

La deformación del borde dorsal del cuello en el caballo de pura raza española. Una revisión genética

Morales, A.^{1,2*}, Mendez, J.L.³, Méndez, A.¹ y Pérez, J.¹

¹ Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas. Campus de Rabanales. Universidad de Córdoba, España.

² ALSHULA Veterinary Pharmacy and Technical Support. Doha Qatar.

³ Hospital Equino de Aznalcóllar, Sevilla, España.

PALABRAS CLAVE

Cuello.
Cresta.
Genética.
PRE.

RESUMEN

El objetivo de este estudio fue la revisión genética sistemática de la literatura de la deformación del borde dorsal del cuello en caballos de Pura Raza Española. Se realizó una exhaustiva revisión de la literatura usando bases de datos PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), Publons (<https://publons.com/>), SciELO: Scientific Electronic Library Online (<https://scielo.org/>) y Google Scholar (<https://scholar.google.com/>). La búsqueda se realizó el 21 de octubre de 2020. Los resultados de la revisión genética sistemática de la literatura acerca de la deformación del borde dorsal del cuello en caballos de Pura Raza Española identificó 633 artículos potenciales en las bases de datos mencionadas anteriormente, de estos un total de 49 artículos discuten 8 defectos potencialmente genéticos en el caballo Pura Raza Española y un total de 15 artículos relacionados específicamente con la deformación del borde dorsal del cuello en caballos de Pura Raza Española, pocos trastornos se vincularon específicamente con la conformación o el fenotipo. Las bases genéticas del metabolismo de las grasas están asociadas a la deformación del borde dorsal del cuello (Cresty Neck), en el caballo de Pura Raza Español en donde la obesidad y el síndrome metabólico equino es un rasgo poligénico con alelos de riesgo específicos de la raza. Reportes en la literatura señalan una alta incidencia, con una heredabilidad moderada. Estudios morfológicos y patológicos describen este defecto como una condición patológica dado el grado de infiltración de grasa asociada a lipomatosis en los músculos de la región dorsal del cuello.

Cresty Neck in the Spanish Pure Breed Horse a Genetic Review

SUMMARY

The aim of this study was to systematic genetic review of the literature on the cresty neck in Spanish Purebred horses. An exhaustive literature review was carried out using databases PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/>), Publons (<https://publons.com/>), SciELO: Scientific Electronic Library Online (<https://scielo.org/>) and Google Scholar (<https://scholar.google.com/>). The search was carried out on October 21, 2020. The results of the systematic genetic review of the literature on cresty neck in Spanish Purebred horses identified 633 potential articles in the aforementioned databases, of these a total of 49 articles discuss 8 potentially genetic defects in the Spanish Purebred horse and a total of 15 articles specifically related to cresty neck in Spanish Purebred horses, few disorders were specifically linked to conformation or phenotype. The genetic bases of fat metabolism are associated with cresty neck, in Spanish Purebred horses where obesity and equine metabolic syndrome is a polygenic trait with specific risk alleles of the race. Reports in the literature indicate a high incidence, with a moderate heritability. Morphological and pathological studies describe this defect as a pathological condition given the degree of fat infiltration associated with lipomatosis in the muscles of the dorsal region of the neck.

ADDITIONAL KEYWORDS

Neck.
Cresty.
Genetic.
SPBH.

INFORMATION

Cronología del artículo.

Recibido/Received: 23.10.2020

Aceptado/Accepted: 10.04.2023

On-line: 15.04.2023

Correspondencia a los autores/Contact e-mail:

aamorales13@gmail.com

INTRODUCCIÓN

La información genética de un individuo ha sido descrita como su “libro de la vida”, que contiene todas las instrucciones necesarias para producir un animal tan complicado como un caballo a partir de la fusión inicial de un espermatozoide y un óvulo (Binns, 2006). La variabilidad genética es la base de todo el proceso de evolución y selección y la estimación de esta varia-

bilidad ha cambiado con el tiempo de acuerdo con el progreso de la tecnología (Guerin, 2006). Más tarde, la genética cuantitativa, con enfoques estadísticos sofisticados basados en el rendimiento, los valores de cría pronosticados y los índices publicados ahora utilizados por los criadores para el apareamiento y comercialización de caballos (Guerin, 2006). El reciente desarrollo de mapas del genoma equino por parte de la comunidad del genoma equino y la secuenciación completa del

genoma del caballo realizada en el Broad Institute han acelerado el ritmo del descubrimiento genético (Finno, *et al.*, 2009). La declaración AAEP (Asociación Americana de Practicantes en Equinos) para los defectos genéticos de 2009 define claramente los siguientes términos: Defectos congénitos: los defectos congénitos incluyen todos los rasgos indeseables y afecciones patológicas presentes al nacer, ya sean genéticos o debidos a eventos intrauterinos que resultan de influencias extrauterinas. Los defectos congénitos no necesariamente indican herencia; simplemente indican que el defecto estaba presente al nacer. Tendencias heredadas: existen características en los caballos que están influenciadas por una amplia variedad de genes, cuyo patrón de herencia es complejo y cuya expresión tiene fuertes influencias ambientales. Los caballos han sido criados selectivamente durante siglos para promover o desalentar estas características. La selección a favor o en contra de estas tendencias heredadas es la base de nuestros registros de razas actuales. El tamaño, la potencia, el color, la velocidad, la conformación y muchas otras características que están genéticamente influenciadas se seleccionan a favor o en contra de ciertos registros de raza. Las variaciones del ideal pueden ser indeseables, pero no se consideran defectos genéticos. Defectos genéticos: los defectos genéticos son condiciones patológicas de origen genético comprobado. Estos pueden ser el resultado de una mutación en un gen de mayor efecto o mutaciones en múltiples genes (poligénicos) cuyos efectos se combinan para producir un resultado perjudicial o indeseable. El grado en que se expresan algunos rasgos en los caballos que llevan mutaciones particulares puede verse influenciado por factores ambientales. Esto se llama penetrancia incompleta. Rasgos indeseables: un rasgo indeseable, según lo designado por ciertos registros de razas, es una condición o comportamiento que puede o no estar presente al nacer, puede desarrollarse con el tiempo, puede o no ser un defecto genético, pero impide el registro de ese animal. Las deformaciones del cuello han ido descritas inicialmente como defectos en la cual se han empleado nombres coloquiales. Se distingue el cuello recto o piramidal, las deformaciones del borde superior (Cresty Neck), que se puede observar suavemente arqueado (cuello de gato o de pichón), así como el defecto de ser muy grueso el borde superior del cuello por abundante depósito de grasa provisto de una crinera abundante, y por efecto de la debilidad de la región se muestra algo caído en alguno de sus lados (gato o gatillo vencido hacia la derecha o hacia la izquierda), los cambios en la convexidad del borde superior del cuello y que se acentúa en su punto de unión con la cabeza (cuello de cisne), cuando su borde superior es ligeramente cóncavo y el inferior convexo (cuello al revés o de ciervo) (Morales-Briceño, *et al.*, 2014). El cuello de oveja (Ewe Neck) es un defecto morfológico relativamente común en los caballos Pura Raza Español (PRE) y otras razas de caballos de tipo barroco, lo que afecta negativamente a la industria de la cría, en esta población de PRE se afectó un total de 27,12% (Ripolles, *et al.*, 2020). El Reglamento de Concursos Morfológicos-Funcionales de Caballos y Yeguas de Pura Raza Española Año 2013 (Asociación Nacional de Criadores de Caballo de Pura Raza Española), actualizado en 2016. Se describe a

