

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**“EFECTO DEL CONTENIDO DE PROTEINA CRUDA DE  
LA DIETA Y DE LA EDAD EN LOS NIVELES DE UREA Y  
ACIDO URICO EN ORINA DE ALPACAS”**

**TESIS**

**PRESENTADA POR:**

**Bach. RUTH MARIELA FLORES MAMANI**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:**

**MEDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA**

**PUNO – PERÚ**

**2018**

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL ALTIPLANO  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA

“EFECTO DEL CONTENIDO DE PROTEINA CRUDA DE LA DIETA Y DE LA  
EDAD EN LOS NIVELES DE UREA Y ACIDO URICO EN ORINA DE ALPACAS”

TESIS PRESENTADA POR:

Bach. RUTH MARIELA FLORES MAMANI

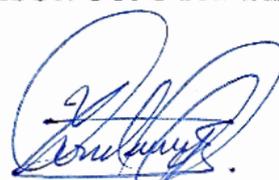
PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

MÉDICO VETERINARIO Y ZOOTECNISTA



APROBADO POR EL JURADO REVISOR CONFORMADO POR:

PRESIDENTE:



D.Sc. Zacarías Condemayta Condemayta

PRIMER MIEMBRO:



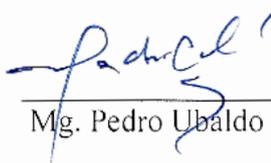
Dr. Félix Hugo Cotacallapa Gutiérrez

SEGUNDO MIEMBRO:



D.Sc. Bilo Wenceslao Calsin Calsin

DIRECTOR:



Mg. Pedro Ubaldo Coila Añasco

Área : Fisiología animal de altura

Tema :Efecto de proteína cruda, edad en urea y ácido úrico en Alpacas.

Fecha de sustentación: 20/12/2018

## DEDICATORIA

*A DIOS, por la vida, salud, por guiar mi camino y haberme permitido llegar a lograr una de mis metas, perdonando en cada momento mis errores y permitiendo la oportunidad diaria de mejorar.*

*A mis padres Mariano y Lucía por su infinito amor, sacrificio y apoyo en los buenos y malos momentos, comprensión, consejos y motivación en cada momento para mi desarrollo personal.*

*A mis hijos Andrés y Olenka mis motores de vida, que fueron quienes me motivaron y me dieron la fuerza para culminar esta fase pospuesta gracias por su comprensión y amor. Y a mi esposo por su apoyo y comprensión.*

*A todos mis ángeles, amigos y amigas que durante mi vida aparecieron, que permanecen a mi lado y en mi corazón, que con sus consejos y confianza, impulsan a cada instante el logro de mis metas.*

## AGRADECIMIENTOS

*A nuestra alma mater La Universidad Nacional del Altiplano y a la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, por haberme admitido durante el periodo de mi formación profesional, de cual orgullosamente llevaré su nombre.*

*A mis docentes de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia que me inculcaron todas sus enseñanzas y experiencias permitiendo mi formación forjando las bases de la profesión.*

*Al Mg. Pedro Ubaldo Coila Añasco y al Ing. Martin por su apoyo incondicional e invaluable durante el proceso de mi trabajo.*

*Al personal administrativo de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia, especialmente al Sr Samuel que siempre me brindó su apoyo incondicional.*

*A mis compañeros amigos y amigas que compartimos aulas en la Facultad de Medicina Veterinaria y zootecnia con los que vivimos alegrías y tristezas y lindas experiencias durante nuestra formación.*

*A la Gerencia Regional de Salud, al personal de la Dirección de Salud Ambiental, Red Sanitaria Moquegua y mi establecimiento de salud, a mis amigos y compañeros con los que desarrollamos actividades por la Salud Publica y que me permiten desarrollarme en lo que me gusta.*

## ÍNDICE GENERAL

	Pág.
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	7
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	8
<b>INDICE DE ACRÓNIMOS</b> .....	9
<b>RESUMEN</b> .....	10
<b>ABSTRACT</b> .....	11
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	12
<b>1.1. Objetivos de la investigación</b> .....	14
<b>1.1.1. Objetivo General</b> .....	14
<b>1.1.2. Objetivos Específicos</b> .....	14
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	15
<b>2.1. El nitrógeno en la nutrición de los rumiantes</b> .....	15
<b>2.2. Metabolismo de proteínas en el rumen</b> .....	17
<b>2.3. Metabolismo de aminoácidos y formación de urea</b> .....	18
<b>2.4. Requerimientos de proteína y consumo excesivo</b> .....	20
<b>2.5. Función renal y excreción de orina</b> .....	21
<b>2.6. Compuestos nitrogenados en la orina</b> .....	24
<b>2.6.1. Urea</b> .....	24
<b>2.6.2. Ácido úrico</b> .....	27
<b>2.6. Composición de los forrajes</b> .....	30
<b>2.6.1. Heno de alfalfa</b> .....	30
<b>2.6.2. Heno de avena</b> .....	31
<b>2.6.3. Paja de ichu</b> .....	31
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	32
<b>3.1. Ubicación</b> .....	32
<b>3.2. Instalaciones</b> .....	32
<b>3.3. Animales</b> .....	32
<b>3.4. Forrajes e insumos alimenticios</b> .....	33
<b>3.5. Análisis de forrajes e insumos alimenticios</b> .....	33
<b>3.6. Dietas experimentales</b> .....	34
<b>3.7. Métodos</b> .....	35
<b>3.7.1. Etapas del estudio</b> .....	35
<b>3.7.2. Colección y almacenamiento de la orina</b> .....	35

3.7.3. Cuantificación de los niveles de urea y ácido úrico en orina.....	35
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>38</b>
4.1. Niveles de urea y ácido úrico según % PC en la dieta y edad.....	38
4.1.1. Urea.....	38
4.1.2. Ácido úrico.....	42
4.2. Grado de asociación entre urea y ácido úrico.....	45
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>47</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>48</b>
<b>VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>49</b>
<b>ANEXOS.....</b>	<b>55</b>

**ÍNDICE DE FIGURAS**

<b>Figura: 1</b> Reacciones del ciclo de la urea. ....	25
<b>Figura: 2</b> Síntesis de ácido úrico .....	28
<b>Figura: 3</b> Síntesis de alantoína a partir de ácido úrico.....	30
<b>Figura: 4</b> Urea (mg/dL) en orina según % de PC en la dieta.....	39
<b>Figura: 5</b> Urea (mg/dL) en orina según edad.....	41
<b>Figura: 6</b> Ácido úrico (mg/dL) según % de PC en la dieta .....	43
<b>Figura: 7</b> Ácido úrico (mg/dL) en orina según edad .....	44

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Excreción urinaria de nitrógeno según diferentes aportes proteicos .....	26
<b>Tabla 2.</b> Distribución de las alpacas según factores %PC en la dieta y edad. ....	33
<b>Tabla 3.</b> Composición química de los forrajes (100% de MS) .....	34
<b>Tabla 4.</b> Composición química de las dietas experimentales por kg (base seca). ....	34
<b>Tabla 5.</b> Niveles de urea en orina mg/dL según %PC de la dieta y edad. ....	38
<b>Tabla 6.</b> Niveles de ácido úrico en orina (mg/dL) según %PC de la dieta y edad.....	42
<b>Tabla 7.</b> Correlaciones de Pearson entre urea y ácido úrico en orina. ....	45

**INDICE DE ACRÓNIMOS**

CIP = Centro de Investigación y Producción

EB = Energía Bruta

EM = Energía Metabolizable

g/d = Gramos por día

g/L = Gramos por litro

mg/dL = Miligramos por decilitro

mmol/L = Milimol por litro

MS = Materia Seca

PC = Proteína Cruda

PM = Proteína Microbial

%PC = Porcentaje de Proteína Cruda

## RESUMEN

Con el objetivo de evaluar el efecto del porcentaje de proteínas (%PC) de la dieta en las concentraciones de urea y ácido úrico en orina, se utilizaron seis alpacas hembras de raza Huacaya. Se consideraron como factores al % de PC (4, 6 y 8%) y la edad (3 y 4 años). El análisis químico de los insumos y las dietas se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal y el análisis bioquímico de las muestras de orina se realizó en Laboratorio de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad Nacional del Altiplano utilizando técnicas colorimétricas. El estudio se condujo bajo un diseño completamente al azar en arreglo factorial 3 x 2 para analizar la variación de los niveles de urea y ácido úrico en orina; y, para determinar el grado de asociación entre urea y ácido úrico se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson. Se analizaron los efectos principales al no existir interacción significativa entre los factores en estudio. Los resultados muestran un promedio general para los niveles de urea y ácido úrico de  $2128 \pm 389,1$  y  $0,1005 \pm 0,0022$  mg/dL, respectivamente, existiendo diferencias altamente significativas ( $p \leq 0,01$ ) para los factores %PC en la dieta y edad en los niveles de urea en orina; en los niveles de ácido úrico, no existe diferencias estadísticas ( $p > 0,05$ ) para el factor %PC en la dieta, pero sí para el factor edad, siendo mayor en animales de 4 años ( $p \leq 0,01$ ). El grado de asociación entre los niveles de urea y ácido úrico en orina fue positiva y baja ( $r = 0,273$ ), siendo no significativa ( $p > 0,05$ ). Se concluye que los niveles de urea en orina es afectado por el %PC de la dieta y la edad; mientras que los niveles de ácido úrico en orina sólo son influenciados por la edad pero no por el %PC de la dieta.

**Palabras claves:** Ácido úrico, alpaca, edad, orina, proteína cruda, urea.

## ABSTRACT

In order to evaluate the effect of protein percentage (% PC) in the diet on the uric urea and uric acid concentrations, six female Huacaya alpacas were used. The % of PC (4, 6 and 8%) and the age (3 and 4 years) were considered as factors. The chemical analysis of the supplies and diets was carried out in the Animal Nutrition Laboratory and the biochemical analysis of the urine samples was performed in the Biochemistry Laboratory of the Faculty of Veterinary Medicine and Zootechnics of the National University of the Altiplano using colorimetric techniques. The study was conducted under a completely randomized design in a 3 x 2 factorial arrangement to analyze the variation of urea and uric acid levels in urine; and, to determine the degree of association between urea and uric acid, the Pearson correlation coefficient was used. The main effects were analyzed as there was no significant interaction between the factors under study. The results show a general average for urea and uric acid levels of  $2128 \pm 389,1$  and  $0,1005 \pm 0,0022$  mg/dL, respectively, there being highly significant differences ( $p \leq 0,01$ ) for % PC factors in the diet and age in urine urea levels; in the levels of uric acid, there are no statistical differences ( $p > 0,05$ ) for the % PC factor in the diet, but for the age factor, being higher in animals of 4 years ( $p \leq 0,01$ ). The degree of association between the levels of urea and uric acid in urine was positive and low ( $r = 0,273$ ), being not significant ( $p > 0,05$ ). It is concluded that the levels of urea in urine is affected by the % PC of the diet and age; while the levels of uric acid in urine are only influenced by age but not by the % PC of the diet.

**Keywords:** Uric acid, alpaca, age, urine, crude protein, urea.

## I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, la alimentación de alpacas es en forma extensiva y tradicional utilizando las pasturas naturales, sin tener en cuenta sus requerimientos nutricionales. Sin embargo, en distintas regiones del mundo, se han iniciado y se vienen ejecutando estudios a fin de determinar los verdaderos requerimientos de estos animales que permitan cubrir sus demandas fisiológicas de mantenimiento, crecimiento, reproducción y producción. Las proteínas juegan un rol importante en todos estos aspectos, así como para reemplazar la proteína que se pierde en el mantenimiento del organismo (Misson, 1990).

El conocimiento del uso de los nutrientes es indispensable para poder evaluar los alimentos o para definir los requerimientos en el desarrollo de patrones de alimentación para los animales. Es necesario conocer los requerimientos nutricionales precisos de los animales porque la sobrealimentación o subalimentación reducen la utilización eficiente de los nutrientes e incrementan los costos de alimentación (Yi Chen *et al.*, 1996).

La urea es el producto de excreción del catabolismo de los aminoácidos que no serán utilizados por el organismo animal, de modo que está directamente relacionado a la ingesta de proteínas. Por otro lado, el ácido úrico es el producto de excreción del catabolismo de purinas presentes en los nucleótidos y ácidos nucleicos, ambas se encuentran en toda fuente alimenticia, sea vegetal, animal o microbiana (Bradley, 2013).

