

The *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid in the nutrition of lactating cows

El isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado en la nutrición de vacas lactantes

L. Danilo Granados-Rivera^{1*}; Omar Hernández-Mendo²; Jorge A. Maldonado-Jáquez³; Yuridia Bautista-Martínez²; Lorenzo Granados-Zurita⁴; Jorge Quiroz-Valiente⁴

¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental, General Terán, General Terán, Nuevo León. C. P. 67400.

²Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Programa de Ganadería. Texcoco, Estado de México. C. P. 56230.

³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo Experimental La Laguna, Matamoros, Coahuila. C. P. 27440.

⁴Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Experimental, Huimanguillo, Huimanguillo, Tabasco C. P. 86400.

*Corresponding autor: dgr_8422@hotmail.com, granados.danilo@inifap.gob.mx

Abstract

The *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid is associated with a decrease in milk fat yield. When milk fat contents are low, there is also a lower yield of by-products such as cheese and butter, so producers receive a lower milk price. However, supplementing the diet of lactating cows with controlled doses of the *trans*-10, *cis*-12 isomer of conjugated linoleic acid could reduce energy demand at times when nutrient intake is insufficient. Thus, that energy not used for milk fat synthesis would be used to improve the cow's energy balance and this, in turn, would lead to increased milk production or changes in milk components.

Keywords: Production efficiency, milk production, energy balance.

Resumen

El isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado se asocia con disminución en la concentración de grasa láctea. Lo cual es perjudicial para la industria lechera debido a un menor rendimiento de subproductos, por lo que el productor recibe un pago menor por la venta de leche. Sin embargo, complementar la dieta de vacas lactantes con dosis controladas del isómero *trans*-10, *cis*-12 del ácido linoleico conjugado podría reducir la demanda de energía en momentos en que la ingesta de nutrientes es insuficiente. De tal manera que la energía no utilizada para la síntesis de grasa láctea, fuese usada para mejorar el balance energético de la vaca, y ello derivará en aumento en la producción o cambios en componentes de la leche.

Palabras clave: Eficiencia productiva, producción de leche, balance de energía.

Introduction

The main challenge in the nutrition of lactating cows is to cover their energy requirements (National Research Council [NRC], 2001). Therefore, it is important to consider fatty acids (FAs) with the potential to improve the efficiency of the cow's energy metabolism, such as conjugated linoleic acid (CLA) (Bauman, Harvatine, & Lock, 2011), which is composed of at least 26 geometric and positional isomers of linoleic acid, with a conjugated double bond position (Bauman & Griinari, 2003). This is produced in the rumen as an intermediate in the biohydrogenation process of linoleic acid, by the action of bacteria such as *Butirivibrio fibrisolvens* and *Megasphaera elsdenii* (Harvatine, Boisclair, & Bauman, 2009). It can also be synthesized endogenously in ruminant tissues from vaccenic acid (C18: 1 *trans*-11), by the stearoyl-CoA desaturase (Shingfield, Bernard, Leroux, & Chilliard, 2010).

The two main CLA isomers are *cis*-9, *trans*-11 and *trans*-10, *cis*-12, since together they represent about 95 % of total CLA and have the greatest biological activity (Harvatine et al., 2009). In particular, the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer when supplemented in the diet for lactating cows increases milk production (Medeiros et al., 2010), decreases the mobilization of body reserves (Von Soosten, Meyer, Piechotta, Flachowsky, & Dänicke, 2012), and improves the energy balance in the cow (Granados-Rivera et al., 2017). This is because said isomer decreases the milk fat yield and consequently reduces the demand for energy (Von Soosten et al., 2012). This phenomenon is known as milk fat depression (MFD) (Bauman & Griinari, 2003), in which fat can decrease up to 50 %, with little or no change in milk protein and lactose concentrations (Harvatine et al., 2009). MFD is caused by the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer, by inhibiting the expression of enzymes involved in *de novo* FA synthesis, in the intracellular transport and mammary absorption of preformed FAs from the blood (Peters, Park, González & Pariza, 2001). For the dairy industry, MFD is detrimental because it causes a lower yield of by-products such as cheese and butter, while the producer receives a lower milk price. However, supplying lactating cows with controlled doses of the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer could reduce energy demand at times when nutrient intake is insufficient (Bauman et al., 2011), particularly at the beginning of lactation when the cow's energy balance (EB) is negative or in environmental heat stress conditions, common situations in some dairy regions of Mexico. Therefore, the objective of this literature review is to discuss the potential use of the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer as an adjuvant to improve the lactating cow's energy metabolism.

Introducción

El principal desafío en la nutrición de vacas lactantes es cubrir los requerimientos de energía (National Research Council [NRC], 2001). Por ello, es importante considerar los ácidos grasos (AG) con potencial para mejorar la eficiencia del metabolismo energético de la vaca, como el ácido linoleico conjugado (ALC) (Bauman, Harvatine, & Lock, 2011), el cual está integrado por al menos 26 isómeros geométricos y posicionales del ácido linoleico, con enlaces dobles en posición conjugada (Bauman & Griinari, 2003). Éste se produce en el rumen como intermediario en el proceso de biohidrogenación del ácido linoleico, por acción de bacterias como *Butirivibrio fibrisolvens* y *Megasphaera elsdenii* (Harvatine, Boisclair, & Bauman, 2009). También puede ser sintetizado de forma endógena en los tejidos de rumiantes a partir de ácido vaccénico (C18: 1 *trans*-11), por acción de la esteril-CoA desaturasa (Shingfield, Bernard, Leroux, & Chilliard, 2010).

Los dos principales isómeros del ALC son el *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12, ya que en conjunto representan alrededor del 95 % del ALC total y tienen mayor actividad biológica (Harvatine et al., 2009). En particular, el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC cuando es complementado en la dieta para vacas lactantes aumenta la producción de leche (Medeiros et al., 2010), disminuye la movilización de reservas corporales (Von Soosten, Meyer, Piechotta, Flachowsky, & Dänicke, 2012), y mejora el balance energético en la vaca (Granados-Rivera et al., 2017). Esto se debe a que dicho isómero disminuye la concentración de grasa en leche, y en consecuencia reduce la demanda de energía (Von Soosten et al., 2012). Este fenómeno se conoce como síndrome de depresión de grasa láctea (SDGL) (Bauman & Griinari, 2003), en el cual la grasa puede disminuir hasta 50 %, con ningún o poco cambio en la concentración de proteína y lactosa en leche (Harvatine et al., 2009). El SDGL es ocasionado por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC al inhibir la expresión de enzimas involucradas en la síntesis de AG *de novo*, en el transporte intracelular y absorción mamaria de AG preformados provenientes de la sangre (Peters, Park, González & Pariza, 2001). Para la industria lechera el SDGL es perjudicial por causar un menor rendimiento de subproductos como queso y mantequilla, mientras que el productor recibe un pago menor por venta de leche. No obstante, el suministro a vacas lactantes con dosis controladas del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC podría reducir la demanda de energía en momentos en que la ingesta de nutrientes es insuficiente (Bauman et al., 2011). En particular, al inicio de la lactancia cuando el balance energético (BE) de la vaca es negativo o en condiciones ambientales de estrés por calor, situaciones comunes en algunas regiones lecheras de México. Por lo anterior, el objetivo de esta revisión de literatura es discutir respecto al potencial uso del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC como coadyuvante para mejorar el metabolismo energético de la vaca lactante.

