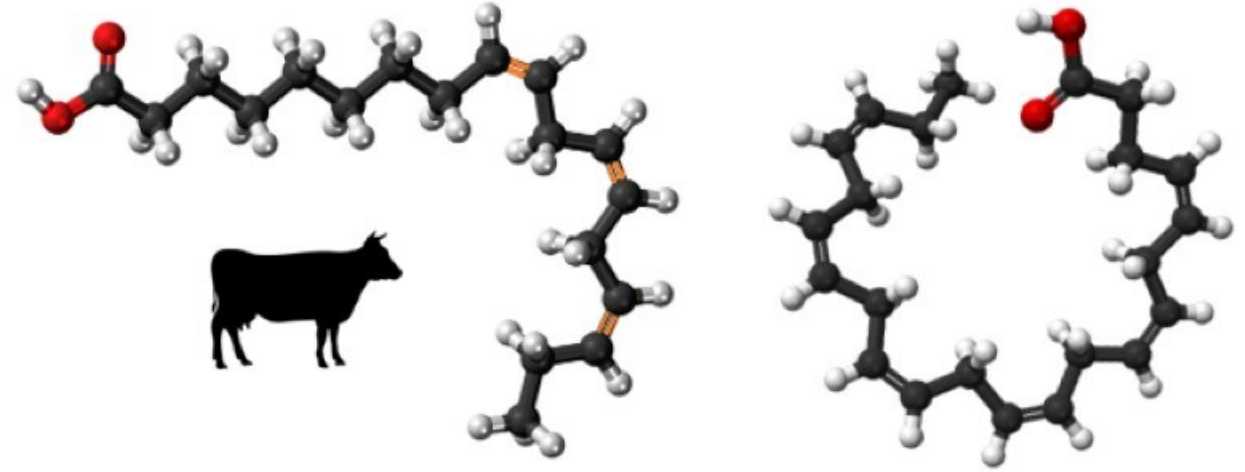


¿Qué sabemos sobre la alimentación con omega-3 en las vacas lecheras?



Eduardo Rico

Professor Asistente

Departamento de Estudios Clínicos

Escuela de Medicina Veterinaria

Universidad de Penssylvania

ricoe@vet.upenn.edu

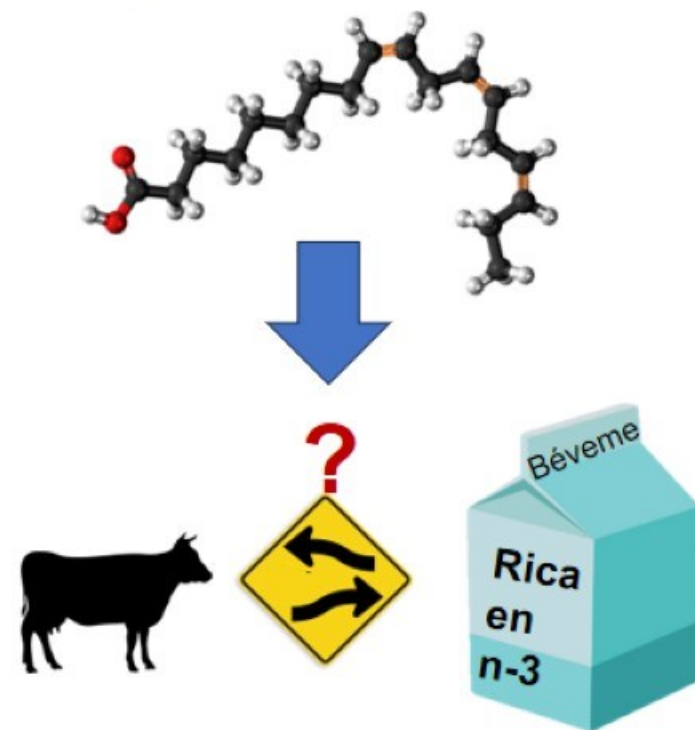


DIGAL 2024

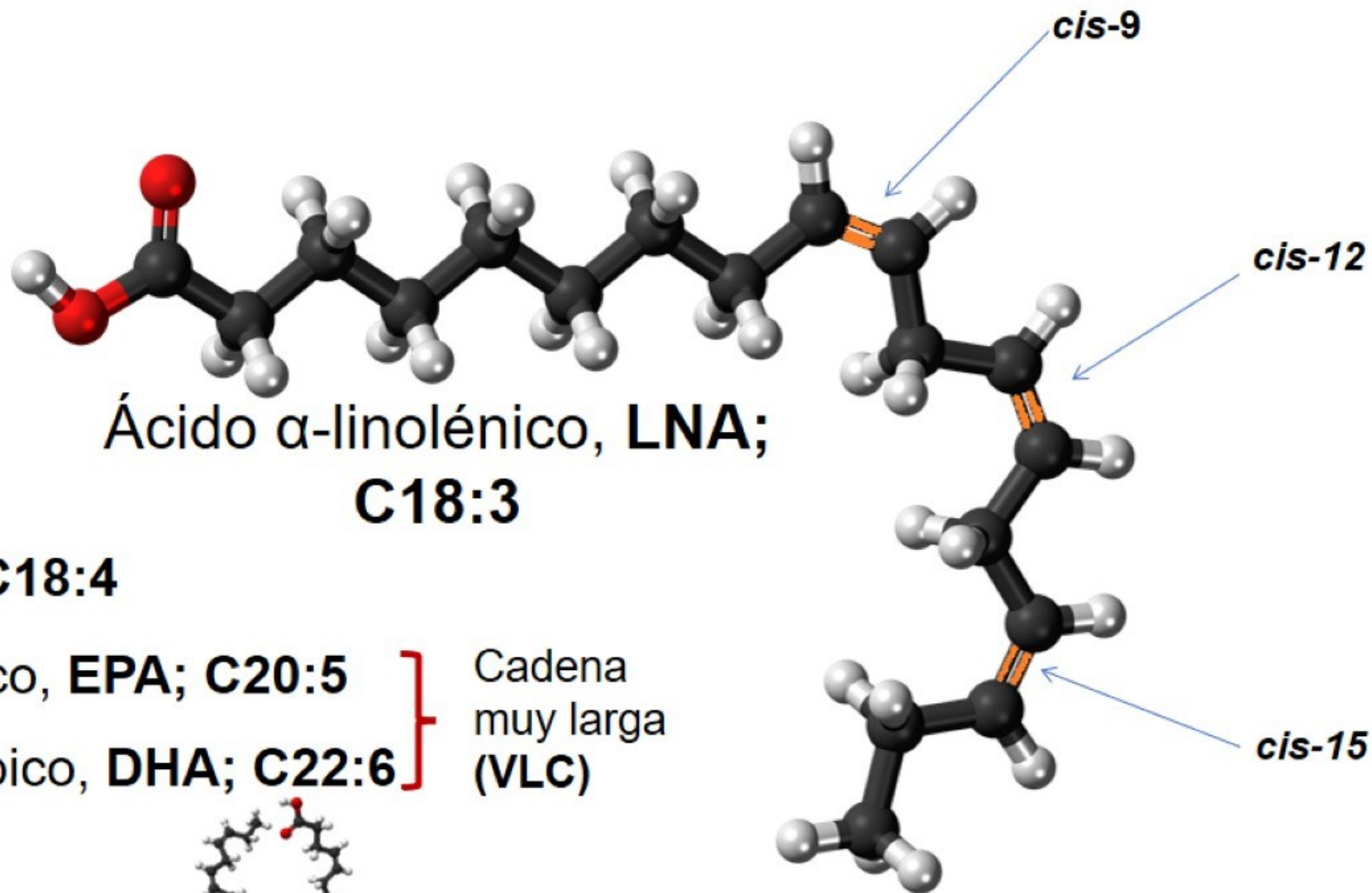
Delicias, Chihuahua, 25-27 Sept. -2024-

Lo que vamos a discutir hoy

- Aspectos básicos de los ácidos grasos omega-3 (AG n-3)
 - Papel en fisiología y salud de la vaca
 - **¿Por qué nos interesan?**
 - Alimentación de ácidos grasos omega-3
 - **¿Para quién? ¿Cuándo? ¿Cuánto?**
 - Limitaciones nutricionales para mejorar el status de AG n-3 en vacas lecheras
 - ¿Qué nos dice la investigación? ¿Cuál es su utilidad en las dietas?



¿Qué quiere decir Omega-3 (n -3)?



Ácido estearidónico; **C18:4**

Ácido eicosapentanoico, **EPA**; **C20:5**

Ácido Docosahexaenoico, **DHA**; **C22:6**

Cadena
muy larga
(**VLC**)

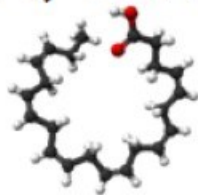
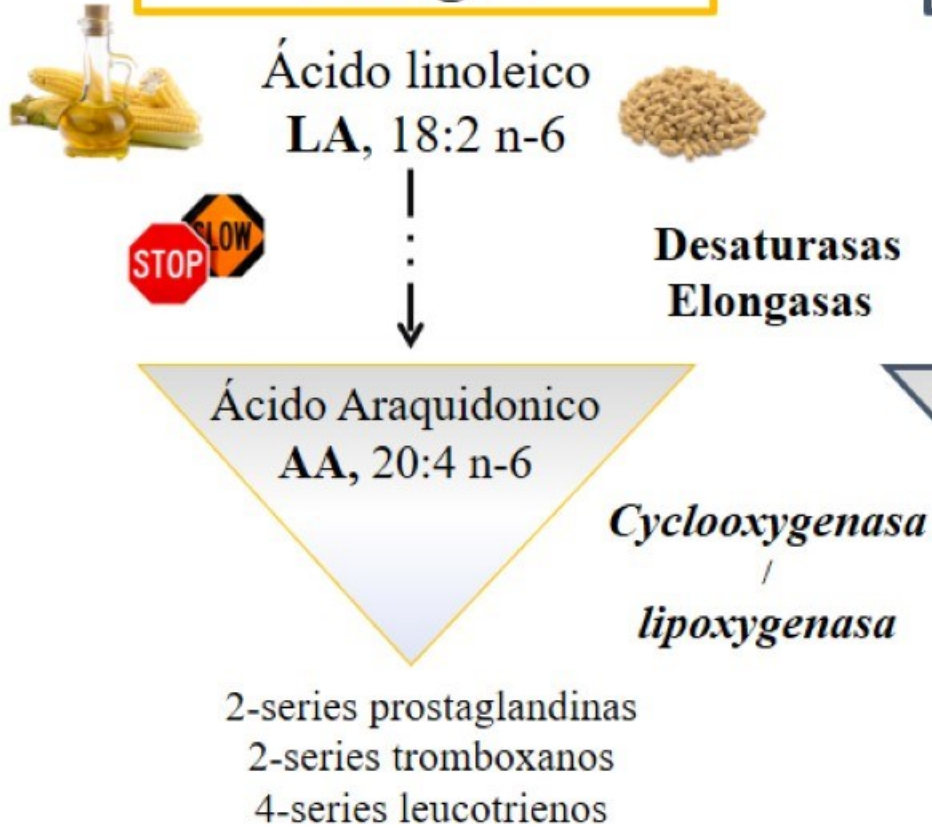


Imagen: Wikimedia Commons

Los Omega-6 (n-6) y Omega-3 (n-3) son Esenciales

Omega 6



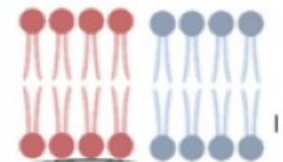
Pro-inflamatorios
Pro-agregatorios
Trombótico

Omega 3



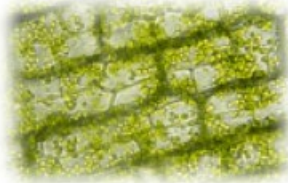
Anti-inflamatorio
Anti-agregatorio
Vasodilatador

Resolución de inflamación
Componente de membranas
encerebro, retina.

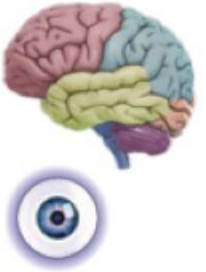


Los ácidos grasos omega-3 y la salud humana:

La dieta estadounidense estándar (**SAD**) provee pocos n-3



Desarrollo del cerebro infantil y función ocular

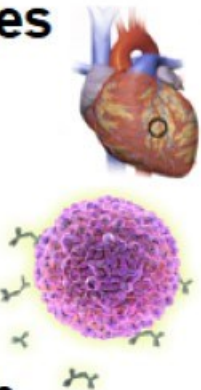


Fertilidad



Control de la función inmune en enfermedades inflamatorias

❖ Reducción de la inflamación (sistémica, articular)

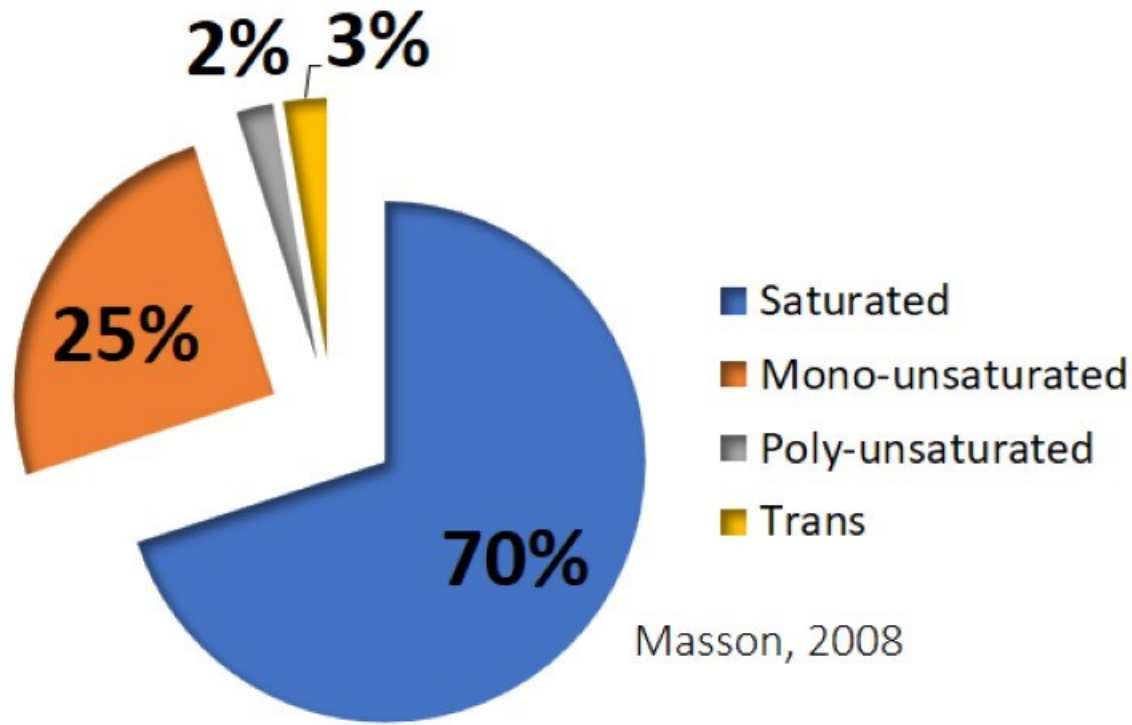


¿Necesitamos “mejorar” la composición de la leche mediante el enriquecimiento con n-3?