Los camélidos sudamericanos presentan características digestivas particulares, como tener una alta eficiencia digestiva con alimentos de baja calidad, debido en parte al mayor tiempo de retención del alimento en el tracto digestivo (San Martín y Bryant, 1989; Fowler, 1998; Sponheimer *et al.*, 2003). Además, pueden reciclar un gran porcentaje de urea a través de la saliva por reabsorción pasiva en los túbulos colectores e ingresar nuevamente al sistema fermentativo, lo cual provee a la población microbiana del

nitrógeno necesario, aun cuando la proteína de la dieta sea limitada. A cambio, esta población le otorga al animal una alta calidad de PM (Van Saun, 2006; Cabezas *et al.*, 2007). Los camélidos sudamericanos pueden, además, hidrolizar mayor cantidad de urea por unidad de tiempo (mmol/h/kg) en el compartimento uno que el bovino y el ovino en el rumen, teniendo como resultado más nitrógeno disponible para la síntesis proteica por los microorganismos (Vallenas, 1991).

Hay, algunos estudios que indican que cuando la ración contiene alta cantidad de proteínas la utilización del nitrógeno y de la urea es inferior a la que se obtiene con raciones hipoproteicas. Por ejemplo, Gonda y Lindberg (1994), señalan que la concentración de urea en orina se incrementa con el aumento en la ingesta de proteínas. Bradley (2013), por su parte, señala que la edad también puede afectar la excreción de compuestos nitrogenados por la orina.

La síntesis de PM en el rumen se ve afectada por diversos factores de los alimentos y de los animales. Es conocido que el tipo y cantidad de nutrientes utilizables de la ración, así como la sincronización de la liberación de dichos nutrientes en el rumen, afectan la magnitud de la síntesis microbiana. La energía es el factor más importante que limita la síntesis de PM (Fébel y Fekete, 1996).

Los derivados de purina excretados en la orina son usados para predecir la síntesis de PM en rumiantes; así mismo, en camélidos sudamericanos se han realizado experimentos en llamas (Bakker *et al.*, 1996) y alpacas (Rivera, 2004; Orellana *et al.*, 2012), demostrándose la viabilidad de la técnica.

## **1.1. Objetivos de la investigación**

### **1.1.1. Objetivo General**

Evaluar el efecto del % de PC de la dieta y de la edad del animal en el contenido de urea y ácido úrico en orina de alpacas (*Vicugna pacos*).

### **1.1.2. Objetivos Específicos**

- Determinar los niveles de urea y ácido úrico en orina de alpacas de dos edades (3 y 4 años) sometidas a diferentes niveles de proteína (4, 6 y 8% de PC).
- Determinar el grado de asociación entre los niveles de urea y ácido úrico en orina de alpacas.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. El nitrógeno en la nutrición de los rumiantes

El nitrógeno es un elemento fundamental dentro de la nutrición de los rumiantes. Estos pueden sintetizar proteínas a través de su flora microbiana, a partir de nitrógeno proteico o no proteico (Church, 1988).

En la dieta de los rumiantes, se pueden proporcionar diferentes compuestos nitrogenados (Van Soest, 1994), ya que tienen la habilidad de subsistir y producir sin una fuente de proteína, debido a la síntesis de proteína microbial dentro del rumen (Owens y Zinn, 1988).

El término "nitrógeno" en lugar de "proteína" en la dieta, es comúnmente usado en los rumiantes. Debido a la capacidad de los microorganismos de utilizar nitrógeno no proteico (NNP), la fuente de N que usan los microorganismos para la síntesis de sus proteínas, consiste en proteína de la dieta y NNP, así como el N reciclado al rumen para su reutilización (Owens y Zinn, 1988).

La proteína cruda (PC) de un alimento es calculada a partir de su contenido de N, determinado por la técnica de Kjeldahl, la cual proporciona una estimación de la mayoría de las formas de N (McDonald *et al.*, 1988).

Las proteínas son constituyentes primordiales del cuerpo de los animales y su inclusión en los alimentos es necesaria para utilizarse en la restauración de las células y en la síntesis de los productos bioquímicos fisiológicos. La transformación de la proteína del alimento en proteína corporal es uno de los procesos más importantes del metabolismo. La formulación de raciones en el ganado, ha girado durante años en torno a la proteína cruda. Los rumiantes obtienen su proteína de dos fuentes: de los microbios, producida a partir de la fermentación de los compuestos nitrogenados en el rumen, y del

alimento, proteína no degradada en el rumen y aprovechada en el intestino delgado, o sea la proteína sobrepasante (NRC, 1981).

Las formas de N que ingieren los rumiantes, esencialmente son formas elaboradas por las plantas. La proteína verdadera (PV) constituye alrededor del 60 al 80% del total del N de la planta, además del NNP y pequeñas cantidades de N lignificado. Las plantas tienen comparativamente bajo contenido de ácidos nucleicos. La fermentación ruminal de estos produce del 4 al 5% del total del N. Esto mejora la materia microbiana. El calor puede disminuir la disponibilidad de la PV para los microorganismos y el animal hospedero (Van Soest, 1994).

La proteína de la dieta en parte es digerida en el rumen, o llega indigerida al omaso y abomaso. Si no es digerida en el rumen, se le llama proteína "sobrepasante" o de "escape". La proteína sobrepasante es en parte digerida en el intestino delgado, o es excretada en las heces (NRC, 1985).

El nitrógeno de origen alimentario es cuantitativamente el aporte más importante de los que llegan al rumen; pero, las células muertas pueden aportar hasta 100 g/día de nitrógeno en animales adultos. Otros aportes de nitrógeno se generan a partir del reciclado de urea a través de la saliva y de la urea que difunde desde la sangre a través de la pared del rumen (Bondi, 1988). Estos últimos aportes, no son tan importantes en animales alimentados con niveles suficientes de proteínas (Ibarra (1997).

El estudio de la proteína en la nutrición animal ha sido un tema que ha suscitado un gran interés desde la década de los 80's. Esto se ha apoyado en los grandes avances obtenidos en el conocimiento y con las mejores técnicas de investigación en los estudios de nutrición de los rumiantes (Orskov, 1988).

## 2.2. Metabolismo de proteínas en el rumen

Los nutrientes que ingiere el animal rumiante son expuestos a una fermentación digestiva por los microorganismos y una digestión hidrolítica por el propio sistema enzimático del animal (Chalupa, 1988).

Las proteínas ingeridas son degradadas por proteasas bacterianas hasta péptidos, éstos hasta aminoácidos libres y finalmente a amoníaco que es utilizado para la síntesis de proteínas por las células microbianas. Parte de este amoníaco no puede ser fijado por los microorganismos y difunde a la circulación, llegando al hígado, donde se transforma en urea (Wallace, 1991).

El metabolismo del N en el rumen está influenciado por la cantidad de carbohidratos, el N en la dieta y los niveles de consumo. Hay cambios que ocurren en la absorción del amoníaco y el reciclaje de la urea. Por ejemplo, si se provee una adecuada cantidad de energía en la dieta se tendrá una actividad y crecimiento adecuado de los microorganismos, ya que la cinética del amoníaco y el metabolismo de la urea en el rumen tienen una relación lineal y positiva respecto a los niveles de N en la dieta (Obara et al., 1991).

La mayor parte de esta urea es excretada por la orina y aproximadamente un 20 % es reciclada al rumen. Esta urea también es descompuesta en el rumen, por bacterias, para la formación de proteínas microbianas y cerca del 70% del nitrógeno disuelto en el rumen, es nitrógeno amoniacal (Bondi, 1988). A medida que las bacterias se multiplican, sintetizan proteínas para construir sus propias células, obteniendo las materias primas a partir del alimento que ingiere el animal. No obstante la gran variedad de microorganismos (bacterias, protozoarios y hongos) que habitan en el rumen, las bacterias son las más activas en la digestión y síntesis de proteína microbiana. Las bacterias degradan

la proteína en el rumen a compuestos simples de nitrógeno tales como amonio, aminoácidos y péptidos e incorporan estos materiales a su proteína celular. La proteína bacteriana que se forma en el rumen se digiere posteriormente en el estómago o abomaso y en el intestino (Maynard *et al*, 1981).

Los protozoarios y los hongos son activos en la degradación del alimento en el rumen, y posteriormente éstos son considerados parte de la PC microbiana. Los protozoarios tienen un porcentaje del 40% de PC con un rango del 20 al 60%, y usualmente la proteína aportada por los protozoarios es alrededor de un 10%, siendo proporcional a su población en el rumen (Owens y Zinn, 1988).

La población microbiana del rumen es altamente proteolítica, y obtiene de la degradación de los componentes nitrogenados del alimento, péptidos, aminoácidos y sobre todo amoníaco, que también puede provenir de la urea endógena. El amoníaco es necesario para el crecimiento y la proliferación microbiana (Orskov, 1988).

El nivel de alimentación y la cantidad de proteína no degradable en el rumen, altera la cantidad y la composición de los aminoácidos presentes a nivel sanguíneo en las vacas (Volden, 1999).

La síntesis de proteína microbiana provee del 60 al 85% del total de aminoácidos que llegan al intestino delgado (Buttery & Foulds, 1988).

Aun cuando el contenido de NNP en la dieta sea bajo, del 50 al 80% de nitrógeno que llega al intestino delgado es de origen microbiano (Nocek & Russell, 1988).

### **2.3. Metabolismo de aminoácidos y formación de urea**

Los tejidos de rumiantes requieren de aminoácidos igualmente que los monogástricos; sin embargo, los rumiantes pueden utilizar NNP en la dieta, y los monogástricos no (Nocek & Russell, 1988).

Las proteínas intracelulares que serán degradadas son marcadas con moléculas de ubiquitina. Los aminoácidos liberados por el catabolismo proteínico o ingerido en exceso en la alimentación, son degradados, no almacenados. Cuando los aminoácidos ocurren en exceso a las necesidades metabólicas, sus esqueletos de carbono son catabolizados a compuestos intermedios para usarse como energéticos o como sustratos para la biosíntesis de carbohidratos y lípidos (Rodwell, 1994).

Los animales excretan el nitrógeno de los aminoácidos y otras fuentes como amoníaco (acuáticos), ácido úrico (aves) o urea (mamíferos). En los animales ureotélicos, la biosíntesis de la urea se puede dividir en cuatro etapas; 1) transaminación, 2) desaminación oxidativa, 3) transporte de amoníaco y 4) reacciones del ciclo de la urea (Rodwell, 1994).

Las bacterias del rumen aportan aminoácidos en la proteína microbial, pero se pueden fermentar y ser una fuente de energía. La fermentación de los aminoácidos también puede elevar el  $\text{NH}_3$  del rumen. Si el  $\text{NH}_3$  se absorbe en el rumen, se incrementa la actividad del ciclo de la urea (ureogénesis) en el hígado y riñón. Esto es necesario para proteger al animal de una intoxicación potencial por hiperamonemia (Nocek y Russell, 1988).

Los altos consumos de proteína cruda van a ser digeridos rápidamente en el rumen, y que también las altas cantidades de NNP elevan los niveles de amoníaco principalmente, lo cual puede interferir con el metabolismo intermediario. Los altos niveles de amoníaco pueden influir en el funcionamiento normal del ciclo de Krebs y se interfiere el metabolismo de la energía en el hígado. Animales con dietas que contienen altos niveles de PDR o NNP, absorben más amoníaco, y la síntesis de urea en el hígado se incrementa (Hibbit, 1988).

La gluconeogénesis y la síntesis de urea están relacionadas, siendo necesario ATP para llevarse a cabo, y por lo tanto hay una competencia por las fuentes de energía. Cuando la tasa de gluconeogénesis y de síntesis de urea son muy altas, puede darse una inhibición de la gluconeogénesis, no así de la síntesis de la urea, porque esta depende más de la presencia de los altos niveles de iones amonio. En vacas altamente productoras, alimentadas con dietas con altos contenidos de PDR y/o NNP, se da una alta concentración de amonio en la sangre portal, por lo que, la energía disponible para los procesos de síntesis está probablemente limitada, y la gluconeogénesis puede ser disminuida. Sobre éstas condiciones se pueden esperar bajos niveles de oxalacetato, y disminuir la actividad del ciclo de Krebs, teniendo con ello una baja disponibilidad de ATP (Hibbit, 1988).

Se requiere 4 ATP por cada mol de urea producida además de un mol de amoníaco y otro de biotínil-CO<sub>2</sub>, así como el nitrógeno del grupo amino del aspartato (Betz, 1999).

#### **2.4. Requerimientos de proteína y consumo excesivo**

Los requerimientos de proteína de un animal dependen de las fases del crecimiento. En la práctica, estos requerimientos deben ser lo suficientemente elevados para cubrir por completo las necesidades proteicas con las raciones que varían en su valor biológico, y también para proveer una relación proteína - energía que no sea tan amplia que disminuya la eficiencia de la ración completa (Maynard *et al.*, 1981).

Al proporcionar los requerimientos de proteína para el crecimiento también se debe considerar la cantidad necesaria para mantenimiento. La proporción de ésta última aumenta con el tamaño corporal, pero la demanda, para crecimiento disminuye con la edad y tamaño corporal (Maynard *et al.*, 1981).

