

Imunoekologie parazito-hostitelských vztahů

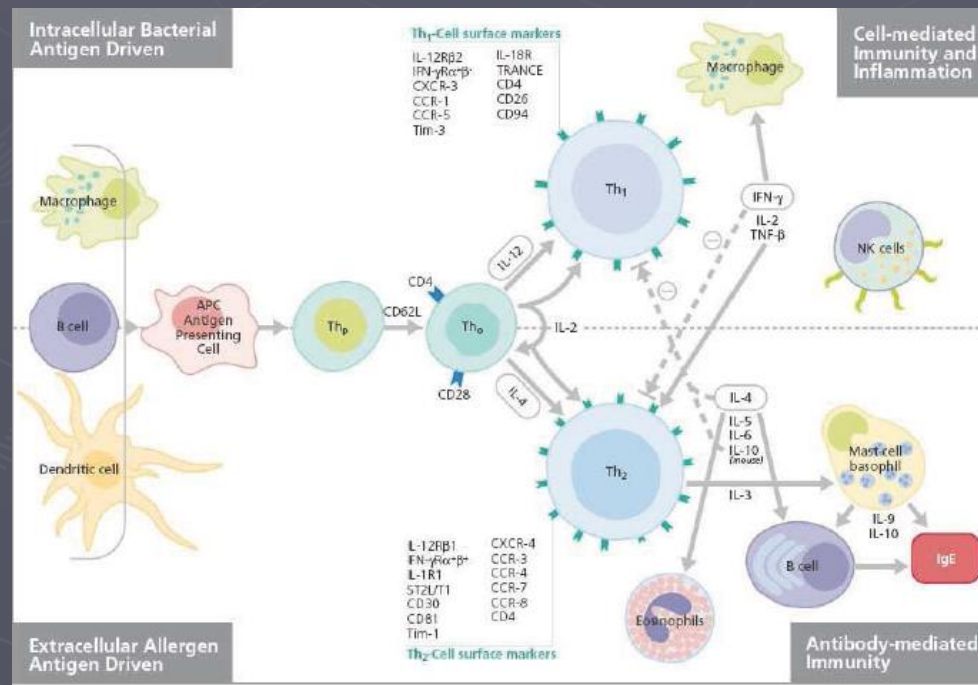


Imunoekologie

- ▶ Spojení imunity a evoluční ekologie
- ▶ Zkoumání variability v imunitní odpovědi mezi jedinci, populacemi a druhy
- ▶ Studium procesů, které vysvětlují tuto variabilitu a její udržování
- ▶ Hledání kompromisů, pokud je imunita považována za nákladní složku životních historií (princip alokace energie – náklady versus užitek)
- ▶ Evoluční adaptace imunity

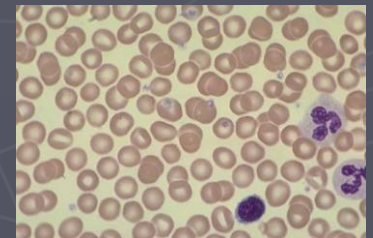
Imunita u obratlovců

- **Nespecifická** (neadaptivní, vrozená)
 - dendritické buňky, makrofágy
- Specifická** (adaptivní, získaná)
 - buněčná a humorální odpověď
 - intracelulární paraziti, extracelulární paraziti



Imunokompetence

- ▶ Obecná schopnost jedince navodit efektivní imunitní odpověď s cílem minimalizovat ztráty způsobené infekcí
- ▶ Jak měřit imunokompetenci?
- ▶ **1. Míra parazitární infekce**
Vysoká míra parazitární zátěže
=> nízká imunokompetence
- ▶ **2. Nabuzení infekce**
Rezistence k infekci => dobrá imunokompetence
Rezistence nebo vnímavost
- ▶ **3. Serologie**
Vysoký počet bílých krvinek
=> dobrá imunokompetence



Imunokompetence

- ▶ Jak měřit imunokompetenci?
 4. **Hmotnost imunitních orgánů** (slezina, brzlík)
 5. **Injekční aplikace mitogenů**
 - ▶ Proliferace lymfocytů (T nebo B)
 6. **Injekční aplikace antigenů**
 - ▶ Produkce protilátek
 7. **Genetické data**
 - ▶ MHC geny

Imunologické přístupy aplikované v terénních studiích

Table I. Immunological assays for use in the field^a

Assay ^b	Component measured	Blood sample or measurement needed	Prediction for invader ^c	Refs
Number of phagocytes	Standing innate defence	Smear collected at capture		[50]
Complement-mediated cell lysis	Standing innate defence	Serum collected at capture		[51]
Bacterial killing	Standing innate defence	Serum collected at capture		[52]
Phagocytosis of bacteria or yeast	Standing innate defence	Whole blood collected at capture		[52]
Acute phase proteins	Systemic inflammation	Serum collected at capture and at 24 hr after LPS injection	Low	[53]
Anorexia and lethargy	Systemic inflammation	Changes in food intake and activity levels 24 hr after LPS injection	Low	[18]
Fever or temperature disregulation	Systemic inflammation	Changes in body temperature during 24 hr following LPS injection	Low	[39]
Natural antibodies levels (IgM)	Standing humoral defence	Whole blood collected at capture	High	[51]
Total IgM and IgG	Standing humoral defence	Blood smear collected at capture	High	[50]
Number of lymphocytes	Standing adaptive defence	Serum collected at capture		[50]
Antibody response to antigen	Induced humoral defence	Immunization followed by serum collected 5 days later	High	[54]
Cutaneous response to PHA	Induced cell-mediated immune response	Skin biopsy for enumeration of lymphocytes taken 24 hr after PHA challenge		[55]
B cell or T cell proliferation	Induced humoral (B cell) or cell-mediated (T cell) immune response	Whole blood collected at capture		[56]

^aAbbreviations: LPS, lipopolysaccharide; IgM, immunoglobulin M; IgG, immunoglobulin G; PHA, phytohemagglutinin.

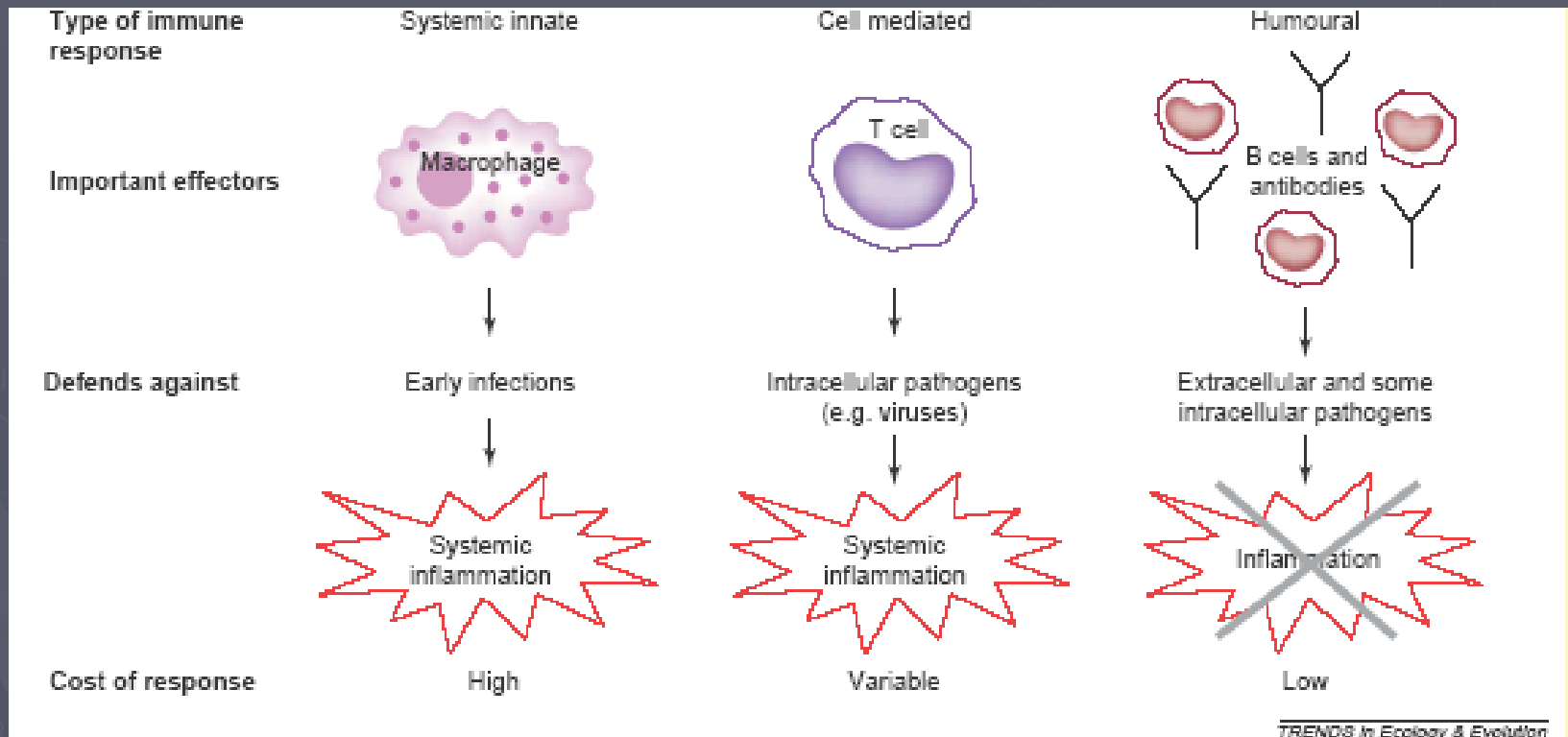
^bCharacteristics of useful assays: (i) Species-neutral: assays should not use reagents or tissue culture media that are species specific (e.g. antibodies, sera, or pathogens); (ii) Utilizes single blood samples: animal capture and recapture is often difficult and always stressful; (iii) Utilizes small blood samples: many species of interest are small and large volumes of blood cannot be taken; and (iv) Adaptable to field conditions: requirements for specialized equipment should be minimal