La leche de las vacas es compleja:

Más de 400 ácidos grasos:



Masson, 2008

El contenido de omega 3 puede aumentar en la leche procedente de vacas en pastoreo, pero suele ser bajo (<0,5% de los AG).



• Ascherio et al., 1993; Bolton Smith et al., 1996; Gillman et al., 1997; Pietinen et al., 1997

Meta-analysis of prospective cohort studies evaluating the effect of saturated fat with cardiovascular disease¹⁻⁵
 Patty W Siri-Tarino, Qi Sun, Frank B Hu, and Ronald M Krauss

SCIENTIFIC REPORTS

Los productos lácteos son ya fantásticos por si solos!

Epidemiology and Prevention
 Circulating Biomarkers of Dairy Fat and Risk of Incident Diabetes Mellitus Among Men and Women in the United States in Two Large Prospective Cohorts
 Mohammad Y. Yakoob, MD, MS, PhD, et al.

Journal of the American College of Nutrition

REVIEW
 The relationship between high-fat dairy consumption and cardiovascular disease

Individual variation in response to low-fat and high-fat dairy intake on adiposity, and cholesterol¹⁻³
 Michael Lefevre, Catherine...

ORIGINAL ARTICLE

Milk polar lipids reduce lipid cardiovascular risk factors in overweight postmenopausal women: towards a gut sphingomyelin-cholesterol interplay

Cécile Vors,^{1,2} Laurie Jourmard-Cubizolles,³ Manon Lecomte,¹ Emmanuel Combe,¹ Lemlih Ouchchane,^{4,5} Jocelyne Drai,^{1,6} Ketsia Raynal,⁷ Florent Joffre,⁸ Laure Meiller,^{1,2} Mélanie Le Barz,¹ Patrice Gaborit,⁷ Aurélie Caille,⁹ Monique Sothier,² Carla Domingues-Faria,³ Adeline Blot,⁹ Aurélie Wauquier,¹⁰ Emilie Blond,^{1,6} Valérie Sauvinet,^{1,2} Geneviève Gésan-Guizou,¹¹ Jean-Pierre Bodin,¹² Philippe Moulin,^{1,13} David Cheillan,^{1,14} Hubert Vidal,¹ Béatrice Morio,¹ Eddy Cotte,^{15,16} Françoise Morel-Laporte,⁹ Martine Laville,^{1,2} Annick Bernalier-Donadille,¹⁰ Stéphanie Lambert-Porcheron,^{2,17} Corinne Malpuech-Brugère,³ Marie-Caroline Michalski^{1,2}

Articles
 Association of dairy intake with cardiovascular disease and mortality in 21 countries from five continents (PURE): a prospective cohort study

Mahshid Dehghan, Andrew Mente, Sumathy Rangarajan, Patrick Sheridan, Viswanathan Mohan, Romaina Iqbal, Rajeev Gupta, Scott Lear, Edelweiss Wentzel-Viljoen, Alvaro Avezum, Patricia Lopez-Jaramillo, Prem Manji, Ravi Prasad Vajra, Rajesh Kumar, Jephth Chifamba, Khalid F Alhabib, Nourdin Mohammadifard, Aytekin Oguz, Fernando Lanas, Darota Rozanska, Kristina Bengtsson Bostrom, Khalid Yusuf, Lungiswa P Tsolike, Antonio Dans, Afaful Hussein Yusufali, Andres Orlandini, Paul Poirier, Rasha Khatib, Bo Hu, Li Wei, Lu Yin, Ai Deenali, Karen Yeates, Rita Yusuf, Noorhassim Ismail, Dariush Mozaffarian, Koon Teo, Sonia S Anand, Salim Yusuf, on behalf of the Prospective Urban Rural Epidemiology (PURE) study investigators*

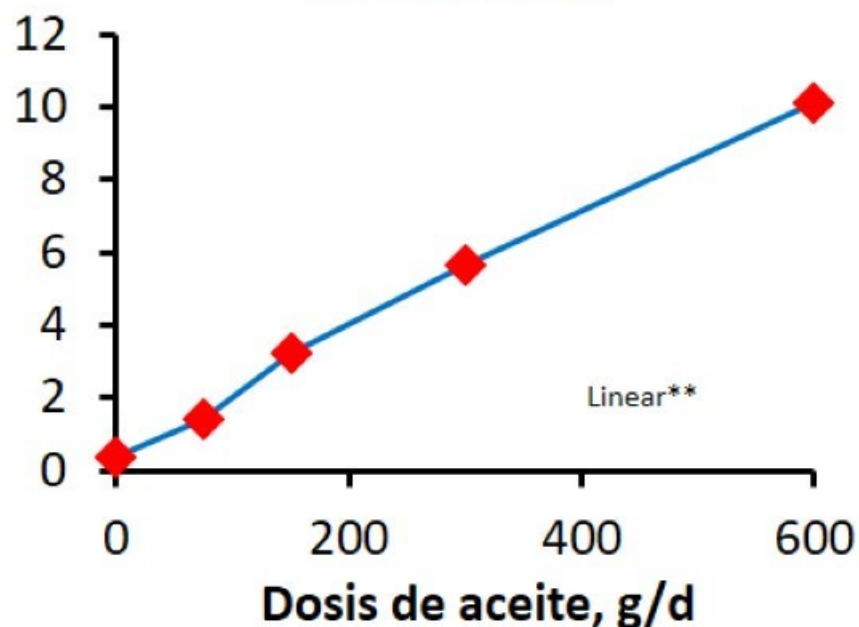
Summary

Background Dietary guidelines recommend minimising consumption of whole-fat dairy products, as they are a source of saturated fats and presumed to adversely affect blood lipids and increase cardiovascular disease and mortality. Evidence for this contention is sparse and few data for the effects of dairy consumption on health are available from low-income and middle-income countries. Therefore, we aimed to assess the associations between total dairy and specific types of dairy products with mortality and major cardiovascular disease.

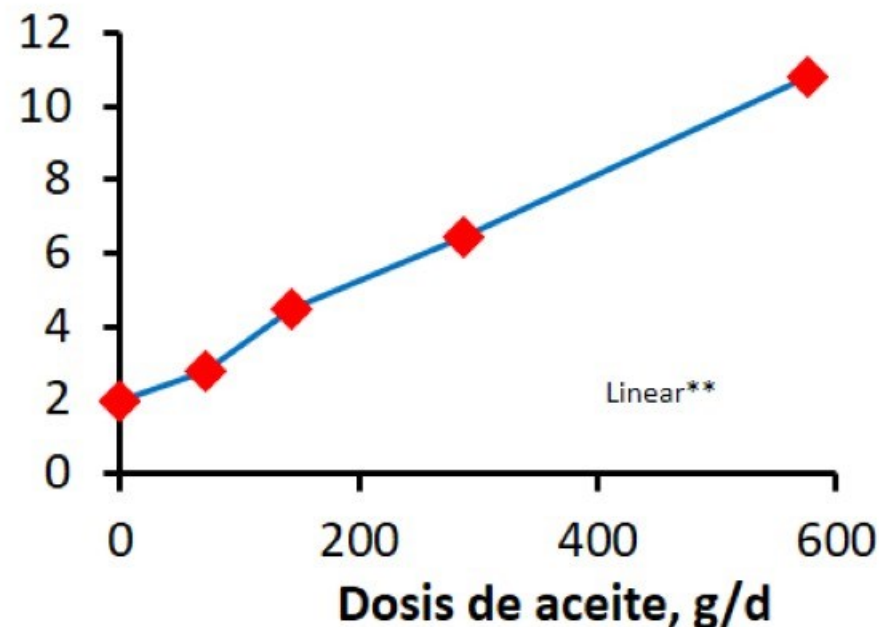
Published Online
 September 11, 2018
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31815-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31815-5)
 See Online/Comment
[http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31815-5](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31815-5)

El contenido de LNA (18:3 n-3) y el índice de peroxidabilidad de la leche aumentaron linealmente con la dosis de aceite de linaza

Contenido de LNA en leche
(% de la grasa)



Índice de peroxidabilidad^a

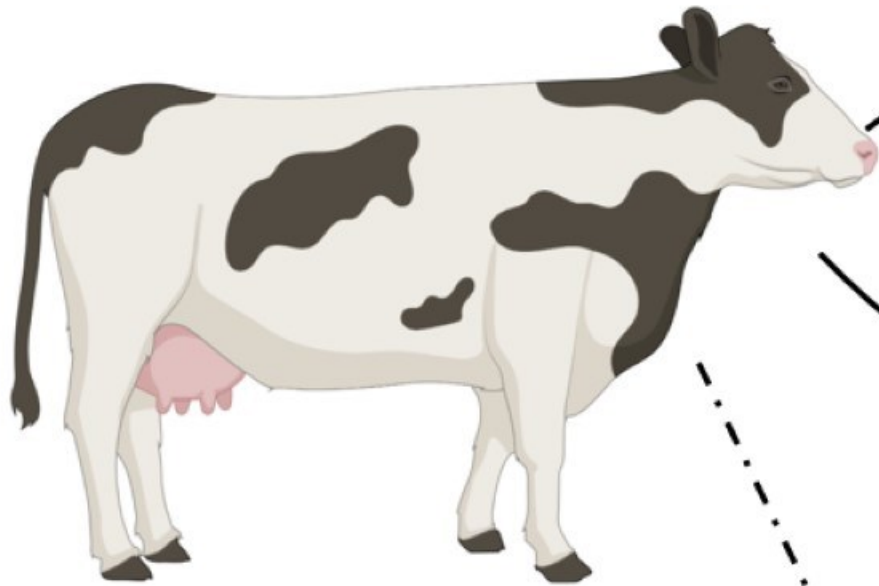


** : $P < 0.01$

^aCalculado como mg/g leche: $0.025 \times \text{Mono} + 1 \times \text{Di} + 2 \times \text{Tri} + 4 \times \text{Tetra} + 6 \times \text{Penta} + 8 \times \text{Hexa}$

(Witting and Horwitt, 1964)

Effectos de los n-3 en vacas: ¿por qué el interés?



↑ Fertilidad

- Modulación de P4, E2, PGF2-alfa
- Aumento del número de folículos ovulatorios
- Mayor calidad de los ovocitos
- Mayor calidad de CL
- Reducción de la mortalidad embrionaria

Nuevas fronteras

- Control de la inflamación
- ? ○ Respuesta al estrés por calor
 - Temperatura / apetito
- Respuesta a retos inmunológicos (e.g., citoquinas/temperatura)

CMS & producción de leche ↓ ↑

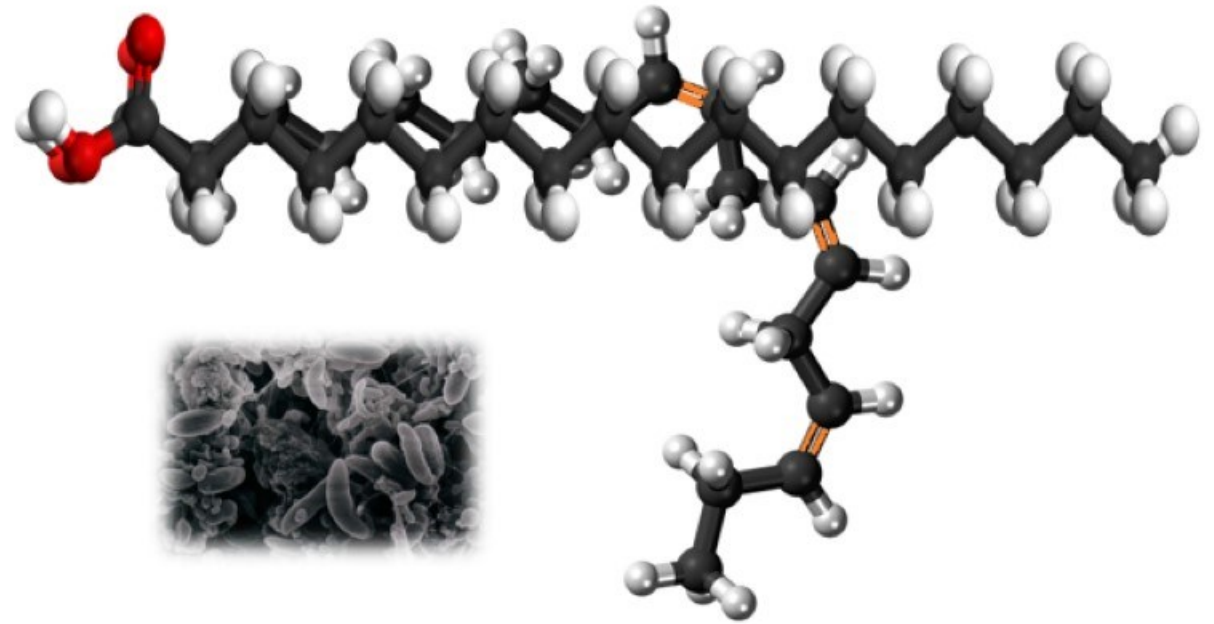
- Depende de la cantidad, tipo y forma de grasa (disponibilidad en rumen)
- CMS, producción de leche y componentes de la leche **reducidos** ✗ por linaza y aceite extruidos
- CMS y producción de leche **mejoraron** ✓ en vacas alimentadas con semillas oleaginosas extruidas en periparto



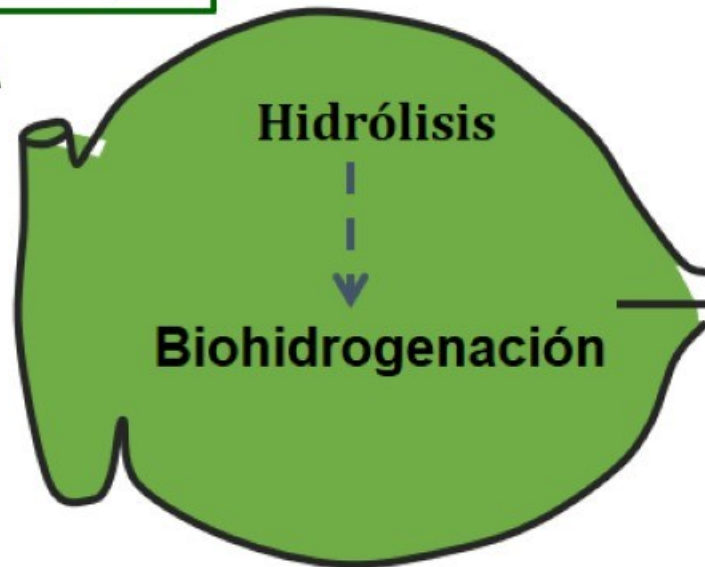
Limitaciones para mejorar el estado de los AG n-3 en vacas lecheras (cuellos de botella)



#1. Biohidrogenación de los AG poliinsaturados (PUFA)



Dieta:
60-80% 18C
(MUFA & PUFA)