continuación: Características generales: I.- Eurimétrico mesolineo y de perfil convexo a recto, de conformación proporcionada, notable armonía y de gran belleza con apreciable dimorfismo sexual. El cuello: debe ser de tamaño y longitud medios, ligeramente arqueado y musculado (manos, en las yeguas). Bien insertado en la cabeza y tronco. Crin abundante y sedosa (Asociación Nacional de Criadores de Caballo de Pura Raza Española) (Morales, *et al.*, 2020). Recientes estudios genéticos describen la cresta del cuello como un defecto en caballos de Pura Raza Española, que afecta a un 8.89% de la población en todo el mundo, con una heredabilidad moderada (Sánchez, *et al.*, 2016), así como estudios morfológicos y patológicos describen este defecto como una condición patológica dado el grado de infiltración de grasa asociada a lipomatosis en los músculos de la región dorsal del cuello, Morales-Briceño, *et al.*, 2015, Morales-Briceño, *et al.*, 2017, Morales-Briceño, *et al.*, 2018). En caso de la presencia de la deformación del borde dorsal del cuello estos caballos deben ser inhabilitados y descalificados del libro genealógico de la raza, así como en la mayoría de los casos estos caballos son enviados a mataderos, por lo tanto el costo de la inversión del ganadero, productor y propietario se pierde prácticamente en su totalidad (Morales, *et al.*, 2020), esta condición del borde dorsal del cuello genera grandes pérdidas económicas para la industria de caballos de Pura Raza Española en España. El objetivo de este estudio fue la revisión genética sistemática de la literatura de la deformación del borde dorsal del cuello en caballos de Pura Raza Española.

MATERIAL Y MÉTODOS

REVISIÓN DE LA LITERATURA:

Se realizó una exhaustiva revisión de la literatura usando bases de datos PubMed (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>), Publons (<https://publons.com/>), SciELO: Scientific Electronic Library Online (<https://scielo.org/>) y Google Scholar (<https://scholar.google.com/>). La búsqueda se realizó el 21 de Octubre de 2020. Los criterios de inclusión se presentan en la (Tabla I), seguidos durante todo el proceso de selección fueron los siguientes: 1) Artículos que describen: genética caballos y genómica caballos 2) Los artículos se centran en defectos congénitos y tendencias heredadas en caballos 3) Artículos primarios no clínicos de ciencias básicas centrados en rasgos indeseables de caballos. Se incluyeron artículos publicados en inglés, alemán, portugués y español. Si el mismo autor publicaba múltiples estudios que describían resultados similares, se aceptaba para su inclusión.

ABSTRACCIÓN DE DATOS

Los artículos de inclusión fueron evaluados y categorizados en función de los resultados y mecanismo de acción genómica descrito en ellos. Los artículos individuales se incluyeron en múltiples categorías si analizaban más de un mecanismo de acción genómica equina dentro del diseño de su estudio. Los defectos genéticos en los informes de casos de caballos y las categorías de investigación utilizadas en el proceso de extracción de datos se presentan a continuación en los resultados.

Tabla I. Estrategia de revisión (Pubmed, Publons, SciELO and Google Scholar) R(Review strategy) (Pubmed, Publons, SciELO and Google Scholar).

Pubmed-1894500	Publons-71618900	SciELO-52	Google Scholar-130670000
1. Genetic horse (11769)	1. Genetic horse (216757)	1. Genetic horse (49)	1. Genetic horse (967000)
2. Genomic horse(4261)	2. Genomic horse (51605)	2. Genomic horse(3)	2. Genomic horse(148000)
3. Congenital defects horses (2464)	3. Congenital defects horses (121858)	3. Congenital defects horses (0)	3. Congenital defects horses (27000)
4. Inherited tendencies horses (4)	4. Inherited tendencies horses (14443)	4. Inherited tendencies horses (0)	4. Inherited tendencies horses (84900)
5. Genetic defects horses (443)	5. Genetic defects horses (271452)	5. Genetic defects horses (0)	5. Genetic defects horses (47400)
6. Undesirable traits horses (4)	6. Undesirable traits horses (40074)	6. Undesirable traits horses (0)	6. Undesirable traits horses (32400)

ANÁLISIS DE LOS DATOS

Los hallazgos y conclusiones clave de cada artículo incluido se obtuvieron y analizaron en conjunto con estudios de la misma categoría asignada. Los resultados presentados se han derivado de la interpretación de defectos genéticos comunes y consistentes en las presentaciones de caballos dentro de cada categoría mencionada anteriormente.

RESULTADOS

La búsqueda bibliográfica identificó 633 artículos potenciales, de estos, 49 artículos cumplieron con los criterios de inclusión y por ultimo fueron considerados

15 artículos relacionados específicamente con la deformación del borde dorsal del cuello en caballos de Pura Raza Española (**Figura 1**). Los resultados de la revisión genética sistemática de la literatura acerca de la deformación del borde dorsal del cuello en caballos de Pura Raza Española, fueron un total de 15 artículos (CN o cresty neck o también llamado coloquialmente “cuello de gato”), 3 artículos relacionados con la enfermedad poligenica compleja (PCD) que se puede presentar en esta raza y por ultimo 31 artículos relacionados con enfermedades genéticas, estudios, reporte de casos, relacionados con el caballo Pura Raza Español. Las conclusiones y hallazgos clave de cada artículo se identificaron dentro de las enfermedades genómicas o de

