

## **NEDOSTATAK ADHEZIJE LEUKOCITA – NASLJEDNI POREMEĆAJ KOD GOVEDA**

**Aneta Piplica, I. Conrado Šoštarić–Zuckermann, Anamaria Ekert Kabalin,  
V. Sušić, I. Vlahek, Ivana Sabolek, M. Ostović, S. Menčik**

### **Sažetak**

U domaćih životinja nasljedni poremećaji mogu biti specifični za pojedine vrste, odnosno pasmine. Nedostatak adhezije leukocita kod goveda nasljedna je bolest koja se pojavljuje u holštajn pasmine i njezinih križanaca, a utječe na zdravlje, uzrokuje uginuća teladi, rezultira smanjenom reproduktivnom sposobnošću životinja i znatnim ekonomskim gubitcima u proizvodnji. Bolest nastaje kao posljedica mutacije gena odgovornog za ekspresiju receptora na površini bijelih krvnih stanica, uslijed čega dolazi do smanjene funkcije ili potpunog nedostatka bjelančevina koje sudjeluju u upalnom odgovoru. Učestalost bolesti u istraživanim populacijama iznosila je i do 21,5 %. Primjena suvremenih molekularno-genetskih metoda od iznimne je važnosti u identifikaciji nositelja i pridonijela je smanjenju broja životinja nositelja recesivnog alela. Strategije očuvanja niskog broja oboljelih životinja kao i nositelja recesivnog alela uključuju redovitu genotipizaciju rasplodnih bikova i krava prije uvođenja u uzgoj u sklopu uzgojnih programa i genomskog vrednovanja životinja.

**Ključne riječi:** nasljedni poremećaji, govedo, holštajn pasmina, ITGB2 gen,  $\beta$ 2 integrini

### **Uvod**

Nasljedni poremećaji nastaju spontano ili pod utjecajem fizikalnih, kemijskih i bioloških čimbenika koji uzrokuju mutacije na genima te pojedinim regijama kromosoma. U domaćih životinja pojavljuju se nasljedni poremećaji specifični za pojedine vrste, odnosno pasmine. Povezuju se s djelovanjem samo jednoga (monogenske bolesti) ili više gena (poligeneske bolesti), a njihov učinak može biti letalan, subletalni ili subvitalan koji će se očitovati tijekom prenatalnog i postnatalnog života jedinke (Healy, 1996.). Intenzivna uporaba malog broja genetski srodnih rasplodnih bikova u programima umjetnog osjemenjivanja, primjena embriotransfera te uzgoj u čistoj krvi i uski uzgoj u srodstvu čini goveda posebno osjetljivim na širenje nepoželjnih svojstva (Poli i sur., 1996.; Nagahata i sur., 1997.; Agerholm, 2007.).

U ovom radu opisat ćemo nasljednu bolest pod nazivom nedostatak adhezije leukocita kod goveda (eng. bovine leukocyte adhesion deficiency, BLAD), jedan od najčešćih poremećaja autosomalnog tipa nasljeđivanja prisutnog u uzgojima holštajn pasmine. Bolest nastaje kao posljedica mutacije gena odgovornog za interakciju imunskih stanica s patogenima u obrani od infekcija, što uzrokuje izostanak nespecifičnog (urođenog) imunskog odgovora i

---

Aneta Piplica, dr. med. vet., dopisni autor/corresponding author e-mail: aneta.piplica@vef.hr,  
izv. prof. dr. sc. Ivan Conrado Šoštarić–Zuckermann, prof. dr. sc. Anamaria Ekert Kabalin, prof. dr. sc. Velimir Sušić, Ivan Vlahek, dr. med. vet., Ivana Sabolek, dr. med. vet., izv. prof. dr. sc. Mario Ostović, izv. prof. dr. sc. Sven Menčik, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu, Heinzelova 55, Zagreb, Hrvatska.

narušava zdravlje životinje (Nagahata, 2004.). Razvoj molekularno-genetskih metoda za rutinsko dijagnosticiranje nasljednih bolesti, s naglaskom na brze testove, olakšava uzgoj i selekciju vrhunskih rasplodnih životinja, čime je moguće u ranoj dobi identificirati nositelje nepoželjnih svojstava i spriječiti njihovo širenje (Alyethodi i sur., 2016.). Važnost pravovremenog prepoznavanja nositelja nepoželjnih gena u uzgoju smanjuje ekonomske gubitke zbog narušenog zdravlja životinja, viših veterinarskih troškova, preranog izlučivanja, kao i zamjene rasplodnih jedinki te uginuća u ranoj dobi (Gerardi, 1996.; Casas i Kehrl, 2016.; Cole i sur., 2016.).