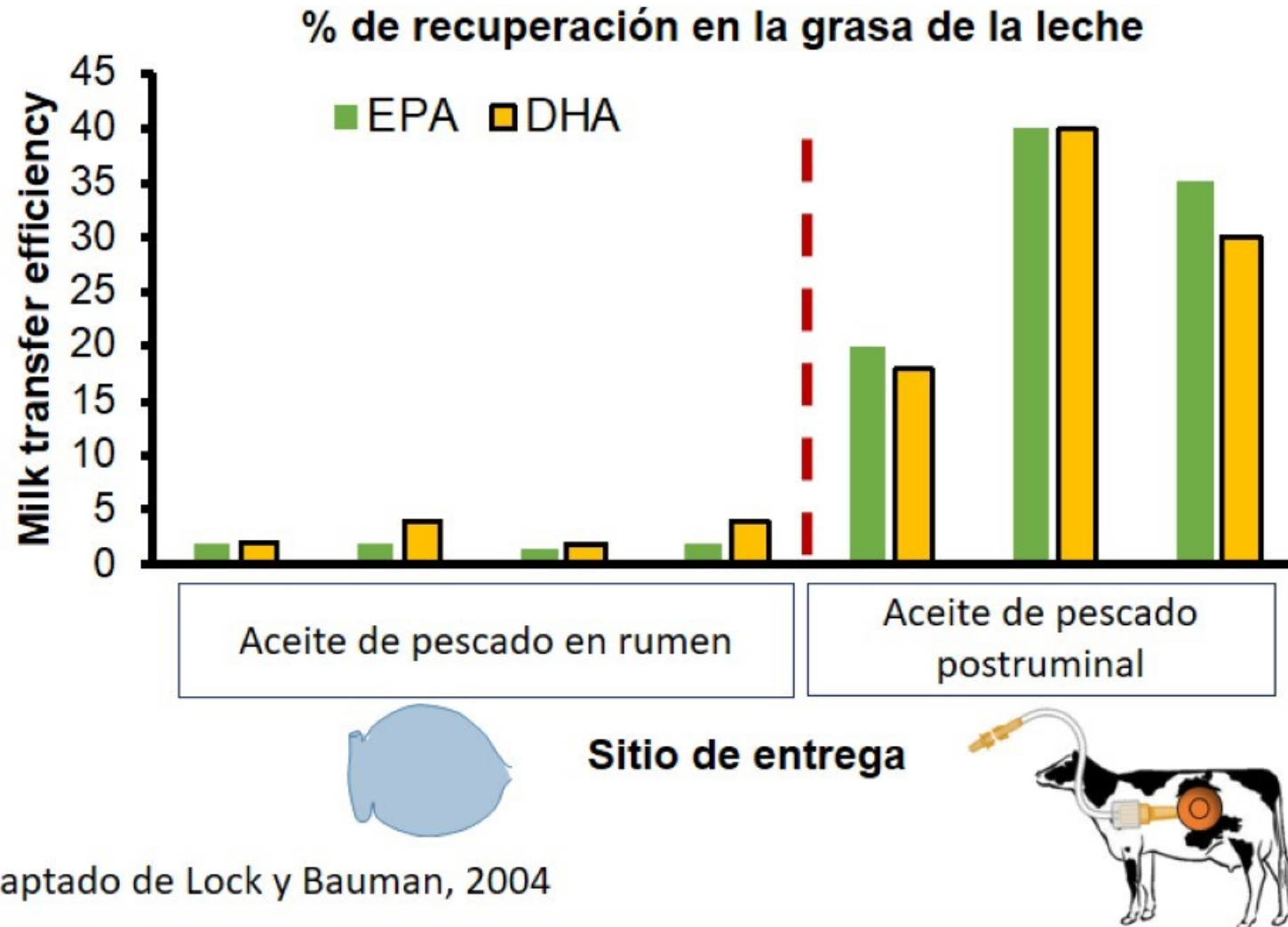
Rumen



65 - 80% saturados
C16:0 & C18:0

Recordemos : PUFA son tóxicos
para los microbios del rumen

#1. Eficiencias de transferencia de EPA y DHA a la leche a partir de la suplementación con FO

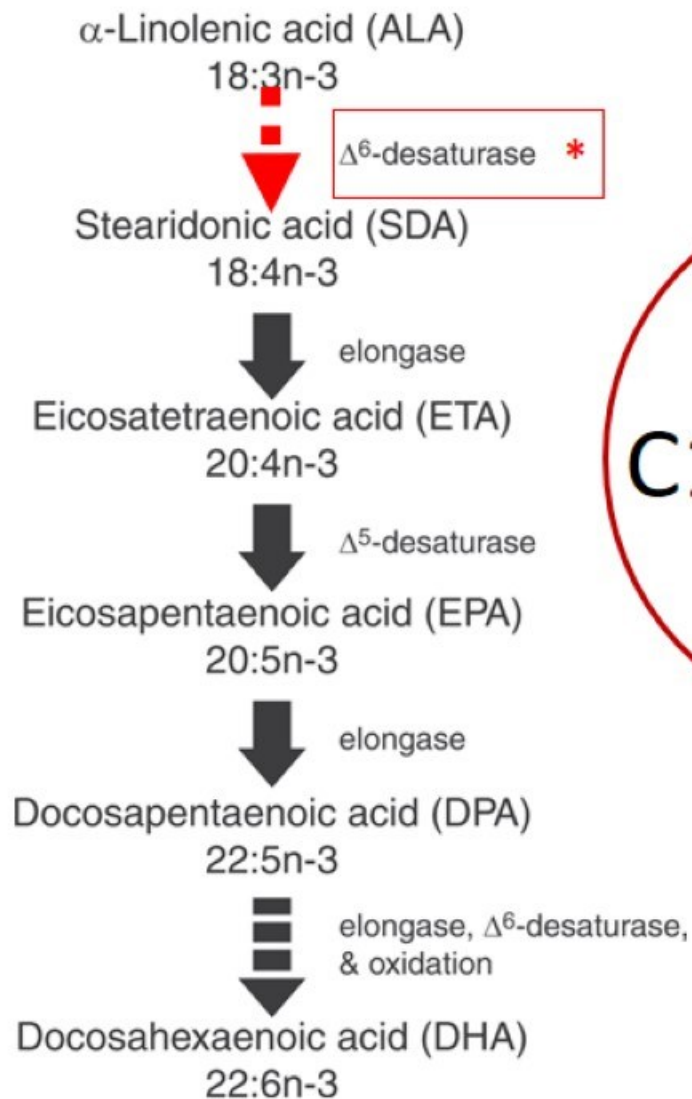


La hidrogenación ruminal de los n-3 es un obstáculo a su transferencia en leche

Los n-3 se dirigen principalmente hacia los fosfolípidos y los ésteres de colesterol en el plasma. (¡Es difícil convertirlos en triglicéridos para la leche!)

#2. El problema de la ineficiencia de conversión

¡La eficiencia de conversión del ácido α -linolénico (18:3), a **EPA** (20:5), **DPA** (22:5) y **DHA** (22:6) en humanos y vacas es extremadamente baja!



C18:3 n-3

0.2%

C20:5

63%

C22:5

37%

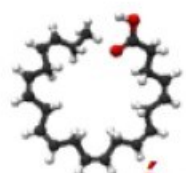
C22:6

El suministro de n-3 de **cadena** muy **larga (VLC)** es la forma más eficiente de alimentación (cientos de gramos *versus* decenas de gramos)

Buenas nuevas:

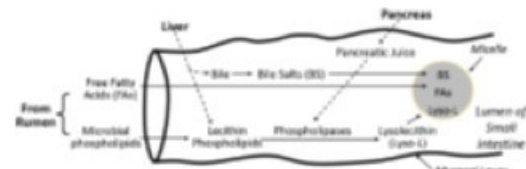
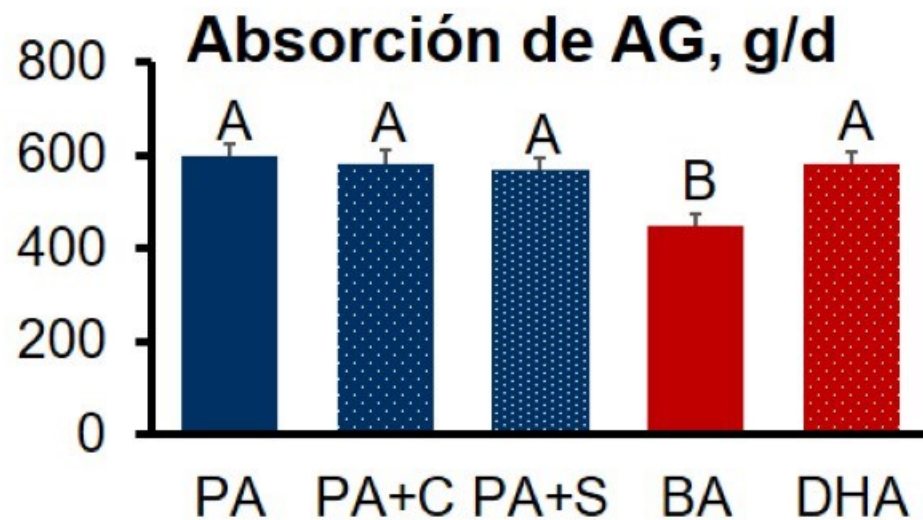
La digestibilidad y absorción de n-3 VLC son muy altas.

Infusion abomasal:
~301 g AG/d



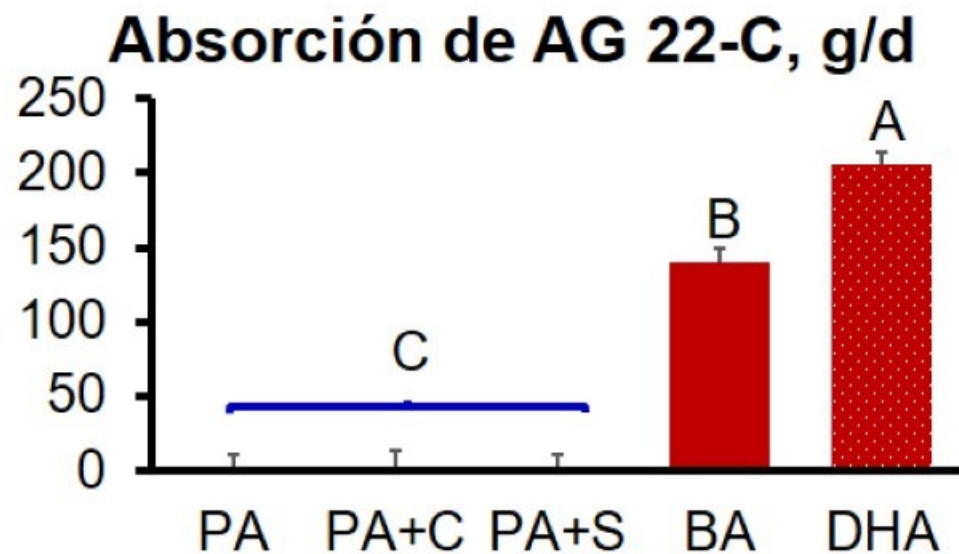
Ácido Behenico; 22:0

Ácido Docosahexanoico (DHA); 22:6
(DSM; 44% DHA formula)

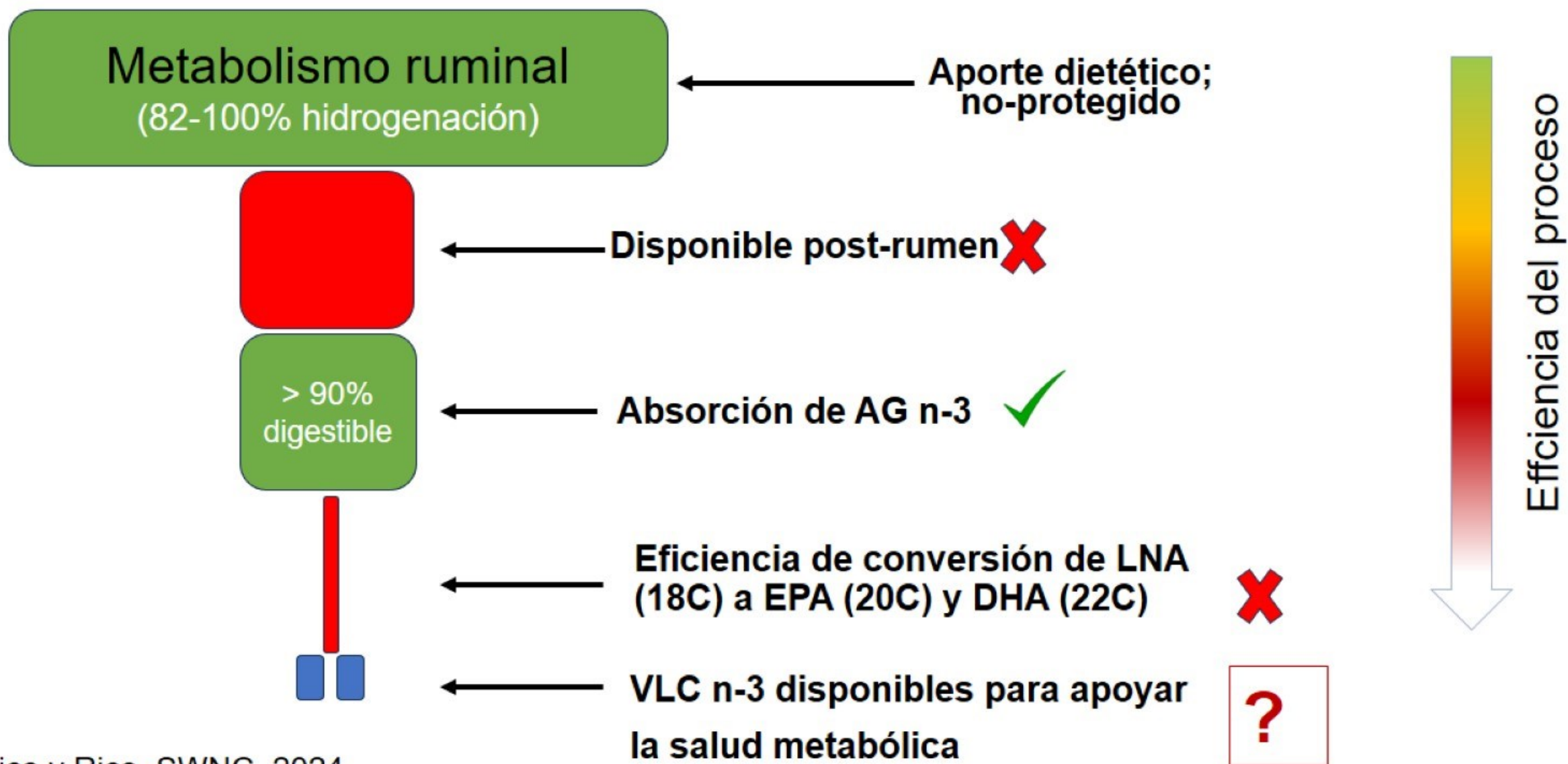


16-carbonos

22-carbonos



Cuellos de botella y eficiencia de alimentación



Se necesita protección: Sales de Calcio y nuevas alternativas

Sales de Ca de ácidos grasos

- Para aumentar la densidad energética y al mismo tiempo reducir los impactos negativos sobre los microbios del rumen, la degradación de nutrientes y la CMS.
- Por lo general, se digieren bien (~76 %; NASEM, 2021) ✓
- La capacidad para proteger los PUFA n-3 esenciales de la hidrogenación es limitada