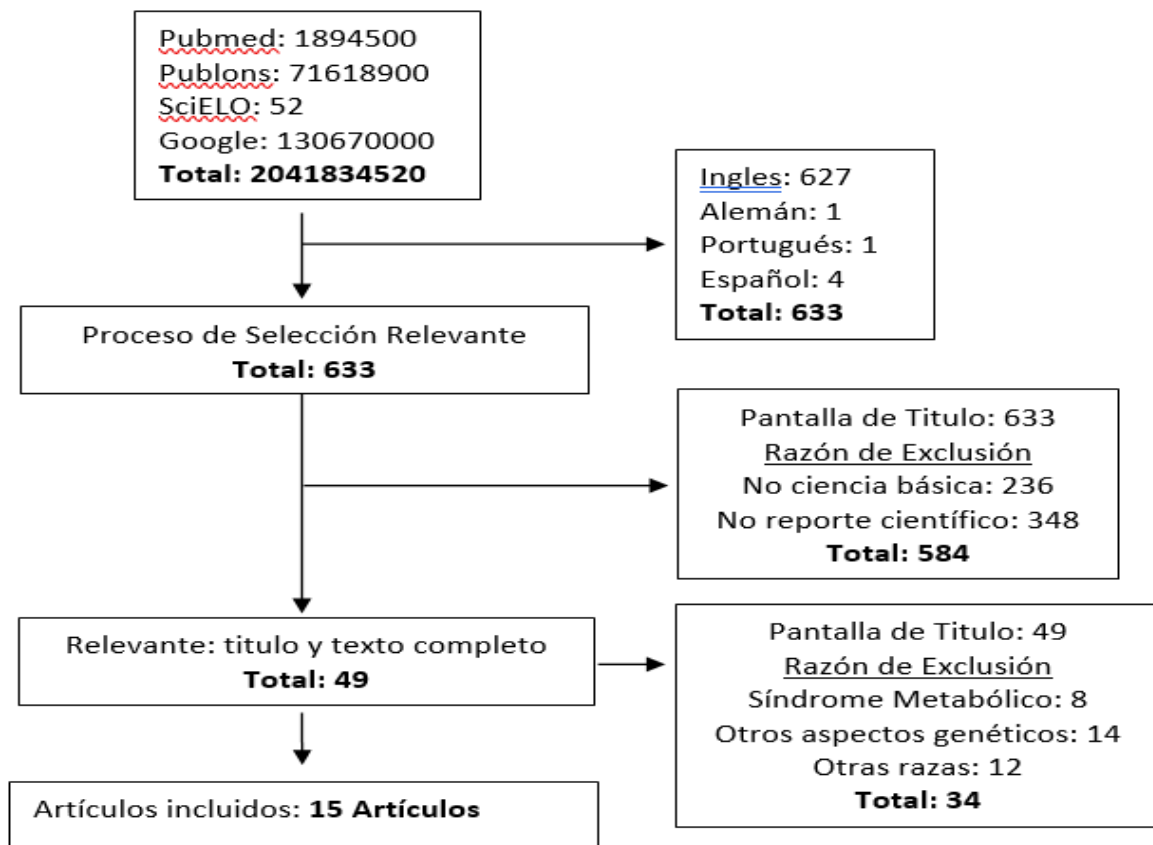


Figura 1.- Diagrama de flujo de Prisma del proceso de selección de artículos (Prism flowchart of the item selection process).

defectos genéticos. Se han asociado múltiples factores con el desarrollo de defectos genéticos en el caballo de Pura Raza Española. La patogenia de algunos defectos genéticos en los caballos se han identificado y estudiado previamente, así como sus factores asociados, gen/marcador, mutación, identificación de cromosomas, sin embargo, se ha informado un número significativo de casos, en general un 28%, pero su gen /etiquetado y mutación, aun no se han identificado, muchos están actualmente bajo investigación y en otros hay reportes de casos de anomalías congénitas en caballos en general. A continuación, los defectos y enfermedades identificados en los caballos de Pura Raza Española se presentan en la **tabla II**. La descripción detallada de las enfermedades genómicas o defectos en caballos de Pura Raza Española, se presenta la **tabla III**.

DISCUSIÓN/DISCUSSION

La deformación del borde dorsal del cuello (Cresy Neck), afecta a una gran cantidad de caballos de Pura Raza Española y otras razas de caballos de tipo “barroco” con un cuello largo y abundante crin (por ejemplo, Lusitano, Morgan, Paso Fino), aunque actualmente se desconocen las causas subyacentes de esta afección, parece ser multifactorial en la naturaleza,

pero puede estar relacionado con la disfunción de los músculos del cuello y la acumulación de depósitos de grasa localizados en el cuello dorsal (Sánchez, *et al.*, 2016). En el caballo de raza pura española, la heredabilidad para CN fue de 0,37, mientras que las otras heredabilidades conformacionales variaron de 0,25 (unión cuello-cuerpo) a 0,80 (altura a la cruz), las correlaciones genéticas entre CN y los otros rasgos conformacionales variaron de -0,06 (con altura a la cruz) a -0.21 (con unión cuello-cuerpo), por lo que el CN tenía una heredabilidad moderada que permitirá mejorar este defecto mediante la selección genética (Sánchez, *et al.*, 2015). Sin embargo, se ha identificado una predisposición genética en algunas razas de ponis, y en todos los ponis, así como en razas de “fácil cuidado” como Morgans, Tennessee Walking Horses y Mustangs españoles, parecen estar predispuestos al SME (síndrome metabólico equino) y a la laminitis asociada al pasto. , todas las razas están en riesgo (Tryon, *et al.*, 2005). La expresión de EMS (Síndrome metabólico equino) es el resultado de una interacción compleja entre la genética y el medio ambiente, aunque los factores ambientales, incluida la nutrición excesiva, se han relacionado con el EMS, los altos niveles de nutrición o los cambios en el pasto no resultan en alteraciones metabólicas y laminitis en todos los caballos que indica la importancia de

Tabla II.- Búsqueda de enfermedades genómicas o de defectos en caballos de Pura Raza Española reportadas por los artículos incluidos, número de artículos y porcentaje (Search for genomic diseases or defects in Purebred Spanish horses reported by the articles included, number of articles and percentage).

Defecto/Enfermedad	Nombre	Número de Artículos	% Artículos incluidos	Referencias
CN	Deformación Borde Dorsal de Cuello	15	31%	ANCCE, 2013, 2016, 2017. Llamas, 2016. Morales, et al., 2015, 2018, 2020. Morales-Briceño, et al., 2014, 2016, 2017,2018. Ripolles, et al., 2020. Sanchez, et al., 2015, 2016. Saraza, 1998.
PCD	Enfermedad Poligénica Compleja	3	6%	Bins, 2006. Johnson, 2002. Treiber, et al., 2006.
Others reports	Enfermedades genéticas en el caballo PRE (Estudios/reporte de casos).	31	63%	AAEP, 2009. Anaya, et al., 2017,2018. Azor, et al., 2008. Bartolome, et al., 2010, 2013. Bettley, 2012. Cash, et al., 2020. Cervantes, 2008. Demyda-Peyrás, et al., 2013. Durham, et al., 2019. Escribano, et al., 2013. Fino, et al., 2009. Gil, et al., 2006. Gomez, et al., 2006, 2010, 2011. Lewis, et al., 2017. Molina, et al., 2008. Molin, et al., 2018. Norton, et al., 2019. Pérez-Gutiérrez, et al., 2008. Romero, et al., 2011. Sánchez, et al., 2015, 2016. Sánchez-Guerrero, et al., 2019. Sevane, et al., 2016, 2017. Sole, et al., 2018. Valera, et al., 2005, 2008.