Milk fat depression (MFD)

MFD is caused by dietary conditions such as: diets with low NDF levels ($< 25\%$), rumen unsaturated FA load ≥ 3.5 , inclusion of ionophores in the diet at doses $\geq 2.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$, or the combination of these risk factors (Harvatine, 2016). In this regard, diets low in NDF cause low pH in the rumen, and with it excessive accumulation of lactic acid, which promotes greater synthesis of propionic acid and less of acetic and butyric acid (Shingfield & Wallace, 2014), while polyunsaturated FAs and ionophores promote the generation of *trans* FAs through changes in ruminal metabolism (Kim et al., 2008), thus conditioning milk fat depression (Bauman et al., 2011). Several theories have been developed to explain the metabolic changes in lactating cows that condition the presentation of MFD. In this regard, it has been proposed that the increase in the proportion of propionic acid and the decrease in acetic and butyric acid in the rumen results in a lower synthesis of β -hydroxybutyrate, a necessary precursor in FA synthesis, and this induces a lower milk fat yield (Shingfield & Wallace, 2014). It has also been suggested that the increase in propionic acid stimulates greater pancreatic secretion of insulin, and thus a greater energy supply to muscle, adipose and blood tissue, which would represent a competition for nutrients between the mammary gland and other tissues (Bauman et al., 2011). However, to date, there is not enough scientific evidence to support these theories (Harvatine, 2016), except for the biohydrogenation theory proposed by Bauman and Griinari (2003). This theory postulates that the nutritional conditions described above cause alterations in ruminal metabolism that give rise to higher production of *trans* FAs, which inhibit the following enzymes: messenger ribonucleic acid (mRNA) of FA synthetase, acetyl-Co-A carboxylase, lipoprotein lipase, $\Delta 9$ -desaturase, FA acetyl-CoA-ligase, glycerol-phosphate-acyltransferase, and acyl-glycerol-phosphate-acyl-transferase (Peters et al., 2001), which are necessary for mammary gland FA synthesis (Harvatine et al., 2009). Therefore, inhibiting its activity causes a decrease in milk fat (Shingfield et al., 2010).

During MFD, the *trans* C18: 1 and C18: 2 FA isomers increase in milk (Bauman et al., 2011); based on this information, Baumgard, Corl, Dwyer, Saebo and Bauman (2000) duodenally infused the *trans*-10 *cis*-12 and *cis*-9 *trans*-11 CLA isomers into lactating cows, and observed that the former reduced the milk fat yield, while *cis*-9, *trans*-11 CLA had no effect. In this study, MFD started rapidly, milk fat yield progressively decreased after the start of the infusion, and a significant decrease was observed starting at hour 10 and maximum reduction at day 4. Also, studies where this isomer was included in the cow's diet for periods of 6 to 20 weeks (Harvatine et al., 2009) report that the reduction in milk fat

Síndrome de depresión de grasa láctea (SDGL)

El SDGL es provocado por condiciones alimenticias como; dietas con niveles bajos de FDN ($< 25\%$), carga ruminal de AG insaturados ≥ 3.5 , inclusión de ionóforos en la dieta a dosis $\geq 2.7 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{hr}^{-1}$, o la combinación de estos factores de riesgo (Harvatine, 2016). Al respecto, dietas bajas en FDN provocan pH bajos en el rumen, y con ello acumulación excesiva de ácido láctico, que promueve mayor síntesis de ácido propiónico y menor de acético y butírico (Shingfield & Wallace, 2014), mientras que los AG poliinsaturados y los ionóforos promueven la generación de AG *trans* a través de cambios en el metabolismo ruminal (Kim et al., 2008), condicionando así el síndrome de depresión de grasa láctea (Bauman et al., 2011). Se han desarrollado varias teorías para explicar los cambios metabólicos en las vacas lactantes que condicionan la presentación del SDGL. Al respecto, se ha propuesto que el aumento en la proporción de ácido propiónico y disminución del ácido acético y butírico en rumen resulta en síntesis menor de β -hidroxibutirato, precursor necesario en la síntesis de AG, y ello induce menor concentración de grasa en leche (Shingfield & Wallace, 2014). También se ha sugerido que el aumento del ácido propiónico estimula mayor secreción pancreática de insulina, y con ello mayor suministro de energía hacia tejido muscular, adiposo y sanguíneo, lo cual representaría una competencia por nutrientes entre glándula mamaria y otros tejidos (Bauman et al., 2011). Sin embargo, a la fecha, no existe suficiente evidencia científica que sustente estas teorías (Harvatine, 2016), excepto la de biohidrogenación propuesta por Bauman y Griinari (2003). Dicha teoría postula que las condiciones alimenticias antes descritas, propician alteraciones del metabolismo ruminal que dan origen a una mayor producción de AG *trans*, quienes inhiben las enzimas; ácido ribonucleico mensajero (mARN) de AG sintetasa, acetil Co-A carboxilasa, lipasa lipoproteínica, $\Delta 9$ -desaturasa, AG acetil-CoA-ligasa, glicerol-fosfato-aciltransferasa, y acil-glicerol-fosfato-acil-transferasa (Peters et al., 2001), mismas que son necesarias para la síntesis de AG en glándula mamaria (Harvatine et al., 2009). Por lo que inhibir su actividad ocasiona disminución de grasa en leche (Shingfield et al., 2010).