### **Opis i povijest bolesti**

Nedostatak adhezije leukocita (eng. leukocyte adhesion deficiency, LAD) osim kod goveda, pojavljuje se kod ljudi i pasa (Bauer i sur., 2004.; Gu i sur., 2004.). Bolest je prvi put istražena i opisana osamdesetih godina prošlog stoljeća u djece (Beatty i sur., 1983.; Giger i sur., 1987.). Također, utvrđena je u pasa pasmina irski seter, irski crveno-bijeli seter i njihovih križanaca (Anderson i Springer, 1987.; Renshaw i sur., 1975.). Kod goveda je prvi put opisana u jednogodišnje junice sjevernoameričke populacije holštajn pasmine (Hagemoser i sur., 1983.), a kasnije i u križanaca s holštajn pasminom (Shuster i sur., 1992a.; Ribeiro i sur., 2000.; Patel i sur., 2007.). Osim u državama Sjeverne i Južne Amerike, proširila se u uzgojima u Europi, Aziji i Australiji (Nagahata i sur., 1987.; Bernadina i sur., 1993.; Jorgensen i sur., 1993.; Ribeiro i sur., 2000.). Analizom rodovnika oboljelih goveda Kehrl i sur. (1990.) ustanovili su da se u populaciji holštajn pasmine proširila uporabom sjemena elitnog bika *Osborndale Ivanhoe* za kojeg je genotipizacijom utvrđeno da je bio prvi nositelj recesivnog alela gena ITGB2 (eng. integrin subunit beta 2) smještenog na govedem kromosomu 1 (eng. bovine chromosome 1, BTA1). Nadalje, uporabom sjemena njegovih potomaka *Penstate Ivanhoe Star* i *Carlin-M Ivanhoe Bell*, a ujedno i njihovih potomaka koji su bili korišteni u svrhu poboljšanja mliječnosti brojnih populacija krava, proširila se u uzgojima diljem svijeta (Shuster i sur., 1992a.). Utvrđena je prevalencija od 15% kod bikova te 6% kod krava (Shuster i sur., 1992a.), a Gilbert i sur. (1993.) su analizom arhiviranih parafinskih blokova tkiva teladi sa sličnim kliničkim simptomima te naknadnom genotipizacijom, potvrdili sumnju na ranije postojanje bolesti.

Mladunčad je nakon rođenja prividno zdrava, s normalnom porodnom tjelesnom masom, a unutar prva dva mjeseca života počinju se uočavati prvi klinički simptomi (Shuster i sur., 1992a.; Jorgensen i sur., 1993.). Kako navode Nagahata i sur. (1987.) te Kehrl i sur. (1990.) bolest se očituje ponavljajućim bakterijskim infekcijama dišnog i probavnog sustava, najčešće u teladi (oko drugog do trećeg mjeseca starosti) i junadi (do osmog mjeseca starosti) dok su uzročnici infekcija uvjetno patogene bakterije kao što su *Proteus spp.*, *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus aureus* i *Pseudomonas aeruginosa*. Nadalje, u kliničkoj slici zabilježeno je produljeno cijeljenje rana, povećanje broja bijelih krvnih stanica, uz nedostatak supurativne reakcije na mjestu infekcije, a tijekom uznapredovalog stadija bolesti nastaju upalne promjene na sluznici usne šupljine (granulomatozni i ulcerozni stomatitis) te upala potpornog tkiva zuba (periodontitis), što može uzrokovati ispadanje zubi (Nagahata, 2004.). Telad najčešće ugiba do godine dana starosti uslijed komplikacija nastalih zbog učestalih bakterijskih infekcija, dok preživjela telad znatno gubi na tjelesnoj masi i izlučuje se iz uzgoja zbog sporog tjelesnog razvoja i slabog prirasta (Shuster i sur., 1992a.; Gilbert i sur., 1993.; Müller i sur., 1994.).

### ***Molekularna osnova bolesti***

Na površini neutrofila, ali i ostalih leukocita, nalaze se strukturne i funkcionalne adhezijske molekule nazvane beta 2 ( $\beta$ 2) integrini koji su sastavljeni od alfa (CD11a, CD11b i CD11c) i beta podjedinica (CD18) (Nagahata, 2004.). Uloga integrina kao transmembranskih receptora je u olakšavanju prijanjanja, odnosno interakcije stanica s drugim stanicama i izvanstaničnim prostorom te signaliziranju zbog čega su važni u obrambenom odgovoru (Hynes, 2002.). Nedostatak adhezije leukocita kod goveda nastaje kao posljedica točkaste mutacije (eng. point mutation) na poziciji 383 ITGB2 gena govedeg kromosoma 1. Shodno tome, dolazi do zamjene adenina (A) guaninom (G) na poziciji 128 (D128G) u bjelančevini odgovornoj za ekspresiju integrina na površini neutrofila, te posljedične zamjene asparaginske kiseline glicinom (Shuster i sur., 1992a.). Kao posljedica mutacije ne dolazi do spajanja navedenih podjedinica što uzrokuje smanjenu funkciju ili potpuni nedostatak navedenih integrina na površini neutrofila. Stoga, izostaju njihovo prijanjanje na endotelne stanice i izlazak iz krvnih žila, uz smanjenu kemotaksiju, fagocitnu i citotoksičnu aktivnost (Kehrli i sur., 1990.; Cox i sur., 1997.; Schäffer i Klein, 2013.).

### ***Učestalost bolesti i metode dijagnostike***

Visoka prevalencija bolesti zahtijevala je učinkovitu dijagnostiku kako bi se životinje nositelji mogle identificirati i isključiti iz daljnjeg uzgoja. Među prvim metodama korištena je metoda protočne citometrije pomoću imunofluorescentnih protutijela te *in vitro* identifikacija ekspresije CD18 molekula na neutrofilima (Kehrli i sur., 1990.). Shuster i sur. (1992a.) primijenili su metodu sekvenciranja molekule deoksiribonukleinske kiseline (DNK) i dokazali učinkovitost Northern analize kojom su potvrdili prisutnu mutaciju na CD18 podjedinici i izostanak integrina odgovornih za prijanjanje na endotelne stanice. Isti autori su u daljnjem istraživanju (Shuster i sur., 1992b.) opisali cijepanje DNK molekule primjenom metode polimorfizam duljine restrikcijskih fragmenata (engl. restriction fragment length polymorphism, RFLP), kojom su uspješno identificirali nositelje. Batt i sur. (1994.) te Tammen i sur. (1996) također su unaprijedili su postupak dijagnosticiranja navedenom metodom, koja se u daljnjim istraživanjima pokazala učinkovitom (Natonek, 2000.; Meydan i sur., 2010.). Nadalje, Zhang i sur. (2012.) opisali su primjenu metode lančane reakcije polimerazom u stvarnom vremenu (engl. real time polymerase chain reaction, qPCR), čime je identifikacija dodatno pojednostavljena omogućavajući uspješnu genotipizaciju velikog broja uzoraka u kratkom vremenu.

