un estudio, en perros, que incluyó un total de seis experimentos con el propósito de determinar el efecto de la depleción proteínica sobre los niveles mínimos de nitrógeno urinario. Esa depleción se indujo por medio de una dieta libre de nitrógeno, la cual les fue administrada a diferentes niveles de ingesta calórica o después de haber reducido lenta o rápidamente la ingesta de proteína.

De acuerdo a los resultados, los valores del nitrógeno urinario endógeno alcanzaron niveles diferentes, dependiendo de los tratamientos utilizados con el fin de obtener dichos valores. Mucho menos variable fue la excreción de nitrógeno endógeno fecal. Las condiciones de depleción que indujeron mayores valores de nitrógeno urinario endógeno fueron: primero, cuando la dieta aproteínica se ofreció a un nivel bajo de ingesta calórica, y segundo, cuando la misma dieta fue administrada inmediatamente después de haber consumido los animales un nivel relativamente alto de ingesta proteínica. Los valores más bajos fueron observados al reducir lentamente la ingesta de proteína antes de que los perros se alimentaran con la dieta libre de proteínas. Los resultados también indican que a partir del décimo día de iniciada la administración de la dieta aproteínica, las excreciones de nitrógeno urinario principiaron a ser constantes.

---

1. Esta investigación se llevó a cabo con asistencia financiera de los Institutos Nacionales de Salud de los Estados Unidos de América (NIH), con sede en Bethesda, Maryland (Subvención Nº 5 R22 HDO3552-03).
2. Jefe, División de Ciencias Agrícolas y de Alimentos del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá.
3. Científicos de la citada División.
Publicación INCAP E-591.
Recibido: 16-1-1972.

Los hallazgos tienen implicación cuando se desea evaluar el valor nutritivo de las proteínas por medio del método clásico del valor biológico. Asimismo, los datos señalan que cuando se usa este método es necesario estandarizar en la mejor forma posible, no sólo a los sujetos sino también las propias condiciones experimentales.

INTRODUCCION

Es un hecho claramente establecido que el organismo cuenta con tres rutas principales de pérdida obligatoria de nitrógeno. Estas son: orina, heces y piel, siendo las pérdidas por la orina las más importantes en términos cuantitativos. Se reconoce también que el organismo es capaz de ajustar las pérdidas de nitrógeno en la orina según las cantidades que del mismo se ingieren. Si se trata de un organismo joven, diferentes ingestas por encima de los requerimientos mínimos de mantenimiento dan niveles positivos de retención de nitrógeno también diferentes, y si el organismo es adulto, éste estará en equilibrio. Sin embargo, existe un nivel crítico de ingesta al cual el organismo no puede ajustar sus pérdidas urinarias, sufriendo así pérdidas continuas del nitrógeno que obtiene de varios tejidos corporales. El problema estriba en determinar ese punto crítico diferencial, el cual puede ser afectado por el estado nutricional del animal en lo que a proteína se refiere, así como por la calidad de esta última, por la ingesta de calorías, y por la velocidad de depleción.

Un gran número de investigadores ha tratado de definir ese punto crítico, alimentando a los sujetos experimentales con dietas libres de nitrógeno pero con ingestas calóricas adecuadas, y midiendo el nivel mínimo al cual se estabiliza la excreción de nitrógeno en la orina. La respuesta a este tratamiento se traduce en una curva que desciende rápidamente y luego se mantiene relativamente estable (1, 2). El presente estudio se llevó a cabo, primero, con el fin de determinar si esa curva de excreción es semejante para varios tratamientos nutricionales durante la fase de depleción, y segundo, para establecer si los valores finales del nitrógeno excretado son iguales para los diversos tratamientos sometidos a estudio, o si dichos valores difieren entre sí.