Por ejemplo, el NRC recomienda para borregos en crecimiento (15 a 30 kg de PV) para ganancia de peso de 200 g/d un contenido de proteína cruda de 134-151 g/d en animales de 15 kg hasta 154-173 g/d en animales de 30 kg dependiendo del genotipo (NRC, 1985).

El exceso de proteína puede ser costoso y representa una fuente ineficiente de energía, pero cuando el exceso en el alimento es grande, puede producir una toxicidad aguda (Fenderson & Bergen, 1976). El exceso de NNP o de altas cantidades de proteína soluble en las dietas de los rumiantes pueden producir una intoxicación por amoníaco (NRC, 1985).

Se midió el efecto tóxico de la proteína en novillos Holstein al darles por 14 días dietas de hasta 40% de PC. A pesar de la corta duración del estudio se observó un descenso (13,3 y 27%) en el consumo de alimento para los niveles de 32,5 y 40% de PC respectivamente. También observaron un aumento en la concentración de urea en el plasma sanguíneo a 21 mg/dL (200%) y el aumento de NH<sub>3</sub> en el rumen a 81,9 mg/dL (606%) para el nivel más alto respecto al testigo. Esto posiblemente cause problemas metabólicos para tratar de manejar los excesos de proteína (Fenderson & Bergen, 1976).

## **2.5. Función renal y excreción de orina**

El riñón es el principal órgano de excreción y juega un papel decisivo en la regulación del metabolismo; desempeñando tres funciones básicas Kolb et al. (1974).

Regulación del contenido salino e hídrico del organismo, aumentando o disminuyendo la excreción de agua y electrolitos (función). Mantenimiento de la osmolaridad, pH, y volumen de la sangre. Excreción de sustancias extrañas al organismo, así como de las fisiológicas, en particular productos finales tóxicos del metabolismo. Los desechos se forman a partir de la descomposición de tejidos activos y alimentos consumidos, el

organismo toma de los alimentos todo lo necesario y elimina lo que no necesita, y si el riñón no los elimina se acumularían causando perjuicios (Delgado *et al.*, 2011).

Como órgano de excreción, el riñón desempeña su función mediante la formación de orina. El primer paso en la formación de la orina, es el filtrado glomerular, que tiene una composición semejante al plasma, pero con pocas proteínas ya que las macromoléculas no atraviesan la pared de los capilares. El filtrado pasa a la cápsula de Bowman y de ésta al túbulo contorneado proximal donde comienzan los procesos de reabsorción y excreción. El túbulo reabsorbe toda la glucosa y además reabsorbe cloruro de sodio (NaCl), agua, aminoácidos, proteínas y ácido ascórbico. Luego el filtrado continúa por el Asa de Henle, cuya porción descendente es permeable al agua y al sodio (Na); como el líquido intersticial de la zona medular del riñón es hipertónico se excreta Na y se reabsorbe agua. La porción ascendente es impermeable al agua y reabsorbe activamente Na. Luego el filtrado pasa al túbulo contorneado distal, el que reabsorbe activamente Na y agua, estimulado por la hormona aldosterona; se añaden iones hidrógeno y amonio (pH) y finalmente el filtrado se va hacia el túbulo colector donde se realiza el ajuste final de la cantidad de agua en la orina (Delgado *et al.*, 2011; Junqueira y Carneiro, 1987).

El riñón mantiene la velocidad de filtración glomerular dentro de un rango fisiológico por una modulación de la presión sanguínea sistémica y del volumen intravascular; asimismo, por un control intrínseco del flujo sanguíneo renal, de la presión capilar glomerular y del coeficiente de ultrafiltración. Dichos efectos sistémicos, se encuentran mediados por factores hormonales, siendo los más importantes el sistema renina-angiotensina-aldosterona; además, están involucrados el reflejo miogénico y de retroalimentación tubuloglomerular, la vasopresina, glucocorticoides y progesterona (Cunningham, 1992).

La orina recogida por los túbulos colectores confluye en los cálices menores y mayores y después, es transportada a los uréteres gracias a las contracciones de los músculos de la pared de la pelvis. Por inervación simpática éstos presentan contracción peristáltica cada 15 a 60 segundos, las que conducen la orina hasta la vejiga. El ritmo de las contracciones de los uréteres está en relación con la cantidad de orina que les llega (Kolb *et al.*, 1974).

El volumen de la orina depende del filtrado glomerular, la reabsorción y de la excreción extraglomerular. Los túbulos colectores reabsorben activamente NaCl, pero su contribución más importante para la hipertonicidad medular, es la reabsorción de urea. La parte terminal es muy permeable a la urea, permeabilidad que aumenta por la hormona antidiurética; así la urea se conserva en el fluido tubular hasta que llega al túbulo colector terminal, en la parte profunda de la médula. Cuando las condiciones demandan un aumento en la conservación del agua, se promueve la reabsorción de urea. El extremo ascendente delgado del Asa de Henle es permeable a la urea, mientras que los segmentos tubulares que intervienen entre el extremo ascendente delgado y el túbulo colector terminal son impermeables. De esta forma, la urea es reabsorbida del túbulo colector terminal, reciclándose de regreso a éste (Cunningham, 1992).

El volumen de orina producido muestra cambios durante el día, variación que se asocia al régimen de alimentación. En un ensayo en novillos, alimentados una y dos veces en el día, se apreció que los volúmenes de orina producidos durante el día fluctuaron entre 227 y 437 mL/h en los animales con alimentación única y entre 228 y 447 mL/h en los animales alimentados dos veces al día (Chen *et al.*, 1992).

## 2.6. Compuestos nitrogenados en la orina

Dentro de los productos finales del metabolismo de los compuestos nitrogenados en vacas se presentaron las siguientes proporciones: 69% urea, 7,3% alantoína, 5,8% ácido hipúrico, 3,7% creatinina, 2,5% creatina, 1,3% ácido úrico, 0,5% xantina más hipoxantina, 1,3% aminoácidos libres y 2,8% amonio; siendo el nitrógeno total de la orina 6,8 a 21,6 g/L (Bristow *et al.*, 1992).

En vacas, las condiciones de estrés térmico aumentan la excreción de nitrógeno, debido al incremento en la excreción de creatinina por la orina, indicando que un incremento en el catabolismo del tejido muscular reduce la proporción de nitrógeno retenido (Kellaway y Colditz, 1975).

Se ha analizado el efecto de la hora de muestreo en la concentración de metabolitos urinarios expresando los datos como proporción del valor del día, observándose diferencias entre los resultados obtenidos por hora de muestreo con los del valor diario. Como una tendencia general, los valores de urea y de creatinina fueron mayores durante el día que durante la noche (Gonda y Lindberg, 1994).

La edad también puede afectar la excreción de compuestos nitrogenados por la orina. Por ejemplo, la orina de los animales jóvenes contiene menos creatinina que la de los animales adultos (Cunningham, 1992).

### 2.6.1. Urea

De los residuos animales, la orina es la fuente más importante de eliminación de nitrógeno, siendo la urea la más abundante (Oldham y Tamminga, 1995). La urea es una molécula pequeña, sin carga (masa molecular relativa a 60 Daltons) que no se une a las proteínas. Difunde rápidamente a través de todos los compartimentos de fluidos del cuerpo y se filtra libremente en la membrana basal del glomérulo (BSAVA, 2013).

En el organismo animal, no existe reserva de aminoácidos, de modo que sus niveles, dependen del equilibrio entre la biosíntesis y la degradación de proteínas corporales. En los animales la degradación oxidativa de los aminoácidos ocurre bajo 3 circunstancias metabólicas diferentes: a) Durante el recambio proteico; b) Cuando la dieta es rica en proteínas; y, c) Durante el ayuno. Bajo estas condiciones metabólicas, los aminoácidos pierden su grupo amino para formar cetoácidos. El exceso de  $\text{NH}_4^+$  (grupo amino) debe ser eliminado del organismo. Los mamíferos lo eliminan bajo la forma de urea (ureotélicos), siendo el hígado el órgano principal de degradación oxidativa de aminoácidos y de síntesis de urea en una ruta denominada el Ciclo de la Urea (Fig. 1) (Nelson & Cox, 2008).

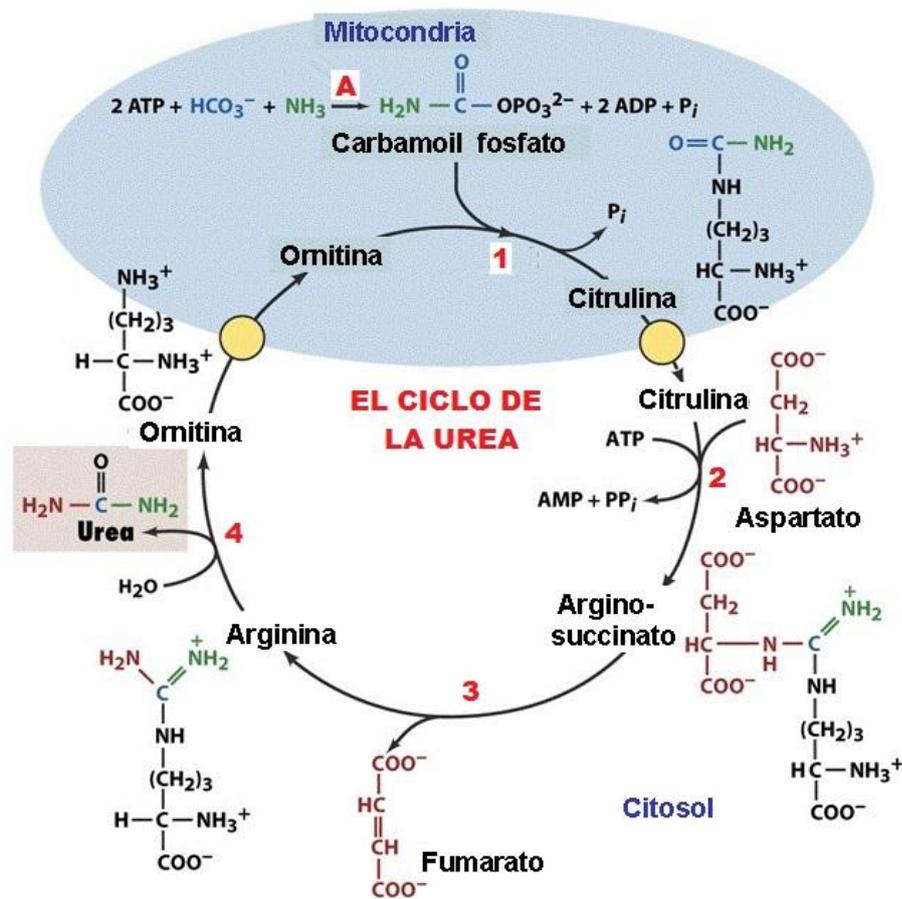


Figura: 1 Reacciones del ciclo de la urea.

La excreción urinaria de urea es afectada por la dieta y el régimen de alimentación (Bondi, 1988).

Como la urea presenta una circulación rumino-hepática, sólo una parte de la que se produce en el hígado es eliminada en la orina. A ésta se agrega una secreción activa de urea en el túbulo, la que afecta el volumen urinario, provocando la extravasación de agua y de NaCl (Kolb *et al.*, 1974).

Un factor que afecta a la digestibilidad de las proteínas y por ende al balance nitrogenado, es el consumo diario de proteínas, existiendo una relación lineal entre ingesta de nitrógeno y digestibilidad tabla 1 (Church, 1988).

**Tabla 1.** Excreción urinaria de nitrógeno según diferentes aportes proteicos

	% de proteína cruda en la dieta			
	14.5	19.9	23.7	28.5
N urinario (g/día)	23,7	37,3	55,3	80,0
N retenido (g/día)	27,4	37,3	42,8	44,6
N retenido (%)	32,6	33,8	31,1	26,4

Cuando la ración contiene alta cantidad de proteínas la utilización del nitrógeno y de la urea es inferior a la que se obtiene con raciones hipoproteicas (Loosli y McDonald, 1969).

La concentración de urea en orina se incrementa con el aumento en la ingesta de proteínas (Gonda y Lindberg, 1994).

La cantidad excretada de urea está determinada sobre todo por la ingesta proteica. Debido a su abundancia, como producto de desecho, su alta solubilidad y su baja

toxicidad, la urea desempeña un papel importante en la conservación del agua en el organismo (Arthur, 2000).