Prva istraživanja učestalosti bolesti kod goveda početkom devedesetih godina prošlog stoljeća polučila su varijabilne rezultate (0 do 21,5%), što se može vidjeti iz niskog - 0,5%, (Jorgensen i sur., 1993.), odnosno srednjeg - 5,4% i 9,4% (Nagahata i sur., 1993sch.; Schütz i sur., 2008.) i visokog udjela - 10% i 13,5% jedinki nositelja (Biochard i sur., 1995.; Tainturier i sur., 1995.). Primjenom suvremenih molekularnih metoda s vremenom je smanjen udio nositelja i oboljelih životinja. Tako su Natonek (2000.) i Li i sur. (2011.) utvrdili udio nositelja u populacijama od 0,5%, Patel i sur. (2007.) 1,6%, Nasreen i sur. (2009.) 1,96% te Adamov i sur. (2014.) od 2,2%. Učestalost u rasponu od 3,0 do 3,5% utvrđena je u istraživanjima Poli i sur. (1996.), Czarnik i sur. (2007.) te Norouzy i sur. (2005.) dok je visok udio životinja nositelja utvrđen u istraživanjima Ribeiro i sur. (2000.) - 5,7%, Nagahata i sur. (1997.) - 8,1%, Powell i sur. (1996.) - 8,2%, Schütz i sur. (2008.) - 8,3%. U pojedinim populacijama holštajn pasmine u Republici Češkoj (Citek i sur., 2006.), Meksiku (Riojas-Valdes i sur. 2009.) i Iranu (Hemati i sur., 2015.) nisu zabilježeni nositelji recesivnih alela na genu ITGB2.

### ***Mogućnosti smanjenja učestalosti bolesti uzgojno-seleksijskim postupcima***

Uzgojni program ima svrhu unaprijediti populaciju odabiranjem životinja s poželjnim fenotipskim, ali i genotipskim svojstvima koja će potom prenijeti na potomke. Prema tipu nasljeđivanja nedostatak adhezije leukocita pripada skupini autosomalno recesivnih nasljednih bolesti (Nagahata, 2004.). Tako je očitovanje vidljivo kod životinja koje u genotipu imaju prisutna oba recesivna alela (genotip GG). Najveći rizik u uzgoju predstavljaju heterozigotne životinje genotipa AG koje su nositelji letalnog recesivnog alela, a kod kojih se bolest klinički ne očituje, dok se zdravom smatra životinja s AA genotipom (Tammen i sur., 1996.; Thomsen i sur., 2006.).

Identifikacija životinja nositelja dio je uzgojnih programa u državama s najvećim populacijama holštajn pasmine, kao što su Sjedinjene Američke Države, Japan, Danska, Francuska, Poljska, Njemačka, Brazil, Turska i Indija (Powell i sur., 1996.; Ribeiro i sur., 2000.; Norouzy i sur., 2005.; Akyüz i Ertuğrul, 2006.; Czarnik i sur., 2007.; Patel i sur., 2007.; Schütz i sur., 2008.). Postupcima genotipizacije omogućeno je pronalaženje heterozigotnih (AG) i recesivno homozigotnih (GG) jedinki, čime se dobiva uvid u genetsku strukturu te omogućuje izlučenje nositelja recesivnih alela iz populacija holštajn pasmine i njihovih križanaca (Jorgensen i sur., 1993.; Zhang i sur., 2012.).

Uzgojna strategija zasniva se na izlučenju bikova nositelja iz uzgoja i parenju onih životinja kod kojih se ne očekuje homozigotno recesivno potomstvo (Kehrli i sur., 1992.; Schütz i sur., 2008.; Sun i sur., 2011.). Nužno je redovito testirati mlade bikove i junice koje se namjerava koristiti u rasplodu i prodavati na izložbama, izlučivati ih iz uzgoja ukoliko se dokaže da su heterozigoti, zatim umjetno osjemenjivati zdrave krave te testirati potomke prije upisa u rodovnik (Czarnik i sur., 2007.; Schütz i sur., 2008.).

Nepoželjni recesivni alel nije u potpunosti eliminiran iz populacije, no u većini zemalja znatno je smanjena vjerojatnost parenja dva nositelja, a time i učestalost recesivnog alela (Lush, 1945.; Nagahata, 2004.; Agerholm, 2007.). Naime, nije preporučeno izlučiti sve jedinice nositelje nasljednih poremećaja iz uzgoja jer bi u suprotnom to dovelo do gubitka genetske varijabilnosti, ali i do izlučivanja poželjnih alela i gena čija je ekspresija odgovorna za proizvodna i reproduksijska svojstva (Berry i sur., 2014.). Powell i sur. (1996.) utvrdili su neznatno niže količine bjelančevina u mlijeku kćeri bikova nositelja negoli kod zdravih krava, dok Cole i sur. (2016.) nisu utvrdili značajnu povezanost između lokusa na kojima se nalaze recesivni aleli za nedostatak adhezije leukocita i lokusa povezanih s proizvodnim svojstvima, kao što su prinos mlijeka, vrijednosti mliječne masti i bjelančevina u mlijeku te lokusa za plodnost i dugovječnost kao i stopu plodnosti kod junica i krava.