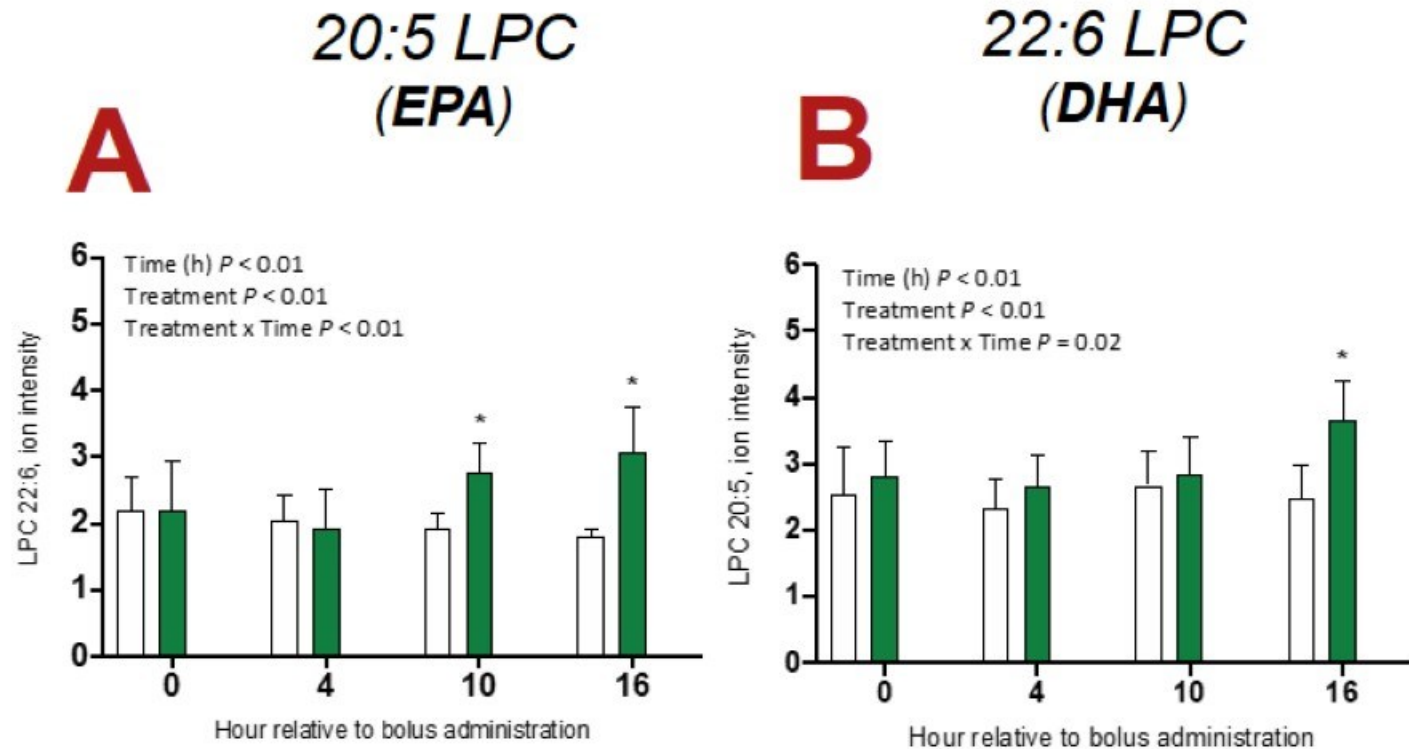


Un bolo de aceite de pescado protegido en el rumen aumenta los fosfolípidos plasmáticos con AG n-3 VLC



□ CON ■ Ac. Pescado protegido

- Bolo esofágico aceite de pescado protegido (encapsulado) que provee EPA y DHA (10 g VLC n-3/vaca; Prototipo 6; Vetagro)
- Incorporación de n-3 en la fracción de fosfolípidos (PC y LPC)
- Aumento total de AG n-3 en la grasa de la leche



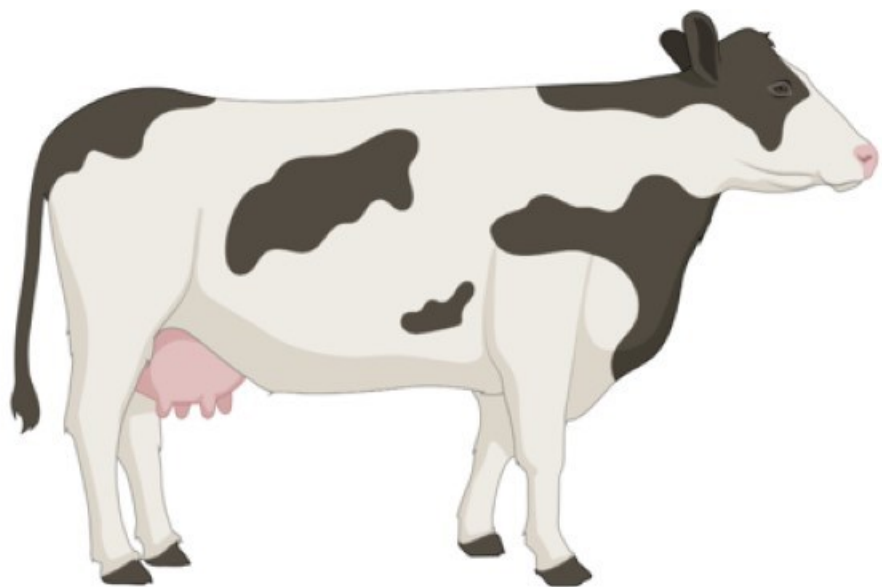
PC = fosfatidilcolina
LPC = lysofosfatidilcolina

Rico et al., 2024 (Aceptado)



VETAGRO
LIKE NO ONE ELSE®

Effects of n-3 in cows: why the interest?



↑ Fertility

- P4, E2, PGF2-alpha modulation
- Increased # ovulatory follicles
- Increased quality of oocytes
- Increased quality of CL
- Reduced embryo mortality

DMI and milk production ↓↑

Depends on amount type and form of fat (rumen availability)

-DMI, milk yield and milk components **reduced** by extruded linseed and oil ✓

-DMI and milk yield **improved** in peripartal cows fed extruded oilseeds ✗

Nuevas fronteras

- Control de la inflamacion
 - Respuesta al estrés por calor
 - ? ○ Temperatura / apetito
 - Respuesta a retos inmunológicos (e.g., citoquinas/temperatura)

La inflamación (aguda) es útil, pero debe resolverse

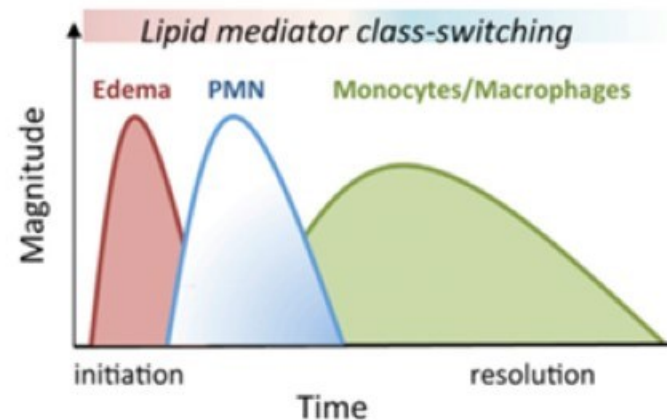
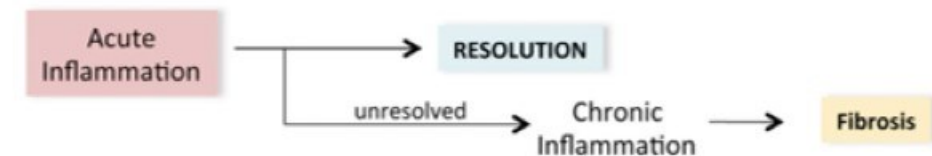
Resolvins, Specialized Proresolving Lipid Mediators, and Their Potential Roles in Metabolic Diseases

Matthew Spite,¹ Joan Clària,² and Charles N. Serhan^{3,*}

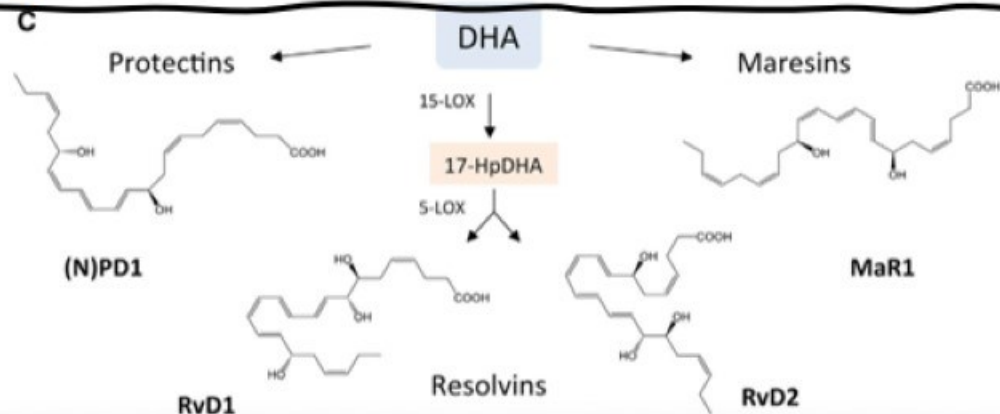
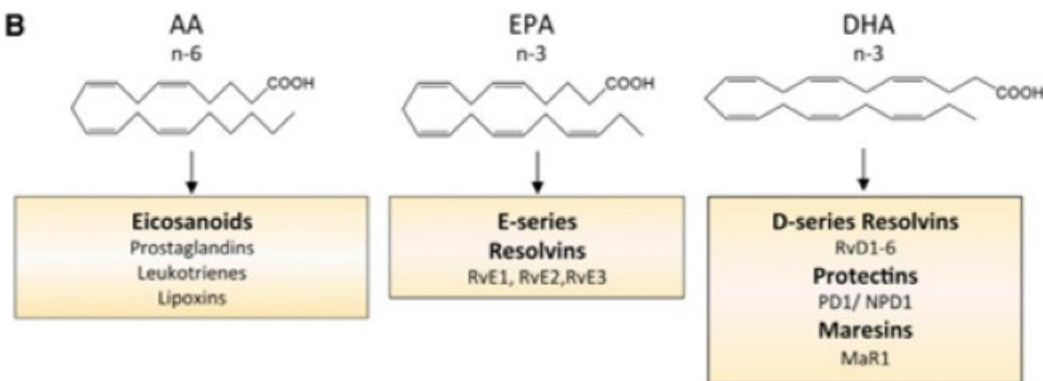


- La inflamación no resuelta (crónica) puede provocar daño tisular y contribuir a la disfunción metabólica crónica en no rumiantes
- Los ácidos grasos impulsan la señalización inflamatoria en las células inmunes
- Diversos mediadores lipídicos -activados secuencialmente- contribuyen a su activación (**n-6, AA**) y resolución (**n-3, EPA/DHA**)