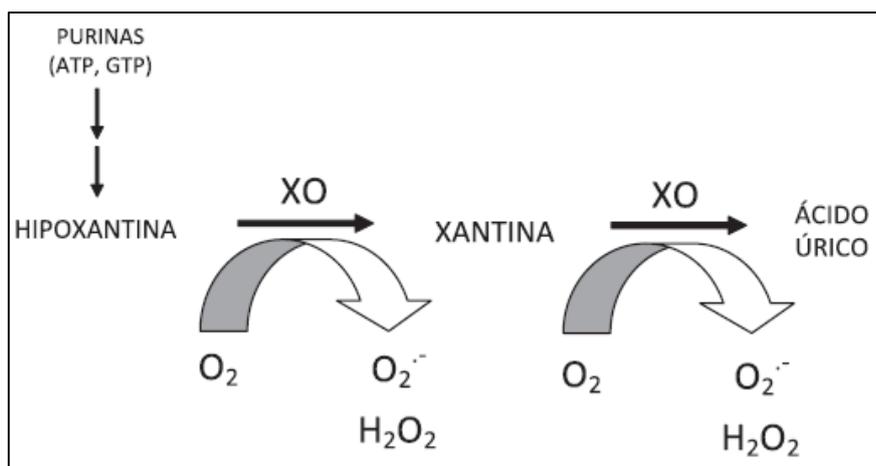
La tasa de excreción de la urea está determinada por dos factores: su concentración en el plasma y la tasa de filtración glomerular y contribuye al establecimiento del gradiente osmótico en las pirámides medulares y en la capacidad de formar una orina concentrada en los túbulos colectores. La urea contribuye a la hiperosmolaridad del intersticio medular renal y a la concentración de la orina (Guyton y Hall, 2001).

Cuando la ración contiene alta cantidad de proteínas la utilización del nitrógeno y de la urea es inferior a la que se obtiene con raciones hipoproteicas (Loosli y McDonald, 1969).

La concentración de urea en orina se incrementa con el aumento en la ingesta de proteínas Gonda y Lindberg (1994).

### **2.6.2. Ácido úrico**

El ácido úrico es el producto final del catabolismo de purinas en primates, aves y algunos otros animales. Es producido por la xantino oxidasa (XO) (Fig. 2) y su producción aumenta en parte por la ingestión de purinas y en parte por el recambio de los nucleótidos purina de los ácidos nucleicos. En la mayoría de mamíferos y muchos otros vertebrados, el ácido úrico es degradado a alantoína por la urato oxidasa (Nelson & Cox, 2008).



**Figura: 2** Síntesis de ácido úrico

Las purinas, especialmente la adenina y guanina, se encuentran en el organismo principalmente como componentes de los ácidos nucleicos (DNA y RNA). Normalmente existen dos fuentes de purinas, las que se obtienen por la hidrólisis de los ácidos nucleicos ingeridos o por los endógenos. El ácido úrico, es formado principalmente en el hígado, ya que presenta una gran actividad xantina-oxidasa, el resto se forma en la mucosa intestinal (Nelson & Cox, 2008).

La cantidad de ácido úrico depende de la ingestión dietética de purinas y de la velocidad del catabolismo de las purinas endógenas, o sea las formadas en el interior del organismo. Por ejemplo, en el humano en situaciones normales se forman 5 g de purinas al día y solo 0,5 g se convierten en ácido úrico; por tanto, la mayor parte de las purinas formadas son reutilizadas (Murray *et al*, 2004).

En el humano, cada día se elimina 750 mg de ácido úrico, de los cuales 500 mg son eliminados por vía renal y 250 mg por las heces. Todo exceso de esta cantidad permite su acumulación. La principal forma de eliminación del ácido úrico es a través de la orina el cual es filtrado en el glomérulo y parcialmente reabsorbido en el túbulo renal, pero secretado activamente en los túbulos; su presencia en sangre causaría una acidosis y una

buena forma para eliminarlo es convertir la orina en alcalina (uratos). En ocasiones, el ácido úrico se precipita en la orina y forma cálculos renales, lo cual se debe a una baja solubilidad del ácido úrico ionizado que es la forma lactámica, y que tiene mayor solubilidad que la forma lactámica (Montgomery, 1998).

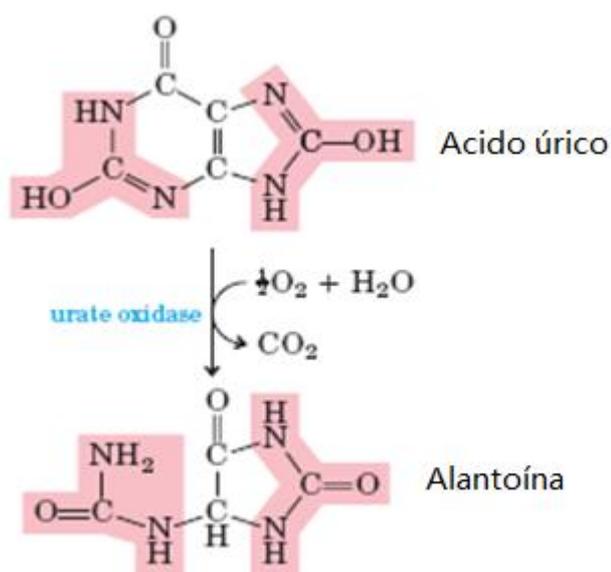
La hiperuricemia es el aumento de ácido úrico por arriba de los niveles normales y su aumento se debe principalmente a una alta ingesta de alimentos ricos en proteína como las carnes y también enfermedades como la leucemia en donde hay un aumento del catabolismo purínico (Balcells, 2006).

El cuerpo aumenta la cantidad de ácido úrico que produce.- Los riñones no eliminan ácido úrico. - Se consume muchos alimentos ricos en purinas. En humanos, el exceso de ácido úrico en sangre y tejidos produce la gota, enfermedad en la cual las articulaciones se vuelven inflamadas, dolorosas y artríticas como producto de los depósitos de cristales de urato sódico. También los riñones son afectados por el depósito en los túbulos renales (Nelson & Cox, 2008).

Se determinó los derivados purina en orina de dos búfalos, dos camellos, tres vacas y cuatro ovejas. Los niveles de alantoína, ácido úrico y creatinina fueron determinados por colorimetría mientras que xantina e hipoxantina por HPLC. Con respecto al ácido úrico, se determinó que la proporción es muy bajo en orina de camellos (1,7%) mientras que en ovejas y vacas los rangos van desde 3,7 a 9,2%, La concentración de ácido úrico fue la siguiente: en búfalos 4,37, en camellos 1,77, en vacunos 18,03 y en ovinos 8,42 mg/dL. Llegándose a concluir que la alantoína es el principal derivado purina en los rumiantes (Moscardini *et al.*, 1999).

En la mayoría de mamíferos y muchos otros vertebrados, el ácido úrico es degradado a alantoína por la enzima urato oxidasa (Fig. 3). En otras especies la degradación continúa

hasta otras formas: ácido alantoico, urea y amonio, todo depende del tipo de organismo viviente (Nelson & Cox, 2008).



**Figura: 3** Síntesis de alantoína a partir de ácido úrico.

## 2.6. Composición de los forrajes

### 2.6.1. Heno de alfalfa

La alfalfa es un forraje calificado como insumo proteico por excelencia, debido a que contiene casi todos los nutrientes que requieren los rumiantes (Bautista, 2009). La composición química del heno de alfalfa es 20,9% de materia seca, 87,4% de materia orgánica, 19,4% de proteína cruda, 1,1% de extracto etéreo, 46,3% de fibra detergente neutro (FBN) y 34,6% de fibra detergente ácida (FDA) (López *et al.*, 1996).

La composición química del heno de alfalfa maduro en base seca es: 15% de proteína cruda, 51,46% de fibra detergente neutro, 2,5% de extracto etéreo, 10,34% de cenizas, 20,70% de glúcidos no fibrosos y 4284 Cal/g de energía bruta (Bautista, 2009).

### 2.6.2. Heno de avena

El forraje de heno de avena es un insumo de carácter energético cuya calidad depende de la calidad del suelo, etapa o grado fenológico en el momento de la cosecha, su calidad declina cuando entra a la etapa de floración y es más resistente a la degradación ruminal. Los valores en las etapas de embuche, floración y masoso son de: 11,8, 7,8 y 5,9% para proteína cruda; 50,8, 62,2 y 62,7% de FDN; 24,9, 34,3 y 37,2% e FDA y 0,65, 1,51 y 4,9% de lignina detergente ácida (LDA), respectivamente (Coblentz & Hoffman, 2009).

Existen diferencias muy pequeñas en la composición química y digestibilidad de heno de avena cortao en la etapa de masoso y maduro, siendo la FDN 64,5 y 64,5%; FDA 37,7 y 40,1%, respectivamente. La digestibilidad in vivo de la MS, MO y DFA del heno de avena masoso fue de 52,4%, 54,1 y 49,1% mientras que para maduro fue de 53,1, 54,9 y 51,5%, respectivamente (Kraiem *et al.*, 1997).

### 2.6.3. Paja de ichu

Las gramíneas duras (iru ichu, ichu y chilliwa) presentan escasos valores nutricionales, excepto la chilliwa, que en el periodo húmedo alcanza niveles de proteínas crudas superiores al 8% de la materia seca. En el periodo seco, las concentraciones crudas son notablemente bajas, en los meses de abril a mayo se tiene un promedio de 3,5 de proteína cruda para ichu (Genin *et al.*, 1995).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Ubicación

El trabajo se realizó en el Centro de Investigación y Producción (CIP) La Raya, de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia perteneciente a la Universidad Nacional del Altiplano – Puno, ubicado en la jurisdicción del distrito de Santa Rosa, provincia de Melgar, región Puno, localizado entre las coordenadas 13°00' y 17° 18' de latitud Sur, 71° 18' y 65°50' de longitud Oeste del meridiano de Greenwich, una temperatura de 9.5°C a -4°C y una precipitación pluvial anual de 525,7 mm, a una altitud de 4136 a 5740 metros (SENAMHI, 2013). Topográficamente es una zona accidentada, presentando laderas con fuertes pendientes susceptibles a erosión pluvial y eólica, con un tipo de vegetación natural, conformada en su flora mayoritaria por gramíneas, ciperáceas, juncáceas y leguminosas (Holgado y Condorena, 1987).

Los análisis químicos se realizaron en los laboratorios de Nutrición Animal y de Bioquímica de la Facultad de Medicina Veterinaria de la UNA-Puno.

#### 3.2. Instalaciones

En el CIP La Raya se construyó 6 jaulas metabólicas de madera cuyas medidas fueron de 0.60 cm. de ancho x 2 metros de largo, suspendido a 0.6 metros de altura del piso, con puertas individuales cubiertos con un piso plastificado, comederos y bebederos, fueron diseñadas con un sistema de colección de orina tipo embudo conectado a un recipiente, las muestras de orina fueron analizadas en el laboratorio de Bioquímica – FMVZ de la U.N.A. - Puno.

#### 3.3. Animales

Se seleccionaron aleatoriamente seis alpacas hembras Huacaya de color blanco esquiladas de 3 y 4 años de edad, clínicamente sanos, estas se encontraron bajo las mismas

condiciones ambientales, de alimentación (pasturas naturales) y manejo las cuales fueron dosificadas contra parásitos internos y externos previo al inicio del experimento. La distribución de los animales tomando en cuenta los factores proteína cruda (PC) en la dieta y edad, se detallan en la tabla 2.

**Tabla 2.** Distribución de las alpacas según factores %PC en la dieta y edad.

Edad	PC en la dieta			Total
	4%	6%	8%	
3 años	1	1	1	3
4 años	1	1	1	3
Total	2	2	2	6

### 3.4. Forrajes e insumos alimenticios

Los forrajes utilizados fueron paja de avena (*Avena sativa*) adquirido del distrito de Paucarcolla, paja de Ichu (*Stipa ichu*) cortado de las cabañas cercanas al CIP-La Raya, heno de alfalfa (*Medicago sativa*) adquirido de la ciudad de Pedregal-Majes (Arequipa), todos en estado fenológico maduro. Estos forrajes fueron procesados mediante el molino picador forrajero y mezclado con insumos alimenticios y suplemento comercial de vitaminas y minerales (Suplamin Difos).

### 3.5. Análisis de forrajes e insumos alimenticios

Se determinó la materia seca (MS) forrajes y insumos alimenticios, la proteína cruda (PC) (Método microkjeldahl) de los forrajes, energía bruta (EB) de los forrajes (Bomba Calorimétrica) de acuerdo a la AOAC (1997), y la energía metabolizable (EM) se calculó utilizando la formula  $EM = 0,5465 * EB$  (NRC, 1984). La composición química de los forrajes se muestra en la tabla 3.

**Tabla 3.** Composición química de los forrajes (100% de MS)

Forraje	%MS	%PC	EB (Kcal/kg)	EM (Kcal/kg)
Paja de Avena	99,15	2,31	4606	2517
Paja de Ichu	98,36	2,93	4893	2674
Heno de Alfalfa	99,16	17,46	4697	2567

### 3.6. Dietas experimentales

Se formuló tres dietas experimentales (tratamientos) con contenidos de PC de 4%, 6% y 8%, con contenido de energía isocalóricas, en base a la composición química de los forrajes y insumos alimenticios, para la formulación de las dietas, se considerarán los requerimientos de PC de Bondi y Drori (1989), quienes indican que las raciones con menos de 4% de PC en rumiantes, los coeficientes de digestibilidad aparente son negativos. La fórmula alimenticia y la composición química de las tres dietas experimentales se detallan en el tabla 4.