Prednost genomske selekcije u govedarstvu očituje se u analizi genoma mladih životinja kojom se na temelju fenotipskih obilježja, podrijetla i genskih markera procjenjuje uzgojna vrijednost za važna proizvodna svojstva, otkriva prisutnost nasljednih poremećaja i povećava pouzdanost vrjednovanja bikovskih očeva i majki te time smanjuje generacijski interval (Ivanković i Mijić, 2020.). Učestalost bolesti može se smanjiti na temelju informacija dobivenih od uzgajivačkih organizacija, centara za umjetno osjemenjivanje i istraživačkih institucija o genetskoj osnovi životinja te se tako uzgajivačima olakšati donošenje uzgojnih odluka. Takvim pristupom uzgajivači mogu ograničeno koristiti rasplodne bikove nositelje recesivnih alela, a istovremeno uzgajati zdrave bikove superiornih svojstava te ih postupno uključivati

u uzgoj (Agerholm, 2007.). Segelke i sur. (2016.) navode da bi se učestalost recesivnih alela mogla nadzirati uvođenjem indeksa koji označava stupanj težine nasljednog poremećaja te na temelju toga donositi odluke o odabiru rasplodnih životinja s visokim uzgojnim vrijednostima. Nasljedne poremećaje koji se pojavljuju samo kod određenih pasmina važno je istražiti i zbog uvođenja genetskog materijala tih pasmina kod neke druge pasmine, čime se sprječava unos gena s letalnim recesivnim alelima (Healy, 1996.).

Zbog nedovoljnog broja goveda holštajn pasmine za osnivanje referentne populacije u Republici Hrvatskoj, genomska selekcija provodi se na ženskim jedinkama u sustavu njemačkog genomskog vrednovanja. Genotipizacija odabranih životinja provodi se od ožujka 2016. godine i do sad niti jedna krava nije zadovoljila propisane kriterije – vrijednosti selekcijskog indeksa veće od 150 i bez nasljednih poremećaja (Špehar i sur., 2019.). U postupku genotipizacije provodi se i testiranje na nedostatak adhezije leukocita kod goveda, a prema izvješću Hrvatske agencije za poljoprivredu i hranu, od ukupno 169 testiranih jedinki utvrđena je jedna nositeljica nasljednog poremećaja nedostatka adhezije leukocita ([https://hapih.hr/cs/aplikacije/vrednovanje/web/cattle/\\_int/deh/2103/hol\\_deh0\\_c.html](https://hapih.hr/cs/aplikacije/vrednovanje/web/cattle/_int/deh/2103/hol_deh0_c.html)).

### ***Suvremeni pristup liječenju i životinjski model u istraživanju bolesti***

Komparativna istraživanja kod ljudi, pasa i goveda moguća su zbog strukturne i funkcionalne podudarnosti u slijedu na bjelančevini u kojoj je prisutna mutacija (Shuster i sur., 1992b.). Ljudi i životinje oboljeli od nedostatka adhezije leukocita liječe se simptomatskom terapijom, odnosno antibioticima za uzročnike bakterijskih infekcija te infuzijom donatorskih leukocita, a ishod liječenja ovisi o kliničkoj slici i jačini simptoma (Bauer i sur., 2004.; 2009.; van der Vijver i sur., 2013.). Dugotrajna primjena navedenih lijekova umanjuje kliničke simptome, no ima prolazan učinak i nije u mogućnosti spriječiti ponavljajuće infekcije te bolest nerijetko ima letalan ishod (Nagahata i sur., 1998.). U svrhu dugoročnog liječenja oboljelih ljudi i životinja intenzivno se istražuje i primjenjuje alogena transplantacija krvotvornih matičnih stanica u kombinaciji s antibiotskom terapijom i imunosupresivnim lijekovima, a kao glavni nedostatak ovakvog pristupa liječenju smatra se pronalazak podudarnog donora (Thomas i sur., 1995.; Horikoshi i sur., 2018.). Nakon eksperimentalnog liječenja junice oboljele od nedostatka adhezije leukocita transplantacijom krvotvornih matičnih stanica zdrave krave holštajn pasmine Nagahata i sur. (1998.) te Bauer i sur. (2005.) zabilježili su poboljšanje kliničke slike i općeg stanja organizma, dok su Creevy i sur. (2003.) te Hunter i sur. (2011.) zabilježili slično poboljšanje kod pasa. Zbog većeg broja znanstvenih studija i saznanja o histokompatibilnosti donorskih tkiva i stanica imunskog sustava domaćina, model psa smatra se prikladnijim za translacijska istraživanja, dok je primjena genske terapije iz modificiranih donatorskih stanica jedan od modela korisnih za razvoj i strategiju uspješnog liječenja monogenskih nasljednih bolesti kod ljudi (Bauer i sur., 2011.; 2013.; Switonski, 2020.). Kod miševa se bolest nedostatka adhezije leukocita ne pojavljuje spontano (Gu i sur., 2004.), no zbog homologne rekombinacije modificiranja ciljanog gena, koriste se kao modeli u istraživanjima patofizioloških mehanizama nedostatka adhezije leukocita u ljudi, goveda i pasa te eksperimentalnim istraživanjima transplantacije stanica koštane srži i genske terapije (Wilson i sur., 1993.; Leon-Rico i sur., 2016.).