Durante el SDGL, en leche aumentan los isómeros *trans* de los AG C18:1 y C18:2 (Bauman et al., 2011), con base en esta información, Baumgard, Corl, Dwyer, Saebo y Bauman, (2000) infundieron duodenalmente los isómeros *trans*-10 *cis*-12 y *cis*-9 *trans*-11 ALC a vacas lactantes, y observaron que el primero reducía la concentración de grasa en leche, mientras que *cis*-9, *trans*-11 ALC no tuvo ningún efecto. En dicho estudio el SDGL inició rápidamente la concentración de grasa en leche disminuyó progresivamente después del inicio de la infusión, y se observó una disminución significativa a partir de la hora 10 y reducción máxima al día 4.

persists throughout the experimental period (Papritz et al., 2011) and that the fat yield is recovered when the supply ceases (Castañeda-Gutiérrez et al., 2007). In addition, the effect of the *trans*-10 *cis*-12 CLA isomer on milk fat is independent of the lactation stage, although a higher dose is required in cows at early lactation (Harvatine et al., 2009).

CLA's mechanisms of action

The two FA sources in milk fat synthesis (*de novo* synthesis and absorption and transfer of preformed FAs) require the coordinated work of an enzymatic complex involved in the transport of FA precursors to the mammary gland, *de novo* synthesis, the desaturation, esterification and formation of triglycerides, and finally FA deposition in milk (Jenkins & Harvatine, 2014), and it is precisely through the inhibition of this enzymatic complex that the *trans*-10 isomer, *cis*-12 CLA isomer causes the presence of MFD in lactating cows (Bauman et al., 2011). In this respect, it has been shown that the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer reduces the gene expression (mRNA) of lipogenic enzymes and lipogenic factors (Kadegowda et al., 2010). Although the mechanisms of action of the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer that reduce milk fat are not clear yet (Vyas et al., 2013), scientific evidence points to the fact that this process is regulated by suppression of nuclear fragments in the sterol regulatory element-binding protein 1 (SREBP1) (Torral, Hervas, Carreño & Frutos, 2016). SREBP1 is a global regulator of milk fat synthesis (Bionaz, Osorio & Loo, 2015), involved in the regulation of lipogenic genes in mammary epithelial tissue (Hussein, Harvatine & Weerasinghe, 2013), particularly with those associated with *de novo* synthesis (Kadegowda, Burns, Miller & Duckett, 2013). In this regard, the degree of SREBP1 suppression is directly proportional to the magnitude of the fall in milk fat caused by the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer (Bauman et al., 2011). However, changes in SREBP1 expression have not been able to fully explain the mechanism of action for the presence of milk fat depression (Bionaz et al., 2015), suggesting that the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer affects other transcription factors that regulate milk fat synthesis (Harvatine, 2016). In this respect, diets that cause MFD and abomasal infusions with the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer modify the expression of the thyroid hormone known as S14 (Angulo et al., 2012), as well as peroxisome proliferator-activated receptors (PPARs) (Anderson, Metkowski, Stack, Gopinath & Mariash, 2009). However, the role of PPARs during MFD is debatable (Bernard, Leroux, & Chilliard, 2008) because the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer reduced body fat in mice without PPAR activity (Yu, Correll & Heuvel, 2002). However, adipocytes, depending on the tissue where they are found, respond differentially to molecular signals (Peters et al., 2001), which would explain the variation in PPAR response during MFD. So far the scientific evidence indicates that

Asimismo, estudios donde se incluyó en la dieta para vacas dicho isómero por periodos de 6 a 20 semanas (Harvatine et al., 2009), reportan que la reducción de grasa en leche persiste durante todo el período experimental (Papritz et al., 2011) y la concentración de grasa se recupera al cesar el suministro (Castañeda-Gutiérrez et al., 2007). Además, el efecto del isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC sobre la grasa láctea es independiente de la etapa de lactancia, aunque se requiere una dosis mayor en vacas a inicios de la lactancia (Harvatine et al., 2009).

Mecanismos de acción del ALC

Las dos fuentes de AG en la síntesis de grasa en leche (síntesis *de novo* y absorción y transferencia de AG preformados) requieren la labor coordinada de un complejo enzimático implicado en el transporte de precursores de AG a la glándula mamaria, la síntesis *de novo*, la desaturación, esterificación y formación de triglicéridos, y finalmente la deposición de AG en leche (Jenkins & Harvatine, 2014), y es precisamente a través de la inhibición de este complejo enzimático que el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC causa la presencia de SDGL en vacas lactantes (Bauman et al., 2011). Al respecto, se ha demostrado que el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC reduce la expresión génica (mRNA) de enzimas lipogénicas, y de factores lipogénicos (Kadegowda et al., 2010). A pesar de que los mecanismos de acción del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC que reducen la grasa en leche no están claros aún (Vyas et al., 2013), la evidencia científica apunta a que este proceso está regulado por supresión de fragmentos nucleares en la proteína 1 unida al elemento de respuesta de los esteroides (FREP1) (Torral, Hervas, Carreño & Frutos, 2016). El FREP1 es un regulador global de la síntesis de grasa en leche (Bionaz, Osorio & Loo, 2015), implicado en la regulación de genes lipogénicos en el tejido epitelial mamario (Hussein, Harvatine & Weerasinghe, 2013), en particular, a los asociados con la síntesis *de novo* (Kadegowda, Burns, Miller & Duckett, 2013). Al respecto, el grado de supresión de FREP1 es directamente proporcional a la magnitud de la caída en grasa láctea provocada por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC (Bauman et al., 2011). Sin embargo, los cambios en la expresión del FREP1 no han podido explicar totalmente el mecanismo de acción para la presencia del síndrome de depresión de grasa láctea (Bionaz et al., 2015), sugiriendo que el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC afecta otros factores de transcripción que regulan la síntesis de grasa en leche (Harvatine, 2016). Al respecto, dietas que provocan SDGL e infusiones abomasales con el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC modifican la expresión de la hormona tiroidea conocido como S14 (Angulo et al., 2012), así como los receptores activados por proliferadores de peroxisomas (PPARs) (Anderson, Metkowski, Stack, Gopinath & Mariash, 2009). Sin embargo, el papel del PPARs durante el SDGL es debatible (Bernard, Leroux, & Chilliard, 2008). Debido a que el isómero *trans*-10, *cis*-12

the transcription factors affected by the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer and that explain the reduction of milk fat synthesis are SREBP1, S14 and PPARs. However, other unidentified routes are possible (Toral et al., 2016), and much of the research regarding the study of MFD is aimed at identifying such routes (Harvatine, 2016), so it would be interesting to explore them to obtain a better understanding of the occurrence of this syndrome.