**Tabla 4.** Composición química de las dietas experimentales por kg (base seca).

Insumo	Dieta 4% de PC				Dieta 6% de PC				Dieta 8% de PC			
	% mezcla	%PC	EB, Mcal	EM, Mcal	% mezcla	%PC	EB, Mcal	EM, Mcal	% mezcla	%PC	EB, Mcal	EM, Mcal
Paja Avena	49	1,42	2,16	1,18	41	0,95	1,83	1,01	35	1,03	1,56	0,85
Paja de Ichu	41	0,95	1,73	0,94	35	1,03	1,47	0,80	27	0,62	1,14	0,62
Heno de Alfalfa	10	1,66	0,41	0,23	23	4,02	0,10	0,54	37	6,46	1,60	0,88
Vit -Min	1	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0
Total	100	4,03	4,30	2,35	100	6,00	3,40	2,35	100	8,11	4,30	2,35

### **3.7. Métodos**

#### **3.7.1. Etapas del estudio**

##### **3.7.1.1. Etapa de acostumbramiento**

Las alpacas de ambas edades fueron confinadas en las jaulas metabólicas, para que se acostumbren al encierro y a la alimentación con las dietas experimentales durante 7 días. El suministro de las dietas experimentales y agua, se realizó una vez por día en horario fijo 7:00 am.

##### **3.7.1.2. Etapa experimental**

Durante la etapa experimental, se realizó de igual manera que la etapa de acostumbramiento, solo con la variante que durante esta etapa se colectó la orina, en horario fijo 6:00 – 7:00 am antes del suministro de las dietas experimentales, esta etapa duró 7 días.

#### **3.7.2. Colección y almacenamiento de la orina**

La colección de orina fue cada 24 horas durante 7 días que duró la etapa experimental, se utilizó un embudo colector que por gravedad lleva la orina a un recipiente que estuvo debajo de las jaulas metabólicas, de la cual se extrajo 2 mL en viales debidamente rotulados con fecha, identificación de animal, tratamiento; posteriormente, trasladada al laboratorio de Bioquímica de la FMVZ – UNA – Puno, siendo almacenada a -20°C hasta su análisis respectivo.

#### **3.7.3. Cuantificación de los niveles de urea y ácido úrico en orina**

Las muestras de orina fueron analizadas en el laboratorio de Bioquímica de la FMVZ – UNA – Puno, donde se determinó la concentración de urea y ácido úrico en mg/dL utilizando kits de Wiener Lab ®.

##### **a) Determinación de urea**

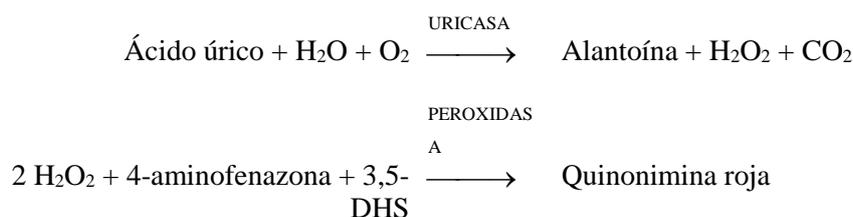
Se utilizó el método enzimático utilizando el kit UREMIA cuyo fundamento es el siguiente:

La ureasa descompone a la urea en  $\text{CO}_2$  y  $\text{NH}_3$ ; este último reacciona con el fenol e hipoclorito en medio alcalino produciendo un compuesto coloreado (azul de indofenol) cuya intensidad es directamente proporcional a la cantidad de urea. El color desarrollado se lee en el espectrofotómetro a 540 nm de longitud de onda.

El procedimiento seguido se hizo siguiendo las indicaciones del fabricante (Anexos)

### b) Determinación de ácido úrico

Se utilizó el método enzimático AA utilizando el kit URICOSTAT cuyo fundamento es el siguiente:



3,5-DHS: sal sódica de 3,5-diclorohidroxibenceno sulfónico

La cantidad de ácido úrico se determina midiendo la absorción de este pigmento rojo a 505 nm de longitud de onda.

El procedimiento seguido se encuentra en el Anexo.

### 3.7. Análisis estadístico.

Los valores obtenidos para las variables, urea y ácido úrico, fueron analizados en un diseño completamente al azar (DCA), en un arreglo factorial 3 x 2, donde el primer factor es el % de PC de las dietas (4, 6 y 8%) y el segundo factor es la edad de las alpacas (3 y 4 años), siendo el modelo aditivo lineal el siguiente:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \beta_j + (\alpha\beta)_{ij} + \varepsilon_{ijk}$$

Donde:

$Y_{ijk}$  : Niveles de urea y ácido úrico en orina obtenidos con el i-ésimo %PC en la dieta j-ésima edad, k-ésima repetición.

$\mu$  : Efecto del promedio general

$\alpha_i$  : Efecto de la i-ésima %PC en la dieta

$\beta_j$  : Efecto del j-ésima edad

$(\alpha\beta)_{ij}$  : Efecto de la interacción de la i-ésima %PC en la dieta, j-ésima edad

$\varepsilon_{ijk}$  : Efecto del error experimental en la i-ésima %PC en la dieta, j-ésima edad, k-ésima repetición.

Para la comparación de medias de los efectos principales se utilizó la prueba de significancia de Tukey con un nivel de significancia del 0.05.

Para determinar el grado de asociación entre urea y ácido úrico se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson, cuya fórmula es:

$$r = \frac{N \sum XY - (\sum X)(\sum Y)}{\sqrt{N \sum X^2 - (\sum X)^2} * \sqrt{N \sum Y^2 - (\sum Y)^2}}$$

Donde:

r : Coeficiente de correlación entre los niveles de urea y ácido úrico.

X : Niveles de urea.

Y : Niveles de ácido úrico.

El procesamiento de datos y el análisis estadístico se realizó utilizando los software Excel y SPSS Versión 22©.

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Niveles de urea y ácido úrico según % PC en la dieta y edad

#### 4.1.1. Urea

Las concentraciones de urea en orina (anexo A.) en alpacas de 3 y 4 años, sometidas a los diferentes niveles de porcentaje de proteína cruda (%PC) en las dietas y edades, se presentan en la Tabla 5.

**Tabla 5.** Niveles de urea en orina mg/dL según %PC de la dieta y edad.

Edad	%PC en la dieta						Total
	4%		6%		8%		
	Media ±	d.s.	Media ±	d.s.	Media ±	d.s.	Media ± d.s.
3 años	1709,3 ±	376,7	1885,0 ±	195,6	2313,5 ±	250,3	1969,3 <sup>a</sup> ± 374,8
4 años	2040,1 ±	291,8	2217,6 ±	252,5	2602,7 ±	219,5	2286,8 <sup>b</sup> ± 342,1
<b>Total</b>	<b>1874,7<sup>a</sup> ±</b>	<b>366,4</b>	<b>2051,3<sup>a</sup> ±</b>	<b>277,2</b>	<b>2458,1<sup>b</sup> ±</b>	<b>271,4</b>	<b>2128,0 ± 389,1</b>

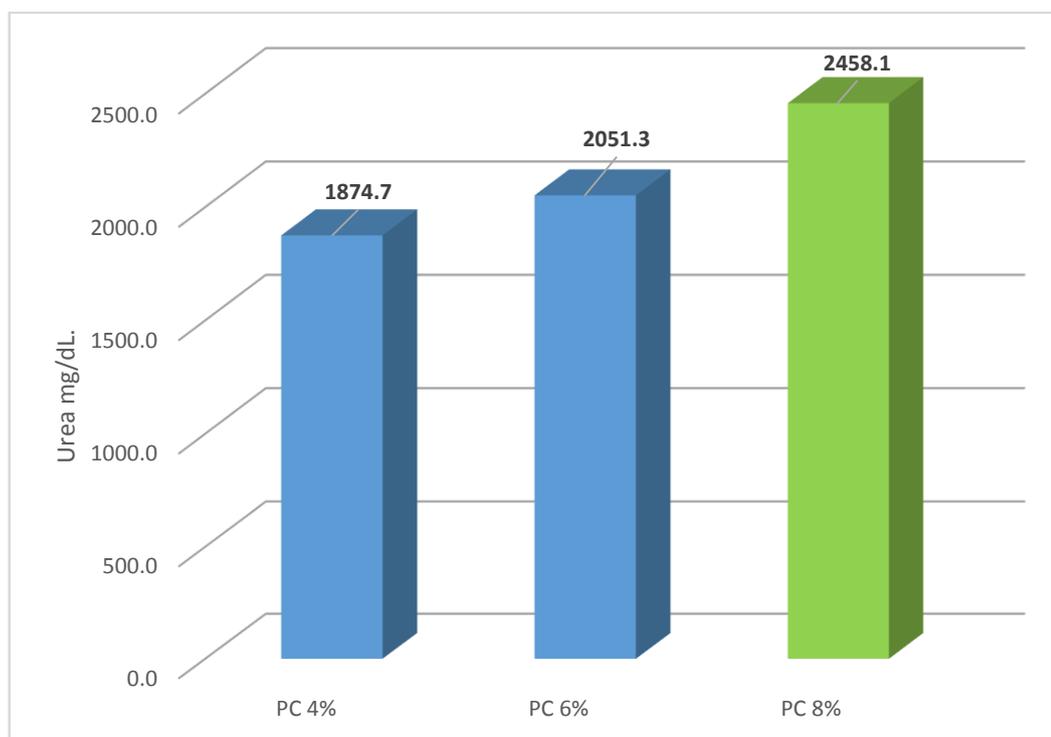
(a,b) medias con letras diferentes en la misma columna y fila, indican diferencias estadísticas significativas.

El análisis de varianza (ANVA) para los niveles de urea en orina (anexo D), indica que no existe interacción significativa ( $p > 0,05$ ) para los factores PC de la dietas y edad de las alpacas, lo que indica que los factores son independientes, por lo tanto se procedió al análisis de los efectos principales.

El ANVA (anexo D) para los factores PC de las dietas y edad de las alpacas muestran diferencias altamente significativas ( $p \leq 0,01$ ) en los niveles de urea en orina, la prueba de comparación múltiple de Tukey (anexo E) indica que no existe diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) entre los promedios de los niveles de urea en orina de los niveles 4 y 6% de PC de las dietas, por otro lado existe diferencias altamente significativas ( $p \leq 0,01$ ) entre los promedios de los niveles de urea en orina entre el nivel 8% de PC y los niveles 4 y 6% de PC de las dietas.

**a) Según el factor % de PC de la dieta**

Las diferencias observadas en los niveles de urea en orina para el factor %PC en la dieta, se deberían probablemente a que la excreción de urea en orina es afectada por el contenido de proteínas en la dieta, como se aprecia en la tabla 5 y Figura 4, una mayor excreción de urea en orina del nivel 8% de PC en la dieta, frente a los niveles 4 y 6% de PC, como lo afirma Bondi (1988), la excreción urinaria de urea es afectada por la dieta y el régimen de alimentación, asimismo Gonda y Lindberg (1994) señalan que los niveles de urea en orina se incrementan con el aumento en la ingesta de proteínas.