### **Zaključak**

Nedostatak adhezije leukocita kod goveda nasljedni je poremećaj prisutan u populacijama holštajn goveda i njihovih križanaca, a identifikacijom i izlučenjem nositelja recesivnog alela iz uzgoja te planskim parenjem učestalost bolesti znatno se smanjila. Varijabilnost dosadašnjih rezultata učestalosti bolesti ponajprije proizlazi iz razlika u veličini istraživanih populacija, odnosno farmi i uzgoja. U svrhu iskorjenjivanja bolesti važnu ulogu ima testiranje rasplodnih bikova te junica i krava na nasljedne poremećaje kako bi se izbjeglo širenje neželjenih gena u populaciji. Iako je učestalost bolesti kod goveda znatno smanjena, manji udio nositelja prisutan je u populaciji te se može pojaviti sporadično. Primjena genomske selekcije u govedarstvu u sklopu uzgojnih programa omogućava identificiranje jedinki nositelja nasljednih poremećaja, održavanje učestalosti bolesti niskom te razmjenu informacija između uzgajivačkih organizacija na međunarodnoj razini. Time se osigurava sigurno korištenje genetskog materijala rasplodnih životinja, sprječavanje sporadičnih slučajeva oboljenja i napredak u uzgojnom radu. Osim na govedima, istraživanja provedena na psima te miševima, kao životinjskim modelima, predstavljaju podlogu za eksperimentalna liječenja i razvoj dugoročnih terapija u liječenju nedostatka adhezije leukocita kod ljudi i životinja.

### **LITERATURA**

1. Adamov, N., D. Mitrov, I. Esmerov, P. Dovc (2014.): Detection of recessive mutations (BLAD and CVM) in Holstein-Friesian cattle population in Republic of Macedonia. *Macedonian Veterinary Review*, 37(1): 61-68.
2. Agerholm, J. S. (2007): Inherited disorders in Danish cattle. *APMIS Supplementum*, 115(122): 1-76.
3. Akyüz, B., O. Ertuğrul (2006.): Detection of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Turkish native and Holstein cattle. *Acta Veterinaria Hungarica*, 54(2): 173-178.
4. Alyethodi, R. R., U. Singh, S. Kumar, R. Deb, R. Alex, S. Sharma, G. S. Sengar, B. Prakash (2016.): Development of fast and economical genotyping protocol for bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in cattle. *SpringerPlus*, 5(1):1442.
5. Anderson, D. C., T. A. Springer (1987.): Leukocyte adhesion deficiency: an inherited defect in the Mac-1, LFA-1 and p150,95 glycoproteins. *Annual Review of Medicine*, 38: 175-194.
6. Batt, C. A., P. Wagner, M. Wiedmann, J. Luo, R. Gilbert (1994.): Detection of bovine leukocyte adhesion deficiency by nonisotopic ligase chain reaction. *Animal Genetics*, 25(2): 95-98.
7. Bauer, T. R., Jr., Y. Gu, K. E. Creevy, L. M. Tuschong, L. Embree, S. M. Holland, R. A. Sokolić, D. D. Hickstein (2004.): Leukocyte adhesion deficiency in children and Irish setter dogs. *Pediatric Research*, 55(3): 363-367.
8. Bauer, T. R., Jr., Y. C. Gu, L. M. Tuschong, T. Burkholder, J. D. Bacher, M. F. Starost, R. E. Donahue, R. A. Sokolić, D. D. Hickstein (2005.): Nonmyeloablative hematopoietic stem cell transplantation corrects the disease phenotype in the canine model of leukocyte adhesion deficiency. *Experimental Hematology*, 33(2): 706-712.