MATERIALES Y METODOS

Es estudio consistió de seis experimentos, los que se llevaron a cabo en perros de un año de edad. En el primero se emplearon 12 perros, 6 de los cuales fueron alimentados con una proteína de origen vegetal y los otros 6 con una proteína de origen animal. La ingesta proteínica se redujo lentamente en estos animales hasta llegar a cero, pero la de calorías se mantuvo a 168 por kilogramo de peso corporal, por día, administrándoseles la dieta descrita en el Cuadro No. 1. Este estudio se clasifica como de depleción lenta, con ingesta calórica alta.

CUADRO Nº 1

COMPOSICION DE LA DIETA APROTEINICA

Ingredientes	%
Aceite vegetal hidrogenado	16.0
Minerales*	4.0
Celulosa	3.0
Azúcar	15.0
Dextrina	61.8
Vitaminas**	0.2
Total	100.0

* Minerales Hegsted. Nutritional Biochemicals Corporation. Cleveland, Ohio. Hegsted, D. M., R. C. Mills, C. A. Elvehjem & E. B. Hart. Choline in the nutrition of chiks. J. Biol. Chem., 138: 459-466, 1941.

** Vitaminas del complejo B (8) + 1,000 U.I. de vitamina A, 200 U.I. de vitamina D3 + 0.5 U.I. de vitamina E/100g de dieta.

En el segundo experimento se utilizaron 14 perros, todos los cuales recibieron una dieta de caseína, seguida de inmediato por la dieta libre de nitrógeno. En este caso la ingesta de calorías también fue de 168/kg/día.

El tercero y cuarto experimentos incluyeron 7 perros cada uno. Estos fueron alimentados con una dieta de caseína, trans-

firiéndoseles de inmediato a la dieta libre de nitrógeno. En el tercer experimento la ingesta calórica fue de 120/kg/día, mientras que en el cuarto ensayo, ésta se redujo a la mitad, o sea a 60 calorías/kg/día.

En el quinto estudio se utilizaron 7 perros de 7 meses de edad que estaban recibiendo 4 g de proteína/kg/día (caseína) antes de la depleción, y 130 calorías/kg/día. Esta ingesta calórica se mantuvo durante la depleción proteínica, la cual cubrió un período de 16 días.

El sexto y último experimento se realizó con 5 perros de 7 meses de edad que, después de estar recibiendo 4.5 g de proteína/kg/día y 130 Kcal/kg de peso diariamente, fueron alimentados con una dieta aproteínica por 32 días, manteniendo la ingesta de calorías constante. Durante el período de depleción se les extrajo una muestra de sangre cada 4 días para determinación de proteínas séricas totales y albúmina.

En todos los estudios, mientras se les administraba la dieta con proteína, la orina fue recolectada cada cuatro días; sin embargo, ésta se colectó diariamente durante la fase de alimentación con la dieta sin nitrógeno. Los animales fueron pesados cada 4 días a fin de ajustar las ingestas por kilogramo de peso corporal. Luego se midió el volumen de la orina procediéndose a determinar su contenido de nitrógeno por el método clásico de Kjeldhal (3).

La alimentación con la dieta libre de nitrógeno abarcó un total de 12 días en todos los experimentos, salvo en los ensayos No. 5 y No. 6 en los que la depleción cubrió 16 y 32 días, respectivamente.

RESULTADOS

Los hallazgos del primer experimento se dan aconocer en el Cuadro No. 2. Según se observa, para los dos tipos de proteína la menor ingesta de nitrógeno se tradujo en una menor excreción de nitrógeno en la orina; la reducción fue lenta en ambos casos.

Las diferencias en cuanto a nitrógeno urinario fueron similares aún al ser alimentados los animales con la dieta sin nitrógeno. Durante los últimos 12 días los valores fueron prácticamente iguales, tanto dentro de cada grupo como entre un grupo y otro.