^cAlthough we do not make predictions for all types of immune defence, researchers working with invasive species should be as complete as possible in their characterizations of the immune system until more empirical data are available to support or refute the hypotheses presented here.

Imunita jako složka životních historií hostitelů

- ▶ funkce imunitního systému jako důležité komponenty životní historie
- ▶ organismus vkládá určité investice do imunitní funkce zodpovědné za rezistenci vůči patogenům a parazitům
- ▶ Jestliže je evoluce imunitního systému řízená parazity, pak lze předpokládat pozitivní korelaci mezi parazitární zátěží a efektivností imunitního systému

Náklady spojené s imunitní odpovědí u obratlovců



Investice do reprodukce versus investice do imunity

- ▶ investice samic a samců do reprodukce se liší
- ▶ samice investují více do produkce oocytů, samci investují více do tvorby sekundárních pohlavních znaků
- ▶ Princip kompromisů v rozdělení energie mezi reprodukci a imunitu
- ▶ investice do vývoje gonád a investice do průběhu samotné reprodukce **energeticky náročné** => snížení investic organismu do jeho imunitní obranyschopnosti

Investice do reprodukce versus investice do imunity

- ▶ energie věnovaná do reprodukce => zvýšená produkce pohlavních hormonů na úkor snížení imunitní funkce
hypotéza handikapu imunokompetence
- ▶ **hypotéza ochrany spermií** (Folstad a Skarstein 1997)
imunopresivní efekt testosteronu vede k ochraně spermií
 - spermie jako nevlastní buňky jsou antigenní a proto jsou ohroženy autoimunitním systémem
 - lepší samci (= lépe tolerující náklady spojené s negativním účinkem testosteronu) mají vytvořené výraznější sekundární pohlavní znaky a spermie lepší kvality

Sex a imunita

Riziko infekce

Samci > samice

Buněčná odpověď

Humorální odpověď

Zánět



Samci < Samice

Auto-imunitní onemocnění

Samci < Samice

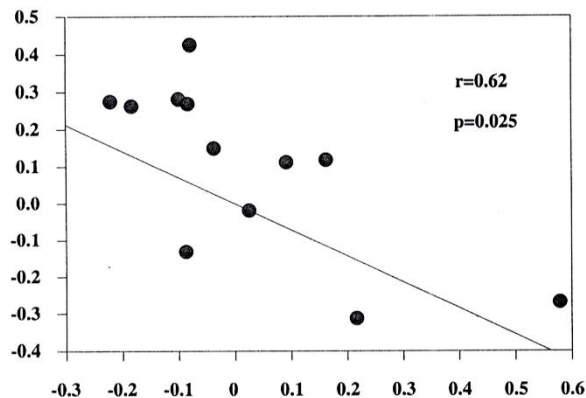
Proximální příčiny Rozdíly v produkci testosteronu = imunosuprese
reprodukční úspěch samců
chování (agresivní, disperze)

Rozdíly v produkci estrogenu = zvyšování exprese MHC genů

Investice do reprodukce versus investice do imunity – interspecifická studie

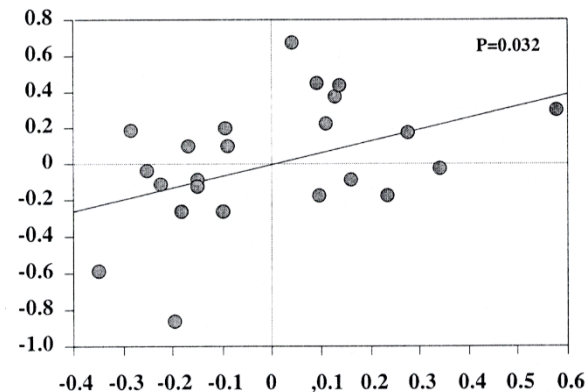
- ▶ PŘ. Mezidruhová studie u ptáků
- ▶ 1. samci s většími gonádami investují více do produkce pohlavních hormonů, která je v kompromisu s imunitní funkcí, evoluce velikosti testes může být výsledkem pohlavního výběru
- ▶ 2. ptáci ovlivněni vyšším tlakem ze strany parazitů, investují více do imunokompetence

Residual of contrast in spleen weight



Residual of contrast in testes weight

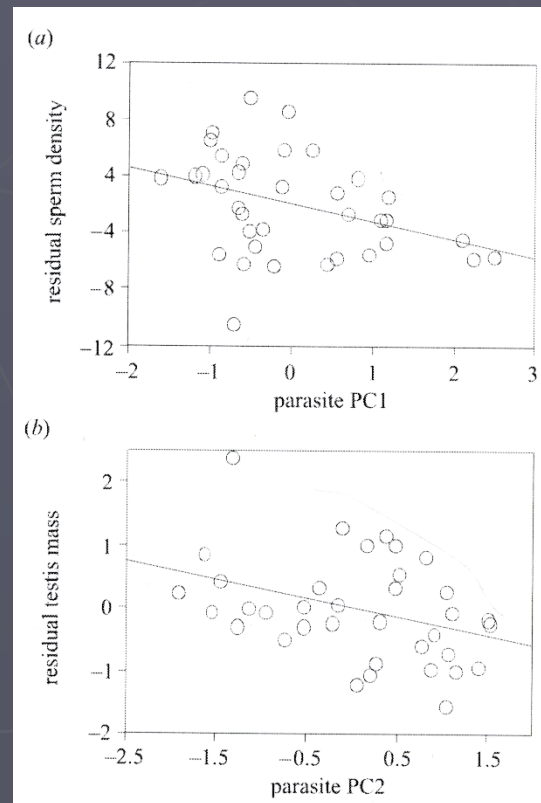
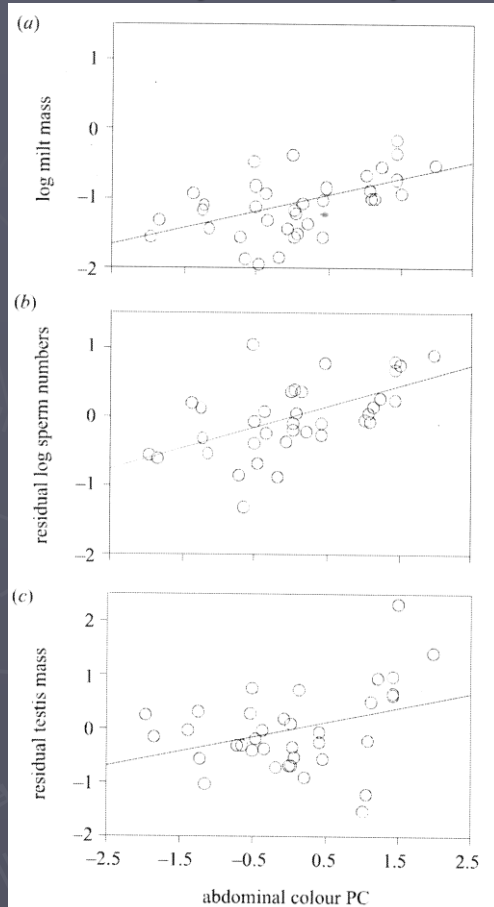
Residuals of contrasts in nematode species richness