9. Bauer, T. H., Jr., R. L. Adler, D. D. Hickstein (2009.): Potential large animal models for gene therapy of human genetic diseases of immune and blood cell systems. *Institute for Laboratory Animal Research Journal*, 50(2): 168-186.
10. Bauer, T. R., Jr., E. M. Olson, Y. Huo, L. M. Tuschong, J. M. Allen, Y. Li, T. H. Burkholder, D. W. Russel (2011.): Treatment of canine leukocyte adhesion deficiency by foamy virus vectors expressing CD18 from PGK promoter. *Gene Therapy*, 18(6): 553-559.
11. Bauer, T. R., Jr., L. M. Tuschong, K. R. Calvo, H. R. Shive, T. H. Burkholder, E. K. Karlsson, R. R. West, D. W. Russell, D. D. Hickstein (2013.): Long-term follow-up of foamy virus vector-mediated gene therapy for canine leukocyte adhesion deficiency. *Molecular Therapy*, 21(5): 964-972.
12. Beatty, P. G., J. A. Ledbetter, P. J. Martin, T. H. Price, J. A. Hansen (1983.): Definition of a common leukocyte cell-surface antigen (Lp95-150) associated with diverse cell-mediated immune functions. *The Journal of Immunology*, 131(6): 2913-2918.
13. Bernadina, W. E., A. J. Duits, H. C. Kalsbeek, T. Wensing, W. Leibhold, L. Elving, G. H. Wentink (1993.): Leukocyte adhesion deficiency in a Dutch Holstein calf: a case with clear-cut family history. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 37(3-4): 295-308.
14. Berry, D., E. Wall, J. Pryce (2014.): Genetics and genomics of reproductive performance in dairy and beef cattle. *Animal*, 8(S1): 105-121.
15. Biochard, D., J. A. Coquereau, Y. Amiques (1995.): Effect of bovine leukocyte adhesion deficiency genetic defect in Holstein cattle under farm condition. 46th Annual Meeting of the European Association for Animal Production, 4-7 September, Prague, Czech Republic. 56-60.
16. Casas, E., M. E. Kehrl, Jr. (2016.): A review of selected genes with known effects on performance and health of cattle. *Frontiers in Veterinary Science*, 3: 113.
17. Citek, J., V. Rehout, J. Hajkova, J. Pavkova (2006.): Monitoring of the genetic health of cattle in the Czech Republic. *Veterinarni Medicina*, 51(6): 333-339.
18. Cole, J. B., D. J. Null, P. M. VanRaden (2016.): Phenotypic and genetic effects of recessive haplotypes on yield, longevity, and fertility. *Journal of Dairy Science*, 99(6): 7274-7288.
19. Cox, E., J. Mast, N. MacHugh, B. Schwenger, B. M. Goddeeris (1997.): Expression of  $\beta_2$  integrins on blood leukocytes of cows with or without bovine leukocyte adhesion deficiency. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 58(3-4): 249-263.
20. Creevy, K. E., T. R. Bauer, Jr., L. M. Tuschong, L. J. Embree, L. Colenda, K. Cogan, M. E. Starost, M. E. Haskins, D. D. Hickstein (2003.): Canine leukocyte adhesion deficiency colony for investigation of novel hematopoietic therapies. *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 94(1-2): 11-22.
21. Czarnik, U., G. Grzybowski, S. Kaminski, B. Prusak, T. Zabolewicz (2007.): Effectiveness of a program aimed at the elimination of BLAD-carrier bulls from Polish Holstein-Friesian cattle. *Journal of Applied Genetics*, 48(4): 375-377.
22. Gerardi, A. S. (1996.): Bovine leukocyte adhesion deficiency: a review of a modern disease and its implications. *Research in Veterinary Science*, 61(3): 183-186.

23. Giger, U., L. A. Boxer, P. J. Simpson, B. R. Lucchesi, R. F. Todd, 3rd (1987.): Deficiency of leukocyte surface glycoproteins Mo1, LFA-1, and Leu M5 in a dog with recurrent bacterial infections: an animal model. *Blood*, 69(6): 1622-1630.
24. Gilbert, R. O., W. C. Rebhun, C. A. Kim, M. E. Kehrli, D. E. Shuster, M. R. Ackermann (1993.): Clinical manifestation of leukocyte adhesion deficiency in cattle: 14 cases (1977-1991). *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 202(3): 445-449.
25. Gu, Y., T. R. Bauer, Jr., M. R. Ackermann, C. W. Smith, M. E. Kehrli, Jr., M. F. Starost, D. D. Hickstein (2004.): The genetic immunodeficiency disease, leukocyte adhesion deficiency, in humans, dogs, cattle, and mice. *Comparative Medicine*, 54(4): 363-372.
26. Hagemoser, W. A., J. A. Roth., J. Lofstedt, J. A. Fagerland (1983.): Granulocytopeny in a Holstein heifer. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 183(10): 1093-1094.
27. Healy, P. J. (1996.): Testing for undesirable traits in cattle: an Australian perspective. *Journal of Animal Science*, 74(4): 917-922.
28. Hemati, B., M. H. Fazeli, Z. Namvar, M. Ranji (2015.): Investigation of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) and complex vertebral malformation (CVM) in a population of Iranian Holstein cows. *Iranian Journal of Applied Animal Science*, 5(1), 69-72.
29. Horikoshi, Y., K. Umeda, K. Imai, H. Yabe, Y. Sasahara, K. Watanabe, Y. Ozawa, Y. Hashii, H. Kurosawa, S. Nomoyama, T. Morio (2018.): Allogenic hematopoietic stem cell transplantation for leukocyte adhesion deficiency. *Journal of Pediatric Haematology/Oncology*, 40(2): 137-140.
30. [[https://www.hapih.hr/cs/aplikacije/vrednovanje/web/cattle/\\_int/deh/2103/hol\\_deho\\_c.html](https://www.hapih.hr/cs/aplikacije/vrednovanje/web/cattle/_int/deh/2103/hol_deho_c.html)]
31. Hunter, M. J., H. Zhao, L. M. Tuschong, T. R. Bauer, Jr., T. H. Burkholder, D. A. Persons, D. D. Hickstein (2011.): Gene therapy for canine leukocyte adhesion deficiency with lentiviral vectors using the murine stem cell virus and human phosphoglycerate kinase promoters. *Human Gene Therapy*, 22(6): 689-696.
32. Hynes, R. O. (2002.): Integrins: bidirectional, allosteric signaling machines. *Cell*, 110(6): 673-687.
33. Ivanković, A., P. Mijić (2020.): Nasljedne genetske bolesti goveda. U: *Govedarstvo*. (Ivanković, A., ur.), Sveučilište u Zagrebu Agronomski fakultet, Zagreb, str. 511-514.
34. Jorgensen, C. B., J. S. Agerholm, P. D. Thomsen (1993.): Bovine leukocyte adhesion deficiency in Danish Holstein-Friesian cattle II. Patho-anatomical description of affected calves. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 34(3): 237-243.
35. Kehrli, M. E., Jr., F. C. Schmalstieg, D. C. Anderson, M. J. van der Maaten, B. J. Hughes, M. R. Ackermann, C. L. Wilhelmsen, G. B. Brown, M. G. Stevens, C. A. Whetstone (1990.): Molecular definition of the bovine granulocytopeny syndrome: identification of deficiency of the Mac-1 (CD11b/CD18) glycoprotein. *American Journal of Veterinary Research*, 51(11): 1826-1836.
36. Kehrli, M. E., Jr., D. E. Shuster, M. R. Ackermann (1992.): Leukocyte adhesion deficiency among Holstein cattle. *The Cornell Veterinaria*, 82(2): 103-109.