**Figura: 4** Urea (mg/dL) en orina según % de PC en la dieta

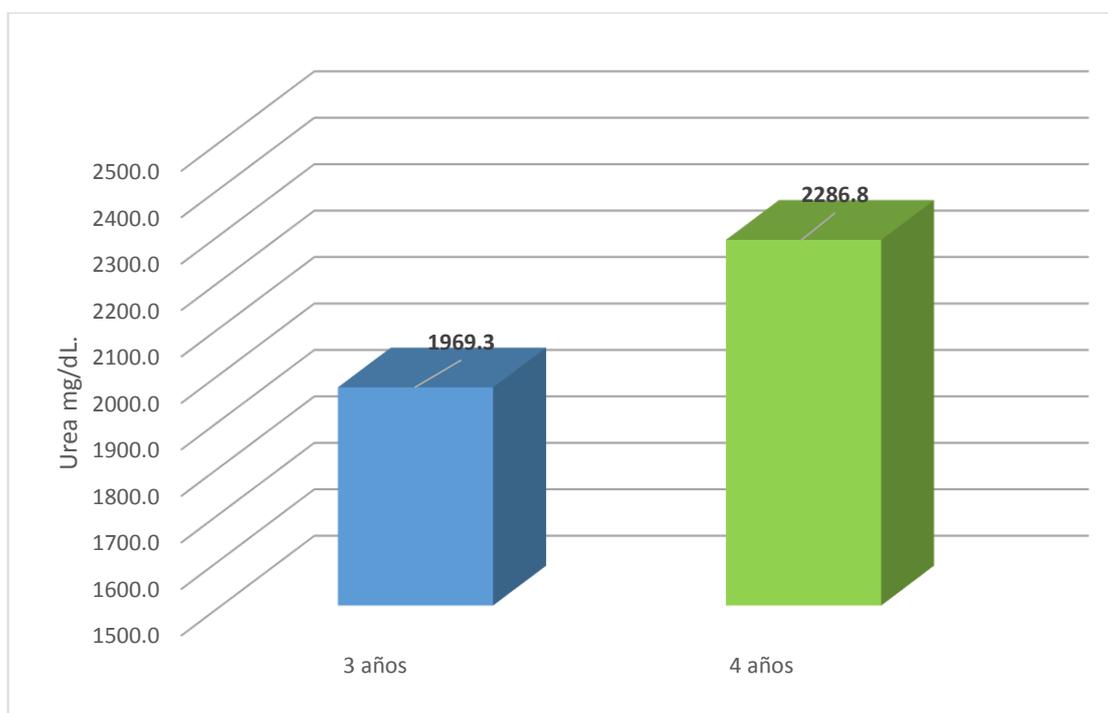
Loosli y McDonald (1969) afirman que cuando la ración contiene alta cantidad de proteínas la utilización del nitrógeno de la urea es inferior a la que se obtiene con raciones hipoproteicas, por otro lado Church (1988) afirma que un factor que afecta a la digestibilidad de las proteínas y, por ende, al balance nitrogenado, es el consumo diario

de proteínas, existiendo una relación lineal entre ingesta de nitrógeno y digestibilidad. Curo (2017), reporta valores de nitrógeno endógeno urinario de 4,85, 5,39 y 7,47 g/d, para alpacas de 4 años alimentadas con dietas que contienen 4, 6 y 8% de PC respectivamente, resultados similares reporta (Condori, 2017), quien reporta valores de nitrógeno endógeno urinario de 4,44, 6,92 y 7,64 g/d, para alpacas de 3 años alimentadas con dietas que contienen 4, 6 y 8% de PC respectivamente, se observa un aumento de excreción de nitrógeno urinario conforme se incrementa el %PC en la dieta, estos resultados corroborarían nuestros resultados, ya que el nitrógeno urinario en su gran porcentaje es excretado en forma de urea.

Arthur (2000), por su parte, indica que la cantidad excretada de urea está determinada sobre todo por la ingesta proteica, debido a su abundancia como producto de desecho, su alta solubilidad y su baja toxicidad, la urea desempeña un papel importante en la conservación del agua en el organismo.

#### **b) Según el factor edad**

Las diferencias encontradas en los niveles de urea en orina para el factor edad (tabla 5 y Figura 5), se deberían probablemente a que animales de menor edad excretan menor cantidad de urea en orina frente a animales de mayor edad, como lo asevera (Bradley, 2013), quien indica que la edad también puede afectar la excreción de compuestos nitrogenados por la orina, por ejemplo, la orina de los animales jóvenes contiene menos creatinina que la de los animales adultos.



**Figura: 5** Urea (mg/dL) en orina según edad

Valores similares al presente estudio fueron reportados por Robinson y Roeder (2014), quienes reportan valores para nitrógeno ureico en alpacas y llamas alimentadas con forrajes de alfalfa, cebada y pastos cultivados (grass), reportando valores para alpacas de 410,8, 316,7 y 274,3 mmol/L respectivamente (2467,2, 1902,1 y 1647,41 mg/dL) y para llamas reportan valores de 455,0, 317,6 y 292,0 mmol/L (2732,7, 1907,5 y 1753,75 mg/dL), para forrajes de alfalfa, cebada y pastos cultivados (grass) respectivamente, indicando que los camélidos reciclan nitrógeno (N) a una tasa más alta que otros rumiantes, y la conservación del N en camélidos se debe a una disminución en excreción de N en heces y orina cuando la ingesta de N en la dieta es marginal o deficiente, si está en exceso del requerimiento resultará en un aumento del nitrógeno ureico en sangre con su posterior aumento en la filtración y excreción renal.

Asimismo los valores de urea en orina encontrados en el presente estudio son ligeramente superiores a los reportados por Fowler (1989); Vallenas (1960) citado por

Raggy y Ferrando (1998), quienes reportan en alpacas valores promedio de  $608 \pm 330$  mg/dL con un rango de 80 – 1690 mg/dL, la diferencia se debería probablemente a la técnica utilizada para determinar los niveles de urea en orina.

#### 4.1.2. Ácido úrico

Las niveles de ácido úrico en orina (anexo B) en alpacas de 3 y 4 años, sometidas a los diferentes niveles de %PC en las dietas y edades, se presentan en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Niveles de ácido úrico en orina (mg/dL) según %PC de la dieta y edad.

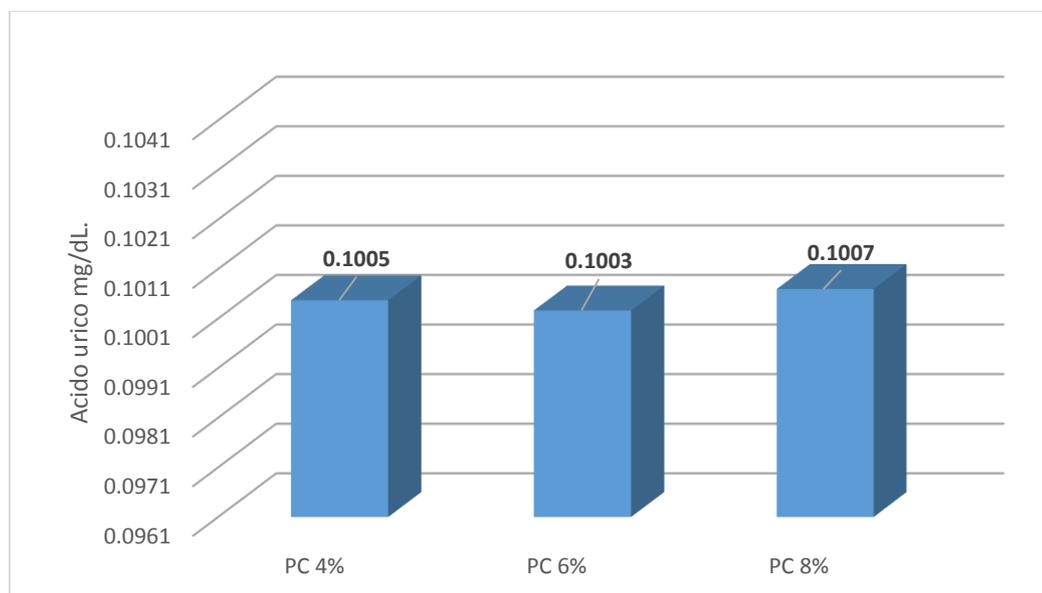
Edad	%PC en la dieta						Total
	4%		6%		8%		
	Media $\pm$	d.s.	Media $\pm$	d.s.	Media $\pm$	d.s.	
3 años	0,0996 $\pm$	0,0023	0,0989 $\pm$	0,0018	0,0995 $\pm$	0,0017	0,0993 <sup>a</sup> $\pm$ 0,0019
4 años	0,1013 $\pm$	0,0017	0,1017 $\pm$	0,0027	0,1019 $\pm$	0,0018	0,1016 <sup>b</sup> $\pm$ 0,0020
<b>Total</b>	0,1005 <sup>a</sup> $\pm$	0,0021	0,1003 <sup>a</sup> $\pm$	0,0026	0,1007 <sup>a</sup> $\pm$	0,0021	<b>0,1005 <math>\pm</math> 0,0022</b>

(a,b,c) medias con letras diferentes en la misma columna y fila, indican diferencias estadísticas significativas.

El ANVA para los niveles de ácido úrico en orina (anexo F), indica que no existe interacción significativa ( $p > 0,05$ ) para los factores % de PC de la dietas y de la edad de las alpacas; por lo tanto, se procedió al análisis de los efectos principales ya que los factores considerados son independientes. En ANVA también muestra que no existe diferencia significativa ( $p > 0,05$ ) para el factor % de PC de la dieta; pero para el factor edad, existe diferencia altamente significativa ( $p \leq 0,01$ ) en los niveles de ácido úrico en orina de alpacas. La prueba de comparación múltiple de Tukey (anexo G) confirma que no existe diferencias significativas ( $p > 0,05$ ) entre los niveles 4, 6, y 8% de PC en las dietas para los promedios de los niveles de ácido úrico en orina.

**a) Según el factor % de PC de la dieta**

En la Figura 6, se muestra los niveles de ácido úrico en orina según los distintos %PC en la dieta.



**Figura: 6** Ácido úrico (mg/dL) según % de PC en la dieta

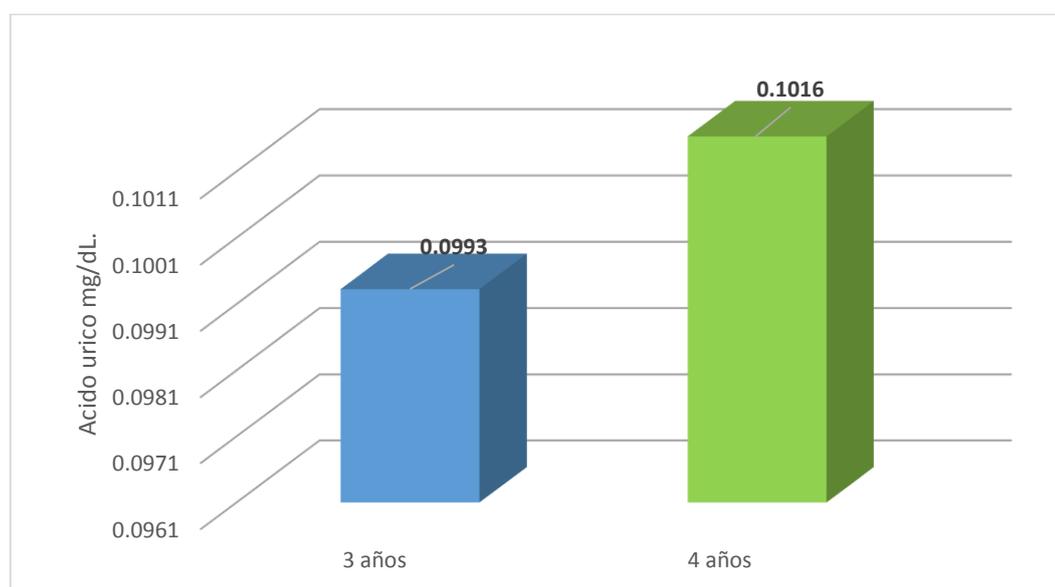
La no existencia de diferencias en los niveles de ácido úrico en orina para el factor %PC en la dieta, se deberían probablemente a que solo una reducida fracción de los derivados de purina exógenos proviene de bases púricas del alimento (Verbic et al., 1990 citado por Rua, 2014). Los derivados de purina de origen exógeno provienen mayoritariamente de la degradación de bases púricas, a nivel hepático e intestinal, de ácidos nucleicos de los microorganismos ruminales absorbidos (Smith y Mcallan, 1970; Verbic et al., 1990 citado por Rua, 2014). Asimismo McAllan en 1980 y 1982, considera que los ácidos nucleicos de origen dietético son degradados en el rumen, y por lo tanto tienen una contribución nula a la excreción de derivados de las purinas. Sin embargo, varios trabajos han demostrado que los derivados de purina pueden tener como origen purinas dietéticas que escapan a la digestión ruminal (Pérez *et al.*, 1996). Por tanto, el flujo de purinas dietéticas al intestino delgado dependerá de la naturaleza del sustrato, en

animales en pastoreo con bajo nivel de suplementación la contribución de purinas dietéticas será nula o mínima, como es el caso del presente estudio.

Otro factor contribuiría a que no exista diferencia en la concentración de ácido úrico en orina, para el factor %PC de la dieta, es el bajo porcentaje que representa en los derivados de purina en orina, y la mayor parte lo representa la alantoína, como lo reporta Rua, (2014), quien reporta valores de 1,5% de ácido úrico, 97,13% de alantoína, como porcentaje del total de los derivados de purina en orina de alpacas. Esto concuerda con otros reportes en alpacas (Orellana *et al.*, 2012; Rivera, 2004; citado por Rua, 2014) y en llamas Bakker *et al.*, (1996) citado por Rua, (2014), siendo alantoína, ácido úrico, xantina más hipoxantina los que se determinan en orden de abundancia encontrada en la orina.

#### b) Según el factor edad

La Figura 7 muestra la diferencia en el contenido de ácido úrico en orina de alpacas de 3 y 4 años de edad.