Tabla III.- Búsqueda de enfermedades genómicas o de defectos y su respectiva descripción en caballos de Pura Raza Española reportado por los artículos incluidos (Search for genomic diseases or defects and their respective description in Purebred Spanish horses reported by the included articles).

Defecto/Enfermedad	Nombre	Descripción	Referencias
CN	Deformación Borde Dorsal de Cuello	La deformación del borde dorsal del cuello (Cresty Neck), afecta a 8.89% de caballos de Pura Raza Española, con una heredabilidad moderada (CN 0,37). Estudios morfológicos y patológicos describen este defecto como una condición patológica dado el grado de infiltración de grasa asociada a lipomatosis en los músculos de la región dorsal del cuello.	ANCCE, 2013, 2016, 2017. Johnson, 2002. Llamas, 2016. Morales, et al., 2015, 2018, 2020. Morales-Briceño, et al., 2014, 2016, 2017, 2018. Ripolles, et al., 2020. Sanchez, et al., 2015, 2016. Saraza, 1998.
PCD	Poligénica o Enfermedad Compleja	<p>Las <u>Enfermedades Poligénicas o Complejas</u> pueden definirse como aquellas que implican los efectos aditivos de muchos genes y, a menudo, la interacción de factores genéticos y ambientales.</p> <p><u>Obstrucción recurrente de las vías respiratorias</u>: es una enfermedad respiratoria de los caballos caracterizada clínicamente por la tos y el aumento del esfuerzo respiratorio que conduce a un bajo rendimiento. Se ha observado una predisposición racial a RAO y se ha propuesto una base genética para esta afección, con patrones de herencia variables entre familias.</p> <p><u>Síndrome metabólico equino</u>: es un trastorno endocrino multifacético caracterizado por la obesidad y la resistencia a la insulina. Se ha teorizado que este síndrome predispone a la laminitis. La genética subyacente del trastorno no está clara en este momento, con investigaciones recientes que sugieren un solo gen dominante o múltiples genes con penetrancia reducida.</p> <p><u>Bolsa Gutural Timpanica</u>: es una enfermedad de los potros que resulta del aire atrapado dentro de la bolsa gutural. El trastorno se ve con mayor frecuencia en los potros árabes, pero también se informa en otras razas. La investigación realizada hasta la fecha sugiere que la timpania de la bolsa gutural es de naturaleza poligénica y que una base genética diferente puede estar presente en las potras frente a los potros.</p> <p><u>Susceptibilidad genética a la enfermedad infecciosa</u>: causada por organismos microbianos, parásitos o insectos se ha sugerido en varias especies y presenta un área abierta para un estudio significativo. observó una mayor susceptibilidad a infecciones respiratorias en potros que poseen un alelo de transferrina particular.</p> <p><u>Enfermedades ortopédicas</u>: la enfermedad en los caballos también está indudablemente vinculada a factores ambientales como la disciplina ecuestre, las prácticas de entrenamiento y el terreno. Se han observado tendencias familiares o heredabilidad sugerida tanto de falta de solidez conformacional como de enfermedad ortopédica debilitante, incluida la lordosis de inicio temprano en American Saddlebreds, la acumulación de proteoglicanos sistémicos equinos en Pasos peruanos, American Saddlebreds, Árabes y Cuartos de Milla y la lesión digital superficial del tendón flexor digital en Pura Sangre de Carreras. Una exploración completa del genoma utilizando microsatélites ha identificado un locus de rasgo cuantitativo en ECA 18 que contribuye a disecar osteocondrosis de la articulación metacarpo-falangena proximal y corvejón en una población de caballos.</p>	Bins, 2006. Johnson, 2002. Treiber, et al., 2006.
SCA	Anomalías Sexuales Cromosómicas	Las anomalías cromosómicas (quimerismo, síndrome de Turner y síndromes de reversión sexual) en el par de cromosomas sexuales (ECAX y ECAY) están ampliamente asociadas con problemas reproductivos en caballos de Pura Raza Español.	Anaya, et al., 2017. Demyda-Peyrás, et al., 2013.

TF & BC	Parto de Gemelos y Quimerismo Sanguineo.	El parto de gemelos se asocia con quimera en varias especies domésticas y se reconoce en caballos. Se identificaron catorce embarazos gemelares con 23 potros gemelos nacidos vivos (prevalencia de partos gemelares del 0,066%), incluidos cinco casos quiméricos en sangre (21,7%; prevalencia global 0,011%), lo que sugiere que esta condición genética es extremadamente baja en caballos de Pura Raza Españoles.	Anaya, et al., 2018.
NDAGS	Neuromuscular Disease Associated With Glycogen Storage	Esta breve comunicación describe un caso inusual de glucógeno acumulado anormal y masas sarcoplásmicas, diferentes de los descritos por otros autores, en una potra de Raza Española (Andaluz). Sobre la base de los hallazgos histoquímicos y ultraestructurales, se concluyó que esta potra tenía un trastorno neuromuscular caracterizado por masas sarcoplásmicas con anomalías acumulaciones de glucógeno diferentes a las descritas además de los anormales hallazgos observados en las miofibras altamente oxidativas (tipo I). No hay informes previos de esta condición en caballos en España.	Gil, et al., 2006.
CHF	Fibrosis Hepatica Congenita	Un potro de caballo de Pura Raza Española, de 1 mes de edad presentó insuficiencia hepática progresiva que culminó con la muerte, las lesiones hepáticas fueron compatibles con fibrosis hepática congénita (ICC). Los estudios genéticos en el gen PKHD1 revelaron que era heterocigoto para los 2 polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) descritos anteriormente vinculados a la ICC en caballos Swiss Franches-Montagnes (SFM). Además, se detectaron 2 mutaciones novedosas, siendo el potro homocigótico para una de ellas y heterocigoto para la otra; otras mutaciones en el gen PKHD1 podrían jugar un papel más importante en el Pura Raza Español.	Molin, et al., 2018.
HC	Hipotiroidismo Congénito	Múltiples autores describen el Hipotiroidismo Congenito (HC), como una causa de muerte en neonatos. En ambos casos se trata de potras Pura Raza Española con síntomas neuromusculares y musculoesqueléticos, la sintomatología clínica, radiológica, ecográfica y los niveles de hormonas tiroideas permitieron establecer un diagnóstico de Hipotiroidismo Congenito (HC).	Romero, et al., 2011.
V & M	Vitiligo & Melanoma	El vitiligo y el melanoma son trastornos relativamente comunes en los caballos grises Pura Raza Español y otras razas de caballos con pelaje gris. La heredabilidad estimada para toda la población fue de 0,09 (d.e. +0,019), 0,44 (d.e. +0,031) y 0,13 (d.e. +0,037), para la puntuación de vitiligo ocular, la puntuación de vitiligo nasal y la puntuación de melanoma, respectivamente. Las correlaciones genéticas variaron de 0,42 (d.t.+0,084) entre el puntaje de vitiligo ocular y nasal a 0,15 (d.t.+0,096) entre el vitiligo nasal y el melanoma. El vitiligo y el melanoma son prevalentes en esta población y esos factores de riesgo ambientales y la genética tienen un efecto sobre la expresión clínica de las enfermedades.	Sánchez-Guerrero, et al., 2019.
OCD	Osteochondrosis diseases	La osteocondrosis equina (OC) es una enfermedad ortopédica del desarrollo frecuente con un alto impacto económico en la industria equina y puede conducir al retiro prematuro del animal como resultado del dolor crónico y la cojera. El trasfondo genético de OC incluye diferentes genes que afectan a varias localizaciones; sin embargo, estas asociaciones genéticas se han probado sólo en una o pocas poblaciones, sin la validación en otras. Se encontró que tres polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) ubicados en los genes FAF1, FCN3 y COL1A2 estaban asociados con diferentes localizaciones de lesiones OC. Estos datos aportan información sobre las complejas redes de genes que subyacen a la enfermedad multifactorial OC, y los SNP asociados podrían usarse en una estrategia de selección asistida por marcadores para mejorar la salud, el bienestar y la esperanza de vida competitiva del caballo.	Sevane, et al., 2016, 2017.