37. Kijas, J. M., T. R. Bauer, Jr., S. Gäfvert, S. Marklund, G. Trowald-Wigh, A. Johannisson, A. Hedhammar, M. Binns, R. K. Juneja, D. D. Hickstein, L. Andersson (1999.): A missense mutation in the beta-2 integrin gene (ITGB2) causes canine leukocyte adhesion deficiency. *Genomics*, 61(1): 101-107.
38. Leon-Rico, D., M. Aldea, R. Sanchez-Baltasar, C. Mesa-Nunez, J. Record, S. O. Burns, G. Santilli, A. J. Thrasher, J. A. Bueren, E. Almarza (2016.): Lentiviral vector-mediated correction of a mouse model of leukocyte adhesion deficiency type-1. *Human Gene Therapy*, 27(9): 668-678.
39. Li, J., H. Wang, Y. Zhang, M. Hou, J. Zhong, Y. Zhang (2011.): Identification of BLAD and citrullinemia carriers in Chinese Holstein cattle. *Animal Science Papers and Reports*, 29(1): 37-42.
40. Lush, J. L. (1945.): *Animal Breeding Plans*. 3rd Edition. Iowa State College Press, Ames, 443.
41. Meydan, H., A. Yildiz, J. S. Agerholm (2010.): Screening for bovine leukocyte adhesion deficiency, deficiency of uridine monophosphate synthase, complex vertebral malformation, bovine citrullinemia, and factor XI deficiency in Holstein cows reared in Turkey. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 52(1):56.
42. Müller, K. E., W. E. Bernadina, H. C. Kalsbeek, A. Hoek, V. P. M. G. Rutten, G. H. Wentink (1994.): Bovine leukocyte deficiency – clinical course and laboratory findings in eight affected animals. *Veterinary Quarterly*, 16 (1):27-33.
43. Nagahata, H., H. Noda, K. Takahashi, T. Kurosawa, M. Sonoda (1987.): Bovine granulocytopeny syndrome: neutrophil dysfunction in Holstein Friesian calves. *Journal of Veterinary Medicine*, 34(1-10): 445-451.
44. Nagahata, H., H. Nochi, K. Tamoto, H. Taniyama, H. Noda, M. Morita, M. Kanamaki, G. J. Kociba (1993.): Bovine leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Canadian Journal of Veterinary Research*, 57(4): 255-261.
45. Nagahata, H., T. Miura, K. Tagaki, M. Ohtake, H. Noda, T. Yasuda, K. Nioka (1997.): Prevalence and allele frequency estimation of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Holstein-Friesian cattle in Japan. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 59(4): 233-238.
46. Nagahata, H., S. Matsuki, H. Higuchi, O. Inanami, M. Kuwabara, K. Kobayashi (1998.): Bone marrow transplantation in a Holstein heifer with bovine leukocyte adhesion deficiency. *Veterinary Journal*, 156(1): 15-21.
47. Nagahata, H. (2004.): Bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD): a review. *The Journal of Veterinary Medical Science*, 66(12): 1475-1482.
48. Nasreen, F., N. A. Malik, M. N. Riaz, J. A. Qureshi (2009.): Detection and screening of bovine leukocyte adhesion deficiency in Pakistan using molecular methods. *Hereditas*, 146(2): 74-78.
49. Natonek, M. (2000.). Identification of BLAD mutation in cattle with PCR-RFLP method. *Biuletyn Informacyjny Instytutu Zootechniki*, 38(4), 29-33.
50. Norouzy, A., M. R. Nassiry, S. F. Eftekhari, A. Javadmanesh, M. R. Mohammed Abadi, G. E. Sulimova (2005.): Identification of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) carriers in Holstein and Brown Swiss AI bulls in Iran. *Genetika*, 41(12): 1697-1701.