**Figura: 7** Ácido úrico (mg/dL) en orina según edad

La existencia de diferencia significativa en la concentración de ácido úrico en orina, para el factor edad, se debería a que la producción de proteína microbiana, principal fuente

de derivados de purina, está influenciada por muchos factores, como la alimentación, estado fisiológico, edad, etc. También se debería a que las alpacas de 3 años consumieron mayor cantidad de materia seca (anexo C) con respecto a las alpacas de 4 años, así lo corrobora Chen *et al.*, (1992) citado por Rua (2014) quien indica que la alantoína aumenta cuando se incrementa el consumo de materia seca mientras el ácido úrico e hipoxantina más xantina disminuyen.

Valores similares a nuestro estudio lo reporta Rua (2014), para alpacas quien reporta valores de 0,82, 0,78 y 2,90 mg/d. asumiendo que los un volumen de 500 a 1000 mL de orina al día, son muy cercanos a los valores del presente estudio, asimismo el rango de los valores de ácido úrico en orina de alpacas es amplio.

Existen muy pocos reportes sobre valores de ácido úrico en orina de alpacas.

#### 4.2. Grado de asociación entre urea y ácido úrico

La correlación de Pearson entre los niveles de urea y ácido úrico en orina se detalla en la Tabla 7, (anexo H) donde se muestran el grado de asociación y la significancia.

**Tabla 7.** Correlaciones de Pearson entre urea y ácido úrico en orina.

	Urea mg/dL.	Ácido úrico mg/dL.
Urea mg/dL.	1	0,273
Ácido úrico mg/dL.		1

En la tabla 7, (anexo H), se aprecia que existe un grado de asociación positiva baja de 0,273 entre las concentraciones de urea y ácido úrico en orina, no existe significancia ( $p > 0,05$ ).

Este bajo grado de asociación y la falta de significancia entre los niveles de urea y ácido úrico en orina de alpacas, se debería a que la urea depende directamente del % de PC en la dieta (Bondi 1988; Gonda y Lindberg 1994), mientras que la concentración de ácido

úrico el cual depende más del aporte de proteína microbial, y por ende de las bases púricas que llegan al duodeno, que del %PC en la dieta (Smith y Mcallan, 1970; Verbic *et al.*, 1990 citado por Rúa, 2014).

No se encontró referencias sobre correlación entre urea y ácido úrico en alpacas y otras especies.

Si bien la urea y el ácido úrico son compuestos nitrogenados excretados en la orina de diversas especies, ambos son productos de excreción de otras fuentes nitrogenadas en exceso. Así, mientras que la urea es el producto final de degradación del catabolismo oxidativo de aminoácidos, el ácido úrico es uno de los productos finales de la degradación de nucleótidos purina, tal como lo señala Nelson & Cox (2008); razón por la cual el grado de asociación es baja.

#### IV. CONCLUSIONES

- La concentración de urea se incrementa conforme aumenta el % de PC en la dieta, mas no así la concentración de ácido úrico en orina de alpacas. La concentración de urea y ácido úrico en orina de alpacas, es mayor en alpacas de 4 años con respecto a las de 3 años. No existe interacción entre el % de PC de la dieta y la edad, sobre la concentración de urea y ácido úrico en orina de alpacas.
- El grado de asociación es muy baja y no significativa entre la concentración de urea y ácido úrico en orina de alpacas.

## V. RECOMENDACIONES

- Realizar trabajos donde se incluya todos los derivados de purina en orina de alpacas.
- Realizar trabajos con diferente %de PC y energía, para cuantificar las concentraciones de urea y derivados de purina en sangre y orina de alpacas.
- Relacionar los valores de urea y ácido úrico en sangre y orina.
- Cuantificar la población de microorganismos del rumen y relacionar con las concentraciones de urea y ácido úrico en sangre y orina.

## VII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AOAC. (1997). Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists 16th edition (Cunnif P Ed). AOAC International Gaithersburg MD USA.
- Arthur, C. (2000). Metabolismo de la urea. Disponible en: <http://www.nefroed.8m.net/fisiologia1.htm>.
- Bakker, M., Chen, X., Kyle, D., Orskov, E., Bourke, D. (1996). Urinary and plasma purine derivatives in fed and fasted llamas (*Lama glama* y *L. guanicoe*). *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 113: 367-374. doi: 10.1016/0305-0491(95)02053-5
- Balcells, A. (2006). La clínica y el laboratorio. 20ª Edición. Masson S.E. Elsevier.
- Bautista, J. (2009). Determinación de los requerimientos de proteína de mantenimiento y crecimiento de alpaca mediante la técnica de sacrificio comparativo. Tesis PhD, UNALM, Lima, Perú.
- Betz, D. (1999). Metabolismo de proteínas y aminoácidos En: Fisiología de los animales es domésticos de Dukes Editores MJ Swenson y W.O. Reece Ed UTEHA México, D F México.
- Bondi, A. y Drori, D. (1989). Nutrición animal: metabolismo proteico en los rumiantes. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Bondi, A. (1988). Nutrición Animal. Editorial Acribia, Zaragoza, España.
- Bradley, K. (2013). Fisiología Veterinaria Cunningham. Quinta Edición. Elsevier España, S.L.
- Bristow, A., Whitehead, D. y Cockburn, J. (1992). Nitrogenous constituents in the urine of cattle, sheep and goats. *J. Sci. Food Agric.* 59: 387- 94
- BSAVA. (2013). Manual de Diagnostico de Laboratorio en Pequeños Animales. British Small Animal Veterinary Association. Editorial S. España.
- Buttery, P. y Fouds, A. (1988). Amino acid requirements of ruminants. "Recent developments in ruminant nutrition 2º. W Haresign y D.L.A. Cole, Eds.
- Cabezas, O., Giannetto, A., Merino, M., Piccione. (2007). Seasonal variation of serum urea concentration in alpacas (*Lama pacos*) housed at three different altitudes. *Arch Vet Ital* 58(1): 1-6.
- Céspedes, J. (1998). Excreción diaria de nitrógeno, urea y creatinina en la orina de vacas lecheras confinadas. Tesis para optar el Grado de Licenciado en Medicina Veterinaria. Fac. de Ciencias Veterinarias. Universidad Austral de Chile.

- Chalupa, W. (1988). Manipulation of rumen fermentation "Recent developments in ruminant nutrition, 2° W Haresign y D L A Cole, Eds.
- Chen, X., Grubic, E., Orskov, P. Osuji. (1992). Effect of feeding frequency on diurnal variation in plasma and urinary purine derivatives in steers. Anim. Prod. 55:185-191.
- Church, D. (1984). Digestive physiology and nutrition of ruminants. Volume II. 2d ed., O & B Books, Inc. Oregon.
- Church, D. y Pond, W. (1990). Fundamentos de nutrición y alimentación de animales. Ed Limusa-Nonega, México D F.
- Church, C. (1988). El Rumiante: Fisiología digestiva y nutrición. Editorial Acribia. Zaragoza.
- Coblentz, W. y Hoffman, P. (2009). Effects of spontaneous heating on fiber composition, fiber digestibility, and in situ disappearance kinetics of neutral detergent fiber for alfalfa-orchardgrass hays. J. Dairy Sci. 92: 2875-2895.
- Condori, K. (2017). Determinación de nitrógeno endógeno total: metabólico fecal, urinario y dérmico en alpacas (*Vicugna pacos*) hembras de tres años de edad. Tesis Fac. Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Curo, R. (2017). *Pérdidas de nitrógeno metabólico fecal, endógeno urinario y dérmico en alpacas hembras de cuatro años de edad*. Tesis Fac. Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Cunningham, J. (1992). Fisiología Veterinaria. Editorial Interamericana. Mc Graw-Hill. México D.F.
- Delgado, L., Rojas, M. y Carmona, M. (2011). Análisis de una muestra de orina por el laboratorio. Sin editorial.
- Fébel, H. y Fekete, S. (1996). *Factors influencing microbial growth and the efficiency of microbial protein synthesis: a review*. Acta Vet Hung 44: 39-56.
- Fenderson, C. y Bergen, W. (1976). Effect of excess dietary protein on feed take and nitrogen metabolism in steers J Anim. Sci. 42:1323-1330.
- Fowler, M. (1998). Medicine and surgery of South American camelids. Llama, alpaca, vicuña, guanaco. Ames, Iowa, USA: Iowa State University Press. 391
- Galvis, R., Correa, H., Barrientos, S., Muñoz, Y. (2011). Efecto de niveles crecientes de nitrógeno no proteico dietario en vacas lactantes sobre las concentraciones de metabolitos nitrogenados en orina, sangre y leche. Rev. Fac. Nac. Agr. Medellín 64(2): 6191-6198.

- Genin, D., Abasto, P. y Tichit, M. (1995). Uso de los recursos forrajeros por llamas y ovinos. Wayra pampa. ORSTOM. CONPAC.IBTA, Oruro, Bolivia: 131-134.
- Gonda, H. y Lindberg, J. (1994). Evaluation of Dietary Nitrogen Utilization in Dairy Cows Based on Urea Concentrations in Blood, Urine and Milk, and on Urinary Concentration of Purine Derivatives. *Acta Agric. Scand., Sect. A, Animal Sci.* 44: 236 - 245.
- Guyton, A. y Hall, J. (2001). *Tratado de fisiología médica*. 11° Edición. Editorial McGraw Hill Interamericana.
- Hibbit, K. (1988). Effect of protein on the health of dairy cows. "Recent developments in ruminant nutrition 2° W. Haresign y D.L.A. Cole, Eds.
- Holgado, D. y Condorena, N. (1987). Mapeo Agrosto Edafólico de los pastizales del Centro Nacional de Camélidos La Raya. *Rev. Proyecto de Desarrollo de la Crianza de Alpacas. IVITA COTESU. Lima Perú.* P: 43-51.
- Huerta, J. (2003). Efecto del exceso de compuestos nitrogenados en dietas de borregos Pelibuey en crecimiento. Tesis para optar el Grado de Doctor en Ciencias Pecuarias. Fac. de Agronomía, Universidad Autónoma de Nuevo León.
- Ibarra, D. (1997). Efecto de la aplicación de diferentes métodos de cálculo de los aportes proteicos en vacas lecheras confinadas sobre variables productivas y metabolismo del nitrógeno. Tesis, Mg. Cs. Universidad Austral de Chile.
- Junqueira, L. y Carneiro, J. (1987). *Histología Básica*. Salvat Editores. Barcelona.
- Kaneko, J., Harvey, J., Bruss, M. (2008). *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Sixth Edition. Elsevier Inc. California United States of America.
- Kellaway, R., Colditz, P. (1975). The effect of heat stress on growth and nitrogen metabolism in Friesian and F1 Brahmán x Friesian heifers. *Aust. J. Agric. Res.* 26:615-622.
- Kolb, E., Güntler, H., Ketz, H., Shroder, L., Seidel, H. (1974). *Fisiología Veterinaria. Volumen II*. Editorial Acribia. Zaragoza.
- Kraiem, K., Majdoub, A., Abbes, S. y Moujahed, N. (1997). Effects of the level of supplementation with concentrate on the nutritive value and utilization of oats hay cut a three-maturity stage. *Elseiver, Livestock Production Sci* 7: 175-184.
- López, A., Cabrera, R. y Rojas, E. (1996). Digestibilidad aparente de forrajes secos por la alpaca (Lama pacos). I. Henos de alfalfa (*Medicago sativa*) de tres calidades y heno de quinhuilla (*Chenopodium album*). *Avances en Ciencias Veterinarias*, [S.l.], v. 11, n. 1, ene. 1996. ISSN 0719-5273. Disponible en: <http://www.avancesveterinaria.uchile.cl/index.php/ACV/article/view/4759/4644>

- Loosli, J. y McDonald, W. (1969). El Nitrógeno no proteico en la nutrición de los rumiantes. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Interprint. Malta.
- McAllan, A. (1980). The degradation of nucleic acids in the rumen, and the removal of breakdown products from the small intestines of steers. *Br J Nutr.* 44:99-112.
- McAllan, A. (1982). The fate of nucleic acids in ruminants. *Proc Nutr Soc.* 41:309.
- Maynard, L., Loosli, J., Hintz, H., Wamer, R. (1981). *Nutrición animal.* McGraw Hill México D. F., México.
- McDonald, P., Edwards, A. y Greenhalgh, J. (1988). *Animal nutrition.* 4 th Ed. Longman Scientific Technical, London, U.K.
- Minson, D. (1990), *Forage in ruminant nutrition.* Ed Academic Press, Inc.
- Montgomery R. 1998. *Bioquímica Casos y Texto.* 6° Edición. Editorial Diorki Servicios Integrales.
- Moscardini, S., Haddi, M., Stefanon, B. y Susmel, P. (1999). Measurement of purine derivatives in the urine of some ruminant species. IAEA-TECDOC-1093, Vienna. Disponible en: <http://www.iaea.org/inis/collection/NCLCollectionStore/Public/30/033/30033614.pdf>
- Murray, M., Granner y Roswell. (2004). *Bioquímica de Harper.* 16° Edición, Editorial el Manual Moderno S.A; México F.D.
- National Research Council (1984) *Nutrient Requirements of Domestic Animals, Nutrient Requirements of Beef Cattle.* 6th Edition, National Academy of Sciences, National Research Council, Washington DC.
- Nelson, D. y Cox, M. (2008). *Lehninger Principles of Biochemistry,* Fifth Edition, W.H. Freeman and Company.
- Nocek, J. y Russell, J. (1988). Protein and energy as an integrated system relationship of microbial synthesis and milk production. *J. Dairy Sci.* 71 2070-2107
- NRC (1981). *Nutrient requirements of goats- angora, dairy and meat goats in temperate and tropical countnes* Num 15 National Academic Press. Washington D C.
- NRC (1985). *Nutrient requirements of sheep Sixth revised. Edition* National Academic Press Washington, D C.
- Obara, D., Dellow y Nolan, J. (1991). The Influence of energy – rich supplements on nitrogen kinetics in ruminants. "Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants" Eds. T. Suda., Y. Sasaki and R Kawashima Academic Press, Inc. pp. 515-539.