las influencias genéticas subyacentes (Durham, *et al.*, 2019). Un estudio de asociación del genoma completo (GWAS) con caballos árabes con antecedentes de laminitis severa secundaria a EMS reveló marcadores genéticos significativos cerca de un solo gen candidato () que pueden desempeñar un papel en la homeostasis del colesterol, el mejor marcador, BIEC2-263524 (chr14: 69276814 T> C), se correlacionó con valores elevados

de insulina y una mayor frecuencia de laminitis (= 0.0024 y = 9.663 × 10, respectivamente), en una segunda población de caballos árabes, el marcador BIEC2-263524 mantuvo sus asociaciones con insulina modificada más alta valores de la relación de glucosa (MIRG) (= 0.0056) y BCS (= 0.0063), el cribado de las regiones de codificación pronosticadas mediante secuenciación identificó un homopolímero de guanina polimórfico y

5 haplotipos en la región no traducida (UTR) 3', una 11 guanina (11-G) el alelo se correlacionó con valores elevados de insulina en la población de GWAS ($= 0.0008$) y, en la segunda población, MIRG elevado y BCS aumentado > 6.5 ($= 0.0055$ y $= 0.0162$, respectivamente), el BIEC2-263524-C y el 3'UTR -11 (G) polimorfismos se correlacionaron a una frecuencia del 98%, lo que indica un fuerte desequilibrio de enlace a través de este haplotipo de 150 kb (Lewis, *et al.*, 2017). Si bien las estimaciones de heredabilidad brindan información valiosa sobre la contribución genética a un rasgo, no brindan información sobre el número de genes contribuyentes, genes específicos involucrados o dónde se encuentran estos genes en el genoma, la identificación de las variantes codificantes y no codificantes que contribuyen para un rasgo complejo son importantes para comprender su fisiopatología completa y para comprender mejor cómo los genes interactúan o son influenciados por el medio ambiente (Norton, *et al.*, 2017). Los ensayos para estos marcadores podrían diagnosticar caballos con una predisposición genética para desarrollar obesidad. Además, el descubrimiento de la función FAM174A puede mejorar nuestra comprensión de la etiología de esta enfermedad preocupante en el caballo y garantiza la investigación de este lugar para un papel en los trastornos metabólicos y relacionados con la obesidad de otras especies (Lewis, *et al.*, 2017). La investigación inicial sobre los componentes genéticos de EMS (Síndrome Metabólico Equino), en un grupo de ponis encontró que la prevalencia de laminitis era consistente con la acción de un gen o genes principales expresados de manera dominante, pero con una penetrancia reducida atribuible a factores mediados por el sexo, la edad de inicio y más factores epigenéticos, más recientemente, se han llevado a cabo estudios de asociación de genoma amplio utilizando caballos árabes, ponis galeses y caballos Morgan, y se identificaron varios genes candidatos asociados con rasgos relevantes que incluyen altura e insulina, triglicéridos y concentraciones de adiponectina (Durham, *et al.*, 2019). Un estudio genético en caballos Galeses y ponis de Morgan en las regiones priorizadas contenía genes codificadores de proteínas que estaban enriquecidos funcionalmente para las vías asociadas con la inflamación, el metabolismo de la glucosa o el metabolismo de los lípidos. Estos datos demuestran que el EMS es un rasgo poligénico con alelos de riesgo específicos de la raza, así como aquellos compartidos entre las razas (Norton, *et al.*, 2019). En los ponis Galeses, siete de los nueve rasgos tenían estimaciones de h2SNP estadísticamente significativas que se consideraron moderadamente a altamente heredables ($h2SNP > 0.20$) que incluyen: triglicéridos, glucosa, NEFA, INS - OST, adiponectina, leptina e insulina, en Morgans, seis de los nueve rasgos tenían estimaciones estadísticamente significativas de h2SNP que también se determinó que eran moderadamente a altamente heredables, incluidos: INS-OST, leptina, GLU-OST, insulina, NEFA y adiponectina, este estudio proporciona la primera evidencia concreta de una contribución genética a los fenotipos clave asociado con EMS. Ocho de estos nueve rasgos tenían estimaciones moderadas a altas de SNP h2 en esta cohorte, estos datos demuestran que se justifica la investigación continua para la identificación de