CUADRO Nº 2

DEPLECION PROTEINICA LENTA CON INGESTA ADECUADA DE CALORIAS (168 cal/kg/día)

Días	Proteína vegetal NI	NF	NU	Peso kg	Proteína animal NI	NF	NU	Peso kg
	mg/kg/día				mg/kg/día			
4	625	65	231	7,555	633	115	257	8,056
8	559	62	183	8,087	576	99	216	8,418
12	453	63	178	8,529	469	97	210	8,726
16	333	65	144	8,737	317	80	144	9,027
20	241	50	133	8,913	255	53	158	9,346
24	122	43	117	9,049	155	66	111	9,493
28	61	33	79	8,940	68	40	88	9,683
32	0	--	68	-----	0	--	69	-----
33	0	--	58	-----	0	--	62	-----
34	0	--	58	-----	0	--	62	-----
35	0	23	62	8,773	0	32	68	9,181
36	0	--	65	-----	0	--	65	-----
37	0	--	66	-----	0	--	68	-----
38	0	--	67	-----	0	--	64	-----
39	0	27	68	8,605	0	32	66	9,043
40	0	--	63	-----	0	--	60	-----
41	0	--	69	-----	0	--	64	-----
42	0	--	69	-----	0	--	69	-----
43	0	20	66	8,408	0	30	63	8,879

NI = Nitrógeno Ingerido; NF = Nitrógeno Fecal; NU = Nitrógeno Urinario.

CUADRO Nº 3

DEPLECION PROTEINICA RAPIDA CON INGESTA CALORICA ALTA
(168 cal/kg/día)

Días	Nitrógeno I	Nitrógeno F	Nitrógeno U	Peso kg
	mg/kg/día			
4	615	41	181	11,433
8	571	41	198	11,673
9	0	-	139	------
10	0	-	126	------
11	0	-	126	------
12	0	30	105	11,649
13	0	-	128	------
14	0	-	119	------
15	0	-	114	------
16	0	38	123	11,383
17	0	-	107	------
20	0	-	122	------
21	0	-	93	------
22	0	31	96	11,181

Los perros aumentaron de peso durante la alimentación con nitrógeno al proporcionárseles éste hasta en ingestas que fluctuaban entre 90 y 98/kg/día; luego perdieron peso constantemente en el transcurso de los últimos 16 días del experimento.

Los resultados del segundo estudio constan en el Cuadro No. 3. En este caso la eliminación del nitrógeno de la dieta acusó un descenso brusco de nitrógeno en la orina durante el primer día de depleción, pero las pérdidas fueron aminorando conforme el tratamiento avanzaba. Al término de 12 días las excreciones sobrepasaban las del primer experimento.

En lo que respecta al tercer experimento, los resultados obtenidos se describen en el Cuadro No. 4. En este caso, es decir, con más limitaciones calóricas que en el ensayo ante-

CUADRO Nº 4

DEPLECION PROTEINICA RAPIDA CON INGESTA CALORICA INTERMEDIA

(120 cal/kg/día)

Días	Nitrógeno I	Nitrógeno F	Nitrógeno U	Peso kg
	mg/kg/día			
4	662	50	272	13,088
8	683	62	274	13,375
9	0	--	201	------
10	0	--	140	------
11	0	--	132	------
12	0	38	137	13,391
13	0	--	98	------
14	0	--	111	------
15	0	--	100	------
16	0	34	87	13,155
17	0	--	87	------
18	0	--	104	------
19	0	--	84	------
20	0	29	94	13,015

rior, las mayores pérdidas de nitrógeno se suscitaron durante los dos primeros días de depleción. No obstante, al cabo de 12 días los valores eran similares a los observados en el segundo experimento. Los hallazgos también indican menos estabilidad, puesto que se constató mayor variabilidad entre los 12 días de depleción. Con la dieta sin nitrógeno las pérdidas ponderales se notaron ya al cuarto día de alimentación, en contraposición a lo que se observó en los primeros dos experimentos. Esto podría deberse a una retención temporal de agua, aunque en realidad, el aumento ponderal, comparado con el peso promedio anterior, es pequeño.