Residuals of contrast in spleen weight (in Ln)

Investice do reprodukce versus investice do imunity – intraspecifické studie

- PŘ. Cíl: analýza kompromisů mezi investicemi do imunity a reprodukce



- siven severní
- (*Salvelinus alpinus*)

=> kompromis mezi rezistencí k parazitům a vývojem primárních pohlavních znaků

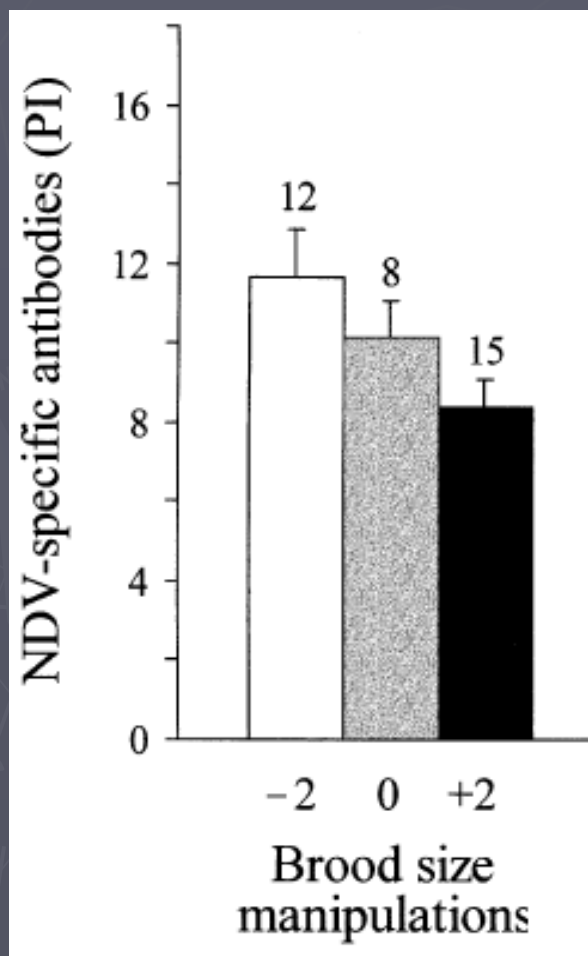
Reprodukce versus imunita

Vztah reprodukce a specifické imunity

Samice imunizované virem NDV (Newcastle disease virus)



Ficedula albicollis
(Nordling et al. 1998)



1. Zvyšování investic do reprodukce (experimentální manipulace) snižuje humorální imunitu
2. Zvyšování reprodukčního úsilí zvyšuje intenzitu infekce *Haemoproteus* – spojené s vyšší mortalitou

Úspěšnost mlád'at a imunokompetence

Experimentální manipulace se zvyšováním potomků v hnízdech
T buňkami zprostředkovaná imunita – odpověď k PHA

→ negativní vztah

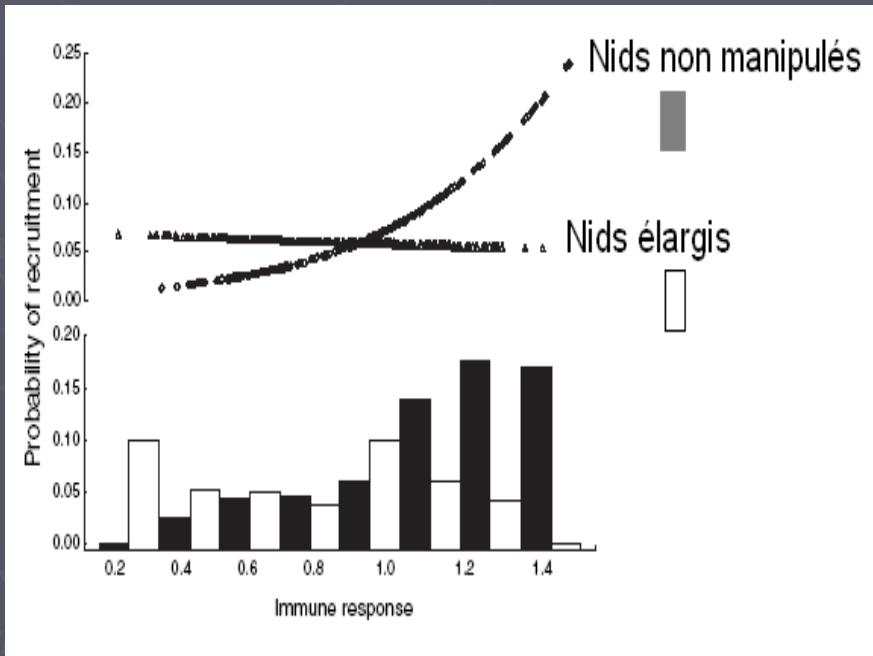
Pozitivní vztah mezi imunitou a úspěchem mlád'at →

Predikovaná pravděpodobnost přijetí mlád'at do populace



Parus caeruleus

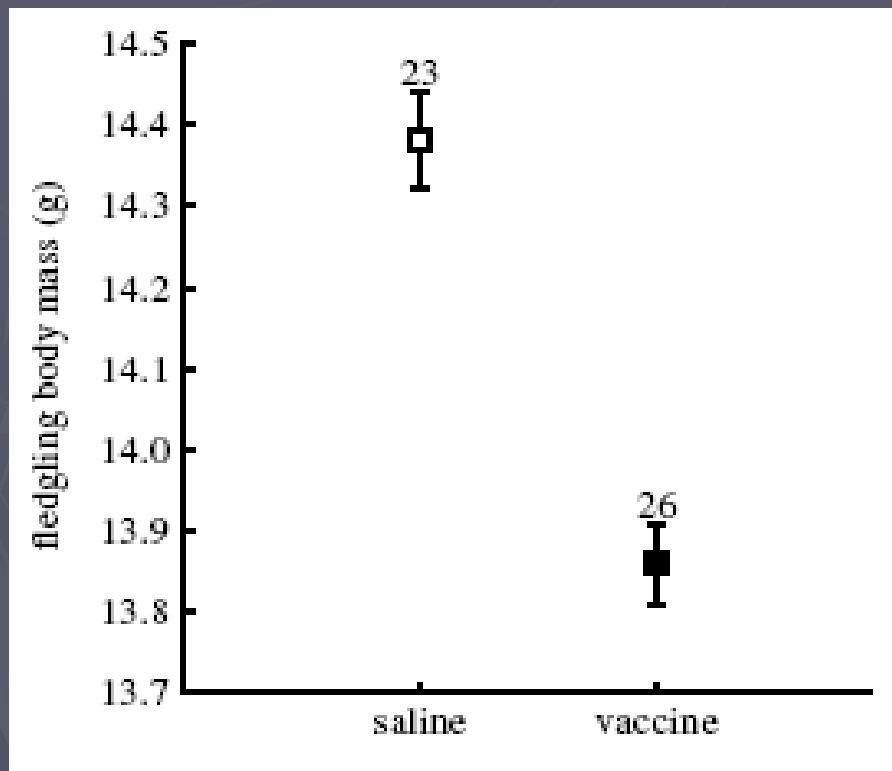
(Cichon & Dubiec 2005)



Imunitní odpověď nehraje roli v případě nevýhodných chovných podmínek
Lokální přijetí je závislé na imunitě, ale taky na environmentálních faktorech