51. Patel, R. K., K. M., Singh, K. J. Soni, J. B. Chauhan, K. R. S. Sambasiva Rao (2007.): Low incidence of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) carriers in Indian cattle and buffalo breeds. *Journal of Applied Genetics*, 48(6): 153-155.
52. Poli, M. A., R. Dewey, L. Semorile, M. E. Lozano, C. G. Albarino, V. Romanowski, O. Grau (1996.): PCR screening for carriers of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) and uridine monophosphate synthase (DUMPS) in Argentine Holstein cattle. *Journal of Veterinary Medicine Series*, 43(3): 163-168.
53. Powell, R. L., H. D. Norman, C. M. Cowan (1996.): Relationship of bovine leukocyte adhesion deficiency with genetic merit for performance traits. *Journal of Dairy Science*, 79(5): 895-899.
54. Renshaw, H. W., C. Chatburn, G. M. Bryan, R. C. Bartsch, W. C. Davis (1975.): Canine granulocytopeny syndrome: neutrophil dysfunction in a dog with recurrent infections. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 166(5): 443-447.
55. Ribeiro, L. A, E. E. Baron, M. L. Martinez, L. L. Coutinho (2000.): PCR screening and allele frequency estimation of bovine leukocyte adhesion deficiency in Holstein and Gir cattle in Brazil. *Genetics and Molecular Biology*, 23(4): 831-834.
56. Riojas-Valdes, V. M., B. Carballo-Garcia, L. E. Rodriguez-Tovar, M. V. Garza-Zermeno, R. Ramirez-Romero, J. Zarate-Ramos, R. Avalos-Ramirez, G. Davalos-Aranda (2009.): Absence of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD) in Holstein cattle from Mexico. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(9): 1870-1872.
57. Schäffer, A. A., C. Klein (2013.): Animal models of human granulocyte diseases. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 27(1): 129-148.
58. Schütz, E., M. Scharfenstein, B. Brenig (2008.): Implication of complex vertebral malformation and bovine leukocyte adhesion deficiency DNA-based testing on disease frequency in the Holstein population. *Journal of Dairy Science*, 91(12), 4854-4859.
59. Segelke, D., H. Täubert, F. Reinhardt, G. Thaller (2016.): Considering genetic characteristics in German Holstein breeding programs. *Journal of Dairy Science*, 99(1): 458-467.
60. Shuster, D. E., M. K. Kehrl, Jr., M. R. Ackermann, R. O. Gilbert (1992a.): Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 89(19): 9225-9229.
61. Shuster, D. E., B. T. Bosworth, M. E. Kehrl, Jr. (1992b.): Sequence of the bovine CD18-encoding cDNA: comparison with the human and murine glycoproteins. *Gene*, 114: 267-171.
62. Sun, D. X., X. H. Fan, Y. Xie, Q. Chu, Y. Sun, Y. Zhang, S. L. Zhang, W. J. Gong, S. H. Chen, Y. H. Li, W. H. Shi, Y. Zhang (2011.): Distribution of recessive genetic defect carriers in Chinese Holstein. *Journal of Dairy Science*, 94(11): 5695-5698.
63. Switonski, M. (2020.): Impact of gene therapy for canine monogenic diseases on the progress of preclinical studies. *Human Genetics*, 61: 179-186.
64. Špehar, M., Z. Ivkić, I. Vranić, J. Crnčić, M. Dražić, D. Pašalić, Z. Barać (2019.): Opportunities of implementing the genomic selection in small populations – the Croatian case. *Mljekarstvo*, 69(2): 86-97.

65. Tainturier, D., L. Grobet, B. Brouwers, J. F. Bruyas, F. Fieni, I. Battut, J. Lecoanet, A. Douart, I. Breyton, P. Duclos (1995.): Observations on three cases of bovine leukocyte adhesion deficiency (BLAD). *Revue de Medecine Veterinaire*, 146(3): 189-195.
66. Tammen, I., H. Klippert, A. Kuczka, A. Treviranus, J. Pohlenz, M. Stöber, D. Simon, B. Harlizius (1996.): An improved DNA test for bovine leucocyte adhesion deficiency. *Research in Veterinary Science*, 60(3): 218-221.
67. Thomas, C., F. Le Deist, M. Cavazzana-Calvo, M. Benkerrou, E. Haddad, S. Blanche, W. Hartmann, W. Friedrich, A. Fischer (1995.): Results of allogenic bone marrow transplantation in patients with leukocyte adhesion deficiency. *Blood*, 86(4): 1629-1635.
68. Thomsen, P. N., J. A. P. Heesterbeek, J. A. M. Arendonk (2006.): Changes in disease gene frequency over time with differential genotypic fitness and various control strategies. *Journal of Animal Science*, 84(10): 2629-2635.
69. Van der Vijver, E., T. K van der Berg, T. W. Kuijpers (2013.): Leukocyte adhesion deficiency. *Hematology/Oncology Clinics of North America*, 27(1): 101-116.
70. Wilson, R. W., C. M. Ballantyne, C. W. Smith, C. Montgomery, A. Bradley, W. E. O'Brien, A. L. Beudet (1993.): Gene targeting yields a CD18-mutant mouse for study of inflammation. *Journal of Immunology*, 151(3): 1571-1578.
71. Zhang, Y., X. Fan, D. Sun, Y. Wang, Y. Yu, Y. Xie, S. Zhang, Y. Zhang (2012.): A novel method for rapid and reliable detection of complex vertebral malformation and bovine leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 3(1):24.

## **LEUKOCYTE ADHESION DEFICIENCY – AN INHERITED DISORDER IN CATTLE**

### **Summary**

In domestic animals, inherited disorders may be species-specific or breed-specific. Leukocyte adhesion deficiency in cattle is an inherited disease that occurs in Holstein breed and its crossbreeds, and affects health, causes the death of calves, results in reduced productivity of breeding animals, and significant economic losses in production. The disease occurs as a result of a mutation in the gene responsible for the expression of receptors on the surface of white blood cells resulting in reduced activity or a complete lack of proteins involved in the inflammatory response. The incidence of the disease in the population ranged to 21.5%. The application of modern molecular genetic methods is extremely important in the identification of carriers and has contributed to the reduction of the number of animals carrying the recessive allele. Strategies for maintaining a low number of diseased animals as well as carriers of the recessive allele include regular genotyping of breeding bulls and cows before introduction into breeding as part of breeding programs and genomic evaluation of animals.

**Key words:** inherited disorders, cattle, Holstein breed, ITGB2 gene,  $\beta$ 2 integrins

Primljeno: 15.09.2021.  
Prihvaćeno: 18.10.2021.