los factores de riesgo genéticos para los fenotipos EMS dentro y entre las razas (Norton, *et al.*, 2019). Aunque los mecanismos subyacentes del EMS no se entienden completamente, se ha informado de un componente genético, y se ha identificado un polimorfismo de 11 guaninas ubicado en el gen FAM174A como un lugar de riesgo para el síndrome en caballos Árabes, estos resultados sugieren que la guanina FAM174A 11 Es poco probable que el alelo homopolímero sea un polimorfismo de genes clave singular asociado con EMS en ponis, sin embargo, debido al pequeño número de ponis identificados con el polimorfismo, un estudio adicional del alelo de riesgo FAM174A en una cohorte más grande de caballos y ponis de raza uniforme sería ser útil (Cash, *et al.*, 2020). Las deformaciones del cuello en el caballo español se han descrito inicialmente como defectos en los que se han usado nombres coloquiales (Morales Briceño, *et al.*, 2014). Se distingue el cuello recto o piramidal, el cuello con cresta que se puede observar suavemente arqueado ("cuello de gato" o "cuello de paloma" son el nombre coloquial del cuello con cresta en el caballo español), así como el defecto de ser muy grueso. cuello crespo debido al abundante depósito de grasa provisto de una melena abundante, y debido a la debilidad de la región, está algo hacia abajo en uno de sus lados ("cuello de gato" o "cuello vencido de gatillo" a la derecha o a la izquierda), cambios en la convexidad del cuello y que se acentúa en su punto de unión con la cabeza (cuello de cisne), cuando su borde superior es ligeramente cóncavo y el convexo inferior (cuello al revés o de venado) (Saraza, 1998). Tradicionalmente se ha hablado del cuello cresta (gato) de esta condición que en algunos casos se observa en el caballo español, es una de las condiciones que todos los productores de caballos españoles de pura raza temen en algunos de sus caballos y cada año produce considerables pérdidas económicas para la industria del caballo de Pura Raza Española en España y en el mundo. Según la normativa vigente de la ANCCE (Asociación Nacional de Criadores de Pura Raza Española), en las características morfológicas de la raza, el prototipo racial de la Raza Española Pura, establece en la letra f) Defectos descalificadores: La deformidad del cuello crestado ("Cuello de gato" o "cuello vencido"), ciervo o cuello invertido, y en general la presencia de defectos graves y muy graves detectados durante el proceso de evaluación que difieren del prototipo racial (ANCCE, 2017). El índice de transmisibilidad del "gato" parece ser alto, aunque no hay estadísticas confiables, los hijos de caballos con "gato" lo tienen con frecuencia, aunque no sabemos en qué medida la vida sedentaria también influye y la misma dieta exagerada de su padres (Llamas, 2016). En un análisis transversal de una gran base de datos mundial de caballos de raza Pura Española, dentro de esta población de raza pura española, el 8.91% tenía un puntaje de borde dorsal del cuello ≥ 5 , que es el umbral de penalización o descalificación en el libro de la raza, la edad, el sexo, el color del pelaje y el área geográfica se asociaron significativamente con el puntaje de cresta del cuello, el coeficiente de heredabilidad estimado para el puntaje del borde dorsal del cuello fue 0.37 ($sd = 0.034$) y la correlación genética entre el puntaje del borde dorsal del cuello y otros rasgos conformacionales varió de -0.06 (altura a

la cruz) a -0.21 (unión cuello-cuerpo), el cuello de la cresta es un defecto frecuente en el caballo de raza pura española, asociado con la edad, el sexo, el color del pelaje y otros rasgos conformacionales, con un nivel moderado de heredabilidad (Sánchez, *et al.*, 2016). A lo largo de la historia, el hombre ha criado al caballo para acentuar tanto su belleza física como su increíble capacidad atlética. Parece que hemos moldeado una especie con un número relativamente pequeño pero de ninguna manera insignificante de enfermedades hereditarias. A medida que seleccionamos artificialmente animales para reproducirlos, la aptitud física debe ser nuestro objetivo final (Brosnahan, *et al.*, 2010). Las enfermedades hereditarias científicamente comprobadas como relevantes para asuntos de bienestar animal o que incluyen un riesgo potencial de dolor, sufrimiento o daño, deben considerarse un criterio esencial en la cría de caballos. En este contexto, deben mencionarse en particular las siguientes enfermedades: osteocondritis disecante, contractura profunda del tendón flexor en el potro, enfermedad navicular, osteoartritis tarsal, parálisis periódica hipercalémica, síndrome del potro blanco excesivamente letal (Mählmann y Steiger, 2009). La investigación futura probablemente identificará las bases genéticas para otras enfermedades equinas que incluyen al caballo de Pura Raza Española, producirá nuevas pruebas de diagnóstico y generará nuevas terapias para algunas de estas afecciones, esto permitirá a los médicos equinos desempeñar un papel fundamental para garantizar la aplicación reflexiva y adecuada de este conocimiento a medida que ayudan clientes con cría y toma de decisiones clínicas (Brosnahan, *et al.*, 2010).

CONCLUSION

En conclusión, Se identificaron un total de 49 artículos que discuten 8 defectos potencialmente genéticos en el caballo Pura Raza Española, pocos trastornos se vincularon específicamente con la conformación o el fenotipo. Las bases genéticas del metabolismo de las grasas, están asociadas a la deformación del borde dorsal del cuello (Cresty Neck), en el caballo de Pura Raza Español en donde la obesidad y el síndrome metabólico equino es un rasgo poligénico con alelos de riesgo específicos de la raza. Reportes en la literatura señalan una incidencia de 9%, con una heredabilidad moderada (CN 0,37). Estudios morfológicos y patológicos describen este defecto como una condición patológica dado el grado de infiltración de grasa asociada a lipomatosis en los músculos de la región dorsal del cuello.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen al invaluable aporte del Departamento de Anatomía y Anatomía Patológica Comparadas de la Universidad de Córdoba, España, a la colaboración de la Asociación de Veterinarios Especialistas de Équidos de España (AVEEE) y ALSHULA Veterinary Pharmacy and Technical Support, Doha, Qatar.