El Cuadro No. 5 muestra la información obtenida en el cuarto ensayo, en el que la ingesta de calorías se redujo signi-

ficativamente. En este caso, el peso de los animales disminuyó desde un principio, y las pérdidas de nitrógeno en la orina fueron relativamente altas durante la alimentación con la dieta sin nitrógeno. Al finalizar el tratamiento los valores urinarios fueron los más altos de los cuatro primeros experimentos. Como lo evidencia el Cuadro No. 6, en el quinto estudio se obtuvo una respuesta similar. A pesar de ello, la cantidad de nitrógeno urinario excretado al iniciarse la alimentación con la dieta sin proteína no fue tan apreciable como en los casos anteriores.

CUADRO Nº 5

DEPLECION PROTEINICA RAPIDA CON INGESTA CALORICA INADECUADA

(60 cal/kg/día)

Días	Nitrógeno I	Nitrógeno F	Nitrógeno U	Peso kg
	mg/kg/día			
4	199	31	467	12,919
8	201	43	502	12,894
9	0	--	270	------
10	0	--	205	------
11	0	--	211	------
12	0	29	184	12,689
13	0	--	169	------
14	0	--	153	------
15	0	--	149	------
16	0	23	121	12,307
17	0	--	103	------
18	0	--	114	------
19	0	--	113	------
20	0	24	112	12,060

CUADRO Nº 6

DEPLECION PROTEINICA RAPIDA CON UNA INGESTA CALORICA DE 130/KG/DIA

Días	Nitrógeno I	Nitrógeno F mg/kg/día	Nitrógeno U	Peso kg
0	600*	129	218	6,115
1	0	---	123	6,162
2	0	---	98	6,131
3	0	---	107	6,113
4	0	42	99	6,113
5	0	---	105	6,075
6	0	---	99	6,032
7	0	---	98	6,057
8	0	36	116	6,025
9	0	---	115	6,048
10	0	---	108	6,050
11	0	---	106	6,017
12	0	35	103	6,052
13	0	---	99	6,066
14	0	---	98	6,027
15	0	---	93	6,001
16	0	34	81	5,977

* Dieta previa a la dieta aproteínica: Mezcla Vegetal INCAP Nº 9.