Velikost mlád'at a aktivace humorální imunity

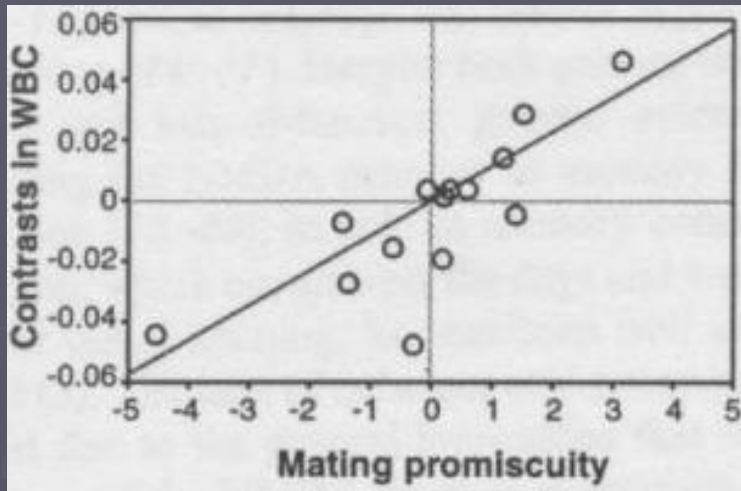
Samice imunizované nepatogenním antigenem (diphtheria-tetanus vakcína)
Test aktivace imunitní odpovědi na investici do reprodukce



Ficedula hypoleuca
(Ilmonen et al. 2000)

Aktivace imunitního systému snižuje reprodukční úspěch (počet a velikost mlád'at)

Bíle krvinky a sexuální promiskuita u primátů

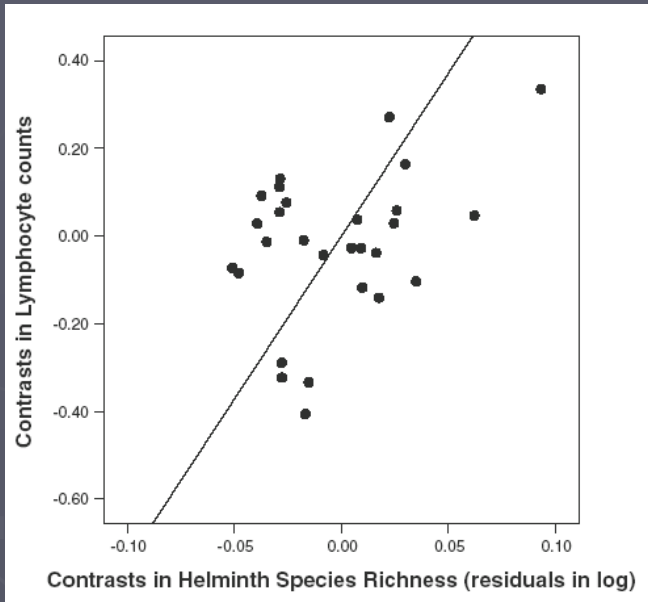


(Nunn et al. 2000)

Promiskuita páření:
délka březosti a velikost
testes

Vztah mezi počtem bílých
krvinek a počtem sexuálních
partnerů => potenciální vztah k
sexuálně přenosným nemocem

Vícenásobní infekce helmintama a základní investice do imunity



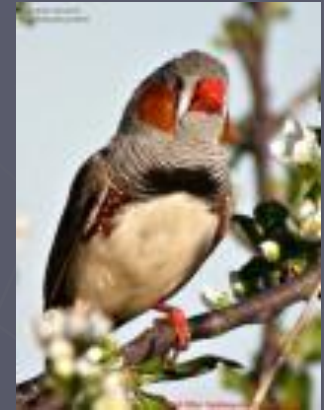
Zvyšování počtu druhů helmintů pozitivně koreluje se zvyšováním základní investice do imunity u savců

Dependent variables	WBC counts			
	Leucocytes (<i>F</i> , <i>P</i>)	Lymphocytes (<i>F</i> , <i>P</i>)	Neutrophils (<i>F</i> , <i>P</i>)	Monocytes (<i>F</i> , <i>P</i>)
Helminth species richness (residuals in log)	6.048 (0.02)	5.202 (0.03)	1.958 (0.17)	3.172 (0.09)
Host body mass (in log)	0.544 (0.46)	1.357 (0.11)	3.433 (0.08)	1.754 (0.20)
Latitude	2.138 (0.16)	2.710 (0.11)	8.279 (<0.01)	0.046 (0.83)
Host longevity (month ⁻¹ in log)	7.883 (<0.01)	0.676 (0.42)	7.096 (0.01)	22.984 (<0.001)

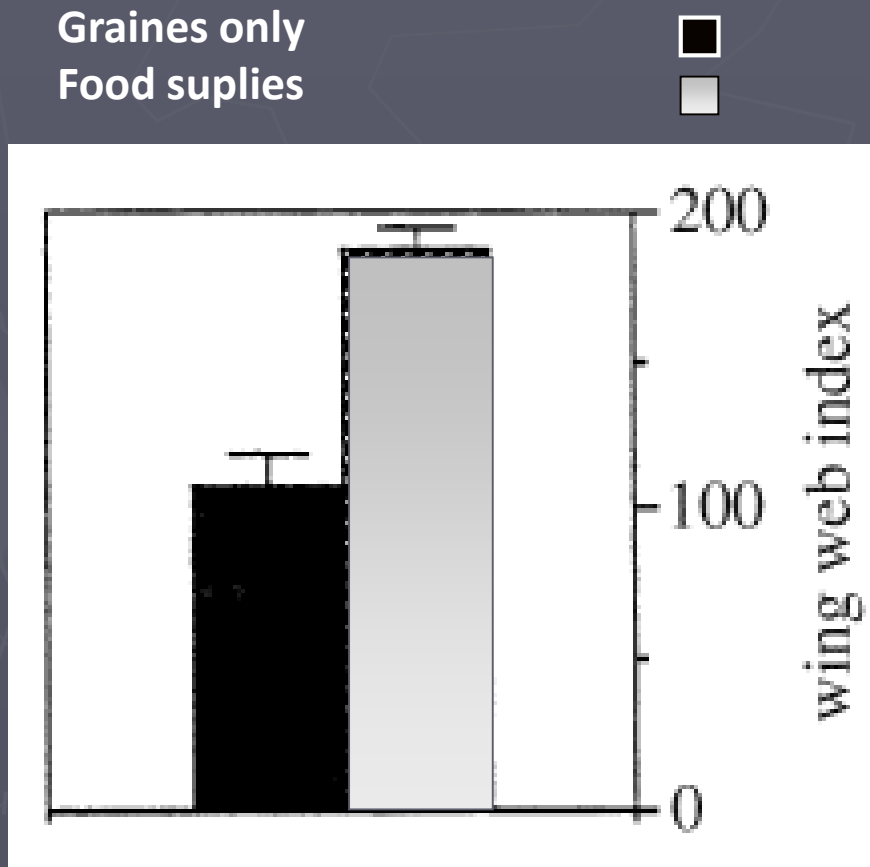
Significance of *P* value is in bold

Potravní zdroje a imunokompetence

Efekt potravy mládřat – krmené jenom semeny vs. krmené semeny plus doplňková strava na růst a T buněčnou imunitu (reakce na mitogen)