BIBLIOGRAFÍA

- AAEP. 2009. Available in: <https://aaep.org/guidelines/aaep-ethical-and-professional-guidelines/aaep-position-statements/aaep-statement-genetic-defects-2009>.
- ANCCE. 2017. Available in: <https://www.ancce.es/contenido/morfologia-del-pre>.
- Anaya, G, Molina, A, Valera, M, Moreno-Millán, M, Azor, P, Peral-García, P, Demyda-Peyrás, S. 2017. 'Sex chromosomal abnormalities associated with equine infertility: validation of a simple molecular screening tool in the Purebred Spanish Horse', *Anim Genet*. vol. 48. no.4. pp. 412-419.
- Anaya G, Fernández ME, Valera M, Molina A, Azcona F, Azor P, Solé M, Moreno-Millán M, Demyda-Peyrás S. 2018. 'Prevalence of twin foaling and blood chimaerism in Purebred Spanish horses', *Vet J*. vol. 234. pp.142-144.
- Asociación Nacional de Criadores de Caballo de Pura Raza Española. 2013. *Reglamento de Concursos Morfológicos-Funcionales de Caballos y Yeguas de Pura Raza Española*. En línea: <http://www.ancce.es/nueva/ver-noticia/884/aprobado-el-reglamento-de-concursos-morfologicos-funcionales-de-caballos-y-yeguas-de-pura-raza-espanola-para-2013/26/> PDF 46-57. 2013.
- Asociación Nacional de Criadores de Caballo de Pura Raza Española. 2016. *Reglamento de Concursos Morfológicos-Funcionales de Caballos y Yeguas de Pura Raza Española*. En línea: http://www.ancce.es/_docs/documentos/2016/Morfologico/reglamento2016_web.pdf. PDF69-73.
- Azor, P, Valera, M, Gómez, MD, Goyache, F, Molina, A. 2007. 'Genetic characterization of the Spanish Trotter horse breed using microsatellite markers', *Genetics and Molecular Biology*. vol. 30, no.1, pp. 37-42.
- Bartolomé, E, Goyache, F, Molina, A, Cervantes, I, Valera, M, Gutiérrez, JP. 2010. 'Pedigree estimation of the (sub) population contribution to the total gene diversity: the horse coat colour case', *Animal*. vol.4, no.6. pp. 867-75.
- Bartolomé, E, Menéndez-Buxadera, A, Valera, M, Cervantes, I, Molina, A. 2013. 'Genetic (co) variance components across age for Show Jumping performance as an estimation of phenotypic plasticity ability in Spanish horses', *J Anim Breed Genet*. vol. 130, no.3. pp.190-8.
- Bettley, CD, Cardwell, JM, Collins, LM, Asher, L. 2012. 'A review of scientific literature on inherited disorders in domestic horse breeds'. *Animal Welfare*. vol. 21. pp. 59-64.
- Binns, M. 2006. 'Screening genetic diseases of horses', *9th Congress of the World Equine Veterinary Association, Proceedings*. Edited by Bakkoury M. & Dakkak A. Marrakech, 22-26 January. pp. 21-24.
- Brosnahan, MM, Brooks, SA, Antczak, DF. 2010. 'Equine Clinical Genomics: A Clinician's Primer', *Equine Vet J*. vol.42. no.7. pp. 658-670.
- Cash, CM, Fitzgerald, DM, Spence, RJ, de Laat, M.A. 2020. 'Preliminary analysis of the FAM174A gene suggests it lacks a strong association with equine metabolic syndrome in ponies', *Domest Anim Endocrinol*. vol.28, no.72. pp.106439.
- Cervantes, I, Molina, A, Goyache, F, Gutierrez, JP, Valera, M. 2008. 'Population history and genetic variability in the Spanish Arab horse assessed via pedigree analysis', *Livestock Science*. vol. 113. pp. 24-33.
- Demyda-Peyrás, S, Membrillo, A, Bugno-Poniewierska, M, Pawlina, K, Anaya, G, Moreno-Millán, M. 2013. 'The use of molecular and cytogenetic methods as a valuable tool in the detection of chromosomal abnormalities in horses: a case of sex chromosome chimerism in a Spanish purebred colt', *Cytogenet Genome Res*. vol. 141, no. 4. pp. 277-83.
- Durham, A, Frank, N, MacGowan, C, Menzies-Gow, N, Roelfsema, E, Vervuert, I, Karsten, F, Fey, K. 2019. 'ECEIM consensus statement on equine metabolic syndrome', *J Vet Intern Med*. vol.33. pp 335-349.
- Escribano, BM, Molina, A, Valera, M, Tovar, P, Agüera, EI, Santisteban, R, Vivo, R, Agüera, S, Rubio, MD. 2013. 'Genetic analysis of haematological and plasma biochemical parameters in the Spanish purebred horse exercised on a treadmill', *Animal*. vol. 24. pp.1-9.
- Finno, CJ, Spier, SJ, Valberg, SJ. 2009. 'Equine diseases caused by known genetic mutations', *Vet J*. vol. 179.no. 3. pp.336-47.