Factors that affect the CLA concentration in bovine milk

Many factors affect the CLA concentration in bovine milk. Some of them are: breed, number of calvings, lactation stage, production system and season (Hanuš et al., 2016), although undoubtedly the most important is diet (Adler, Jensen, Govasmark & Steinshamn, 2013). The composition of the diet for lactating cows has around 90 % influence on the CLA concentration in milk (Shingfield, Bonnet & Scollan, 2013). In this regard, the dietary effects that cause change in the CLA concentration in milk can be classified into two categories according to the mechanism of action: (1) dietary factors that increase the precursors (linoleic and α -linolenic acid) of CLA at ruminal level. That is, to include in the diet ingredients high in these precursors, such as vegetable oils and fats or fresh pastures (Siurana & Calsamiglia, 2016); (2) dietary factors that affect ruminal bacteria responsible for synthesizing CLA. That is, diets low in fiber or high in concentrate (Jordana-Rivero & Anrique, 2016); in the same way, the combination of these factors causes changes in the CLA concentration in bovine milk. Siurana and Calsamiglia (2016) conducted a meta-analysis to identify which of eight feeding strategies most increased the CLA concentration in bovine milk, when compared to a control diet that consisted of a totally mixed ration typical for dairy cows, reporting that the three main strategies that increased CLA were: diet including fish oil plus vegetable fat; diet with sunflower oil; or the consumption of fresh pastures; the increases with respect to the control were 120, 78 and 50 %, respectively.

Energy demand of the lactating cow

The maintenance energy requirement of an animal is defined as the amount of metabolizable energy (ME) that balances heat production, without loss or gain in body energy reserves (Ferrell & Oltjen, 2008). A necessary condition for this definition is that the weight and body condition of the animal must be in balance (Mendoza-Martínez, Plata-Pérez, Espinosa-Cervantes & Lara-Bueno, 2008).

In general, there is a significant variation between the energy used by the cow and the partition of energy, which is given by the differences in the dietary

ALC redujo la grasa corporal en ratones sin actividad del PPARs (Yu, Correll & Heuvel, 2002). No obstante, los adipocitos dependiendo del tejido donde se encuentren responden de manera diferencial a las señales moleculares (Peters et al., 2001). Lo cual explicaría la variación en la respuesta del PPARs durante el SDGL. Hasta el momento la evidencia científica indica que los factores de transcripción afectados por el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC, y que explican la reducción de la síntesis de grasa en leche son FREP1, S14 y PPARs. No obstante, es posible existan otras rutas no identificadas (Toral et al., 2016), y gran parte de la investigación respecto al estudio del SDGL está orientada hacia la identificación de dichas rutas (Harvatine, 2016), por lo que sería interesante explorarlas, para un mayor entendimiento de la ocurrencia de dicho síndrome.

Factores que afectan la concentración de ALC en leche bovina

Muchos factores afectan la concentración de ALC en la leche bovina. Algunos de ellos son: la raza, número de partos, etapa de lactancia, sistema de producción y estación climática (Hanuš et al., 2016). Aunque sin duda, el más importante es la dieta (Adler, Jensen, Govasmark & Steinshamn, 2013). La composición de la dieta para vacas lactantes influye alrededor del 90 % en la concentración de ALC en leche (Shingfield, Bonnet & Scollan, 2013). Al respecto, los efectos dietéticos que ocasionan cambio en la concentración de ALC en leche, se pueden clasificar en dos categorías según el mecanismo de acción: (1) factores dietéticos que aumentan los precursores (ácido linoleico y α -linolenico) de ALC a nivel ruminal. Esto es, incluir en la dieta ingredientes altos en estos precursores como lo son: aceites y grasas vegetales o pastos frescos (Siurana & Calsamiglia, 2016); (2) factores dietéticos que afectan a las bacterias ruminales encargadas de sintetizar el ALC. Esto es, dietas bajas en fibra o altas en concentrado (Jordana-Rivero & Anrique, 2016); del mismo modo la combinación de estos factores provoca cambios en la concentración de ALC en la leche bovina. Siurana y Calsamiglia (2016), realizaron un metaanálisis para identificar de ocho estrategias nutricionales, cuál de ellas, incrementaba en mayor grado la concentración de ALC en leche bovina, al ser comparadas con una dieta testigo que consistió en una ración totalmente mezclada típica para vacas lecheras, reportando que las tres principales estrategias que incrementaron el ALC fueron: dieta con inclusión de aceite de pescado más grasa vegetal; dieta con aceite de girasol; o el consumo de pastos frescos, los incrementos con respecto al testigo fueron de 120, 78 y 50 %, respectivamente.

Demanda energética de la vaca lactante

El requerimiento de energía de mantenimiento de un animal se define como la cantidad de energía

energy loss (fecal, CH_4 and urine), heat production and energy retention (Ferrell & Oltjen, 2008). The heat of combustion of a food or gross energy (GE) is the energy released in the form of heat when an organic substance is completely oxidized to carbon dioxide and water. The difference between the food's GE and the feces excreted is the digestible energy (DE); once the DE is subtracted from that lost in the urine (urea, ammonia, uric acid and creatine, among others) and the gas belched as CH_4 , the result is ME. Finally, the net energy (NE) that represents the amount of real energy available to cover the requirements for maintenance and production (weight gain, milk production) is the result of ME minus the caloric increase of food. Based on this background, increasing the productivity of lactating cows requires reducing as much as possible the caloric increase by feeding or maximizing the use of NE for milk production. The latter can be achieved through the inclusion of the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer in the diet for cows (Bauman et al., 2011).

The energy requirements of lactating cows vary depending on the lactation stage, and they are higher at peak milk production, just after the onset of lactation (Hoffman, De Clue & Emmick, 2000). During peak milk production, the use of the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer could help to prolong its persistence, by reducing the NE requirements for milk production (Harvatine et al., 2009) and thereby increasing the production of milk by lactation.

Potential use of the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer in lactating cows

During early lactation in cows, the energy derived from DM consumption does not satisfy their energy requirements, since the net energy demand for milk production and maintenance exceeds ME (NRC, 2001). As a result, the mobilization of body reserves to maintain milk production begins in the cow (Figure 1), causing a negative GE (NRC, 2001).

One option to improve the GE in cows is to reduce the milk fat yield (Bauman et al., 2011), because fat synthesis in the mammary gland accounts for approximately 50 % of the net energy demand for milk production (Grinari & Bauman, 2006), and through this it is possible to improve the EB (Shingfield et al., 2010). Including the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer in the diet for lactating cows reduces the milk fat yield (Bauman et al., 2011); therefore, there is lower NE demand for milk production (Shingfield et al., 2010) and thus net energy available for other metabolic processes such as; milk production, protein or lactose concentration, EB improvement or a decrease in the DM consumption of the cow (Bauman et al., 2011). Based on the above, it is possible to use the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer as a tool for the nutritional management of lactating cows,

metabolizable (EM) que equilibra la producción de calor, sin pérdidas o ganancia en las reservas de energía corporal (Ferrell & Oltjen, 2008). Una condición necesaria para esta definición es que el peso y condición corporal del animal deben estar en equilibrio (Mendoza-Martínez, Plata-Pérez, Espinosa-Cervantes & Lara-Bueno, 2008).