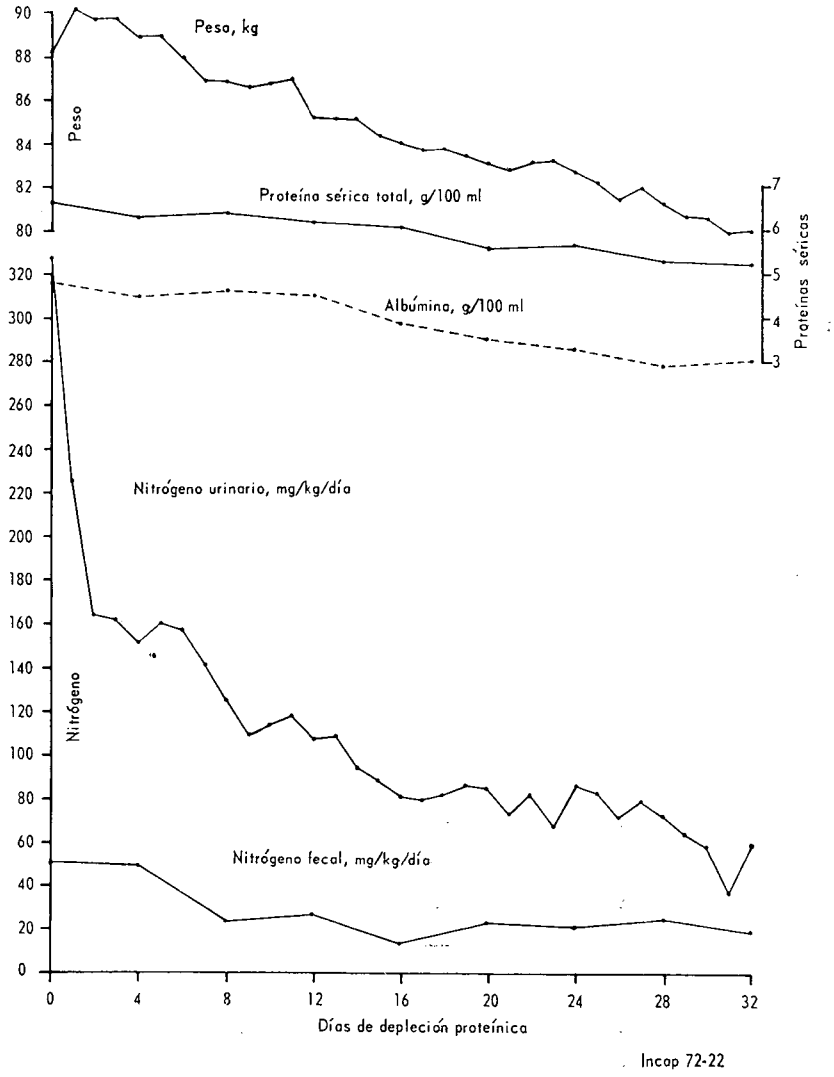

Figura 1.—Cambios en peso, excreción urinaria y fecal, proteína sérica total y albúmina de perros alimentados con dietas aproteínicas - Promedio de 3 perros.

La Fig. 1 resume los datos correspondientes al sexto y último estudio. Debido a que el comportamiento de los perros varió con la dieta, únicamente se presentan los promedios correspondientes a 3 perros que aparentemente mostraron la

misma tendencia, mientras que en el Cuadro No. 7 se exponen los de 2 animales cuyo comportamiento fue igual, pero el cual difirió de los otros tres. En ambos casos se muestran también los valores séricos de proteína total y albúmina. En el subgrupo de 3 perros se observó un descenso brusco en excreción urinaria así como en proteína sérica total y albúmina, con incrementos en el tiempo de depleción, lo que no sucedió con el subgrupo de 2 perros. En estos últimos las proteínas séricas totales y el nitrógeno urinario aumentaron. Uno de ellos murió a los 28 días de iniciado el ensayo.

El Cuadro No. 8 resume los datos resultantes de los seis experimentos, y en él se detallan los valores de nitrógeno endógeno fecal y urinario correspondientes a cada serie de pruebas.

CUADRO Nº 7

CAMBIOS EN PESO, EXCRECION FECAL Y URINARIA, PROTEINAS SERICAS TOTALES Y ALBUMINA DE DOS PERROS ALIMENTADOS CON LA DIETA APROTEINICA

Días	Peso kg	Nitrógeno I	Nitrógeno F	Nitrógeno U	Proteínas séricas Totales	Proteínas séricas Albúmina
		mg/kg/día			g/100 ml	
Antes	7.72	712	55	331	6.4	5.4
1	7.96	---	--	221		
2	7.77	---	--	180		
3	7.71	---	--	188		
4	7.57	---	33	158	6.1	4.8
5	7.52	---	--	134		
6	7.42	---	--	132		
7	7.33	---	--	159		
8	7.23	---	13	122	6.5	4.9
9	7.13	---	--	103		
10	7.04	---	--	150		
11	6.91	---	--	146		
12	6.76	---	12	168	5.7	5.0
13	6.69	---	--	132		
14	6.59	---	--	136		
15	6.57	---	--	112		
16	6.44	---	10	116	6.6	5.1
17	6.39	---	--	78		
18	6.34	---	--	150		
19	6.30	---	--	146		
20	6.22	---	12	200	6.5	4.9
21	6.13	---	--	185		
22	6.07	---	--	229		
23	5.98	---	--	199		
24	5.90	---	20	187	6.5	4.6
25	5.84	---	--	189		
26	5.77	---	--	236		
27	5.66	---	--	223		
28	5.57	---	23	221	6.7	4.7
29	5.58	---	--	175		
30	5.57	---	--	113		
31	6.32*	---	--	85*		
32	6.19*	---	20*	86*	5.4*	4.1*

* Solo un perro.