- Oldham, J. y Tamminga. (1995). Changes in the nutrition and Management of herbivores in the nutrition of herbivores. INRA, Paris.
- Orellana-Boero, P., Seradj, A., Fondevila, M., Nolan, J. y Balcells, J. (2012). Modelling urinary purine derivatives excretion as a tool to estimate microbial rumen outflow in alpacas (Vicugna pacos). *Small Ruminant Res* 107: 101-104. doi: 10.1016/j.smallrumres.2012.04.006
- Orskov, E. y Miller, E. (1987). Protein evaluation in ruminants. *World animal science B Disciplinary Approach Feed Science*. Ed. Orskov, E.R. Elsevier.
- Orskov, E. (1988). Nutrición proteica de los rumiantes. Ed. Acribia, SA. Zaragoza, España.
- Owens, F. y Zinn, R. (1988). Protein metabolism of ruminant animals. In: *The ruminant animal Digestive physiology and nutrition*. Editor D C. Church Ed Prentice Hall, Englewood Cliffs New Jersey, USA.
- Pari, L. (2015). Efecto de la castración en alpacas sobre el metabolismo de compuestos nitrogenados proteicos y no proteicos. Tesis Fac. Med. Vet. y Zoot., Universidad Nacional del Altiplano, Puno.
- Perez, J., Balcells J., Guada, J. y Castrillo, C. (1996). Determination of rumen microbial-nitrogen production in sheep: a comparison of urinary purine excretion with methods using 15 N and purine bases as markers of microbial-nitrogen entering the duodenum. *British Journal of Nutrition (UK.)* 75: 699-709.
- Raggi, L. y Ferrando, G. (1998). Avances en fisiología y adaptación de camélidos sudamericanos. Facultad de Ciencias Veterinarias y Pecuarias. Universidad de Chile. Avances de Medicina Veterinaria, Vol.13, N°1. Documento en línea: (Consultado el 20 de julio del 2018). Disponible en: [http://web.uchile.cl/vignette/avancesveterinaria/CDA/avan\\_vet\\_completa/0,1424,SCID%253D12532%2526ISID%253D474,00.html](http://web.uchile.cl/vignette/avancesveterinaria/CDA/avan_vet_completa/0,1424,SCID%253D12532%2526ISID%253D474,00.html)
- Rivera, A. (2004). Determinación de la contribución endógena de bases púricas mediante la excreción de derivados púricos marcados con nitrógeno-15N en alpacas (Lama pacos). Tesis de Médico Veterinario. Chillán, Chile: Universidad de Concepción. 38 p.
- Robinson, T. y Roeder, B. (2014). Serum and urine analyte comparison between llamas and alpacas fed three forages. *Scientific Journal of Animal Science* (2014) 3(11) 275-283. Documento en línea: (Consultado el 15 de junio del 2018). Disponible en: <https://www.researchgate.net/publication/310156664>
- Rodwell, V. (1994). Catabolismo de las proteínas y del nitrógeno de aminoácidos. En *Bioquímica de Harper* Eds R.K. Murray et. al. Ed. Manual Moderno, Mexico D F.

- Rua, V. (2014). Excreción de derivados de purinas en función del nivel de proteína dietaría en alpacas. Tesis Fac. Med. Vet. EAP. Med. Vet. Universidad Nacional mayor de San Marcos - Lima.
- San Martín, F. y Bryant, F. (1989). Nutrition of domesticated South American llamas and alpacas. *Small Ruminant Res* 2: 191-216. doi: 10.1016/ 0921-4488(89)90001-1
- SENAMHI, (2013). Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. Boletín Informativo.
- Sponheimer, M., Robinson, T., Roeder, B., Hammer, J., Ayliffe, L., Passey, B., Cerling, T. y otros. (2003). Digestion and passage rates of grass hays by llamas, alpacas, goats, rabbits, and horses. *Small Ruminant Res* 48: 149-154. doi: 10.1016/ s0921-4488(03)00002-6
- Vallenas, A. (1991). Características anatomofisiológicas. En: Fernández Baca S (ed). *Avances y perspectivas del conocimiento de los camélidos sudamericanos*. Santiago, Chile: FAO. p 121-135.
- Van Saun, R. (2006). Nutrient requeriment of South American Camelids: a factorial approach. *Small Ruminant Res* 61: 165- 186. doi: 10.1016/j.smallrumres. 2005.07.006.
- Van Soest, P. (1994). *Nutritional ecology of the ruminant*. 2nd. Comstock Publishing Associates a division of Cornell University. Press Itaca and London.
- Volden, H. (1999). Effects of level feeding and ruminally undegraded protein on animal bacterial protein synthesis, escape of dietary protein, intestine amino acid profile, and performance of dairy cows. *J Anim. Sci.* 77: 1905-1918.
- Wallace, R. (1991). *Rumen microbial metabolism and ruminant digestion*. INRA. París.
- Yi Chen, H., Lewis. A. y Miller P. (1996). Plasma urea-index to protein requirement. *Feed Mx*, N° 5.

## ANEXOS

**Anexo A.** Concentración de urea mg/dL en orina según %PC de la dieta y edad en alpacas.

DIETA	4%		6%		6%	
EDAD	3 AÑOS	4 AÑOS	3 AÑOS	4 AÑOS	3 AÑOS	4 AÑOS
1	1929.8	2315.8	1811.0	2328.5	2249.3	2699.1
2	2315.8	2315.8	2069.8	2069.8	2024.4	2249.3
3	1543.9	1929.8	2069.8	2328.5	2474.2	2474.2
4	1929.8	1543.9	1552.3	2328.5	2249.3	2699.1
5	1543.9	1929.8	1811.0	2587.2	2024.4	2924.1
6	1543.9	2315.8	1811.0	1811.0	2474.2	2474.2
7	1157.9	1929.8	2069.8	2069.8	2699.1	2699.1
PROM	1709.3	2040.1	1885.0	2217.6	2313.5	2602.7
D.E.	376.7	291.8	195.6	252.5	250.3	219.5
MIN	1157.9	1543.9	1552.3	1811.0	2024.4	2249.3
MAX	2315.8	2315.8	2069.8	2587.2	2699.1	2924.1

**Anexo B.** Concentración de ácido úrico mg/dL en orina según %PC de la dieta y edad en alpacas.

DIETA	4%		6%		8%	
EDAD	3 AÑOS	4 AÑOS	3 AÑOS	4 AÑOS	3 AÑOS	4 AÑOS
1	0.100	0.104	0.099	0.099	0.099	0.105
2	0.101	0.099	0.101	0.101	0.101	0.101
3	0.099	0.103	0.098	0.106	0.098	0.104
4	0.103	0.100	0.096	0.100	0.100	0.100
5	0.100	0.103	0.097	0.099	0.101	0.101
6	0.097	0.099	0.100	0.105	0.097	0.103
7	0.096	0.101	0.099	0.100	0.098	0.099
PROM	0.0996	0.1013	0.0989	0.1017	0.0995	0.1019
D.E.	0.0023	0.0017	0.0018	0.0027	0.0017	0.0018
MIN	0.0961	0.0993	0.0961	0.0993	0.0972	0.0993
MAX	0.1025	0.1036	0.1015	0.1061	0.1015	0.1047

**Anexo C.** Consumo de materia seca en gramos, según %PC y edad en alpacas

DIETA	4% PC		6% PC		8% PC	
EDAD	3 años	4 años	3 años	4 años	3 años	4 años
1	796.9	799.2	803.8	778.6	818.4	786.4
2	800.6	798.6	805.3	774.3	820.8	778.3
3	805.6	795.9	801.2	787.5	812.6	779.9
4	793.1	803.2	799.3	779.5	826.3	780.5
5	799.2	792.4	806.3	778.3	817.9	779.9
6	798.6	793.1	797.9	785.8	819.7	783.9
7	801.6	794.7	805.4	774.2	818.8	781.7
PROM	799.4	796.7	802.7	779.7	819.2	781.5
D.S.	3.9	3.8	3.3	5.2	4.1	2.8
MIN	793.1	792.4	797.9	774.2	812.6	778.3
MAX	805.6	803.2	806.3	787.5	826.3	786.4

**Anexo D.** Análisis de varianza para concentración de urea mg/dL en orina de alpacas.

**Pruebas de efectos inter-sujetos**

Variable dependiente: Urea mg/dL.

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo	193769161,957 <sup>a</sup>	6	32294860,326	440,558	,000
Proteína	2506565,959	2	1253282,980	17,097	,000
Edad	1058833,957	1	1058833,957	14,444	,001
Proteína * Edad	4228,528	2	2114,264	,029	,972
Error	2638960,820	36	73304,467		
Total	196408122,777	42			

a. R al cuadrado = ,987 (R al cuadrado ajustada = ,984)

**Anexo E.** Prueba de medias de Tukey para Urea para el efecto principal %PC en la dieta.

(I) Proteína cruda dietas	(J) Proteína cruda dietas	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 99%	
					Límite inferior	Límite superior
Proteína 4%	Proteína 6%	-176,5786	102,33312	,210	-494,6819	141,5247
	Proteína 8%	-583,4414*	102,33312	,000	-901,5447	-265,3381
Proteína 6%	Proteína 4%	176,5786	102,33312	,210	-141,5247	494,6819
	Proteína 8%	-406,8629*	102,33312	,001	-724,9662	-88,7595
Proteína 8%	Proteína 4%	583,4414*	102,33312	,000	265,3381	901,5447
	Proteína 6%	406,8629*	102,33312	,001	88,7595	724,9662

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 73304,467.

**Anexo F.** Análisis de varianza para concentración de ácido úrico mg/dL en orina de alpacas.

Origen	Tipo III de suma de cuadrados	gl	Cuadrático promedio	F	Sig.
Modelo	,424 <sup>a</sup>	6	,071	17015,398	,000
Proteína	1,380E-6	2	6,902E-7	,166	,848
Edad	5,555E-5	1	5,555E-5	13,370	,001
Proteína * Edad	2,316E-6	2	1,158E-6	,279	,758
Error	,000	36	4,154E-6		
Total	,424	42			

a. R al cuadrado = 1,000 (R al cuadrado ajustada = 1,000)

**Anexo G.** Prueba de medias de Tukey para ácido úrico para el efecto principal %PC en la dieta.

(I) Proteína cruda dietas	(J) Proteína cruda dietas	Diferencia de medias (I-J)	Error estándar	Sig.	Intervalo de confianza al 95%	
					Límite inferior	Límite superior
Proteína 4%	Proteína 6%	,000193	,0007704	,966	-,001690	,002076
	Proteína 8%	-,000250	,0007704	,944	-,002133	,001633
Proteína 6%	Proteína 4%	-,000193	,0007704	,966	-,002076	,001690
	Proteína 8%	-,000443	,0007704	,834	-,002326	,001440
Proteína 8%	Proteína 4%	,000250	,0007704	,944	-,001633	,002133
	Proteína 6%	,000443	,0007704	,834	-,001440	,002326

Se basa en las medias observadas.

El término de error es la media cuadrática (Error) = 4,154E-6.

**Anexo H.** Correlación de Pearson para las variables urea y ácido úrico en orina en alpacas.

**Estadísticos descriptivos**

	Media	Desviación estándar	N
Urea mg/dL.	2128,0414	389,13880	42
Ac. urico mg/dL.	,100483	,0022567	42

**Correlaciones**

		Urea mg/dL	Ac. úrico mg/dL
Urea mg/dL	Correlación de Pearson	1	,273
	Sig. (bilateral)		,080
	N	42	42
Ac. urico mg/dL	Correlación de Pearson	,273	1
	Sig. (bilateral)	,080	
	N	42	42

**Anexo I. Panel fotográfico**



**FOTO 1. Jaulas metabólicas de digestibilidad**



**FOTO 2. Alpacas en periodo de acostumbramiento**



**FOTO 3. Alpacas en periodo experimental con sus respectivas dietas**



**FOTO 4. Colección de muestras**