En general, existe una variación importante entre la energía utilizada por la vaca y la partición de la energía, misma que está dada por las diferencias en la pérdida de energía de la dieta (fecal, CH_4 y orina), producción de calor y la retención de energía (Ferrell & Oltjen, 2008). El calor de combustión de un alimento o energía bruta (EB) es la energía liberada en forma de calor cuando una sustancia orgánica es oxidada completamente a dióxido de carbono y agua. La diferencia entre la EB del alimento y las heces excretadas es la energía digestible (ED), una vez que a la ED se le resta la que se pierde en la orina (urea, amoníaco, ácido úrico, creatina, entre otros) y el gas eructado como CH_4 , el resultado es la EM. Finalmente, la energía neta (EN) que representa la cantidad de energía verdadera disponible para cubrir los requerimientos para el mantenimiento y la producción (ganancia de peso, producción de leche), es el resultado de la EM menos el incremento calórico de alimentación. Con base en este antecedente, para incrementar la productividad de las vacas lactantes es necesario reducir al máximo posible, el incremento calórico por alimentación o maximizar la utilización de la EN para la producción de leche (EN_l). Lo segundo se puede lograr a través de la inclusión del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC en la dieta para vacas (Bauman et al., 2011).

Los requerimientos energéticos de las vacas lactantes varían dependiendo de la etapa lactancia, son mayores en el pico de producción de leche, justo después del inicio de la lactancia (Hoffman, De Clue & Emmick, 2000). Durante el pico de producción de leche, el uso del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC pudiera ayudar a prolongar su persistencia, al reducir los requerimientos en EN_l (Harvatine et al., 2009), y con ello a incrementar la producción de leche por lactancia.

Uso potencial del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC en vacas lactantes

Durante el inicio de la lactancia en vacas, la energía derivada del consumo de MS no satisface los requerimientos energéticos, ya que la demanda de EN_l y mantenimiento (EN_m) exceden la EM (NRC, 2001). En consecuencia, en la vaca se inicia la movilización de reservas corporales para mantener la producción de leche (Figura 1), provocando BE negativo (NRC, 2001).

Una opción para mejorar el BE en la vaca, es reducir la concentración de grasa en leche (Bauman et al.,

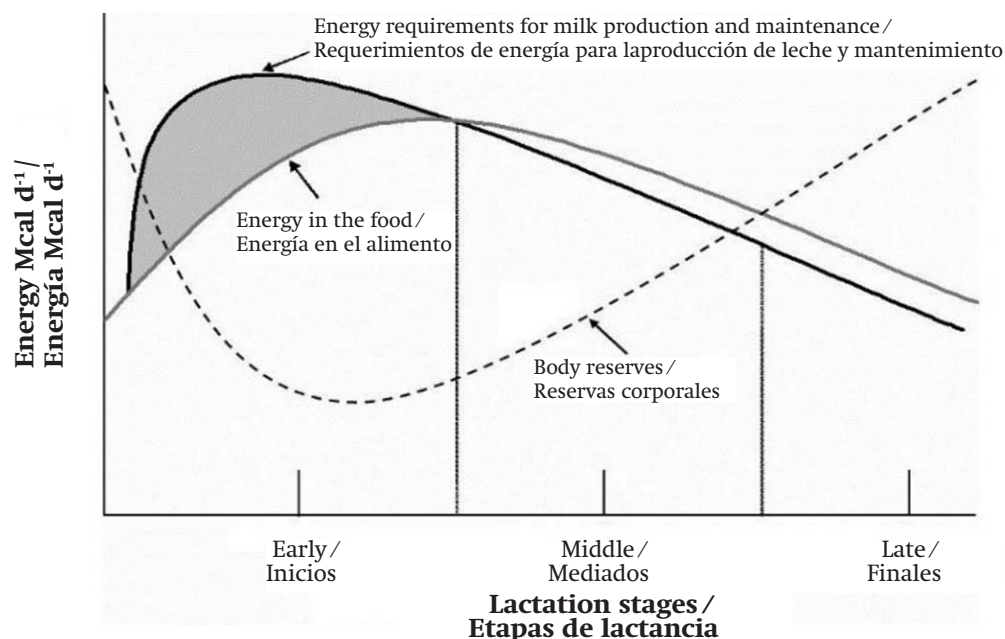


Figure 1. Relationship between the energy requirements for maintenance and milk production, energy in the food and body energy reserves during the lactation stages. Source: Modified from Hoffman et al. (2000).

Figura 1. Relación entre los requerimientos de energía de mantenimiento y para la producción de leche, la energía en el alimento y las reservas de energía corporal durante las etapas de la lactancia. Fuente: Modificado de Hoffman et al. (2000).

particularly at times when food intake does not cover the required energy demand, such as at early lactation, in heat stress conditions or during periods when food availability is lower (Harvatine et al., 2009).

Effect of CLA on milk production

The reduction in milk fat yield due to the *trans*-10 *cis*-12 CLA isomer causes energy partitioning (Schäfers et al., 2017), which can sometimes cause increases in milk production (López-Ordaz et al., 2013) and protein concentration (Medeiros et al., 2010). In this regard, Odens, Burgos, Innocenti, Van Baale & Baumgard (2007) supplemented the diet for cows that were at early or middle lactation with 10 g·d⁻¹ of the *trans*-10 *cis*-12 CLA isomer and reported that, in both treatments, milk production increased, being higher in cows at early lactation (Figure 2). In the same way, Castañeda-Gutiérrez et al. (2007), by including the same isomer in the diet for lactating cows, observed an increase in milk production, which was related to the decrease in fat yield. In addition, they reported that, by withdrawing the supply of this isomer, the milk fat yield was recovered (Figure 3). Consequently, an increase in milk production due to the *trans*-10 *cis*-12 CLA isomer would have positive effects on the profitability of dairy farms.