CUADRO Nº 8

RESUMEN DE LOS RESULTADOS DE LOS SEIS EXPERIMENTOS QUE INCLUYÓ EL ESTUDIO

Experimento No.	Proteína previo a la depleción	Ingesta		Peso perdido	Orina $\sum EN^2$	Nitrógeno endógeno	
		Nitrógeno	Calorías[1]		mg/kg	Fecal	Urinario
		mg/kg/día[1]	kg/día	g		mg/kg/día	
1	Soya	61	168	532	779	20	66
1A	Carne	68	168	804	780	30	63
2	Caseína	571	160	492	1,398	31	96
3	Caseína	683	120	360	1,375	29	94
4	Caseína	200	60	834	1,904	24	112
5	Soya + maíz	600	130	138	1,277	34	81

1. Previo a la alimentación de los perros con la dieta aproteínica.
2. Acumulado.

DISCUSION

Los hallazgos del estudio de que aquí se informa señalan que el nitrógeno urinario endógeno puede alcanzar niveles diferentes, dependiendo de los tratamientos usados para obtener dichos valores. Por ejemplo, las cifras más bajas se obtienen cuando la depleción de nitrógeno del animal se efectúa reduciendo lentamente su ingesta proteínica, es decir, aumentando el tiempo de depleción antes de administrarle las dietas libres de nitrógeno. En esta situación el cambio de una dieta con pequeñas cantidades de nitrógeno, a otra libre de él, no induce alteración alguna en el nitrógeno urinario. Esto ocurre así independientemente de la clase de proteína que el animal reciba previo a ser alimentado con la dieta sin nitrógeno.

Según el método clásico de determinación de valor biológico de las proteínas, los animales se someten a una dieta libre de nitrógeno por un período de 7 días aproximadamente, para obtener los valores de nitrógeno endógeno fecal y urinario. Los resultados del presente estudio indican que para obtener cifras adecuadas de nitrógeno endógeno es necesario aumentar el tiempo que el animal se somete a la dieta libre de nitrógeno; de lo contrario, se sobreestima el valor biológico de las proteínas.

Sin embargo, la situación descrita en el párrafo anterior no ocurre cuando la transferencia de la alimentación del animal —de una dieta con niveles altos de nitrógeno a otro sin él —es inmediata. En situaciones de esta índole se nota que en los primeros días la orina contiene niveles altos de nitrógeno, disminuyendo la cantidad a medida que el tiempo de alimentación con las dietas libres de nitrógeno aumenta. Esta observación es aplicable aún en los casos en que el nivel de ingesta calórica es relativamente bajo. No obstante, en esta última instancia las pérdidas de nitrógeno en la orina son todavía mayores que cuando la ingesta de calorías es adecuada. Por consiguiente, en situaciones de esta naturaleza, se considera que para obtener valores endógenos de nitrógeno en orina y heces, es recomendable usar los valores obtenidos a los 10 días de administrar la dieta aproteínica.

Los datos sobre excreción de nitrógeno correspondientes al primer día de administración de la dieta aproteínica, sugieren que dicha excreción podría ser un método útil para estimar el

nivel de ingesta proteínica del animal. Esto permitiría determinar su estado nutricional con respecto a la proteína, ya que mientras mayor es la ingesta —antes de administrar la dieta libre de nitrógeno— mayor es la cantidad de nitrógeno urinario colectada durante las 24 horas siguientes.

Con ingestas calóricas reducidas, aún después de 12 días de mantener a los perros con una dieta libre de nitrógeno, el nitrógeno endógeno urinario es más elevado que en cualesquiera otros de los diseños experimentales usados en este trabajo. Este no es un hallazgo sorprendente, ya que no teniendo una ingesta calórica adecuada, el animal cataboliza proteína como fuente de calorías, excretando así mayores cantidades de nitrógeno (4-6).

En otras situaciones el perro aparentemente trata de conservar el nitrógeno, a juzgar por el aumento en proteínas séricas y albúmina. No obstante, estos animales se caracterizan por excretar grandes cantidades de nitrógeno por la orina, lo que precisamente causó la muerte de uno de ellos. El aumento en proteínas séricas podría deberse también a hemoconcentración, por alteraciones del equilibrio hidroeléctrico.