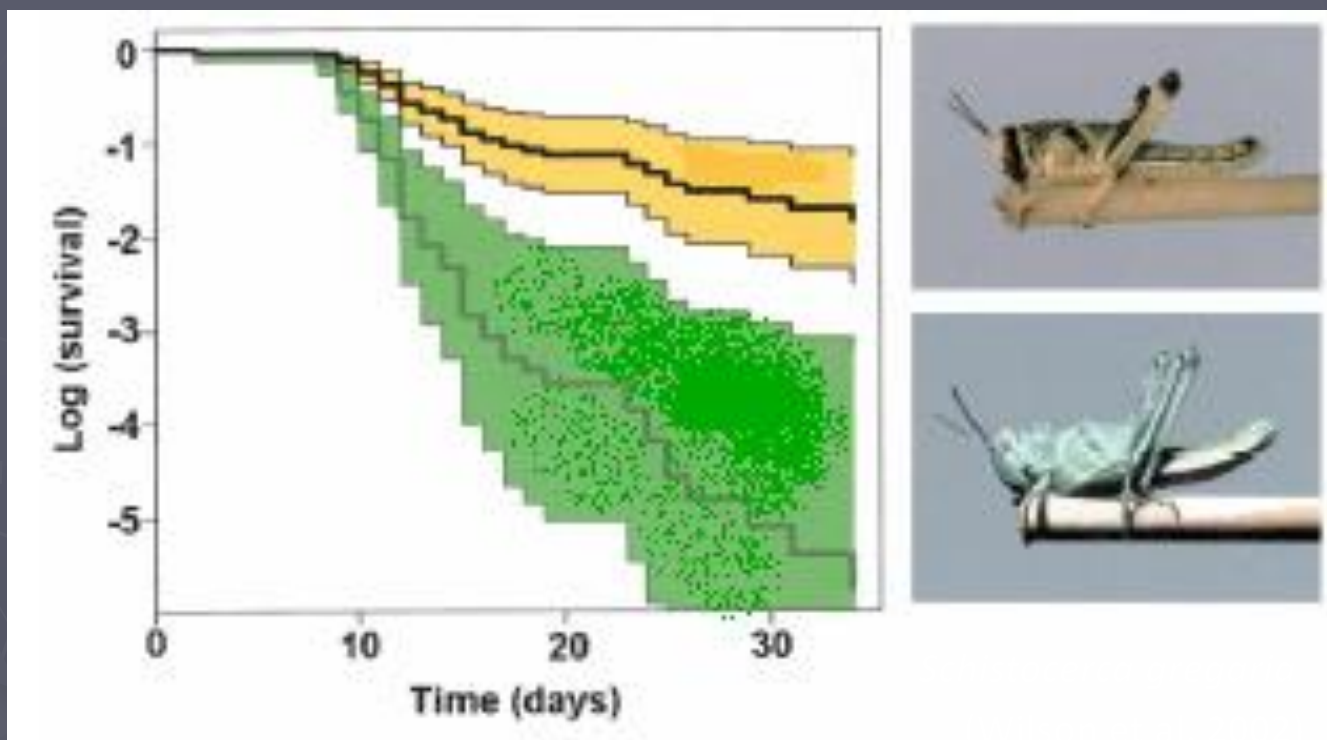


Taeniopygia guttata
(Birkhead et al. 1999)



Zvyšování kvality potravy urychluje růst a posiluje imunokompetenci (buněčnou odpověď)

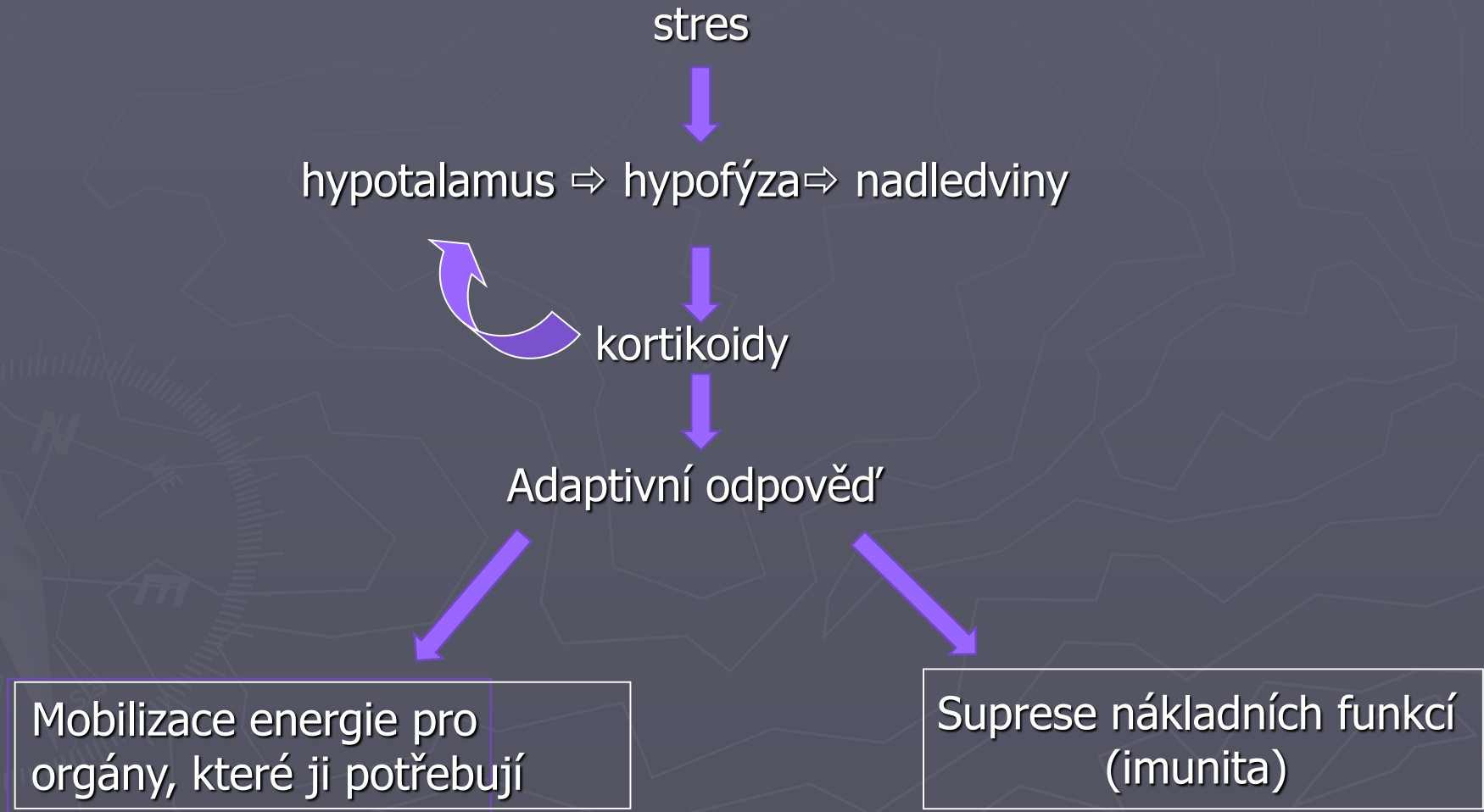
Sociabilita a imunokompetence



Přežívání společenských cvrčků je vyšší než u solitérních
⇒ zvyšování denzity přes fenotypické změny spojené s lepší imunitou

Vliv stresu na imunitu

Stresor = událost, která narušuje homeostázu, zvyšování využití energie

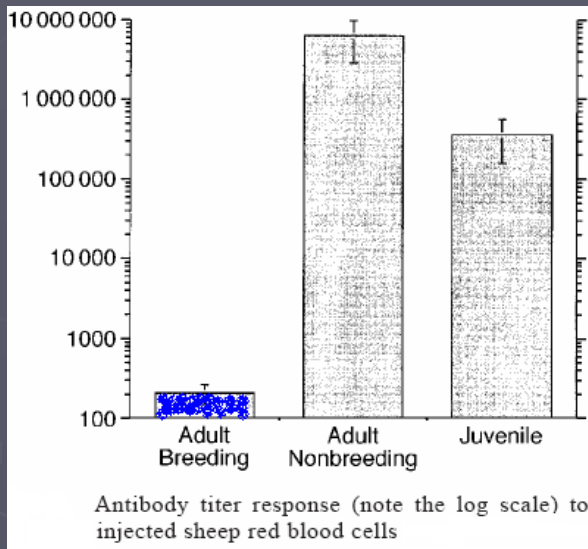


Sexuální kompetice a sociální stres

Testována hypotéza adaptivní odpovědi na stres v období reprodukce



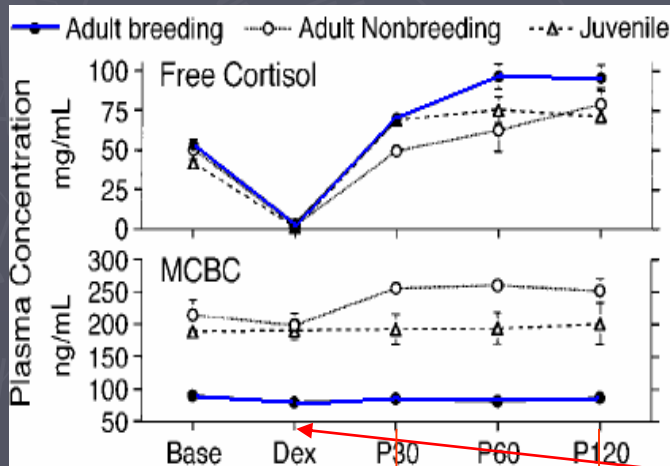
Spermophilus parryii
(Boonstra et al. 2001)