- Gil, F, Alemán, M, Rivero, MA, Latorre, R, Carrión, MA, Aguirre, C, Ruíz, I, Ayala, I. 2006. 'Neuromuscular disease associated with glycogen storage in a Spanish-bred filly', *Vet Rec.* vol. 15, no.158. pp. 513-516.
- Gómez, M, Cervantes, I, Bartolome, E, Molina, A, Valera, M. 2006. 'Genetic Evaluation of show jumping performance in young Spanish Sport Horse Breed', Books of Abstracts of the 57th Annual Meeting of European Association for Animal Production. vol. 12, no.9. pp.351, Antalya, Turkey.
- Gómez, M, Menendez-Buxadera, A, Valera, M, Molina, M. 2010. 'Estimation of genetic parameters for racing speed at different distances in young and adult Spanish Trotter horses using the random regression model', *J. Anim. Breed. Genet.* vol.127. pp. 385-394.
- Gómez, M, León, JM, Delgado, JV. 2011. 'Análisis demográfico de la raza equina Hispano-Árabe', *Archivos de Zootecnia.* vol. 60. no. 231. pp.341-344.
- Guerin, G. 2006. 'Equine molecular genetics-update and perspectives', 9th Congress of the World Equine Veterinary Association Proceedings, Edited by Bakkoury M. & Dakkak A. Marrakech, 22-26 January. pp.11-20.
- Johnson, PJ. 2002. 'The equine metabolic syndrome peripheral Cushing's syndrome', *The Veterinary Clinics Equine Practice.* vol. 18. pp. 271-293.
- Lewis, SL, Holl, HM, Streeter, C, Posbergh, C, Schanbacher, BJ, Place, NJ, Mallicote, MF, Long, MT, Brooks, SA. 2017. 'Genomewide association study reveals a risk locus for equine metabolic syndrome in the Arabian horse', *J Anim Sci.* vol. 95. no. 3. pp. 1071-1079.
- Llamas J. 2016. 'El caballo Español. Extremadura PRE', *Revista de la Asociación Extremeña de Criadores de Caballos de Pura Raza Española.* no.11-23. pp. 23-29.
- Mählmann, Ch, Steiger, A. 2009. 'Assessment of hereditary defects and dispositions of the horse under animal welfare aspects', *Schweiz Arch Tierheilkd.* vol.151. no.4. pp.153-8.
- Molina, A, Valera, M, Galisteo, AM, Vivo, J, Gomez, MD, Rodero, A, Aguera, E. 2008. 'Genetic parameters of biokinematic variables at walk in the Spanish Purebred (Andalusian) horse using experimental treadmill records', *Livestock Science.* vol.116. pp.137-145.
- Molín, J, Asín, J, Vitoria, A, Sanz, A, Gimeno, M, Romero, A, Sánchez, J, Pinczowski, P, Vázquez, FJ, Rodellar, C, Luján, L. 2018. 'Congenital Hepatic Fibrosis in a Purebred Spanish Horse Foal: Pathology and Genetic Studies on PKHD1 Gene Mutations', *Vet Pathol.* vol. 55. no.3. pp. 457-461.
- Morales Briceño, A, Méndez Sánchez, A, Perez Arevalo, P. 2014. 'La Región del Cuello del Caballo: Connotaciones Anatómo-Applicativas: Una Revisión', *Int. J. Morphol.* vol. 32, no.4, pp. 1212-1221.
- Morales, A, Méndez, A, Pérez-Arévalo, J. 2015. 'Técnica de biopsia modificada como herramienta de diagnóstico para el estudio de la deformación del borde dorsal del cuello', *Proceeding del XVI Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina. SICAB'15.* Sevilla, 20-21 Noviembre, España.
- Morales Briceño, A, Méndez-Sánchez, A, Perez-Arevalo, J. 2015. 'Patrones de reconocimiento histopatológico de la deformación del borde dorsal del cuello en équidos. Estudio preliminar', *Proceeding XXVII Reunión Anual SEAPV,* Barcelona. pp.17-95
- Morales, A, Méndez, A, Pérez, J. 2016. 'Nueva técnica de biopsia y estudio histo-morfométrico para el estudio de la deformación del borde dorsal del cuello en caballos', *Proceeding Primer Congreso de Veterinaria y Ciencia y Tecnología de los Alimentos.* Facultad de Veterinaria, Universidad de Córdoba. Córdoba, 12 Febrero, España. pp. 26.
- Morales Briceño, A, Escamilla Sánchez, A, Méndez Sánchez, A, Méndez, J, Pérez Arévalo, J. 2017. 'Histopathological pattern recognition of cresty neck in horses in Spain', *Braz J Vet Pathol.* vol.10. no.1. pp. 170-174.
- Morales Briceño, A, Méndez-Sánchez, A, Méndez-Angulo, J, Escamilla-Sánchez, A, Pérez-Arevalo, J. 2018. 'Aspectos morfológicos de biopsias musculares en equinos con deformación del borde dorsal del cuello', *Revista Científica, FCV-LUZ.* vol. XXVIII. no.1. pp. 25-31.
- Morales, A, Mendez, A, Perez, J. 2020. 'Depreciation of the Spanish Pure Breed horse with deformation of cresty neck', *Arch. Zootec.* vol.69, no.267. pp. 378-382.
- Norton, EM, Schultz, E, Rendahl, AK, Mcfarlane, D, Geor, RJ, Mickelson, JR, McCue, ME. 2019. 'Heritability of metabolic traits associated with equine metabolic syndrome in Welsh ponies and Morgan horses', *Equine Vet J.* vol.51. no. 4. pp. 475-480.
- Pérez-Gutiérrez, LM, De la Peña, A, Arana, P. 2008. 'Genetic analysis of the Hispano-Breton heavy horse', *Anim Genet.* vol.39. no.5. pp. 506-14.
- Ripolles, M, Sánchez-Guerrero, MJ, Perdomo-González, DI, Azor, P, Valera, M. 2020. 'Survey of Risk Factors and Genetic Characterization of Ewe Neck in a World Population of Pura Raza Español Horses', *Animals.* vol.10.no. 1789. pp. 1-12.
- Romero, A, Vazquez, F, Vitoria, A, Ardanaz, N, Zalaya, J, Segurana, M, Arenas, A. 2011. 'Dos casos de dismadurez neonatal por hipotiroidismo congénito', *XII Congreso Internacional de Medicina y Cirugía Equina,* Sevilla 25 y 26 de Noviembre. pp. 193-196.
- Rodríguez-Gallardo, P, Aguilar-Sánchez, P, Vega-Plá, J, de Andrés Cara, D. 1992. 'Blood group and protein polymorphism gene frequencies for the Andalusian horse breed. A comparison with four American horse breed', *Arch. Zootec.* vol. 41 no.(extra). pp.433-442.
- Sánchez, M, Azor, P, Molina, A, Rivero, J, Valera, M. 2015. 'Genetic Analysis of Cresty Neck in The Pura Raza Español horse', Books of Abstracts of the 66th Annual Meeting of European Federation for Animal Science, Warsaw, Poland.vol. 21. no.44. pp. 441,
- Sánchez, M, Azor, P, Molina, A, Parkin, T, Rivero, J, Valera, M. 2016. 'Prevalence, risk factors and genetic parameters of cresty neck in Pura Raza Español horses', *Equine Vet J.* Feb.
- Sánchez-Guerrero, MJ, Solé, M, Azor, PJ, Sölkner, J, Valera, M. 2019. 'Genetic and environmental risk factors for vitiligo and melanoma in Pura Raza Español horses', *Equine Vet J.* vol.51. no.5. pp. 606-611.
- Saraza, MJ. 1998. 'Exterior del caballo', *Badajoz, Colegio Oficial de Veterinarios de Badajoz.* pp.132-40.
- Sevane, N, Dunner, S, Boado, A, Cañon, J. 2016. 'Candidate gene analysis of osteochondrosis in Spanish Purebred horses', *Anim Genet.* vol. 47. no.5. pp.570-8.
- Sevane, N, Dunner, S, Boado, A, Cañon, J. 2017. 'Polymorphisms in ten candidate genes are associated with conformational and locomotive traits in Spanish Purebred horses', *J Appl Genet.* vol. 58. no.3. pp.355-361.
- Solé, M, Valera, M, Fernández, J. 2018. 'Genetic structure and connectivity analysis in a large domestic livestock meta-population: The case of the Pura Raza Español horses', *J Anim Breed Genet.* vol. 135. no.6. pp.460-471.
- Treiber, KH, Kronfeld, DS, Hess, TM, Byrd, BM, Splan, RK, Staniar, WB. 2006. 'Evaluation of genetic and metabolic predispositions and nutritional risk factors for pasture associated laminitis in ponies', *JAVMA.* vol. 228. pp.1538-1545.
- Tryon, RC, White, SD, Famula, TR, Schultheiss, PC, Hammar, DW, Banash, DL. 2005. 'Inheritance of hereditary equine regional dermal asthenia in Quarter Horses', *American Journal of Veterinary Research.* vol.66. pp. 437-442.
- Valera, M, Molina, A, Gutiérrez, JP, Gómez, J, Goyache, F. 2005. 'Pedigree analysis in the Andalusian horse: population structure, genetic variability and influence of the Carthusian strain', *Livest Prod Sci.* vol. 95. pp. 57-66.
- Valera, M, Galisteo, AM, Molina, A, Miro, F, Gomez, MD, Cano, MR, Aguera, E. 2008. 'Genetic parameters of biokinematic variables of the trot in the Spanish Purebred horses under experimental treadmill conditions', *Vet J.* vol.178.no. 2. pp. 219-26.