En el caso del nitrógeno endógeno fecal, la excreción es relativamente constante, independiente del sistema utilizado, ya sea el de cambio lento o rápido, y ajeno al nivel de ingesta calórica. En contraposición a lo que era de esperar, el nitrógeno endógeno fecal de los perros alimentados con proteína de soya fue menor del que acusaron cuando la proteína administrada previo a la dieta sin nitrógeno fue caseína.

Las pérdidas de peso que se suscitaron durante la depleción proteínica, desde el inicio del ofrecimiento de la dieta sin nitrógeno hasta el decimosegundo día, fueron esencialmente parecidas. Estas pérdidas fueron más o menos de 4%, exceptuando el grupo de perros cuya ingesta de calorías fue muy reducida.

La suma del nitrógeno en la orina durante la alimentación con la dieta sin nitrógeno rindió valores que correlacionan bastante bien con las pérdidas de nitrógeno equivalentes a los cambios en peso observados.

A partir de los valores obtenidos durante la administración de la dieta aproteínica en cada tratamiento, puede sugerirse que el verdadero nitrógeno urinario endógeno es el que se obtiene con la depleción lenta, ya que muestra menos variación

y rinde los valores más bajos. Es posible que éstos pudieran obtenerse también aplicando los otros sistemas, pero en este caso el tiempo del tratamiento tendría que prolongarse.

La información aquí presentada se considera también de particular interés para la estimación de requerimientos proteínicos cuando para este propósito se utiliza el sistema factorial (2).

SUMMARY

Urinary nitrogen of adult dogs fed a protein-free diet at various dietary levels of caloric intake

A total of six experiments were carried out with adult dogs to measure minimal urinary nitrogen excretions when fed a protein-free diet. Depletion was obtained when feeding the protein-free diet inmediately after ending the protein-feeding phase or after decreasing protein intake from high to low levels and at various levels of calorie intake.

Minimal nitrogen excretion values varied according to the treatment applied during depletion. Fecal endogenous nitrogen was significantly less variable.

Depletion treatments giving high values for endogenous urinary nitrogen were: first, when the nitrogen-free diet was offered with a low intake of calories, and second, when the nitrogen-free diet was fed inmediately after high levels of protein intake had been administered. Low endogenous nitrogen excretion values were obtained when protein intake previous to the feeding of the nitrogen-free diet was slowly decreased to low levels. The results also indicate that no change in nitrogen excretion values is obtained after about 10 days of protein deprivation.

These results are of interest when the quality of proteins is assessed by the classical biological value method. Likewise, they are of interest when estimating protein requirements using the factorial approach.

BIBLIOGRAFIA

(1) Allison, J. B. & R. W. Wannemacher, Jr. Repletion of depleted protein reserves in animals. En: **Amino Acid Malnutrition.** W. H. Cole (Ed). New Brunswick, N. J., Rutgers University Press, 1957, p. 1-13.

(2) Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Protein Requirements.** Report of a Joint FAO/WHO Expert Group Published jointly by FAO and WHO. Rome, FAO, 1965, 71 p. (FAO Nutrition Meetings Report Series Nº 37. WHO Technical Report Series Nº 301).

(3) Association of Official Agricultural Chemists. **Official Methods of Analysis of the AOAC.** 9th ed. Washington, D.C., The Association, 1960, 832 p.

(4) Allison, J. B. Biological evaluation of proteins. **Physiol. Revs.,** 35: 664-700, 1955.

(5) Vaughan, O. W., L. J. Filer, Jr. & H. Churella. Influence of prior

dietary protein levels on resistance to the stress of protein depletion. **Pediatrics, 29:** 90-96, 1962.

(6) Allison, J. B. & J. A. Anderson. The relation between absorbed nitrogen balance, and biological value of proteins in adult dogs. **J. Nutrition, 29:** 413-420, 1945.