Nabuzení imunity
Slabá imunitní odpověď u reprodukujících se adultů

Hormonální nabuzení

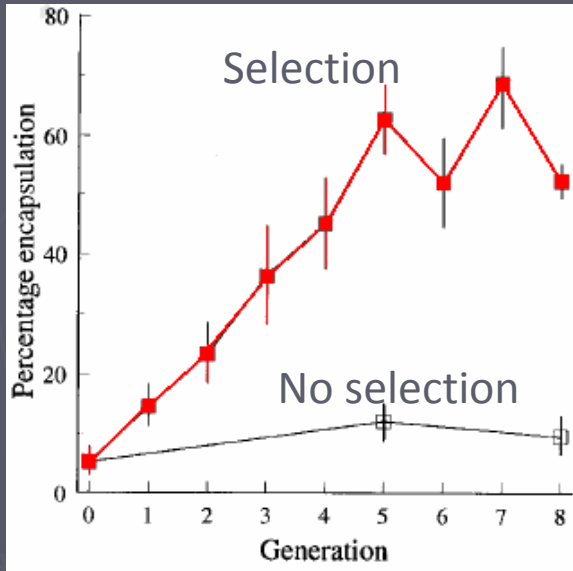
Chronický stres u reprodukujících se adultů – vysoká koncentrace kortizolu, nízká schopnost kapacity vázat kortikosteroidy, nízká rezistence k dexamethosonu, nízký hematokrit, nízký počet bílých krvinek, nízká schopnost reagovat na nabuzení imunity



Reakce na adrenokortikotropný hormon

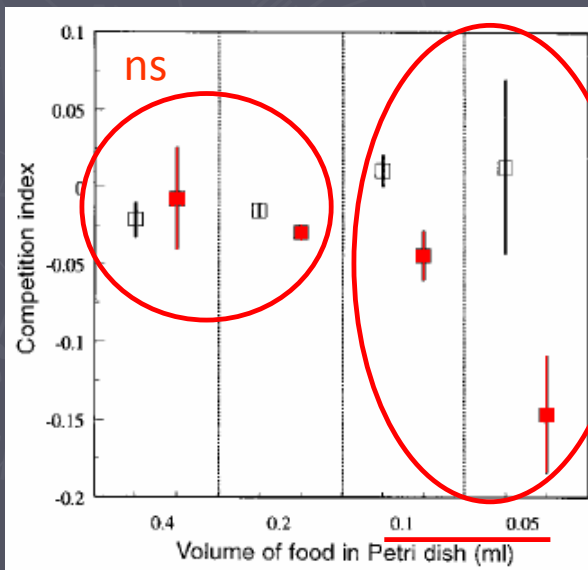
Injekce dexamethosone – steroidní imunopresor

Imunitní odpověď a kompetice



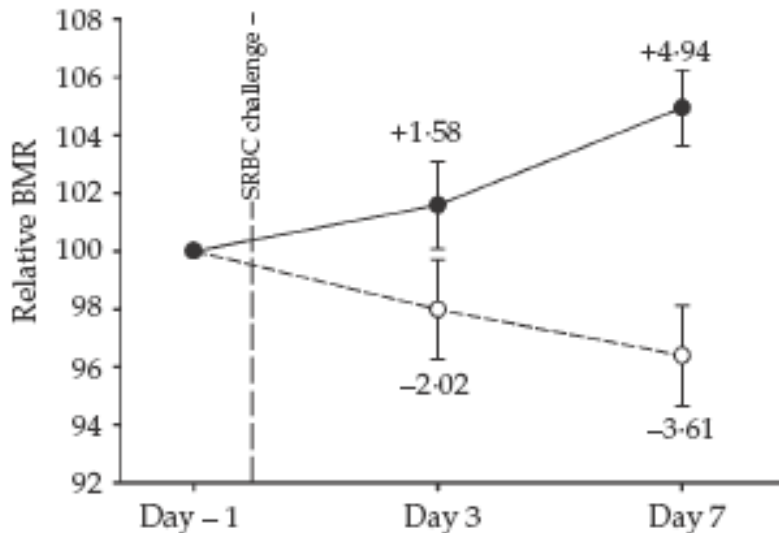
(Kraaijeveld & Godfray, 1997)

Selekce linií *Drosophila melanogaster* rezistentních k parazitoidům (enkapsulace) vede ke snižování kompetiční schopnosti



Imunitní odpověď a metabolismus

Holuby byly injikovány suspenzi ovčích červených krvinek (SRBC) nebo injikovány fyziologickým roztokem (kontrola)

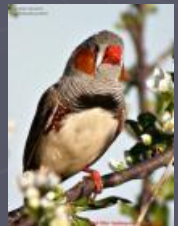


Efekt imunitní aktivace na relativní míru bazálního metabolismu u holubů

Jedinci se silní imunitní odpovědi ve vztahu s kontrolou, která vykazovala nízkou imunitní odpověď (Eraud et al. 2005)

Náklady spojené s imunitní odpovědí

protocol	organism	effect of treatment	references
clipping wings to prevent foraging and flying	free-flying bumble-bee (<i>Bombus terrestris</i>)	foraging bees show reduced encapsulation response	König & Schmid-Hempel (1995) and Doums & Schmid-Hempel (2000)
experimental increase of parental effort by increasing brood size, and increasing daily work effort by different reward schedules	captive zebra finch (<i>Taeniopygia guttata</i>)	increased parental effort and workload reduce antibody titre against sheep red blood cells	Deerenberg <i>et al.</i> (1997)

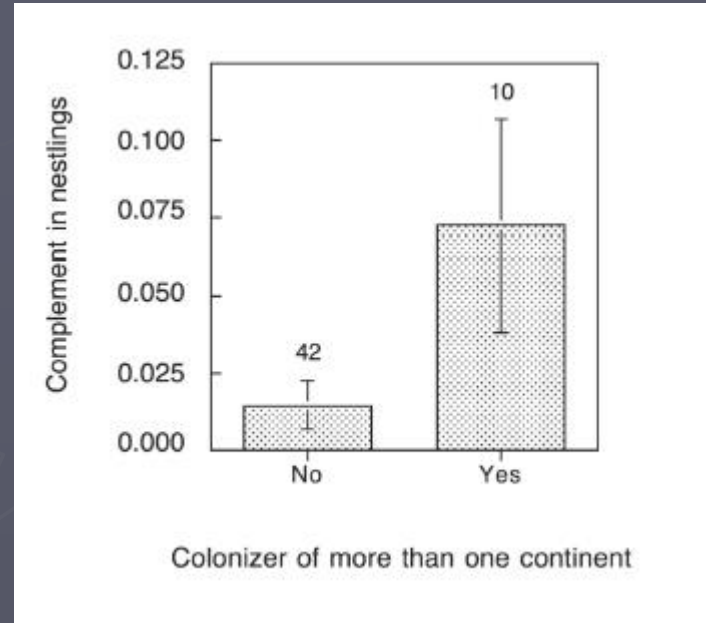


Zvyšování aktivity (př. létání, reprodukce...) snižuje imunitní odpověď => kompromis v alokaci energie a zdrojů

Imunita a úspěšná invaze

Fixed effect	Parameter estimate	Standard error	<i>t</i> statistic
Life history			
Log ₁₀ (Body mass)	0.40	0.69	0.59
Log ₁₀ (Annual fecundity)	1.55	1.77	0.88
Ecology			
Habitat generalism	1.11	0.25	4.39**
Migratory habit	-0.40	0.33	-1.21
Sexual monochromatism	0.30	0.59	0.51
Introduction event			
Log ₁₀ (no. of propagules)	0.73	0.18	4.15**
Immune response			
Nestling T-cell response	0.75	0.40	1.88*
Adult T-cell response	2.96	4.35	0.68

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$.