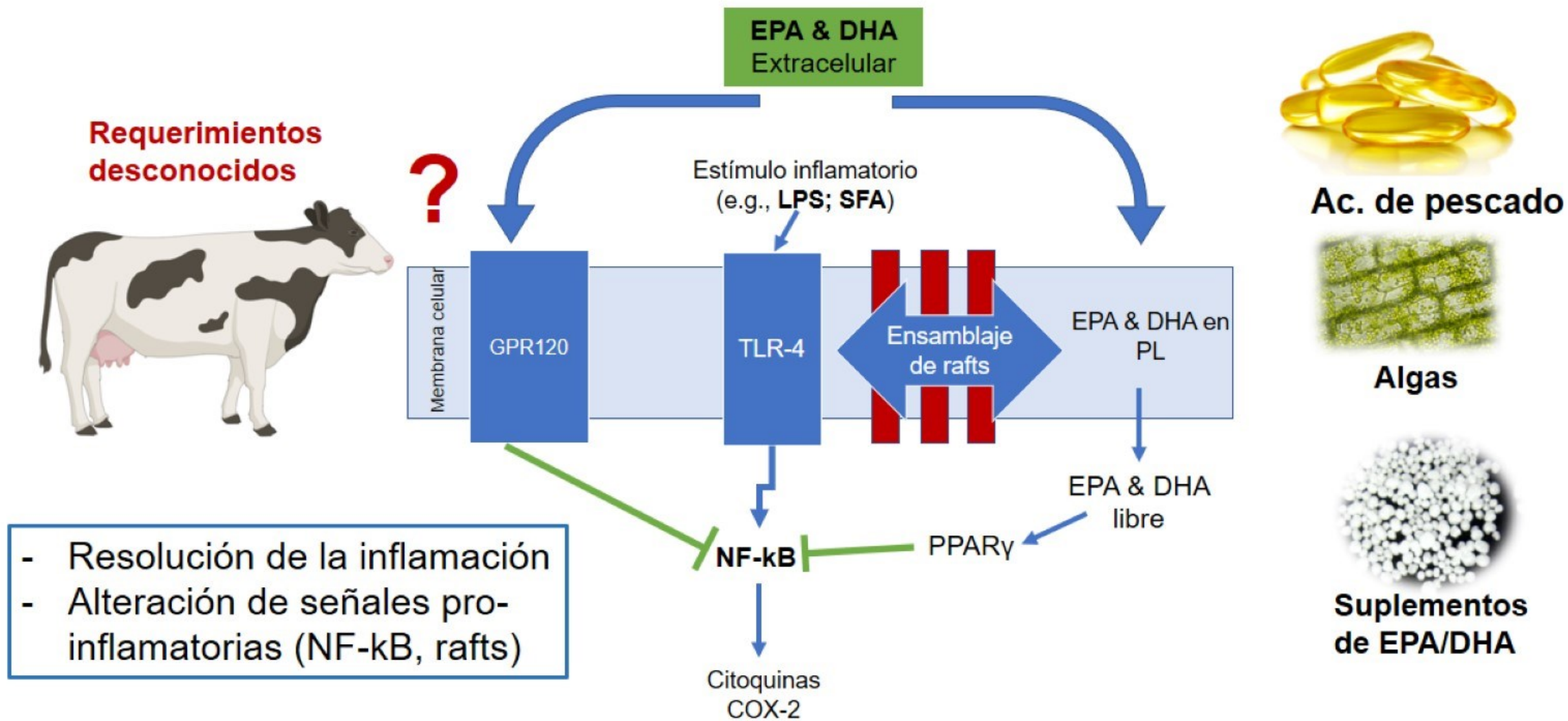
A



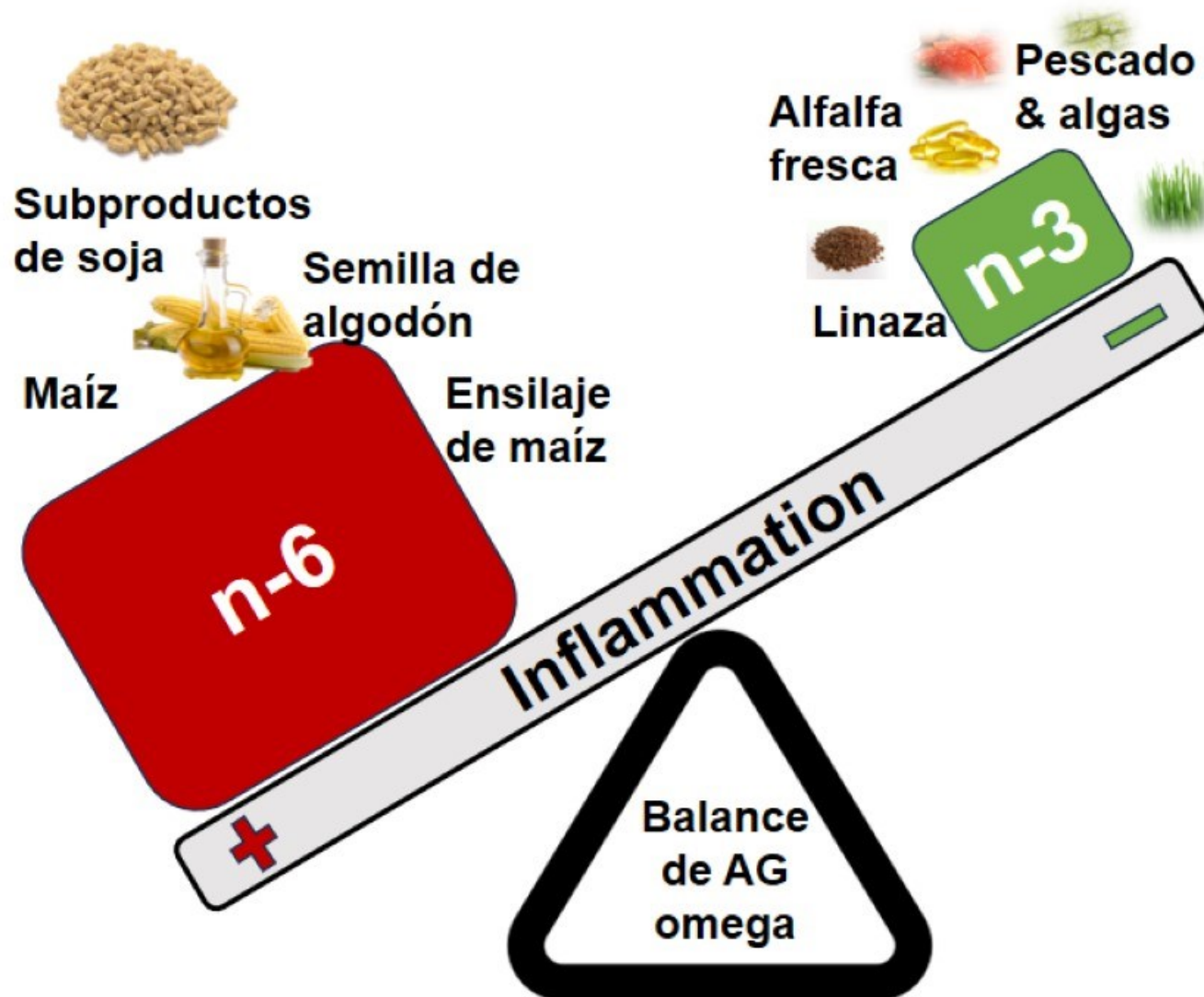
B



VLC n-3 (EPA+DHA) como terapias nutricionales para 'domar' la inflamación



“La respuesta inflamatoria se puede modular con el equilibrio nutricional adecuado de omegas 6 y 3”



¿Tiene alguna utilidad la relación n-6/n-3?

- Sí y no... (solo si el suministro no es un problema)



J. Dairy Sci. 98:602-617
<http://dx.doi.org/10.3168/jds.2014-8805>
© American Dairy Science Association, 2015.

Effects of altering the ratio of dietary n-6 to n-3 fatty acids on performance and inflammatory responses to a lipopolysaccharide challenge in lactating Holstein cows

L. F. Greco,¹ J. T. Neves Neto,² A. Pedrico,¹ R. A. Ferraz,¹ P. S. Lima,¹ R. S. Blainatto,¹ N. Martinez,¹ M. Garcia,¹ E. S. Ribeiro,¹ G. C. Gomes,¹ J. H. Shin,¹ M. A. Balou,¹ W. W. Thatcher,¹ C. R. Staples,² and J. E. P. Santos¹

¹Department of Animal Sciences, University of Florida, Gainesville 32611

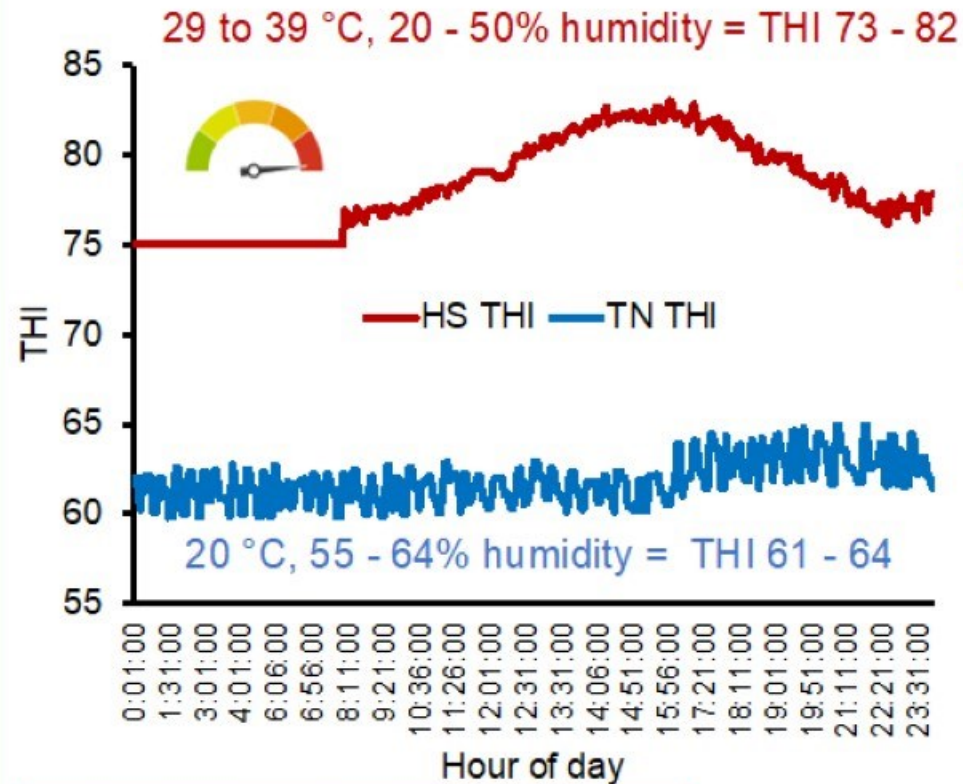
²Department of Animal and Food Sciences, Texas Tech University, Lubbock 79409

- Una relación reducida puede ser beneficiosa Greco et al., 2015
 - Las relaciones más bajas mejoraron el desempeño productivo y redujeron la respuesta de IL-6 después de reto con LPS.
 - Efectos no lineales en la temp. corporal y SCC.
 - La haptoglobina es más alta en las vacas alimentadas con relaciones más altas

De la teoría a la práctica

Los ácidos grasos n-3 del aceite de pescado aumentan la producción de leche y reducen los signos clínicos del estrés por calor en las vacas lecheras

A. Ruiz-Gonzalez,^{1,2} M. Ramirez-Mella,³ D. Ouellet,⁴ H. Lapierre,⁴ P-Y. Chouinard,¹ R. Gervais¹, J.E. Rico⁵ and D.E. Rico^{*2}



* THI cíclico = 72.0 – 82.0

1) **TNPF**

2) **HS***

3) **HS+DHA**

160 g/d Ac. De maíz; 55% linoléico, n-6

160 g/d aceite de pescado; rico en EPA & DHA, n-3

12 vacas Holstein
(Post pico)

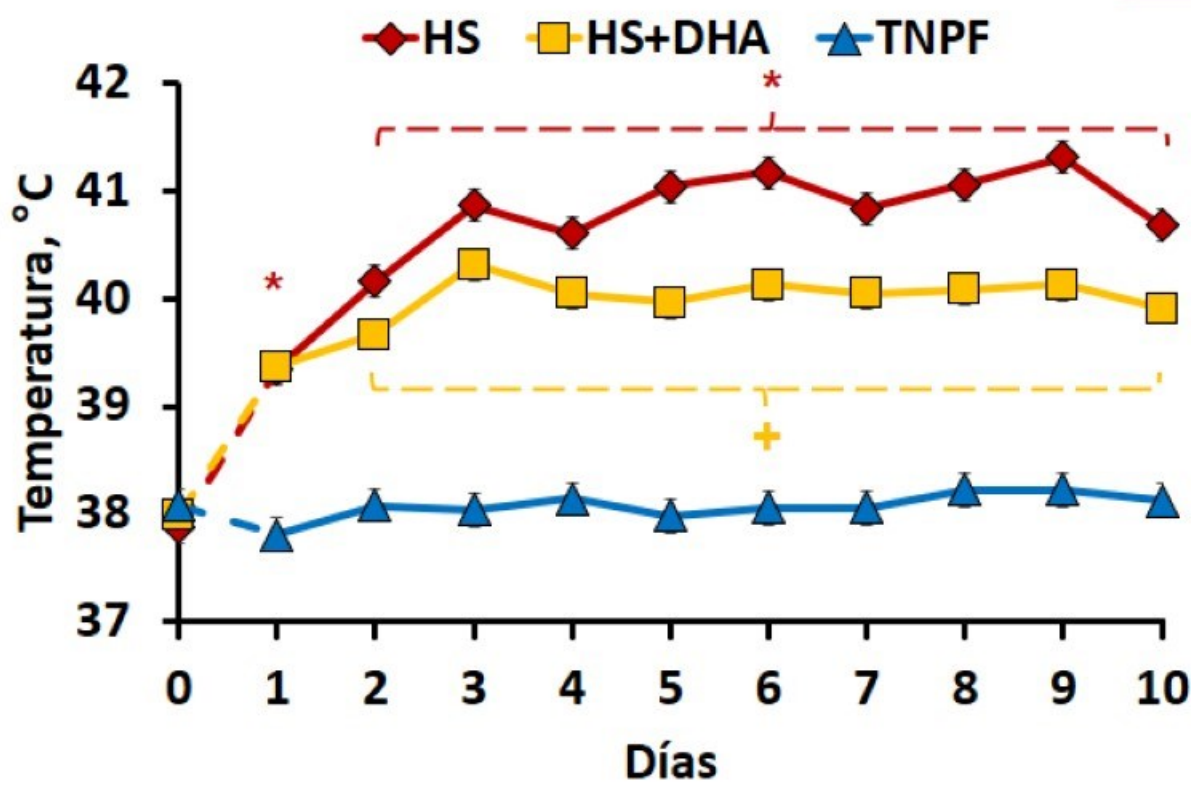
Infusión abomasal
160 g/d n-3 o n-6

2X/d
0800 & 1500h

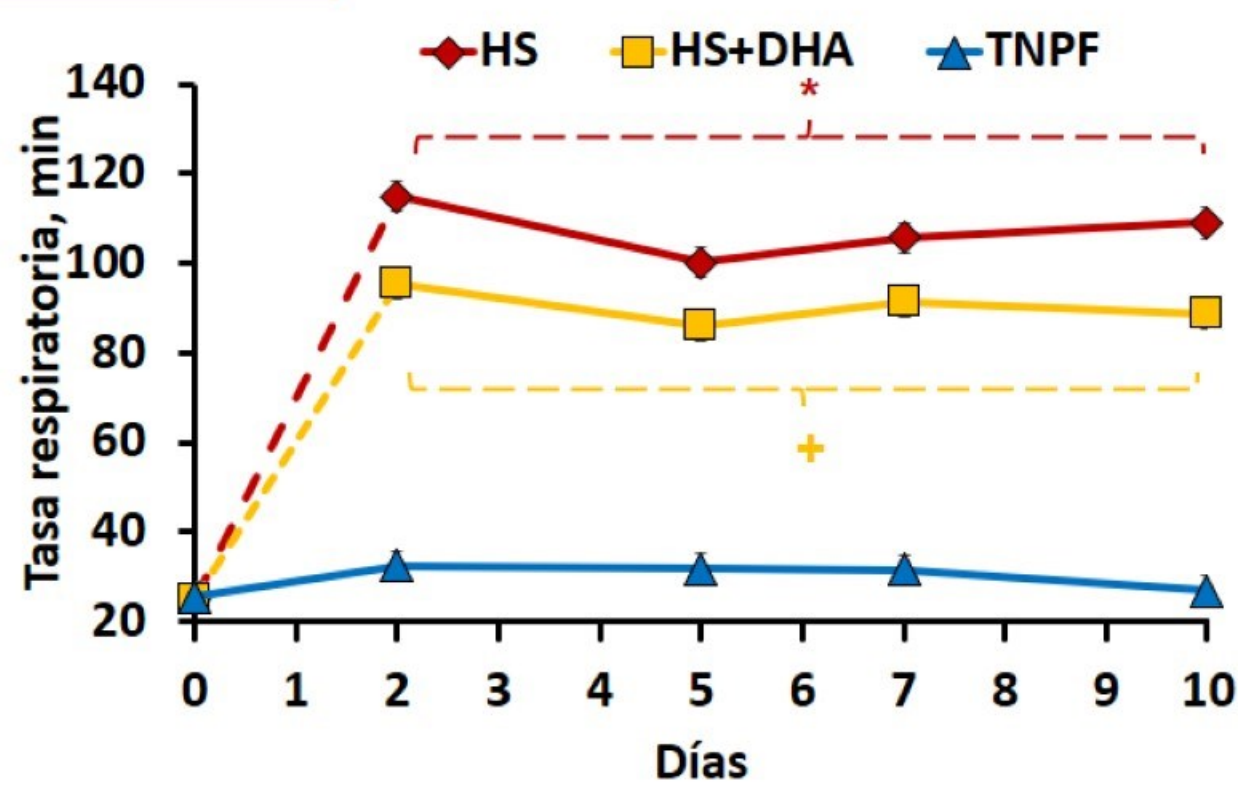
Dos periodos de 10-d
y 7-d de washouts

La infusión abomasal de aceite de pescado alivia (parcialmente) la hipertermia durante estrés de calor