Effect of CLA on the reproduction of lactating cows

The use of the *trans*-10 *cis*-12 CLA isomer in the diet for lactating cows has been shown to improve the EB

2011), debido a que la síntesis de grasa en glándula mamaria representa aproximadamente 50 % de la demanda de EN_L (Griinari & Bauman, 2006), y a través de ello es posible mejorar el BE (Shingfield et al., 2010). El incluir el isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC en dieta para vacas lactantes reduce la concentración de grasa en leche (Bauman et al., 2011), por tanto, existe una menor demanda de EN_L (Shingfield et al., 2010), con lo cual, existe disponibilidad de energía neta para otros procesos metabólicos como; producción de leche, concentración de proteína o lactosa, mejora del BE o disminución del consumo de MS de la vaca (Bauman et al., 2011). Con base en lo anterior, es posible utilizar al isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC como una herramienta para el manejo nutricional de vacas lactantes. En particular, en momentos donde la ingesta de alimentos no cubre la demanda de energía requerida, como a inicios de la lactancia, condiciones de estrés por calor o durante periodos cuando la disponibilidad de alimentos es menor (Harvatine et al., 2009).

Efecto del ALC en la producción de leche

La reducción de la concentración de grasa en leche por efecto del isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC ocasiona partición de la energía (Schäfers et al., 2017), la cual en ocasiones puede provocar incrementos en la producción de leche (López-Ordaz et al., 2013) y concentración de proteína (Medeiros et al., 2010). Al respecto, Odens, Burgos, Innocenti, Van Baale & Baumgard, (2007), complementaron con 10 g·d⁻¹ del isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC la dieta para vacas que se encontraban a inicios

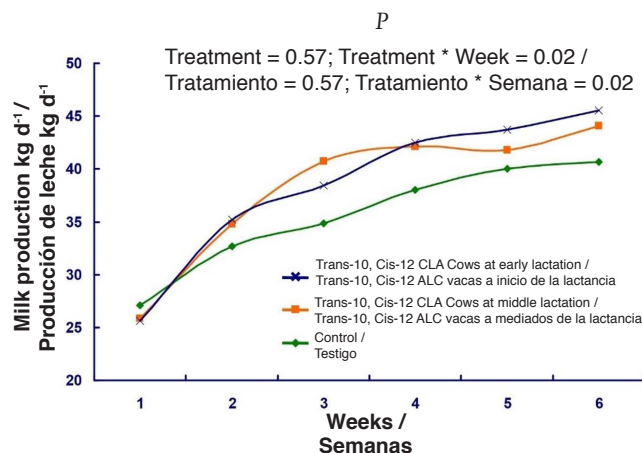


Figure 2. Effect of *trans*-10 *cis*-12 CLA isomer on milk production of cows at early or middle lactation. Source: Modified from Odens et al. (2007).

Figura 2. Efecto del isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC en la producción de leche de vacas a inicios o mediados de la lactancia. Fuente: Modificado de Odens et al. (2007).

at the beginning of lactation (Granados-Rivera et al., 2017), which benefits reproductive efficiency (De Veth et al., 2009), because this isomer reduces the net energy requirements for milk production, which favors reproductive processes such as production of prostaglandins and ovarian steroidogenesis (Castañeda-Gutiérrez et al. 2007). In this regard, De Veth et al. (2009), through a logistic regression analysis, established the quadratic relationship between the *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer dose and the probability of the cows becoming pregnant, with data from 212 cows collected in five investigations. These authors reported that the use of this isomer increases the probability of

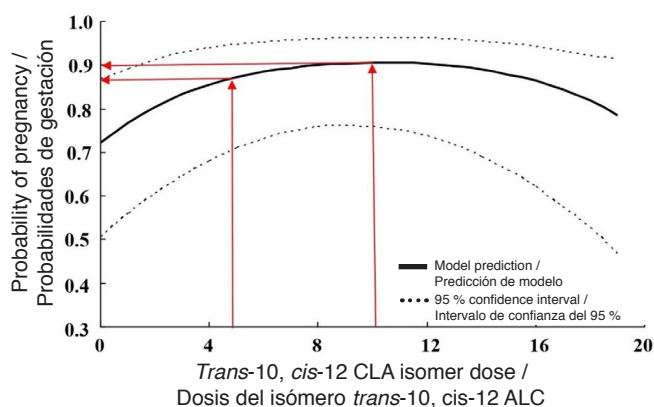


Figure 4. Relationship between *trans*-10, *cis*-12 CLA isomer and the probably of the cows becoming pregnant. Source: De Veth et al. (2009).

Figura 4. Relación entre la dosis del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC y la probabilidad de que las vacas queden gestantes. Fuente: De Veth et al. (2009).

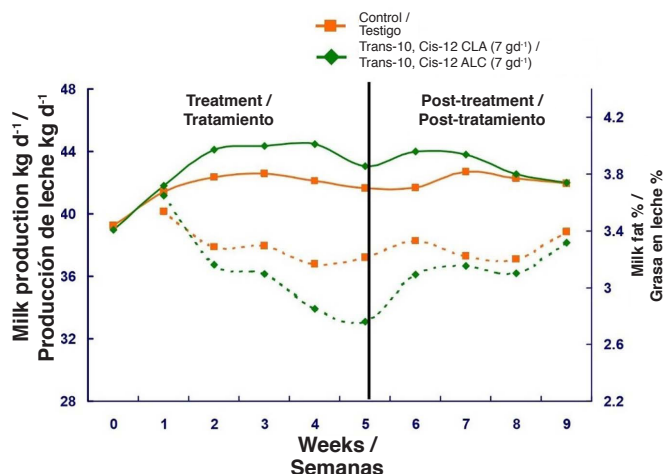


Figure 3. Effect of *trans*-10 *cis*-12 CLA on milk production and milk fat yield during and after treatment. Source: Modified from Castañeda-Gutiérrez et al. (2007).

Figura 3. Efecto del isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC en la producción de leche y concentración de grasa en leche durante y después del tratamiento. Fuente: Modificado de Castañeda-Gutiérrez et al. (2007).

o mediados de la lactancia, y reportaron que, en ambos tratamientos, aumentó la producción de leche, mismo que fue mayor en vacas a inicios de la lactancia (Figura 2). De igual forma Castañeda-Gutiérrez et al. (2007) al incluir en la dieta para vacas lactantes el mismo isómero, observaron un aumento en la producción de leche, lo que estaba relacionado con la disminución en la concentración de grasa. Además, reportaron que, al retirar el suministro de dicho isómero, se recuperó la concentración de grasa en leche (Figura 3). En consecuencia, un aumento en la producción de leche por efecto del isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC tendría efectos positivos en la rentabilidad de las granjas lecheras.