T buňkami zprostředkovaná imunitní odpověď mláďat (měřená jako odpověď na mitogenický lektin PHA) určuje úspěch založení populace

Komplement mláďat ptáků se zvyšuje expanzí introdukované populace nebo s kolonizací kontinentů

Náklady spojené s imunitní odpovědí

Table 1. Examples of experimental studies of the cost associated with the evolution of an immune defence component.

selective regime	organism	effect on other fitness components	references
earlier or later age at pupation (i.e. age at reproduction)	mosquito (<i>Aedes aegyptii</i>)	earlier reproduction correlates with lower encapsulation response, the opposite for later reproduction	Koella & Boete (2002)
increased resistance to nematode infections	mosquito (<i>Aedes aegyptii</i>)	reduced reproductive success	Ferdig <i>et al.</i> (1993)
increased encapsulation response to common larval parasitoids (<i>Asobara tabida</i>)	fruitfly (<i>Drosophila melanogaster</i>)	reduced competitive ability	Kraaijeveld & Godfray (1997)
increased encapsulation response to virulent larval parasitoids (<i>Leptopilina boulardi</i>)	fruitfly (<i>Drosophila melanogaster</i>)	lower survival rate of larvae	Fellowes <i>et al.</i> (1998)
increased resistance to bacterial disease	honeybee (<i>Apis mellifera</i>)	slower larval growth	Sutter <i>et al.</i> (1968)
increased resistance to bacterial disease	honeybee (<i>Apis mellifera</i>)	higher larval mortality	Rothenbuhler & Thompson (1956)
increased resistance to granulosis virus	Indian meal moth (<i>Plodia interpunctella</i>)	slower development, lower egg viability, but increased pupal mass	Boots & Begon (1993)
increased resistance or susceptibility to <i>Schistosoma</i> infections	snail (<i>Biomphalaria glabrata</i>)	susceptible lines produce more offspring, irrespective of infection status	Webster & Woolhouse (1998)
increased body mass	turkey (<i>Meleagris gallopavo</i>)	reduced immune function	Bayyari <i>et al.</i> (1997) and Nestor <i>et al.</i> (1996)

Náklady spojené s imunitní odpovědí

Table 2. Examples of studies of the cost associated with the use of immune defence components.

protocol	organism	effect of treatment	references
(a) nutrition and general stress			
restricted access to food	captive bumble-bee (<i>Bombus terrestris</i>)	reduces reproductive success but has no effect on encapsulation response	Schmid-Hempel & Schmid-Hempel (1998)
mechanical disturbance of 15 min duration	oyster (<i>Crassostrea gigas</i>)	various immune parameters down-regulated during stress, but stimulated for 30–40 min afterwards	Lacoste <i>et al.</i> (2002)
birds raised on supplemented diet or seeds only	captive zebra finch (<i>Taeniopygia guttata</i>)	seed-only diet reduces survivorship, and leads to reduced cell-mediated immune function in nestlings. No difference in adult birds, perhaps owing to compensation	Birkhead <i>et al.</i> (1999)
protein-rich or protein-poor diet	captive house sparrow (<i>Passer domesticus</i>)	protein-rich diet leads to higher cellular but lower humoral response	Gonzalez <i>et al.</i> (1999)
food deprivation or excess food	chicken (<i>Gallus domesticus</i>)	excess food decreases and deprivation increases various immune response parameters	Klasing (1988)

Evoluce imunitních genů

- ▶ **Geny hlavního histokompatibilního systému (MHC)**
- ▶ Evoluce genů MHC a selektivních faktorů
- ▶ zachytávají peptidy a fragmenty vzniklé odbouráváním antigenů a zanořují je do povrchu buňky => buňka nabízející antigen, jehož fragmenty jsou rozeznávány receptorem T - lymfocytů pro antigen
- ▶ PBR místa („peptid binding regions“) vazebná místa MHC glykoproteinů

Glykoproteiny MHC I a MHC II

- ▶ **MHC glykoproteiny třídy I** - přítomny na všech jaderných buňkách organismu
 - zajišťují prezentaci intracelulárně derivovaných peptidů vzniklých odbouráváním proteinů pocházejících z virů a některých druhů bakterií
- ▶ **MHC glykoproteiny třídy II** - vyskytují se na antigen prezentujících buňkách - B lymfocyty, monocyty, makrofágy a dendritické buňky
 - prezentují peptidové fragmenty derivované z extracelulárních parazitů např. některé druhy bakterií nebo mnohobuněčných organismů

Polymorfizmus MHC

- ▶ nalezeny u všech čelistnatých obratlovců od paryb po savce
- ▶ vysoce polymorfní geny
- ▶ vysokým počet alel, které poskytují funkční lokusy
- ▶ vysoký počet nukleotidových substitucí mezi jednotlivými alelami
- ▶ trans-species polymorphism

Selekce směřující k vysokému polymorfizmu MHC genů

- ▶ Dva mechanismy vzájemně se nevylučující:
 - ▶ 1. parazity zprostředkovaná selekce
 - ▶ 2. sexuální selekce
- ▶ Parazity zprostředkovaná selekce
- ▶ Koevoluční proces parazit-hostitel
 - 1. výhoda vzácných MHC genotypů (tzv. **teorie výhody vzácné alely**)
 - 2. výhoda MHC heterozygotů (tzv. **teorie výhody heterozygota**)

Teorie výhody heterozygota

- ▶ teorie superdominance
- ▶ heterozygot má vyšší schopnost rozlišit široké spektrum antigenních peptidů derivovaných z parazitů nebo patogenů nežli homozygot
- ▶ vyšší rezistenci heterozygota vůči parazitům ve srovnání s homozygotem
- ▶ Příklad - samice lososa obecného si vybírají samce ve smyslu zvyšování MHC heterozygotnosti svých potomků
 - vztah mezi MHC IIB heterozygotností a infekcí gyrodactyly u *Poeciliopsis occidentalis*
 - výhoda MHC heterozygotů v infekci kmeny *Salmonella* u myší

Teorie výhody vzácné alely

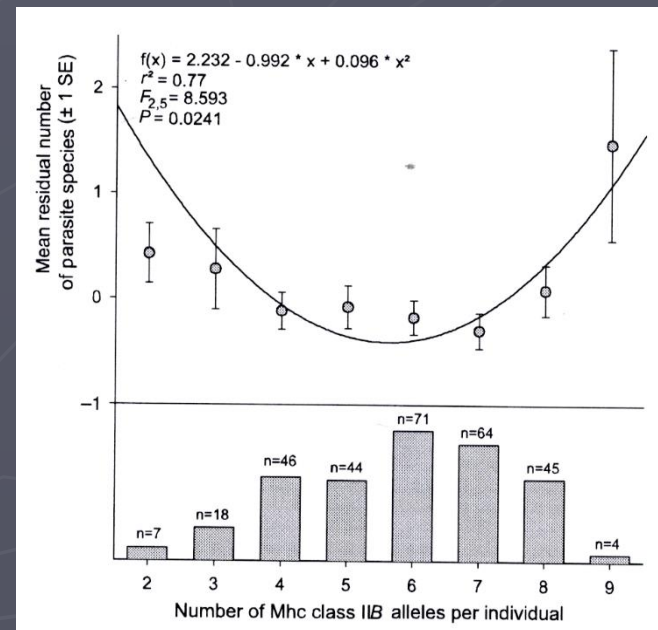
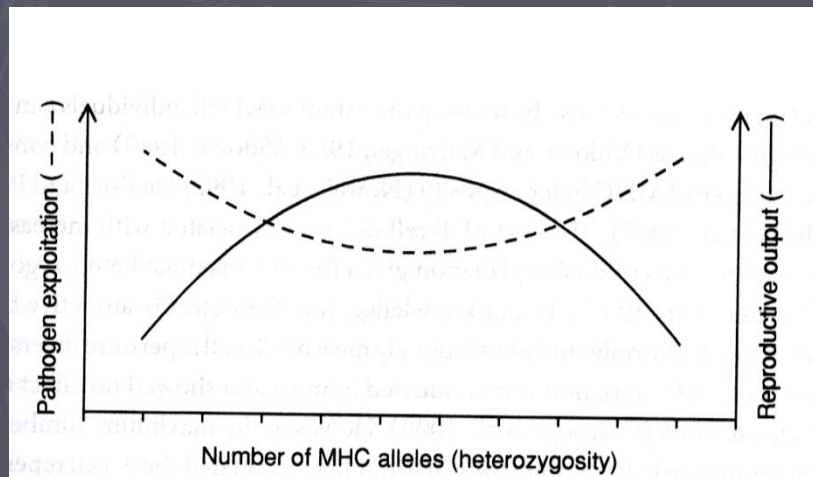
- ▶ na frekvenci závislá selekce
- ▶ Předpoklad: na přítomnost nového parazita odpovídají lépe jedinci hostitele se vzácnou alelou
- ▶ Zvýšení frekvence vzácné alely v hostitelské populaci směřuje k tomu, že se alela stává terčem parazitické adaptace
- ▶ Př. vztah mezi specifickou alelou systému MHC II β a parazitizmem u lososovitých ryb