Temperatura rectal 17h



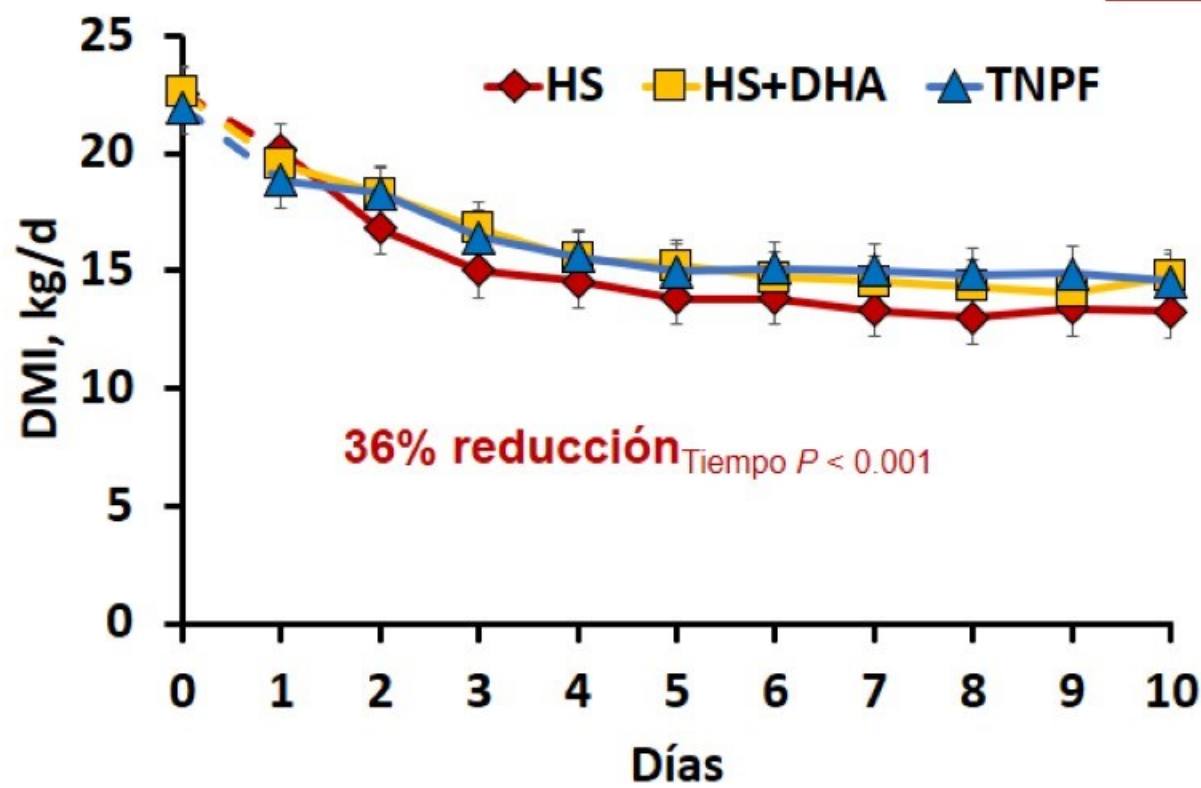
Tasa respiratoria



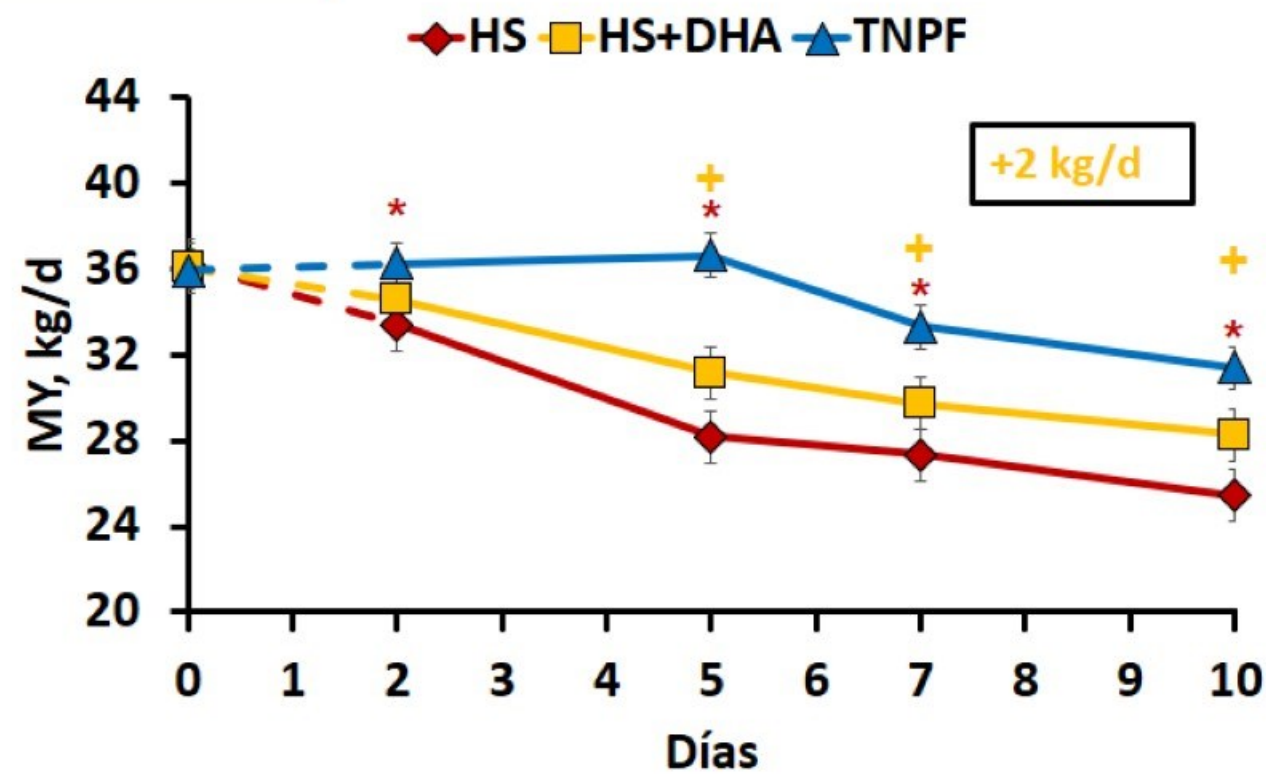
Tiempo*trt $P < 0.05$

El aceite de pescado mejora parcialmente la producción de le leche durante estrés de calor

Dry matter intake, kg/d



Milk yield (MY) kg/d



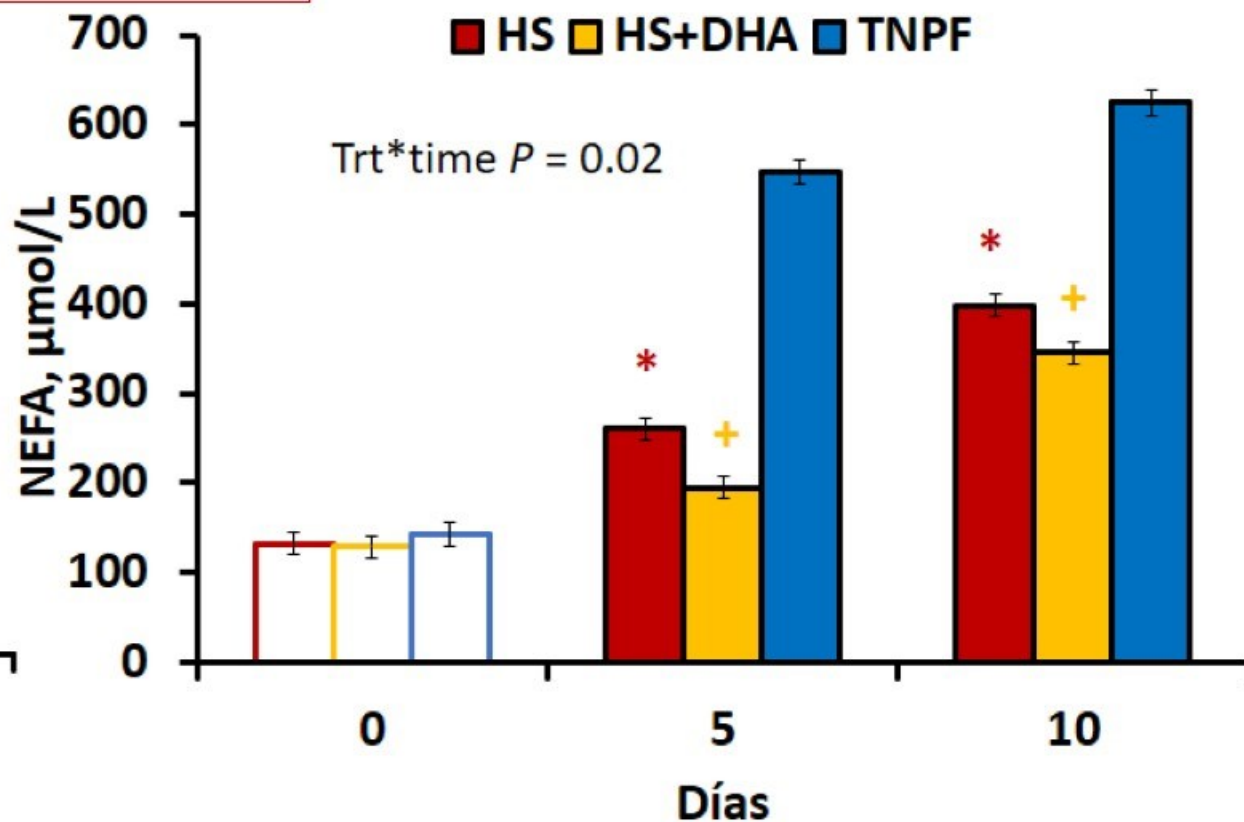
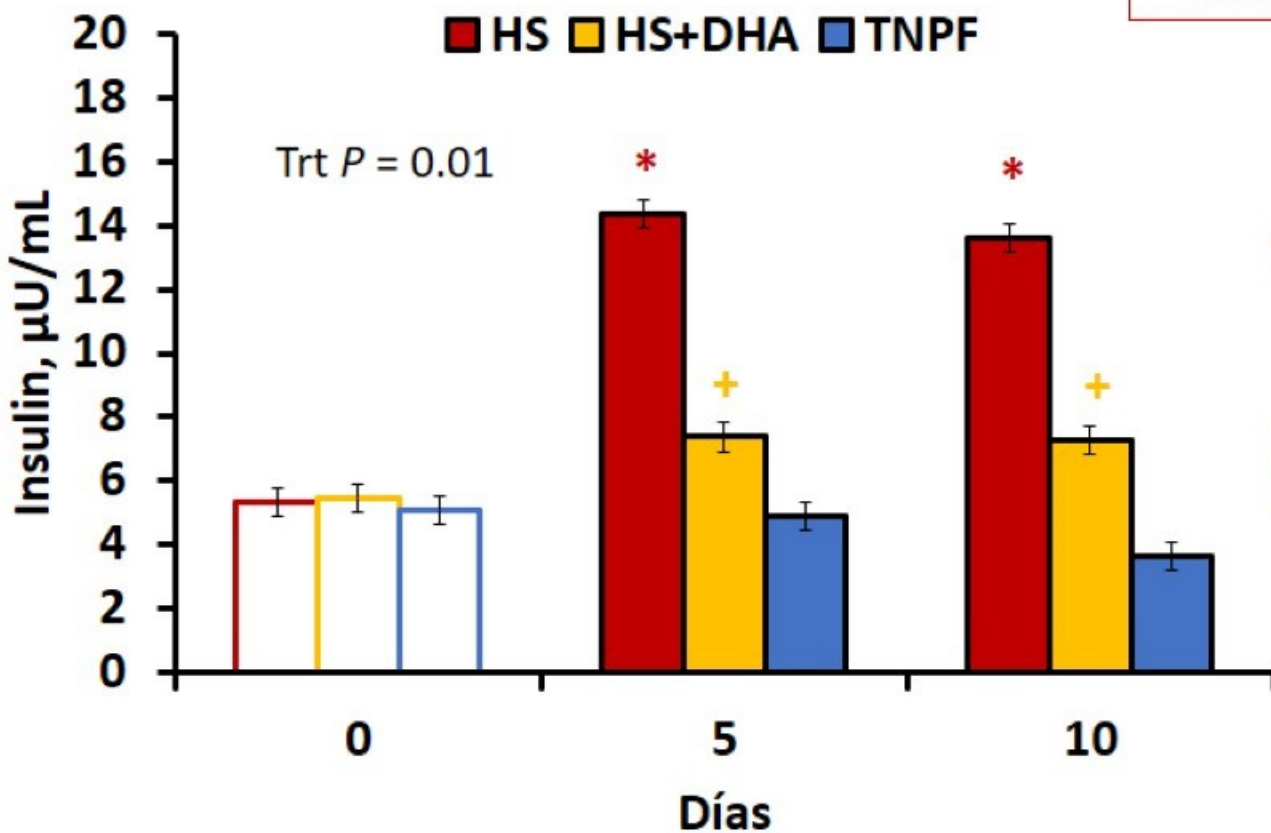
Time*trt $P < 0.05$

Los n-3 mejoran la respuesta a la insulina en el tejido graso....¿Útil para la vaca en periparto?

INSULINA Pre-prandial, $\mu\text{U/mL}$

*HS vs TNPF
+HS vs HS+DHA

NEFA Pre-prandial, $\mu\text{mol/L}$



Ruiz-Gonzalez et al., 2022. ADSA.

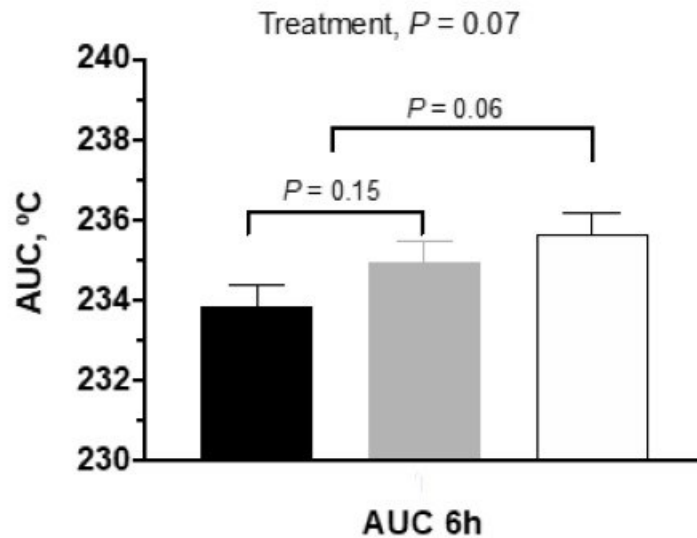
* Consistente con las observaciones durante la prueba de tolerancia a la insulina

Efectos de los suplementos de DHA+EPA protegidos del rumen sobre la temperatura rectal y la frecuencia respiratoria durante un reto con LPS

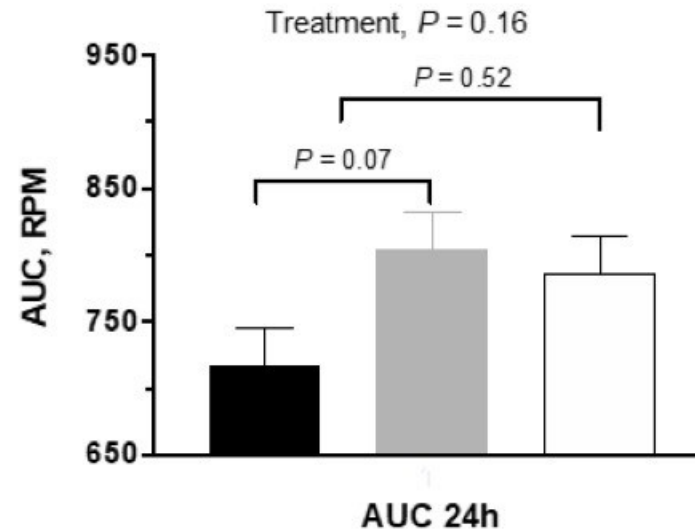


1. Ac. algas protegido (**ALG**; 25g n-3 VLC)
2. Ac. pescado protegido (**FO**; 25 n-3 VLC)
3. Ac. rico en ácido oléico (**OA**, 40g 18:1)
 - Tratamiento aportaron 226g grasa / d
 - Periodos de 9-d