Efecto del ALC en la reproducción de vacas lactantes

El uso del isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC en la dieta para vacas lactantes, ha mostrado mejorar el BE a inicios de la lactancia (Granados-Rivera et al., 2017), lo cual beneficia la eficiencia reproductiva (De Veth et al., 2009), debido a que este isómero reduce los requerimientos en EN_L , lo que favorece procesos reproductivos tales como producción de prostaglandinas y esteroidogénesis ovárica (Castañeda-Gutiérrez et al. 2007). Al respecto, De Veth et al. (2009), mediante un análisis de regresión logística estableció la relación cuadrática entre la dosis del isómero *trans*-10, *cis*-12 ALC y la probabilidad de que las vacas quedaran gestantes, con datos de 212 vacas colectados en cinco investigaciones. Dichos autores reportaron que el uso de este isómero aumenta en 28 % la probabilidad de que la vaca quede gestante, y que

the cow becoming pregnant by 28 %, and that at a dose of 10 g·d⁻¹ of the isomer the probability of pregnancy was the highest (Figure 4).

Conclusions

The *trans*-10 *cis*-12 CLA isomer reduces milk fat yield, so the energy not used for milk fat synthesis can be used to increase the production or concentration of milk protein and improve reproductive aspects, such as an increase in the conception rate of the cows. Therefore, the *trans*-10 *cis*-12 CLA isomer has the potential to be used as a coadjuvant in improving the lactating cow's energy metabolism, especially at times when the nutrient intake is insufficient to meet the cow's energy requirements.

Acknowledgments

This work is part of the results of the research project entitled "Factors affecting the sanitary and physicochemical quality of cow's milk in Chontalpa, Tabasco", funded with Fiscal Resources from the National Institute of Forestry, Agriculture and Livestock Research (INIFAP for its initials in Spanish).

a una dosis de 10 g·d⁻¹ del isómero, la probabilidad de gestación era máxima (Figura 4).

Conclusiones

El isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC reduce la concentración de grasa en leche, por lo tanto, la energía no utilizada para la síntesis de grasa láctea puede ser utilizada para incrementar la producción o la concentración de proteína en leche, mejorar aspectos reproductivos, como incremento de la tasa de concepción de las vacas. Por tanto, el isómero *trans*-10 *cis*-12 ALC tiene potencial para ser usado como un coadyuvante en la mejora del metabolismo energético de la vaca lactante, sobre todo en momentos cuando la ingesta de nutrientes es insuficiente para cubrir los requerimientos de energía de la vaca.

Agradecimientos

Este trabajo es parte de los resultados del proyecto de investigación: "Factores que afectan la calidad sanitaria y fisicoquímica de la leche de vaca en la Chontalpa, Tabasco", financiado con Recursos Fiscales del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias.

End of English version

Fin de la versión en español

References / Referencias

- Adler, S. A., Jensen, S. K., Govasmark, E., & Steinshamn, H. (2013). Effect of short-term versus long-term grassland management and seasonal variation in organic and conventional dairy farming on the composition of bulk tank milk. *Journal of Dairy Science*, 96, 5793–5810.
- Anderson, G. W., Zhu, Q., Metkowski, J., Stack, M. J., Gopinath, S., & Mariash, C. N. (2009). The Thrsp null mouse and diet-induced obesity. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 302:99–107.
- Angulo, J., Mahecha, L., Nuernberg, K., Nuernberg, G., Dannenberger, D., Olivera, M., Boutinaud, M., Leroux, C., Albrecht, E., & Bernard L. (2012). Effects of polyunsaturated fatty acids from plant oils and algae on milk fat yield and composition are mediated by mammary lipogenic and SREBF1 gene expression. *Animal*, 6:1961-72.
- Bauman, D. E., & Griinari, J. M. (2003). Nutritional regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 23, 203–27.
- Bauman, D. E., Harvatine, K. J., & Lock, A. L. (2011). Nutrigenomics, rumen-derived bioactive fatty acids, and the regulation of milk fat synthesis. *Annual Review of Nutrition*, 31, 299-319.
- Baumgard, L. H., Corl, B. A., Dwyer, D. A., Saebo, A., & Bauman, D. E. (2000). Identification of the conjugated linoleic acid isomer that inhibits milk fat synthesis. *Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 278, 179–84.
- Bernard, L., Leroux, C., & Chilliard Y. (2008). Expression and nutritional regulation of lipogenic genes in the ruminant lactating mammary gland. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 606, 67–108.
- Bionaz, M., Osorio, J., & Loo, J. J. (2015). Nutrigenomics in dairy cows: Nutrients, transcription factors, and techniques. *Journal of Animal Science*, 93:5531–5553.
- Castañeda-Gutiérrez, E., Benefield, B. C., De Veth, M. J., Santos, N. R., Gilbert, R. O., Butler, W. R., & Bauman, D. E. (2007). Evaluation of the mechanism of action of conjugated linoleic acid isomers on reproduction in dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 90, 4253-4264.
- De Veth, M., Bauman, D., Koch, W., Mann, G., Pfeiffer, A., & Butler, W. (2009). Efficacy of conjugated linoleic acid for improving reproduction: A multi-study analysis in early-lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 92, 2662–2669.
- Ferrell, C. L., & Oltjen, J. W. (2008). Net energy systems for beef cattle- Concepts, application, and future models. *Journal of Animal Science*, 86, 2779.
- Granados-Rivera L. D., Hernández-Mendo, O., González-Muñoz, S. S., Burgueño-Ferreira, J. A., Mendoza-