Střední počet alel výhodný pro jedince

- ▶ Nowak et al. 1992 – matematický model
- ▶ Vysoká diverzita MHC alel u jedince není výhodní
 - rozlišení široké škály antigenních peptidů
 - eliminace vlastních T buněk

optimální počet MHC alel určuje nej kvalitnější imunitní odpověď

Př. Střední počet jako optimum MHC alel a nejnižší parazitace na úrovni jedince u koljušky tříostní



Role sexuální selekce ve zvyšování MHC polymorfizmu

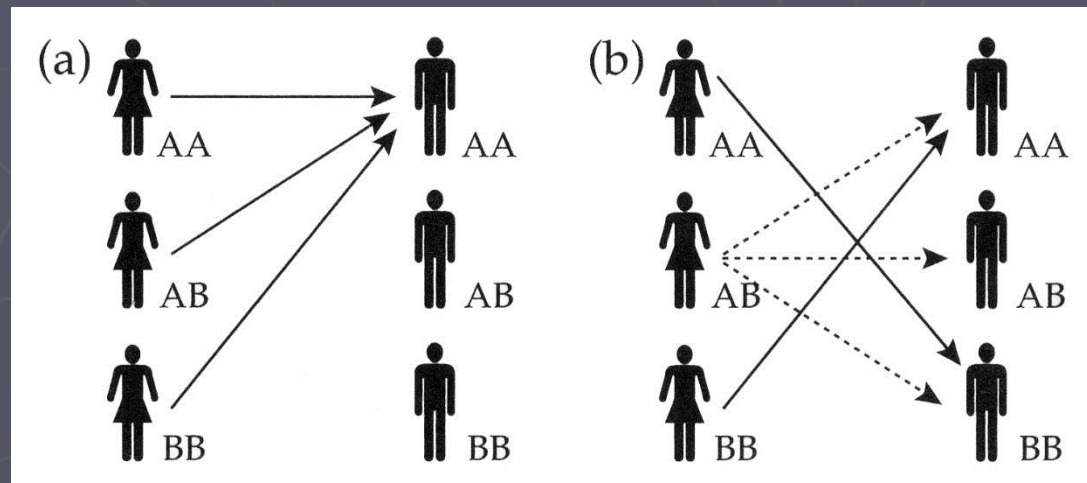
- ▶ vztah mezi MHC genotypem a výběrem partnera
- ▶ Geny MHC = geny rezistence selektovány jako dobré nebo kompatibilní geny
- ▶ **Hypotéza dobrých genů**
- ▶ samci velice zdatní s geneticky danými predispozicemi pro vysokou rezistenci vůči parazitům si mohou dovolit výraznou sexuální ornamentaci
- ▶ samice směřuje výběr svého partnera ve smyslu výběru dobrých genů pro potomstvo
- ▶ **vztah mezi MHC genotypem a kondicí nebo určitým charakteru na kondici závislém**
- ▶ např. intenzita k parazitární zátěži, sekundární pohlavní znaky (zbarvení těla u ptáků, třecí výražky u ryb apod.)

Role sexuální selekce ve zvyšování MHC polymorfizmu

- ▶ **Hypotéza genetické kompatibility (komplementarity)**
- ▶ MHC funguje jako geneticky nekompatibilní systém – zabraňuje příbuzenskému křížení
- ▶ Jedinci s podobným MHC genotypem = jedinci příbuzní
- ▶ samice směřuje výběr partnera v závislosti na vlastním MHC genotypu, tj. vybírá si samce s odlišným MHC genotypem = komplementárním k jejímu genotypu → vyšší variabilita MHC pro potomstvo



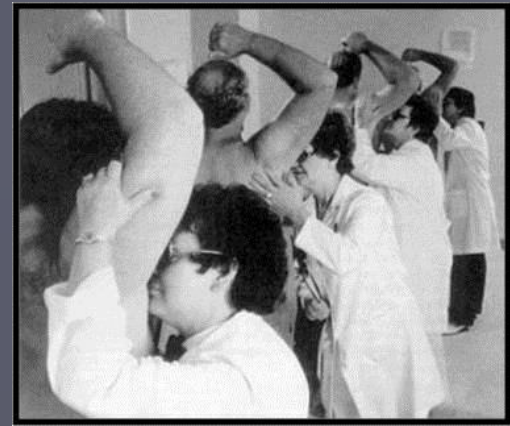
Koljuška tříostní



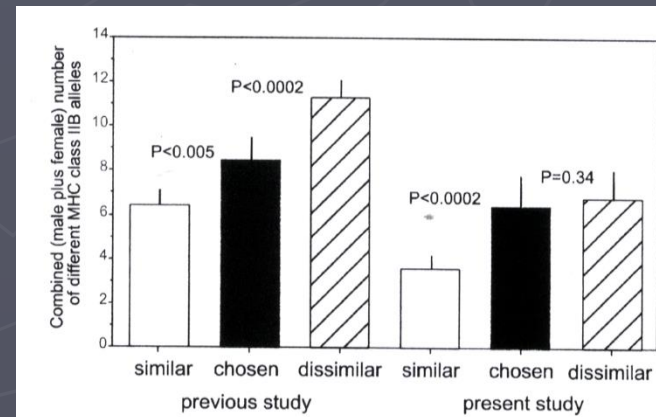
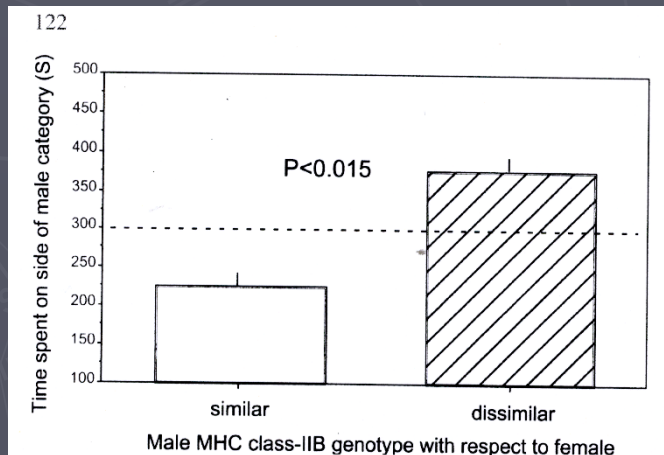
Výběr dobrých MHC genů

Výběr komplementárních MHC genů

Role sexuální selekce ve zvyšování MHC polymorfizmu



- ▶ Jak může samice rozeznat odlišný nebo komplementární genotyp?
- ▶ výběr partnera je založen na čichových vjemech
- ▶ Studie u člověka, myši, dokumentováno taky u ryb



Pohlavní výběr a MHC

- ▶ Dvě úrovně sexuální selekce ve vztahu k MHC
- ▶ **na úrovni jedinců** - určití samci s lepšími kondici vázanými znaky
- ▶ **na úrovni gamet** - spermie určitého jedince jsou selektovány oocyty samic více než spermie jiného jedince
př. siven severní - spermie MHC heterozygotů mají vyšší úspěch při fertilizaci

MHC a extinkce druhů



Desert bighorn sheep



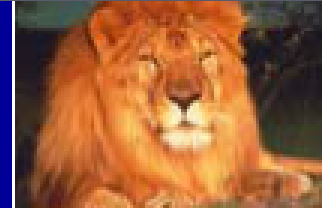
Arabian oryx
Oryx leucoryx



Program
ochrany
udržat všechny
3 varianty

MHC a extinkce druhů

Correlations of Genetic Variation and Reproductive Parameters in Three Lion Populations



Parameter	Serengeti Tanzania	Ngorongoro Crater Tanzania	Gir Forest India
<u>Genetic Properties</u>			
Heterozygosity (%)	3.1	1.5	0.0
% diff. in MHC Loci	21.8	8.0	0.0
<u>Reproductive Measures</u>			
Sperm count ($\times 10^6$)	34.4 \pm 12.8	25.8 \pm 11.0	3.3 \pm 2.8
% sperm abnormality	24.8 \pm 4.0	50.5 \pm 6.8	66.2 \pm 3.6
Motile sperm/ejac.	228.5 \pm 65.5	236.0 \pm 93.0	45.3 \pm 9.9
Testosterone (ng/ml)	1.3 to 1.7	0.5 to 0.6	0.1 to 0.3