Temperatura rectal



Tasa respiratoria



Hallazgos

Las vacas alimentadas con **ALG** (mayor aporte de DHA) mostraron las temperaturas rectales y tasas de respiración más bajas

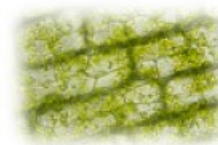
3 x 3 Latin Square

3 diets x 3 periods

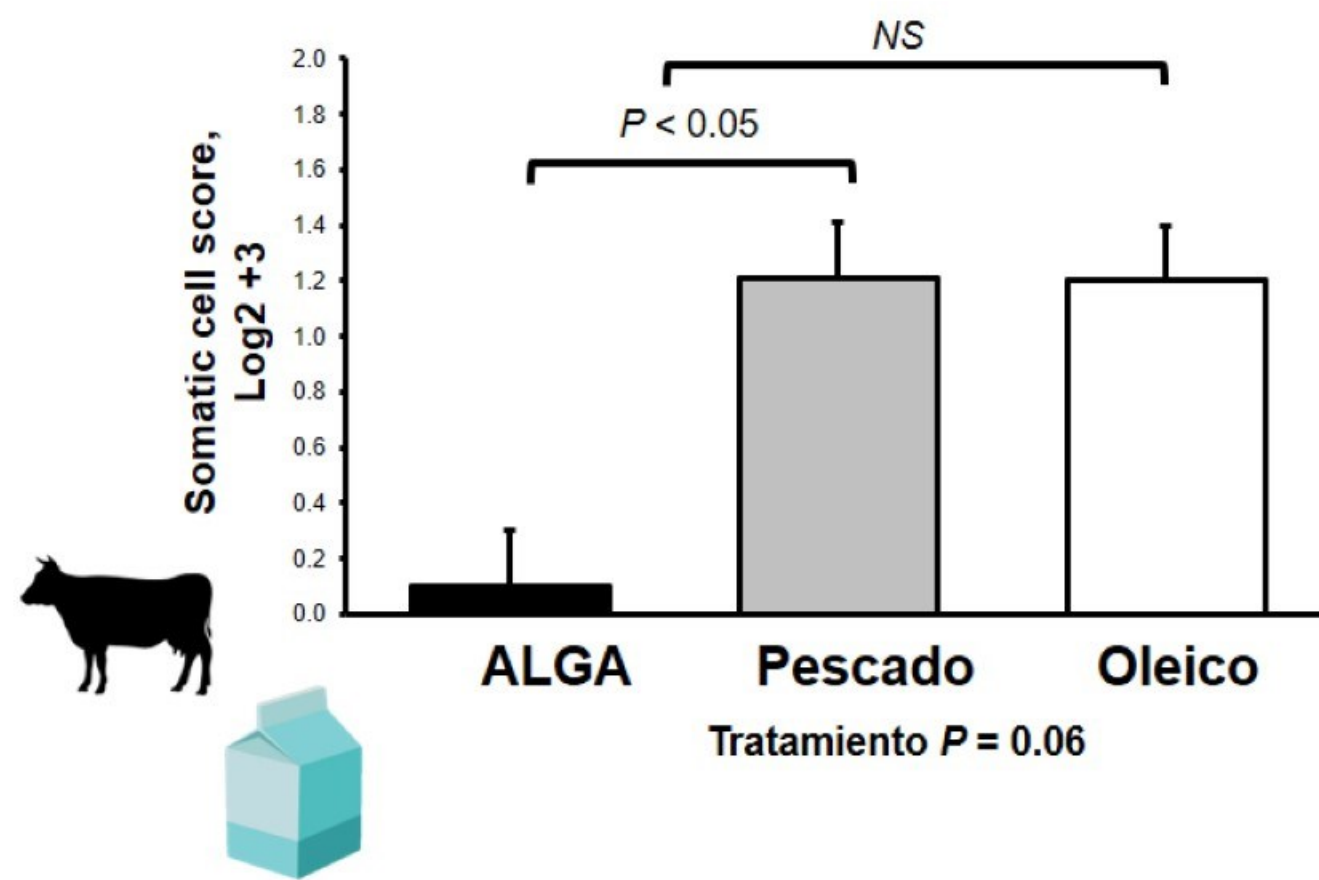
n = 9 obs. / treatment



El suministro de aceite de algas (alto DHA) resultó en menores cantidades de células somáticas en la leche



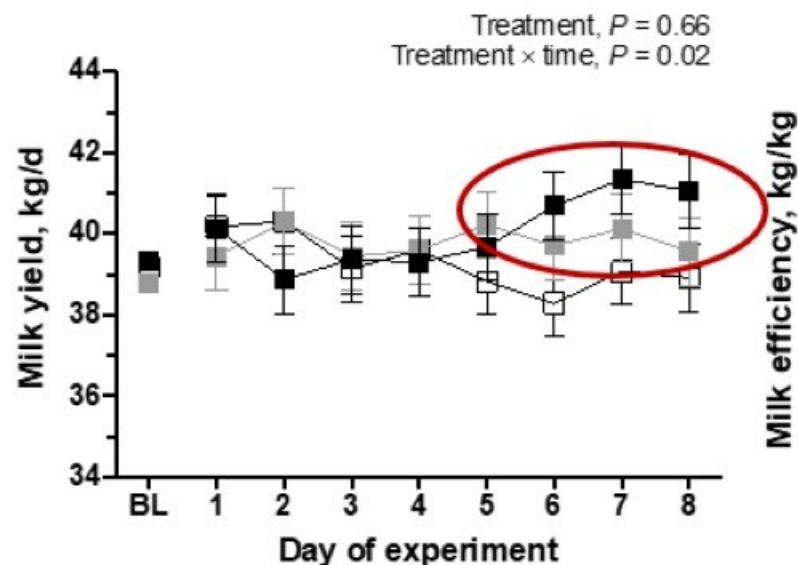
■ ALG ■ FO □ OA



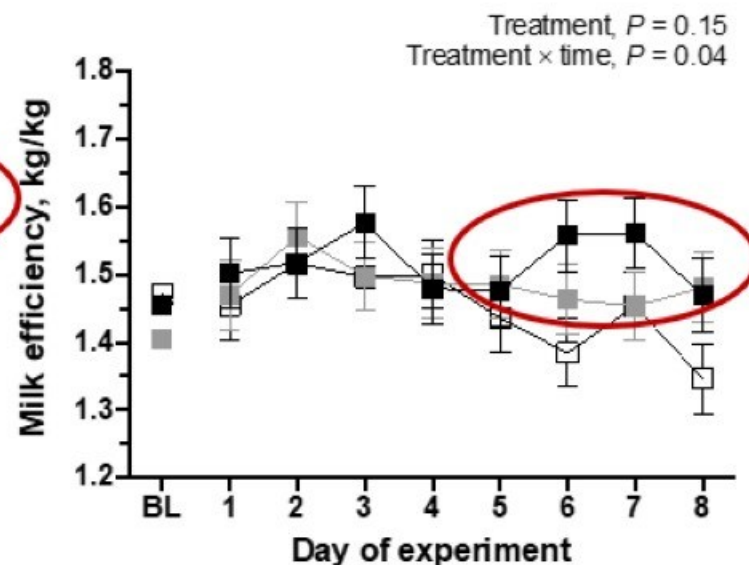
Mayor eficiencia de la producción de leche alimentando n-3 VLC

■ ALG ■ FO □ OA

Producción de leche

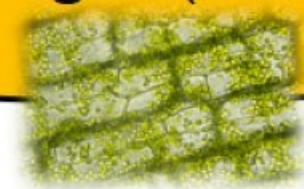


Eficiencia alimenticia

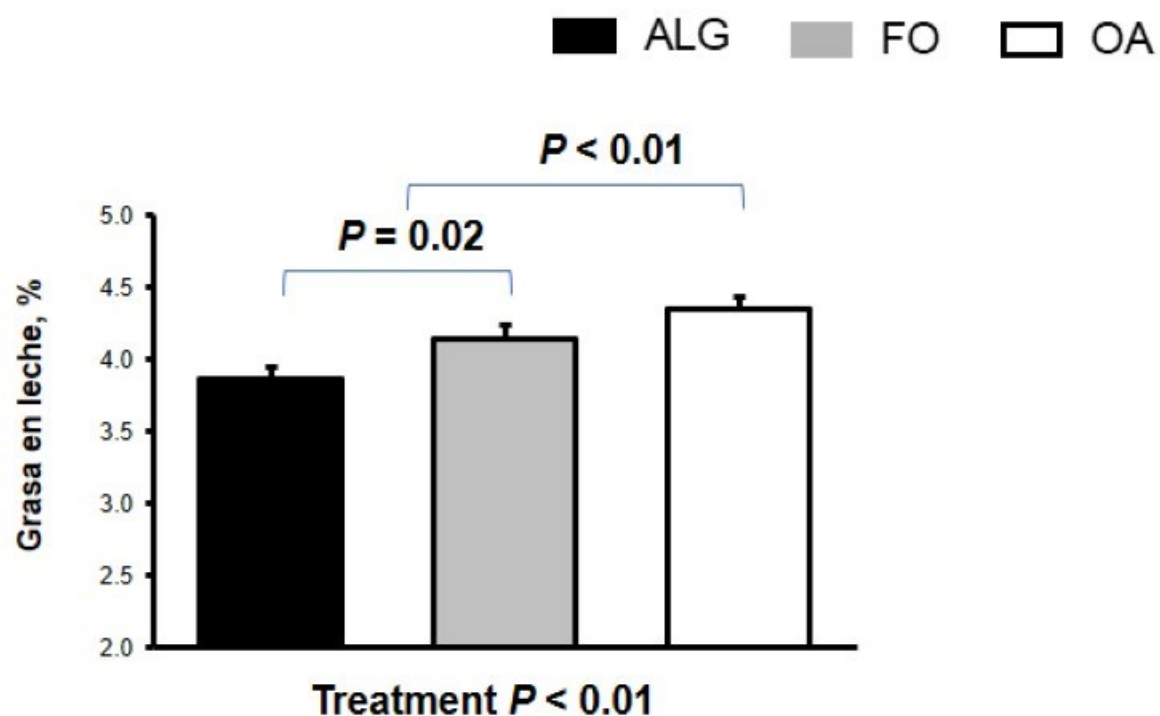


Hallazgos

De nuevo, los beneficios parecen ser mayores con el **aceite de algas** (alto en DHA).

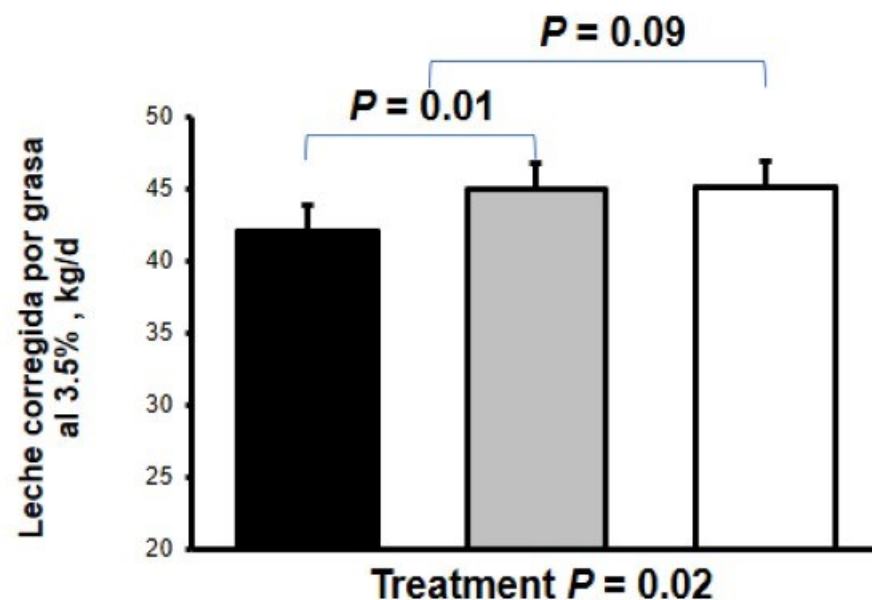
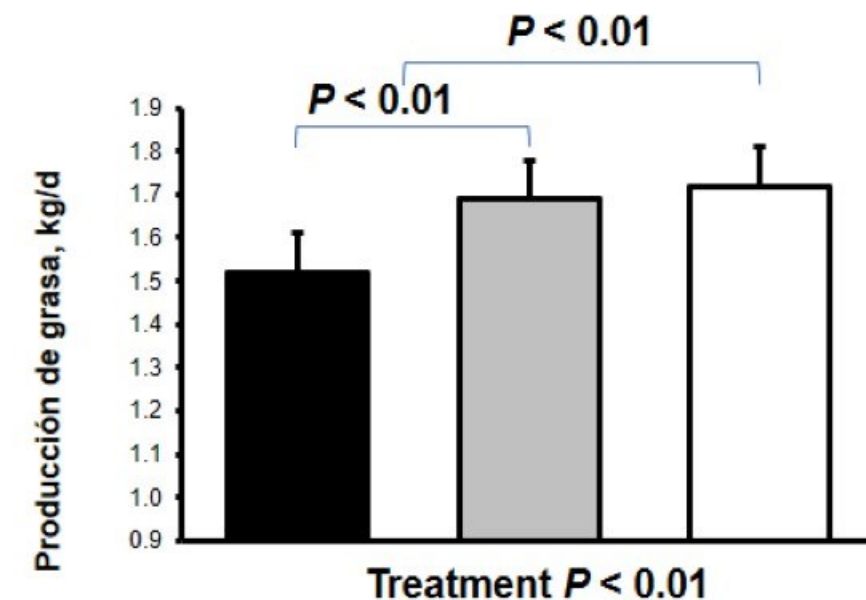