- Martínez G. D., & Arriaga-Jordán, C. M. (2017). Effect of palmitic acid on the mitigation of milk fat depression syndrome caused by *trans*-10, *cis*-12-conjugated linoleic acid in grazing dairy cows. *Archives of Animal Nutrition*, 71, 1-13.
- Griinari, J. M., & Bauman, D. E. (2006). Regulation of milk fat production. Pages 483–411 in *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism and Impact of Nutrition on Gene Expression, Immunology and Stress*. Sejrsen, K., Hvelplund, T. and Nielson, M. O. Wageningen Academic Publishers. Wageningen, The Netherlands.
- Hanuš, O., Krížová, L., Samková, E., Špícka, J., Kucera, J., Klimešová, M., Roubal, P., & Jedelská R. (2016). The effect of cattle breed, season and type of diet on the fatty acid profile of raw milk. *Archives Animal Breeding*, 59: 373–380.
- Harvatine, K. J. (2016). Managing Milk Fat Depression. Florida Ruminant Nutrition Symposium 27 th Annual Meeting. Gainesville, Florida; 2016.
- Harvatine, K. J., Boisclair, Y. R., & Bauman, D.E. (2009). Recent advances in the regulation of milk fat synthesis. *Animal*, 3, 40–54.
- Hoffman, K., De Clue, R., & Emmick, D. (2000). Prescribed Grazing and Feeding Management of Lactating Dairy Cows. NYS Grazing Lands Conservation Initiative/USDA-NRCS. <http://grazingguide.net/documents/cow-feeding-mgt.pdf>. Consultado el 12 de septiembre de 2017.
- Hussein, M., Harvatine, K. J., Weerasinghe, W. M., Sinclair, L. A., & Bauman D. E. (2013). Conjugated linoleic acid-induced milk fat depression in lactating ewes is accompanied by reduced expression of mammary genes involved in lipid synthesis. *Journal of Dairy Science*, 96 3825–3834.
- Jenkins, T.C., & Harvatine, K. J. (2014). Lipids feeding and milk fat depression. *Veterinary Clinics of North America: Food Animal*, 78:623-642.
- Jordana-Rivero, M., & Anrique R. (2016). Milk fat depression syndrome and the particular case of grazing cows: A review. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A - Animal Sciences*, 1-13.
- Kadegowda, A. K., Burns, T. A., Miller, M. C., & Duckett S. K. (2013). *Cis*-9, *trans*-11 conjugated linoleic acids is endogenously synthesized from palmitelaidic (C16:1 *trans*-9) acid in bovine adipocytes. *Journal of Animal Science*, 91: 1614-1623.
- Kadegowda, A. K., Connor, E. E., Teter, B. B., Sampugna, J., Delmonte, P., Piperova, L. S., & Erdman R. A. (2010). Dietary *trans* fatty acid isomers differ in their effects on mammary lipid metabolism as well as lipogenic gene expression in lactating mice. *Journal of Nutrition*, 140, 919–924.
- Kim, E. J., Huws, S. A., Lee, M. R. F., Wood, J. D., Muetzel, S. M., Wallace, R. J., & Scollan, N. D. (2008). Fish oil increases the duodenal flow of long chain polyunsaturated fatty acids and *trans*-11 18: 1 and decreases 18:0 in steers via changes in the rumen bacterial community. *Journal of Nutrition*, 138, 889–896.
- López-Ordaz, R., García-Muñoz, J. G., Islas-Espejel, A., Ramírez-Valverde, R., Ruíz-Flores, A., Ponce-Candelario, I., & López-Ordaz, R. (2013). Los isómeros *cis*-9, *trans*-11 y *trans*-10, *cis*-12 de ácido linoleico conjugado y su relación con producción de leche de vacas Holstein-Friesian. Revisión. *Revista Mexicana de Ciencias Pecuarias* 4:339-360.
- Medeiros, S. R., Oliveira, D. E., Aroeira, J. M., McGuire, M. A., Bauman, D. E., & Lanna, D. P. D. (2010). Effects of dietary supplementation of rumen-protected conjugated linoleic acid to grazing cows in early lactation. *Journal of Dairy Science*, 93, 1126–1137.
- Mendoza-Martínez G.D., Plata-Pérez, F.X., Espinosa-Cervantes, R., & Lara-Bueno, A. (2008). Manejo nutricional para mejorar la eficiencia de utilización de la energía en bovinos. *Universidad y Ciencia*, 24, 75-87.
- National Research Council [NRC] (2001). Nutrient Requirements of Dairy cattle. National Research Council. National Academy Press. Washington, DC.
- Odens, L. J., Burgos, R., Innocenti, M., Van Baale, M. J., & Baumgard, L. H. (2007). Effects of varying doses of supplemental conjugated linoleic acid on production and energetic variables during the transition period. *Journal of Dairy Science*, 90, 293–305.
- Pappritz, J., Meyer, U., Kramer, R., Weber, E. M., Jahreis, G., Rehage, J., Flachowsky, G., & Danicke, S. (2011). Effects of long-term supplementation of dairy cow diets with rumen-protected conjugated linoleic acids (CLA) on performance, metabolic parameters and fatty acid profile in milk fat. *Archives of Animal Nutrition*, 65, 89–107.
- Peters, J. M., Park, Y., González, F. J., & Pariza, M. W. (2001). Influence of conjugated linoleic acid on body composition and target gene expression in peroxisome proliferator-activated receptor α -null mice. *Biochim Biophys Acta*, 233–242.
- Schäfers, S., von Soosten, D., Meyer, U., Drong, C., Frahm, J., Kluess, J., Raschka, C., Rehage, J., Tröschler, A., Pelletier, W., & Dänicke S. (2017). Influence of conjugated linoleic acid and vitamin E on performance, energy metabolism, and change of fat depot mass in transitional dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 100:3193–3208.
- Shingfield, K. J., & Wallace R. J. (2014). Synthesis of conjugated linoleic acid in ruminants and humans. Chapter 1. RSC Catalysis Series No. 19. Conjugated Linoleic Acids and Conjugated Vegetable Oils. Edited by Bert Sels and An Philippaerts. Published by the Royal Society of Chemistry.
- Shingfield, K. J., Bernard, L., Leroux, C., & Chilliard, Y. (2010). Role of *trans* fatty acids in the nutritional regulation of mammary lipogenesis in ruminants. *Animal*, 4, 1140–1166.
- Shingfield, K. J., Bonnet, M., & Scollan, N. D. (2013). Recent developments in altering the fatty acid composition of ruminant derived foods. *Animal*, 7, 132–162, 2013.
- Siurana, A., & Calsamiglias. (2016). A metaanalysis of feeding strategies to increase the content of conjugated

- linoleic acid (CLA) in dairy cattle milk and the impact on daily human consumption. *Animal Feed Science and Technology*, 217, 13–26, 2016.
- Toral, P. G., Hervás, G., Carreño, D., & Frutos, P. (2016). Does supplemental 18:0 alleviate fish oil-induced milk fat depression in dairy ewes? *Journal of Dairy Science*, 99: 1133–1144.
- Von Soosten, D., Meyer, U., Piechotta, M., Flachowsky, G., & Dänicke, S. (2012). Effect of conjugated linoleic acid supplementation on body composition, body fat mobilization, protein accretion, and energy utilization in early lactation dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 95, 1222–1239.
- Vyas, D., Moallem, U., Teter, B. B., Fardin-Kia, A. R., & Erdman R. A. (2013). Milk fat responses to butterfat infusion during conjugated linoleic acid-induced milk fat depression in lactating dairy cows. *Journal of Dairy Science*, 96: 2387–2399.
- Yu, Y., Correll, P. H., & Heuvel, J. P. (2002). Conjugated linoleic Decreases production of pro-inflammatory products in macrophages: evidence for a PPAR α -dependent mechanism. *Biochim Biophys Acta*, 158:88-99.