Grasa en leche y producción de leche corregida por grasa

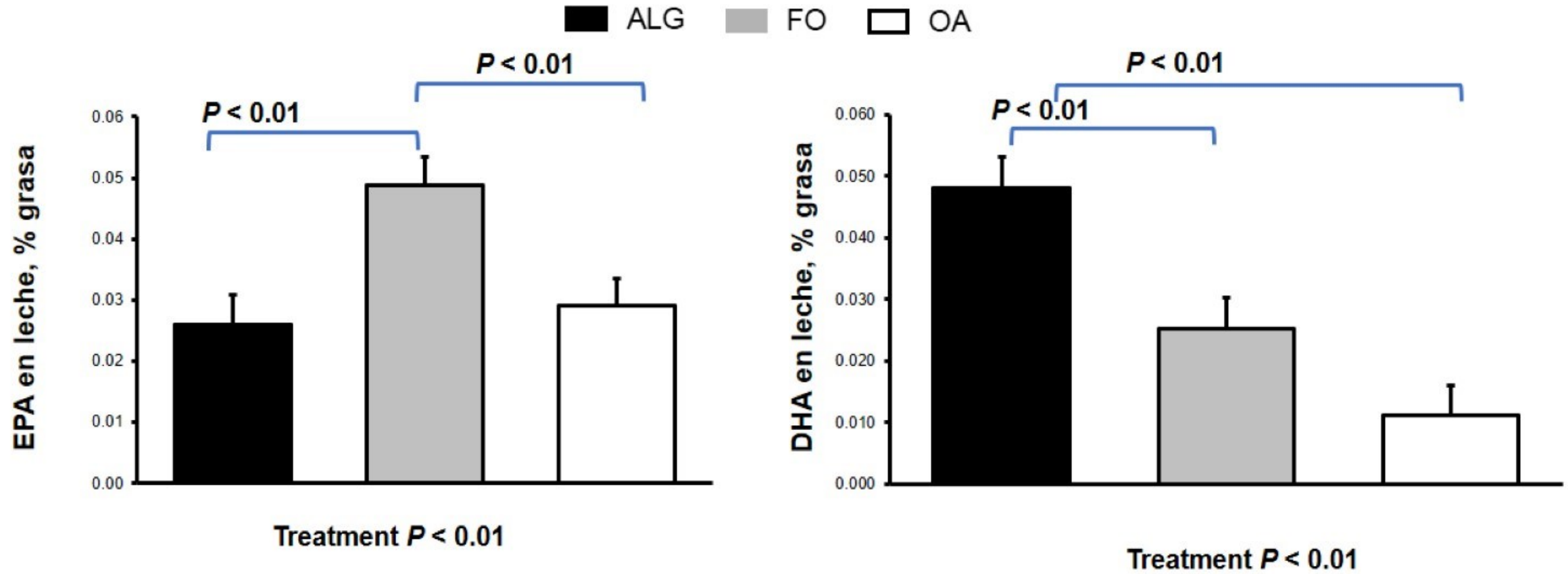


Diferencias en proteína or lactosa no detectadas

n = 9 obs. / treatment



Los n-3 de cadena muy larga llegan a la leche: Los incrementos en EPA and DHA corresponden a la fuente suministrada




Respuesta similar para secreción en leche (g/d)

n = 9 obs. / treatment

Algunos puntos claves: Perspectivas

- ✓ Los omega-3 son ya parte de la dieta natural de las vacas, pero...
 - ✓ Mayormente destruidos en rumen; lo poco que se absorbe es convertido ineficientemente
 - ✓ Necesitan ser protegidos de la acción microbiana del rumen
 - ✓ A pesar de su alta digestibilidad, la vaca recibe poco n-3 de cadenas muy largas (VLC 20 y 22 carbonos) como EPA y DHA
 - ✓ No tenemos un requerimiento diario definido (*aunque tenemos una idea*)

Algunos puntos claves: Perspectivas

- ✓ El enfoque en enriquecimiento de la leche no es necesariamente una prioridad
 - ✓ La vaca tiende a almacenar n-3 en lipidos que no van a la leche (i.e., PL)
 - ✓ Efectos en la vaca pueden ser más relevantes
- 
- ✓ Los AG n-3 de cadenas largas podrían ser terapias nutricionales para:
 - ✓ Estrés de calor
 - ✓ Control de la respuesta inflamatoria
 - ✓ Disminucion de resistencia a la insulina en periparto (<pérdida de peso?)
 - ✓ Mayor longevidad (vida productiva)?

Agradecimientos

Miembros del laboratorio en UMD:

Mario Barrientos; MS program

Mariana da Silva; MS program

Victor Sainz de la Maza; PhD candidate U. Bologna/Vetagro SpA.

Andrea Celetin-Sarmiento; Faculty Specialist

Undegraduate crew (@UMD ANSC; Biochem; Neuroscience)



Lechería de investigación CMREC (Clarksville, MD)

Brian Spielman, Brian Schnebly



**Cornell Vet
Teaching Dairy**
Dr. Blake Nguyen



VETAGRO
LIKE NO ONE ELSE®



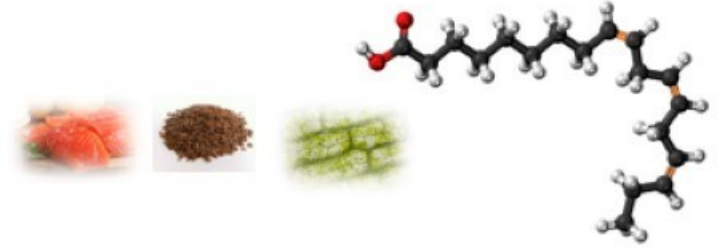
Laboratorio de investigación CRSAD (Canadá):

Daniel Rico. Co-investigador

Georgia Aguiar; estudiante de doctorado

Alexis Ruiz Gonzalez; Posdoctoral Fellow

¿Qué sabemos sobre la alimentación con omega-3 en las vacas lecheras?



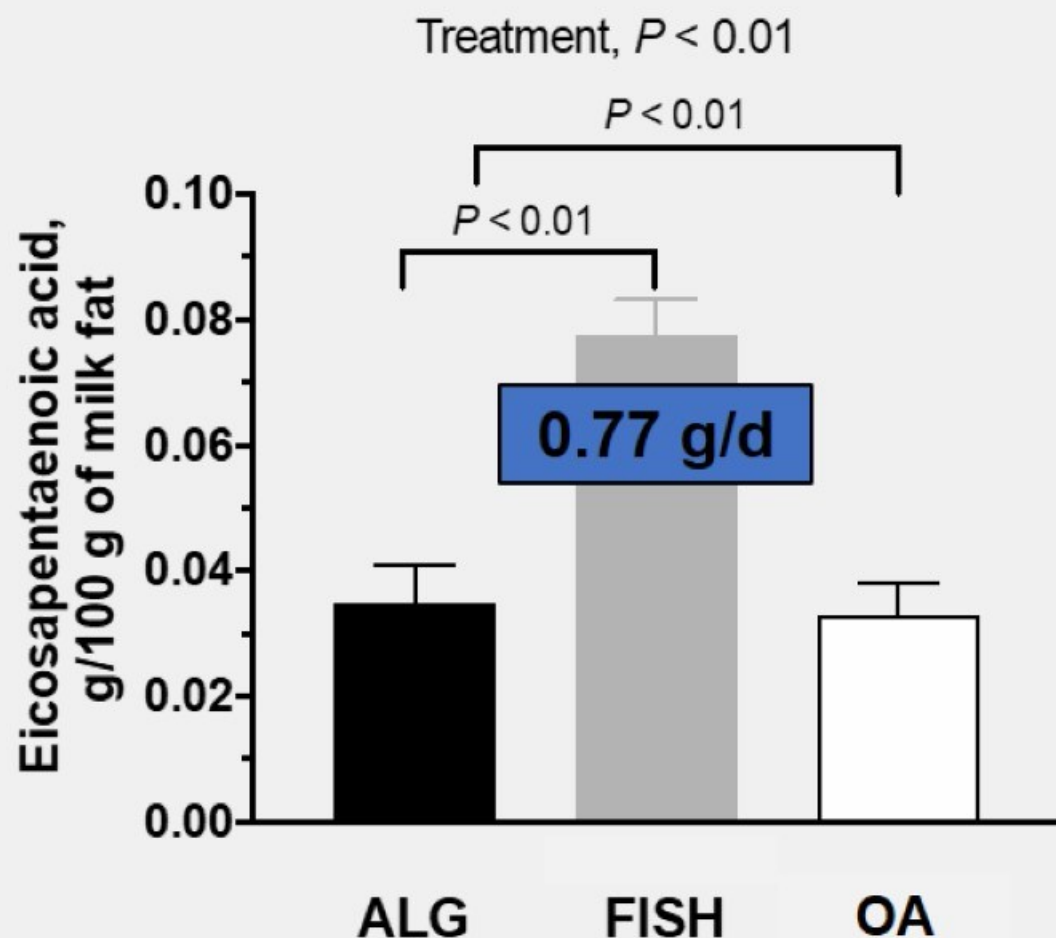
Gracias!

Eduardo Rico

ricoe@vet.upenn.edu



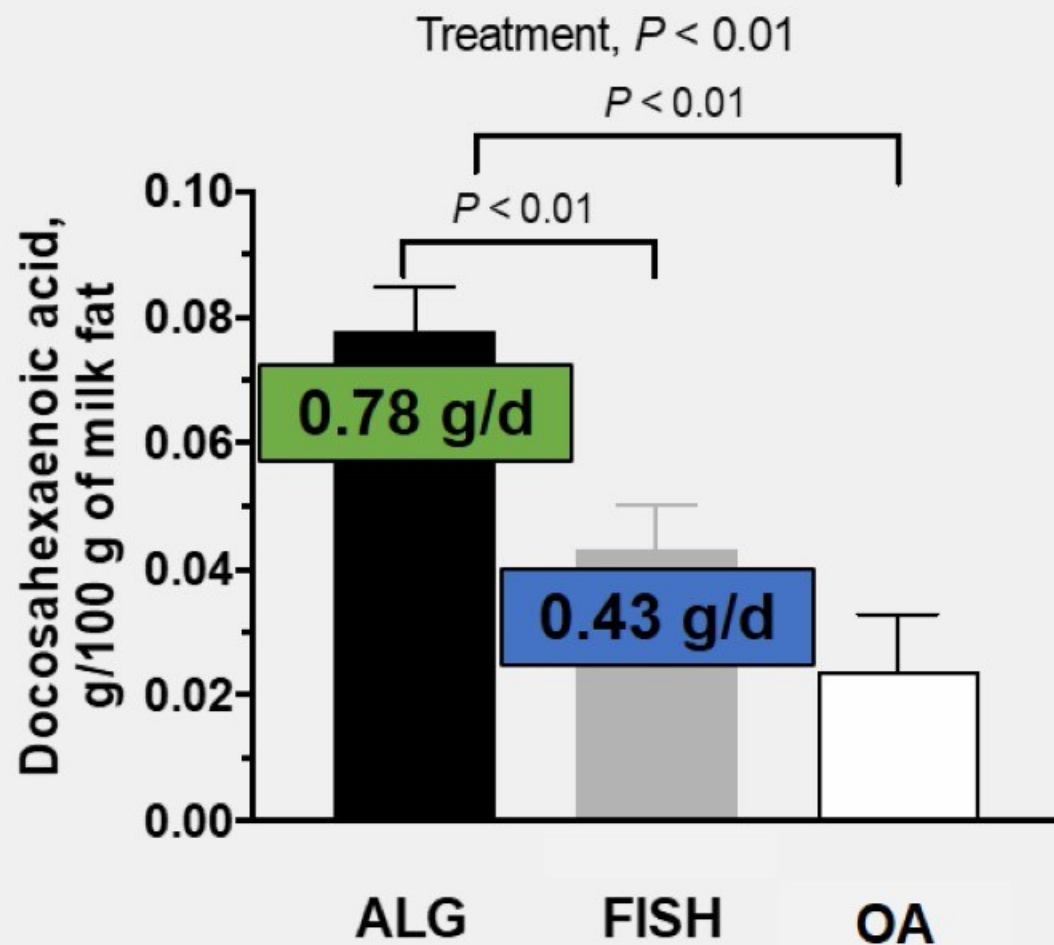
Transfer of dietary EPA into milk



**EPA transfer efficiency
RP FISH → 5.05%**

Treatment	Type of FA	EPA supply (g/d)
RP Fish oil	n3	15.33
RP Algae	n3	0.17
RP Oleic acid	OA	0.00

Transfer of dietary DHA into milk



DHA transfer efficiency
RP ALG \rightarrow 3.13 %

DHA transfer efficiency
RP FISH \rightarrow 4.45 %

Treatment	Type of FA	EPA supply (g/d)	DHA supply (g/d)
RP Fish oil	n3	15.33	9.69
RP Algae	n3	0.17	24.83
RP Oleic acid	OA	0.00	0.00

Omega-3 fatty acids are mostly routed into **phospholipids** and cholesteryl esters in plasma
(Limited incorporation in milk TG)

Rico et al., 2024
(Submitted)

Production results after the LPS challenge

Variable	Treatment ¹			SEM	P-values ²		
	ALG	FO	OA		Treatment	ALG vs. FO	n-3 vs. OA
Productive performance							
Milk yield, kg/d	34.9	35.1	32.1	1.49	0.36	0.93	0.16
Milk yield reduction, %	-11.8	-11.4	-19.5	3.75	0.29	0.95	0.12
<u>DMI, kg/d</u>	26.3	24.0	24.3	1.14	0.14	0.06	0.38
DMI reduction, %	-7.96	-13.35	-13.0	5.56	0.42	0.24	0.53
ECM, kg/d	37.8	37.1	34.9	1.49	0.47	0.81	0.22
3.5% FCM, kg/d	38.7	37.8	35.7	1.53	0.48	0.73	0.23
Milk composition, %							
<u>Fat</u>	4.33	4.02	4.29	0.11	0.07	0.04	0.36
Protein	3.10	3.15	3.18	0.03	0.32	0.33	0.23
Lactose	4.77	4.78	4.78	0.02	0.90	0.69	0.83
SCS, Log2 +3	1.52	1.38	1.37	0.26	0.92	0.74	0.82
MUN, mg/dL	15.3	15.2	15.6	0.30	0.64	0.86	0.39
Milk solids, kg/d							
Fat	1.38	1.41	1.36	0.06	0.86	0.75	0.68
Protein	1.04	1.11	1.02	0.05	0.40	0.33	0.37
Lactose	1.57	1.67	1.52	0.09	0.51	0.47	0.39
Feed efficiency							
<u>Milk³</u>	1.34	1.47	1.35	0.06	0.16	0.11	0.38
<u>ECM⁴</u>	1.44	1.55	1.46	0.10	0.16	0.09	0.45
<u>3.5% FCM⁵</u>	1.47	1.58	1.49	0.08	0.19	0.10	0.57

Production results

Variable	Treatment ¹			SEM	P-values ²		
	ALG	FO	OA		Treatment	ALG vs. FO	n-3 vs. OA
Productive performance							
BW, kg	678	692	702	7.97	0.20	0.30	0.14
Live weight variation, kg/d	-1.61	-0.09	1.86	1.28	0.18	0.41	0.09
DMI, kg/d	26.7	26.8	27.3	0.74	0.34	0.89	0.15
Milk yield, kg/d	40.1	39.8	39.3	0.67	0.66	0.77	0.40
ECM, kg/d	41.5	43.5	43.3	1.64	0.16	0.08	0.34
3.5% FCM, kg/d	42.1	45.0	45.1	1.84	0.02	0.01	0.09
Milk composition, %							
Fat	3.86	4.15	4.35	0.09	<0.01	0.02	<0.01
Protein	3.09	3.15	3.16	0.04	0.57	0.41	0.50
Lactose	4.89	4.89	4.82	0.05	0.64	0.36	0.95
SCS, Log2 +3	-0.10	1.21	1.20	0.49	0.06	0.04	0.20
MUN, mg/dL	13.4	14.1	14.2	1.16	0.26	0.19	0.28
Milk solids, kg/d							
Fat	1.52	1.69	1.72	0.06	<0.01	<0.01	<0.01
Protein	1.22	1.24	1.23	0.06	0.87	0.60	0.97
Lactose	2.05	1.80	1.96	0.07	0.11	0.04	0.76
Feed efficiency ratio							
Milk ³	1.52	1.47	1.45	0.04	0.15	0.38	0.08
ECM ⁴	1.60	1.58	1.53	0.04	0.47	0.70	0.24
3.5% FCM ⁵	1.63	1.62	1.57	0.04	0.58	0.88	0.30

Effects on NEFA during ITT

*HS vs TNPF
+HS vs HS+DHA

